

**Outcome polytraumatisierter Patienten hinsichtlich der
Ausprägung ihres TNF- β Genotyps, ihrer plasmatischen TNF- α
Konzentration sowie der TNF- α -Rezeptordichte.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von Olav Böning
aus Jugenheim
Giessen (2005)

Aus dem Medizinischen Zentrum für Chirurgie, Anaesthesiologie und Urologie
Abteilung Anaesthesiologie, Operative Intensivmedizin, Schmerztherapie
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Hempelmann
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Giessen

Betreuer: Priv.Doz. Dr. med. T. Menges
Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. G. Hempelmann
Gutachter: Prof. Dr. med. Neuhäuser
Tag der Disputation: 02.11.2005

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Giessen zur Sicherung der guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

1 Inhaltsverzeichnis

1 Inhaltsverzeichnis	4
2 Einleitung	8
2.1 Einführung in die Thematik	8
2.2 Der polytraumatisierte Patient	14
2.2.1 Definition des Polytraumas	14
2.2.2 Epidemiologische Daten des Polytraumas.....	15
2.2.3 „Verletzungsmuster“-Polytrauma	16
2.3 Klassifikation des Schweregrades eines Polytraumas	16
2.3.1 Allgemeine Voraussetzungen	16
2.3.2 Der ISS-Score	17
2.3.3 Der PTS-Score	18
2.3.4 Der APACHE II- und APACHE III-Score	18
2.4 Sepsis.....	19
2.4.1 Begriffsbestimmung	19
2.4.2 Inzidenz der Sepsis.....	21
2.4.3 Problematik und klinische Symptome der Sepsis.....	22
2.4.4 Interaktionen von Trauma und Sepsis	23
2.4.5 Pathogenese und klinisches Erscheinungsbild der Sepsis bei..... polytraumatisierten Patienten.....	24
2.5 Multiorganversagen.....	27
2.5.1 Begriffsbestimmung	27
2.5.2 Das Konzept der Kette.....	28
2.5.3 Epidemiologische Daten des Multiorganversagens	30

2.5.4	Problematik und klinische Symptome des Multiorganversagens	31
2.5.5	Risikofaktoren für die Entwicklung des MODS/MOV	33
2.5.6	Pathogenese des MODS/MOV	34
2.5.7	Klinische Untersuchungen zum MODS/MOV	37
2.6	Genpolymorphismen polytraumatisierter Patienten.....	38
2.6.1	Zwei-Allel-Polymorphismen proinflammatorischer Zytokine und..... Serinproteasen.....	40
2.6.2	Vorstellung der gemessenen immunologischen Parameter.....	43
2.7	Zielsetzung der Arbeit.....	46
3	Patienten, Material und Methoden	48
3.1	Patienten	48
3.2	Behandlung und Monitoring der Patienten.....	52
3.2.1	Monitoring.....	52
3.2.2	Intensivmedizinische Behandlung	52
3.2.3	Operationen	53
3.2.4	Kontrolle der Organsysteme	54
3.3	Gruppeneinteilung der Patienten	55
3.4	Sepsis.....	56
3.5	Multiorganversagen.....	58
3.6	Schweregrad der Erkrankung.....	59
3.7	Meßzeitraum	62
3.8	Meßparameter	63
3.8.1	Blutentnahme und Aufbereitung	63
3.9	Labormethodik.....	64
3.9.1	Allgemeine Prinzipien des Enzym-Linked-Immunsorbend-Assay [ELISA].....	64
3.9.2	Bestimmungsmethoden: ELISA	66

3.9.3	Die Genotypisierung der Patienten mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) aus genomischer DNA	70
3.9.4	Allgemeines Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion	71
3.9.5	Theoretische Aspekte der PCR.....	75
3.9.6	Gelelektrophoretische Auftrennung von Nukleinsäuren	76
3.9.7	Gelelektrophoretische Auftrennung mittels Agarosegelen	77
3.9.8	Nachweis des Zwei-Allel-Polymorphismus im TNF- β -Genlocus.....	78
3.9.9	Arbeitsprotokoll zur Bestimmung der TNF- β -Genotypen mittels PCR	79
3.10	Deskriptive Statistik und Häufigkeitsverteilung	81
4	Ergebnisse	84
4.1	Patienten- und Gruppencharakteristika	84
4.2	Unfallmechanismus.....	85
4.3	Verletzungsmuster.....	86
4.4	Operative Versorgung	88
4.5	Mikrobiologische Befunde und Infektionen	90
4.5.1	Keimspektrum der Patienten.....	90
4.6	Organfunktionsstörungen	91
4.7	Genotypisierung der polytraumatisierten Patienten.....	92
4.8	Mediatorenverlauf der genotypisierten Patienten	95
4.9	Risikoabschätzung des einzelnen Patienten	100
5	Diskussion	102
5.1	Kurze Einführung in die Problematik	102
5.2	Polytraumatisierte Patienten	103
5.3	Infektionen/Sepsis	106
5.4	Multi-Organ-Dysfunction-Syndrome (MODS)	109
5.5	Der „TNF-alpha/beta-Genpolymorphismus“	113

5.6	Die Rolle des TNF- α und seiner Rezeptoren nach Polytrauma.	116
6	Zusammenfassung	125
7	Summary	129
8	Literatur	133
9	Anhang.....	152
9.1	Klinische Kriterien der Sepsis.....	152
9.2	Klinische Kriterien des septischen Schocks	153
9.3	Abkürzungsverzeichnis	154
9.4	Abbildungsverzeichnis	156
9.5	Tabellenverzeichnis.....	157
9.6	Lebenslauf.....	158
9.7	Danksagung	159

2 Einleitung

2.1 Einführung in die Thematik

Schwere, traumatisch bedingte Mehrfachverletzungen stellen für den Organismus eine existentielle Bedrohung dar (71). Sieht man von Verletzungskonstellationen ab, die mit dem Überleben unmittelbar [Tod durch akutes Verbluten, schwerste Hirnverletzungen] oder mittelbar [Tod innerhalb von Stunden infolge Gehirn-, Thorax- und Abdominalverletzungen] nicht vereinbar sind, so stellen heute Tage nach dem Trauma auftretende Komplikationen die hauptsächlichen Todesursachen dar (88). Ganz im Vordergrund steht das progressive, septisch-toxische Multiorganversagen [MOV] (71;91). Dieses wurde erstmals von Tinley 1973 als sequentielles Versagen mehrerer, primär unbeteiligter Organsysteme nach Ruptur eines Aortenaneurysmas beschrieben (71;205). Das Multiorganversagen [MOV] oder „Multiple Organ Dysfunction Syndrome“ [MODS] ist gegenwärtig die häufigste Todesursache polytraumatisierter Patienten auf einer Intensivstation (20;21;91;205;213).

Patienten, welche die unmittelbare posttraumatische Phase überleben, zeigen häufig einen klinisch phasenhaften Verlauf (225). Der Konsolidierung vitaler Funktionen steht eine unkontrolliert gesteigerte Immunantwort gegenüber. Diese, das gesamte Immunsystem umfassende reaktive Entzündungsreaktion, kann im Einzelfall in ihrem zeitlichen und immunpathologischen Ausmaß extrem variabel, in eine partielle oder subtotale immunologische Anergie münden (221). Häufig wird dieser temporäre Zustand einer partiellen, unterschiedlich ausgeprägten Immunsuppression durch das Auftreten von Infektionen kompliziert (21;127;222). Entscheidend für die Prognose und mithin evident für eine

erfolgreiche Intensivtherapie des einzelnen Polytraumatisierten ist die Frage, ob der Patient in dieser Phase Funktionseinschränkungen einzelner Organsysteme entwickelt, die unter rascher Progredienz in einem Multiorganversagen mit therapeutisch oft nicht mehr beeinflussbarem, foudroyant septisch-toxischen Verlauf enden, oder ob der Patient trotz vergleichbarer Ausgangssituation von dieser zwangsläufigen Abfolge der pathologischen Symptomatologie verschont bleibt (99).

Die Chronologie der Ereignisse in der Pathogenese des Multiorganversagens nach einem Polytrauma entwickelt sich nach Mc Menamy et al. (132) in drei Phasen, die als erste klinische Manifestation fakultativ [in <45%] eine Bakteriämie und die Zeichen einer hyperdynamen Sepsis mit verminderter peripherer Sauerstoffutilisation und beginnendem pulmonalen Versagen bieten. Das zunächst andeutungsweise Versagen einzelner Organsysteme steigert sich unter Hinzutreten eines Leberversagens letztlich in ein therapierefraktäres globales Kreislaufversagen. Prinzipiell können alle Organe und Funktionssysteme betroffen sein. Lunge, Leber und der Magen-Darm-Trakt sind zwar nach heutiger Erfahrung im Rahmen eines Polytraumas die gefährdetsten Organsysteme, es können aber auch das Pankreas, die Niere, das Herz, das Gerinnungssystem und das Zentralnervensystem einzeln oder in Kombination mit anderen Organsystemen betroffen sein. Frühere Studien machten mehrheitlich Infektionen für das Entstehen eines Multiorganversagens verantwortlich (11;53;70;82). Dafür sprach die Beobachtung, daß viele Patienten mit dem Auftreten des MOV ein septisches Krankheitsbild zeigten (17). Zweifel an der infektiös bedingten Genese des septischen MOV bei polytraumatisierten Patienten wurden erstmals in den achtziger Jahren geäußert, als verschiedene Untersuchungen weder einen Ausgangsherd noch eine Bakteriämie nachweisen

konnten (72;90). Als Alternative wurde vorgeschlagen, das Trauma selbst könne eine systemische, potentiell autodestruktive Entzündungsreaktion induzieren, die zur Entwicklung des MOV beitrage (27;67;75). In den letzten Jahren hat man sich bemüht, die Phänomene und Begriffe, die um eine lokale und systemische, potentiell autodestruktive inflammatorische Antwort des Organismus auf verschiedene Noxen gruppiert sind, neu zu ordnen.

Eine Konsensuskonferenz (Society of Critical Care Medicine/American College of Chest Physicians) hat 1992 die Sepsis und verwandte Begriffe neu definiert (31). Die Sepsis wird als eine systemische Entzündungsreaktion [Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)] auf einen infektiösen Stimulus definiert. Die Diagnose einer Sepsis stützt sich dabei auf klinische und klinisch-chemische Parameter, die das Vorhandensein einer systemisch inflammatorischen Reaktion [SIRS] bei klinischem Verdacht auf eine Infektion [auch ohne mikrobiologischen Nachweis] nahelegen (19). Man spricht von SIRS, wenn alle humoralen und zellulären Abwehrmechanismen in unterschiedlicher Gewichtung, unabhängig von den auslösenden Ursachen wie Infektion, Trauma, Verbrennung oder Pankreatitis, aktiviert werden (33). Trotz unterschiedlicher Formen der Aggression laufen gleiche bzw. ähnliche Prozesse im Organismus ab, die allesamt dem Entzündungsgeschehen zuzuordnen sind. Klinisch bedeutet diese relativ uniforme immunologische Reaktionsweise des Organismus zunächst eine lokale Aktivierung aller immunologischen Kaskaden- und immunkompetenten Zellsysteme.

Die lokale Entzündungsreaktion, notwendig für reparative physiologische Abläufe, repräsentiert gleichzeitig aber auch die grundsätzlich autoaggressiv-toxische Wirkung der freigesetzten proinflammatorischen Mediatoren auf den

eigenen Organismus (18). Wenn die initiale Freisetzung dieser Mediatoren ein zur Initiierung der lokalen Entzündung notwendiges Maß überschreitet, ist es möglich, daß alle reflektorisch aktivierten, regulativ wirkenden immunologischen Defensivsysteme dem sich ausweitenden lokalen Entzündungsgeschehen zu schwach oder zu spät entgegenwirken. Die ungenügende Neutralisierung der freigesetzten Mediatoren, Proteasen und reaktiven Sauerstoffmetabolite gilt mittels der sich dann ungebremst weiterentwickelnden systemischen Entzündungsreaktion als eine Ursache für initiale Frühveränderungen an Membranstrukturen der Organe. Eine Desintegrität dieser Membranstrukturen, die als intakte Grenzflächen wesentlich sind für die Stabilität der Homöostase von Organkompartimenten, ist dann letztlich durch das Auftreten von regionalen Permeabilitätsschäden für progrediente Organfunktionsstörungen verantwortlich (21;58).

Die Vorstellungen über die relevanten Pathomechanismen, die der Entwicklung dieser lebensbedrohlichen Komplikationen zugrunde liegen, sind in den vergangenen Jahren gründlich revidiert worden (69). Nach heutiger Meinung sind vor allem die initialen Frühveränderungen nach Hochgeschwindigkeitstraumen als die entscheidenden pathomechanistischen Triggermechanismen späterer Komplikationen anzusehen (89). Im Vordergrund jeglicher Intensivtherapie steht heute, neben der Notwendigkeit einer frühzeitigen stabilisierenden Versorgung aller knöchernen und Weichteilverletzungen, das Problem der tiefgreifenden Funktionseinschränkung der körpereigenen Abwehrmechanismen (142;158). Dies bedeutet zunächst, daß aufgrund der zerstörten Haut- und Schleimhautbarrieren Mikroorganismen nahezu ungehindert in den Körper gelangen und lokal infektiös-toxische Reaktionen hervorrufen. Auf dem Boden der erworbenen Defekte, die teils irreversibel, teils therapeutisch nicht beherrschbar sind, können

immunologische Defensivsysteme dem sich ausweitenden lokalen Entzündungsgeschehen nicht rechtzeitig suffizient lokal bzw. regional begrenzend entgegenwirken (166). Bereits wenige Stunden nach einem Trauma sind Störungen der Granulozytenfunktion feststellbar. Veränderungen in der Chemotaxis, der Adhärenz, der Phagozytoseleistung und des sogenannten oxidativen Burst, womit die intra- und extrazelluläre Freisetzung von reaktionsfreudigen Sauerstoffmetaboliten, Mediatoren und proteolytischen Enzymen in neutrophilen Granulozyten umschrieben wird, sind Ausdruck dieses Prozesses einer posttraumatisch beeinträchtigten zellulären Immunfunktion (4;10).

Daneben wird den Funktionen des Gefäßendothels und seiner Verknüpfungen mit den immunologischen Regelkreisen eine zunehmende Bedeutung auch im unmittelbaren posttraumatischen Entzündungsgeschehen zugewiesen (167). Sowohl zerstörte Endothelstrukturen als auch von immunkompetenten Zellen direkt und/oder durch Mediatoren aktivierte Endothelzellen generieren und unterhalten proteolytische Prozesse am Gefäßendothel (181;192). Wenn regulativ wirkende Einflußfaktoren überfordert sind, können diese, eigentlich lokal reparativen Prozesse ebenfalls autolytischen, autoaggressiven Charakter annehmen (16). Das Gerinnungs- und das Fibrinolyse-system mit seinen Inhibitoren steht somit bei einer generalisierten inflammatorischen Reaktion gleichwertig neben den anderen übergreifenden humoralen Funktionskreisen: dem Komplementsystem, der Arachidonsäure-Kaskade und dem System der Kontaktaktivierung (83;107).

Die physiologischen Defensivsysteme zur Aufrechterhaltung der Homöostase erweisen sich als zu schwach gegenüber dem traumatischen Insult der

Hochrasanzverletzungen. Die Entwicklung zu einer hochgradig konsumptiven, im Endergebnis aber frustrierten Auseinandersetzung mit den Folgen des Traumas führt zu einer völligen Erschöpfung der körpereigenen Defensivsysteme (76). Diese deletäre Entwicklung resultiert aus einem Ungleichgewicht zwischen den körpereigenen Abwehrsystemen und dem traumatischen Insult, die im Falle des Gerinnungssystems als Verbrauchskoagulopathie noch korrigierbar ist. Eine entstehende globale Verbrauchsimmunopathie ist dagegen nach dem aktuellen Stand der therapeutischen Möglichkeiten irreversibel und nicht mehr zu korrigieren. Von Goris wurde 1990 darauf hingewiesen, daß hohe systemische Spiegel inflammatorischer Mediatoren von prognostischer Wertigkeit sein könnten (87). Auch Ertel betonte als Resümee seiner Untersuchungen 1993 die Vorteile eines immunologischen Monitorings nach einem schweren Trauma (64). Deitch bedauerte es allerdings in diesem Zusammenhang, daß die Fähigkeit, das Ausmaß einer beeinträchtigten Immunfunktion und damit den Ausgang für den einzelnen Patienten vorauszusagen, noch unzureichend sei. Zwei Fragen stehen dabei im Vordergrund: welcher Patient profitiert von einer spezifischen Therapie, und zu welchem Zeitpunkt sollte diese dann einsetzen (51;52)(50)

Die Konsequenz für eine erfolgreiche Intensivtherapie des polytraumatisierten Patienten liegt in einem frühzeitigen Einsatz aller verfügbaren therapeutischen Mittel mit dem Ziel, die körpereigenen Defensivsysteme so frühzeitig wie möglich zu stützen, einzelne immunkompetente Zellsysteme zu schützen und die Entwicklung eines posttraumatischen Immundefektes zu minimieren (65). Übergeordnetes Ziel bleibt es dabei, die Konstruktion einer schlüssigen immunmechanistischen und pathophysiologischen Kausalkette zu etablieren. Diese sollte dann, vom Unfallereignis ausgehend, die Entwicklung der

dargestellten Komplikationen erklären und Schnittstellen für therapeutische Maßnahmen definieren (29).

2.2 Der polytraumatisierte Patient

2.2.1 Definition des Polytraumas

Als Polytrauma wird eine gleichzeitige Verletzung mehrerer Körperregionen oder Organsysteme bezeichnet, von denen mindestens eine Verletzung oder die Summe aller Verletzungen für den Patienten vital bedrohlich ist (96;199). Eine moderne Begriffsbestimmung des Polytraumas nach Friedel et al. rückt als Kernstück der Pathophysiologie das erworbene Immundefektsyndrom in den Vordergrund (80). Ein Polytrauma liegt demnach bei Verletzungen mehrerer Körperregionen oder Organsysteme vor, wobei die Komponenten per se überlebar, in ihrer Kombination oder bei inadäquater Therapie jedoch potentiell tödlich sind, Muster und Ausmaß der Verletzungen sekundär ein posttraumatisches Immundefektsyndrom induzieren, und über den entstandenen Immundefekt systemische, zur Defektheilung führende Schäden bis hin zum letalen Multiorganversagen [MOV/MODS] auftreten.

Während die schweren direkten Organschäden [Quetschungen, offene Schädelhirntraumata, Verbluten durch Abrisse großer Blutgefäße oder Organzerreißen] nach wie vor therapeutisch kaum beeinflussbar sind, führt das verbesserte Verständnis des vorgenannten Entzündungsprozesses zur Reduktion der z. T. tödlichen Organkomplikationen. Das derzeitige therapeutische

Vorgehen beruht nicht nur auf der Wiederherstellung verletzter Organstrukturen, sondern berücksichtigt eine Vielzahl pathobiochemischer und immunologischer Mechanismen, die sekundär ein posttraumatisches Immundefektsyndrom induzieren und zur Defektheilung führende Schäden bis hin zum Versagen von Lunge, Leber, Niere und weiteren Organen verursachen (79). Die zeitgerechte und organbezogene Einschätzung des posttraumatischen Entzündungsprozesses ist von großer praktischer Wichtigkeit, da sowohl falsch terminierte Folgeoperationen oder das Unterlassen einer adäquaten Lagerungstherapie, als auch eine inadäquate Ernährung und fehlende Therapie persistierender Schmerzen kritische Folgen für den Patienten haben (95). Allerdings droht weiterhin bei ca. einem Drittel der überlebenden Patienten ein spätes Multiorganversagen, welches trotz differenziertester maximaler Intensivtherapie eine hohe Mortalität (30 bis 80%) aufweist (174;175).

2.2.2 Epidemiologische Daten des Polytraumas

In den Industriestaaten sind bei Menschen zwischen dem 16. und dem 45. Lebensjahr Unfälle die häufigste Todesursache (209). Etwa ein Drittel aller Todesfälle nach Unfällen ist auf ein Polytrauma zurückzuführen. Die übrigen zwei Drittel der Patienten versterben an isolierten Schädelhirntraumata [SHT] bzw. aufgrund hohen Lebensalters an kardialem Versagen nach einfachen Verletzungen. Zahlen über Inzidenz, Morbidität und Letalität schwanken beträchtlich, doch kann eine Häufigkeit von 0,5/Million Einwohner/Tag angenommen werden. Die häufigsten Ursachen eines Polytraumas sind Verkehrsunfälle [Autofahrer > Fußgänger > Motorradfahrer > Radfahrer] und Sturz aus größerer Höhe (196).

