

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie am Klinikum rechts der Isar

**Diagnostische Bedeutung pro- und antiinflammatorischer
Zytokine für das klinische Management
polytraumatisierter Patienten**

Leonhard Keil

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. P. Biberthaler

2. Priv.-Doz. Dr. S. Huber-Wagner

Die Dissertation wurde am 20.02.2014 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 15.04.2015 angenommen.

Gewidmet den Patienten und ihren Angehörigen

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG UND HINTERGRUND	1
1.1. Allgemeines zum Begriff des Polytraumas	1
1.2. Das posttraumatische SIRS und MOF	3
1.3. Bedeutung des unspezifischen und spezifischen Immunsystems nach einem Polytrauma	5
1.3.1. Humorale Mediatoren	6
1.3.2. Zelluläre Mediatoren	8
1.4. Proinflammatorische Zytokine	11
1.4.1. Interleukin-6	12
1.4.2. Interleukin-8	13
1.5. Antiinflammatorische Zytokine	15
1.6. Immunoassay-Technik	19
1.7. Methodische Aspekte der Chemilumineszenz Immunoassay Technik	21
2. ZIELSETZUNG	23
3. PATIENTEN UND METHODEN	25
3.1. Studiendesign	25
3.2. Probengewinnung	27
3.3. Immulite 1000	28
3.4. Statistische Methoden	30

4.	ERGEBNISSE	31
4.1.	Patienten und klinische Daten	31
4.2.	Untersuchungsparameter	46
4.2.1.	Alter und Geschlecht	46
4.2.2.	Gabe von Bluttransfusionen	47
4.2.3.	Verletzungsschwere	50
4.2.4.	Multiorganversagen	53
4.2.5.	Klinisches Outcome	56
5.	DISKUSSION	59
5.1.	Studiendesign	59
5.2.	Patientenkollektiv	60
5.3.	Chemilumineszenzassay	64
5.4.	Massenbluttransfusion	65
5.5.	Verletzungsschwere	67
5.6.	Multiorganversagen	68
5.7.	Klinisches Outcome	70
6.	ZUSAMMENFASSUNG	72
7.	LITERATUR	77
8.	DANKSAGUNG	77
9.	LEBENS LAUF	95

Abkürzungsverzeichnis

APACHE-Score	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
APC	Antigen-presenting Cells
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
CARS	Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome
BE	Base Excess
BWK	Brustwirbelkörper
CARS	Compensatory anti-inflammatory response syndrome
CCT	craniale Computertomographie
CD	Cluster of Differentiation
CRP	C-reaktives Protein
CLIA	Chemilumineszenz-Immunoassay
CSIF	Cytokine Synthesis Inhibition Factor
DGU	Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie
EC	Endothelial Cells
Ek	Erythrozytenkonzentrat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EDH	Epiduralhämatom
FFP	Fresh Frozen Plasma
GCS	Glasgow Coma Scale
HWK	Halswirbelkörper
ICAM-1	Inter-Cellular Adhesion Molecule 1
IL	Interleukin
IL-1 ra	Interleukin-1 Receptor Antagonist
IL-6 r α	IL-6-Rezeptor- α
IRS	Immunrekonstitutionssyndrom
IFN- γ	Interferon-gamma
ISS	Injury Severity Score

kDa	Kilodalton
LBP	Lipopolysaccharide Binding Proteine
LEI	Leukozyten-Endothel-Interaktion
LPS	Lipopolysaccharide
LWK	Lendenwirbelkörper
MARS	Mixed Antagonistic Response Syndrome
MDNC	Monocyte-derived Neutrophil Chemotactic Factor
MHC	Major Histocompatibility Complex
MODS	Multi Organ Dysfunction Syndrome
MOF, MOV	Multi Organ Failure, Multiorganversagen
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MW	Mittelwert
NK-Cells	Natural Killer Cells
PMN	Polymorphonuclear Neutrophils
PCT	Procalcitonin
SAB	Subarachnoidalblutung
SD	Standard Deviation, Standardabweichung
SDH	Subduralhämatom
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
SIR	Systemic Inflammatory Response
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SWK	Sakralwirbelkörper
TGF β	Transforming Growth Factor beta
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha

1. EINLEITUNG UND HINTERGRUND

1.1. Allgemeines zum Begriff des Polytraumas

Der Begriff *Polytrauma* bezeichnet die gleichzeitige Verletzung verschiedener Körperregionen, wobei mindestens eine Verletzung oder die Kombination mehrerer Verletzungen lebensbedrohlich ist (168). Um die Bedeutung des Immunsystems beim schwer verletzten Patienten zu unterstreichen, wurde die Definition später erweitert. Es handelt sich beim Polytrauma um ein Syndrom von Verletzungen mehrerer Körperregionen mit konsekutiven systemischen Funktionsstörungen, die zum posttraumatischen Immunversagen mit nachfolgender Sepsis führt (53).

Im Jahr 2011 wurden gemäß der Auswertung des Traumaregisters der *Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie* (DGU) 1681 schwerstverletzte Patienten mit einem *Injury Severity Score* (ISS) von mehr als 16 Punkten in den kooperierenden Zentren des Traumanetzwerks gemeldet (44). Nicht nur in Deutschland, sondern auch weltweit gilt die durch ein Trauma bedingte Mortalität als führende Todesursache bei Patienten bis zu einer Altersgrenze von 40 Jahren (9;25;181). Dabei haben Verkehrsunfälle den größten Anteil an der Sterblichkeit in dieser Altersgruppe mit 56,7%, wobei fast alle Patienten ein stumpfes Trauma erlitten (9). Nach den derzeitig verfügbaren Registerdaten der DGU liegt bei der Häufigkeit der betroffenen Körperregionen polytraumatisierter Patienten (ISS \geq 16 Punkte) in Deutschland das Thoraxtrauma an erster Stelle mit 61,9% der Fälle, dicht gefolgt von Verletzungen des Kopfes (60,9%) und der Wirbelsäule (34,2%) (44).

Die medizinische Versorgung von schwerverletzten Patienten stellt durch die hohen Behandlungskosten, mehr aber noch durch die hohen Folgekosten, wie z. B. Berentung durch Invalidität ein relevantes volkswirtschaftliches Problem dar. Die Therapiekosten bei überlebenden Patienten belaufen sich durchschnittlich auf 30.462 Euro (44). Der Anteil der männlichen Patienten dominiert mit einem Anteil von 65% (137).

In den letzten Jahrzehnten hat die polytraumabedingte Sterblichkeit bei schwerverletzten Patienten kontinuierlich von etwa 40% in den 1970er Jahren auf

knapp 10% im Jahr 2000 abgenommen (161). Dabei lassen sich verschiedene Faktoren als potentielle Ursachen identifizieren. Innovationen im Bereich der Fahrzeugtechnik und der allgemeinen Straßenverkehrssicherheit haben dazu geführt, dass eine Reduktion der Frühmortalität und Verletzungsschwere zu verzeichnen war. Auf dem Gebiet der präklinischen Versorgung kam es durch die Einführung eines flächendeckenden, 24 Stunden am Tag verfügbaren Rettungsdienstsystems zu einer Verbesserung der Behandlungsmöglichkeiten. Wesentlich ist in diesem Zusammenhang eine Verkürzung der Bergungs- und Transportzeiten durch medizinisch qualifiziertes Personal, die einen Einfluss auf das therapiefreie Intervall des polytraumatisierten Patienten hat. Schließlich konnte durch Anwendung von verbesserten technischen Möglichkeiten in der Traumaversorgung und die Umsetzung von definierten Behandlungsalgorithmen ein Einfluss auf das präklinische und klinische Patientenoutcome ausgeübt werden (3;4;79;82). Insgesamt wurde dadurch der Patientenanteil erhöht, der trotz schwerster Verletzungen das Krankenhaus lebend erreicht.

Dennoch stellt die Frühmortalität bei der Versorgung polytraumatisierter Patienten weiterhin ein relevantes Problem dar. Statistische Auswertungen an 12.500 Patienten des Traumaregisters der DGU im Jahr 2003 zeigten, dass 49,6% aller Patienten innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma versterben. Wesentliche Prädiktoren der Frühmortalität sind dabei Reanimationsbedingungen, ISS, Quickwert, *Glasgow Coma Scale* (GCS), *Base Excess* (BE) und schweres Beckentrauma. Im weiteren Verlauf verstarben im Rahmen dieser Untersuchung 15,6% der Patienten im Zeitraum zwischen 24 und 72 Stunden nach dem Trauma (Intermediärmortalität) und etwa ein Drittel (35,1%) nach 72 Stunden und später (Spätmortalität) (145). Als Folge ergeben sich durch dieses Patientenkollektiv eine Reihe von Spätkomplikationen, die jenseits der initialen klinischen Therapie liegen (33). Dieses Phänomen ist in der Literatur als *Multi Organ Failure* (MOF) bzw. *Multi Organ Dysfunction Syndrome* (MODS) beschrieben worden (118). Eine Erklärung für die Entzündungsreaktion könnte in den körpereigenen Reparaturmechanismen liegen. Erleidet ein Individuum ein Trauma werden lokale Reparaturmechanismen aktiviert, die zu einer Heilung des geschädigten Gewebes führen sollen. Bei einem

polytraumatisierten Patienten kann es durch eine Dysfunktion dieser Heilungsmechanismen zu einer überschießenden Immunantwort kommen. Im weiteren Verlauf werden dadurch auch Organsysteme geschädigt, die am ursprünglichen Trauma unbeteiligt waren.

Die hierfür verantwortlichen Vorgänge werden im Folgenden näher erläutert:

1.2. Das posttraumatische SIRS und MOF

Der Zustand eines MOF oder einer MODS ist als das gleichzeitige oder sequentielle Versagen oder die Funktionseinschränkung verschiedener lebenswichtiger Organsysteme definiert (51;165). In einem engen Zusammenhang mit dem Begriff des Multiorganversagens steht der Begriff des *Systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) (10;123). Dabei kann eine generalisierte Entzündungsreaktion des Organismus diagnostiziert werden, die auch in Organsystemen stattfindet, die vom ursprünglichen Trauma nicht betroffen sind. Um die klinische Diagnose des SIRS zu stellen, müssen zwei der unten aufgeführten Kriterien erfüllt sein (Abbildung 1):

Körpertemperatur	> 38°C oder < 36°C
Herzfrequenz	> 90/min
Atemfrequenz/ Kohlendioxidpartialdruck	> 20/min oder pCO ₂ < 32 mmHg
Leukozytenzahl	>12000 µl ⁻¹ oder < 4000 µl ⁻¹ oder > 10% unreife Formen

Abbildung 1: Klinische SIRS-Kriterien nach Bone et al (19)

Einige polytraumatisierte Patienten überleben die kritische Phase des SIRS. Das Immunsystem scheint dabei einer überschießenden Inflammation durch dämpfende Einflüsse entgegenzusteuern. Dieses Phänomen wurde in der Literatur als *Compensatory anti-inflammatory response syndrome* (CARs) bekannt (18). In

dieser kompensatorischen Phase sind die Patienten besonders gefährdet, an Infektionen zu erkranken und an einem späten Multiorganversagen (late MOF/ MODS) zu versterben (104). Nach gegenwärtigem Stand der chirurgischen Forschung wird mehrheitlich davon ausgegangen, dass die Phänomene SIRS und CARS gleichzeitig ablaufen und nicht mehr zeitlich getrennt betrachtet werden sollten. Dieser Zustand wird als *Mixed Antagonistic Response Syndrome* (MARS) bezeichnet (18). Eine wesentliche therapeutische Herausforderung stellt dabei die Beherrschung der septischen Komplikationen dar (107). Bereits vor mehr als 30 Jahren wurde zum Verständnis der Pathophysiologie der Entstehung der posttraumatischen Inflammation und Sepsis die sogenannte „Two hit“-Theorie entwickelt. Dabei entgleist das Immunsystem des polytraumatisierten Patienten durch das initiale Trauma (*first hit*), sodass es durch komplexe Signaltransduktionskaskaden zur Ausbildung eines posttraumatischen Organversagens kommt. Das Vorkommen dieser sekundären Schädigung nach Überwindung der initialen Stabilisierungsphase wurde als *second hit*-Phänomen beschrieben (166). Als *second-hit* kommen beim schwerstverletzten Patienten u. a. in Frage (167):

- Operationstrauma bzw. falscher Operationszeitpunkt
- Massentransfusion
- Nosokomiale Infektionen
- Unzureichendes Weichteildébridement
- Temporäre Hypoxie
- Verzögerte enterale Ernährung

Im weiteren posttraumatischen Verlauf können dabei jede zusätzliche Schädigung und eine massive Mediatorenproduktion zu einer überschießenden immuninflammatorischen Reaktion führen. Bei der chirurgischen Versorgung von Frakturen hat sich gezeigt, dass das Ausmaß des Operationstraumas und die Wahl eines zu frühen Operationszeitpunkts eine immunologische Aktivierung bewirken können. In den letzten Jahrzehnten ist man deshalb im Rahmen der

Therapie bei Mehrfachverletzten dazu übergegangen, die definitive Frakturversorgung auf einen späteren Zeitpunkt zu verschieben. Dem Einsatz des Fixateur externe kommt dabei durch sein intraoperativ geringes Weichteiltrauma eine besondere Bedeutung bei der frühen chirurgischen Versorgung zu (130).

Einige Studien der letzten Zeit geben Hinweise darauf, dass besonders den proinflammatorischen Zytokinen im Rahmen des posttraumatischen und postoperativen SIRS und dem konsekutiv assoziierten MOF eine starke Bedeutung beigemessen werden müssen (57;147;185). So konnte im experimentellen Tierversuch nachgewiesen werden, dass die Infusion rekombinanter proinflammatorischer Zytokine eine MODS hervorrufen bzw. deren Blockade die Entwicklung eines Kreislaufversagens durch MOF hemmen kann (138).

Des Weiteren weisen mehrere Arbeiten darauf hin, dass neben den posttraumatischen und postoperativen Risikofaktoren eine weitere Einflussgröße bei der Versorgung von polytraumatisierten Patienten auf die Entstehung eines SIRS und Multiorganversagens hat. Demnach wird die Verabreichung von Erythrozytenkonzentraten (Ek) als eine unabhängige Einflussgröße für eine erhöhte Mortalität nach einem Polytrauma angesehen (49;113;117;154).

1.3. Bedeutung des unspezifischen und spezifischen Immunsystems nach einem Polytrauma

Die immunologische Antwort nach einem Polytrauma spielt eine wesentliche Rolle bei den nachfolgenden Prozessen. Das Immunsystem kann in eine „unspezifische“ und eine „spezifische“ Komponente untergliedert werden.

Zur unspezifischen oder auch angeborenen Immunabwehr gehören anatomische und physiologische Barrieren wie Epithelien, die zellvermittelte Phagozytose (Monozyten/ Makrophagen), die Erregerabwehr durch *Polymorphonuclear Neutrophils* (PMN) und das Komplementsystem. Die spezifische Immunantwort wird innerhalb eines kurzen Zeitintervalls nach einem Antigenkontakt aktiviert, ist aber durch die Erbinformation lebenslang terminiert. Im Gegensatz dazu zeichnet sich das spezifische oder auch adaptive Immunsystem durch seine

Anpassungsfähigkeit aus. In Folge dieser Variabilität ist das Immunsystem in der Lage, auf Krankheitserreger mit spezifischer Produktion von Antikörpern und Adaptation von zellulären Mechanismen zu reagieren. Wesentliche Komponenten des adaptiven Immunsystems sind neben den *antigenpräsentierenden Zellen* (Antigen-Presenting Cells, APC) die T-Lymphozyten für die zellvermittelte und die B-Lymphozyten für die humorale Immunantwort. Nach einem Antigenkontakt verbleiben sogenannte Gedächtniszellen im Organismus, die bei einem erneuten Erregerkontakt reaktiviert werden (39;54;81;172).

Wie bereits erwähnt, zeigen aktuelle Untersuchungen, dass das SIRS und CARS nicht mehr ausschließlich dem unspezifischen oder spezifischen Immunsystem zugerechnet werden sollten (36;80;83). Dabei scheint auch der von Mannick et al. (104) postulierte zeitliche Ablauf von SIRS und nachfolgendem CARS bei kritischer Betrachtung einem Wandel unterworfen zu sein. Beide Phänomene treten wahrscheinlich gleichzeitig an verschiedenen Körperregionen auf (17;24;39;84;134;148;172;175).

Die genaue Entschlüsselung der komplexen immunologischen Prozesse nach einem Polytrauma ist weiterhin Ziel der medizinischen Forschung. Im Folgenden sollen die grundsätzlichen Abläufe der humoralen und zellulären Komponenten des unspezifischen und spezifischen Immunsystems kurz dargestellt werden.

1.3.1. Humorale Mediatoren

Die humorale Immunantwort hat eine wichtige Funktion bei der ersten Abwehr von körperfremden Stoffen wie Bakterien und Viren. Dabei wird eine Schutzfunktion gewährleistet, bis andere Systeme wie z. B. die Lymphozyten diese Funktion übernehmen. Im Mittelpunkt des humoralen Abwehrsystems stehen Plasmaproteine wie Albumin und Globulin, die passiv im Blut- und Lymphsystem zirkulieren (139). Bei einem Trauma bewirkt die Zerstörung von Gewebe eine Ischämie mit konsekutiver Reperfusion. Dieser Vorgang bewirkt durch den Kontakt mit immunogener Gewebematrix die Aktivierung des Komplementsystems über den klassischen und alternativen Weg (58;73;179). Dabei wird die Komponente C5

durch limitierte Proteolyse zu C5b umgewandelt, um am Ende eines komplexen Kaskadensystems den sogenannten „lytischen Komplex“ auszubilden. Nachfolgend entsteht bei der Abwehr von Bakterienzellen eine elektronenoptisch sichtbare Pore in der Zellmembran, die zum Funktionsverlust und damit zur Zellyse führt. Der Vorgang der Markierung von antigenen Strukturen durch Spaltprodukte des Komplementsystems auf der Zelloberfläche wird als Oponierung bezeichnet. Die opsonierten Gewebestrukturen werden durch Granulozyten und Monozyten phagozytiert. Bei einem polytraumatisierten Patienten kann es durch eine überschießende Immunreaktion zu einem erhöhten Verbrauch von Komplementfaktoren kommen, sodass dieses immunologische Abwehrsystem destabilisiert wird (41). Im Tierversuch an Ratten konnte eine dosisabhängige Reduktion der Lungenpermeabilität und Menge der Myeloperoxidase nach intravenöser Applikation von anti-C5a nachgewiesen werden. Dabei unterdrückte die Behandlung mit anti-C5a die vermehrte Ausschüttung von *lung vascular intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) (116). Schließlich konnte im Rahmen einer anderen Studie durch die Reduktion der *Tumornekrose alpha*-Level ($\text{TNF}\alpha$) ein direkter Zusammenhang mit dem Komplement C5a nachgewiesen werden (29). Durch eine erhöhte Ausschüttung von $\text{TNF}\alpha$ und *Interleukin-6* (IL-6) werden in der Leber vermehrt Akutphaseproteine wie Fibrinogen und das *C-reaktive Protein* (CRP) synthetisiert (43). In Kombination mit *Interferon-gamma* ($\text{IFN}\gamma$) wird die Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen aus Monozyten und Makrophagen getriggert (125). Weitere Studien haben nachgewiesen, dass freie Sauerstoffradikale, Stickstoffmonoxid (NO) mit seinem Abkömmling Peroxynitrit und Phospholipase A_2 als Mediatoren des unspezifischen Immunsystems bei polytraumatisierten Patienten agieren (142;141;164;188). Bei der Entstehung eines posttraumatischen SIRS werden Stoffe in den systemischen Kreislauf emittiert, die ihre Wirkung nicht nur lokal, sondern im gesamten Körperkreislauf entfalten. Zahlreiche Forschungsarbeiten wiesen eine extrazelluläre Ausschüttung von pro- und antiinflammatorischen Mediatoren nach (62;66;81;102;119;131;143;150). Zu den proinflammatorisch wirkenden Zytokinen werden neben $\text{TNF}\alpha$ auch IL-6 und IL-8

gezählt. Antiinflammatorisch reagierende Zytokine sind Interleukin-10, *Transforming Growth Factor beta* (TGF β) und *Interleukin-1 Receptor Antagonist* (IL-1 ra). Erleidet ein Patient ein Trauma, können diese Faktoren in der unmittelbaren posttraumatischen Phase in Abhängigkeit von der Schwere des erlittenen Traumas im Blut gemessen werden. Es gibt Hinweise darauf, dass das klinische Outcome mit der Menge der ausgeschütteten Zytokine im Rahmen des zeitlichen Ablaufs der posttraumatischen Reaktion zu korrelieren scheint (20;133). Ein Konzentrationsanstieg dieser ausgeschütteten Mediatoren bewirkt eine Adaptation des zellulären Immunsystems. Die zellulären Mediatoren sollen im folgenden Abschnitt erläutert werden.

1.3.2. Zelluläre Mediatoren

Im Verlauf der initialen posttraumatischen Immunantwort spielen vor allem die zellulären Komponenten des unspezifischen Immunsystems eine wichtige Rolle. Dabei werden die folgenden Abläufe durch das Monozyten/ Makrophagen-System und *polymorphonukläre Leukozyten* (PMN) gesteuert. Durch Phagozytose werden Proteinantigene internalisiert und durch Proteolyse fragmentiert. Die entstehenden Fragmente werden zusammen mit einem spezifischen Membranproteinrezeptor (*Major histocompatibility complex*, MHC) der Klasse MHC II auf der Zelloberfläche einem T-Lymphozyten präsentiert und aktivieren das spezifische Immunsystem (23;28). Durch den Kontakt mit den Antigen-präsentierenden Makrophagen werden T-Lymphozyten zu T-Effektorzellen und T-Gedächtniszellen umgewandelt (13;50). Die T-Effektorzellen werden in weitere Subpopulationen untergliedert. Die T-Lymphozyten verfügen über einen spezifischen T-Zellrezeptor, der über hoch spezifische Peptidantigene mit dem MHC bindet. Durch Ligandenbindung an den T-Zellrezeptor wird die Sekretion von Interleukinen induziert (56), welche die Proliferation von T-Lymphozyten steuert. Gleichzeitig werden weitere Zytokine (u. a. IL-6, IL-10) durch die T-Helferzellen sezerniert, wodurch die Differenzierung der B-Lymphozyten und Monozyten gefördert wird. Die Aktivierung der zytotoxischen CD-8⁺-T-Lymphozyten (*Cluster of Differentiation*, CD) führt über eine

Wechselwirkung mit Proteinen der Klasse MHC I zu einer komplexen Signaltransduktion mit Änderung der Genexpression. Diese fördert die Synthese zytotoxischer Proteine wie Membranporen-bildende Proteasen und Perforine, welche die Antigen-präsentierenden Zellen selektiv abtöten. Regulatorische T-Zellen (T-Suppressor-Zellen) sollen eine überschießende Aktivierung des Immunsystems verhindern, wie sie auch bei polytraumatisierten Patienten auftreten kann (26).

Die Aktivierung der B-Lymphozyten ist ein komplexer mehrstufiger Vorgang, der initial mit der Expression des B-Lymphozytenrezeptors auf B-Lymphozyten beginnt. Durch Bindung eines Antigens an diesen B-Zell-Rezeptor wird der Liganden-Rezeptor-Komplex aufgenommen und fragmentiert, sodass die entstehenden Antigenpeptide durch MHC der Klasse II auf der Zelloberfläche präsentiert werden. Eine Wechselwirkung mit CD 4⁺-T-Lymphozyten führt über eine klonale Expansion zu einer Aktivierung der B-Lymphozyten. Am Ende der Kaskade differenzieren sich die aktivierten B-Lymphozyten zu Plasma- oder Gedächtniszellen. Plasmazellen synthetisieren und sezernieren Immunglobuline. Der kleinere Anteil der B-Lymphozyten, die sich zu Gedächtniszellen differenzieren, spielen bei der primären Immunantwort keine Rolle, können aber bei erneutem Antigenkontakt spezifische Immunglobuline ausschütten (Übersichtsarbeiten: (92;187)).

Entsprechend der Darmhypothese wird als Ursache für die Entstehung eines posttraumatischen SIRS die Beteiligung von Bakterien und deren Endotoxinen vermutet. Dabei sollen die translozierten Bestandteile der Bakterien den immunkompetenten Darmmukosazellen als Antigene präsentiert und in den systemischen Kreislauf aufgenommen werden. Als Grundlage wird eine Ischämie durch eine gastrointestinale Verletzung von mesenterialen Gefäßen oder eine schockbedingte Ischämie als indirekte Ursache angenommen (42;67). In der Folge können Bakterien und Endotoxine über die geschädigte Darmmukosa aufgenommen werden (38). Über die Vena portae kommt es nach einer Reperfusion zu einer lokalen Entzündungsreaktion mit Aktivierung von Kupferzellen in der Leber. Dadurch werden Zytokine aus den Kupferzellen

sezerniert. In der Folge werden pro- bzw. antiinflammatorische Mediatoren und durch Translokation veränderte pathogene Erreger in den systemischen Kreislauf eingeschwemmt. Dieses Phänomen wurde in der Literatur als „reflow paradoxon“ bekannt und berücksichtigt neben der initialen Ischämie die Reperfusion als Ursache für eine Gewebeschädigung (110). Im weiteren immunologischen Ablauf soll dadurch ein SIRS entstehen (40). Im Gegensatz dazu zeigte eine Studie, dass bei schwerverletzten Patienten mit gastrointestinaler Perfusionsstörung keine Bakterien und Endotoxine gemessen werden konnten (112). Die bestehende Darmhypothesentheorie wurde deshalb dahingehend modifiziert, dass das gastrointestinale System eine Aktivierungsfunktion bei der Zytokinausschüttung und Entstehung eines SIRS übernimmt (40;152).