2.2.3 „Verletzungsmuster“ Polytrauma

Typische Verletzungsmuster, die in Abhängigkeit von Richtung und Ausmaß simultan einwirkender Kräfte entstehen, sind bei polytraumatisierten Patienten selten, da die Pathomechanismen einzelner Unfallereignisse überaus verschieden sind. Es entsteht eine Vielzahl heterogener Verletzungen, welche die Prognose ganz unterschiedlich bestimmen. So zeigten Zenker et al. (227), daß der Verlauf insgesamt eher von der Schwere der Einzelverletzung, weniger von der Summation der verletzten Organabschnitte bestimmt wurde. Häufigste Verletzungen sind Schädel-Hirn-, Thorax- und Extremitätenverletzungen, wobei aber bestimmte Verletzungskonstellationen mit einer höheren Letalität einhergehen. Schädel Hirn-, Thorax- und Abdominalverletzungen besonders, wenn sie kombiniert auftreten, bedeuten für einen Unfallverletzten ein vitales Risiko(163). Bezogen auf die Gesamtzahl der eingelieferten Patienten mit Polytrauma beträgt die Letalität im Krankenhaus etwa 15 bis 18% (164).

2.3 Klassifikation des Schweregrades eines Polytraumas

2.3.1 Allgemeine Voraussetzungen

Seit Virginia Apgar [1953] den ersten Score zur Beurteilung des Neugeborenen entwickelte, wurden in vielen Bereichen der Medizin neue Bewertungssysteme erarbeitet (5). Einem Score können physiologisch-biochemische, anatomisch-morphologische, einzelne oder kombinierte Parameter zugrunde liegen. Im Wesentlichen dient die Entwicklung und Anwendung von Scoresystemen der Abschätzung einer individuellen Prognose, als Basis zur Evaluierung der

Behandlungs- und Ergebnisqualität, als Orientierung für therapeutische Entscheidungen und als Grundlage für epidemiologische Studien. Nach Gross liegt der Vorteil eines Scores im systematischen und gründlichen Erfassen aller verfügbaren Daten (94). Voraussetzung sind aber die Validität, Reliabilität und Verfügbarkeit der Daten.

2.3.2 Der ISS-Score

Die Klassifizierung der Verletzungsschwere wurde erstmals 1971 mittels des Trauma Index versucht (106). Ausgehend von diesem Trauma Index wurde die, zuletzt 1990 revidierte, Abbreviated Injury Scale [AIS] entwickelt (46). Diese war die Basis des 1974 von Baker (14) beschriebenen und mehrfach, zuletzt 1985, revidierten Injury Severity Scores [ISS], der heute vor allem im angloamerikanischen Raum der am häufigsten eingesetzte Score zum Erfassen der Verletzungsschwere ist. Der ISS ist ein rein anatomischer Score, der gut mit der Letalität, Morbidität und der Dauer eines Intensiv- und Krankenhausaufenthaltes korreliert [Siehe 2.1 Abb. 2, Injury Severity Score]. Kritisch für diesen Score ist die Nichtberücksichtigung des Patientenalters und die Tatsache, daß einzelne Regionen nicht gewichtet sind. Die Sensitivität des ISS, bezogen auf die Vorhersagbarkeit des Überlebens, liegt bei 83%, die Spezifität bei 96%. Die Reliabilität wird mit 74 bis 87% angegeben (124;223).

2.3.3 Der PTS-Score

In Deutschland hat der 1985 von Oestern vorgeschlagene und 1991 überarbeitete Hannoversche Polytrauma-Schlüssel [PTS] große Verbreitung gefunden (152). In den revidierten PTS gehen, im Unterschied zum ISS, alle Verletzungen, die 1974 eingeführte Glasgow Coma Scale [GCS] zur Klassifikation von Patienten mit SHT, das Basendefizit und der Quotient aus arterieller Sauerstoffsättigung und der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration [FIO₂] bei der Aufnahme des Patienten ein (151). In seiner revidierten Fassung ist der PTS bezüglich Sensitivität [83,1%] und Spezifität [83,7%] des Vorhersagewertes mit dem ISS vergleichbar (36;203).

2.3.4 Der APACHE II- und APACHE III-Score

Neben den angeführten Scores, die speziell für traumatisierte Patienten entwickelt wurden, existieren noch zahlreiche andere allgemeine Scores wie z. B. der APACHE-Score (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation). Knaus entwickelte 1981 den APACHE II-Score nach einer retrospektiven, multizentrischen Erhebung an 805 Patienten auf Intensivstationen (108;113).

Der APACHE II-Score ist in zahlreichen Arbeiten validiert worden und zählt mittlerweile zu den Standardverfahren für die Patientenbeurteilung (85;100;111;153;169). Er unterschätzt allerdings die zu erwartende Mortalität, da Patienten mit Polytrauma meist jung und relativ gesund sind und initial nicht als schwer krank klassifiziert werden (110). 1991 stellte Knaus als Weiterentwicklung den APACHE III-Score vor (112).

Durch die Berücksichtigung von Stoffwechselfparametern soll eine bessere Vorhersage möglich sein. Die Spezifität des APACHE III-Score für eine Prognose bei Intensivpatienten wird mit 96,3%, die Sensitivität mit 50,4% angegeben (200). Zimmermann fand eine gute Aussagekraft dieses Scores in Bezug auf die Vorhersage des Verlaufs bei Patienten mit Multiorganversagen bzw. MODS (228;229).

Es ist zu erwarten, daß das Scoring in den nächsten Jahren zunehmend an Bedeutung gewinnt. Dies wird insbesondere für Scores gelten, die eine Abwägung zwischen Kosten der Behandlung und der Verletzungsschwere gewährleisten (230).

2.4 Sepsis

2.4.1 Begriffsbestimmung

Die klinische Begriffsbestimmung der Sepsis geht auf die Definition von Schottmüller [1914] zurück (186). Indem sie an dem infektiösen Fokus und/oder der systemischen Streuung [Bakteriämie] als grundlegende Bedingung festhielten, wurde die Definition Schottmüllers von den meisten Autoren zwar variiert, aber nicht substantiell verändert (82;99;214). Die Sepsis ist ein komplexes Krankheitsgeschehen von allgemeiner medizinischer Bedeutung, die einen von der Grundkrankheit des Patienten und der zugrundeliegenden Infektion unabhängigen hohen Beitrag zur Letalität bedingt. Diese der Sepsis zuschreibbare Letalität [Excessletalität] beträgt nach einigen Studien bis zu 35% (127;148). Entgegen der früheren Betonung pathogener Mikroorganismen und ihrer Virulenzmerkmale wird heute die inflammatorisch-immunologische Komponente der Wirtsreaktion als wesentlichster Mechanismus eines septischen Geschehens

angesehen (80;128). Diese Sichtweise hat insbesondere die molekular- und zellbiologische Charakterisierung der Rolle der Zytokine als Signalproteine der inflammatorischen Zellinteraktion gefördert. Die Schwierigkeiten bezüglich der Vergleichbarkeit, Überprüfbarkeit und Planung von Behandlungskonzepten in der Sepsistherapie existierten aber als Folge einer ungenauen Terminologie weiter (58;148;162;191). Begriffe wie "Sepsis", "Bakteriämie", "Septikämie", "Sepsis-Syndrom", "Systemic Inflammatory Response Syndrom", "Whole Body Inflammation" und "Septischer Schock" wurden teilweise synonym, abwechselnd oder willkürlich verwendet (213;217).

Unter Sepsis wird in den folgenden Ausführungen eine akute inflammatorische Reaktion auf die Invasion von Mikroorganismen verstanden, die einen unkontrollierten, generalisierten Verlauf nimmt. Die mikrobiologisch durch Blutkulturen dokumentierte Sepsis stellt epidemiologisch und pathophysiologisch nur eine Untergruppe der Krankheitsentität Sepsis dar. Sie ist von den nicht bakteriämisch dokumentierten Formen in der Manifestation und Prognose nicht unterschieden. Der Sepsisbegriff wird im wesentlichen durch die pathophysiologisch gut begründete Annahme eines Zusammenhangs zwischen einer Infektion und akuten infektionsortfernen Organfunktionsstörungen definiert (158;166;217;222). Entsprechend dieser Definition werden für die Diagnose von Sepsis und septischem Schock der Nachweis eines Infektionsfokus, eine schwere inflammatorische Wirtsantwort und das Auftreten akuter infektionsferner Organfunktionsstörungen oder eines hämodynamischen Schocks gefordert. In der vorliegenden Arbeit liegen dem Begriff Sepsis und septischer Schock die angeführten Definitionen und die Empfehlungen der European Society for Intensive Care Medicine zum klinischen Kriterienkatalog zugrunde (155). Die Definitionen Sepsis und septischer Schock entsprechen den

Kategorien „severe sepsis“ und „septic shock“ der Empfehlung der ACCP/SCCM-Konsensuskonferenz [1992], ermöglichen mithin eine Vergleichbarkeit, da ihnen auch die epidemiologischen Erhebungen von Sands, Brun-Buisson und Salvo et al. zugrundeliegen [Anhang 1, Klinische Kriterien der Sepsis und des septischen Schocks] (38;171;172).

2.4.2 Inzidenz der Sepsis

Während für den klassischen, über positive Blutkulturen definierten Sepsisbegriff gute epidemiologische Daten zu Inzidenz, Risikofaktoren und Outcome vorliegen, fehlen diese für die nach klinischen Kriterien definierten Entitäten Sepsis und septischer Schock bisher vollständig (146). Aktuelle epidemiologische Daten zur Inzidenz der Sepsis stammen überwiegend aus den Vereinigten Staaten. Jährlich erkranken in den USA ca. 400.000 Patienten an Sepsis. In Krankenhäusern der Maximalversorgung findet sich eine Inzidenz von 0,8 bis 2% bezogen auf alle Krankenhausaufnahmen (172). Die Inzidenz auf Intensivstationen liegt mit ca. 10% deutlich höher (121).

Sepsis und septischer Schock mit dem oft darauf folgenden Multiorganversagen stehen an 13. Stelle bei den Todesursachen in den USA und sind die häufigste Todesursache auf nicht-kardiologischen Intensivstationen (154). Die Letalität liegt bei ca. 40% und steigt bei der Entwicklung eines Schocks auf 70 bis 80% an (121;166). Während sich die Letalität im Vergleich zu den vergangenen Jahren nicht verändert hat, stieg die Inzidenz der Sepsis kontinuierlich an. Zwischen 1979 und 1987 stieg sie um 139% von 73,6 auf 176 pro 100.000, bei Krankenhauspatienten in der Altersklasse der über 65-Jährigen sogar um 165%. In über 50% der Fälle ist die Sepsis Folge von nosokomial erworbenen

Infektionen, in ca. 25% der Fälle wird die Sepsis auf der Intensivstation erworben (38). Intensivpatienten haben eine etwa zehnfach höhere Sepsisinzidenz als andere Patienten (121).

2.4.3 Problematik und klinische Symptome der Sepsis

Schuster sieht das Hauptproblem für den Kliniker darin, die anerkannte pathophysiologische, infektiologische Sepsisdefinition in eine praktikable klinische Sepsisdiagnose umzusetzen (190). Unter Berücksichtigung therapeutischer Interventionen muß die Diagnose frühzeitig gestellt werden. Maßgebend für die Entstehung einer Sepsis sind die Art der Exposition, die Virulenz der Pathogene [Bakterien, Viren, Pilze, Zelldebris] und die Abwehrlage des Organismus. Beim schwerverletzten Patienten können alle drei Faktoren eine Rolle spielen (189). Die Wunden des Schwerverletzten sind initial mit pathogenen Keimen kontaminiert. Das invasive Monitoring der Intensivbehandlung bietet vielfältige Eintrittspforten. Thofern [1983] sieht die Intensivstation als besonderes Umfeld, das mit einer maximalen Exposition von Pathogenen einhergeht, deren Virulenz sich durch Selektion, Antibiotikaeinsatz und –wechsel ständig verändert (204). Die Früherkennung einer Sepsis ist nur durch eine subtile Überwachung gefährdeter Patienten sowie dem Fahnden nach Frühsymptomen möglich. Der veränderte klinische Aspekt des Patienten lenkt den Verdacht auf ein septisches Geschehen (180). Es handelt sich um ein klinisches Syndrom. Die Diagnose wird nicht anhand einzelner Laborparameter gestellt. Der veränderte klinische Aspekt und die Gesamtheit der Befunde sind entscheidend für eine therapierelevante Diagnosestellung. Kausale und adjuvante Therapiemaßnahmen sollten spätestens in der frühen, hyperdynamen Phase der Sepsis einsetzen.

Gelingt es nicht, den septischen Fokus oder die Ursache des septisch-toxischen Geschehens zu beseitigen, und geht in Abhängigkeit von metabolischen, pulmonalen und neurohumoralen Kompensationsmechanismen sowie der Größe und der Zusammensetzung des Blutvolumens das hyperdynamische Initialstadium in ein hypodynames Folgestadium über, dann ist die Prognose äußerst ungünstig und endet in der Regel letal (155;212;262)(218).

2.4.4 Interaktionen von Trauma und Sepsis

Informationen zum traumatischen Schock sind limitiert, da diese Schockform experimentell bisher noch am wenigsten untersucht worden ist. Schwierigkeiten, relevante Traumamodelle zu entwickeln, bedingen diesen unbefriedigenden Zustand. Als im wesentlichen unbekannt müssen mögliche Interaktionen zwischen Trauma und Sepsis angesehen werden. Man muß wohl – von der klinischen Situation ausgehend – mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß Trauma und Sepsis sich gegenseitig beeinflussen können (19). Der Ausprägungsgrad eines Kombinationseffektes ist jedoch unbekannt (141). Experimentelle Untersuchungen zur Kombination der Komponenten von Trauma und Sepsis sind fast ausschließlich auf thermische Traumen limitiert. Klinische Analysen scheitern meist schon an unzureichenden Begriffsdefinitionen (140).

Deitch und Berg [1987] fanden bei Mäusen nach Verbrennungstrauma unter Endotoxingabe eine gesteigerte Translokation von Bakterien (55). Das Phänomen der gesteigerten Darmpermeabilität war dabei nur unter der Kombination von Trauma und Endotoxin auslösbar (54). Bei Untersuchungen zur Interaktion von thermischem Trauma und Endotoxinämie im Staub'schen Schafmodell konnte

Nerlich schon 1983 einen verstärkenden Effekt des Traumas auf die pulmonale Mikrozirkulationsstörung beobachten (149). Die Endotoxinämie nach thermischem Trauma führte zu einer übermäßigen Verstärkung des pulmonalen Permeabilitätsschadens. Aus dieser Untersuchung ergibt sich der Hinweis, daß selbst ein regelrecht überstandenes Trauma in Kombination mit einer relativ geringen Endotoxindosis, mehrere Tage nach Trauma gegeben, zu einer Potenzierung der systemischen Immunreaktion mit einem Anstieg der Letalität von null auf über 50% führt. Schon aus diesen Experimenten leitet sich ab, daß das Trauma eine Interaktion mit der Sepsis eingeht. Die Kombination der Insulte resultiert in einer synergistischen Verstärkung, am Ende steht häufig das Multiorganversagen (54).

2.4.5 Pathogenese und klinisches Erscheinungsbild der Sepsis bei polytraumatisierten Patienten

Die wichtigste Frage für einen Patienten nach einem Trauma ist, ob sich infolge der Verletzungen auf der Basis des sekundären Immundefektsyndroms eine Infektion entwickelt. Die Sepsishäufigkeit bei polytraumatisierten Patienten wird zwischen 3,3-19% angegeben (166). Das Infektionsrisiko nach ausgedehnten chirurgischen Eingriffen liegt bei 7-28% mit einer Sterblichkeit von 8-30% (43). Bei der Aufnahme ist der Patient, der noch nicht mit Antibiotika und Hospitalflora in Kontakt gekommen ist, mit seiner eigenen, potentiell nicht pathogenen Keimflora kolonisiert. Gliedert man die klinischen, pathophysiologischen und pathobiochemischen Prozesse entsprechend der pathogenetischen Abfolge, so kann für polytraumatisierte Patienten folgendes erfaßt werden: infolge einer stark geschwächten Kolonisations- und

Infektionsabwehr kann es nach wenigen Beatmungstagen zur Pneumonie, verursacht durch *Staphylococcus aureus*, Streptokokken, Enterokokken und/oder gramnegative Keime [*Escherichia coli*, *Klebsiella* ssp., *Bacteroides* ssp., *Pseudomonas* und *Haemophilus*] kommen. Ein bis zwei Beatmungstage später ist im allgemeinen die Kolonisationsabwehr des Oropharynx und des Magen-Darm-Traktes nachweisbar reduziert. Es lassen sich vermehrt Enterobacteriaceae [nicht körpereigene *E. coli*] und Pseudomonadaceae isolieren. Verantwortliche Faktoren sind die Grundkrankheit selbst, Sistieren der Motilität [Kauen, Schlucken, Magen-Darm-Peristaltik], verminderte Konzentration von s-IgA in Speichel, Galle und Schleim, die Intubation, Katheter und die Ernährungssonden. Weiterhin fördern medikamentöse Maßnahmen wie die Applikation von Sedativa, Muskelrelaxantien, Antazida und Antibiotika das Auswachsen der potentiell pathogenen Mikroorganismen in Oropharynx und Magen-Darm-Trakt (97).

Antibiotika werden bei offenen Wunden zunächst zur Prophylaxe oder Therapie von Infektionen durch nicht hospitalogene Bakterien eingesetzt. Die resultierende Beseitigung der patienteneigenen Keimflora führt aber oft zur Suprakolonisation von Oropharynx und Magen-Darm-Trakt mit Hospitalismuskleimen [Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Pilzen] (24). Die für eine Sepsisdiagnose brauchbaren Kriterien sind folglich unter den Symptomen und Zeichen zu suchen, welche diese als Datenmosaik im Falle einer drohenden Sepsis klinisch widerspiegeln.

Infolge der traumatisch bedingten Desintegrität struktureller und funktionaler Kompartimente kommt es zu einer kontinuierlichen Einschwemmung von Pathogenen und/oder deren Stoffwechsel- und Zerfallsprodukten in die Blutbahn und das Gewebe. Die immunologische Reaktion der in die traumatisierten Areale einwandernden polymorphkernigen Granulozyten [PMN] und Makrophagen

sowie der geschädigten Endothelzellen wird durch mikrobielle Produkte wie Endotoxin von gramnegativen Bakterien, Peptidoglykane, teichonsäurehaltige Zellwandfragmente grampositiver Bakterien, Pilzzellwandbruchstücke, Virusantigene und Exotoxine wie dem "Toxic Shock Syndrome Toxin" und dem "Toxin A" einiger gram-positiver Bakterien getriggert. Sämtliche von diesen immunkompetenten Zellen sezernierten proteolytischen und biogenen Derivate sind in der Lage, die Freisetzung weiterer potenter Mediatoren zu initiieren. Die lokalen Mediatorwirkungen liegen primär auf zellulärer Ebene im traumatisierten Areal. Die generalisierten Folgen der Mediatorwirkung sind von den Folgen des I/R Syndroms nicht exakt zu trennen, da es sich größtenteils um dieselben Mediatoren handelt. Der wesentliche Unterschied ist jedoch, daß sich die Folgen des I/R-Syndroms bei frühzeitiger Therapie innerhalb von Stunden wieder normalisieren lassen, während die Mediatorenfreisetzung aus traumatisierten Arealen über Tage anhält (24). Entwickelt sich hierunter eine Schiefelage der ausbalancierten immunologischen Abwehrsysteme, so führt dies bei polytraumatisierten Patienten sehr schnell zum lokalen Entgleisen der interaktiven Netzwerkprozesse. Innerhalb der proinflammatorischen Zytokine und Serinproteasen ist der Tumornekrosefaktor [TNF α] der zentrale Mediator der systemischen Entzündungsreaktion (50). Seine pathophysiologische Bedeutung umfaßt die Stimulation und Freisetzung aller nachgeordneten proinflammatorischen Zytokine [IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IFN- γ], der Lipidmediatoren [Plättchen aktivierender Faktor [PAF], Arachnoidonsäuremetabolite], der neutrophilen Phagozytoseaktivität, die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen, Neutrophilen, Monozyten, Basophilen und Eosinophilen, die Aktivierung der Gerinnungs- und Komplementkaskade, die Senkung der Myokardleistung, die Entstehung von

Fieber und die Freisetzung von Bradykininen (116;193). Klinisch resultiert eine erhöhte kapilläre Durchlässigkeit mit gesteigerter Ödemneigung, Vasodilatation und Hypotonie, ein sich explosionsartig ausweitendes lokales Entzündungsgeschehen mit sich entwickelnder disseminierter intravaskulärer Gerinnungsaktivierung [DIC] und einer Verschiebung des Energiestoffwechsels zu vermehrt katabolen Prozessen. Dies führt über eine refraktäre Hypotension und Mikrozirkulationsstörung zu einzelnen Organfunktionsstörungen, die, wenn therapeutisch nicht beeinflussbar, in der Endstrecke zum funktionellen Versagen so lebenswichtiger Organe wie Lunge, Niere, Herz, Leber und Gehirn führen (212).