Bis zum heutigen Zeitpunkt ist es der medizinischen Forschung noch nicht gelungen, die Rolle des spezifischen Immunsystems bei der posttraumatischen Inflammation zu entschlüsseln. Neben den bestehenden Hypothesen werden davon unabhängige Aktivierungsmöglichkeiten des Immunsystems in der Literatur diskutiert (77;121;136). So können *Natural killer cells* (NK-cells), die zur Gruppe der Lymphozyten zählen, direkt durch das Komplement-System oder der Monozyten aktiviert werden, ohne dass ein spezifisches Antigen synthetisiert werden muss (121;136).

In diesem Zusammenhang wurde bisher unzureichend charakterisiert, welche intrazellulären Initialmechanismen die Steuerung der posttraumatischen Abwehrreaktion von Monozyten, Makrophagen und Granulozyten induzieren. Aktuelle Veröffentlichungen geben Hinweise darauf, dass die Bildung von immunmodulatorisch wirksamen Effektor-Proteinen (Zytokine/ Chemokine, Zell-Oberflächenmoleküle, Proteasen, Inhibitoren, etc.) über spezielle Signaltransduktionskaskaden gesteuert werden (15). Extrazellulär wirksam ist dabei eine große Anzahl von Interleukinen.

1.4. Proinflammatorische Zytokine

Zytokine sind zentrale Regulatoren der körpereigenen Immunabwehr, deren Freisetzung durch verschiedene Faktoren, wie Infektionen, Trauma und Entzündungen initiiert werden kann. Diese Peptide haben ein Molekulargewicht zwischen 8 bis 50.000 Dalton und sind damit verhältnismäßig leicht. Im Vergleich dazu hat das quantitativ bedeutsamste Plasmaprotein Albumin ein Molekulargewicht von 69.000 Dalton (15). In der erstmaligen Beschreibung wurden diese Mediatoren als „Lymphokine“ oder auch als „Monokine“ bezeichnet, um auf ihren zellulären Ursprung hinzudeuten. Die Tatsache, dass die Zytokine von fast jeder kernhaltigen Zelle produziert werden können, führte zu ihrem aktuell verwendeten Namen „Interleukin“ (IL) (71). Zytokine stellen, neben Hormonen und Neurotransmittern, die wichtigsten Kommunikationsmittel zwischen humanen Zellen dar. Sie beeinflussen das Wachstum und die Funktion körpereigener Zellen durch auto-, para- und endokrine Mechanismen. Art und Quantität der Interleukinproduktion hängen von der Zellart, deren Differenzierungsgrad und dem Aktivierungszustand ab.

Eine gebräuchliche Einteilung dieser Mediatoren in pro- und antiinflammatorische Zytokine erfolgt anhand ihrer Rolle im Rahmen von Entzündungsreaktionen. Eine starre Einteilung hat sich hierbei allerdings als nicht sinnvoll erwiesen, da einige Zytokine sowohl pro- als auch antiinflammatorische Wirkungsmechanismen aufweisen (71). Lendemans et al. konnten im Rahmen einer Studie nachweisen, dass die IL-6 Konzentrationen nach einem schweren Trauma deutlich erhöhte Werte aufweisen. Sowohl in der Gruppe der Patienten ohne Organversagen als auch bei Patienten, die im Verlauf die Kriterien eines MOF erfüllten, waren die Serumkonzentrationen initial gleich hoch. Ein erneuter Anstieg war jedoch nur in der Gruppe der Patienten mit einem MOF in der zweiten Woche nach dem Trauma zu beobachten (96). Die Verfasser der Untersuchung folgerten aus den Daten, dass die kontinuierliche Messung von IL-6 Levels eine adäquate Möglichkeit darstellt, um die posttraumatische Entzündungsreaktion und die Entstehung eines Multiorganversagens zu überwachen. Eine Korrelation zwischen Anstieg der

Plasma-IL-6-Konzentrationen und der Dauer von operativen Eingriffen konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden (34;155). Auch das Ausmaß und die Lokalisation der chirurgischen Behandlung scheinen die Ausschüttung der systemischen Zytokinkonzentrationen zu beeinflussen (142). So wurde im Rahmen einer Studie untersucht, dass bei einer Hernienoperation die IL-6 Levels signifikant niedriger liegen als bei einem großen gefäßchirurgischen Eingriff. Gleichzeitig wurden dabei auch signifikante perioperative Erhöhungen von IL-1 β in Abhängigkeit von der Größe des Operationsfeldes nachgewiesen (7). Es scheint dabei ein Zusammenhang zwischen dem durch die Operation verursachten Gewebeschaden und dem Anstieg der Interleukinlevel zu bestehen.

1.4.1. Interleukin-6

Das IL-6 baut sich aus vier geraden α -Helices auf und wird überwiegend von T- bzw. B-Lymphozyten, Monozyten und Endothelzellen gebildet (71). Die IL-6 Synthese wird durch *Lipopolysaccharide* (LPS), IL-1 β und TNF- α induziert. Im Rahmen von experimentellen Studien konnte bestätigt werden, dass die IL-6 Ausschüttung nach der Applikation von Endotoxin später einsetzt, als die von TNF- α und IL-1 β . Daneben wurde ermittelt, dass diese beiden Zytokine die IL-6 Produktion triggern (153;176).

IL-6 interagiert mit dem *IL-6-Rezeptor- α* (IL-6 $r\alpha$) (151) und mit Plasma-Membran-Rezeptoren (68). Daneben induziert es die Proliferation von B-Lymphozyten und die damit assoziierte Erhöhung der Immunglobulinsynthese (71). Des Weiteren führt IL-6 zu einer verstärkten T-Lymphozytenproliferation, einer vermehrten Differenzierung von zytotoxischen T-Zellen und einer erhöhten Aktivität der NK-Cells (71). In einer Studie wurde beschrieben, dass IL-6 die Apoptose von neutrophilen Granulozyten verzögern und damit potentiell gewebsschädigende Einflüsse verlängern kann (98). Im Rahmen derselben Untersuchung wurde beobachtet, dass IL-6 in der Leber die Synthese anderer Mediatoren auslöst, wie z. B. Fibrinogen, α_1 -Antitrypsin, CRP und Komplementfaktoren (98). Eine prä- und

postoperative IL-6 Messung an Patienten mit Prognathie und komplexer Mund-Kiefer-Gesichtschirurgischer Rekonstruktion bestätigte den Verdacht, dass das Verhältnis von IL-6 zu IL-10 dazu geeignet ist, eine Aussage zu treffen, welche Patientengruppe ein SIRS oder MODS entwickelt. Im Patientenkollektiv der SIRS-Gruppe wurden dabei signifikant höhere IL-6 Levels als ohne die Entwicklung eines SIRS erreicht. Zusätzlich war der Quotient von IL-6 zu IL-10 in der Gruppe mit SIRS Kriterien erhöht (111). Neben diesen proinflammatorischen Eigenschaften wird auch ein antiinflammatorischer Wirkmechanismus des IL-6 angenommen. Es konnte gezeigt werden, dass IL-6 die Synthese von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α und IL-1 reduziert. Daneben wird die Freisetzung von antiinflammatorischen Mediatoren wie Glukokortikoiden, IL-1 ra und löslichen TNF-Rezeptoren erhöht. Im Zusammenhang mit der Versorgung von schwerstverletzten Patienten wurde eine starke Korrelation zwischen Verletzungsschwere und Höhe der systemischen Plasmakonzentrationen von IL-6 gefunden. Patienten mit einem hohen ISS von mehr als 32 Punkten erzielten im Rahmen einer Studie die höchsten Messwerte (62). Es wurde geschlussfolgert, dass es mit der klinischen Messung von IL-6 möglich ist, die Verletzungsschwere unabhängig vom Verletzungsmuster abzuschätzen. Zahlreiche Untersuchungen (7;34;72;155;169) bei elektiven chirurgischen Eingriffen haben bestätigt, dass die im Plasma gemessenen IL-6 Level in einer Beziehung zu dem Ausmaß des Operationstraumas stehen. Die Höhe des systemisch zirkulierenden IL-6 scheint dabei in Abhängigkeit vom gesetzten Gewebeschaden ausgeschüttet zu werden. Bei der Polytraumaversorgung hat sich IL-6 durchgesetzt, da es im Vergleich zum TNF- α und IL-1 β einen späteren Anstieg bei einer längeren Halbwertszeit zeigt (71). Dadurch ist das IL-6 besonders als Parameter für die Planung des Ausmaßes und des Zeitpunktes sekundärer Eingriffe nach einem Polytrauma geeignet (129).

1.4.2. Interleukin-8

IL-8 hat ein Molekulargewicht von 8 Kilodalton (kDa) und wurde erstmals im Jahr 1987 im Zusammenhang mit der Entdeckung des *Monocyte-derived Neutrophil*

Chemotactic Factor (MDNCF) beschrieben (109;186). Dabei wurden humane LPS-stimulierte Monozyten untersucht und schließlich der wichtigste Angriffspunkt des IL-8 entschlüsselt: neutrophile Granulozyten. Aufgrund seiner multiplen Funktionen und Erforschung weiterer Chemokine wurde MDNCF später in IL-8 umbenannt (8). Heute fungiert es als Teil des sogenannten „Zytokinnetzwerks“. Die Expression und Sekretion des IL-8, einem der Hauptvertreter der C-X-C-Untergruppe der Chemokine wird unter anderem durch inflammatorische Stimuli aus *Endothelial Cells* (EC), Monozyten, Epithelzellen und induziert (115). Besonders EC scheinen dabei eine entscheidende Funktion als Speicherort des IL-8 in sogenannten Weibel-Palade-Bodies zu übernehmen (184). Diese Zellstrukturen leiten sich vom Golgi-Apparat ab und sind spezifisch für EC (178). Die wesentlichen biologischen Wirkungen von IL-8 auf Granulozyten beinhalten die Förderung der chemotaktischen Aktivität von T-Lymphozyten (27), die Stimulation der Expression von Adhäsionsmolekülen und die Aktivierung mit Freisetzung von Sauerstoffradikalen und Granula (55). In experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass IL-8 das Lösen (Shedding) des L-Selektins von der Zelloberfläche neutrophiler Granulozyten induziert und zusammen mit TNF- α , IL-1 und IL-6 die Expression von Adhäsionsmolekülen (β_2 -integrins: CD_{11b}/CD₁₈ und CD_{11c}/CD₁₈) auf den Endothelzellen reguliert (71). Hierdurch kann eine Adhäsion der neutrophilen Granulozyten an endothelialen Monolayern induziert werden (114). Des Weiteren stimuliert IL-8 die anschließende Migration der neutrophilen Granulozyten durch das Endothel und die Freisetzung von gewebeschädigenden Substanzen (Proteasen, Superoxiden, etc.) (71). Im Tiermodell konnten die Infiltration der Granulozyten und der anschließende Gewebeschaden durch eine Aktivitätsminderung des IL-8 reduziert werden (114). Neben diesen für den menschlichen Körper lebenswichtigen Funktionen konnten in tierexperimentellen Studien auch potentiell schädigende Effekte des IL-8 nachgewiesen werden. Sowohl bei Auftreten eines *Acute respiratory distress syndrome* (ARDS) als auch im Rahmen eines Ischämie-Reperfusion-Syndroms wurde belegt, dass die Hemmung der Apoptose der neutrophilen Granulozyten die gewebsschädigende Reaktion verlängert (114). Messungen von IL-8 Konzentrationen an schwangeren

Probandinnen zeigten, dass erhöhte systemische Werte besonders im zweiten Trimenon mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von psychiatrischen Erkrankungen wie z. B. Schizophrenie einhergehen. Als Erklärungsmodelle wurden eine pränatale Infektion des Uterus oder eine nichtinfektiöse Ursache (Präeklampsie, Frühgeburtlichkeit, erhöhter Body Mass Index) herangezogen (22).

Bei polytraumatisierten Patienten hat IL-8 neben IL-6 eine diagnostische und prognostische Bedeutung in Hinblick auf operative Behandlungsstrategien gewonnen (129). Zur Minimierung der Belastung mit proinflammatorischen Mediatoren hat sich ein gestuftes Versorgungskonzept mit Primärstabilisierung aller relevanten Frakturen und Weichteilschäden und zeitliche Aufschiebung sekundärer Rekonstruktionen oder Verfahrenswechsel durchgesetzt. Besonders operative Eingriffe in der vulnerablen Phase zwischen dem zweiten und fünftem Tag nach einem Polytrauma verursachen signifikant höhere IL-8 Level als im darauffolgenden Therapieintervall ab Tag sechs (99).

1.5. Antiinflammatorische Zytokine

Das IL-10 ist das wichtigste antiinflammatorische Zytokin der menschlichen Immunantwort. Es besitzt die Struktur eines Homodimers, das sich aus zwei Proteinen mit einer Größe von jeweils 18 kDa zusammensetzt. Diese bestehen aus je 160 Aminosäuren (75;127). IL-10 wird überwiegend von CD_4^+ -Th₂-Zellen synthetisiert, kann aber auch von B-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen freigesetzt werden. Die Synthese des IL-10 kann durch TNF- α , IL-1, Endotoxine, Viren und LPS stimuliert werden (71). Es konnte experimentell nachgewiesen werden, dass sich die Bindungsstelle für IL-10 an einem zellulären Rezeptor befindet (IL-10 R) (171). Das IL-10 entfaltet seine Wirkung durch Hemmung der Synthese von proinflammatorischen Zytokinen. Dabei kommt es zu einer reduzierten Gentranskription und einem vermehrten Abbau der *Messenger Ribonucleic Acid* (mRNA) von entzündungsfördernden Interleukinen (56;126). Die inhibierende Funktion des IL-10 wirkt auf zahlreiche Zellpopulationen und

Zellstrukturen. Es besitzt eine potente inhibierende Wirkung auf Zytokine der Gruppe Th1, zu denen IL-2 und IFN- γ gehören (75;90;127). Diese Eigenschaft führte zur ursprünglichen Bezeichnung des IL-10 als *Cytokine Synthesis Inhibition Factor* (CSIF) (126). Zusätzlich zu seiner Funktion als Zytokin der Gruppe Th2, kann es die Synthese der durch Makrophagen und Monozyten vermittelten Immunantwort unterbinden (21;30). Daneben unterdrückt es die Expression der Oberflächenmoleküle MHC II, des Signalmoleküls CD 14 und die immunologische Identifikation von LPS (127). Neben seiner inhibierenden Wirkung auf die Synthese von proinflammatorischen Zytokinen (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) induziert IL-10 die systemische Freisetzung (Shedding) von TNF-Rezeptoren von der Zelloberfläche und trägt somit zu einer rascheren Inaktivierung des TNF- α bei (45;77;78). IL-10 kann im Serum von Patienten mit Systemerkrankungen und in den verschiedenen Stadien der Sepsis im Rahmen der inflammatorischen Immunantwort gemessen werden (171). Es konnte nachgewiesen werden, dass bei Patienten mit hohen IL-10 Konzentrationen und einem geringen Anteil von TNF- α eine höhere Wahrscheinlichkeit besteht, an einer durch Meningokokken induzierten Sepsis zu versterben (95;180). Im Verlauf einer Studie an 464 Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme eine Körpertemperatur von mehr als 38,0° Celsius gemessen wurde, konnte bei dem verstorbenen Patientenkollektiv eine bis zu zwei Mal höhere IL-10 Konzentration im Serum im Vergleich zu den überlebenden Patienten nachgewiesen werden (173). Wie bei allen Interleukinen scheint es auch bei IL-10 Hinweise darauf zu geben, dass eine inadäquate systemische Ausschüttung nachteilige physiologische Konsequenzen nach sich ziehen kann. So verursachen niedrige Konzentrationen von IL-10 bei Patienten mit einer akuten Lungenverletzung einen schwereren Verlauf eines resultierenden ARDS mit einer größeren Beteiligung von Lungengewebe (47). Im Tierversuch wurde die Vermutung bestätigt, dass die Gabe von IL-10 bei Endotoxämie die Überlebenschancen verbessert (105). Darüber hinaus wurden bei Versuchsmäusen, bei denen eine artifizielle Deletion des Gens für IL-10 durchgeführt wurde, ein erhöhtes Risiko für einen durch das *Listeria monocytogenes* Endotoxin induzierten Schock nachgewiesen (37). Bei IL-10

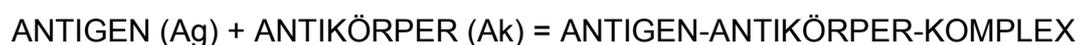
Knock-Out-Mäusen wurde die Entstehung einer chronisch entzündlichen Enteritis beobachtet, die beim Menschen an das Krankheitsbild einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung erinnert (88). Im Verlauf einer klinischen Studie an freiwilligen Patienten, denen eine Dosis von einem Endotoxin und IL-10 in einer bestimmten Konzentration verabreicht wurde, konnte ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang gefunden werden. In der Patientengruppe, welcher IL-10 unmittelbar vor der Endotoxinbelastung appliziert wurde, kam es zu deutlich geringeren systemischen Symptomen wie Fieber, neutrophilem Granulozytenanstieg und Produktion von inflammatorischen Zytokinen im Vergleich zu der mit einem Placebo behandelten Kontrollgruppe (128). Im Rahmen einer Untersuchung an herzchirurgischen Patienten konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Serumlevel von IL-6, TNF- α und IL-10 ab dem ersten postoperativen Tag nachgewiesen werden. Ein signifikanter Abfall der Messparameter wurde ab dem fünften postoperativen Tag verzeichnet. Dabei konnte ein biphasischer Verlauf der postoperativen Immunantwort gemessen werden. Das unspezifische IL-10 wird in den ersten Tagen nach einem operativen Eingriff vermehrt ausgeschüttet, um später im Zusammenhang mit der spezifischen Immunantwort von IL-5 abgelöst zu werden (59).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass IL-10 im Rahmen der systemischen Immunantwort eine protektive Rolle nach einer durch Endotoxine induzierten Sepsis spielt. Dabei scheint dem Gleichgewicht zwischen inhibierender Inflammation und überschießender Sepsis eine besondere Bedeutung beigemessen zu werden (65;170). Durch zahlreiche Studien an schwerverletzten Patienten konnte nachgewiesen werden, dass jedes größere Trauma mit erhöhten Konzentrationen von IL-10 vergesellschaftet ist (106;120;156). Dabei stehen die erhöhten Plasmalevel in einem engen Zusammenhang mit der Verletzungsschwere, der Mortalität und der Inzidenz von posttraumatischen Komplikationen. Es konnte gezeigt werden, dass die Wahrscheinlichkeit der Entstehung einer Sepsis nach einem schweren Trauma mit einer reduzierten Produktion von Zytokinen der Gruppe Th 1 (IL-2, IFN- γ) und einer Persistenz von Zytokinen der Gruppe Th 2 (IL-4, IL-10) einhergeht. Schwerverletzte Patienten mit

den Anzeichen eines septischen Schocks haben demnach erhöhte Konzentrationen von IL-10 (106). Interessanterweise scheint besonders die Kombinationsverletzung aus einem polytraumatisierten Patienten mit einem Schädel-Hirn-Trauma (SHT) für die Ausschüttung hoher Level von IL-10 verantwortlich zu sein (151).

1.6. Immunoassay-Technik

Die Immunoassay-Technik ist eine Analysemethode, bei der durch eine immunologische Reaktion der quantitative und qualitative Nachweis einer Testsubstanz (Antigen oder Antikörper in einer Körperflüssigkeit) erbracht werden kann. Immunoassays werden in jüngster Zeit für eine große Anzahl von Testsubstanzen im klinischen Alltag verwendet. Die wichtigsten Anwendungsgebiete sind u. a.: Allergiediagnostik, Bestimmung von Anämieparametern, therapeutisches Medikamentenmonitoring, Anwendung bei Autoimmunerkrankungen zur Antikörperbestimmung, Hormonstatus bei Fertilitätsuntersuchungen und Schilddrüsen-, Nebennieren-, Diabetesdiagnostik, Wachstumshormonuntersuchungen, im Bereich der Kardiologie zum Nachweis von Herzenzymen, im Teilbereich der Onkologie zum Nachweis von Tumormarkern und bei der Infektionsserologie beispielsweise zum Nachweis einer Hepatitisinfektion. Eine weitere Nutzung stellt daneben die Sepsisdiagnostik bei intensivpflichtigen Patienten dar. Als entscheidende Parameter gelten hier IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10, *Lipopolysaccharide Binding Proteine* (LBP), *Procalcitonin* (PCT) und CRP (158). Im Rahmen dieses breiten Anwendungsspektrums werden Immunoassays in letzter Zeit in unterschiedlichen Modifikationen kommerziell angeboten und sind fest etablierter Bestandteil des klinischen Alltags geworden (76). Immunologische Tests basieren grundsätzlich auf dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion. Dabei wird im Rahmen eines Immunoassays entweder ein bekannter Antikörper oder ein bekanntes Antigen eingesetzt, um das entsprechende Antigen bzw. den Antikörper zu quantifizieren. Dabei ergibt sich folgende Schlüsselreaktion:



Die hohe antikörperbedingte Selektivität, die niedrigen Nachweisgrenzen und vergleichsweise kurze Nachweiszeiten begründen die weitgefächerte Verwendung

im diagnostischen und forschungsorientierten Einsatzbereich der Immunoassays (76).

Allgemein werden unter dem Oberbegriff „Immunoassay“ eine Vielzahl von Verfahren zusammengefasst:

- Radioimmunoassay
- Enzymimmunoassay
- Immunoassay unter Verwendung von Gelpräzipitationstechnik oder Lösungen
- Turbidimetrischer Immunoassay
- Nephelometrischer Immunoassay
- Immunologischer Agglutinationsassay
- Lumineszenzimmunoassay

Als Lumineszenz wird eine Lichtemission bezeichnet, die als Folge einer Energiefreisetzung einer aktivierten Substanz entsteht. Die durch diese Anregung auf ein höheres Energieniveau gebrachten Elektronen des lumineszenten Moleküls strahlen bei der Rückkehr zu ihrem energetischen Ausgangsniveau die Energie als Licht ab. Es existieren verschieden Formen der natürlichen Lumineszenz (48):

- Biolumineszenz: Enzym-induzierte chemische Reaktion im lebenden Organismus
 - Photolumineszenz/ Fluoreszenz: Photonen-induzierte physikalische Reaktion
 - Chemilumineszenz: Resultat spezifischer chemischer Reaktion
- (11)

1.7. Methodische Aspekte der Chemilumineszenz Immunoassay Technik

Der Begriff Chemilumineszenz umfasst, wie oben kurz erläutert einen chemischen Prozess, bei dem Licht entsteht. Dabei werden die Moleküle (Antigen und Antikörper) auf ein höheres energetisches Niveau gehoben. Das emittierte Licht kann mit Hilfe eines sogenannten Photomultiplier gemessen werden. Beim Absinken der Energiemenge wird die vorher aufgenommene Energiemenge in Form von Licht freigesetzt. Das dabei emittierte Licht hat im Gegensatz zu anderen Lumineszenzformen (siehe Kapitel 1.6) eine größere Beständigkeit. Dadurch kann diese Methode bei sensiblen Messmethoden, wie z. B. der Verwendung biologischer Membranen oder Belichtung von optischen Systemen eingesetzt werden (86).

Die Sensitivität von Chemilumineszenzassays ist um ein Vielfaches höher als bei allen bisher verwendeten Assaytechniken. Daneben ist diese Methode unabhängig von der Größe der verwendeten Moleküle (48). Die Geräte messen sehr niedrige Antigen- bzw. Antikörperkonzentrationen bei gleichzeitig sehr großer Messspanne (85). Die hohe Spezifität der Messverfahren hat sich seit Einführung der Technologie stetig verbessert (85). Die Kosten eines Einzeltest sind im Vergleich zu den Folgekosten bei intensivmedizinischer Sepsistherapie relativ gering (3 bis 5€) (158) bei geringer personeller Qualifikation (86;87). Im Rahmen der Validierung des Testverfahrens in der Humanmedizin konnten im Vergleich zu vorher verwendeten radioaktiven Verfahren sehr gute, reproduzierbare Daten gewonnen werden (6;48). Bei der Immunoassay-Technik sind zwei verschiedene Verfahren bekannt: der homogene und heterogene Chemilumineszenzassay. Bei der ersten genannten und zur Erhebung der Daten dieser Arbeit verwendeten Form wird durch Bindung des Antikörpers an das lumineszenz-markierte Antigen eine chemische Veränderung induziert, ohne dass ein Zwischenschritt zur Trennung von gebundenen und ungebundenen Liganden notwendig ist.

Es existiert eine Vielfalt von Stoffen, welche die Fähigkeit haben, eine Lumineszenz-Reaktion durchzuführen. So kann man dazu Luminol, Lucigenin, Acridinester, Ruthenium und andere Metalle verwenden. In der heutigen Zeit

haben sich Luminol und seine Derivate als gängige Substrate durchgesetzt. Allerdings ist die Beeinflussung der Lichtreaktion durch Bindung von Luminol an Probenreststoffe (Proteine, Polypeptide) eine mögliche Störgröße (48). Zur Vermeidung dieser Bias verwenden moderne Immunoassays zur Trennung von Fremdstoffen Waschschriffe. Im späteren Verlauf dieser Arbeit wird detaillierter auf das im Rahmen dieser Arbeit verwendete Messsystem (Immulite) eingegangen.

2. ZIELSETZUNG

Zahlreiche Untersuchungen in der letzten Zeit haben gezeigt, dass Interleukine mit der klinischen Situation von polytraumatisierten Patienten zu korrelieren scheinen. Dabei wird vermutet, dass die extrazellulär ausgeschütteten Konzentrationen dieser Botenstoffe in einem Zusammenhang mit der Verletzungsschwere, dem klinischen Outcome und der Entwicklung eines Multiorganversagens stehen. Dennoch sind die initialen intrazellulären Steuermechanismen der posttraumatischen Inflammation bislang nicht ausreichend geklärt. Es gibt Hinweise, dass es Genexpressionsmuster gibt, die mit der späten klinischen Situation der Patienten korrelieren bzw. als Prädiktoren verwendet werden können (14). Die Möglichkeit der therapeutischen Überwachung von Genexpressionsmustern bei Schwerverletzten ist jedoch mit den momentan zur Verfügung stehenden technischen Voraussetzungen noch relativ zeit- und kostenintensiv. Mit der vermehrten Verwendung von Immunoassays ist die Anwendung auf der immunologischen Proteinebene innerhalb des klinischen Alltags technisch sehr vereinfacht und schneller verfügbar gemacht worden. Einen zusätzlichen Trigger für die Modulation der Immunfunktion stellt die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten (Ek) dar, die bislang nur unzureichend untersucht worden ist.

Fragestellungen der vorliegenden Arbeit waren daher:

- i) zu überprüfen, ob es durch die Messung von Interleukinen in der frühen posttraumatischen Phase bei polytraumatisierten Patienten möglich ist, eine zeitliche Dynamik der Interleukinkonzentrationen zu zeigen
- ii) in einem zweiten Schritt zu untersuchen, ob eine Abhängigkeit zwischen der Anzahl der verabreichten Erythrozytenkonzentrate und den gemessenen Interleukinkonzentrationen besteht
- iii) und schließlich die untersuchten Interleukine in einen Kontext mit den patientenspezifischen Kriterien der Verletzungsschwere, der Entwicklung eines Multiorganversagens und des definitiven klinischen Outcome zur Risikostratifizierung zu setzen.

3. PATIENTEN UND METHODEN

3.1. Studiendesign

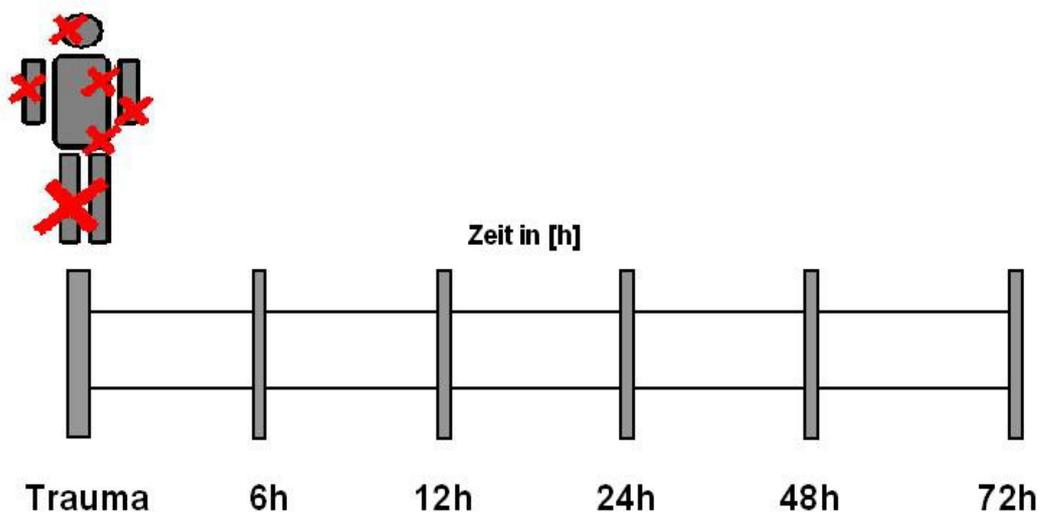
Die Studie wurde in der Chirurgischen Klinik und Poliklinik-Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität in München durchgeführt. Eine Genehmigung durch die lokale Ethikkommission (AZ: 012/00) lag vor. Im Rahmen der Untersuchung wurden 57 Patienten mit einer Schwerstverletzung (Polytrauma) eingeschlossen, die mindestens einen ISS ≥ 16 Punkte erreichten. Das Alter des Patientenkollektivs war über 18 Jahre. Das Zeitintervall zwischen Trauma, Aufnahme in den Schockraum der Klinik und initialer Blutentnahme sollte nicht länger als 90 Minuten betragen. Von allen Patienten wurde nachträglich eine schriftliche Einverständniserklärung gemäß den Richtlinien der Ethikkommission eingeholt. Da die eingeschlossenen Patienten aufgrund der klinischen Situation (Bewusstlosigkeit, Intubation, Analgesie, etc.) diese Einverständniserklärung initial nicht abgeben konnten, wurde in enger Absprache mit der Ethikkommission das Einverständnis erst nach vollständiger Wiedererlangung der kognitiven Fähigkeiten erteilt. Hatte der Patient diese Fähigkeiten nicht in ausreichendem Maße erreicht, so wurde das Einverständnis zur Studienteilnahme von einem gesetzlichen Vertreter eingeholt. Nach der initialen Stabilisierungsphase im Schockraum und den entsprechend dem Verletzungsmuster notwendigen Operationen, wurden die Patienten auf die Intensivstation der Klinik aufgenommen. Die Dokumentation der präklinischen und klinisch erhobenen Patientendaten erfolgte entsprechend den Richtlinien der Europäischen Konsenskonferenz zur Aufnahme von Daten polytraumatisierter Patienten (144). Zur Beurteilung der definitiven posttraumatischen Mortalität wurde das 90-Tage-Überleben als Endpunkt dokumentiert. Die objektive Analyse des Verletzungsausmaßes erfolgte durch Berechnung des ISS (31). In der Literatur werden gegenwärtig keine Empfehlungen über Grenzen des ISS angegeben. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Untersuchung der mediane ISS des Patientenkollektivs (35 Punkte) verwendet, um eine Unterscheidung von schwerer verletzten Patienten zu ermöglichen. Ausschlusskriterien der Studie waren Tod des Patienten innerhalb

der ersten 12 Stunden nach Trauma, sowie Strafverfolgung, Schwangerschaft und Minderjährigkeit. Daneben wurde die Menge der transfundierten Ek dokumentiert. Ein Ek enthält ca. 300ml allogene, leukozytendepletierte konzentrierte Erythrozyten. Das untersuchte Patientenkollektiv wurde entsprechend der in der Literatur etablierten Grenzen hinsichtlich der verabreichten Ek in zwei Subgruppen unterteilt (32). Patienten, denen in den ersten 24 Stunden nach Trauma mehr als 10 Ek substituiert werden mussten, wurden demnach als massentransfundiert eingestuft. Darüber hinaus wurde die Menge des transfundierten *Fresh Frozen Plasma* (FFP) innerhalb der ersten 72 Stunden nach dem Trauma dokumentiert, um das Ausmaß des Gerinnungsversagens der mehrfachverletzten Patienten zu quantifizieren. Zur Objektivierung des Schockzustandes wurde der Schockindex berechnet bzw. der Base-Excess als Zeichen von metabolischen Störungen des Säure-Basen-Haushaltes zu allen sechs Blutabnahmezeitpunkten dokumentiert. Dabei wurde der Schockindex als Parameter zur Beurteilung der Kreislaufsituation aus dem Quotienten von Pulsfrequenz (Schläge pro Minute) und systolischem Druck (gemessen in mmHg) ermittelt (122). Zur Evaluierung des posttraumatischen Organversagens wurde zu jedem Blutabnahmezeitpunkt die definierten Parameter zur Berechnung des MOF-Scores nach Goris in der Modifikation nach Lefering et al. erhoben (64;94). Als Grenzwerte für das Vorliegen eines Multiorganversagens wurden analog der o. g. Publikation ≥ 4 Punkte berücksichtigt.

3.2. Probengewinnung

Da es ein wesentliches Ziel der Studie war, den unmittelbaren posttraumatischen Zeitraum zu untersuchen, wurden die Blutproben der polytraumatisierten Patienten unmittelbar nach Aufnahme in den Schockraum gewonnen. Die Blutentnahmen erfolgten dabei innerhalb von 90 Minuten nach dem Trauma in folgenden Mengen in die entsprechenden Röhrchen aus einem arteriellem Zugang: 30 ml EDTA-Blut, 5 ml Citrat-Blut und 5 ml Serum-Blut. Im Verlauf wurden zu fünf weiteren standardisierten Zeitpunkten (6, 12, 24, 48, 72 Stunden) bezogen auf das traumatische Ereignis Blutproben entnommen (Abbildung 2). Danach wurde aus den Patientenproben durch Zentrifugieren bei 2500 U/min für 10 min Serum gewonnen. Anschließend wurden die Proben aliquotiert und vor der weiteren Analyse bei -80° Celsius in Eppendorf-Cups gelagert. Die IL-6, IL-8 und IL-10 Konzentrationen wurden danach mit Hilfe eines automatisierten Chemilumineszenzassays (IMMULITE 1000®, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH) gemessen.

Abbildung 2: **Blutentnahmeschema der Studie**



3.3. Immulite 1000

Der IMMULITE 1000 verwendet als Technologie einen auf Festphasen basierenden *Chemilumineszenz-Immunoassay* (CLIA). Das Arbeitsprinzip des IMMULITE wird im Folgenden kurz dargestellt:

Eine Polystyrolkugel wird in ein Reaktionsgefäß dispensiert. Die Kugel ist mit einem Antikörper beschichtet, der gegen den zu messenden Analyten gerichtet ist (z. B. IL-6). Zwei Roboterarme pipettieren die Blutprobe und die Reagenz zur Kugel. Die Reagenz enthält einen Antikörper gegen den Analyten, der chemisch an ein Enzym (alkalische Phosphatase) gekoppelt ist. Das Reaktionsgefäß wird für 30 min in einer beheizten Kammer inkubiert. Währenddessen wird der Analyt aus der Patientenprobe an die Kugel-Matrix gebunden. Der Enzym-markierte Antikörper aus der Reagenz bindet gleichermaßen an dem Analyten (Sandwich-Assay). Bei den nachfolgenden Waschschrritten wird ungebundenes Material von der Kugel getrennt. Nach dem Reinigen wird ein luminogenes Substrat (Asamatyldioxetanphosphat) zur Kugel pipettiert. Dieses Substrat wird vom Enzym chemisch umgesetzt. Bei dieser Reaktion entsteht ein Lichtsignal, das nach fünf Minuten vom IMMULITE mit Hilfe eines Photoverstärkers gemessen werden kann. Als Messeinheit dient dabei „Counts per seconds“ (CPS). Die ausgesendete Lichtintensität ist direkt proportional zur Menge Enzym und Analyt. Daher kann aus der Lichtintensität mit Hilfe einer Eichkurve die Konzentration des Analyten in der Patientenprobe bestimmt werden (158). In folgender Abbildung 3 werden die einzelnen Schritte auf makroskopischer und mikroskopischer Ebene verdeutlicht.

Abbildung 3: **Ablauf der technischen Schritte des Immunoassay**

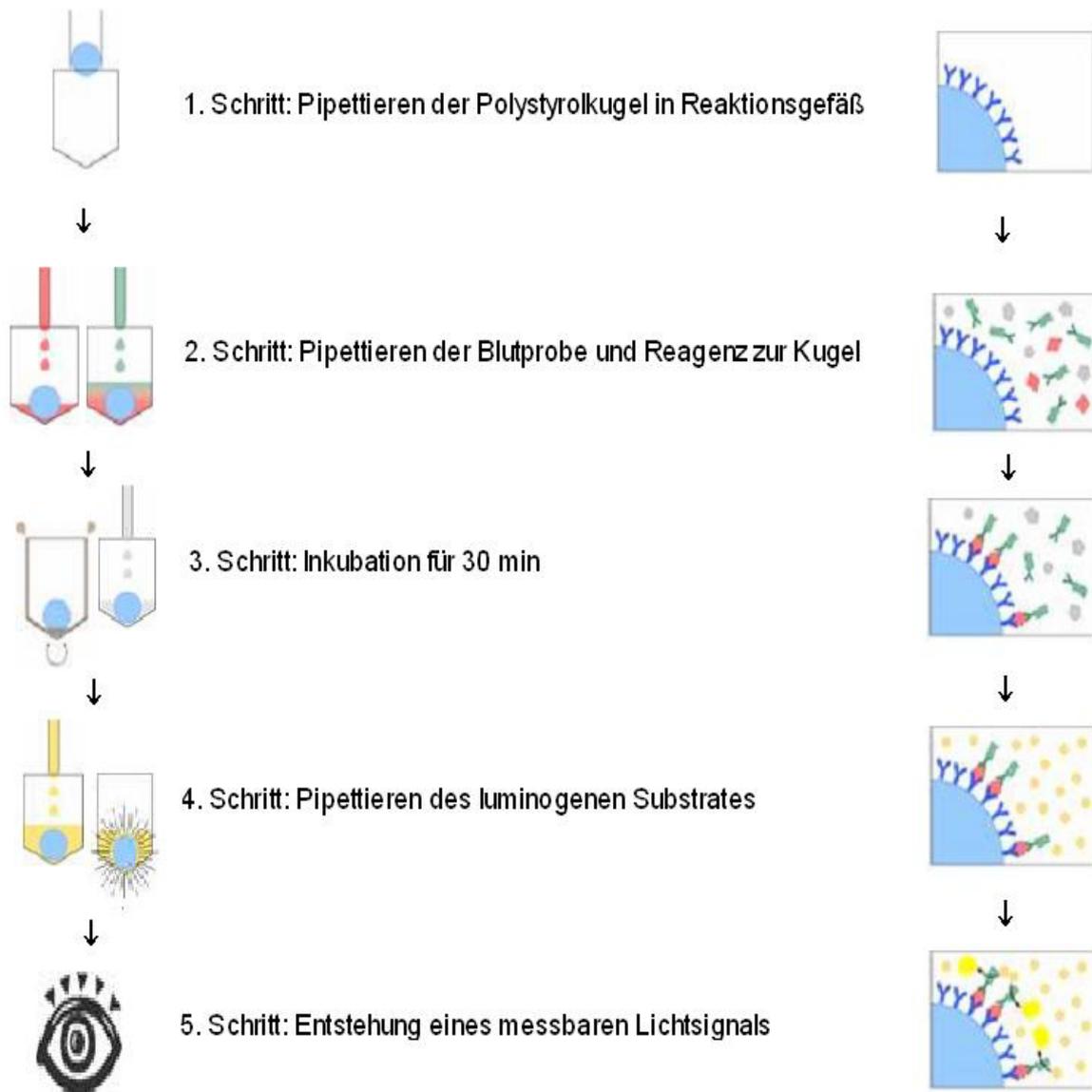


Abbildung 3:

Schematische Darstellung der einzelnen Schritte der Messung des Immunoassay. Diese Graphik wurde nach der Produktinformation der Firma Siemens-Medical modifiziert und gibt die Abläufe links auf makroskopischer und rechts auf mikroskopischer Ebene wieder (158).

3.4. Statistische Methoden

Zur statistischen Berechnung der Veränderung der Interleukinkonzentrationen im zeitlichen Verlauf wurde eine Form der Signifikanzanalyse angewendet. Dabei wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (Mann-Whitney Rank Sum Test) zur Verifizierung der Signifikanzniveaus und der Datenhomogenität herangezogen. In der Literatur ist diese Vorgehensweise bei explorativen Arbeiten und multiplen Testungen zulässig, um Hypothesen aufzustellen (12). Das Signifikanzniveau zur Ablehnung der Nullhypothese wurde mit $p \leq 0,05$ festgelegt. Bei der statistischen Auswertung der Gabe von Bluttransfusionen, Verletzungsschwere, Multiorganversagen und klinischem Outcome erfolgte jeweils ein Gruppenvergleich zu jedem Abnahmezeitpunkt (0, 6, 12, 24, 48, 72 Stunden). Zur statistischen Datenauswertung wurde Sigma Stat 3.0 ®, SpSS Inc. verwendet. Die graphische Darstellung erfolgte durch Sigma Plot 8.0 ®, SpSS Inc. Abgebildet ist jeweils der Mittelwert \pm Standardabweichung (MW \pm SD, Standard Deviation).

4. ERGEBNISSE

4.1. Patienten und klinische Daten

57 polytraumatisierte Patienten wurden in die Untersuchung eingeschlossen. Das Alter der Patienten variierte zwischen 18 und 89 Jahren und die Verletzungsschwere zwischen 16 und 75 Punkten auf der ISS-Skala. Innerhalb der Studie konnten 38 Männer und 19 Frauen als Patienten eingeschlossen werden. Daraus ergab sich ein mittleres Alter von 42 ± 14 Jahren (Mittelwert \pm Standardabweichung) bzw. ein mittlerer ISS von 35 ± 13 Punkten (Mittelwert \pm Standardabweichung). Alle polytraumatisierten Patienten wurden hinsichtlich ihres Transfusionsbedarfs in zwei Gruppen eingeteilt: Patienten mit Massentransfusionsbedarf ≥ 10 Ek bzw. ein Patientenkollektiv ohne Massentransfusionsbedarf < 10 Ek innerhalb der ersten 24 Stunden. 24 Patienten mussten nach dieser Einteilung im Therapieverlauf massentransfundiert werden und benötigten hierbei eine durchschnittliche Substitutionsmenge von $24,3 \pm 2,0$ Ek (Mittelwert \pm Standardabweichung) und $25,5 \pm 2,5$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) *Fresh Frozen Plasma* (FFP) innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma. Im Gegensatz dazu benötigten die 33 Patienten ohne Massentransfusionsbedarf eine durchschnittliche Substitutionsmenge von $3,6 \pm 0,5$ Ek bzw. $5,7 \pm 0,9$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Das Ausmaß des Schockzustandes wurde anhand des *Base Excess* (BE) und Schock-Index innerhalb beider Gruppen berechnet. Beide Transfusionsgruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied bezüglich des errechneten Schock-Index. Die Untersuchung des Serum-BE bei Patienten mit Zeichen eines hämorrhagischen Schocks zeigte durchgehend niedrigere Werte (BE $-9,2 \pm 4,1$; (Mittelwert \pm Standardabweichung)). Bei diesem Patientenkollektiv musste eine dementsprechend höhere Ek-Menge substituiert werden. Im Vergleich dazu wurden bei den Patienten mit niedrigerem Substitutionsbedarf (< 10 Ek innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma) höhere BE-Werte erreicht (BE $-4,8 \pm 2,9$ Mittelwert \pm Standardabweichung; $p < 0,05$, Mann-Whitney Rank Sum Test). Zum

posttraumatischen 24 Stunden Zeitpunkt waren diese Werte wiederum signifikant, aber in einem umgekehrten Zusammenhang: das Patientenkollektiv mit Massentransfusionsbedarf erreichte BE-Werte von $-0,3 \pm 4,6$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) im Gegensatz zu den Patienten mit einem Transfusionsbedarf von weniger als 10 Ek innerhalb der ersten 24 Stunden (BE $-2,2 \pm 2,2$; (Mittelwert \pm Standardabweichung; Mann-Whitney Rank Sum Test; $p < 0,05$)).

Im Beobachtungszeitraum entwickelten 42 Patienten klinische Zeichen eines Multiorganversagens (MOF-Score ≥ 4 Punkte) im Unterschied zu 15 Patienten mit einem MOF-Score unter 4 Punkten. Der ISS von 35 Patienten lag unter 35 Punkten, wohingegen 22 Patienten mehr als 35 Punkte erreichten. 10 Patienten verstarben und 47 Patienten überlebten innerhalb von 90 Tagen nach dem Trauma.

Die epidemiologischen Daten der eingeschlossenen Patienten wie Geschlecht, Alter, sowie klinische Angaben über Verletzungsmuster, Verletzungsschwere berechnet nach ISS, der Bedarf an Blutprodukten innerhalb der ersten 24 Stunden an EK bzw. FFP innerhalb der ersten 72 Stunden und das klinische Outcome innerhalb der ersten 90 Tage nach Trauma sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Demographische und klinische Daten der eingeschlossenen Patienten

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
1	SDH, SAB, Pneumocephalus, komplexe Schädelfrakturen, Le Fort °II Gesichtsfrakturen, Rippenserienfrakturen C3-C9 rechts, Pneumothorax rechts, Lungenkontusion, Leber-/ Milzruptur, multiple obere und untere Extremitätenfrakturen °III offen, Subamputations-/ Luxationsfraktur Knie links	35	M	57	Ja	12	9	Nein
2	SHT °I, Lungenkontusion beidseits, Amputationsverletzung oberhalb Knie	38	M	33	Ja	25	20	Nein
3	SHT °I, Bulbuskontusion links, komplexe Humerusfraktur, Beckenringfraktur, Os sacrum Fraktur, Ileosakralfraktur, retroperitoneales Hämatom, Metatarsale Fraktur, SWK 1 Fraktur	74	W	26	Ja	31	29	Nein
4	Gehirnödem mit Seitenventrikelverschiebung, SDH beidseits, intrakranielle Blutung, Axis Fraktur, Lungenkontusion rechts, Rippenfraktur C3, 8, Zwerchfell-, Nieren-, Leberruptur, Pelvisfraktur, Os pubis Fraktur, Os ischiadicum Fraktur, LWK 2-5 Fraktur	48	W	50	Ja	34	35	Nein

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
5	SDH, Schädelgewölbefraktur, Le Fort °II Gesichtsfrakturen, Lungenkontusion beidseits, Rippenserienfraktur beidseits, Symphysenruptur, Acetabulumfraktur, Tibiafraktur, Acromionfraktur	40	M	50	Ja	18	9	Nein
6	SDH beidseits, Subarachnoidale Blutauflagerung, Schädelgewölbefraktur, Rippenserienfraktur C7-C12, Hämatopneumothorax, Leberruptur, Hochspannungsverletzung	51	W	45	Ja	17	14	Nein
7	Pelvisfraktur mit retroperitonealem Hämatom, Femurfraktur rechts, Skalpierungsverletzung Schädel	71	W	20	Ja	28	29	Nein
8	SHT °III mit SAB, SDH rechts, generalisiertes Hirnödem, Hämatopneumothorax links, distale Femurfraktur rechts, distale offene Femurfraktur links	51	W	43	Ja	15	18	Nein
9	Rippenserienfrakturen, Hämatothorax, Lungenkontusion, Amputationsverletzung unterhalb rechtes Knie, Femurfraktur	49	M	24	Ja	33	35	Nein
10	A. posterior Verschluss, Orbitafraktur, Thoraxverletzung mit Pneumothorax, Mesenterialverletzung, Aortendissektion, Leberruptur, Sigmaverletzung, Femurfraktur rechts, Tibiafraktur rechts	32	M	34	Ja	58	85	Nein