2.5 Multiorganversagen

2.5.1 Begriffsbestimmung

Die Definition des Multiorganversagens ist sehr individuell gehandhabt worden. Die Zahl der berücksichtigten Organsysteme ist verschieden. Dies hängt letztlich von der Methodik des Erfassens einzelner Organinsuffizienzen sowie von der individuellen untersucherabhängigen Einschätzung der Bedeutung verschiedener Organsysteme ab. Ein Multiorganversagen ist als ein Phänomen charakterisiert, das ein gleichzeitiges oder in unmittelbar nachgeordneter Reihenfolge auftretendes Versagen zweier oder mehrerer Organsysteme, die primär nicht an der Verletzung oder am Krankheitsprozeß beteiligt sind, beschreibt (21). Baue weist darauf hin, daß ein schwerer physiologischer Eingriff [Schock, Blutung] zum Versagen primär unbeteiligter Organe führen kann (17;21). Eiseman [1977] und Fry [1980] führten die Begriffe "Multiple Organ Failure" [MOF] und "Multiple Systems Organ Failure" [MSOF] ein (62;82). Die Reihenfolge des

Versagens einzelner Organsysteme ist abhängig von der Definition der einzelnen Zustände „normal“, „insuffizient“ und „versagend“ sowie von den Meßmethoden, mit denen die Organfunktionen erfaßt und beschrieben werden (81). Auch können therapeutische Einflüsse zu einer unterschiedlichen Beteiligung der einzelnen Organsysteme beitragen. Die Sequenz des Organversagens wird daher nicht einheitlich beurteilt (62;70;82;91). Dennoch wird das Lungenversagen im zeitlichen Ablauf als das zuerst auftretende Organversagen genannt (225). Die ACCP/SCCM-Konsensuskonferenz beschloß 1991, die alte Definition „Multiorganversagen“ [MOV] aufzuheben. Der Begriff „Multiorganversagen“ sei zu statisch für ein Syndrom, das einerseits reversibel, bei dem andererseits die Veränderungen der einzelnen Organfunktionen dynamisch sein können. Die Bezeichnung MOV wurde durch „Multiple Organ Dysfunction Syndrome“ [MODS] ersetzt und damit umfassender definiert als Dysfunktionen von Organen, die nur durch therapeutische Interventionen beseitigt werden können (29;31).

2.5.2 Das Konzept der Kette

Die Entwicklung der Intensivmedizin und die schrittweise Verbesserung in der klinischen Versorgung Schwerstverletzter waren dadurch gekennzeichnet, daß trotz des jeweiligen medizinischen Fortschrittes jede Epoche ein vital limitierendes Organsystem aufwies, das sich als häufigstes und therapeutisch schwierigstes Problem darstellte. In den dreißiger Jahren verstarben Schwerverletzte durch Verbluten im Schock und Herz-Kreislauf-Versagen [Blalock 1930] (25). Nach Einführung der Volumentherapie überlebten die Patienten zunächst den traumatischen Schock, es entwickelte sich das

Nierenversagen [Bywaters 1944] (39). Mit einem verbesserten Verständnis der Pathophysiologie des Schocks und des Nierenversagens sowie der Entwicklung der künstlichen Niere konnte dieses Organversagen überbrückt werden. In den sechziger Jahren trat das Lungenversagen an die erste Stelle der Todesursachen [Pontoppidan 1972] (161). Dieses als "Adult Respiratory Distress Syndrome" [ARDS] 1967 von Ashbaugh beschriebene Lungenversagen führte innerhalb weniger Tage zum Tode in der Hypoxie (6). Die künstliche Beatmung mit Einführung des "positiv endexpiratorischen Druckes" [PEEP] konnte diese Organinsuffizienz zumindest in der Initialphase kompensieren (15). Die Möglichkeiten des artefiziellen Ersatzes von Organsystemen führten zu der Erwartung, versagende Organfunktionen so lange überbrücken zu können, bis eine spontane Regeneration der Funktionsstörungen eingetreten sei. Entgegen den Erwartungen trat jedoch ein neues Syndrom an die Spitze der Todesursachen Schwerstverletzter, das Multiorganversagen (17;70;91). Die Kombination gleichzeitiger oder sequentieller Ausfälle mehrerer Organfunktionen läßt das gesamte interaktive Netzwerk physiologischer Prozesse zusammenbrechen. Der temporäre Organersatz und alle bis heute intensivmedizinisch möglichen adjuvanten Maßnahmen können die häufig deletäre Fortentwicklung eines manifesten Multiorganversagens therapeutisch nicht beeinflussen (109;190). Als derzeit schwächstes Glied muß daher das Multiorganversagen angesehen werden. Die Diskrepanz zwischen Wunsch und Wirklichkeit zeigt sich auch in anderen Bereichen der Medizin. Die Einführung der Antibiotika ließ eine weitgehende Eindämmung von Infektionen und damit der Sepsis erwarten. Entgegen dieser Vorstellung stellen septische Komplikationen unvermindert häufig vital limitierende Probleme dar (82).

Das Multiorganversagen ist erst seit den 60er Jahren als eigenständiges Syndrom etabliert. Der erste Bericht über ein Mehrorganversagen als klinisches Syndrom stammt von Skillman [1969] (194). Tilney stellte 1973 ein ungelöstes Problem, welches sich in der postoperativen Phase von Patienten mit rupturiertem Aortenaneurysma entwickelte, als sequentielles Organversagen vor (205). Mit der Beschreibung der Sequenz des Organversagens, die mit einer Schockphase nach initialem Trauma, gefolgt von einer respiratorischen Insuffizienz als erstem Zeichen einer Funktionseinschränkung eines Organs beginnt, formulierte Baue 1975 den Begriff Multiorganversagen (17). Diese Kombination wird ergänzt durch ein Nierenversagen, ein Leberversagen, ein gastrointestinales Versagen mit Ulkus und Blutungen sowie eine metabolische Imbalance mit kataboler Stoffwechsellage (34). Fry verbindet 1980 als Erster den Begriff Multiorganversagen mit Sepsis (82). In ähnlicher Assoziation wird dann 1987 von Deitch eine Beeinträchtigung des Immunsystems mit dem MOV in Verbindung gebracht (53).

2.5.3 Epidemiologische Daten des Multiorganversagens

Im allgemeinen gehen dem manifesten Organversagen Zeichen einer initialen Organinsuffizienz voraus. Die Letalität ist hoch und nimmt in Abhängigkeit von der Zahl der versagenden Organsysteme exponentiell zu. Pine beschrieb schon 1983, daß bei Patienten mit intraabdomineller Sepsis und dem Versagen eines Organsystems eine Letalität von 10% vorliegt. Diese schnellst bei der Beteiligung von zwei Organsystemen auf 40% und bei drei versagenden Organsystemen auf 90% hoch (155). Knaus deutet 1985 auf die Rolle der Dauer des jeweiligem Organversagens hin (109). In einem Kollektiv von 2719 intensivpflichtigen

Patienten, die ein Organversagen entwickelten, fand sich eine Letalität von 98% bei Patienten mit drei oder mehr versagenden Organsystemen und einer Versagensdauer von über drei Tagen (112). Moore weist 1996 darauf hin, daß entgegen aller Erwartung an die moderne Intensivmedizin die Inzidenz des MODS/MOV nach wie vor hoch sei und sogar steige (142). Er verglich die epidemiologischen Studien von Fry [1980] und Faist [1983], die eine Inzidenz von 7 bis 8% erkennen ließen, mit sechs neueren Studien, die eine Inzidenz von 14 bis 42% fanden (142). Die Mortalität hat sich seit 20 Jahren kaum verändert, auch die Letalität des MODS/MOV ist nach wie vor sehr hoch und hängt unmittelbar, je nach Autor [bei zwei Organen 57 bis 68%, bei vier und mehr bis zu 100% Letalität] mit der Anzahl der betroffenen Organsysteme zusammen (21;122). Die Prognose des Patienten hängt folglich von der Anzahl der betroffenen Organe und der Dauer des Organversagens ab (21).

2.5.4 Problematik und klinische Symptome des Multiorganversagens

"Multiple Organ Dysfunction Syndrome" und "Multiorganversagen" sind rein deskriptive Begriffe, die nichts über die eigentlichen Ursachen seiner Entstehung aussagen. Für die Beschreibung des MODS/MOV ist eine Fülle von Definitionen und Scores vorgeschlagen worden, allerdings gibt es bis heute keine allgemein gültigen, exakt und einheitlich definierten Kriterien. Die Schwere eines MODS/MOV kann durch die Zahl der betroffenen Organsysteme erfaßt werden. Baue [1996] listete insgesamt 17 unterscheidbare Definitionen und Scores auf (19). Häufig wird der von Goris 1985 vorgestellte Multiple Organ Failure-Score verwendet [Anhang 10.9, MOF-Score] (91). Dieser Score erfaßt die Schwere,

nicht jedoch die Dauer und den zeitlichen Verlauf des Organversagens. Für jeden Patienten muß zu jedem Meßzeitpunkt der Zahlenwert neu ermittelt werden.

Die Funktionen von Lunge, Herz-Kreislauf-System, Niere, Leber, Hämatologie, Gastrointestinaltrakt und ZNS sind gut zu beurteilen. Bei traumatisierten Patienten auf der Intensivstation erfährt dieser Score jedoch Einschränkungen, da die Patienten meist ab dem Trauma beatmet sind, die ZNS-Funktionen unter Analgosedierung nicht sicher beurteilt werden können, und eine Diagnose gastrointestinaler Dysfunktionen schwierig ist. Modifikationen des MOF-Scores sind daher sowohl von Ertel und Trentz 1994 wie auch von Marshall 1995 vorgeschlagen worden, dessen Multiple Organ Dysfunction-Score zunehmend Verbreitung und Anwendung findet [Anhang 10.10, MOD-Score] (69;129).

Ein MODS/MOV wird am häufigsten nach einem septischen Insult beschrieben (127). Die Klinik des MODS/MOV ist in den meisten Fällen nicht streng von der des SIRS zu unterscheiden. Es handelt sich um pathophysiologische Zustände, die ineinandergreifen, gleichzeitig oder in enger Abfolge zueinander auftreten und folglich unterschiedliche Schweregrade einer zugrundeliegenden Krankheit repräsentieren. Schon in einem von Fry 1980 beschriebenen Patientenkollektiv hatten von 38 MOV-Patienten 34 eine Sepsis, wobei diese angenommen wurde, wenn eine positive Blutkultur, eine eitrig-sekretorische Entzündung und einer operativen Revision wegen sich ausbreitende Infektion vorlagen (82). Polk betrachtete schon 1977 das Auftreten eines MOV als Hinweis auf einen unbekanntes Sepsisherd, Ferraris et al. empfahlen 1983 in dieser Situation die intraabdominelle Herdsuche (77;160).

Das Auftreten des MODS/MOV galt lange als die terminale Komplikation einer inadäquat oder unbehandelten Sepsis. In neueren Untersuchungen konnte aber

nur bei ca. 33 bis 50% der Patienten mit Sepsis und MODS/MOV eine Infektion nachgewiesen werden (58;158). Mehrfachverletzungen, Verbrennungen, Pankreatitis und Schock sind nunmehr als Ursachen eines MODS/MOV ebenfalls etabliert (19;105). Während die Rolle der Sepsis als bedeutsam angegeben wird, existiert für den Stellenwert des Traumas als wesentlichen kausalen Kofaktor der Genese des MODS/MOV noch keine eindeutige Festlegung [Baue]. Das MODS wird in Abhängigkeit des Zeitintervalls zwischen Manifestation und auslösendem Insult in ein primäres [frühes] und ein sekundäres [spätes] MODS unterteilt (140). Moore [1996] definierte eine MODS-Manifestation innerhalb von drei Tagen als "frühes Versagen", danach als "spätes Versagen" (142).

2.5.5 Risikofaktoren für die Entwicklung des MODS/MOV

Kritische Faktoren für die Entwicklung und die Letalität eines MODS/MOV sieht Baker [1983] im Alter des Patienten, im ISS-Wert und der Dauer des Schocks (11). Tran [1993] machte fortgeschrittenes Alter, vorbestehende chronische Krankheiten, Mangelernährung, ISS-Wert, Koma bei Aufnahme, Anzahl der benötigten Blutkonserven und Gebrauch von Antazida als Risikofaktoren aus (208). Sauaia [1995] gab als frühe Risikofaktoren ein Alter \geq 50 Jahren, einen ISS-Wert \geq 25 und den Bedarf von mehr als sechs Blutkonserven in den ersten zwölf Stunden an (175). Ein Basendefizit \geq 8 mEq/L und ein Serum-Laktat \geq 2,5 mmol/L waren ferner bedeutsam. Das initiale Trauma mit dem darauffolgenden Schock und dem sich nach adäquater Volumensubstitution anschließenden I/R-Syndrom gilt als wichtigster Risikofaktor für ein MODS/MOV (105). Inwiefern die Art des betroffenen

Organes eine prognostische Rolle spielt, wie ein Organmuster eines MODS/MOV dessen Ausgang mitbestimmt, ist bisher nicht geklärt. In einer Auflistung der Letalität von Cerra [1990] in einem großen operativ-traumatologischen Krankengut fanden sich durchaus Unterschiede der Letalitätsraten in Abhängigkeit von Organsystemen (41). Untersuchungen von Goris 1985, Border 1987, Cerra 1990 und Deitch 1992 haben wiederholt deutlich gemacht, daß die bakterielle Sepsis eine der Hauptursachen eines MODS/MOV ist (34;51;91). Wie Schuster feststellt, ist offensichtlich eine manifeste mikrobielle Sepsis bei etwa der Hälfte der Patienten mit MODS/MOV die entscheidende Ursache des Organversagens (190).

2.5.6 Pathogenese des MODS/MOV

Neben den bestehenden rein deskriptiv und retrospektiv erhobenen Daten zur Genese des MODS/MOV werden die einzelnen Faktoren zur eigentlichen Pathogenese des MODS/MOV noch diskutiert. Grundsätzlich ist anzunehmen, daß den kausalen Mechanismen des Organversagens ein gemeinsamer pathogenetischer Mechanismus zugrunde liegt. Da es aber kein tierexperimentelles Modell gibt, das die Ausprägung des MODS/MOV beinhaltet, existieren praktisch keine experimentellen Daten zur Pathogenese des MOV (44;120).

Der initial bei einem Mehrfachverletzten bestehende prolongierte traumatisch-hämorrhagische Schock ist meist durch die unmittelbar einsetzende neurovegetative Stressreaktion graduell zu kompensieren (44). Oft resultiert aber eine durch die Katecholaminwirkung verstärkte Mikrozirkulationsstörung, die in regionalen Endstromarealen einzelner Organkompartimente zu Hypoxie und

Ödemen führt. Das infolge adäquater Volumensubstitution und nachfolgender Restitution dann häufig eintretende I/R-Syndrom gilt direkt und indirekt als Ursache des frühen MODS. Klinisch dokumentiert sich dies in einem fulminanten Hirnödem nach schwerem SHT, einem ARDS nach Thoraxtrauma sowie einer DIC nach Massivtransfusion (30;42;105;126).

Im Rahmen der Kompensationsmechanismen nach Mehrfachverletzung entsteht ein komplexes Zusammenspiel neuraler, endokriner und immunologischer Systeme, reguliert durch eine Vielzahl von Mediatoren und ihrer Rezeptoren. Die posttraumatische Entzündungs- und Akutphasereaktion ist Ausdruck einer frühen protektiven Immunantwort des Organismus, charakterisiert durch die Aktivierung proinflammatorischer Kaskaden sowie zellulärer und humoraler Immunmechanismen. In einer Theorie zur Pathogenese entwickelte Bone [1996] drei Stadien vom lokalen Prozeß über das SIRS bis zum MODS (30). Zunächst führen die lokale Freisetzung hochpotenter inflammatorischer Mediatoren und die Interaktion reaktiver immunkompetenter Zellsysteme über eine lokal begrenzte Entzündungsreaktion zum Anstoß eines regionalen Reparaturprozesses. Die in dieses Geschehen involvierten immunkompetenten Zellen sind durch das Trauma und die partielle Schockphase [“first hit“] aus der Ruhephase in einen reaktiven Zustand versetzt [“priming“]. Dies dient der Wundheilung, Nekrosen werden abgetragen, phagozytierende Zellen beseitigen eindringende Mikroorganismen.

Mit dem Übertritt kleinerer Mengen an Mediatoren in den systemischen Kreislauf und ihrer damit verbundenen Effekte auf neuro-endokrine, immunologische und biochemische Netzwerkprozesse entwickelt sich die Akutphasereaktion. Wie Faist und Pinsky zeigten, wird die Phase der lokalen Entzündungsreaktion sehr schnell

im Rahmen der Akutphasereaktion von komplexen, körpereigenen antiinflammatorischen Gegenregulationsmechanismen begrenzt (75;157). Kommt es in dieser vulnerablen Phase durch ausgedehnte operative Eingriffe, hypotone Kreislaufzustände, lokal hypoxische Organkompartimente oder sich ausbreitende Infektionen zu einer wiederholten Stimulierung der immunkompetenten Zellen [“second hit“], heilen weder die Wunden, noch sind die Infektionen beherrscht, und die Homöostase kann nicht wieder hergestellt werden (35).

Die sich dann explosionsartig vermehrenden inflammatorischen Mediatoren überschwemmen die Zirkulation [“spill-over Effekt“] und initiieren auch in primär unbeteiligten Organen Entzündungsreaktionen (156). Die überschießende Aktivierung der humoralen und zellulären immunogenen Netzwerkprozesse führt gemeinsam mit dem I/R-Syndrom zu einer Aktivierung und Schädigung der Endothelzellen. Über eine Expression von Adhäsionsmolekülen und Endothel-Leukozyteninteraktionen führt dies zu einer tiefgreifenden Beeinträchtigung der Mikrozirkulation (26;123;195;201). Während einerseits einige Teile des Immunsystems hyperaktiv und damit aggressiv gegen körpereigene Strukturkomponenten erscheinen, sind andererseits, in erster Linie Zell-medierte, spezifische Immunfunktionen supprimiert (157). Eine Reihe defizitärer Immunfunktionen, insbesondere die stark eingeschränkte Antigenpräsentation und -prozessierung, hat Konsequenzen für die posttraumatische Auseinandersetzung des Organismus mit mikrobiellen Pathogenen. Es resultieren eine erhöhte Infektanfälligkeit und eine steigende Sepsisinzidenz (104;131;135;144). In der Endstrecke der Abfolge zeigt sich das Bild eines generalisierten Entzündungssyndromes mehrerer Organe als pathogenetisches Korrelat des SIRS. Bei fehlender Eindämmung endet dies in einer diffusen Permeabilitätsstörung, einer ausgeprägten Mikrozirkulationsstörung bei

gesteigerter Hämodynamik und sequentiellen Organfunktionsausfällen, dem MODS.

Der polytraumatisierte Patient ist also durch eine Reihe miteinander verknüpfter Pathomechanismen gefährdet. Das Trauma kann zum Schock, der Schock zum SIRS und das SIRS zum MODS/MOV führen (89).

Daneben können Trauma und eine überschießende Entzündungsreaktion direkt durch einen nicht kompensierten Verbrauch immunkompetenter Zellen und humoraler Mediatoren im Sinne einer frustranen Verbrauchsimmunopathie in eine Immunsuppression münden. Ist in dieser Situation eine Infektion durch therapeutische Maßnahmen nicht beherrschbar und entwickeln sich septisch-toxische Komplikationen und eine Sepsis, so führt dies ebenfalls direkt zum MODS/MOV (21;29).

Letztlich sind weder alle Ursachen, die Beteiligung auslösender Faktoren, noch sämtliche pathophysiologischen Mechanismen bekannt, so daß die spezifischen Ereignisse, die bei einem polytraumatisierten Patienten zusammenwirken und in ein MODS münden, noch nicht sicher bestimmt werden können (20). Darüber hinaus gibt es keinerlei therapeutische Vorstellungen, die über die kompensatorische Behandlung der einzelnen Organfunktionsausfälle hinausgehen. Prospektive Studien mit klar definierten Begriffen und einem pathogenetisch schlüssigen Konzept fehlen (29).

2.5.7 Klinische Untersuchungen zum MODS/MOV

Die Rolle, die defizitäre humorale und zelluläre Immunfunktionen bei der Entwicklung einer Sepsis und eines Multiorganversagens einnehmen, kann immer klarer umrissen werden (32). Zunehmend häufiger wird über supprimierte

Immunfunktionen bei Mehrfachverletzten berichtet (75;89). Da es sich bei den posttraumatischen Imbalancen der fein austarierten immunologischen Abläufe um dynamische Prozesse handelt, die sich gegenseitig beeinflussen, können Hyperinflammation und Immunsuppression zeitlich versetzt oder auch nebeneinander auftreten (71). Während einige Partialfunktionen und Zellkompartimente des Immunsystems hyperaktiv sind, können andere wiederum in ihrer Funktion stark beeinträchtigt sein. Bone hat dies 1997 in einer neuen Hypothese zusammengefaßt, indem er neben den Begriffen des SIRS und CARS die Bezeichnung MARS für "Mixed Antigen Response Syndrome" empfahl (32). Dieser Terminus "MARS" umfaßt und beschreibt pro- und antiinflammatorische Abläufe zu Beginn und während der vulnerablen Phase [Stadium II] einer Immunreaktion. Ziel ist es, ein schon 1993 von Ertel bei Schwerverletzten gefordertes immunologisches Monitoring umfassender zu beschreiben und präziser zu gewährleisten (64). Voraussetzung dafür ist aber, daß die erhobenen Daten verläßlich und aussagefähig sind.

2.6 Genpolymorphismen polytraumatisierter Patienten

Entgegen der früheren Betonung pathogener Mikroorganismen und ihrer Virulenzmerkmale wird heute die inflammatorisch-immunologische Komponente der Wirtsreaktion als wesentlichster Mechanismus eines septischen Geschehens angesehen. Überfordern lokal autoaggressive Komponenten der inflammatorischen Reaktion die simultan einsetzende anti-inflammatorische Gegenregulation, so ist eine Mediatoreninduzierte, unkontrollierte systemische Hyperinflammation ursächlich für akute, Infektionsort-ferne Organfunktionsstörungen.

Das Ausmaß einer Mediatorenfreisetzung ist nach einer vergleichbar schweren Mehrfachverletzung bei Patienten durchaus unterschiedlich (103). Die nach einem Trauma freigesetzte Menge an inflammatorisch wirksamen Mediatoren scheint genetisch beeinflusst. Bellamy et al. zeigten, daß die unterschiedliche Ausprägung eines Entzündungsprozesses auf genetischen Unterschieden einzelner Zytokingene und der Einflußnahme auf Synthese und Freisetzung der Zytokine gründen kann (22). Santilla und Schraut et al. fanden, daß unterschiedliche Genotypen eines Zytokingens mit einer hohen oder verminderten Synthese und Freisetzung des entsprechenden Zytokines verbunden sind (173;187). Gegenüber einem Normalkollektiv war für diese „Zwei-Allel-Polymorphismen“ einzelner Zytokingene bei verschiedenen Erkrankungen eine auffällige Genotypverteilung festzustellen (134;136;159;197). Daneben konnten für diese „Zwei-Allel-Polymorphismen“ funktionelle Assoziationen zur Höhe der Plasmaspiegel, zur Ausprägung einer Sepsis, zu Organfunktionsstörungen und der Prognose polytraumatisierter und septischer Patienten festgestellt werden (134-136).

Ausgehend von diesen klinischen Ergebnissen stellt sich die Frage nach der Bedeutung molekularbiologischer Genomanalysen als Möglichkeit der verbesserten Risikostratifizierung von polytraumatisierten Patienten speziell unter Berücksichtigung der enttäuschenden Resultate immunmodulatorischer Therapieansätze. Daneben ist von Interesse, inwiefern diese Untersuchungsverfahren neue Ansatzpunkte für gezielte vorbeugende Therapiestrategien eröffnen.

2.6.1 Zwei-Allel-Polymorphismen proinflammatorischer Zytokine und Serinproteasen

Molekularbiologische Untersuchungen haben proinflammatorische Zytokine und Serinproteasen plasmatischer Kaskadensysteme als potente Effektoren destruktiver Prozesse auf zellulärer Ebene charakterisiert, die im schweren posttraumatischen und postoperativen Krankheitsverlauf zum Multiorganversagen führen. Die für diese Mediatoren beschriebenen Zwei-Allel-Polymorphismen liegen beim Menschen in kodierenden und nicht kodierenden Regionen des jeweiligen Gens. Die Basensequenz der kodierenden Region des Gens steht für das zu synthetisierende Protein, die nicht kodierende Region des Gens enthält Regulator- und Starter-(Promoter-) sequenzen. Ohne diese Sequenzen in den nicht kodierenden Regionen ist eine geregelte Translation und letztlich Proteinsynthese [Mediator] nicht möglich. Die Existenz verschiedener Allele [Genotypen] eines einzelnen Gens kann mit einer gesteigerten oder reduzierten Synthese assoziiert sein, was auf einer unterschiedlichen Transkriptionsrate beruht (23). Eine funktionelle Assoziation zwischen Genotypen eines Genes und einem Krankheitssymptom existiert, wenn im Vergleich zu einzelnen Genotypen das kodierte Proteinprodukt unterschiedliche Konzentrationen aufweist. Die Interpretation der Plasmaspiegel einzelner Mediatoren erfordert aber die Beachtung der Analysenmethode, des Meßzeitpunktes und des Kompartiments der Probengewinnung (40).

2.6.1.1 TNF-Polymorphismen

Der TNF-Genlocus umfaßt TNF α [Lymphotoxin α] und TNF β [Lymphotoxin β] und ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 innerhalb der HLA Klasse III Gene im p21.3 Band lokalisiert (Abbildung 1). Bis heute sind 16 Polymorphismen für die Region des TNF-Genlocus beschrieben. Diese umfassen fünf Mikrosatelliten, zehn Zwei-Allel-Polymorphismen und einen Polymorphismus mit zusätzlichem Cytosinmolekül in Position +70 (40). Einem einfachen Basenaustausch (Guanin gegen Adenin) auf Position -308 in der Promoterregion des TNF α und einer vergleichbaren Sequenz im ersten Intron (Region der Translation) des TNF β Gens galt bisher die meiste Aufmerksamkeit (197;198). Der TNF α -308 Polymorphismus ist in der Region der Transkription der TNF α -Moleküls arrangiert. Ergebnisse, die auf eine Assoziation der Allele TNF α 1 und TNF α 2 zu unterschiedlichen TNF α -Plasmaspiegeln schließen ließen, sind widersprüchlich (23;198). In einer Studie mit einem Chloramphenicol Acetyltransferase [CAT] Reporter Gen konnte aber gezeigt werden, daß das TNF α 2 Allel mit einer höheren Transkriptionsrate als das TNF α 1 Allel assoziiert ist (198).

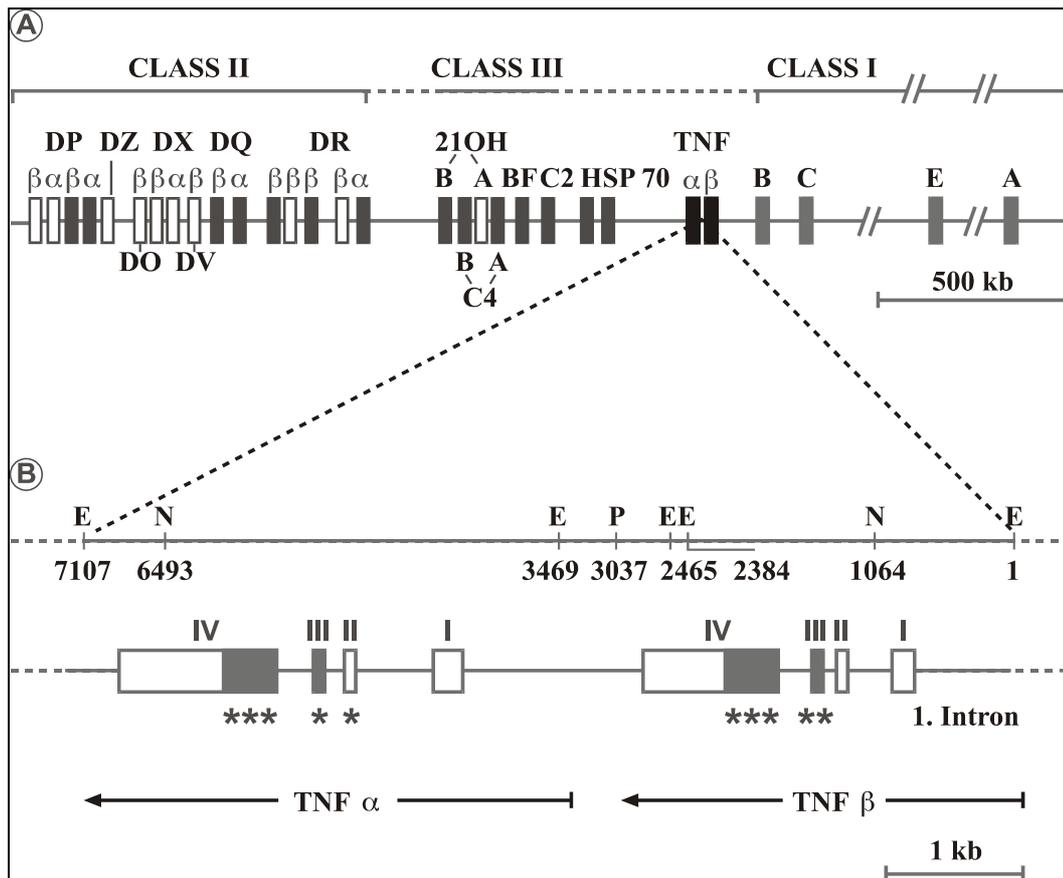


Abbildung 1: Schematische Darstellung des TNF alpha und des TNF beta Gens

Der Zwei-Allel-Polymorphismus im ersten Intron des TNF β -Locus ist unmittelbar neben dem TNF α -Genlocus lokalisiert. Trotz der räumlich getrennten Anordnung zwischen dem TNF α -Gen und dem Polymorphismus des TNF β -Gens im ersten Intron ist eine funktionell sehr enge Assoziation festzustellen (23). In mehrere Studien war eine signifikant höhere TNF α -Synthese mit einer auffälligen Genotypverteilung des TNF β -Polymorphismus verbunden, wobei die zugrunde liegenden Mechanismen noch weitgehend unbekannt sind (136;197). In prospektiven Studien polytraumatisierter und septischer Patienten war die Existenz des Allels TNF β 2 (Genotyp β 2/ β 2 homozygot) mit signifikant höheren TNF α -Plasmaspiegeln assoziiert (136;197).

2.6.2 Vorstellung der gemessenen immunologischen Parameter

2.6.2.1 Tumornekrosefaktor-alpha [TNF α] – Physiologie, Pathophysiologie und Biosynthese

TNF α ist ein Polypeptid und wird durch Stimuli wie bakterielle Antigene [LPS], Viren, Pilze, Protozoen, Interferone, IL-1, IL-2, TNF α [autokrin], Immunkomplexe, C5a und PAF als Vorstufe von 79 Aminosäuren in Makrophagen PMN, T-Zellen [CD4+, selten CD8+], NK-Zellen, Fibroblasten und weiteren immunkompetenten Zellen synthetisiert (226). Die TNF α -Synthese wird durch IL-6, Transforming growth factor beta [TGF β], PGE2, Cyclosporin A, Dexamethason und PAF-Antagonisten inhibiert. Das endgültige biologisch aktive humane TNF α -Molekül [17kDa] enthält dann 157 Aminosäuren und ist nicht glykosyliert (226). Die im TNF α -Molekül an den Positionen 69 und 101 angeordneten cysteinreichen Domänen bilden die einzige kovalent verbundene Disulfidbrücke des TNF α -Moleküls aus. An die Existenz dieser Disulfidbrücke und die resultierende dreidimensionale Molekülstruktur ist die biologische Aktivität der Zytotoxizität, der Makrophagenaktivierung und der Inhibierung der Lipogenese des TNF α -Moleküls gebunden (226).

Im physiologischen Kompartiment bildet das TNF α -Molekül Trimere aus und ist hinsichtlich der molekularen Aminosäurezusammensetzung zu etwa 30 Prozent mit dem TNF-beta [Lymphotoxin] homolog (226). Vom TNF α existiert auch eine in der Zellmembran verankerte Form [26 kDa], die ebenfalls an den TNF α -Rezeptor auf Zellen bindet und die gleichen biologischen Effekte auslösen kann wie das lösliche TNF α [juxtakrine Wirkung] (226).

TNF α ist beteiligt an der Abwehr von Infektionen, der Verstärkung von Entzündungsreaktionen und der Beschleunigung der Wundheilung. Es kann sowohl aktivierend als auch inhibierend wirken und ist für eine normale humorale und zelluläre Immunantwort unbedingt notwendig. Im einzelnen stimuliert TNF α

- die Phagozytose durch Granulozyten und Makrophagen,
- die Produktion von Sauerstoffradikalen in PMN,
- die Expression von HLA-Klasse-1 und Klasse-2 Moleküle,
- die Ausbildung von Differenzierungsantigenen auf allen Leukozyten,
- die Expression von IL-2-Rezeptoren auf T-Zellen,
- die Zytotoxizität durch NK-Zellen,
- die Produktion von IL-1, G-CSF, M-CSF, GM-CSF, INF γ ,
- die Biosynthese von Kollagenase in Endothelzellen und Synovial-Zellen sowie den
- Arachidonsäurestoffwechsel (99;226).

Bei Entzündungsreaktionen liegt die zentrale Bedeutung in der Aktivierung des Arachidonsäurestoffwechsels und der Induktion von Adhäsionsmolekülen [sELAM, sICAM-1 und sVCAM-1], bei der Wundheilung in der Bildung von Prostaglandinen. TNF α wirkt stark chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und verstärkt deren Adhärenz. Es inhibiert die Synthese der Lipoprotein-Lipase und unterdrückt den lipogenetischen Metabolismus in Adipozyten. Daher kommt die ältere Bezeichnung Cachectin. TNF α aktiviert die an der Knochenresorption beteiligten Osteoklasten und unterdrückt folglich die Knochenneubildung.

Eine Überexpression führt zu pathologischen Effekten, wie zur Kachexie bei Tumorpatienten oder Schock bei gramnegativer Sepsis. TNF α ist auch für bestimmte Veränderungen im Endothel verantwortlich. Es vermindert antikoagulatorische Prozesse, begünstigt thrombotische Ereignisse und ist

folglich maßgeblich an pathologischen Prozessen wie Venenthrombosen, Arteriosklerose, Vaskulitis und disseminierter intravasaler Gerinnung beteiligt. TNF α bewirkt, wie der Name schon ausdrückt, eine direkte Zytolyse oder Zytostase vieler Tumorlinien. Dies geschieht oft schon in picomolaren Konzentrationen und induziert hämorrhagische Nekrose von Tumoren. Daneben moduliert TNF α die Expression mehrerer Proteine wie c-fos, c-myc, IL-1 und IL-6. Auch die membrangebundene Variante des TNF α , die besonders auf aktivierten Monozyten und T-Zellen anzutreffen ist, ist biologisch aktiv und kann mittels Zell-Zell-Kontakt Tumorzellen und virusinfizierte Zellen direkt abtöten (99;226).

2.6.2.2 TNF α r I und TNF α r II

Zur Neutralisierung des TNF α sind grundsätzlich zwei Strategien möglich. TNF α kann direkt durch monoklonale Antikörper in der Zirkulation gebunden werden, oder mittels löslicher rekombinanter TNF-Rezeptoren abgefangen werden. TNF α und TNF β interagieren an den gleichen Rezeptoren. Nach Bindung an die hochaffinen Rezeptoren [500 bis 10000 Einheiten pro Zelle] und der Signalinduktion kommt es zur raschen Internalisierung des TNF-Rezeptorkomplexes, gefolgt vom intrazellulären Abbau (226).

Die zwei TNF α -Rezeptoren TNFR1 [50 kDa, p55] und TNFR2 [130kDa, p75], die unabhängig voneinander exprimiert werden, findet man auf fast allen Körperzellen. Durch proteolytische Abspaltung der extrazellulären Domänen zellständiger TNF-Rezeptoren als Fragmente von 30 kDa entstehen TNF-bindende Proteine, die als lösliche TNF-Rezeptoren bezeichnet werden (202).

Brockhaus und Ksontini befanden zwar, daß die physiologische Bedeutung der löslichen TNF- Rezeptoren noch nicht endgültig zu definieren ist (37;116). In einem generalisiert septischen Geschehen, mit erhöhter proteolytischer Freisetzung, spielen sie aber als physiologisch antiinflammatorische Komponente eine entscheidende regulative Rolle für die biologischen TNF-Aktivität (202). TNFR1 und die nachgeordnete zelluläre Signalinduktion werden nach Bindung und Aktivierung durch ein TNF α -Molekül primär als Quelle der proinflammatorischen Effekte gesehen. Nach Aktivierung durch ein TNF α -Molekül potenziert TNFR2 zwar die TNFR1-Wirkung und reguliert die biologische TNF α -Aktivität auf lokaler Ebene, die Bindung von TNF α an TNFR2 hat aber intermediären Charakter. Durch die Bindung an TNFR2 wird das TNF α -Molekül nicht neutralisiert sondern kann nach Dissoziation aus dem Rezeptorkomplex wieder seine biologische Aktivität entfalten (226). Die von Agosti und Fischer in Phase II Studien vorgelegten Ergebnisse zur Therapie septischer Patienten mit einem rekombinanten löslichen TNF-Rezeptor erbrachten aber keinen Vorteil für die Patienten (3;78). Im Gegensatz dazu konnten in einer multizentrischen Phase III Studie Abraham et al. eine tendenzielle Senkung der Mortalität für Patienten in der höchsten Dosierungsstufe aufzeigen (2).

2.7 Zielsetzung der Arbeit

In einer prospektiven Studie sollte an einer homogenen Population polytraumatisierter Patienten der Einfluß genetischer Polymorphismen innerhalb des TNF β -Genlocus hinsichtlich der Entwicklung einer Sepsis und/oder eines MOV untersucht werden. Um den Einfluß dieses Genpolymorphismus auf den

Krankheitsverlauf charakterisieren zu können, wurden die Plasmaspiegel von TNF α , TNF- α rI und TNF- α rII aus dem zirkulierenden Blut bestimmt.

Weiterhin wurde zur Erfassung der Erkrankungsschwere der APACHE-II und III sowie der MOF-Score zur Dokumentation des Multiorganversagens ausgewertet.

Folgende Fragen waren durch die Untersuchung zu beantworten

- Zeigen sich signifikante Unterschiede im zeitlichen Verlauf bzw. zeitlichem Durchschnitt zwischen polytraumatisierten Patienten ohne bzw. mit „severe SIRS“ hinsichtlich der untersuchten Parameter?
- Zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten mit „severe SIRS“ hinsichtlich der untersuchten Parameter?
- Kann ein immunologisches Monitoring der in dieser Arbeit vorgestellten immunologischen Parameter zur Prognose-Abschätzung nach Polytrauma dienen?
- Kann ein immunologisches Monitoring bei immunmodulatorischen Therapieinterventionen Hilfestellung geben, in Bezug auf „Wer“, „Wann“ und „Was“ therapiert werden soll?

3 Patienten, Material und Methoden

3.1 Patienten

Die von der Ethik-Kommission genehmigte Studie wurde an Patienten der Operativen Intensivstation der Abteilung Anaesthesiologie und Operative Intensivmedizin am Klinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt. Während des Zeitraumes vom 01.03.1997 bis 31.12.1998 wurden 65 Patienten mit der Diagnose Polytrauma nach einem schweren Unfallereignis in die Studie aufgenommen. Grundvoraussetzung war die Erfüllung der Definitionskriterien für ein Polytrauma, nämlich „gleichzeitig entstandene Verletzung mehrerer Körperregionen oder Organsysteme, wobei wenigstens eine Verletzung oder die Kombination mehrerer Verletzungen lebensbedrohlich ist“ (209). Die einzelnen Patienten wurden während ihrer Behandlung auf der Operativen Intensivstation der Abteilung Anaesthesiologie und Operative Intensivmedizin der JLU Gießen und darüber hinaus bis zu 28 Tage nach dem Unfall untersucht.

Die Verteilung der Verletzungsschwere wurde nach dem Hannoverschen Polytraumaschlüssel [PTS] sowie nach dem Injury Severity Score [ISS] erfaßt und die mittlere Anzahl der Einzelverletzungen pro Patient aufgelistet [PTS- und ISS-Score siehe Tabelle 1 und Tabelle 2] (13;151). Daneben wurden die Rettungszeit und das Rettungsmittel dokumentiert. Die für die Festlegung der Organfunktionen notwendigen hämodynamischen und respiratorischen Parameter, sowie die laborchemischen Daten wurden über ein EDV gestütztes Patienten Dokumentationssystem [EMTEK 2000] prospektiv erfaßt.

Die Patienten wurden entsprechend den im Kapitel 1 angeführten Definitionen für Verletzungsscores, Polytrauma, Organfunktionsstörungen, Sepsis, septischer Schock und MODS/MOV untersucht und beurteilt.