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
11	Hirnödem, Lungenkontusion beidseits, Rippenserienfraktur, retroperitoneales Hämatom, Humerusfraktur, Femurschaftfraktur links, komplexe offene Tibiafraktur rechts, Malleolus med. Fraktur links, Kopfschwartenhämatom	46	W	34	Nein	14	10	Ja
12	HWK 2, 6, 7 Fraktur, Lungenkontusion beidseits, BWK 1 Fraktur, Open-book Beckenfraktur, Amputation der unteren Extremität, Radiusfraktur, komplexe Tibiafraktur, Kniegelenksexartikulation, ausgedehnte Kopfschwarthenverletzung	33	M	48	Ja	27	23	Ja
13	Hirnkontusion, Schädelbasisfraktur, HWK 7 Fraktur Proc. spinosi, Maxillafraktur, Mandibulafraktur, Lungenkontusion beidseits, Myokardkontusion, Rippenfraktur C1, C7, C8, Leberruptur, Beckengürtelverletzung	18	M	57	Ja	9	5	Ja
14	Lungenkontusion beidseits Rippenfraktur C5 links, Myokardkontusion, LWK 2 Kompressionsfraktur, Milz-, Leberkontusion, Tibiafraktur, Acetabulumfraktur, Os sacrum Fraktur	33	M	34	Ja	24	32	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
15	Lungenkontusion beidseits, Rippenserienfraktur C3-C9 links, C2-C9 rechts, Hämato-pneumothorax, Zwerchfellruptur mit Herniation, Myokardkontusion, Milzruptur, Mesenterialverletzung, Sigmaruptur, retroperitoneales Hämatom, Symphysenruptur, subtrochantäre Femurfraktur, Scapulafraktur, Ulnafraktur, Amputation Unterarm	59	M	50	Ja	50	48	Ja
16	C5 Facettenfraktur, inkomplettes Querschnittssyndrom, Nervenkontusion C7/8, Lungenkontusion links, Myokardkontusion, Leberruptur, Pankreaskontusion, Nierenkontusion, LWK 5 Fraktur, retroperitoneales Hämatom, Scapula Fraktur beidseits, Os coccygeum, Os ileum Fraktur, Humerusfraktur offen disloziert	34	M	34	Ja	9	24	Ja
17	SHT °III offen, diffuse axonale Verletzung, Schädelgewölbefraktur, HWK 3, 4 Fraktur, inkomplettes Querschnittssyndrom, Lungenkontusion beidseits, Rippenserienfraktur C8-C11 links, C1, C6 rechts, Pneumothorax, Leberkontusion, Femurfraktur °I offen rechts, Amputation Humerus rechts	44	M	57	Ja	17	14	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
18	Schädelgewölbefraktur, Le Fort °II Gesichtsfrakturen, Lungenkontusion beidseits, Hämatothorax, Rippenserienfraktur C1-12 links, BWK 1 Fraktur, massive Schulterdestruktion, A. brachialis Ruptur, dislozierte Ellenbogentrümmerfraktur, ausgeprägte Haut-, Weichteilverletzung	46	M	34	Ja	24	23	Ja
19	Bilaterales intrakranielles Hämatom, SDH, Lungenkontusion rechts, Hämatothorax beidseits, A. iliaca interna Ruptur rechts, retroperitoneales Hämatom, Ileum-, Jejunumkontusion, Nierenkontusion rechts, Scapula Fraktur rechts, Os sacrum Fraktur, Acetabulum Fraktur, Os pupis Fraktur, Femurfraktur rechts, Tibia Fraktur rechts, Os Metatarsale Fraktur rechts, Calcaneus Fraktur links offen, Tibiatrümmerfraktur links, Fibula Fraktur links, Patella Fraktur horizontal	34	M	57	Ja	53	45	Ja
20	Leichte Thoraxkontusion, Unterschenkelamputation rechts, Femurfraktur rechts disloziert	45	M	19	Ja	30	16	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
21	SAB links, intrazerebrales Hämatom temporofrontal links, frontal rechts, hochparietal rechts, Gesichtsknochenfraktur, Rippenserienfraktur C5-C7 rechts, C9 links, Hämatothorax beidseits, Sternum Fraktur, Ileumminderperfusion, Femurfraktur rechts, Tibiafraktur rechts	57	M	57	Ja	29	33	Ja
22	Rippenserienfraktur C5-C7 links, LWK 3 Fraktur Proc. transversus, Amputation untere Extremität links	39	M	17	Ja	23	22	Ja
23	Rippenserienfraktur C10-C12 links, Pneumothorax, massive vaginale Verletzung, Femurfraktur links offen, Beckenfraktur, Retroperitoneales Hämatom, Decollement Becken beidseits	28	W	34	Ja	39	42	Ja
24	Rippenserienfraktur C6-C9 links, Lungenkontusion links, Mesenterialverletzung, Ileumminderperfusion, Humerusfraktur links, Tibiafraktur links offen	33	M	34	Ja	7	9	Ja
25	Rippenfraktur C8, Milzruptur °III, Mesenterialverletzung, Urethra Ruptur, V. iliaca Ruptur, Open-Book Beckenfraktur, Femurträgerfraktur, Radiusluxation	37	M	42	Ja	44	42	Ja
26	Zahnverletzung, Blasenverletzung, Blasenhämatom, Urethra- , Ureterverletzung links, Pelvis Fraktur, LWK 3 , 4 Fraktur Proc. transversus., Amputation unterhalb linkes Knie	48	W	35	Ja	21	23	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
27	Kopfhautverletzung, occipitale Gewölbefrakturen, Intrazerebrales Hämatom, Abrissfraktur HWK 7-, BWK 1 Proc. spinosus, Pleuraverletzung mit Hämato-, Pneumothorax, Rippenserienfrakturen C9, C10 rechts, C1, C2 links, LWK 1, 2 Proc. transversus Fraktur, Pelvis Fraktur mit retroperitonealem Hämatom, Psoashämatom, Scapulafraktur, Humerusfraktur, Tibiafraktur links, Metatarsale Fraktur	29	M	41	Ja	30	25	Ja
28	Querschnittssyndrom mit BWK 11 Fraktur und Dislokation, Rippenserienfraktur > 3 Rippen beidseits mit Pneumothorax, LWK 2 Fraktur, retroperitoneale Blutung	61	W	34	Ja	8	14	Ja
29	SDH, SAB, massive intrakranielle Blutung subdural, Mittelgesichtsimpressionsfraktur, komplexe Orbitaimpressionsfraktur, Hämatothorax bds., Humerusfraktur links, LWK 1-5 Fraktur, Leberruptur, Jejunumkontusion, Os ilium Fraktur bds., Acetabulumfraktur bds., Tibiafraktur bds., Sprunggelenksfraktur links	33	W	75	Ja	4	2	Ja
30	Claviculafraktur, Os Sacrum Fraktur, Spina iliaca Fraktur	89	W	18	Nein	4	2	Ja
31	Lungenkontusion beidseits, Fußamputation links, Femurschaftfraktur, Amputationsverletzung unterhalb Knie rechts	53	W	32	Nein	7	13	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
32	EDH beidseits, Schädelbasisfraktur, Pneumozehalon, Le Fort II-Gesichtsfrakturen	18	M	29	Nein	0	6	Ja
33	Lungenkontusion beidseits, LWK 1 Kompressionsfraktur, Tibiatrümmerfraktur, Bimalleolarfraktur beidseits, Fibulaschafffraktur, Calcaneusfraktur, Talusfraktur	48	M	34	Nein	5	6	Ja
34	Lungenkontusion rechts, Rippenreihenfraktur C4-C10, Humerusfraktur disloziert, Tibiafraktur disloziert, Fibulafraktur, Kopfhämatom	53	M	19	Nein	0	0	Ja
35	Intrazerebrale Blutung, Schädelgewölbefraktur (einfach), Rippenreihenfraktur C2-C10 links, C2, C4 rechts, Hämatothorax/ Pneumothorax, Lungenkontusion beidseits, Milzhämatom	44	W	36	Nein	3	2	Ja
36	Lungenkontusion beidseits, Milzkapselhämatom, Nierenkontusion	23	M	20	Nein	0	2	Ja
37	SAB, Lungenkontusion, Rippenfraktur C3, Scapulafraktur, Fibulafraktur °II offen	45	M	29	Nein	0	0	Ja
38	Größere Muskelverletzung, Humerusfraktur disloziert, Tibiafraktur °II offen, Fibulafraktur °II offen, ausgedehnte multiple Hautkontusionen	33	M	16	Nein	6	2	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
39	SHT °II, Le Fort °II-, °III-Gesichtsfrakturen, N. opticus Verletzung, Lungenkontusion links mit Hämatothorax, Rippenserienfraktur C2-C4 rechts, C6-C8 links, Os pubis Fraktur, Os ischiadicum Fraktur, Femurfraktur offen rechts und links, Malleolus med. Fraktur, Os lunatum Fraktur, Metacarpale III Fraktur	29	M	41	Nein	9	6	Ja
40	Lungenkontusion rechts, LWK 3 Fraktur, Os ileum Fraktur, Os ischiadicum Fraktur, Os pubis Fraktur, Femurtrümmerfraktur links, Trimalleolarfraktur disloziert	57	W	22	Ja	8	16	Ja
41	Lungenkontusion beidseits, Rippenserienfraktur C1-C8, BWK 1-3 Proc. spinöses Fraktur, Femurschaftfraktur links, Tibia Fraktur °III offen, Fibula Fraktur °III offen, Calcaneus Fraktur, Os ischiadicum Fraktur, ausgedehnte Hautverletzung und subkutane Gewebeverletzung im Patella Bereich	40	W	29	Nein	3	16	Ja
42	Schädelbasisfraktur, Schädelgewölbfaktur, Orbita Fraktur, Verletzung Innenohr, Lungenkontusion beidseits, Pneumothorax, Rippenserienfraktur C2, C4, C6, C7 links, BWK 8-10 Fraktur Proc. transversus, Radiusfraktur rechts	36	M	29	Nein	0	0	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
43	Thorakale Aortenruptur, Nierenkontusion, Milzhämatom, LWK 4/5 Proc. transversus Fraktur, Skrotum-, Penishämatom, Open-book Fraktur, Acetabulum Fraktur beidseits., Os ischiadicum Fraktur beidseits, Tibiafraktur links, Radiusfraktur links	34	M	54	Ja	8	10	Ja
44	Rippenserienfraktur C5-C9 links, Pneumothorax, Leber-, Milz-, Nierenkapselruptur, dislozierte Humerusschaftfraktur, Claviculafraktur links, Kopfhautverletzung	43	M	41	Ja	5	5	Ja
45	Lungenkontusion links, Rippenserienfraktur C6-C8, Pneumothorax rechts, Amputationsverletzung unterhalb Knie, größere Bissverletzung Unterlippe	58	M	29	Nein	1	0	Ja
46	Kopfhautkontusion, HWK 5 Fraktur disloziert mit Querschnittssyndrom, HWK 2, 3, 6 Proc. transversus Fraktur, HWK 4, 5 Facettenfraktur, Lungenkontusion beidseits., BWK Facettenfraktur, Schulterdislokation, Augenverletzung	39	W	45	Ja	9	18	Ja
47	Lungenkontusion beidseits, Rippenfraktur C9, Milzruptur, Mesenterialverletzung, Jejunum Kontusion, Femurfraktur	62	M	27	Ja	9	12	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
48	EDH rechts, SAB beidseits., Schädelbasisfraktur, HWK 7 Fraktur disloziert, Rückenmarkskontusion, N. opticus Kompression, Rippenserienfraktur C1-C3 links, Lungenkontusion beidseits., Pneumothorax links, Myokardkontusion, Pankreaskontusion, Milzruptur, Humerustrümmerfraktur links, offene Unterarmfraktur links, Os pupis Fraktur, Acteabulumfraktur	25	W	50	Ja	9	20	Ja
49	SAB, Gehirnödem, SDH, Nasenseptumfraktur, Lungenkontusion beidseits, Radius-, Ulnatrümmerfraktur	42	W	41	Nein	5	10	Ja
50	HWK 7 Proc. transversus Fraktur links, LWK 1, 2, 5 Fraktur Proc. transversus rechts, Massa lateralis Fraktur rechts, Os pupis Fraktur rechts, Os ischii Fraktur beidseits, Pilon tibiale Fraktur rechts, OSG Fraktur rechts im Bereich lat. Talus	40	M	29	Ja	2	2	Ja
51	Spannungspneumothorax rechts, Femurfraktur, offene Tibiafraktur	32	M	35	Ja	9	11	Ja
52	Rippenserienfraktur C2-5 links, Pneumothorax, Milzkapselhämatom, Subkapitale Humerusfraktur	39	W	24	Ja	2	0	Ja
53	Gehirnkontusion links frontal, Lungenkontusion links, Lungenverletzung mit Pneumothorax beidseits und Blutansammlung Mediastinum, BWK 10 Fraktur, BWK 1, 2, 4-10 Fraktur Proc. Transversus	23	M	21	Ja	1	0	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
54	SHT °I, größere Kopfhautverletzung mit Galeahämatom, Rippenfraktur C2, Pneumothorax, Milzverletzung, LWK 5 Proc. transversus Fraktur, HWK 6 Fraktur ohne Dislokation, Femurschaftfraktur links, Femurkondylen Fraktur links, Fibulakopffraktur, Pilon tibiale Fraktur links, Os Papis Fraktur, Fußfraktur links, Zehen-, Fußfraktur Os Metatarsale I rechts, Hautverletzung obere und untere Extremitäten, Weber-B-Fraktur rechts	41	M	22	Ja	8	8	Ja
55	SHT °I, Lungenkontusion beidseits, Hämatothorax, Rippenserienfraktur C4-C6, Sprunggelenksfraktur, Scapulafraktur	43	M	20	Ja	0	0	Ja
56	Lungenverletzung mit Pneumothorax, Rippenserienfraktur C6-C9 rechts, C1, C2 links, Lungenkontusion beidseits, Leber-/ , Abdomenkontusion, LWK 1 Proc. transversus Fraktur, Femurträgerfraktur, Offene Radiusträgerfraktur	51	M	29	Ja	6	4	Ja

Patienten-ID	Verletzungsmuster	Alter	Geschlecht	ISS	MOF ≥4	EK	FFP	Outcome (Überleben)
57	Schädelbasisfraktur rechts, Jefferson-°III-Fraktur, Bogenwurzelfraktur rechts HWK 2, 3 pleurale Einblutungen rechts, laterale Schenkelhalsfraktur rechts ohne Dislokation, Kompressionsfraktur BWK 11, Le Fort °II-Mittelgesichtsfraktur, Kieferhöhlenfraktur beidseits, Jochbogenfraktur links, Orbitaboden beidseits, Sagitalfraktur Kieferköpfchen links, Nasenseptumfraktur, ausgedehnte Einblutung in alle Kiefer- und Nasennebenhöhlen	65	M	27	Ja	3	5	Ja

Tabelle 1:

Die Tabelle zeigt die Verletzungsmuster und die epidemiologischen Daten der Patienten wie Alter und Geschlecht. Daneben wurde der Injury Severity Score (ISS) zur Evaluierung der Verletzungsschwere bzw. der MOF-Score (Multi Organ Failure) bei Vorliegen eines Multi-Organ-Versagens ab einer Grenze von 4 Punkten berechnet. Weiterhin lässt sich der Transfusionsbedarf an Erythrozytenkonzentraten (Ek) innerhalb der ersten 24 Stunden und Fresh Frozen Plasma (FFP) innerhalb der ersten 72 Stunden nach dem Trauma aus der Tabelle entnehmen. Das klinische Outcome wurde innerhalb der ersten 90 Tage nach dem Trauma berücksichtigt.

4.2. Untersuchungsparameter

Im Folgenden werden die Ergebnisse der untersuchten Zytokine in Abhängigkeit von den klinischen Daten dargestellt.

4.2.1. Alter und Geschlecht

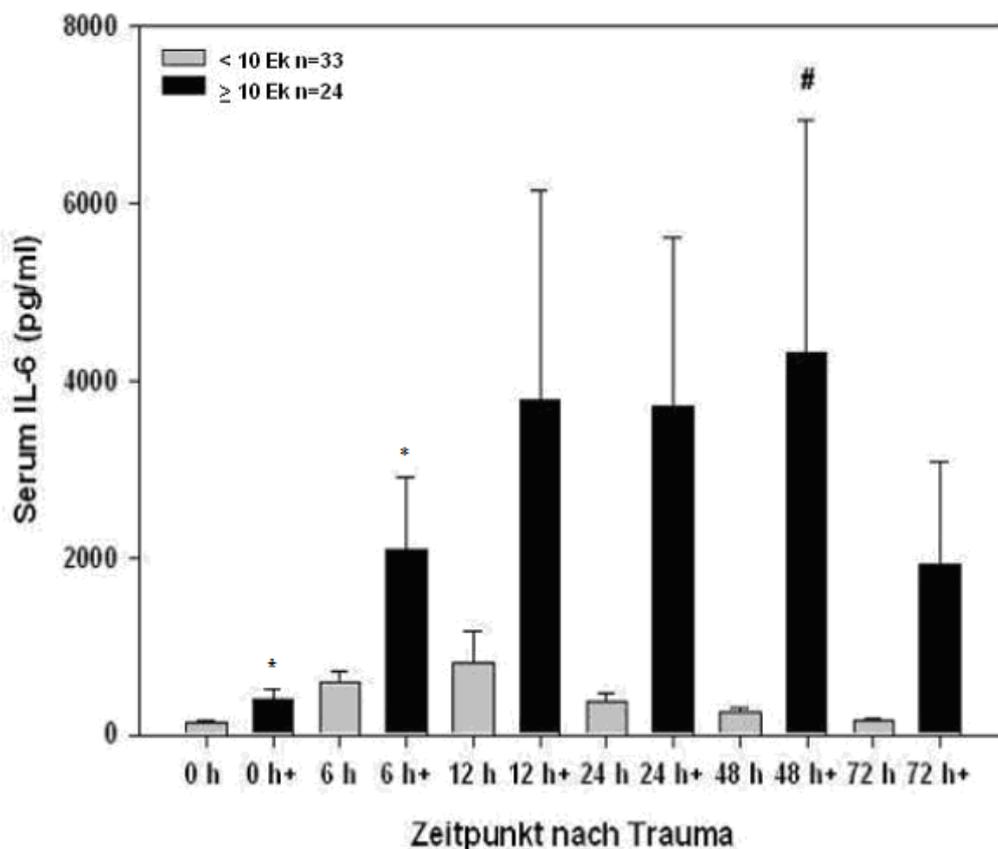
Es wurden zwei unterschiedliche Altersgrenzen statistisch untersucht, um das Patientenkollektiv in zwei Gruppen zu unterteilen. Unabhängig von der Aufteilung der Patienten in dichotome Gruppen in Hinblick auf ihr Alter (Altersgrenze 42 bzw. 55 Jahre) konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede in Hinblick auf die IL-6, IL-8 oder IL-10 Konzentrationen nachgewiesen werden.

Darüber hinaus konnten keine Abweichungen bezüglich der Geschlechtszugehörigkeit festgestellt werden, obwohl bei Männern eine nicht signifikante Tendenz zu höheren IL-6 und IL-10 Werten innerhalb der ersten 12 Stunden nach Trauma vorzuherrschen scheint. Die epidemiologischen Daten von Alter und Geschlecht konnten demnach in dieser Studie als unabhängige Variablen angesehen werden.

4.2.2. Gabe von Bluttransfusionen

Alle Patienten, die posttraumatisch innerhalb der ersten 24 Stunden massentransfundiert (≥ 10 Ek) werden mussten, erreichten signifikant höhere Interleukinwerte im Vergleich zu Patienten ohne Massentransfusion.

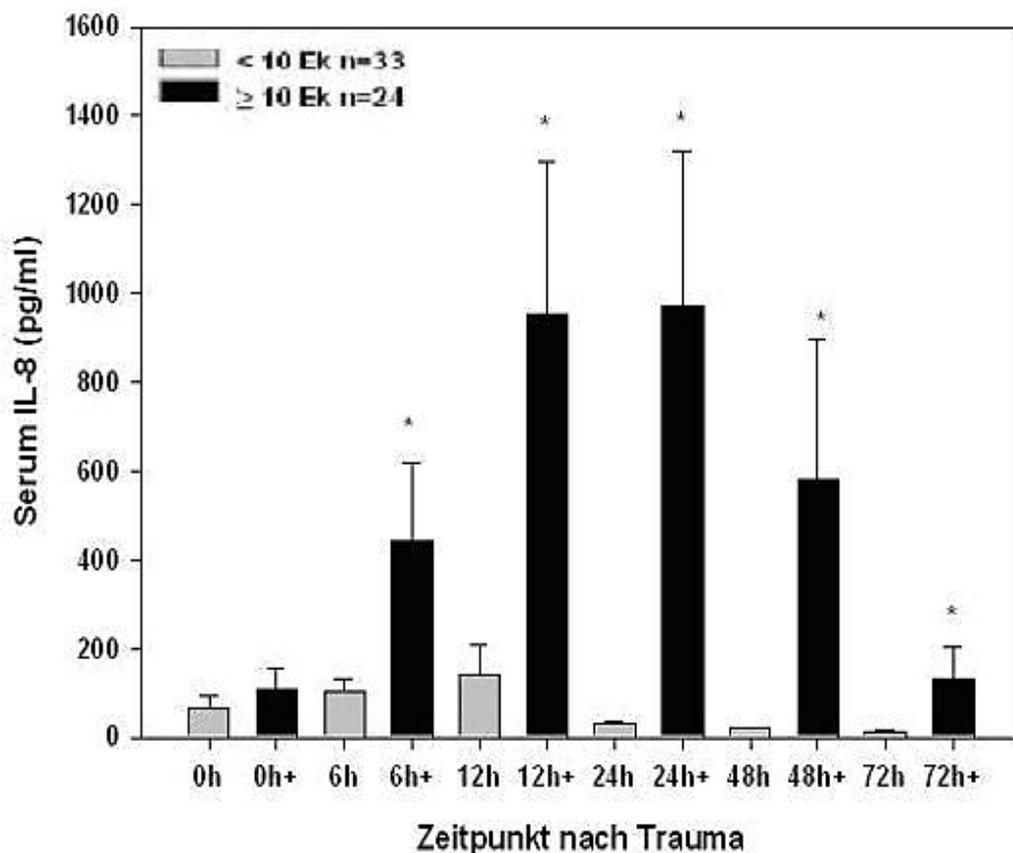
Die gemessenen IL-6 Level sind signifikant erhöht zu den Zeitpunkten 0h, 6h, 48h (0h/ 6h: $p \leq 0,018$; 48h: $p \leq 0,048$; Mann-Whitney Rank Sum Test, Abbildung 4).



* $p \leq 0,018$, # $p \leq 0,048$ Mann-Whitney-Rank Sum Test

Abbildung 4: Serum IL-6 Level im nach Transfusionsbedarf eingeteilten Patientenkollektiv (< 10 versus ≥ 10 Ek), Mittelwert \pm Standard Deviation

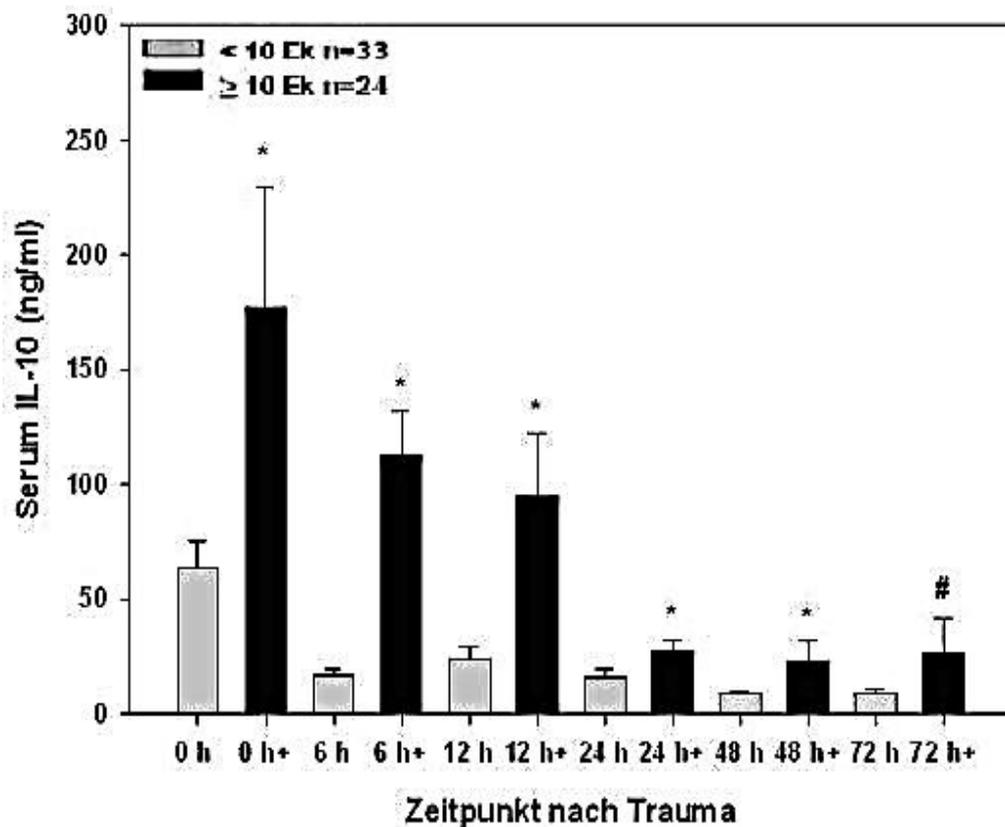
Bei der Bestimmung der IL-8 Konzentrationen sieht man den Unterschied zwischen den Patienten, die innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Trauma massetransfundiert wurden initial noch nicht. Im weiteren Verlauf zeigen sich aber erhöhte IL-8 Werte bei Patienten mit Massenbluttransfusion im Zeitraum 6 bis 72 Stunden ($p \leq 0,001$ Mann-Whitney Rank Sum Test, Abbildung 5).



*** $p \leq 0,001$ Mann-Whitney Rank Sum Test**

Abbildung 5: Serum IL-8 Level im nach Transfusionsbedarf eingeteilten Patientenkollektiv (< 10 versus ≥ 10 Ek), Mittelwert \pm Standard Deviation

Auch das proinflammatorisch wirkende IL-10 ist bei Patienten, die massentransfundiert wurden, eindeutig hochreguliert. Die erreichten IL-Werte sind dabei zu allen Zeitpunkten signifikant (0-48h: $p \leq 0,005$, 72 h: $p \leq 0,0046$; Mann-Whitney Rank Sum Test, Abbildung 6).



* $p \leq 0,005$, # $p \leq 0,0046$ Mann-Whitney Rank Sum Test

Abbildung 6: Serum IL-10 Level im nach Transfusionsbedarf eingeteilten Patientenkollektiv (< 10 versus ≥ 10 Ek), Mittelwert \pm Standard Deviation

4.2.3. Verletzungsschwere

Bei der Untersuchung der Zytokinfreisetzung von IL-6 und IL-8 konnte keine statistische Wechselbeziehung in Hinblick auf die Verletzungsschwere entsprechend des errechneten ISS-Scores gefunden werden (Abbildungen 7 und 8). Es besteht jedoch ein Trend bei IL-10 zum 12 Stunden Zeitpunkt (ISS \geq 35).

Deutlich zu erkennen ist die große Streuung (Mittelwert \pm Standard Deviation) verursacht durch die Extremwerte bei den Messungen für IL-6 und Patienten mit einem ISS $<$ 35 Punkten zum 12-Stunden bzw. 48-Stunden Zeitpunkt (12 Stunden 12597 pg/ml, 48 Stunden: 12620 pg/ml).