Einschlußkriterien:

- Vorliegen einer Einverständniserklärung
- Diagnose Polytrauma
- PTS-Wert ≥ 30 und/oder ISS-Wert ≥ 25
- Alter ≥ 18 Jahren und ≤ 65 Jahren
- Aufnahme des Patienten auf die Intensivstation ≤ 12 Stunden nach dem Trauma

Ausschlußkriterien:

- Schwere Einzelverletzungen wie Wirbelsäulenverletzungen und Beckenverletzungen (Barytraumen)
- Patienten mit anzunehmendem Hirntod und funktionierendem Kreislauf
- Massive ZNS-Schädigung [Patienten mit im Vordergrund stehendem operativ zu versorgendem Schädelhirntrauma, SHT II°-III°]
- Patienten, die nach dem Unfall sekundär nach Gießen verlegt wurden
- Reanimation nach Herzstillstand oder schwerer kardiogener Schock
- Verabreichung steroidaler und nicht-steroidaler Antiphlogistika
- Schwangere Frauen und Frauen in der Stillzeit
- Gleichzeitige Teilnahme an einer anderen Studie
- Patienten mit Verbrennungen aller Stadien
- Versterben des Patienten innerhalb der ersten 3 Tage auf der Operativen Intensivstation.

In Tabelle 1 und Tabelle 2 sind die hier verwendeten Trauma-Scores (Injury-Severity-Score und Polytrauma-Schlüssel) wiedergegeben, die bei den untersuchten Patienten zu ermitteln waren.

Tabelle 1: Injury-Severity-Score (ISS) nach Baker et al. (1974) (14)

Schweregrad	1	2	3	4	5
Allgemein	Kleinere Weich-teilverletzung	Verbrennung von 10-20% KO, ausgedehnte Weich-teilverletzung an 1 oder 2 Extremitäten	3gradige Verbrennung von 20-30% KO, ausgedehnte Weich-teilverletzung an ≥ 2 Extremitäten	2-3gradige Verbrennung von 30-50% KO, ausgedehnte Weich-teilverletzung mit bedrohlicher Blutung	2-3gradige Verbrennung > 50%
Kopf / Hals	Schädeltrauma ohne Bewußtseins-eintrübung, HWS-Schleudertrauma ohne path. Röntgenbefund	Schädeltrauma mit Bewußtlosigkeit < 15min, ohne retro-grade Amnesie, HWS-Schleudertrauma mit röntgenologischen Zeichen	Schädel-Hirn-Trauma mit Bewußtlosigkeit > 15min, ohne Seitenzeichen, retrograde Amnesie bis 3h, dislozierte Frakturen von Kalotte bis Mittel-gesicht, Orbita oder Nasennebenhöhlen, HWS-Fraktur ohne Rückenmarksverletzung, Zerstörung des Auges, Optikus-a	Schädel-Hirn-Trauma mit Bewußtlosigkeit > 15min oder Seitenzeichen, retrograde Amnesie 3-12h, mehrfache Schädelfrakturen	Schädel-Hirn-Trauma mit Bewußtlosigkeit > 24h, retrograde Amnesie > 12h, intrakranielle Blutung, Hirn-druckerhöhung, HWS-Fraktur mit Querschnittsymptomatik
Thorax	Thoraxprellung	Einfache Rippen- / Sternumfraktur, Kontusion ohne Behinderung der Atmung	Mehrfache Rippenfrakturen und Lungenkontusion ohne Behinderung der Atmung, Pneumothorax, Hämatothorax, Zwerchfellruptur	Offenes Thorax-trauma, instabiler Thorax, Pneumo-mediastinum, Perikardverletzung, Herzkontusion ohne Kreislaufbeeinträchtigung	Thoraxverletzung mit schwerer Atembehinderung, Trachealabriss, Hämomediastinum, Aortenruptur, Myokardruptur, schwere Herzkontusion
Abdomen	Bauchwandkontusion	Ausgedehnte Kontusion des Abdomens	Kontusion von Bauchorganen, retroperitoneales Hämatom, extra-peritoneale Blasenruptur, Ureter- und Uretraverletzung, BWS- oder LWS-Fraktur ohne Neurologie	Weniger schwere Verletzung von Abdominalorganen (Milz / Nierenruptur, Pankreas-schwanzkontusion), intraperitoneale Blasenruptur, Genitalverletzung, BWS- oder LWS-Fraktur mit Querschnittsymptomatik	Ruptur oder Perforation abdominalen Organe außer Milz, Blase und Pankreas-schwanz
Extremitäten	Verstauchung, Fraktur von Fingern und Zehen	Geschlossene Frakturen von Becken / Röhrenknochen, Verstauchung großer Gelenke	dislozierte geschlossene oder einfache offene Röhrenknochenfrakturen, dislozierte Beckenfraktur, mehrfache Hand- / Fußfrakturen, Luxation großer Gefäße, Verletzung von großen Extremitätennerven / -gefäßen	Mehrfache Röhrenknochenfrakturen, Gliedmaßenamputation	Mehrfache offene Röhrenknochenfrakturen

Tabelle 2: Polytrauma-Schlüssel (PTS) nach Oestern et al.(1991) (151)

Variable	Punkte	Variable	Punkte
Schädel		Thorax	
GCS 9-12	2	Sternum / Rippenfrakturen	1
GCS 6-8	4	Rippenserienfraktur	4
GCS 3-5	16	Rippenserienfraktur bds.	10
Mittelgesichtsfraktur	1	Pneumothorax	2
Schwere Mittelgesichtsfraktur	2	Hämatothorax	1
		Lungenkontusion	3
		Lungenkontusion bds.	5
Abdomen		Aortenruptur	16
Milzruptur	5		
Leberruptur	8	Becken	
Leberruptur ausgedehnt	10	Beckenfraktur einfach	2
Pankreas	8	Beckenfraktur kombiniert	5
Magen, Darm, Niere, Mesenterium	5	Becken- / Urogenitalverletzung	8
		Beckenquetschung	12
Extremitäten / -frakturen		Wirbelbruch	2
Oberschenkeltrümmerfraktur	8	Wirbelbruch mit Querschnitt	8
Oberschenkelfraktur	6		
Oberarm, Schulter	4	Alter [Jahre]	
Unterschenkelfraktur	2	0-39	0
Patella, OSG, Unterarm, Knieband	1	40-54	1
Gefäßverletzung Oberschenkel	5	55-59	2
Gefäßverletzung Oberarm	4	60-64	3
Gefäßverletzung Unterschenkel/ -arm	3	65-69	5
2° und 3° offene Fraktur	2	70-74	8
Weichteilverletzung	1	> 75	17
paO2 / FiO2		„base excess“	
< 50	22	< -16	26
50-99	12	-14 bis -15,9	20
100-149	8	-12 bis -13,9	14
150-199	5	-10 bis -11,9	9
200-249	3	-08 bis -09,8	5
250-299	2	-06 bis -07,9	3
300-349	1	-04 bis -05,9	1
> 350	0	> -3,9	0

PTS revidiert = Summe der Punktwerte der Einzelverletzungen

3.2 Behandlung und Monitoring der Patienten

3.2.1 Monitoring

Bei allen Patienten erfolgten kontinuierlich eine EKG-, Puls- sowie Sättigungsüberwachung und eine Messung des arteriellen Blutdrucks. Die Körpertemperatur wurde rektal registriert, die tägliche Urinausscheidung gemessen, um die Flüssigkeitsgesamtanzahl zu erstellen. Zudem waren alle Patienten mit einem mehrlumigen zentralen Venenkatheter sowie einer Magensonde bzw. einer Duodenalsonde versorgt und mindestens während der ersten Behandlungswoche kontrolliert beatmet. Täglich wurden bei den Patienten routinemäßig Laboruntersuchungen [Elektrolyte, Gerinnung, Blutbild, Blutzucker, Leberwerte, Nierenretentionswerte, Gesamteiweiß] und Blutgasanalysen, entsprechend der weitgehend standardisierten Therapie aber auch bedarfsadaptiert an die individuellen Situation des einzelnen Patienten, vorgenommen. Das bakteriologische Screening beinhaltete Bronchial- und Trachealsekret, Urinkulturen, Abstriche bei offenen Wunden oder Wundinfektverdacht. Die regelmäßige Bebrütung von entfernten intravasalen Kathetern wurde ergänzt durch die Abnahme von venösen Blutkulturen. Diese wurden bei klinischem Verdacht auf eine septische Reaktion zu Beginn eines Fieberanstieges von 38,5°C auf über 39°C gewonnen.

3.2.2 Intensivmedizinische Behandlung

Für alle das Trauma überlebenden Patienten waren bis zur endgültigen Entwöhnung von der maschinellen Beatmung druckkontrollierte und

druckkontrolliert assistierende Beatmungsverfahren notwendig. Hierbei wurden immer ein paO_2 zwischen 100 und 150mmHg und ein $paCO_2$ zwischen 38 und 48mmHg angestrebt. Heparin wurde in Normalfall in einer Dosierung von 125-500 I.E./h kontinuierlich infundiert. Adrenalin und/oder Noradrenalin wurden bei einem systemischen vaskulären Widerstand (SVR) unter $700 \text{ dyn} \cdot \text{sec}^{-1} \cdot \text{cm}^{-5}$ und einem mittleren arteriellen Blutdruck [MAP] unter 60mmHg appliziert. Die Antibiotikatherapie war dem täglichen mikrobiologischen Monitoring angepaßt. Die Gabe von homologen Erythrozytenkonzentraten erfolgte bedarfsadaptiert, approximal bei einem Hb-Wert $< 7\text{g/l}$. Modalitäten der Beatmungs-, Ernährungs- und Infusionstherapie bestimmten die behandelnden Ärzte, die nicht in die Studie involviert waren. Patienten mit einem akuten Nierenversagen wurden einer kontinuierlichen Hämofiltration zugeführt, wenn trotz intensiver diuretischer Therapie mit Furosemid die Retentionswerte und die Urinausscheidung folgende Grenzen überstiegen: Kreatinin im Serum $>3\text{mg/dl}$, Harnstoff im Serum $>250\text{mg/dl}$, Urinausscheidung $< 20\text{ml/h}$.

3.2.3 Operationen

Die operative Behandlung schwerer Verletzungen [z.B. operative Stabilisierung von Frakturen, Versorgung abdomineller Verletzungen, Wundbehandlung etc.] erfolgte bei allen Patienten nach vergleichbarem chirurgischen Management, d.h. Versorgung zum frühestmöglichen Zeitpunkt, jeweils unter Berücksichtigung des Allgemeinzustandes. Die einzelnen Operationen wurden dokumentiert.

3.2.4 Kontrolle der Organsysteme

Sämtliche Organsysteme wurden sowohl für die intensivmedizinische Behandlung als auch für die Dokumentation während der Studie engmaschig überwacht.

Dabei war auf folgende Parameter zu achten:

- Herz-Kreislauf-System
Herzfrequenz, systemischer Blutdruck [syst., diast., MAP], zentraler Venendruck, Herzzeitvolumen, Cardiac Index, pulmonalarterieller Druck, pulmonalkapillärer Verschlussdruck, systemischer Widerstand, pulmonaler Widerstand, arteriovenöse Sauerstoffdruckdifferenz.
- Lunge und Beatmung
Arterielle Blutgase: Sauerstoffpartialdruck [paO₂], Kohlendioxidpartialdruck [paCO₂], pH-Wert, Base Excess, arterielle Sauerstoffsättigung, gemischtvenöser Sauerstoffpartialdruck [pvO₂], gemischtvenöser Kohlendioxidpartialdruck [pvCO₂], gemischtvenöse O₂-Sättigung; Thorax Röntgen-Befund, Atemfrequenz, Atemminutenvolumen, Atemzeitverhältnis [I:E], inspiratorische Sauerstoffkonzentration, positiv endexpiratorischer Partialdruck [PEEP], statische Compliance, Resistance, Beatmungsdrucke.
- Niere und Elektrolyte
Urin- und Flüssigkeitsbilanz, Serum-Werte Natrium, Kalium, Kalzium, Kreatinin und Harnstoff.
- Leber und Pankreas
Serum-Werte Bilirubin, Albumin, Cholinesterase, Glutamat-Oxalazetat-Transaminase [GOT], Glutamat-Pyruvat-Transaminase [GPT], Laktat-Dehydrogenase [LDH], Gamma-Glutamyl-Transferase [γ-GT], Kreatin-Kinase [CK] alkalische Phosphatase [APH], Amylase, Lipase.
- Blutbild und Blutgerinnung
Hämoglobin [Hb], Hämatokrit [Hk], Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, Differentialblutbild, Thromboplastinzeit [TPZ,

Quickwert], partielle Thromboplastinzeit [PTT], Plasmathrombinzeit [PTZ], Fibrinogen, Antithrombin III.

- Infektiologische Parameter
Mikrobiologisches Probenmaterial, C-reaktives Protein [CRP],
Blutkulturen.

3.3 Gruppeneinteilung der Patienten

Die Patienten wurden nach Allelausprägung eines Genotyps des TNF-beta-Polymorphismus den folgenden Gruppen zugeordnet:

- Gruppe 1 [n = 6] – Homozygot TNF $\beta 1/\beta 1$
- Gruppe 2 [n = 35] – Heterozygot TNF $\beta 1/\beta 2$
- Gruppe 3 [n = 24] – Homozygot TNF $\beta 2/\beta 2$

Innerhalb der Gruppen war dann zu unterscheiden zwischen jenen Patienten, die verstarben und jenen, die überlebten. Alle Patienten mit einem letalem Verlauf verstarben während des Aufenthalts auf der Intensivstation. Von überlebenden Patienten wurde gesprochen, wenn diese nach Besserung des Verlaufs zur weiteren Genesung auf eine normale Station oder in ein anderes Krankenhaus verlegt wurden.

Des Weiteren wurden die Patienten während ihres Beobachtungszeitraumes hinsichtlich Zustandekommen oder Ausbleiben einer Sepsis und/oder eines Multiorganversagens differenziert.

3.4 Sepsis

Prospektiv wurde unabhängig vom Genotyp eines jeden Patienten sein Krankheitsverlauf beobachtet. Alle Patienten, die in ihrem Krankheitsverlauf eine Sepsis entwickelten, wurden entsprechend den Kriterien der ACCP/SCCM-Consensus-Konferenz von 1991 für severe sepsis beurteilt.

Die severe sepsis ist definiert als Sepsis assoziiert mit Organdysfunktion, abnormer Hypoperfusion oder sepsisinduzierter Hypotension. Die abnorme Hypoperfusion beinhaltet Lactat-Azidose, Oligurie oder eine akute Verschlechterung des mentalen Status (31).

Die klinische Begriffsbestimmung der Sepsis geht auf die Definition von Schottmüller [1914] zurück (186). Indem sie an dem infektiösem Fokus und/oder der systemischen Streuung [Bakteriämie] als grundlegende Bedingung festhielten, wurde die Definition Schottmüllers von den meisten Autoren zwar variiert, aber nicht substantiell verändert (82;99;214). Die Sepsis ist ein komplexes Krankheitsgeschehen von allgemeiner medizinischer Bedeutung, die einen von der Grundkrankheit des Patienten und der zugrundeliegenden Infektion unabhängigen hohen Beitrag zur Letalität bedingt. Diese der Sepsis zuschreibbare Letalität [Excessletalität] beträgt nach einigen Studien bis zu 35% (127;148). Entgegen der früheren Betonung pathogener Mikroorganismen und ihrer Virulenzmerkmale wird heute die inflammatorisch, immunologische Komponente der Wirtsreaktion als wesentlichster Mechanismus eines septischen Geschehens angesehen (80;128). Diese Sichtweise hat insbesondere die molekular- und zellbiologische Charakterisierung der Rolle der Zytokine als Signalproteine der inflammatorischen Zellinteraktion befördert. Die Schwierigkeiten bezüglich der

Vergleichbarkeit, Überprüfbarkeit und Planung von Behandlungskonzepten in der Sepsistherapie existierten aber als Folge einer ungenauen Terminologie weiter (58;148;162;191). Begriffe wie Sepsis, Bakteriämie, Septikämie, Sepsis-Syndrom, Systemic Inflammatory Response Syndrom, Whole Body Inflammation und Septischer Schock wurden teilweise synonym, abwechselnd oder willkürlich verwendet (213;217).

Unter Sepsis wird in den folgenden Ausführungen eine akute inflammatorische Reaktion auf die Invasion von Mikroorganismen verstanden, die einen unkontrollierten generalisierten Verlauf nimmt. Die mikrobiologisch durch Blutkulturen dokumentierte Sepsis stellt epidemiologisch und pathophysiologisch nur eine Untergruppe der Krankheitsentität Sepsis dar. Sie ist von den nicht bakteriämisch dokumentierten Formen in der Manifestation und Prognose nicht unterschieden. Der Sepsisbegriff wird im wesentlichen durch die pathophysiologisch gut begründete Annahme eines Zusammenhangs zwischen einer Infektion und akuten infektionsortfernen Organfunktionsstörungen definiert (158;166;217;222). Entsprechend dieser Definition werden für die Diagnose von Sepsis und septischem Schock der Nachweis eines Infektionsfokus, eine schwere inflammatorische Wirtsantwort und das Auftreten akuter infektionsferner Organfunktionsstörungen oder eines hämodynamischen Schocks gefordert. In der vorliegenden Arbeit liegen dem Begriff Sepsis und septischer Schock die angeführten Definitionen und die Empfehlungen der European Society for Intensive Care Medicine zum klinischen Kriterienkatalog zugrunde (133). Die Definitionen Sepsis und septischer Schock entsprechen den Kategorien „severe sepsis“ und „septic shock“ der Empfehlung der ACCP/SCCM-Konsensuskonferenz [1992], ermöglichen mithin eine

Vergleichbarkeit, da sie auch den epidemiologischen Erhebungen von Sands, Brun-Buisson und Salvo zugrundeliegen (38;171;172).

3.5 Multiorganversagen

Wir haben den von Goris et al. (1985) entwickelten Multiple-Organ-Failure-Score (MOF-Score) verwendet (91). Da der MOF-Score lediglich die Schwere nicht jedoch die Dauer bzw. den zeitlichen Verlauf des Organversagens mißt, wurde bei jedem Patienten zu jedem Meßzeitpunkt der Zahlenwert ermittelt und in ein Diagramm übertragen. Bei der Punktvergabe wurde jeweils der schlechteste Wert für die einzelnen Parameter innerhalb von 24 h beachtet. Auf die Beurteilung des "Versagens des ZNS" im MOF-Score wurde verzichtet, da alle Patienten zumindest in den ersten Tagen analgosediert und beatmet waren, somit eine Beurteilung schwierig war bzw. von der subjektiven Erfahrung des Untersuchers bestimmt wurde. Die maximal erreichbare Punktzahl betrug somit für den MOF-Score 12 Punkte. Werte innerhalb der ersten 48 Stunden wurden für die Diagnose nicht berücksichtigt, da diese reversible Veränderungen, die durch das initiale Ereignis oder ungenügende Erstversorgung bedingt sind, reflektieren könnten. Regel et al. (1991) weisen zudem darauf hin, daß bei der Beurteilung von polytraumatisierten Patienten durch den Score ein verzerrtes Bild entsteht, da diese Patienten initial regelhaft, auch aus prophylaktischen Gesichtspunkten intubiert und beatmet werden, somit bereits in die Gruppe I des Lungenversagens nach Goris fallen (165). Ein MODS/MOV war demnach anzunehmen, wenn ein täglicher MOF-Score-Wert > 6 Punkten über mehr als drei Tage erreicht wurde.

3.6 Schweregrad der Erkrankung

Weiterhin wurden die Patienten zur Bestimmung des Schweregrades der Erkrankung durch den APACHE-II und mit dessen Nachfolgeversion APACHE-III erfaßt (108;112). Wie beim MOF-Score waren jeweils die schlechtesten Werte für die einzelnen Parameter innerhalb von 24 h zu berücksichtigen. Auch hier wurde auf die Beurteilung der ZNS-Funktionen (z.B. im APACHE II durch die Glasgow-Coma-Scale) aus den oben angegebenen Gründen verzichtet. Maximal erreichbare Zahlen für den APACHE-II betragen 59 Punkte und für den APACHE-III 251 Punkte . In Tabelle 3, Tabelle 4, und Tabelle 5 sind die verschiedenen Score-Systeme wiedergegeben

Tabelle 3: Acute-Physiology-Score des APACHE-II nach Knaus et al. (1985) (108).

Variablen	Oberer Abweichungsbereich					Unterer Abweichungsbereich			
	4	3	2	1	0	1	2	3	4
Rektaltemperatur (°C)	> 41	39-40,9		38,5-38,9	36 - 38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	< 29,9
art. Mitteldruck (mmHg)	< 160	130-159	110-129		70-109		50-69		< 49
Herzfrequenz	< 180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	< 39
Atemfrequenz	< 50	35-49		25-34	45-67	38-66	38-61		< 5
Oxygenation (mmHg):									
a) FiO2 > 0,5 A-aDO2	> 500	350-499	200-349		< 200				
b) FiO2 < 0,5 paO2					> 70	61-70		55-60	< 55
art. pH-Werte	> 7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	< 7,15
Na im Serum (mmol/ml)	> 180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	< 110
K im Serum (mmol/ml)	> 7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		< 2,5
Kreatinin i.S. (mg/dl); bei ANV x2	> 3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		< 0,6		
Hämatokrit (%)	> 60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		< 20
Leukozyten (1000 mm ³)	> 40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		< 1
Glasgow Coma Scale	Score = 15								
HCO ₃ -ven. Blut (nur wenn keine BGA)	> 52	41-51,9		32-40,9	22-31		18-21,9	15-17,9	< 15

Alterspunkte des APACHE II

- | • Alter in Jahren | Punkte |
|-------------------|--------|
| • < 44 | 0 |
| • 45-54 | 2 |
| • 55-64 | 3 |
| • 65-74 | 5 |
| • > 75 | 6 |

Chronische Punkte des APACHE II

Für Patienten mit vorbestehenden schweren Insuffizienzen eines Organsystems oder Patienten mit Immunschwäche gelten folgende Punkte:

- a) Für nichtoperative Patienten oder Notfalloperationen: 5 Punkte
- b) Für Elektivoperationen: 2 Punkte

Definition der schweren Organinsuffizienz und Immunschwäche:

- Leber: bioptisch gesicherte Zirrhose und nachgewiesene portale Hypertension, stattgehabte Episoden oberer gastrointestinaler Blutungen als Folge der portalen Hypertension, frühere Episoden von Leberversagen/hepatischer Enzephalopathie/Leberkoma.
- Kardiovaskulär: NYHA IV.
- Respiratorisch: chronische restriktive, obstruktive oder vaskuläre Lungenerkrankung mit schwerer Einschränkung der Belastbarkeit oder nachgewiesener chronischer Hypoxie, Hyperkapnie, sekundärer Polyzytämie, schwerer Hypertension (> 40 mmHg) oder Respiratorabhängigkeit.
- Renal: terminale Niereninsuffizienz mit chronischer Dialysebehandlung.

- Immunschwäche: immunsuppressive Therapie, z.B. Immunsuppressiva, Chemotherapie, Radiatio, Steroidtherapie oder krankheitsbedingte Immunsuppression (Leukämie , AIDS etc.)

Tabelle 4: APACHE-III-Score nach Knaus et al. (1991) (112)

Laborchemische Daten und Vitalzeichen

Variablen	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte	Bereich	Punkte
Puls	<39	8	40-49	5	50-99/min	0	100-109	1	110-119	5	120-139	7	>140	13		
art.Mitteldruck	40-59	15	60-69	7	70-79	6	80-99mmHg	0	100-119	4	120-129	7	130-139	9	>140	18
Temp.	33,5-33,9	13	34-34,9	8	35-35,9	2	36-39,9°C	0	<40,0	4						
Atemfrequ./min	<5	17	6-11	8	12-13	7	14-24/min	0	25-34	6	35-39	9	40-49	11	>50	18
PaO2	<49	15	50-69	5	70-79	2	>80mmHg	0								
Hämatokrit	<40,9	3	41-49%	0	>50	3										
Leukozyten	<1,0	19	1,0-2,9	5	3,0-19,9	0	20-24,9	1	>25	5						
Kreatinin	<0,4	3	0,5-1,4mg/dl	0	1,5-1,94	4	>1,95	7								
Krea.beiANV	0,0-1,4mg/dl	0	>1,5	10												
Umsprod./d	600-899	7	900-1499	5	1500-1999	4	2000-3999ml	0	>4000	1						
Hämstoff	<16,9mg/dl	0	17-19	2	20-39	7	40-79	11	>80	12						
Natrium	<119	3	120-134	2	134-154mmol/l	0	>155	4								
Albumin	<19	11	20-24	6	25-44g/l	0	>45	4								
Bilirubin	<1,9	0	2,0-2,9	5	3,0-4,9	6	5,0-7,9	8	>8,0	16						
Glucose	<39	12	40-59	9	60-199mg/dl	0	200-349	3	>350	5						

Punktzahlen für Abweichungen im Säure-Basen-Haushalt

pCO2	< 25	25-30	30-35	35-40	40-45	45-50	50-55	55-60	> 60
ph									
< 7,15				12					4
7,15-7,2									
7,2-7,25			6		3				2
7,25-7,3	9								
7,3-7,35							1		
7,35-7,4				0			1		
7,4-7,45	5								
7,45-7,5			0	2					
7,5-7,55									
7,55-7,6				3			12		
7,6-7,65	0								
> 7,65									

Punkte für Alter und chronische Erkrankungen

Alter in Jahren	Punkte	Begleiterkrankungen*	Punkte
< 44	0	AIDS	23
45-59	5	Leberversagen	16
60-64	11	Lymphome	13
65-69	13	metastasierendes Ca	11
70-74	16	Leukämie	10
75-84	17	Immunsuppression	10
> 84	24	Leberzirrhose	4

* Begleiterkrankungen werden bei Elektivoperationen nicht berücksichtigt

Tabelle 5: MOF-Score nach Goris (1985) (91)

	0	1	2
	Nicht nachweisbar	Mittelschwer	Schwer
Lungenversagen	keine Beatmung	Beatmung mit PEEP \leq 10 cm H ₂ O und FiO ₂ \leq 0,4	Beatmung mit PEEP $>$ 10 cm H ₂ O und FiO ₂ $>$ 0,4
Herz-Kreislauf-Versagen	normaler Blutdruck ohne vasoaktive Substanzen	Therapie erforderlich, um systolischen Blutdruck $>$ 100 mmHg zu halten: Volumensubstitution oder Dopamin \leq 10 μ g/kg/min	Phasen der art. Hypo-tension mit Blutdruck unter 100 mmHg und/oder Dopamin $>$ 10 μ g/kg/min und/oder Nitrogyzerin $>$ 20 μ g/kg/min
Nierenversagen	Serumkreatinin $<$ 2 mg/dl	Serumkreatinin \geq 2 mg/dl	Hämodialyse/Hämo-filtration
Leberversagen	GOT $<$ 25 U/l, Bilirubin $<$ 2mg/dl	GOT $>$ 25 U/l oder Bili-rubin $>$ 2 mg/dl, $<$ 6 mg/dl	GOT $>$ 50 U/l, Bilirubin \geq 6 mg/dl
Versagen der Blutgerinnung	Thrombozyten normal, Leukozyten normal	Thrombozyten $<$ 50000 und/oder Leukozyten \geq 3000, $<$ 6000	hämorrhagische Diathese oder Leukozyten $<$ 2500 oder \geq 6000
Gastrointestinales Versagen	normale Funktion	Cholezystitis oder Streßul-kus	Streßblutungen mit Trans-fusionen mehrmals 2E/24h und /oder nekrot. Entero-kolitis und/oder Pancreatitis und/oder Gallenblasen-perforation
ZNS-Versagen	normale Funktion	eindeutig eingeschränkte Reaktionsmöglichkeit	schwer gestörtes Reaktionsvermögen und/oder diffuse Neuro-pathie

3.7 Meßzeitraum

Beginnend mit dem Aufnahmetag wurde die Dokumentation der Patienten entweder bis zum 28. Tag fortgeführt, oder bis zum Zeitpunkt des frühzeitigeren Versterbens. Tag 1 war der Aufnahmetag, wobei sich die Probenentnahme abhängig vom Studieneinschluß zeitlich variabel gestaltete. An den folgenden Tagen 2 bis 14 sowie Tag 21 und 28 wurde jeweils um 8 Uhr morgens das Untersuchungsmaterial entnommen, um den Einfluß der zirkadianen Rhythmik auf die Messwerte weitmöglichst auszuschließen. Die Routinelaborparameter wurden täglich ebenfalls um 8 Uhr morgens bestimmt. Im Anschluß an das vierwöchige Intervall wurde die Krankengeschichte der überlebenden Patienten bis zum Abschluß der stationären Therapie dokumentiert. Alle Patienten wurden analog den im Kapitel 3.2 im Abschnitt Behandlung der Patienten aufgeführten Kriterien für Überwachung, Intensivtherapie, Operationen, Kontrolle der

Organsysteme und infektiologische Parameter erfaßt, diagnostiziert und behandelt.

3.8 Meßparameter

Für alle in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden sämtliche Routinelaborparameter täglich im Zentrallabor des Instituts Klinische Chemie und Pathobiochemie erfaßt. Die Plasmaspiegel aller immunologischen Meßparameter wurden mittels Elisa-Technik (TNF-alpha, sTNF-R1) in den ersten 48 Stunden 6-stündlich anschließend 24-stündlich erfaßt.

3.8.1 Blutentnahme und Aufbereitung

Die Blutentnahme zur Gewinnung von im ELISA testbarem Plasma erfolgte zu den jeweiligen Messzeitpunkten aus der in der Arteria radialis zur invasiven Blutdruckmessung befindlichen Verweilkanüle. Zunächst wurden 10 ml Blut vorgezogen und anschließend das Blut für die jeweilige ELISA-Bestimmung entnommen. Dabei wurden folgende Materialien verwandt:

- Citrat-Monovetten {5 ml.}
(Kabe Labortechnik GmbH, Nürmbrecht-Elsenroth),
- Heparin-Monovetten {10 ml.}
(Kabe Labortechnik GmbH, Nürmbrecht-Elsenroth),
- EDTA-(Ethyldiamintetraacetat)-Monovetten {3 ml.}
(Kabe Labortechnik GmbH, Nürmbrecht-Elsenroth),
- EDTA-Monovetten {3 ml.}
(Kabe Labortechnik GmbH, Nürmbrecht-Elsenroth) versetzt mit Indomethacin.

Unmittelbar nach Probengewinnung wurde das Blut mit dem Antikoagulans schonend vermischt und auf Eis gekühlt. Anschließend erfolgte eine zehninminütige Zentrifugation (Biofuge 17 RS, Heraeus Spatech GmbH, Hanau) mit 4000 U/min. bei 4°C. Das so gewonnene Plasma wurde in pyrogenfreie Eppendorfhütchen (Eppendorf, Hamburg) einpipettiert (Variopipette, Eppendorf, Hamburg) und bei -70°C tiefgefroren. Die Messung erfolgte zum baldestmöglichen Zeitpunkt (meist innerhalb 10 Wochen) nach Blutentnahme.

3.9 Labormethodik

3.9.1 Allgemeine Prinzipien des Enzym-Linked-Immunosorbent-Assay [ELISA]

Der ELISA ist eine immunologische Methode, um Antigen-Konzentrationen zu quantifizieren. Er hat eine sehr gute Sensitivität und Spezifität. Hierbei ist ein für das Antigen spezifische Indikator-Molekül-der spezifische Antikörper- kovalent an ein Enzym gebunden. Das Enzym überführt ein klares Substrat in ein gefärbtes Produkt. Die Intensität dieses Farbumschlages kann mittels eines Spektrometers gemessen werden und ist der Antigen-Konzentration proportional.

In dieser Studie kamen zwei unterschiedliche Arten von ELISA zur Anwendung:

1. der quantitative „Sandwich“-ELISA
2. der quantitative kompetitive ELISA.

Ad 1.: Eine bestimmte Menge eines spezifischen Antikörpers ist auf einer Platte (Multiwellplatte) fest gebunden. Eine Serie von Standard-Antigen-Lösungen mit bekannter Konzentration des zu untersuchenden Antigens, sowie die Test Lösung mit der unbekanntem Antigen-Konzentration wird zu dem Antikörper auf der

Platte gegeben. Das Antigen in der Lösung wird sich nun an den Antikörper binden. Anschließend ist überschüssiges Protein durch „waschen“ von der Platte zu entfernen und eine zweite Population eines Enzymgebundenen Indikator-Antikörpers (Konjugat) aufzutragen, der seinerseits das Antigen spezifisch bindet. Es folgt ein weiterer Waschschrift, bei dem überschüssige Antikörper entfernt werden. Nun wird das Farbreagenz (Substrat) hinzugefügt, welches durch das Antikörper-gebundene Enzym in ein gefärbtes Produkt umgewandelt wird. Die Reaktion wird nach einer festgelegten Zeit durch die Stopplösung abgebrochen. Je mehr Antigen in der Test-bzw. Standard-Lösung ist, desto mehr des Enzymgebundenen Antikörpers wird sich binden, und umso stärker wird die Farbreaktion ausfallen. Das Ergebnis der Standard-Lösung wird dazu verwandt, eine Bindungskurve des Antikörpers als Funktion der Antigen-Konzentration zu konstruieren. Mittels dieser Kurve kann die Antigen-Konzentration in der Test-Lösung ermittelt werden.

Ad 2.: Eine Multiwellplatte ist mit einem für das Antigen spezifischen Antikörper beschichtet. Eine bestimmte Menge eines mit einem Enzym kovalent verbundenen Indikator-Antigens (alkalische Phosphatase Konjugat) wird mit dem in der Test-bzw. Standard-Lösung enthaltenen Antigen aufgetragen und konkurriert kompetitiv mit diesem um die Bindungsstellen am Antikörper. Das Antigen in Test- und Standard-Lösung inhibiert die Bindungsstellen für das Indikator-Antigen, und umgekehrt. Je größer die Menge an Antigen in Test- und Standard-Lösung ist, desto weniger Indikator-Antigen wird gebunden. Es folgt ein Waschschrift, bei dem überschüssiges Protein entfernt wird. Die Farbreaktion wird wie beim „Sandwich“-ELISA durch Hinzufügen von Substrat hervorgerufen und durch die Stopplösung abgebrochen. Das Ergebnis der Standard-Lösung mit bekannter Antigen-Konzentration wird dazu verwandt, eine Inhibitionskurve als

Funktion der Antigen-Konzentration zu konstruieren. Die Konzentration des Antigens in der Test-Lösung kann daraus abgelesen werden (47)

3.9.2 Bestimmungsmethoden: ELISA

Sämtliche Laboruntersuchungen konnten im Labor der Abteilung für Anaesthesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie der Justus Liebig-Universität vorgenommen werden. Folgende Materialien waren für die ELISA-Bestimmung nötig:

- destilliertes Wasser (B.Braun, Melsungen)
- variable Mikroliterpipette 10-100 μL , 100-1000 μL (Eppendorf, Hamburg)
- Multi Channel Pipette 5-50 μL , 50-200 μL (SLT-Labinstruments GmbH, Overath)
- Pipettenspitze 10-100 μL (gelb), 100-1000 μL (blau) (Eppendorf, Hamburg)
- ELISA-Platten Waschgerät (SLT-Labinstruments GmbH, Grödig, Österreich)
- ELISA-Platten Photometer (Behring Marburg)
- Plastikröhrchen {13 ml} (Sarstedt, Nürmbrecht)
- ELISA-Platten Schüttler (SLT-Labinstruments GmbH, Grödig, Österreich)
- Wasserbad (Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Burgwedel)
- Glasröhrchen {13 ml} (Schott, Mainz)
- Abdeckfolien und Protokollzettel (aus dem jeweiligen Test)
- Mono-Mixer (Typ REAX 2000, Heidolph, Kehlheim)

Mit dem ELISA wurden folgende Parameter bestimmt:

- Tumour necrosis factor alpha [$\text{TNF}\alpha$], Normalbereich im Plasma
- < 10pg/ml

- Tumour necrosis factor alpha Rezeptor I [TNF α rI], Normalbereich im Plasma < 2ng/ml
- Tumour necrosis factor alpha Rezeptor II [TNF α rII], Normalbereich im Plasma < 5ng/ml

TNF- α : Zur Bestimmung von TNF- α wurde ein ELISA (TNF- α EASIATM) der Firma Medgenix Diagnostics S.A., Fleurus, Belgien verwandt. Es handelt sich dabei um einen quantitativen "Sandwich"-ELISA. Für die Durchführung der Messung waren folgende im Kit enthaltene Materialien nötig:

- Mikrotiterplatte
- TNF- α -Standards
- Inkubations-Puffer
- Anti-TNF- α -HRP-Konjugat und -Puffer
- Waschpuffer
- Farbreagenz und -Puffer
- Kontrollserum

Durchführung des Tests:

Zur Durchführung des Tests wurden alle benötigten Reagenzien in gebrauchsfertige Form gebracht. Dazu waren die Standard- und Kontroll-Seren mit je 2 ml, der Standard 0 und mit 8 ml destillierten Wassers zu rekonstituieren, Konjugat-Lösung mit Konjugat-Puffer zu versetzen, der Waschpuffer anzurühren, die Konjugatlösung mit Konjugat-Puffer fertigzustellen und 15 min vor Gebrauch 0,2 ml des Farbreagenz in den Substrat-Puffer zu pipettieren.

Nun wurde je 50 μ l des Inkubations-Puffer in jedes Well gegeben, dann je 200 μ L des Standards, Kontroll-Serums und der Proben in Doppelbestimmung hinzugefügt. Die Platte wurde luftdicht verschlossen und für zwei Stunden inkubiert. Es schloß sich ein Waschschrift mit drei Gängen an. Daraufhin gaben

wir 100 µl Standard 0 in jedes Well und pipettierten 50 µl Anti-TNF- α -Konjugat hinzu. Wieder wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend dreimal gewaschen. Danach wurde die Platte mit je 200 µl des Farbreagenz beschickt, für exakt 30 min inkubiert und die Reaktion mit 50 µl Stopplösung abgestoppt. Die Absorption wurde im ELISA-Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 630 nm bestimmt, eine Standard-Kurve erstellt und die Konzentrationen berechnet.

Untere Nachweisgrenze für den TNF- α ELISA: 3 pg/ml. [Normwerte für TNF- α : 0 - 20 pg/ml]*

*Normwerte aus der Testanleitung Medgenix: TNF- α -ELISA

TNF- α rI: Zur Bestimmung von TNF- α rI wurde ein ELISA (sTNF-RI EASIA kit) der Firma BioSource Europe S.A., Nivelles, Belgien verwandt. Es handelt sich dabei um einen kompetitiven "Sandwich"-ELISA. Für die Durchführung der Messung waren folgende im Kit enthaltene Materialien nötig:

- Mikrotiterplatte
- sTNF-RI-Standards
- Inkubations-Puffer
- Anti-sTNF-RI-HRP-Konjugat und -Puffer
- Waschpuffer
- Farbreagenz
- Kontrollserum
- Stopplösung

Durchführung des Tests:

Zur Durchführung des Tests wurden alle benötigten Reagenzien in gebrauchsfertige Form gebracht. Dazu waren die Standard- und Kontroll-Seren mit je 0,5 ml der Standard 0 und mit 8 ml destillierten Wassers zu rekonstituieren, 2 ml des Waschpuffers mit 400 ml destilierten Wassers zu versetzen und 15 min vor Gebrauch 0,2 ml des Farbreagenz in den Substrat-Puffer zu pipettieren.

Nun wurde je 200 µl des Inkubations-Puffer in jedes Well gegeben, dann je 50 µL des Standards, Kontroll-Serums und der Proben in Doppelbestimmung hinzugefügt. Die Platte wurde luftdicht verschloßen und für eine Stunde inkubiert. Es schloß sich ein Waschschrift mit drei Gängen an. Danach wurde die Platte mit je 50 µl des Farbreagenz beschickt, für exakt 15 min inkubiert und die Reaktion mit 200 µl Stopplösung abgestoppt. Die Absorption wurde im ELISA-Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 630 nm bestimmt, eine Standard-Kurve erstellt und die Konzentrationen berechnet.

Untere Nachweisgrenze für den TNF-RI ELISA: 0,3 ng/ml. [Normwerte für sTNF-RI: 0 - 2ng/ml] *

*Normwerte aus der Testanleitung BioSource: sTNF-RI-ELISA

TNF-α rII: Die analytische Meßmethodik für TNF- α rII erfolgte nach demselben Prinzip wie bereits für TNF- α rI beschrieben.

3.9.3 Die Genotypisierung der Patienten mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR), aus genomischer DNA

10ml EDTA-Vollblut wird mit 40ml kalter Waschlösung in einem Falconröhrchen gemischt, bei 4°C 10 Minuten mit 1500rpm zentrifugiert und der wässrige Überstand abgesaugt. Zum erythrozytenreichen Pellet werden 25ml Kernextraktionspuffer gegeben, dreimal für je 5-10 Sekunden gevortext, mit Kernextraktionspuffer bis auf 50ml aufgefüllt, bei 4°C 10 Minuten mit 1500rpm zentrifugiert und der wässrige Überstand verworfen. Das Pellet wird mit 1ml DNA-Extraktionspuffer, 100µl 20% SDS-Lösung resuspendiert, mit einer Spatelspitze Proteinase K versetzt und über Nacht im Wasserbad bei 50°C temperiert belassen.