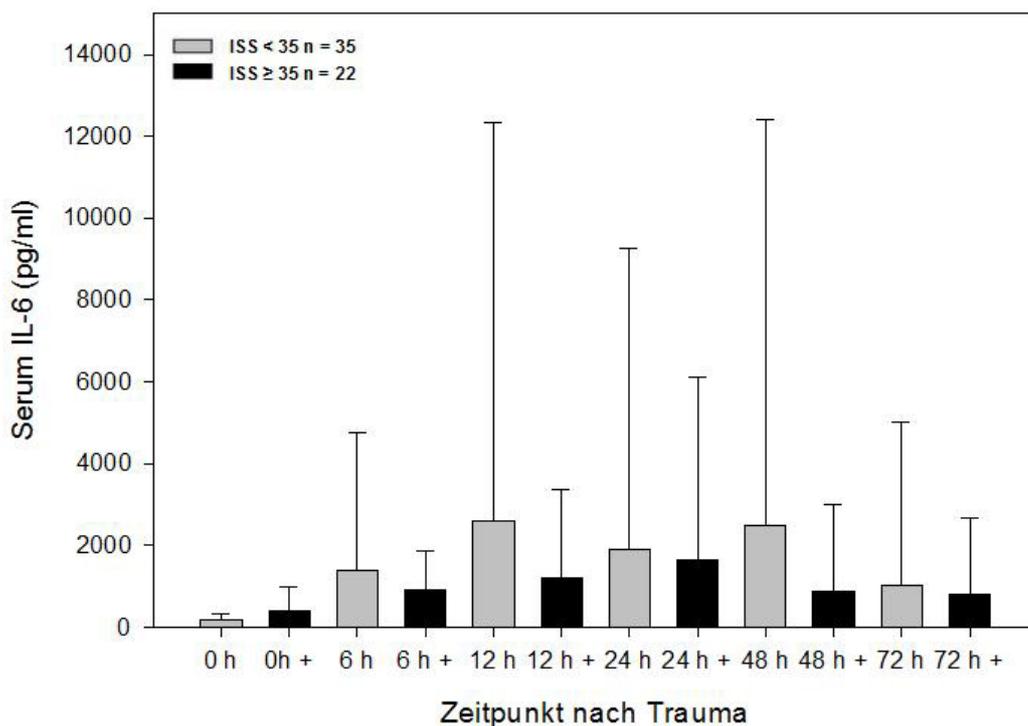


Abbildung 7: **Serum IL-6 Level im nach Verletzungsschwere eingeteilten Patientenkollektiv (ISS $<$ 35 versus ISS \geq 35 Punkte), Mittelwert \pm Standard Deviation**

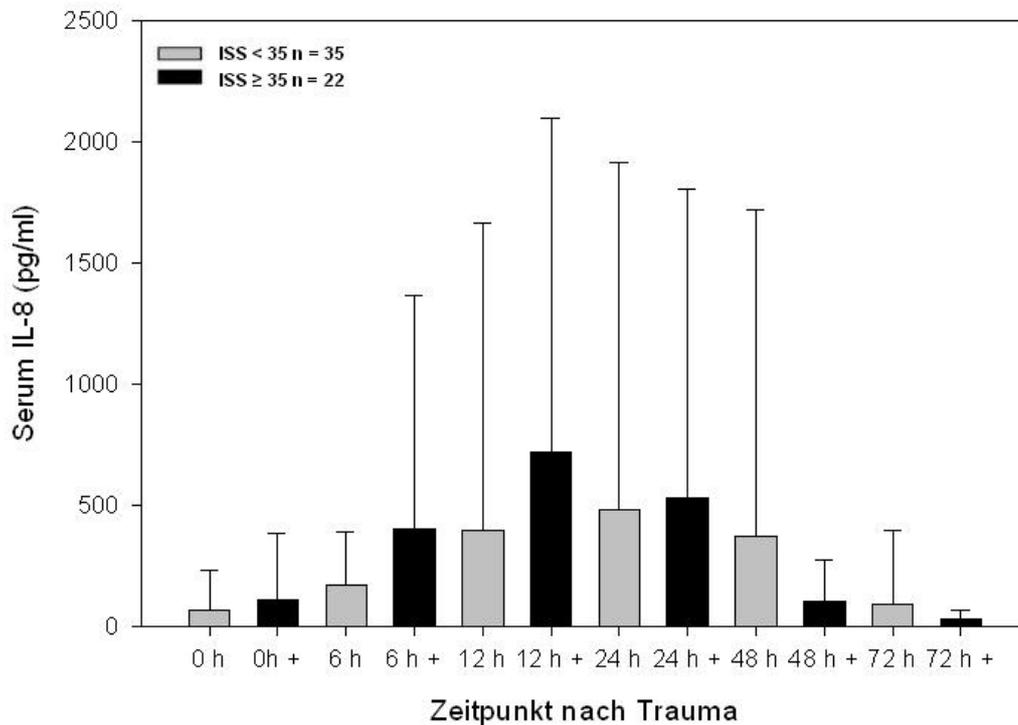
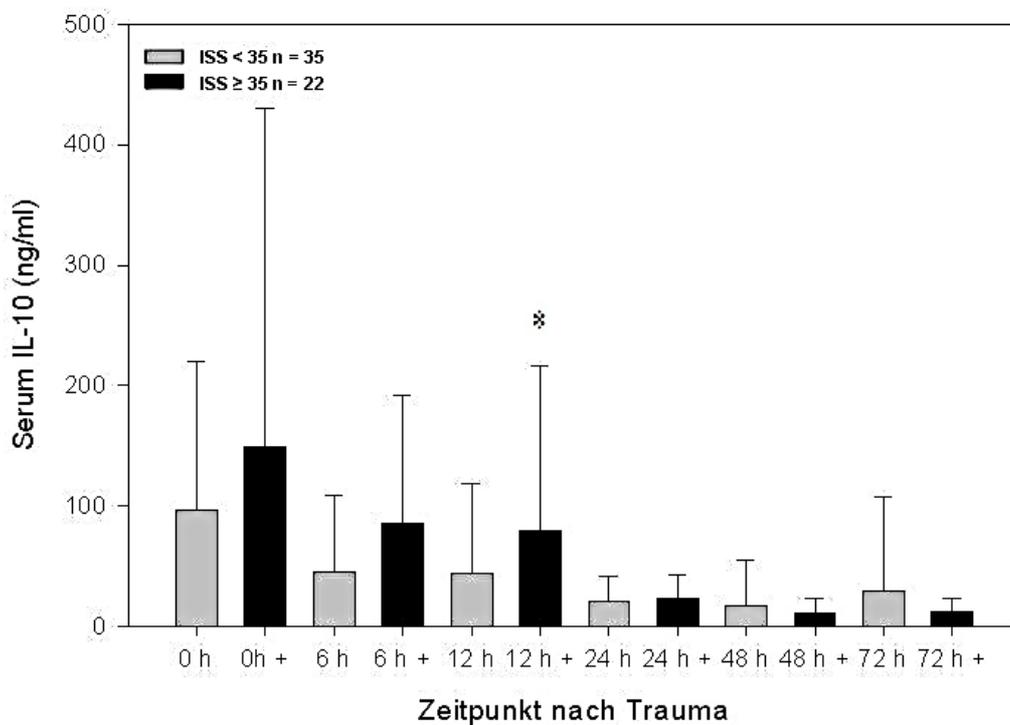


Abbildung 8: **Serum IL-8 Level im nach Verletzungsschwere eingeteilten Patientenkollektiv (ISS<35 versus ISS≥35 Punkte), Mittelwert±Standard Deviation**

Auch bei den Messungen des IL-8 ist eine große Streuung der Konzentrationen durch Extremwerte des kleinen Patientenkollektivs bedingt (ISS≥35 zum 12 Stunden Zeitpunkt 2106 pg/ml).

Statistisch signifikante Unterschiede in Hinblick auf die Korrelation zwischen Verletzungsschwere und Zytokinfreisetzung konnten nur bei IL-10 beobachtet werden. Dabei ist der Anstieg ausschließlich zum Zeitpunkt 12 Stunden nach dem Trauma bei Patienten mit einem höheren Verletzungsschwere (ISS ≥ 35) signifikant gegenüber Patienten mit einer geringeren Verletzungsschwere (ISS < 35) (Abbildung 9).

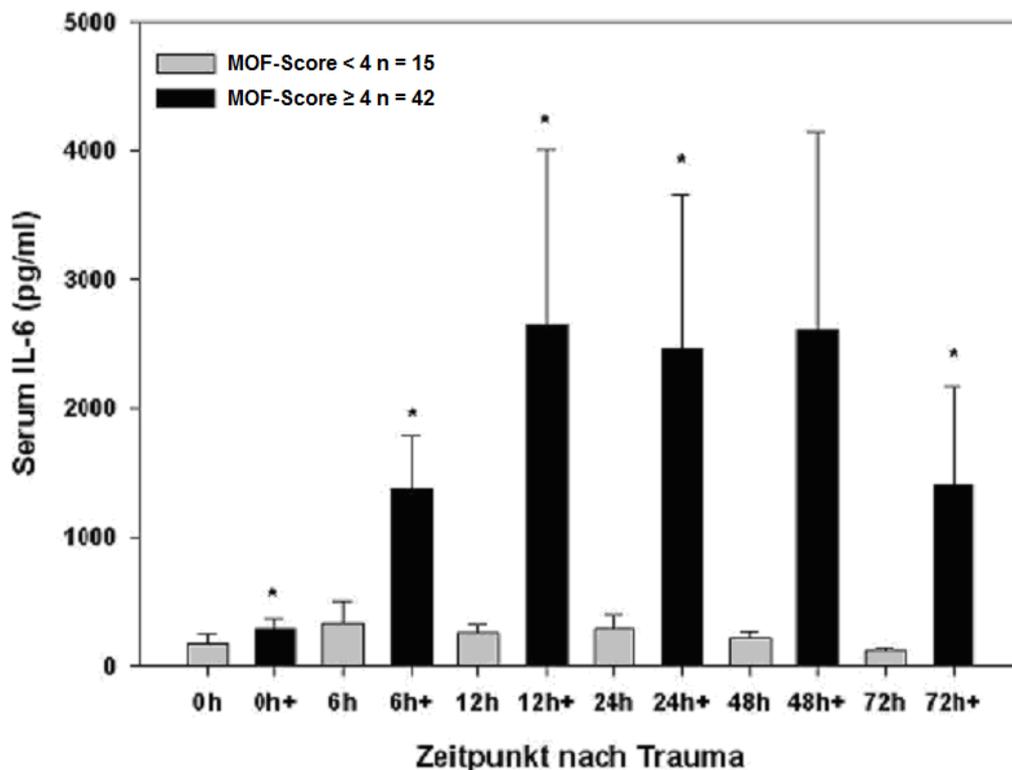


***p \leq 0,015 Mann-Whitney Rank Sum Test**

Abbildung 9: **Serum IL-10 Level im nach Verletzungsschwere eingeteilten Patientenkollektiv (ISS<35 versus ISS \geq 35 Punkte), Mittelwert \pm Standard Deviation**

4.2.4. Multiorganversagen

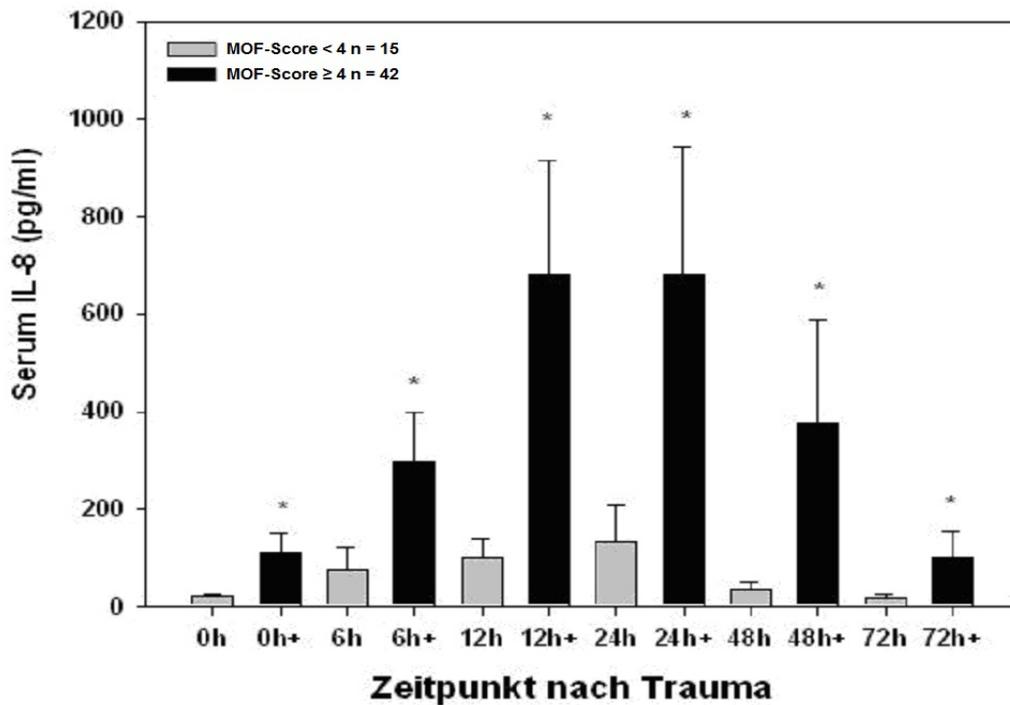
Bei der Untersuchung aller Patienten mit Zeichen eines Multiorganversagens (MOF ≥ 4 Punkte) konnte festgestellt werden, dass dieses Kollektiv signifikant höhere Interleukinkonzentrationen erreichte als Patienten ohne die Symptome eines manifesten Multiorganversagens (MOF < 4 Punkte). Die erreichten IL-6 Konzentrationen sind zu allen untersuchten Zeitpunkten signifikant erhöht, außer zum Zeitpunkt 48 Stunden nach Trauma (0h-24h; 72 h: $p \leq 0,026$; Mann-Whitney Rank Sum Test; Abbildung 10).



* $p \leq 0,026$ Mann-Whitney Rank Sum Test

Abbildung 10: Serum IL-6 Level im nach Multiorganversagen eingeteilten Patientenkollektiv (MOF-Score < 4 versus ≥ 4), Mittelwert \pm Standard Deviation

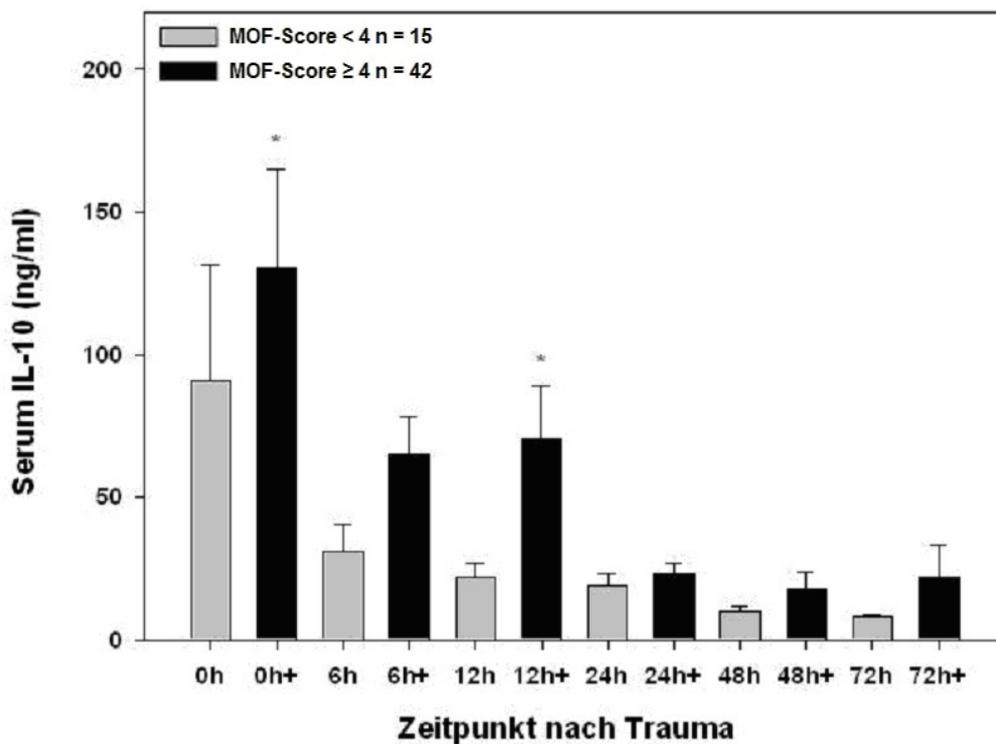
Bei der Messung des proinflammatorisch wirkenden IL-8 zeigte sich ebenfalls eine erhöhte Ausschüttung im Untersuchungszeitraum mit Signifikanzen zu den Zeitpunkten 0 bis 72 Stunden nach Trauma (0-72h: $p \leq 0,014$ Mann-Whitney Rank Sum Test; Abbildung 11).



*** $p \leq 0,014$ Mann-Whitney Rank Sum Test**

Abbildung 11: Serum IL-8 Level im nach Multiorganversagen eingeteilten Patientenkollektiv (MOF-Score < 4 versus \geq 4), Mittelwert \pm Standard Deviation

IL-10 zeigte im initialen posttraumatischen Verlauf bis 12 Stunden signifikante Unterschiede (0h, 12 h: $p \leq 0,038$ Mann-Whitney-Rank Sum Test; Abbildung 12). Zu späteren Zeitpunkten lassen sich keine Signifikanzen bei Patienten mit bzw. ohne Kriterien eines Multiorganversagens quantifizieren.

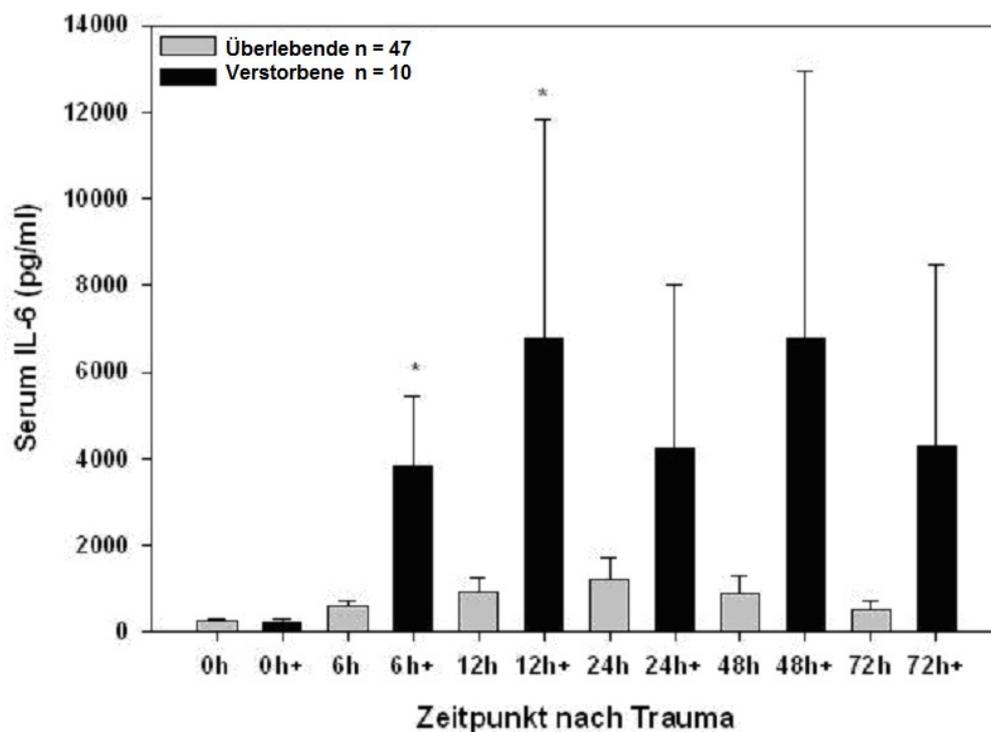


*** $p \leq 0,038$ Mann-Whitney Rank Sum Test**

Abbildung 12: **Serum IL-10 Level im nach Multiorganversagen eingeteilten Patientenkollektiv (MOF-Score<4 versus \geq 4), Mittelwert \pm Standard Deviation**

4.2.5. Klinisches Outcome

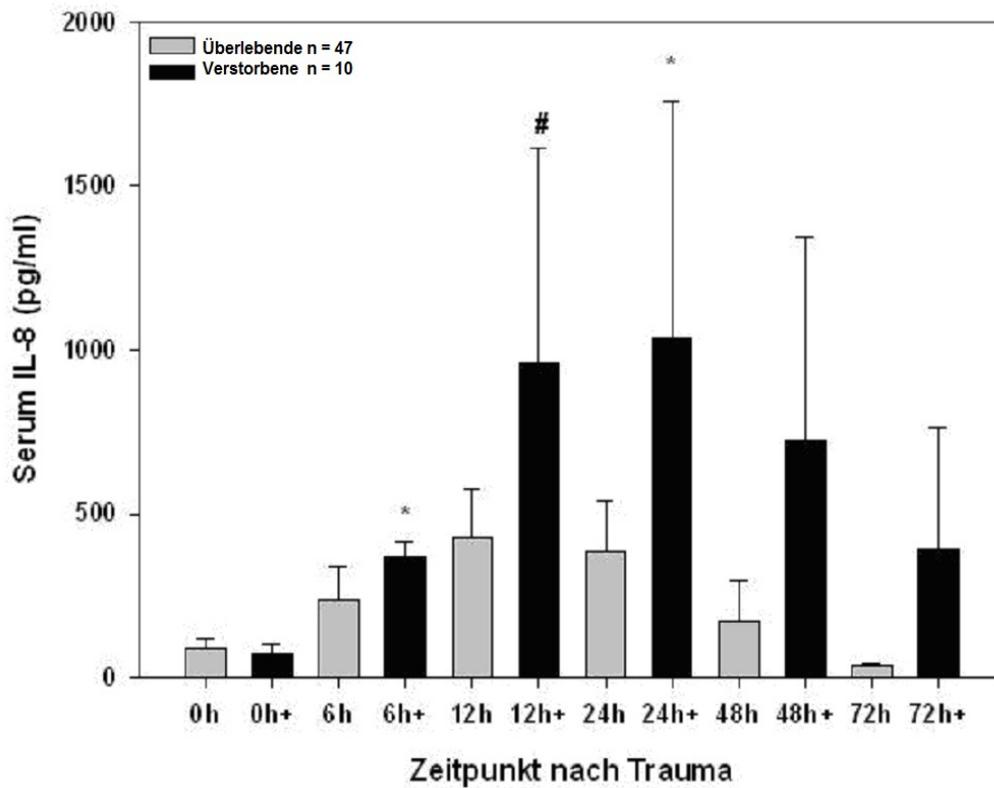
Bei allen Patienten, die innerhalb von 90 Tagen nach dem Trauma verstarben, konnten bereits zu den Zeitpunkten 6 und 12 Stunden signifikant höhere IL-6 Konzentrationen gemessen werden (6h, 12h: $p \leq 0,005$, Mann-Whitney Rank Sum Test; Abbildung 13). Zu späteren Zeitpunkten zeigten sich eindeutige Trends, aber keine Signifikanzen aufgrund der hohen Variabilität der erhobenen Messwerte.



* $p \leq 0,005$ Mann-Whitney Rank Sum Test

Abbildung 13: Serum IL-6 Level im nach klinischem Outcome eingeteilten Patientenkollektiv (überlebende versus verstorbene Patienten), Mittelwert \pm Standard Deviation

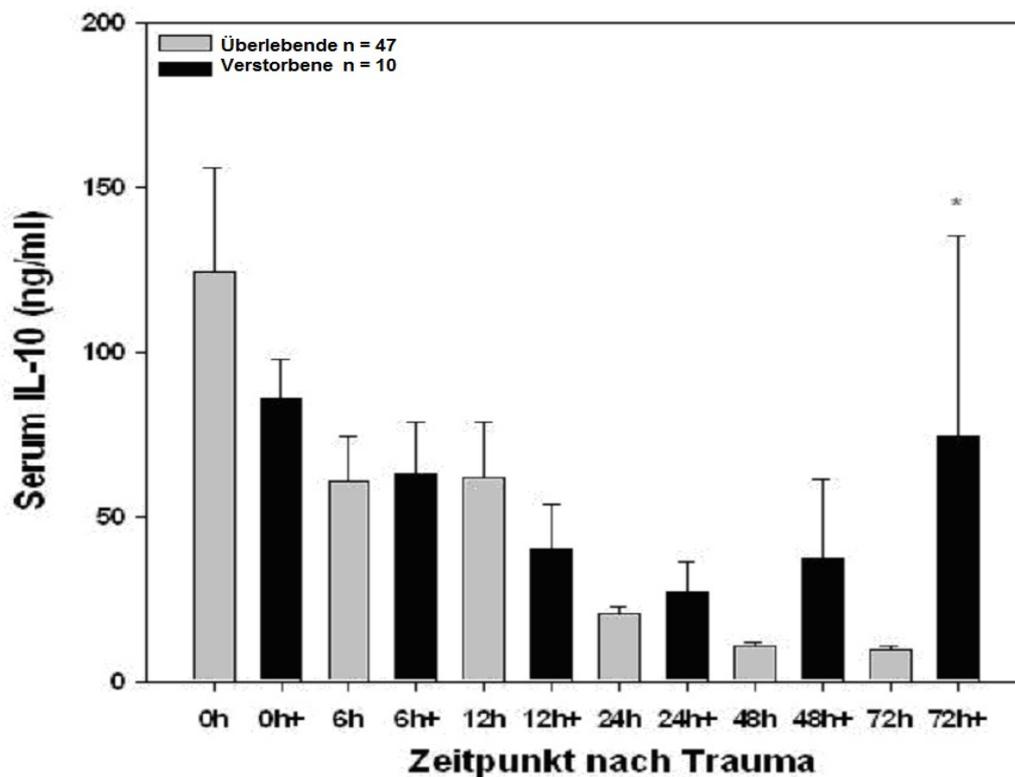
Die IL-8 Konzentrationen unterschieden sich im Zeitraum 6 bis 24 Stunden bezüglich der verstorbenen bzw. überlebenden Patienten (6h/24 h $p \leq 0,010$; 12h $p \leq 0,036$ Mann-Whitney Rank Sum Test; Abbildung 14) mit ebenfalls erhöhten Werten innerhalb des verstorbenen Patientenkollektivs.



*** $p \leq 0,010$, # $p \leq 0,036$ Mann-Whitney Rank Sum Test**

Abbildung 14: **Serum IL-8 Level im nach klinischem Outcome eingeteilten Patientenkollektiv (überlebende versus verstorbene Patienten), Mittelwert \pm Standard Deviation**

Die IL-10 Konzentrationen wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten im initialen posttraumatischen Zeitverlauf auf. Nur zum 72 Stunden Zeitpunkt konnten signifikante Unterschiede gemessen werden ($p \leq 0,018$, Mann-Whitney Rank Sum Test; Abbildung 15). Im Gegensatz zu den klinischen Parametern wie Massenbluttransfusion und der Entstehung eines Multiorganversagens, unterschieden sich die Patienten mit schlechtem klinischem Outcome erst spät im posttraumatischen Zeitverlauf hinsichtlich der Zytokinkonzentrationen.



* $p \leq 0,018$ Mann-Whitney Rank Sum Test

Abbildung 15: Serum IL-10 Level im nach klinischem Outcome eingeteilten Patientenkollektiv (überlebende versus verstorbene Patienten), Mittelwert \pm Standard Deviation

5. DISKUSSION

Die vorliegende Studie präsentiert die Ergebnisse der frühestmöglichen Messung von Interleukinen bei polytraumatisierten Patienten in der initialen posttraumatischen Phase bis 72 Stunden.

Dabei konnte gezeigt werden, dass die gemessenen Interleukin Level eine zeitliche Dynamik aufweisen und eine signifikante Korrelation mit den klinischen Parametern wie Transfusionsbedarf, Verletzungsschwere, Multiorganversagen und klinischem Outcome zeigen.

Diese Ergebnisse und Untersuchungen sollen nun detailliert diskutiert werden.

5.1. Studiendesign

Interleukine und ihr Einfluss auf das posttraumatische SIRS und die Entstehung einer Sepsis nach Mehrfachverletzungen wurden in den letzten Jahren ausführlich untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass zahlreiche Faktoren einen Einfluss auf die Zytokinexpression haben und dass die Überwachung der Interleukinwerte einen Benefit für die intensivmedizinische Patientenversorgung bedeuten kann. Dementsprechend kann eine engmaschige Kontrolle der Interleukine unter anderem einen Einfluss auf die Planung von Folgeeingriffen haben, zu einer Verkürzung der Liegedauer im Krankenhaus führen und damit einen Beitrag zur individualisierten Medizin leisten (101;163). Daneben wurden Interleukinmessungen im klinischen Alltag dazu verwendet, Vorhersagemodelle für die Entwicklung eines Multiorganversagens und das Outcome von septischen bzw. Patienten mit einem Trauma darzustellen (46;132). Allerdings wurde im Rahmen dieser Studien der Fokus vor allem auf den intermediären posttraumatischen Zeitraum ab 24 Stunden und später gelegt (132). In der unmittelbaren posttraumatischen Phase herrscht eine unzureichende Datenlage innerhalb der Literatur in Bezug auf die zeitliche Dynamik der Interleukine vor. Ursache dafür ist die Tatsache, dass sich polytraumatisierte Patienten, die unmittelbar nach einem Unfall über den Schockraum aufgenommen werden, in einer kritischen

lebensbedrohlichen Situation befinden. Serielle Blutentnahmen mit großer Häufigkeit im Zeitraum bis 24 Stunden bedeuten eine weitere Belastung für den Patienten ist deshalb kritisch zu bewerten. Um dennoch die initiale posttraumatische Phase genauer zu erforschen, wurde in dieser Studie ein Kompromiss eingegangen und insgesamt 6 Blutentnahmen nach dem Trauma durchgeführt (0h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h) und die Blutmenge aufgrund modernster Messtechnologie so reduziert, dass kein Einfluss auf die Therapie entstand. In einer präklinischen Studie wurde bereits bestätigt, dass die IL-6 Level unmittelbar nach einem erlittenen Polytrauma ansteigen können (62). Deshalb wurden grundsätzlich Patienten aus der Studie ausgeschlossen, bei denen die Aufnahme in den Schockraum der Klinik später als 90 Minuten nach dem Trauma erfolgte.

5.2. Patientenkollektiv

Im Rahmen der vorliegenden prospektiven Studie wurden Patienten eingeschlossen, die mindestens 18 Jahre alt waren und innerhalb von 90 Minuten nach dem Unfall in den Schockraum aufgenommen wurden. Dabei galt als weiteres Einschlusskriterium ein stumpfes Polytrauma. Die epidemiologischen Daten unseres Patientenkollektivs stehen beim Vergleich des stumpfen Traumas in einem Unterschied zu vergleichbaren Studien im nordamerikanischen Raum, da Penetrationsverletzungen als Ausschlusskriterium definiert wurden. In Nordamerika treten häufiger penetrierende Verletzungen durch Hieb- und Schusswaffen auf (52;146). Insgesamt zeigt sich aber eine Korrelation mit dem Verletzungsmuster „stumpfes Polytrauma“ unserer Studie, da die Auswertung des DGU-Traumaregisters bei allen registrierten Patienten einen Wert von 95% angibt (44).

Die Geschlechterverteilung unserer Studie lag bei 66,7 % Männern (38 Patienten) und 33,0% Frauen (19 Patientinnen). Im Vergleich zu den Daten der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie (DGU) (44) aus dem Jahresbericht 2012 zeigte sich in unserer Studie ein annähernd gleicher Prozentsatz von männlichen und

weiblichen Patienten. Der Anteil des Traumaregisters der DGU betrug 71 % Männer und 29 % Frauen. Eine Untersuchung an 4849 polytraumatisierten Patienten in Deutschland zum Geschlechterverhältnis ergab einen Wert von Männern zu Frauen von 2,1 zu 1 (135). Auch hier sind die Daten unseres Patientenkollektivs trotz seiner geringen Größe nahezu identisch (2 zu 1).

Das Durchschnittsalter der Patienten unserer Studie lag bei 42 Jahren. Das Traumaregister der DGU gab für das Jahr 2011 bei 23416 Patienten ein durchschnittliches Alter von 47 Jahren an. Im gesamten registrierten Patientenkollektiv des DGU-Registers ergibt sich ein Durchschnittsalter von 44,4 Jahren (44). Insgesamt steigt das Durchschnittsalter der polytraumatisierten Patienten im Verlauf der letzten Jahre durch den demographischen Wandel an. Ein Blick auf das durchschnittliche Patientenalter des Traumaregisters der DGU bestätigt den steigenden

Anteil der älteren Patienten (2009: Durchschnittsalter 45,7 Jahre; 2010: Durchschnittsalter 46,3 Jahre) (44). Eine Studie der Universität Wien an 501 polytraumatisierten Patienten im Zeitraum 1992 bis 2002 ergab einen Altersmedian von 37,5 Jahren mit ebenfalls steigendem Patientenalter pro Studienjahrdauer (Anstieg um 0,75 Jahre pro Studienjahrdauer) (2). Die Ursache für das vergleichsweise jüngere Patientenalter unserer Studie lässt sich durch das kleine Patientenkollektiv begründen. Größere untersuchte Patientenkollektive ergeben eine genauere Annäherung an das tatsächliche durchschnittliche Patientenalter (44). Im Rahmen dieser Studie wurden innerhalb der Patientengruppe zwei verschiedene Altersunterteilungen vorgenommen. Die erste Untergliederung wurde bei einem Patientenalter von 42 Jahren gewählt, da dieses Alter dem Altersdurchschnitt des Patientenkollektivs entsprach. In Anlehnung an die Altersklassifikation von Kuhne et al. wurde die zweite Altersgrenze bei 55 Jahren gesetzt, da im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesen werden konnte, dass die Komplikationsrate bei Patienten ≥ 55 Jahren unabhängig von der Verletzungsschwere signifikant steigt (89). In beiden Altersunterteilungen konnten keine altersabhängigen vermehrten oder verminderten Interleukinkonzentrationen gemessen werden. Im Gegensatz zu Sperry et al. konnten wir in unserer Studie

keinen signifikanten Zusammenhang von IL-6 Konzentrationen und Zugehörigkeit zum männlichen Geschlecht nachweisen (159). Die vorliegenden Daten zeigten eine nicht-signifikante Tendenz zu erhöhten IL-6, 8 und 10 Konzentrationen, aber ausschließlich im Zeitraum der ersten 12 posttraumatischen Stunden. Insgesamt lässt sich demnach feststellen, dass weder das Patientenalter, noch das Geschlecht als Confounder nachgewiesen werden konnten und die Auswertung unabhängig von diesen beiden Variablen war.

In unserer Studie wurde die Menge der transfundierten Ek erfasst und eine Unterteilung gemäß den in der Literatur etablierten Grenzen in 2 dichotome Gruppen gemäß des Transfusionsbedarfs vorgenommen ($<$, \geq 10 Ek) (32;97;162). 42% der Patienten der vorliegenden Studie wurden demnach der Gruppe „Massentransfusion“ zugeordnet. Das Traumaregister der DGU gibt hier keinen Wert für die Applikation von mehr als 10 EK an. Nach den Aufzeichnungen der DGU im Jahr 2011 wurden 8,7% der Ek im Schockraum appliziert. Unter allen polytraumatisierten Patienten erhielten 17,6 % mindestens eine Bluttransfusion (44). Der Unterschied zu unserer Studie könnte damit begründet werden, dass die DGU anders als in unser Studie auch Patienten mit einem ISS $<$ 16 Punkten erfasst. Como et al. konnte bereits nachweisen, dass ein direkter Zusammenhang zwischen dem ISS und der Menge der transfundierten Blutprodukte besteht (32). Gemäß dieser Studie an 5615 Traumapatienten in einem mit unserer Klinik vergleichbaren Level 1-Traumazentrum wurden 147 Patienten mit einem durchschnittlichen ISS von 32 Punkten massent transfundiert. Der mediane ISS unserer Studie war vergleichsweise noch höher (siehe unten), sodass durch den direkten bereits belegten Zusammenhang zwischen ISS und Transfusionsmenge unsere Daten als repräsentativ angesehen werden können.

Bei den Patienten unserer Studie ergab sich ein mittlerer ISS von 35 Punkten. Vergleicht man diesen Wert mit den Auswertungen des DGU-Traumaregisters für 2011, so ergibt sich ein Punktwert von 18,3. (44). Alle Patienten, die seit 1983 in das DGU-Traumaregister aufgenommenen wurden, erreichen einen mittleren ISS von 20,7 Punkten. Die Diskrepanz zwischen unserer Studie und den Daten des DGU-Traumaregisters ist durch die Tatsache zu erklären, dass ein Wert von

weniger als 16 Punkten als Ausschlusskriterium festgelegt wurde. Zu unserer Untersuchung vergleichbare Studien an zwei europäischen unfallchirurgischen Universitätskliniken ergaben ähnliche Werte (2;135). Der in unserer Studie errechnete durchschnittliche ISS ist somit repräsentativ für vergleichbare Studien.

In unserem Patientenkollektiv erfolgte eine dichotome Differenzierung in 2 Gruppen in Hinblick auf die Entwicklung eines Multiorganversagens gemäß des etablierten MOF-Scores (94). Wurde während der intensivmedizinischen Therapie gemäß diesen Vorgaben ein kritischer Wert überschritten, erfolgte die Zuordnung zu dem jeweiligen Subkollektiv (MOF \geq 4 Multiorganversagen; MOF $<$ 4 kein Multiorganversagen). In dieser Gruppe erfüllten 42 Patienten unserer Studie im Verlauf der ersten 72 Stunden die Kriterien eines Multiorganversagens. Das entspricht einem Anteil von 73,7 %. Der Vergleichswert aus dem Traumaregister der DGU gibt hier einen deutlich geringeren Wert für das Jahr 2011 von 22,1 % bzw. 23,1 % von allen bislang registrierten Patienten an. Im Traumaregister wird hierbei auf eine nicht ausreichende Validität nach den Richtlinien des Qualitätsmanagements verwiesen (44). Bereits Lefering et al. postulierte, dass der MOF-Score von zahlreichen Schwankungen abhängt, die eine Bias verursachen können. So wird der arterielle Blutdruckwert durch eine Katecholamintherapie kurzfristig beeinflusst. Weitere mögliche Einflussgrößen können eine Hämodialysetherapie zur kurzfristigen Senkung des Serumkreatinwertes bzw. die Ventilationstherapie mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von mehr als 40 % darstellen (94). Die engmaschige laborchemische Messung von Interleukinen könnte hier validere Aussagemöglichkeiten über die Entwicklung eines Multiorganversagens bedeuten. Dennoch sind Scoring-Systeme zur Dokumentation der vielschichtigen klinischen Abläufen bei polytraumatisierten Patienten unverzichtbar (177).

Die Berechnung der Letalität in der vorliegenden Studie ergab einen Wert von 17,5 %. Im Traumaregister der DGU wird hier ein Prozentsatz von 10,3% für das Jahr 2011 und bei allen bislang im Traumaregister registrierten Patienten von 12,8 % angegeben. Die vergleichsweise höhere Letalität im Rahmen unserer Studie kann durch das komplexere und schwerere Verletzungsausmaß bei den behandelten

Patienten an einem unfallchirurgischen Universitätskrankenhaus der Maximalversorgung begründet werden. Einer Studie an einem Universitätskrankenhaus in Niedersachsen über einen Zeitraum von 30 Jahren an polytraumatisierte Patienten weist demnach eine Letalitätsrate von 18 % aus, die sich mit dem Wert unserer Studie deckt (135).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Daten unserer Studie in Bezug auf Geschlecht, Transfusionsmenge, Verletzungsschwere und Letalitätsrate Vergleichsuntersuchungen entsprechen. Lediglich beim Patientenalter sind in unserer Studie jüngere Patienten im Vergleich zu anderen Patientenkollektiven zu finden.

5.3. Chemilumineszenzassay

Zur Messung der Interleukinkonzentrationen wurde anstatt eines konventionellen *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) ein automatisiertes Chemilumineszenzassay-System verwendet. Das System wurde in der Vergangenheit im Rahmen klinischer Studien validiert und ermöglicht es, zeitnahe Einzelmessungen durchzuführen, die dem Anspruch des klinischen Alltags entsprechen (149). Die schnelle laborchemische Identifikation von polytraumatisierten Patienten, die von einem Multiorganorganversagen oder der Entwicklung eines SIRS bedroht sind, wird auf diese Weise möglich. Auch in der Prävention von Infektionen bei immunsupprimierten Patienten auf der Intensivstation spielt die Interleukinmessung eine wichtige Rolle, da auf diese Weise das Therapieregime wie z. B. durch Umstellung der antibiotischen Behandlung frühzeitig angepasst werden kann (149;183). Wie bereits ausgeführt, können chirurgische Eingriffe durch die kontinuierliche Messung von Interleukinen auf den günstigsten Zeitpunkt festgelegt werden, um ein Versagen des Immunsystems zu verhindern.

5.4. Massenbluttransfusion

Die vorliegende Studie zeigt eindeutig, dass nach einer massiven Applikation von Erythrozytenkonzentraten eine erhöhte Serumkonzentration der gemessenen Interleukine 6, 8, und 10 bereits innerhalb der ersten 6 Stunden nachgewiesen werden kann. Bei allen gemessenen Interleukinen zeigte sich eine zeitliche Dynamik mit einem Anstieg der gemessenen Serumkonzentrationen innerhalb der ersten 72 Stunden nach dem Trauma. Die Grenze von ≥ 10 EK innerhalb der ersten 24 Stunden nach einem Trauma wurde entsprechend der Arbeit von Como et al. (32) innerhalb der Gruppe „Massenbluttransfusion“ definiert. Eine Massentransfusion von Erythrozytenkonzentraten bedingt häufig die gleichzeitige Substitution von FFP. Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv wurden ähnlich hohe Mengen von FFP wie EK transfundiert. Unter diesem Gesichtspunkt sind in einigen Studien Bluttransfusionen als unabhängige Risikofaktoren für die Entstehung eines SIRS, Multiorganversagens und schlechtem klinischen Outcome bei Traumapatienten identifiziert worden (49;103).

Die Kurvenverläufe der in unserer Studie gemessenen IL-6 und IL-8 haben einen ähnlichen Kurvenverlauf mit einer signifikanten Erhöhung bereits ab dem 6-Stunden-Zeitpunkt und einem relativem Anstieg nach 12 Stunden. Ein kontinuierlicher Abfall der Zytokinkonzentrationen fand im posttraumatischen Zeitraum nach 72 Stunden statt. Eine aktuelle Untersuchung an einem ähnlich großen Patientenkollektiv (n=55) wie dem der vorliegenden Studie bestätigte ebenfalls den Einfluss von Bluttransfusionen auf die gemessenen IL-6 und IL-8 Level. Dabei wurden ebenfalls erhöhte Serumkonzentrationen dieser beiden Zytokine gemessen, wobei es im Gegensatz zu unserer Studie in der Gruppe der massentransfunden Patienten erst nach 12 Stunden beim IL-8 zu einem signifikanten Anstieg der Konzentrationen kam (93). Unsere Daten weisen nach, dass die extrazelluläre Ausschüttung dieser beiden proinflammatorischen Botenstoffe bereits früher detektiert werden kann, obwohl eine Bias bei unserem kleinen Patientenkollektiv in Betracht gezogen werden muss. Eine andere Studie zur Abhängigkeit von transfundierten Blutprodukten und gemessenen IL-6 bzw. IL-

10 Level zeigte ebenfalls ähnliche Ergebnisse (69). Auch hier wurde ein relativer Anstieg der Konzentrationen ab dem 24-Stunden Zeitpunkt nachgewiesen, mit einem zweiten Maximalpunkt nach 6 Tagen innerhalb des Follow-Up.

Zu diskutieren ist, ob die erhöhten Interleukin-Level in der Gruppe der massentransfunden Patienten allein durch die vermehrte Applikation von Erythrozytenkonzentraten zu erklären sind. Die drei untersuchten Interleukine unserer Studie sind bei den Patienten erhöht, die bei einer akuten Blutung mit Schockzustand einen Transfusionsbedarf im Sinne einer Massenbluttransfusion hatten. Alle Patienten, die massentransfundiert wurden, litten andererseits unter dem klinischen Bild eines hämorrhagischen Schocks aufgrund der Schwere der Verletzung. Die gemessenen erhöhten Interleukinwerte in der Gruppe der massentransfunden Patienten waren demnach nicht nur als eine Folge der substituierten Ek anzusehen, sondern gleichzeitig auch als Konsequenz des hohen Blutverlustes bzw. Aktivierung des Immunsystems mit konsekutiver Ek-Substitution.

Zu klären bleibt auch die Frage, inwieweit die vermehrte Ausschüttung von Interleukinen nach Substitution von Ek eine körpereigene Reaktion auf extern zugeführte Proteine darstellt, die ein SIRS und konsekutives Multiorganversagen hervorrufen können. Eine weitere Möglichkeit, die den externen Ursprung der Interleukine klären könnte, bezieht sich auf die geringen Mengen von Leukozyten innerhalb der Ek-Produkte. Die Kontamination mit körperfremden Immunzellen stellt eine wichtige Bias bei der Untersuchung von Patienten nach Massenbluttransfusion dar. Innerhalb unserer Studie erhielten die Patienten leukozytendepletierte Ek. Diese Ek enthalten eine Menge von Leukozyten in einer Größenordnung $0,5$ bis $0,7 \times 10^6$ pro Ek. Diese Anzahl kann als eine geringe Zellzahl angesehen werden. Allerdings stellt auch diese Menge eine potentielle Quelle für externe Zytokinproduktion dar. In diesem Zusammenhang wurden bereits IL-8 und andere immunologische Stoffe in Erythrozytenkonzentraten nachgewiesen (160). Es ist also nicht mit vollständiger Sicherheit auszuschließen, dass die gemessenen Interleukinlevel aus den transfunden

Erythrozytenkonzentraten stammen bzw. die immunologische Aktivierung durch die geringe Menge der enthaltenen Leukozyten getriggert wird.

So zeigten einige Studien in der Vergangenheit, dass es zu einer Beschleunigung der pro-inflammatorischen Immunantwort nach der Applikation von Ek kommen kann (5;60). Die genauen immunmodulatorischen Mechanismen sind jedoch noch unzureichend entschlüsselt und erfordern weiterer Forschung.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass durch die Messungen unserer Studie nachgewiesen werden konnte, dass die Interleukine 6, 8, und 10 bei Patienten, die massentransfundiert wurden im Beobachtungszeitraum bis 72 Stunden erhöhte Konzentrationen nachgewiesen werden konnten.

5.5. Verletzungsschwere

In vergangenen Studien wurde belegt, dass die Verletzungsschwere und das Ausmaß des Weichteilschadens die Zytokinfreisetzung beeinflussen (182). Dabei ist beim IL-6 und IL-10 in der Literatur die Entstehung eines MOF beim polytraumatisierten Patienten eng mit der gemessenen Serumkonzentration und der Anzahl der erfüllten SIRS-Kriterien vergesellschaftet (91). Die Zytokine IL-6 und IL-8 gelten nach Validierung durch klinische Studien als stabile Indikatoren für den Verletzungsgrad und Weichteilschaden mit einem signifikanten Anstieg beim Thorax- und Schädel-Hirn-Trauma (130).

Die vorliegende Untersuchung zeigte keine signifikanten Zusammenhänge bezüglich der IL-6 bzw. IL-8 Ausschüttung und den errechneten ISS. Ein entscheidender Grund könnte die Definierung der ISS Grenzen darstellen, um dichotome klinische Patientengruppen zu erhalten. Da es nach gegenwärtigem Wissenstand keine einheitlichen Grenzen bei der Unterteilung des ISS gibt, wurde unser Patientenkollektiv bei dessen Median festgelegt (35 Punkte). Bei dem kleinen Patientenkollektiv ist die Festlegung dieser Grenze nicht unumstritten, da zu einer Unterteilung in dichotome Gruppen eine größere Patientenzahl erforderlich ist.

Patienten mit einer schwereren Verletzung (ISS \geq 35 Punkte) zeigten eine signifikante Korrelation von höheren IL-10 Werten nur zum 12 Stunden Zeitpunkt nach dem auslösenden Trauma.

Auch bei der Evaluation der Literatur herrscht eine uneinheitliche Datenlage bezüglich der Korrelation zwischen Verletzungsschwere und ausgeschütteter Interleukinkonzentration. Neidhart et al. konnte anhand einer älteren Studie an 417 Patienten bei dem schwerer verletzten Patientenanteil (ISS $>$ 25) einen signifikanten Anstieg der IL-10 Werte über einen Zeitraum von 21 Tagen nachweisen (120). Eine aktuellere Untersuchung an einem kleineren Patientenkollektiv konnte dem widersprechend keinen Zusammenhang zwischen Verletzungsschwere bei polytraumatisierten Patienten bzw. Verletzungsmuster und IL-6 und 8 Konzentrationen herstellen (70). Andere Messungen postulierten eine sichere Korrelation zwischen IL-6 und bestehenden Scoring-Systemen wie dem APACHE-Score bei polytraumatisierten Patienten, konnten aber keinen entsprechenden Nachweis für IL-8 und 10 erbringen (124).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die vorliegende Untersuchung keinen Zusammenhang zwischen der Verletzungsschwere und den gemessenen Interleukinkonzentrationen nachweisen konnte.

5.6. Multiorganversagen

Ähnlich wie bei der Auswertung der Zytokinausschüttung bei massentransfundierte Patienten verhalten sich die untersuchten Interleukine 6 und 8 durch vermehrte Ausschüttung bei Patienten mit klinischen Hinweisen auf ein Multiorganversagen. Dabei wurde das Multiorganversagen durch einen modifizierten MOF-Score \geq 4 Punkten definiert (94). Diese Einteilung ist konform mit den Ergebnissen aus anderen Studien an Patienten mit einem polytraumatischen Verletzungsmuster. Lausevic et al. untersuchte den Verlauf von Interleukinkonzentrationen als Vorhersagemodell für die Entwicklung eines MOF bei Traumpatienten (91). Die erste Blutprobe in dieser Studie wurde zu einem beliebigen Zeitpunkt innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Trauma

gewonnen. Die Daten unserer Studie zeigten, ähnlich wie bei der Untersuchung von Lausevic, dass sich die Interleukin-Werte bei Patienten, die im Verlauf ein MOF entwickeln, grundlegend von Patienten ohne die Entwicklung eines MOF unterscheiden. Diese Differenzierung ist bereits in den ersten 90 Minuten nach dem Trauma messbar und hat besonders innerhalb der ersten 72 Stunden nach dem Trauma eine erhebliche Dynamik. In unserer Studie sind die IL 6 und 8 Konzentrationen bei den Patienten, die ein MOF entwickelten zu jedem Zeitpunkt signifikant erhöht. Dementsprechend zeigten einige Studien, dass polytraumatisierte Patienten innerhalb der sogenannten „vulnerablen Phase“ von einigen Tagen nach dem Trauma besonders anfällig wie die Entwicklung eines MOF sind (52;108). Eine Untersuchung zum gestuften Versorgungsprinzip an 61 polytraumatisierten Patienten zeigte wie in unserer Studie innerhalb der ersten 24 Stunden hochsignifikante Anstiege der Zytokinwerte für IL-6 und IL-8-Werte, wobei sich kein Unterschiede bei den operativ und nicht operativ versorgten Patienten messen ließen (99). Eine Untersuchung von Seekamp et al. wies einen Anstieg der IL-6 und IL-10 Level über einen Zeitraum von 5 bzw. 6 Tagen nach einem Polytrauma bei den Patienten, die unter einem MOF litten, nach (150). Unsere Ergebnisse stimmen mit den genannten beiden Veröffentlichungen im Wesentlichen überein. Lediglich beim antiinflammatorisch wirkenden IL-10 war bei der vorliegenden Studie nur ein kürzerer Zeitraum mit einem signifikanten Anstieg zum 6 bzw. 12-Stunden Zeitpunkt nachweisbar. Als Erklärungsversuch für den von uns gemessenen Abfall der IL-10 Werte nach dem 12 Stunden Zeitpunkt könnte der Verlust der antiinflammatorischen Wirkung dieses Interleukins durch eine überschießende Immunreaktion angebracht werden. Als wesentliches Element der Steuerung der pro- und antiinflammatorischen IL-Level bei der Entwicklung eines MOF wird dabei in der Literatur das Zusammenspiel von Ischämie und konsekutiver Reperfusion angesehen (35;174).

In der Zusammenfassung lässt sich feststellen, dass die vorliegende Studie einen direkten Zusammenhang zwischen den gemessenen Interleukinkonzentrationen und der Entwicklung eines MOF nachweisen konnte.