In ein 50ml Falcongefäß werden zu 1ml der obigen DNA-Lösung 15ml Phenol hinzugefügt, 20-30 Minuten vorsichtig gemischt, bei Raumtemperatur [RT] mit 3000 rpm zentrifugiert und 1ml der wässrigen Lösung in ein mit 0,5ml Phenol gefülltes Eppendorfreaktionsgefäß übertragen. Der Inhalt wird für 20 – 30 Minuten vorsichtig bei RT gemischt, für 10 Minuten bei RT mit 2500 rpm zentrifugiert, 0,5ml der wässrigen DNA-haltigen Phase in ein mit 0,75ml Phenol-Chloroform-Gemisch gefülltes Eppendorfreaktionsgefäß überführt und das Gemisch 20-30 Minuten durch vorsichtiges Schwenken gemischt. Der Ansatz wird anschließend bei RT für 10 Minuten bei 13000rpm zentrifugiert, und mit 0,5ml des wässrigen DNA-haltigen Überstandes wird der Vorgang der Phenol-Chloroform-Extraktion so oft wiederholt, bis die Interphase zwischen wässriger und organischer Phase klar erscheint. 0,5ml des wässrigen DNA-haltigen

Überstandes werden in ein neues, mit 1ml "Zeitsparalkohol" [Lösung aus absolutem Alkohol und 1/20 Volumenteil Natrium-Acetat-Lösung (3 mol, pH 5,2)], gefülltes Eppendorfreaktionsgefäß pipettiert. Die Lösung wird vorsichtig etwa 5-10 Minuten geschwenkt, bis die DNA ausgefällt und keine Schlieren mehr in der Lösung zu erkennen sind. Die Lösung wird dann für 30 Minuten bei -30°C gekühlt und nochmals bei RT für 15 Minuten mit 13000 rpm zentrifugiert. Der alkoholische Überstand wird verworfen und das Pellet zweimal mit 70% Alkohol gewaschen. Die gefällte DNA wird nochmals 10 Minuten bei 13000 rpm und RT zentrifugiert und das Eppendorfreaktionsgefäß samt Inhalt für ca. 5 Minuten auf einer Reinraumbank getrocknet. Das getrocknete Pellet wird mit 500 μl Tris-Puffer-Lösung, die als RNA spaltendes Enzym für eventuell eingeschleppte RNA 1 μl RNase A enthält, resuspendiert und über Nacht bei 50°C im Wasserbad inkubiert. Die fertige Lösung wird bis zur weiteren Verwendung bei $5-8^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank portioniert gelagert.

3.9.4 Allgemeines Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion

Die von Kary B. Mullis und Saiki et al. 1988 entwickelte PCR dient der Vervielfältigung [Amplifikation] einer definierten DNA-Sequenz in vitro (145;170).

Die PCR ist ein enzymatisches Verfahren zur Vervielfältigung [Amplifikation] von Nukleinsäuresequenzen. Die dafür verwendeten Enzyme sind DNA-Polymerasen. Grundsätzlich benötigen diese für die DNA-Synthese eine einzelsträngige Ausgangsnucleinsäure [Matrixstrang], von der eine Kopie – ein gegenläufiger, komplementärer Strang – angefertigt wird. Zweitens muß eine Startsequenz [Primer, einzelsträngige Oligonukleotide mit 17-30 Nukleotiden] in

Form eines zum Matrixstrang komplementären Oligonukleotids mit einem freien 3'-Hydroxylrest vorhanden sein. Diese Primer können komplementär an die DNA, die als Zielsequenz amplifiziert werden soll, binden. Die Ziel-DNA [Template] kann unterschiedlicher Herkunft sein und in Form genomischer DNA [cDNA] oder klonierter DNA als Template eingesetzt werden. Als drittes werden Desoxyribonukleotidtriphosphate [dATP, dGTP, dCTP, dTTP] in ausreichender Konzentration benötigt.

Eine thermostabile DNA-Polymerase führt den Schritt der DNA-Synthese durch. Sie verlängert die Primer in 3'-Richtung komplementär zum DNA-Template.

Zuerst entstehen an beiden Enden der Zielnukleinsäuresequenz kurze Hybriddoppelstränge zwischen Ziel-DNA und Primer [Annealing]. An diesen Startsequenzen beginnt die zugegebene DNA-Polymerase mit der Transkription – Extension – eines zum jeweiligen DNA-Strang komplementären neuen Stranges und kann über den ganzen Nukleinsäureabschnitt hinaus fortfahren. Nach der dafür veranschlagten Reaktionszeit bricht man die DNA-Synthese ab und denaturiert erneut die DNA. Die neuen Stränge aus dem ersten Zyklus sind an ihrem 5'-Ende durch die Primer eindeutig begrenzt, während das 3'-Ende eine variable Länge aufweist. Ab dem zweiten Zyklus entstehen an diesen DNA-Abschnitten erstmals Amplifikate, die in ihrer Länge exakt durch die beiden Primer definiert sind. Bei jeder Abfolge von Denaturierung, Annealing und Extension wird der durch die Primer definierte Nukleinsäureabschnitt verdoppelt. Da die entstandenen Produkte wiederum Substrate des nächsten Zyklus sind, kommt es zu einer theoretisch exponentiellen Mengenzunahme der Zielsequenz. Dabei nimmt die Menge der beidseitig genau begrenzten Produkte, die ab dem zweiten Zyklus erscheinen, annähernd exponentiell zu, während die einseitig und damit weniger genau begrenzten Produkte nur linear mit der Anzahl der Zyklen

anwachsen. Die DNA-Polymerasen, deren Temperaturoptimum in den meisten Fällen zwischen 68-75°C liegt, entdeckte man in thermophilen Bakterien, die vorzugsweise in heißen Quellen leben. Die Standard-DNA-Polymerase, die auch heute noch am häufigsten für die PCR verwendet wird, ist die Taq-Polymerase aus *Thermophilus aquaticus* [Temperaturoptimum: 72°C].

Für einen PCR-Ansatz benötigt man neben einem Template, den Primern und der DNA-Polymerase auch einen auf das Enzym abgestimmten Puffer sowie einen Nukleotidmix, der die vier verschiedenen Desoxynukleotidtriphosphate [dATP, dCTP, dGTP, dTTP] enthält. Diese einzelnen Komponenten werden nun in den für die Reaktion optimalen Konzentrationen in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß vereinigt. Die Reaktion startet man in einem "Thermocycler", der eine zyklische Abfolge der einzelnen Reaktionsschritte erlaubt. Durch die Zugabe weiterer Chemikalien wie DMSO, MgCl₂, Betain oder Triton X-100 kann eine Erhöhung der PCR-Produktmenge erreicht sowie die Synthese unspezifischer Amplifikate verhindert werden.

Der Reaktionszyklus, der ca. 25-35 mal wiederholt wird, startet im allgemeinen mit einem Denaturierungsschritt. Hierbei wird die Template-DNA bei 92° bis 94°C für eine bestimmte Zeit [30-60 sec] erhitzt. Dieser Schritt dient der Auftrennung des DNA-Doppelstrangs in die komplementären Einzelstränge, die nun als Matrize für das Amplifikat eingesetzt werden. Der folgende zweite Schritt ist durch eine vorübergehende Abkühlung der Reaktion charakterisiert. Hierbei binden die Primer in Minutenbruchteilen bei Temperaturen von 37° bis 72°C an die antiparallelen 5'-Enden des Amplifikates ["Primerannealing"]. Die Temperatur sollte unterhalb der Schmelztemperatur der Primer liegen, aber hoch genug sein, daß die Primer an ihre spezifische Zielsequenz binden, denn mit der Temperatur

kann die Spezifität der Reaktion gesteuert werden. Durch die Wahl einer zu niedrigen Temperatur ist eine Hybridisierung an eine nicht perfekt passende, aber genetisch verwandte Matrix-DNS möglich. Die Primerbindungsstellen werden möglichst so ausgewählt, daß sie einen Guanin-Cytosin-Gehalt von etwa 50% bis 60% aufweisen. Dies gewährleistet, daß man die Temperatur für das Annealing, also die Stringenz für die Hybridisierung der Primer an den Matrixstrang, relativ hoch wählen kann, was wiederum die Spezifität der Amplifikation gewährleistet. Zu beachten ist auch, daß Primer weder zu sich selbst noch innerhalb eines Primerpaares längere, komplementäre Basenabfolgen tragen. Existieren längere, komplementäre Basenabfolgen in einem Primerpaar, so entstehen gehäuft Primer-Dimere und der Amplifikationsfaktor sinkt. Der nächste Schritt dient der eigentlichen DNA-Synthese. Die sogenannte Extensionstemperatur sollte dem Temperaturoptimum der DNA-Polymerase entsprechen. Die Extensionszeit muß der Größe der Ziel-Sequenz angepaßt werden [1 min pro Kilobase (kb)]. Nach Vervollständigung der Stränge beginnt der Zyklus von neuem.

Diesem PCR-Grundschemata wird häufig noch ein finaler Verlängerungsschritt [1 x 5-10 min] angehängt. Auch kann die Reaktion mit einem einmaligem Denaturierungsschritt gestartet werden [1 x 2-3 min]. Aufgrund der Abnahme der Aktivität der DNA-Polymerase mit zunehmender Reaktionsdauer kann trotz theoretischer Verdopplung der DNA pro Zyklus praktisch kein exponentieller Anstieg der DNA-Menge erreicht werden. Eine 10⁶-10⁷ fache Anreicherung stellt im allgemeinen die durchschnittliche Vermehrungsrate dar.

Falls nach einer PCR mit 30 bis 40 Zyklen noch nicht genügend DNA vorliegt, kann eine zweite PCR, aufbauend auf dem Produkt der ersten, angeschlossen werden. Dabei hat es sich bewährt, neue Primerbindungsstellen für "nested"

Primer etwas innerhalb der Enden des initial amplifizierten DNA-Abschnittes zu wählen. Da hier zusätzlich auch die inneren „nested“ Primer spezifisch an die DNS-Matrix hybridisieren müssen, um ein Produkt der erwarteten Länge zu ergeben, wird bei einem solchen Vorgehen nicht nur die Sensitivität erhöht, sondern auch gleichzeitig die Spezifität der Verfahrens verbessert (117).

3.9.5 Theoretische Aspekte der PCR

Die letztlich zum Nachweis zur Verfügung stehende Menge der DNA-Zielsequenz einer PCR [DNA]PCR entspricht der Summe aus der eingesetzten [DNA]Orig und der in jedem Zyklus generierten DNA-Menge [Gleichung 1]. Da bei jedem Zyklus die Gesamtmenge der Ziel-DNA verdoppelt wird [Gleichung 2], folgt daraus für eine PCR mit n Zyklen ein 2^n -facher Mengenanstieg [Gleichung 3]. Dabei verschieben sich die Anteile von einseitig begrenzten DNA-Amplifikaten [DNA]lang zu beidseitig begrenzten Amplifikaten [DNA]kurz mit wachsenden n. Erstere nehmen nur linear zu, letztere beinahe exponentiell [Gleichung 4]. Diese Stücke sind für den Nachweis ausschlaggebend. Gleichung 5 zeigt den Einfluß der Basenzusammensetzung auf die Annealing-Temperatur [TANN] für Primer von etwa 20 Basen Länge.

- $[DNS]_{PCR} = \Sigma [DNS]_{Orig} + [DNS]_1 + [DNS]_2 + \dots + [DNS]_n$
- $[DNS]_{i+1} = [DNS]_i \cdot 2$
- $[DNS]_{PCR} = [DNS]_{Orig} \cdot 2^n$
- $[DNS]_{PCR} = [DNS]_{Orig} + [DNS]_{lang} \cdot n + [DNS]_{kurz} [2^n - n - 1]$
- $T_{ANN}[^{\circ}C] = 4[G + C] + 2[A + T] - 5$

Der Nachweis der Amplifikate kann einerseits über eine anschließende Hybridisierung der Produkte mit einer spezifischen DNA-Sonde erfolgen.

Andererseits erfolgt der Nachweis direkt im Agarosegel nach Ethidiumbromidanfärbung der DNA-Amplifikate und Vergleich mit DNA-Längenstandards.

3.9.6 Gelelektrophoretische Auftrennung von Nukleinsäuren

Die Methode der Gelelektrophorese ermöglicht die Trennung unterschiedlich großer, geladener Moleküle im elektrischen Feld. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, DNA-Fragmente definierter Größe in einer heterogenen DNA-Lösung ausfindig zu machen. Man bedient sich dabei der Eigenschaft der DNA, in wässriger Lösung ein negativ geladenes Phosphodiestergerüst zu besitzen. Gelöste DNA-Moleküle unterschiedlicher Größe können daher im elektrischen Feld, dem Logarithmus ihrer Länge entsprechend, aufgetrennt werden. Als elektrisch neutrale Trägermatrix für die DNA dienen, je nach Größe der aufzutrennenden Fragmente, entweder Agarosegele [100-30000 bp im kontinuierlichen elektrischen Feld] oder in speziellen Fällen Polyacrylamidgele [sehr kleine Fragmente, DNA-Sequenzierung] unterschiedlicher Konzentration. Zur Größenbestimmung der aufgetrennten DNA-Fragmente wird zusätzlich ein Längenstandard mit DNA-Fragmenten bekannter Größe auf die Trägermatrix aufgetragen. Zu den Parametern, die eine Laufgeschwindigkeit der DNA beeinflussen, gehören die Molekülgröße, die Gelkonzentration, die Zusammensetzung des Laufpuffers, die DNA-Konformation [supercoiled, ringförmig, linear] und die Höhe der angelegten Spannung.

3.9.7 Gelelektrophoretische Auftrennung mittels Agarosegelen

Die Agarosegelelektrophorese erlaubt die Auftrennung der DNA-Moleküle unterschiedlicher Größe durch Anlegen eines elektrischen Feldes an einer eigens dafür vorgesehenen Elektrophoresekammer. Die Agarose wird in einer Konzentration von 0,5-2 % eingesetzt. Der prozentuale Anteil der Agarose bestimmt die Porengröße der Gelmatrix. Hochprozentige Gele dienen der Auftrennung besonders kleiner Fragmente. Auch bei Fragmenten unter 300 bp wurde im Rahmen dieser Arbeit Agarosegele verwendet. Die Agarose wird abgewogen und in 1 x TAE durch kurzes Aufkochen gelöst. Danach wird die flüssige Agarose in eine Flachbett-Gelapparatur gegossen. Durch Einstecken eines PVC-Kammes in die Agaroselösung erhält man kleine, gleichmäßig angeordnete Aussparungen, die Geltaschen. Die DNA-Proben werden vor dem Auftragen mit blauem Probenpuffer versetzt. Die blaue Farbe ergibt sich durch die Zugabe von Bromphenolblau und Xylencyanol zu 10 x TAE. Dadurch kann man einerseits den Verlauf der Gelelektrophorese überwachen, andererseits wird verhindert, daß die aufgetragenen Proben aus den Taschen herausdiffundieren.

Um die aufgetrennten DNA-Fragmente sichtbar zu machen, gibt man Ethidiumbromid in die flüssige Agaroselösung. Die Ethidiumbromidmoleküle interkalieren in die DNA-Doppelhelix und fluoreszieren bei Bestrahlung mit UV-Licht [254 und 300 nm] im sichtbaren Bereich [500-590 nm]. Die Intensität des emittierten Lichtes ist proportional zur Menge der in die DNA eingelagerten Ethidiumbromidmoleküle. Die Konzentration einer DNA-Bande kann durch optischen Vergleich mit DNA-Banden definierter Konzentration des DNA-

Längenstandards bestimmt werden. Nach der Beendigung der Elektrophorese wird das Gel zur Dokumentation photographiert.

3.9.8 Nachweis des Zwei-Allel-Polymorphismus im TNF β -Genlocus

Sehr seltene Variationen in der Basensequenz eines Gens in Form einer Punktmutationen sind als genetische Marker nicht sehr geeignet. Gehäuft vorkommender Austausch, Verlust oder zusätzlich eine integrierte Base, als Polymorphismus der Gensequenz bezeichnet, sind dagegen ein interessanter Zielparameter für Untersuchungen des genetischen Einflusses auf eine Vielzahl von Erkrankungen. Polymorphismen einer Gensequenz in Form eines Austausches, Verlustes oder zusätzlicher Integration einer Base können mittels Restriktionsenzymen nachgewiesen werden. Der Austausch, Verlust oder die zusätzliche Integration einer Base an einer bestimmten Stelle der Basenabfolge eines Gens bedeutet, daß Restriktionsenzyme wie NcoI und Hind III, welche spezifisch jeweils nur die Verbindung zwischen zwei bestimmten Basen spalten, die amplifizierte DNA-Sequenz in diesem Abschnitt nicht mehr spalten können. In Abhängigkeit vom Vorhandensein einer Schnittstelle [Polymorphismus] für ein Restriktionsenzym entstehen unterschiedlich große DNA-Fragmente einer amplifizierten Basensequenz, wenn diese amplifizierte DNA-Abschnitt eines Gens mit einem Restriktionsenzym verdaut werden. Über den Größenvergleich der in der Gelelektrophorese erfaßten DNA-Fragmente mit der ursprünglich eingesetzten amplifizierten DNA-Sequenz kann im Umkehrschluß auf die Existenz eines Polymorphismus geschlossen werden. Diese Form von Genpolymorphismen werden "Restriktions Fragment Längen Polymorphismus" [restriction fragment length polymorphisms, (RFLP)] genannt.

In dieser Arbeit wurde das Verfahren der PCR und der Gelelektrophorese zur Analyse von "Restriktions Fragment Längen Polymorphismen" [RFLP] im 1. Intron des TNF- β -Gens genutzt.

Es wurde die genomische DNA von 65 polytraumatisierten Patienten im Vergleich zur genomischen DNA von 32 freiwilligen Probanden als Normkollektiv untersucht.

Die Reaktion wird entweder in speziellen PCR-Gefäßen oder in Mikrotiterplatten angesetzt. Das Reaktionsvolumen betrug im allgemeinen 20 oder 50 μ l. Die kommerziell bezogenen Taq-Polymerasen wurden den firmeneigenen Anleitungen entsprechend eingesetzt.

Bei Benutzung eines Thermocyclers ohne beheizbaren Deckel wird der Reaktionsansatz mit Mineralöl überschichtet. Dies verhinderte die Verdunstung und gewährleistete den Verbleib im Reaktionsgefäß. Nach Beendigung der PCR werden pro Ansatz 5 μ l (2,0 μ l) 10 x Auftragspuffer zugegeben. Die Längen und Konzentrationen der PCR-Produkte werden mittels Gelelektrophorese überprüft.

3.9.9 Arbeitsprotokoll zur Bestimmung der TNF β -Genotypen mittels

PCR

Am Aufnahmetag wurden 10ml Vollblut von jedem polytraumatisierten Patienten in eine EDTA Monovette überführt und die DNA wie unter Abschnitt 3.9.3 beschrieben aufgearbeitet. Ein 740 Basenpaare [bp] umfassendes Fragment genomischer DNA der ersten Intronregion des TNF β Gens wurde mittels PCR amplifiziert. Die von Messer et al beschriebenen beiden Primer 5'-CCGTGCTTCGTGCTTTGGACTA-3' [TNF β -L] und 5'-AGAGCTGGTGGGGACATGTCTG-3' [TNF β -R] wurden zur Amplifizierung

benutzt (136). Im 20µl Reaktionsgemisch der PCR-Reaktion waren 20 bis 50ng genomischer DNA gelöst. Zuerst wurde die genomische DNA über 5 Minuten bei 94°C denaturiert. Die sich anschließende Amplifikation erfolgte im Modus von 36 Zyklen mit den Temperaturstufen und Zeitintervallen von 94°C [60s], 58°C [30s] und 72°C [60s] unter Standardbedingungen. Die abschließende Extension des Fragmentes erfolgte bei 72°C über 5 Minuten. Im Anschluß an die Amplifikation wurde das PCR-Produkt über Kieselgelsäulen [Fa. QIAGEN, Hilden] aufgereinigt und die Lösung auf einen pH von 8,5 eingestellt. Nach Zugabe von 2 µl Puffer wurde die Restriktionsendonuclease NcoI [1u] hinzugegeben und über Nacht bei 37°C inkubiert. Am nächsten Tag wurde das Produkt des enzymatischen Verdaues mit Hilfe eines 1% Agarosegels elektrophoretisch aufgetrennt. Die Zuordnung der einzelnen Genotypen erfolgte im Vergleich zu einem 100 bp Längenstandard [Fa. Boehringer Mannheim] und dem PCR-Nativprodukt als Kontrolle.