5.7. Klinisches Outcome

In den ersten 12 bzw. 24 Stunden nach dem Trauma waren die gemessenen IL-6 und IL-8 Konzentrationen in der vorliegenden Studie bei den verstorbenen Patienten im Gegensatz zu dem überlebenden Patientenkollektiv signifikant erhöht. Diese Tatsache ist besonders interessant, da die mRNA von IL-8 in einer vorangegangenen genomweiten Analyse als stärkster Marker für das klinische Outcome von Patienten nach einem Trauma identifiziert werden konnte (14). Diese Unterschiede scheinen offenbar auf verschiedenen Stufen messbar zu sein – innerhalb der systemischen Zirkulation und auf transkriptionaler Ebene. Im Unterschied zu früheren IL-8 Analysen von Hirani et al. an schwerverletzten Traumapatienten mit ARDS und schlechtem klinischem Outcome, konnten die sehr frühen Differenzierungen zum 120-Minuten-Zeitpunkt durch unsere Studie nicht bestätigt werden (74). Unsere Messungen aus dem Serum der Patienten konnten einen signifikanten Anstieg im Zeitraum sechs bis 24 Stunden nach dem Trauma nachweisen. Mögliche Ursache könnte die Tatsache sein, dass bei der Studie von Hirani das Untersuchungsmaterial durch eine Bronchiallavage gewonnen wurde und der systemische Konzentrationsanstieg von IL-8 im Blutserum erst zu einem späteren Zeitpunkt detektiert werden kann. Im Gegensatz zu den Ergebnissen unserer Studie wurde von Akkose et al. im Rahmen einer aktuellen Untersuchung an 60 Patienten kein signifikanter Zusammenhang zwischen IL-6 und IL-10 Konzentrationen bei polytraumatisierten Patienten mit einem traumatischem hämorrhagischen Schock nachgewiesen (1). Die Autoren dieser Studie sowie weitere Forschungen (61;100) schlussfolgerten, dass die gemessenen Interleukine ungeeignet seien, um die Mortalität vorherzusagen bzw. mögliche Komplikationen wie die Entstehung eines ARDS, einer Sepsis oder eines MOF rechtzeitig zu erkennen. Die Messungen unserer Studie zeigten für IL-10 signifikante Unterschiede nur zum posttraumatischen 72-Stunden-Zeitpunkt bei den verstorbenen Patienten im Gegensatz zu den Überlebenden. Eine ähnliche Situation liegt bei unseren Messungen zum IL-6 vor. Signifikante Konzentrationserhöhungen konnten nur im Zeitraum sechs bis zwölf Stunden nach

dem Trauma gemessen werden. Zu den späteren Zeitpunkten bis 72 Stunden zeigt sich zwar eine Erhöhung, aber ohne einen Signifikanznachweis. Dieses Ergebnis korreliert mit den Befunden in der Literatur, obwohl bei der maximalen Erhöhung der IL-6 tendenziell spätere Zeitpunkte nach 12 und 36 Stunden angegeben werden (20;133). Maier et al. postuliert anhand eines großen Patientenkollektivs (n=352) in diesem Zusammenhang, dass ein später Interleukin-Anstieg mit einem late-onset MOF nach 4 bis 10 Tagen mit einer hohen Mortalität (38,5%) assoziiert ist (101). Andere Untersuchungen sind der Auffassung, dass die in unserer Studie gemessenen Interleukine als zuverlässige Biomarker gelten, die geeignet sind, um Hochrisikopatienten für die Entwicklung eines postraumatischen MOF frühzeitig zu erkennen und einer Reduktion der Mortalität zu erreichen (63;133). Dadurch kann beispielsweise das antibiotische Therapiekonzept rechtzeitig angepasst werden, um die hohe Letalität dieses Patientenkollektivs zu verringern (46;132).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass unsere Studie die Frage nicht abschließend beantworten konnte, ob allein die kontinuierliche Messung von Interleukinen eine valide Möglichkeit darstellt, um das klinische Outcome der Patienten zu vorherzusagen. Die gegenwärtigen Vorhersagemodelle zur Mortalitätswahrscheinlichkeit basieren im Wesentlichen auf Scoring- Systemen wie APACHE, ISS, GCS und dem Einfluss eines erhöhten Patientenalters (140;157) und können nicht zur Anpassung der Therapie herangezogen werden. Unserer Meinung nach kann die kontinuierliche Überwachung der Interleukinwerte dennoch neben der klinischen Beurteilung als zusätzliches Werkzeug dienen, um hohe Mortalitätsraten durch Komplikationen wie das Auftreten eines MOF zu reduzieren. Insgesamt kann durch die regelmäßige Kontrolle der Interleukinparameter ein Beitrag zu individualisierter Medizin geleistet werden. Weitere umfassende Forschung ist jedoch notwendig, um eine frühere Identifizierung von Hochrisikopatienten zu ermöglichen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Bei polytraumatisierten Patienten spielt die systemische Entzündungsreaktion *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) eine entscheidende Rolle für den klinischen Verlauf. Die Entwicklung und Ausdehnung eines SIRS entscheidet über die Entstehung und das Ausmaß eines Multiorganversagens und manifestiert sich auf der Ebene von Organfunktionsstörungen mit hoher Mortalität. Zahlreiche Untersuchungen der Vergangenheit unterstreichen die zentrale Rolle des Immunsystems mit seinen extrazellulären Komponenten, den Zytokinen. Unzureichend wurde jedoch die Frage nach der zeitlichen Dynamik der immunologischen Funktionsstörung bei polytraumatisierten Patienten und die Synthese-Kapazität der relevanten Botenstoffen Interleukin-6, 8 und 10 in Abhängigkeit von klinischen Parametern beantwortet.

Fragestellungen der vorliegenden Arbeit waren daher:

- i) zu überprüfen, ob es durch die Messung von Interleukinen in der frühen posttraumatischen Phase bei polytraumatisierten Patienten möglich ist, eine zeitliche Dynamik der Interleukinkonzentrationen zu zeigen
- ii) in einem zweiten Schritt zu untersuchen, ob eine Abhängigkeit zwischen der Anzahl der verabreichten Erythrozytenkonzentrate und den gemessenen Interleukinkonzentrationen besteht
- iii) und schließlich die untersuchten Interleukine in einen Kontext mit den patientenspezifischen Kriterien der Verletzungsschwere, der Entwicklung eines Multiorganversagens und des definitiven klinischen Outcome zur Risikostratifizierung zu setzen.

Mithilfe eines automatisierten Immunoassays wurden im Blut von polytraumatisierten Patienten in der unmittelbaren posttraumatischen Phase Interleukinspiegel gemessen und diese in einem statistischen Verfahren mit den klinischen Einflussfaktoren korreliert. Dabei wurden die proinflammatorischen Zytokine Interleukin 6 und 8 bzw. das mehrheitlich antiinflammatorisch wirkende Interleukin 10 näher untersucht. Im Rahmen der Untersuchung wurden 57 Patienten mit einer Schwereverletzung (Polytrauma) eingeschlossen, die mindestens einen *Injury Severity Score* (ISS) ≥ 16 Punkte erreichten. Das Zeitintervall zwischen Trauma, Aufnahme in den Schockraum der Klinik und initialer Blutentnahme sollte innerhalb von 90 Minuten geschehen. Die weiteren Blutentnahmen erfolgten standardisiert zu den Zeitpunkten 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden bezogen auf den Unfallzeitpunkt. Zur Beurteilung der posttraumatischen Mortalität wurde das 90-Tage-Überleben als Endpunkt dokumentiert. Die objektive Analyse der Verletzungsschwere erfolgte durch Berechnung des ISS bzw. des *Multiple Organ Failure Scores* (MOF) für jeden Blutabnahmezeitpunkt. Als weitere Untersuchungsgröße wurde die Menge der transfundierten *Erythrozytenkonzentrate* (Ek) dokumentiert.

Die Fragestellungen lassen sich durch die Ergebnisse wie folgt beantworten:

- i) Es lässt sich eine zeitliche Dynamik der Interleukinkonzentrationen in der frühen posttraumatischen Phase nachweisen. Die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 zeigen ähnliche Verläufe mit einer signifikanten Erhöhung zum 6-Stunden-Zeitpunkt und einem kontinuierlichen Abfall nach 24 Stunden. Beim IL-10 konnte eine Spitzenkonzentration zum Aufnahmezeitpunkt nachgewiesen werden, mit einem Konzentrationsabfall nach 6 Stunden.
- ii) Es besteht eine Korrelation zwischen der Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentrate und den gemessenen Interleukinkonzentrationen. Im Zeitraum bis 72 Stunden können bei massentransfundierten Patienten signifikant höhere Konzentrationen bei allen untersuchten Interleukinen nachgewiesen werden.

- iii) Die Ergebnisse konnten keine Wechselwirkung zwischen der Verletzungsschwere und den gemessenen Interleukinkonzentrationen nachweisen. Lediglich beim IL-10 konnte zum 12-Stunden Zeitpunkt eine signifikante Erhöhung bei den schwerer verletzten Patienten beobachtet werden.

Die Untersuchung aller Patienten mit Zeichen eines Multiorganversagens zeigte signifikant höhere Konzentrationen für IL-6 und 8. IL-10 wies nur im initialen posttraumatischen Verlauf bis 12 Stunden signifikante Unterschiede auf.

Bezüglich des klinischen Outcomes konnten bereits in der frühen posttraumatischen Phase signifikant höhere IL-6 und IL-8 Konzentrationen bis 12 bzw. 24 Stunden beim innerhalb von 90 Tagen verstorbenen Patientenkollektiv beobachtet werden. Zu späteren Zeitpunkten ergaben sich eindeutige Trends, aber keine Signifikanzen aufgrund der hohen Variabilität der erhobenen Messwerte. IL-10 zeigte keine signifikanten Abweichungen zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten in der initialen posttraumatischen Phase. Nur zum 72 Stunden Zeitpunkt konnten signifikante Unterschiede gemessen werden.

Die vorliegende Arbeit zeigt die diagnostische Bedeutung pro- und antiinflammatorischen Zytokine für das klinische Management polytraumatisierter Patienten in der unmittelbaren posttraumatischen Phase auf. Dabei korrelieren die Ergebnisse signifikant mit dem klinischen Verlauf des Patienten. Es lassen sich auf diesen Resultaten basierend zahlreiche Ausblicke entwickeln: die kontinuierliche Überwachung der Interleukinwerte in der klinischen Routinediagnostik kann einen Benefit für die individualisierte Patientenversorgung bedeuten. Auf diese Weise können Folgeeingriffe entsprechend dem klinischen Zustand des Patienten geplant, die stationären Aufenthalte verkürzt und das klinische Überleben der schwerstverletzten Patienten weiter verbessert werden. Als langfristiges Ziel sollte die individualisierte Anpassung der Therapiemaßnahmen angestrebt werden, um

die Entstehung und den Verlauf posttraumatischer Entzündungsvorgänge besser prognostizieren und reduzieren zu können.

Auszüge der hier vorgestellten Ergebnisse sind bereits von Bogner et al. in folgender Arbeit „Very early posttraumatic serum alterations are significantly associated to initial massive RBC substitution, injury severity, multiple organ failure and adverse clinical outcome in multiple injured patients” Eur J Med Res, 2009, veröffentlicht worden (16).

7. LITERATUR

- (1) Akkose S, Ozgurer A, Bulut M, Koksal O, Ozdemir F, Ozguç H. Relationships between markers of inflammation, severity of injury, and clinical outcomes in hemorrhagic shock. *Adv Ther* 2007; 24 (5): 955-962.
- (2) Aldrian S, Koenig F, Weninger P, Vecsei V, Nau T. Characteristics of polytrauma patients between 1992 and 2002: what is changing? *Injury* 2007; 38 (9): 1059-1064.
- (3) Ali J, Adam R, Butler AK, Chang H, Howard M, Gonsalves D, Pitt-Miller P, Stedman M, Winn J, Williams J. Trauma outcome improves following the advanced trauma life support program in a developing country. *J Trauma* 1993; 34 (6): 890-898.
- (4) Ali J, Naraynsingh V. Potential impact of the advanced trauma life support (ATLS). Program in a Third World country. *Int Surg* 1987; 72 (3): 179-184.
- (5) Avall A, Hyllner M, Bengtson JP, Carlsson L, Bengtsson A. Postoperative inflammatory response after autologous and allogeneic blood transfusion. *Anesthesiology* 1997; 87 (3): 511-516.
- (6) Babson AL, Olson DR, Palmieri T, Ross AF, Becker DM, Mulqueen PJ. The IMMULITE assay tube: a new approach to heterogeneous ligand assay. *Clin Chem* 1991; 37 (9): 1521-1522.
- (7) Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 1992; 79 (8): 757-760.
- (8) Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today* 1989; 10 (9): 299-304.
- (9) Bardenheuer M, Obertacke U, Waydhas C, Nast-Kolb D. Epidemiology of the severely injured patient. A prospective assessment of preclinical and clinical management. AG Polytrauma of DGU. *Unfallchirurg* 2000; 103 (5): 355-363.
- (10) Baue AE, Durham R, Faist E. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS), multiple organ dysfunction syndrome (MODS), multiple organ failure (MOF): are we winning the battle? *Shock* 1998; 10 (2): 79-89.
- (11) Beckman-Coulter. Immunoassay System-Referenzhandbuch;2009;
- (12) Bender R, Lange S, Ziegler A. Multiple testing. *Dtsch Med Wochenschr* 2007; 132 Suppl 1e26-e29.

- (13) Berry N, Nishizuka Y. Protein kinase C and T cell activation. *Eur J Biochem* 1990; 189 (2): 205-214.
- (14) Biberthaler P, Bogner V, Baker HV, Lopez MC et al. Genome-wide monocytic mRNA expression in polytrauma patients for identification of clinical outcome. *Shock* 2005; 24 (1): 11-19.
- (15) Boege F. *Harnproteine* 1998; TH-Books Verlagsgesellschaft; 393-410.
- (16) Bogner V, Keil L, Kanz KG, Kirchhoff C, Leidel BA, Mutschler W, Biberthaler P. Very early posttraumatic serum alterations are significantly associated to initial massive RBC substitution, injury severity, multiple organ failure and adverse clinical outcome in multiple injured patients. *Eur J Med Res* 2009; 14 (7): 284-291.
- (17) Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann Intern Med* 1996; 125 (8): 680-687.
- (18) Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS and CARS. *Crit Care Med* 1996; 24 (7): 1125-1128.
- (19) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101 (6): 1644-1655.
- (20) Botha AJ, Moore FA, Moore EE, Peterson VM, Silliman CC, Goode AW. Sequential systemic platelet-activating factor and interleukin 8 primes neutrophils in patients with trauma at risk of multiple organ failure. *Br J Surg* 1996; 83 (10): 1407-1412.
- (21) Brandtzaeg P, Osnes L, Ovstebo R, Joo G, Westvik AB, Kierulf P. Net inflammatory capacity of human septic shock plasma evaluated by a monocyte-based target cell assay: identification of interleukin-10 as a major functional deactivator of human monocytes. *J Exp Med* 1996; 184 (1): 51-60.
- (22) Brown AS, Hooton J, Schaefer CA, Zhang H, Petkova E, Babulas V, Perrin M, Gorman JM, Susser ES. Elevated maternal interleukin-8 levels and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry* 2004; 161 (5): 889-895.
- (23) Cadroy Y, Dupouy D, Boneu B, Plaisancie H. Polymorphonuclear leukocytes modulate tissue factor production by mononuclear cells: role of reactive oxygen species. *J Immunol* 2000; 164 (7): 3822-3828.

- (24) Cavaillon JM, Adib-Conquy M, Cloez-Tayarani I, Fitting C. Immunodepression in sepsis and SIRS assessed by ex vivo cytokine production is not a generalized phenomenon: a review. *J Endotoxin Res* 2001; 7 (2): 85-93.
- (25) Champion HR, Copes WS, Sacco WJ, Lawnick MM, Keast SL, Bain LW Jr, Flanagan ME, Frey CF. The Major Trauma Outcome Study: establishing national norms for trauma care. *J Trauma* 1990; 30 (11): 1356-1365.
- (26) Chen W, Liang X, Peterson AJ, Munn DH, Blazar BR. The indoleamine 2,3-dioxygenase pathway is essential for human plasmacytoid dendritic cell-induced adaptive T regulatory cell generation. *J Immunol* 2008; 181 (8): 5396-5404.
- (27) Chertov O, Michiel DF, Xu L, Wang JM, Tani K, Murphy WJ, Longo DL, Taub DD, Oppenheim JJ. Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils. *J Biol Chem* 1996; 271 (6): 2935-2940.
- (28) Cioffi WG, Burleson DG, Pruitt BA, Jr. Leukocyte responses to injury. *Arch Surg* 1993; 128 (11): 1260-1267.
- (29) Clarke CJ, Hales A, Hunt A, Foxwell BM. IL-10-mediated suppression of TNF-alpha production is independent of its ability to inhibit NF kappa B activity. *Eur J Immunol* 1998; 28 (5): 1719-1726.
- (30) Clarke CJ, Hales A, Hunt A, Foxwell BM. IL-10-mediated suppression of TNF-alpha production is independent of its ability to inhibit NF kappa B activity. *Eur J Immunol* 1998; 28 (5): 1719-1726.
- (31) Committee on Injury Scaling (1990). Abbreviated Injury Scale 1990 Revision. Des Plaines, Illinois. Association of the Advancement of Automobile Medicine 2002;
- (32) Como JJ, Dutton RP, Scalea TM, Edelman BB, Hess JR. Blood transfusion rates in the care of acute trauma. *Transfusion* 2004; 44 (6): 809-813.
- (33) Cowley RA. Shock - the common denominator in blunt and penetrating trauma. *Acta Chir Scand Suppl* 1982; 508:309-313.
- (34) Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)* 1990; 79 (2): 161-165.
- (35) Cryer HG. Therapeutic approaches for clinical ischemia and reperfusion injury. *Shock* 1997; 8 (1): 26-32.

- (36) Curtsinger JM, Schmidt CS, Mondino A, Lins DC, Kedl RM, Jenkins MK, Mescher MF. Inflammatory cytokines provide a third signal for activation of naive CD4+ and CD8+ T cells. *J Immunol* 1999; 162 (6): 3256-3262.
- (37) Dai WJ, Kohler G, Brombacher F. Both innate and acquired immunity to *Listeria monocytogenes* infection are increased in IL-10-deficient mice. *J Immunol* 1997; 158 (5): 2259-2267.
- (38) Deitch EA. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. *Arch Surg* 1990; 125 (3): 403-404.
- (39) Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* 1992; 216 (2): 117-134.
- (40) Deitch EA. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: what is important in human beings? *Surgery* 2002; 131 (3): 241-244.
- (41) Deitch EA, Mancini MC. Complement receptors in shock and transplantation. *Arch Surg* 1993; 128 (11): 1222-1226.
- (42) Deitch EA, Rutan R, Waymack JP. Trauma, shock, and gut translocation. *New Horiz* 1996; 4 (2): 289-299.
- (43) DeLong WG, Jr., Born CT. Cytokines in patients with polytrauma. *Clin Orthop Relat Res* 2004; (422): 57-65.
- (44) Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie (DGU). Traumaregister DGU 2012-für den Zeitraum bis 2011. Traumregister Jahresbericht 2012: 2011;
- (45) Dickensheets HL, Freeman SL, Smith MF, Donnelly RP. Interleukin-10 upregulates tumor necrosis factor receptor type-II (p75) gene expression in endotoxin-stimulated human monocytes. *Blood* 1997; 90 (10): 4162-4171.
- (46) Dimopoulou I, Orfanos S, Kotanidou A, Livaditi O, Giamarellos-Bourboulis E, Athanasiou C, Korovesi I, Sotiropoulou C, Kopterides P, Ilias I, Kanellakopoulou K, Armaganidis A. Plasma pro- and anti-inflammatory cytokine levels and outcome prediction in unselected critically ill patients. *Cytokine* 2008; 41 (3): 263-267.
- (47) Donnelly SC, Strieter RM, Reid PT, Kunkel SL, Burdick MD, Armstrong I, Mackenzie A, Haslett C. The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist in the lung fluids of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med* 1996; 125 (3): 191-196.

- (48) Dudley RF. Chemiluminescence immunoassay: an alternative to RIA. *Laboratory Medicine* 1990; 21;216-22.
- (49) Dunne JR, Malone DL, Tracy JK, Napolitano LM. Allogenic blood transfusion in the first 24 hours after trauma is associated with increased systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and death. *Surg Infect (Larchmt)* 2004; 5 (4): 395-404.
- (50) Egger G, Aigner R, Glasner A, Hofer HP, Mitterhammer H, Zelzer S. Blood polymorphonuclear leukocyte migration as a predictive marker for infections in severe trauma: comparison with various inflammation parameters. *Intensive Care Med* 2004; 30 (2): 331-334.
- (51) Eiseman B, Beart R, Norton L. Multiple organ failure. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 144 (3): 323-326.
- (52) Ertel W, Keel M, Marty D, Hoop R, Safret A, Stocker R, Trentz O. Significance of systemic inflammation in 1,278 trauma patients. *Unfallchirurg* 1998; 101 (7): 520-526.
- (53) Ertel W, Trentz O. Polytrauma and multi-organ failure syndrome. Definition--pathophysiology--therapy. *Zentralbl Chir* 1994; 119 (3): 159-167.
- (54) Faist E, Kupper TS, Baker CC, Chaudry IH, Dwyer J, Baue AE. Depression of cellular immunity after major injury. Its association with posttraumatic complications and its reversal with immunomodulation. *Arch Surg* 1986; 121 (9): 1000-1005.
- (55) Fernandez EJ, Lolis E. Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42:469-499.
- (56) Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170 (6): 2081-2095.
- (57) Foex BA, Lamb WR, Roberts TE, Brear SG, Macartney I, Hammer M, Brenchley PE. Early cytokine response to multiple injury. *Injury* 1993; 24 (6): 373-376.
- (58) Fosse E, Mollnes TE, Aasen AO, Trumpy JH, Stokke T. Complement activation following multiple injuries. *Acta Chir Scand* 1987; 153 (5-6): 325-330.
- (59) Franke A, Lante W, Fackeldey V, Becker HP, Thode C, Kuhlmann WD, Markewitz A. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines after cardiac operation: different cellular sources at different times. *Ann Thorac Surg* 2002; 74 (2): 363-370.

- (60) Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Buurman W. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest* 1999; 116 (5): 1233-1239.
- (61) Frink M, Pape HC, van GM, Krettek C, Chaudry IH, Hildebrand F. Influence of sex and age on mods and cytokines after multiple injuries. *Shock* 2007; 27 (2): 151-156.
- (62) Gebhard F, Pfetsch H, Steinbach G, Strecker W, Kinzl L, Brückner UB. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans? *Arch Surg* 2000; 135 (3): 291-295.
- (63) Gopcevic A, Mazul-Sunko B, Marout J, Sekulic A, Antoljak N, Siranovic M, Ivanec Z, Margaritoni M, Bekavac-Beslin M, Zarkovic N. Plasma interleukin-8 as a potential predictor of mortality in adult patients with severe traumatic brain injury. *Tohoku J Exp Med* 2007; 211 (4): 387-393.
- (64) Goris RJ, te Boekhorst TP, Nuytinck JK, Gimbrere JS. Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? *Arch Surg* 1985; 120 (10): 1109-1115.
- (65) Greenberger MJ, Strieter RM, Kunkel SL, Danforth JM, Goodman RE, Standiford TJ. Neutralization of IL-10 increases survival in a murine model of Klebsiella pneumonia. *J Immunol* 1995; 155 (2): 722-729.
- (66) Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899:136-147.
- (67) Hassoun HT, Kone BC, Mercer DW, Moody FG, Weisbrodt NW, Moore FA. Post-injury multiple organ failure: the role of the gut. *Shock* 2001; 15 (1): 1-10.
- (68) Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J* 2003; 374 (Pt 1): 1-20.
- (69) Hensler T, Heinemann B, Sauerland S, Lefering R, Bouillon B, Andermahr J, Neugebauer EA. Immunologic alterations associated with high blood transfusion volume after multiple injury: effects on plasmatic cytokine and cytokine receptor concentrations. *Shock* 2003; 20 (6): 497-502.
- (70) Hensler T, Sauerland S, Bouillon B, Raum M, Rixen D, Helling HJ, Andermahr J, Neugebauer EA. Association between injury pattern of patients with multiple injuries and circulating levels of soluble tumor necrosis factor receptors, interleukin-6 and interleukin-10, and polymorphonuclear neutrophil elastase. *J Trauma* 2002; 52 (5): 962-970.

- (71) Hildebrand F, Pape HC, Krettek C. The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction. *Unfallchirurg* 2005; 108 (10): 793-803.
- (72) Hill AD, Banwell PE, Darzi A, Menzies-Gow N, Monson JR, Guillou PJ. Inflammatory markers following laparoscopic and open hernia repair. *Surg Endosc* 1995; 9 (6): 695-698.
- (73) Hill J, Lindsay TF, Ortiz F, Yeh CG, Hechtman HB, Moore FD Jr. Soluble complement receptor type 1 ameliorates the local and remote organ injury after intestinal ischemia-reperfusion in the rat. *J Immunol* 1992; 149 (5): 1723-1728.
- (74) Hirani N, Antonicelli F, Strieter RM, Wiesener MS, Ratcliffe PJ, Haslett C, Donnelly SC. The regulation of interleukin-8 by hypoxia in human macrophages--a potential role in the pathogenesis of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Mol Med* 2001; 7 (10): 685-697.
- (75) Howard M, O'Garra A, Ishida H, de Waal MR, de Vries J. Biological properties of interleukin 10. *J Clin Immunol* 1992; 12 (4): 239-247.
- (76) John H, Cammann K, Schlegel W. Development and review of radioimmunoassay of 12-S-hydroxyheptadecatrienoic acid. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 1998; 56 (2-3): 53-76.
- (77) Jordan MS, Singer AL, Koretzky GA. Adaptors as central mediators of signal transduction in immune cells. *Nat Immunol* 2003; 4 (2): 110-116.
- (78) Joyce DA, Gibbons DP, Green P, Steer JH, Feldmann M, Brennan FM. Two inhibitors of pro-inflammatory cytokine release, interleukin-10 and interleukin-4, have contrasting effects on release of soluble p75 tumor necrosis factor receptor by cultured monocytes. *Eur J Immunol* 1994; 24 (11): 2699-2705.
- (79) Kanz KG, Sturm JA, Mutschler W. Algorithm for prehospital blunt trauma management. *Unfallchirurg* 2002; 105 (11): 1007-1014.
- (80) Kavanagh EG, Kelly JL, Lyons A, Soberg CC, Mannick JA, Lederer JA. Burn injury primes naive CD4+ T cells for an augmented T-helper 1 response. *Surgery* 1998; 124 (2): 269-276.
- (81) Keel M, Ecknauer E, Stocker R, Ungethum U, Steckholzer U, Kenney J, Gallati H, Trentz O, Ertel W. Different pattern of local and systemic release of proinflammatory and anti-inflammatory mediators in severely injured patients with chest trauma. *J Trauma* 1996; 40 (6): 907-912.
- (82) Keel M, Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury* 2005; 36 (6): 691-709.

- (83) Kell MR, Kavanaugh EG, Goebel A, Soberg CC, Lederer JA. Injury primes the immune system for an enhanced and lethal T-cell response against bacterial superantigen. *Shock* 1999; 12 (2): 139-144.
- (84) Kelly JL, O'Sullivan C, O'Riordain M, O'Riordain D, Lyons A, Doherty J, Mannick JA, Rodrick ML. Is circulating endotoxin the trigger for the systemic inflammatory response syndrome seen after injury? *Ann Surg* 1997; 225 (5): 530-541.
- (85) Knight AW. A review of recent trends in analytical applications of electrogenerated chemiluminescence. *Trends in analytical chemistry* 1999; 18:47-63.
- (86) Kricka LJ. Chemiluminescent and bioluminescent techniques. *Clin Chem* 1991; 37 (9): 1472-1481.
- (87) Kricka LJ. Trend in the diagnostic immunoassay: an application of chemiluminescence. *Klin Lab Diagn* 1997; (11): 47-49.
- (88) Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75 (2): 263-274.
- (89) Kuhne CA, Ruchholtz S, Kaiser GM, Nast-Kolb D. Mortality in severely injured elderly trauma patients--when does age become a risk factor? *World J Surg* 2005; 29 (11): 1476-1482.
- (90) Lalani I, Bhol K, Ahmed AR. Interleukin-10: biology, role in inflammation and autoimmunity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 79 (6): 469-483.
- (91) Lausevic Z, Lausevic M, Trbojevic-Stankovic J, Krstic S, Stojimirovic B. Predicting multiple organ failure in patients with severe trauma. *Can J Surg* 2008; 51 (2): 97-102.
- (92) Lederer JA, Rodrick ML, Mannick JA. The effects of injury on the adaptive immune response. *Shock* 1999; 11 (3): 153-159.
- (93) Lee JS, Sperry JL, Ochoa JB, Barclay D, Namas R, Vodovotz Y, Rosengart MR. Persistence of elevated plasma CXCL8 concentrations following red blood cell transfusion in a trauma cohort. *Shock* 2012; 37 (4): 373-377.
- (94) Lefering R, Goris RJ, van Nieuwenhoven EJ, Neugebauer E. Revision of the multiple organ failure score. *Langenbecks Arch Surg* 2002; 387 (1): 14-20.
- (95) Lehmann AK, Halstensen A, Sornes S, Rokke O, Waage A. High levels of interleukin 10 in serum are associated with fatality in meningococcal disease. *Infect Immun* 1995; 63 (6): 2109-2112.

- (96) Lendemans S, Kreuzfelder E, Waydhas C, Nast-Kolb D, Flohé S. Clinical course and prognostic significance of immunological and functional parameters after severe trauma. *Unfallchirurg* 2004; 107 (3): 203-210.
- (97) Lim RC, Jr., Olcott C, Robinson AJ, Blaisdell FW. Platelet response and coagulation changes following massive blood replacement. *J Trauma* 1973; 13 (7): 577-582.
- (98) Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127 (2): 117-126.
- (99) Maier B, Frank J, Rose S, Marzi I. Primary and Secondary Release of Interleukines 6 and 8 during Staged Treatment of Multiple Trauma Patients. *Unfallchirurgie* 1999; (25): 100-107.
- (100) Maier B, Laurer HL, Rose S, Buurman WA, Marzi I. Physiological levels of pro- and anti-inflammatory mediators in cerebrospinal fluid and plasma: a normative study. *J Neurotrauma* 2005; 22 (7): 822-835.
- (101) Maier B, Lefering R, Lehnert M, Laurer HL, Steudel WI, Neugebauer EA, Marzi I. Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma. *Shock* 2007; 28 (6): 668-674.
- (102) Majetschak M, Borgermann J, Waydhas C, Obertacke U, Nast-Kolb D, Schade FU. Whole blood tumor necrosis factor-alpha production and its relation to systemic concentrations of interleukin 4, interleukin 10, and transforming growth factor-beta1 in multiply injured blunt trauma victims. *Crit Care Med* 2000; 28 (6): 1847-1853.
- (103) Malone DL, Dunne J, Tracy JK, Putnam AT, Scalea TM, Napolitano LM. Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma. *J Trauma* 2003; 54 (5): 898-905.
- (104) Mannick JA, Rodrick ML, Lederer JA. The immunologic response to injury. *J Am Coll Surg* 2001; 193 (3): 237-244.
- (105) Marchant A, Bruyns C, Vandenaabeele P, Ducarme M, Gérard C, Delvaux A, De Groote D, Abramowicz D, Velu T, Goldman M. Interleukin-10 controls interferon-gamma and tumor necrosis factor production during experimental endotoxemia. *Eur J Immunol* 1994; 24 (5): 1167-1171.
- (106) Marchant A, Deviere J, Byl B, De Groote D, Vincent JL, Goldman M. Interleukin-10 production during septicaemia. *Lancet* 1994; 343 (8899): 707-708.

- (107) Martins GA, Da Gloria Da Costa Carvalho, Rocha GC. Sepsis: a follow-up of cytokine production in different phases of septic patients. *Int J Mol Med* 2003; 11 (5): 585-591.
- (108) Marzi I, Mutschler W. Strategy of surgical management of polytrauma. *Zentralbl Chir* 1996; 121 (11): 950-962.
- (109) Matsushima K, Morishita K, Yoshimura T, Lavu S, Kobayashi Y, Lew W, Appella E, Kung HF, Leonard EJ, Oppenheim JJ. Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1988; 167 (6): 1883-1893.
- (110) Menger MD, Steiner D, Messmer K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow". *Am J Physiol* 1992; 263 (6 Pt 2): H1892-H1900.
- (111) Miyaoka K, Iwase M, Suzuki R, Kondo G, Watanabe H, Ito D, Nagumo M. Clinical evaluation of circulating interleukin-6 and interleukin-10 levels after surgery-induced inflammation. *J Surg Res* 2005; 125 (2): 144-150.
- (112) Moore FA, Moore EE, Poggetti R, McAnena OJ, Peterson VM, Abernathy CM, Parsons PE. Gut bacterial translocation via the portal vein: a clinical perspective with major torso trauma. *J Trauma* 1991; 31 (5): 629-636.
- (113) Moore FA, Moore EE, Sauaia A. Blood transfusion. An independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Arch Surg* 1997; 132 (6): 620-624.
- (114) Mukaida N. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284 (4): L566-L577.
- (115) Mukaida N, Harada A, Matsushima K. Interleukin-8 (IL-8) and monocyte chemotactic and activating factor (MCAF/MCP-1), chemokines essentially involved in inflammatory and immune reactions. *Cytokine Growth Factor Rev* 1998; 9 (1): 9-23.
- (116) Mulligan MS, Schmid E, Beck-Schimmer B, Till GO, Friedl HP, Brauer RB, Hugli TE, Miyasaka M, Warner RL, Johnson KJ, Ward PA. Requirement and role of C5a in acute lung inflammatory injury in rats. *J Clin Invest* 1996; 98 (2): 503-512.
- (117) Napolitano L. Cumulative risks of early red blood cell transfusion. *J Trauma* 2006; 60 (6 Suppl): S26-S34.
- (118) Nast-Kolb D, Aufmkolk M, Rucholtz S, Obertacke U, Waydhas C. Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma. *J Trauma* 2001; 51 (5): 835-841.

- (119) Nast-Kolb D, Waydhas C, Gippner-Steppert C, Schneider I, Trupka A, Ruchholtz S, Zettl R, Schweiberer L, Jochum M. Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries. *J Trauma* 1997; 42 (3): 446-454.
- (120) Neidhardt R, Keel M, Steckholzer U, Safret A, Ungethuem U, Trentz O, Ertel W. Relationship of interleukin-10 plasma levels to severity of injury and clinical outcome in injured patients. *J Trauma* 1997; 42 (5): 863-870.
- (121) Nishibori M, Takahashi HK, Mori S. The regulation of ICAM-1 and LFA-1 interaction by autacoids and statins: a novel strategy for controlling inflammation and immune responses. *J Pharmacol Sci* 2003; 92 (1): 7-12.
- (122) Nolan J. Fluid resuscitation for the trauma patient. *Resuscitation* 2001; 48 (1): 57-69.
- (123) Nuytinck HK, Offermans XJ, Kubat K, Goris JA. Whole-body inflammation in trauma patients. An autopsy study. *Arch Surg* 1988; 123 (12): 1519-1524.
- (124) Oberholzer A, Souza SM, Tschoeke SK, Oberholzer C, Abouhamze A, Pribble JP, Moldawer LL. Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. *Shock* 2005; 23 (6): 488-493.
- (125) Okusawa S, Dinarello CA, Yancey KB, Endres S, Lawley TJ, Frank MM, Burke JF, Gelfand JA. C5a induction of human interleukin 1. Synergistic effect with endotoxin or interferon-gamma. *J Immunol* 1987; 139 (8): 2635-2640.
- (126) Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000; 117 (4): 1162-1172.
- (127) Opal SM, Wherry JC, Grint P. Interleukin-10: potential benefits and possible risks in clinical infectious diseases. *Clin Infect Dis* 1998; 27 (6): 1497-1507.
- (128) Pajkrt D, Camoglio L, Tiel-van Buul MC, de Bruin K, Cutler DL, Affrime MB, Rikken G, van der Poll T, ten Cate JW, van Deventer SJ. Attenuation of proinflammatory response by recombinant human IL-10 in human endotoxemia: effect of timing of recombinant human IL-10 administration. *J Immunol* 1997; 158 (8): 3971-3977.
- (129) Pape HC, Grimme K, van GM, Sott AH, Giannoudis P, Morley J, Roise O, Ellingsen E, Hildebrand F, Wiese B, Krettek C. Impact of intramedullary instrumentation versus damage control for femoral fractures on immunoinflammatory parameters: prospective randomized analysis by the EPOFF Study Group. *J Trauma* 2003; 55 (1): 7-13.

- (130) Pape HC, Krettek C. Management of fractures in the severely injured--influence of the principle of "damage control orthopaedic surgery". *Unfallchirurg* 2003; 106 (2): 87-96.
- (131) Pape HC, van GM, Rice J, Gansslen A, Hildebrand F, Zech S, Winny M, Lichtinghagen R, Krettek C. Major secondary surgery in blunt trauma patients and perioperative cytokine liberation: determination of the clinical relevance of biochemical markers. *J Trauma* 2001; 50 (6): 989-1000.
- (132) Park MS, Salinas J, Wade CE, Wang J, Martini W, Pusateri AE, Merrill GA, Chung K, Wolf SE, Holcomb JB. Combining early coagulation and inflammatory status improves prediction of mortality in burned and nonburned trauma patients. *J Trauma* 2008; 64 (2 Suppl): S188-S194.
- (133) Partrick DA, Moore FA, Moore EE, Biffl WL, Sauaia A, Barnett CC Jr. The inflammatory profile of interleukin-6, interleukin-8, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in postinjury multiple organ failure. *Am J Surg* 1996; 172 (5): 425-429.
- (134) Pellegrini JD, De AK, Kodys K, Puyana JC, Furse RK, Miller-Graziano C. Relationships between T lymphocyte apoptosis and anergy following trauma. *J Surg Res* 2000; 88 (2): 200-206.
- (135) Probst C, Pape HC, Hildebrand F, Regel G, Mahlke L, Giannoudis P, Krettek C, Grotz MR. 30 years of polytrauma care: An analysis of the change in strategies and results of 4849 cases treated at a single institution. *Injury* 2009; 40 (1): 77-83.
- (136) Rabb H. The T cell as a bridge between innate and adaptive immune systems: implications for the kidney. *Kidney Int* 2002; 61 (6): 1935-1946.
- (137) Regel G, Lobenhoffer P, Lehmann U, Pape HC, Pohlemann T, Tscherne H. Results of treatment of polytraumatized patients. A comparative analysis of 3,406 cases between 1972 and 1991. *Unfallchirurg* 1993; 96 (7): 350-362.
- (138) Rensing H, Bauer M. Multiple organ failure. Mechanisms, clinical manifestations and treatment strategies. *Anaesthesist* 2001; 50 (11): 819-841.
- (139) Rioux JD, Abbas AK. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature* 2005; 435 (7042): 584-589.
- (140) Rixen D, Raum M, Bouillon B, Schlosser LE, Neugebauer E. Predicting the outcome in severe injuries: an analysis of 2069 patients from the trauma register of the German Society of Traumatology (DGU). *Unfallchirurg* 2001; 104 (3): 230-239.

- (141) Rose S, Marzi I. Pathophysiology of polytrauma. *Zentralbl Chir* 1996; 121 (11): 896-913.
- (142) Rose S, Marzi I. Mediators in polytrauma--pathophysiological significance and clinical relevance. *Langenbecks Arch Surg* 1998; 383 (3-4): 199-208.
- (143) Roumen RM, Hendriks T, van d, V, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW, Goris RJ. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg* 1993; 218 (6): 769-776.
- (144) Ruchholtz S, Nast-Kolb D, Waydhas C, Lefering R. The trauma register of the 'Polytrauma' Committee of the German Society of Trauma Surgery as the basis for quality management in the management of severely injured patients. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1997; 1141265-1267.
- (145) Huber-Wagner SM, Kanz KG, Lefering R, Euler E. Prädiktoren der Frühmortalität bei Polytrauma – Eine Auswertung des Traumaregisters der DGU. Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie. 123. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie 2010;
- (146) Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Moser KS, Brennan R, Read RA, Pons PT. Epidemiology of trauma deaths: a reassessment. *J Trauma* 1995; 38 (2): 185-193.
- (147) Schinkel C, Faist E, Zimmer S, Piltz S, Walz A, Rose R, Höcherl E, Herndon D, Schildberg FW. Kinetics of circulating adhesion molecules and chemokines after mechanical trauma and burns. *Eur J Surg* 1996; 162 (10): 763-768.
- (148) Schinkel C, Sendtner R, Zimmer S, Faist E. Functional analysis of monocyte subsets in surgical sepsis. *J Trauma* 1998; 44 (5): 743-748.
- (149) Schlosser HG, Volk HD, Splettstosser G, Brock M, Woiciechowsky C. A new qualitative interleukin-6 bedside test can predict pneumonia in patients with severe head injury--comparison to the standard Immulite test and a semiquantitative bedside test. *J Neurosurg Anesthesiol* 2007; 19 (1): 5-9.
- (150) Seekamp A, Jochum M, Ziegler M, van Griensven M, Martin M, Regel G. Cytokines and adhesion molecules in elective and accidental trauma-related ischemia/reperfusion. *J Trauma* 1998; 44 (5): 874-882.
- (151) Seekamp A, van Griensven M, Lehmann. IL-6, IL-8 and IL-10 Levels in Multiple Trauma Compared to Traumatic Brain Injury and Combined Trauma. *Eur J Trauma* 2002; 28183-189.

- (152) Senthil M, Brown M, Xu DZ, Lu Q, Feketeova E, Deitch EA. Gut-lymph hypothesis of systemic inflammatory response syndrome/multiple-organ dysfunction syndrome: validating studies in a porcine model. *J Trauma* 2006; 60 (5): 958-965.
- (153) Shalaby MR, Waage A, Aarden L, Espevik T. Endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1 induce interleukin 6 production in vivo. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53 (3): 488-498.
- (154) Shander A. Emerging risks and outcomes of blood transfusion in surgery. *Semin Hematol* 2004; 41 (1 Suppl 1): 117-124.
- (155) Shenkin A, Fraser WD, Series J, Winstanley FP, McCartney AC, Burns HJ, Van Damme J. The serum interleukin 6 response to elective surgery. *Lymphokine Res* 1989; 8 (2): 123-127.
- (156) Sherry RM, Cue JI, Goddard JK, Parramore JB, DiPiro JT. Interleukin-10 is associated with the development of sepsis in trauma patients. *J Trauma* 1996; 40 (4): 613-616.
- (157) Siegel JH, Rivkind AI, Dalal S, Goodarzi S. Early physiologic predictors of injury severity and death in blunt multiple trauma. *Arch Surg* 1990; 125 (4): 498-508.
- (158) Siemens Medical. Immulite Technics 2009; www.medical-siemens.com
- (159) Sperry JL, Friese RS, Frankel HL, West MA, Cuschieri J, Moore EE, Harbrecht BG, Peitzman AB, Billiar TR, Maier RV, Remick DG, Minei JP. Male gender is associated with excessive IL-6 expression following severe injury. *J Trauma* 2008; 64 (3): 572-578.
- (160) Stack G, Baril L, Napychank P, Snyder EL. Cytokine generation in stored, white cell-reduced, and bacterially contaminated units of red cells. *Transfusion* 1995; 35 (3): 199-203.
- (161) Stahel PF, Heyde CE, Wyrwich W, Ertel W. Current concepts of polytrauma management: from ATLS to "damage control". *Orthopade* 2005; 34 (9): 823-836.
- (162) Stainsby D, MacLennan S, Hamilton PJ. Management of massive blood loss: a template guideline. *Br J Anaesth* 2000; 85 (3): 487-491.
- (163) Steinbach G, Bolke E, Schulte am EJ, Peiper M, Zant R, Schwarz A, Spiess B, van Griensven M, Orth K. Comparison of whole blood interleukin-8 and plasma interleukin-8 as a predictor for sepsis in postoperative patients. *Clin Chim Acta* 2007; 378 (1-2): 117-121.

- (164) Szabo C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 1996; 6 (2): 79-88.
- (165) Tilney NL, Bailey GL, Morgan AP. Sequential system failure after rupture of abdominal aortic aneurysms: an unsolved problem in postoperative care. *Ann Surg* 1973; 178 (2): 117-122.
- (166) Tscherne H. Principles of primary treatment of fractures with soft tissue injury. *Orthopade* 1983; 12 (1): 9-22.
- (167) Tscherne H. John Border Memorial Lecture. Trauma Care in Europe before and after John Border: the evolution in trauma management at the University of Hannover. *J Orthop Trauma* 1998; 12 (5): 301-306.
- (168) Tscherne H, Regel G, Sturm JA, Friedl HP. Degree of severity and priorities in multiple injuries. *Chirurg* 1987; 58 (10): 631-640.
- (169) Ueo H, Inoue H, Honda M, Uchida I et al. Production of interleukin-6 at operative wound sites in surgical patients. *J Am Coll Surg* 1994; 179 (3): 326-332.
- (170) van der Poll T, Coyle SM, Barbosa K, Braxton CC, Lowry SF. Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during human endotoxemia. *J Clin Invest* 1996; 97 (3): 713-719.
- (171) van der Poll T, Jansen J, Levi M, ten Cate H, ten Cate JW, van Deventer SJ. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med* 1994; 180 (5): 1985-1988.
- (172) van der Poll T, Marchant A, Buurman WA, Berman L, Keogh CV, Lazarus DD, Nguyen L, Goldman M, Moldawer LL, Lowry SF. Endogenous IL-10 protects mice from death during septic peritonitis. *J Immunol* 1995; 155 (11): 5397-5401.
- (173) van Dissel JT, van LP, Westendorp RG, Kwappenberg K, Frölich M. Anti-inflammatory cytokine profile and mortality in febrile patients. *Lancet* 1998; 351 (9107): 950-953.
- (174) Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Chi EY, Arfors KE, Harlan JM. Inhibition of leukocyte adherence by anti-CD18 monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in the rabbit ear. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87 (7): 2643-2646.
- (175) Walsh DS, Siritongtaworn P, Pattanapanyasat K, Thavichaigarn P, Kongcharoen P, Jiarakul N, Tongtawe P, Yongvanitchit K, Komoltri C, Dheeradhada C, Pearce FC, Wiesmann WP, Webster HK. Lymphocyte activation after non-thermal trauma. *Br J Surg* 2000; 87 (2): 223-230.

- (176) Watanabe E, Hirasawa H, Oda S, Matsuda K, Hatano M, Tokuhisa T. Extremely high interleukin-6 blood levels and outcome in the critically ill are associated with tumor necrosis factor- and interleukin-1-related gene polymorphisms. *Crit Care Med* 2005; 33 (1): 89-97.
- (177) Waydhas C, Nast-Kolb D. Scores in polytrauma--do they help? *Langenbecks Arch Surg* 1998; 383 (3-4): 209-213.
- (178) Weibel E, Palade G. New cytoplasmatic components in arterial endothelia. *J Cell Biol* 1964; 23101-112.
- (179) Weijzen S, Velders MP, Kast WM. Modulation of the immune response and tumor growth by activated Ras. *Leukemia* 1999; 13 (4): 502-513.
- (180) Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, Verweij CL, Boomsma DI, Vandenbroucke JP. Genetic influence on cytokine production in meningococcal disease. *Lancet* 1997; 349 (9069): 1912-1913.
- (181) Wick M, Ekkernkamp A, Muhr G. The epidemiology of multiple trauma. *Chirurg* 1997; 68 (11): 1053-1058.
- (182) Wick M, Kollig E, Walz M, Muhr G, Köller M. Does liberation of interleukin-12 correlate with the clinical course of polytraumatized patients?. *Chirurg* 2000; 71 (9): 1126-1131.
- (183) Woiciechowsky C, Schoning B, Cobanov J, Lanksch WR, Volk HD, Döcke WD. Early IL-6 plasma concentrations correlate with severity of brain injury and pneumonia in brain-injured patients. *J Trauma* 2002; 52 (2): 339-345.
- (184) Wolff B, Burns AR, Middleton J, Rot A. Endothelial cell "memory" of inflammatory stimulation: human venular endothelial cells store interleukin 8 in Weibel-Palade bodies. *J Exp Med* 1998; 188 (9): 1757-1762.
- (185) Yao YM, Redl H, Bahrami S, Schlag G. The inflammatory basis of trauma/shock-associated multiple organ failure. *Inflamm Res* 1998; 47 (5): 201-210.
- (186) Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S, Robinson EA, Appella E, Oppenheim JJ, Leonard EJ. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84 (24): 9233-9237.
- (187) Zedler S, Bone RC, Baue AE, von Donnersmarck GH, Faist E. T-cell reactivity and its predictive role in immunosuppression after burns. *Crit Care Med* 1999; 27 (1): 66-72.

- (188) Zwacka RM, Zhou W, Zhang Y, Darby CJ, Dudus L, Halldorson J, Oberley L, Engelhardt JF. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF-kappaB activation. *Nat Med* 1998; 4 (6): 698-704.

8. DANKSAGUNG

An erster Stelle gebührt mein ausdrücklicher Dank dem Direktor Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Herrn Prof. Dr. Peter Biberthaler, für seine wissenschaftliche Unterstützung sowie für die Überlassung des Themas.

Frau Dr. Viktoria Bogner von der Chirurgischen Klinik und Poliklinik-Innenstadt des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich für die unmittelbare Umsetzung der Arbeit. Sie hat mich mit ihren herausragenden wissenschaftlichen Fähigkeiten an das Thema herangeführt und ist maßgeblich an der experimentellen und klinischen Durchführung der Arbeit beteiligt.

Schließlich möchte ich mich bei dem Direktor der Chirurgischen Klinik und Poliklinik-Innenstadt des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München, Herrn Prof. Dr. Wolf Mutschler, für die stetige Unterstützung unserer Arbeitsgruppe bedanken.

Weiter hervorheben möchte ich die stetige Unterstützung unseres Projektes durch die Kollegen und Mitarbeiter der chirurgischen Notfallaufnahme, des Instituts für Anästhesiologie und der Intensivstation der Chirurgischen Klinik der LMU, allen voran Herrn Prof. Dr. Karl-Georg Kanz, Frau OÄ Dr. Theresia Hummel und Herrn OA Dr. Ludwig Ney.

Ein besonderer Dank gebührt den Co-Doktoranden unserer Arbeitsgruppe Polytrauma Herrn Peter Richter, Herrn Veith Stöcklein und Herrn Christian Suren.

Abschließend möchte ich meiner Familie, besonders meiner Mutter, Frau Dr. Carmen Keil, für ihre immer grenzenlose moralische, geistige wie auch materielle Unterstützung all meiner schulischen wie beruflichen Bestrebungen danken. Ohne ihren starken Rückhalt wären weder das Studium noch das Zustandekommen dieser Arbeit jemals möglich gewesen.

9. LEBENSLAUF

Persönliche Daten:

Vorname: Leonhard
Nachname: Keil
Geburtsdatum: 01.09.1978
Geburtsort: Berlin
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig
Eltern: Dr. med. dent. Carmen Keil, Zahnärztin
Prof. Dr. med. Wolfgang Keil, Rechtsmediziner

Schulbildung:

1985-1989 2. POS Berlin-Pankow, Berlin
1989-1991 Orientierungsstufe I Burgdorf, Hannover
1992 Gymnasium Burgdorf, Hannover
1993-1998 Gymnasium Fürstenried- West, München
1998 Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Hochschulstudium:

2001-2008 Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Beruflicher Werdegang:

2008 Approbation
2008-2010 Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität, Innenstadt, München
(Direktor: Prof. Dr. W. Mutschler)
2011-2014 Unfallchirurgie und Orthopädie am Klinikum Erding, Lehrkrankenhaus der Technischen Universität München
(Direktor: Prof. Dr. G. Konrad)
Seit 2014 Orthopädische Fachklinik Hessing-Stiftung, Augsburg, Wirbelsäulenchirurgie
(Direktor: Prof. Dr. F. Geiger)