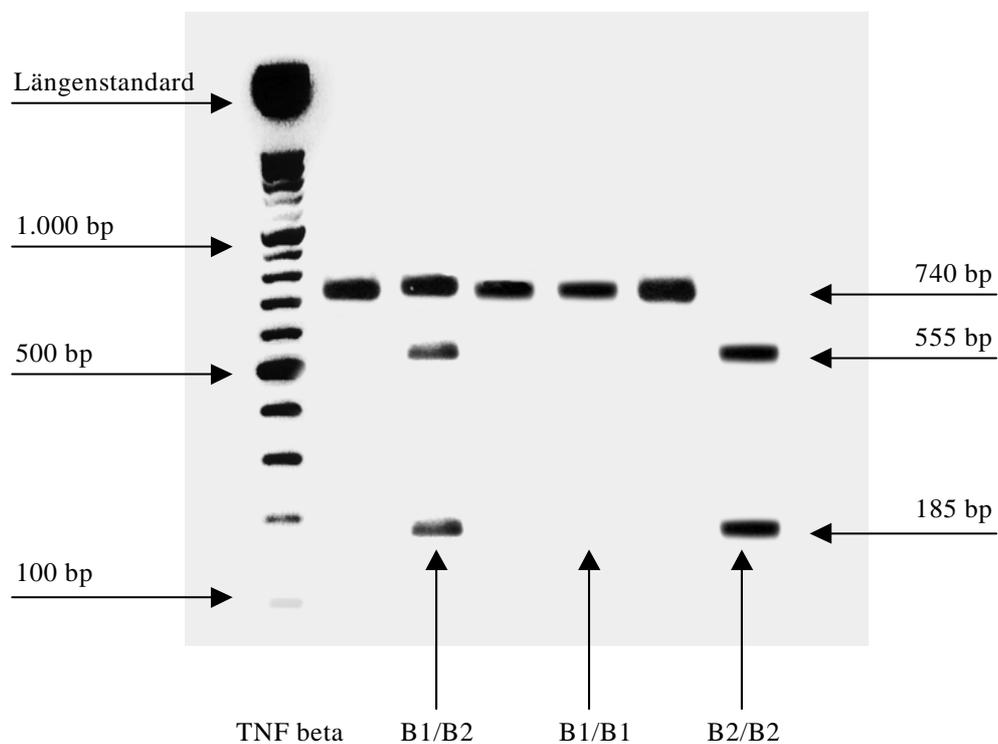


Abbildung 2: TNF beta Gelelektrophorese

3.10 Deskriptive Statistik und Häufigkeitsverteilung

Die statistische Bewertung berücksichtigte 65 Patienten, von denen 3 immunologische Variablen und die Scores APACHE II und III sowie der MOD-Score über einen Zeitraum von maximal 28 Tagen erfaßt wurden. Einmalig wurden die Parameter ISS, PTS sowie die demographischen Merkmale wie Alter, Körpergewicht und Geschlecht bewertet.

Für weitere Bewertungsverfahren wurden die Variablen entsprechend dem von Lilliefors modifizierten Kolmogorov-Smirnov-Test mit einem Signifikanzniveau von $p=0,05$ auf Normalverteilung untersucht. Die nicht normalverteilten Variablen wurden einer logarithmischen Transformation unterzogen. Zur Analyse nicht metrisch skaliertter Variablen wurde der Chi $[\chi^2]$ -Quadrat-Test nach PEARSON [exakt nach Fischer] eingesetzt (114). Als Hypothese wertet der Chi

[N²]-Quadrat-Test die Annahme einer mengenmäßig gleichen Verteilung der Variablen in Relation zum davon unabhängigen Faktor [Genotyp des Patienten]. Im Falle einer Bestätigung [gleiche Verteilung, keine signifikante Differenz] der Hypothese wurde die Genotypfrequenz mit dem “Linear by Linear Association Test“ bewertet. Dieses differenziertere Verfahren testet in ordinalen Skalen die prozentuale Aufteilung des unabhängigen einzelnen Faktors [Genotyps] in Relation zur jeweils betrachteten Variablen [Prognose, Sepsis, Multiorganversagen]. Der “Linear by Linear Association Test“ gewichtet dabei weniger die Unabhängigkeit als die prozentuale Verteilung, d. h. an- oder absteigende Prozentzahlen in einer einzelnen Spalte, des Einzelfaktors [Genotyps] gegenüber der betrachteten Variablen [Prognose, Sepsis, Multiorganversagen]. Dieser Test ermöglicht somit eine präzisere Aussage zur Assoziation des einzelnen Genotyps gegenüber der Prognose [Outcome], der Sepsis und dem Multiorganversagen, mithin der Verteilung des einzelnen Patienten auf die Genotypgruppierungen (98).

Die statistische Bewertung der prospektiven Studie diente der Klärung folgender Fragen:

- Zeigen sich Unterschiede für die Daten der Genotypisierung, der morphometrischen Daten, der Sepsis, der Organfunktionsstörungen bis hin zum Multiorganversagen und der Prognose der Patienten (Outcome), wenn man die Patienten für den TNF β -Genpolymorphismus, jeweils getrennt, entsprechend ihrer drei Genotypen TNF β (TNF β 1/TNF β 1, homozygot; TNF β 1/TNF β 2, heterozygot; TNF β 2/TNF β 2, homozygot), in drei Gruppen unterteilt?

- Unterscheiden sich die Daten der immunologischen Parameter im zeitlichen Durchschnitt zwischen den analog der Genotypisierung erstellten drei Patientengruppen?
- Unterscheiden sich die beobachteten Daten zwischen den betrachteten Gruppen im zeitlichen Verlauf?

Der Einfluß der Gruppenzugehörigkeit auf den zeitlichen Durchschnitt der untersuchten Parameter wurde mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse überprüft. Waren in der ersten Fragestellung keine signifikanten Unterschiede zu finden, wurde auf eine Einzelbetrachtung zu den jeweiligen Meßzeitpunkten verzichtet. Zur Bewertung der Entwicklung der zu analysierenden Parameter im zeitlichen Verlauf wurde ein univariates Meßwiederholungsdesign verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten- und Gruppencharakteristika

Die Gruppeneinteilung erfolgte entsprechend dem Genpolymorphismus im ersten Intron des TNF β -Gens. 6 Patienten wurden TNF β 1//TNF β 1 homozygot, 35 Patienten TNF β 1//TNF β 2 heterozygot und 24 Patienten TNF β 2//TNF β 2 homozygot genotypisiert. Die Gruppeneinteilung der 65 Patienten erfolgte entsprechend dieser Genotypisierung, so daß sich zur Gruppe 1 sechs Patienten, zur Gruppe 2 fünfunddreißig Patienten und zur Gruppe 3 vierundzwanzig Patienten zuordnen ließen.

Gruppierte man die Patienten für jeden Zwei-Allel-Genpolymorphismus in die entsprechenden drei Genotypgruppen, so ließen sich für die morphometrischen Daten, die Scores und weitere präklinische Daten keine wesentlichen Unterschiede feststellen. Die Menge homologer Blutkomponenten und die Gesamtmenge kristalloider und kolloidaler Infusionen waren in den ersten 24 Stunden jeweils nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle 6: Morphometrische Daten der Patientengruppen bei TNF β -Genotypisierung.

	Gruppe 1 n = 6 TNF B1/B1	Gruppe 2 n = 35 TNF B1/B2	Gruppe 3 n = 24 TNF B2/B2
Alter [Jahre]	33 \pm 6,61	40,3 \pm 13,3	37,1 \pm 12,6
Gewicht [kg]	76,6 \pm 13,5	78,6 \pm 12	77,3 \pm 9,6
Größe [cm]	174,1 \pm 8,2	169,3 \pm 9,7	170,1 \pm 8,9
Rettungszeit [Minuten]	50 \pm 12,1	49 \pm 13,4	53 \pm 11,7
Therapiefreies Intervall [Stunden]	3,2 \pm 1	3,5 \pm 0,8	3,9 \pm 1,1
Präklinische Volumentherapie [ml]	1550 \pm 350	1680 \pm 420	1480 \pm 460
Scores zum Aufnahmezeitpunkt			
ISS [Injury severity score]	34,1 \pm 8,7	32,3 \pm 13,3	36 \pm 16,8
PTS [Polytraumaschlüssel]	37 \pm 9,7	37,5 \pm 13,9	40,6 \pm 19,9
Scores zu Sepsisbeginn			
APACHE III	72,1 \pm 15,6	69,1 \pm 18,7	75,2 \pm 10,5
MOD	5,3 \pm 3,3	6 \pm 2,7	6,1 \pm 2,7
Blutersatz erste 24 Stunden	4,9 \pm 2,8	4,6 \pm 3,1	4,7 \pm 3
Kristalloide erste 24 Stunden	6,2 \pm 1,9	6,8 \pm 2	6,5 \pm 2,4
Beatmungsdauer [Tage]	11,1 \pm 2,7	14,2 \pm 1,4	13,7 \pm 2,2
Infektionsfokus [Häufigkeit, %]			
Lunge	2 [33,3]	4 [11,4]	9 [37,5]
Abdomen / Becken	-	1 [2,9]	2 [8,3]
Haut / Wunden	1 [16,7]	2 [5,7]	4 [16,7]
Katheter	-	1 [2,9]	1 [4,2]
Sonstiges	-	-	1 [4,2]

Die Ordnung der Patienten in Abhängigkeit vom untersuchten Zwei-Allel-Genpolymorphismus ergab sowohl für ISS und PTS zum Aufnahmezeitpunkt als auch für den APACHE III und MOD-Score zu Sepsisbeginn keine signifikanten Unterschiede.

4.2 Unfallmechanismus

In allen Gruppen waren Autounfälle am häufigsten, vor Unfällen als Motorrad-, Fahrradfahrer oder Fußgänger (Abbildung 3).

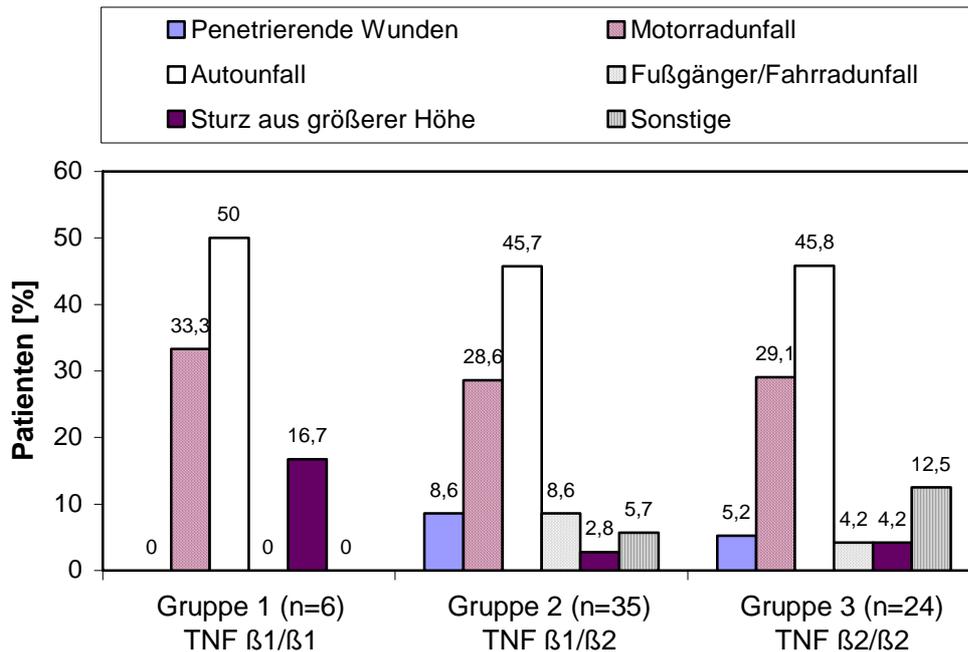


Abbildung 3: Verteilung der Unfallmechanismen.

4.3 Verletzungsmuster

Bei der Untersuchung des "Verletzungsmusters" wurden sämtliche Einzeldiagnosen zum Zeitpunkt der Aufnahme eines Patienten einer von 6 Gruppen (Extremitäten-, Schädel-, Abdomen-, Thorax-, Becken-/Wirbelsäulen- und Weichteilverletzungen) zugeordnet. Zu den Schädelverletzungen zählten Mittelgesichtsfrakturen (Le Fort I-III), Gesichtsschädelfrakturen (z.B. Jochbein-, Orbita-, Mandibulafrakturen) und SHT I°. Unter den Weichteilverletzungen wurden u.a. ausgeprägte Decollements, II°-III° offene Frakturen und Subamputationen gezählt. Den Thoraxverletzungen wurden neben Rippenserienfrakturen, Pneumo- und Hämato-pneumothorax, auch röntgenologisch und bronchoskopisch gesicherte Lungenkontusionen zugeordnet. Unter den Abdominalverletzungen waren Milz- und Leberrupturen,

Nieren- und Pankreasverletzungen sowie penetrierende Intestinalverletzungen. Becken- und Wirbelsäulenverletzungen bestanden aus Beckenschaufel- und Beckenringfrakturen mit oder ohne Beteiligung der Organe des kleinen Beckens und aus HWS-, BWS- und LWS-Frakturen. Zu den Extremitäten wurden sämtliche den Bewegungsapparat betreffende Frakturen gezählt. Mehrfache Verletzungen in einer der Untergruppen, z. B. mehrfache Knochenfrakturen, wurden lediglich einmal berücksichtigt.

Von den 65 polytraumatisierten in die Studie eingeschlossenen Patienten hatte der einzelne im Mittel 6,1 Einzelverletzungen, wobei 83,2% der Verletzten in Verkehrsunfälle verwickelt waren. Abbildung 4 zeigt die Verteilung der Verletzungen innerhalb der Patientengruppen.

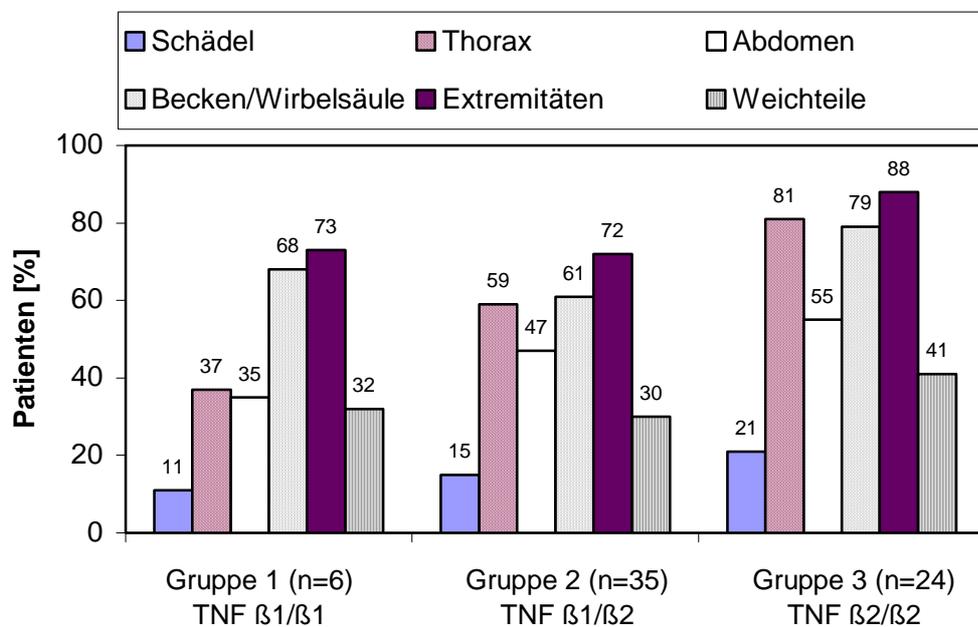


Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der Verletzungen innerhalb der Patientengruppen.

4.4 Operative Versorgung

Bei der Beurteilung der operativen Versorgung interessieren vor allem zwei Gesichtspunkte in Bezug auf das "two-hit"-Modell der MODS-Genese: Der Zeitpunkt der Operation (Operationen während der "vulnerablen" Phase innerhalb der ersten 5 Tage nach dem Trauma können als "second hit" betrachtet werden) und die Art der Operation.

Die durchgeführten Operationen wurden 4 Gruppen (Osteosynthese, Abdominal-OP (Eröffnung der Bauchdecke), Thorax-OP (Eröffnung des Thorax) und Wundrevision (größere Weichteiloperationen) zugeordnet. Da sich viele Patienten mehr als einer Operation im Untersuchungszeitraum unterziehen mußten, wurde jede einzelne Operation gezählt. Das Ergebnis (in Prozent) bezieht sich daher auf die Gesamtzahl der Operationen. Zur Osteosynthese wurden Operationen jeglicher Art gezählt, die zur Stabilisierung einer Fraktur beitrugen (Fixateure externe, Marknagel, Platte, Drahtung, etc.). Abdominale Operationen umfassten die Übernähung von Milz- und Leberrupturen, Nekrosektomien nach traumatischer Pankreasruptur mit anschließender Etappen-Lavage (die Lavagen gingen nicht in die Wertung ein) sowie Nephrektomien und Resektionen eines Darmabschnittes. Unter Thorax-Operationen wurden, wie bereits oben erwähnt, sämtliche OP's, die mit einer Eröffnung des Brustraums einhergingen, gezählt. Unter Wundrevision wurden ausgedehnte Nekrosenabtragungen bei Weichteilverletzungen, Hautdeckungen, Wundöffnungen und Debridements zusammengefaßt.

Bei einer Gesamtzahl von 370 Operationen wurden pro Patient durchschnittlich $5,7 \pm 1,4$ Operationen durchgeführt.

49,4% aller Operationen wurden am Tag des Traumas durchgeführt, der Rest verteilte sich auf die folgenden Tage: Zweiter Tag: 15,7%; dritter Tag: 5,3%; vierter Tag: 11,8%; fünfter Tag: 2,7%; sechster Tag: 6,5%; siebter Tag: 8,6%.

Somit wurden bei etwa 35% der Patienten Operationen zwischen dem zweiten und dem fünften Tag nach dem Trauma, d. h. in der vulnerablen Phase, durchgeführt. Abbildung 5 zeigt die prozentuale Verteilung der Operationen innerhalb des Meßzeitraumes.

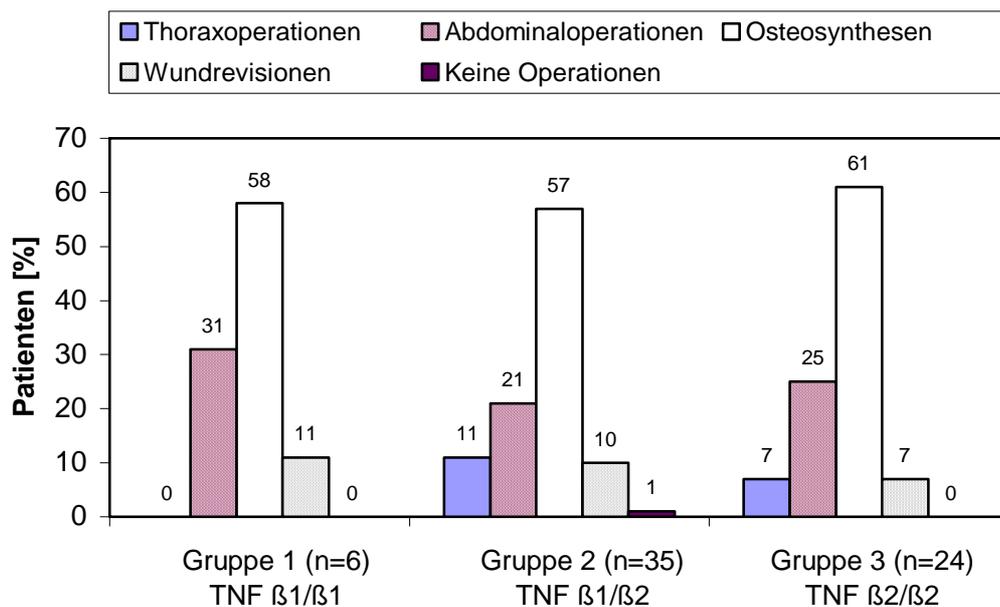


Abbildung 5: Prozentuale Verteilung der Operationen innerhalb des Meßzeitraumes, gemessen an der Gesamtzahl der Operationen innerhalb der einzelnen Gruppen.

4.5 Mikrobiologische Befunde und Infektionen

Bei allen Patienten wurden mikrobiologische Analysen vorgenommen: Abstriche wurden aus dem tracheo-bronchialen Sekret, Magensaft und urethral gefertigt; Katheterspitzen routinemäßig auf Keime untersucht. Blutkulturen bei allen polytraumatisierten Patienten mit Sepsis zum Zeitpunkt der Diagnose Sepsis, mehrmals kontrolliert.

An 529 Untersuchungstagen wurden 1307 mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt, pro Patient durchschnittlich 20,1 Abstriche. Mehr als die Hälfte war positiv [825 = 63,1%].

4.5.1 Keimspektrum der Patienten

Bakterielle Infektionen gingen am häufigsten vom Respirationstrakt aus. Die Häufigkeit, die Lokalisation einer Infektion und die Art der Keimbesiedlung war für die Patienten nicht signifikant unterschiedlich. Eine gemischte oder rein gramnegative Sepsis war für 19 Patienten [29,2%] nachweisbar, wohingegen grampositive Erreger bei 6 Patienten [9,3%] Ursache der Sepsis waren. Eine systemische *Candida albicans* Infektion lag bei zwei Patienten [3,1%] der Sepsis zugrunde. Bei einem Patienten [1,5%] konnte eine atypische Pneumonie mit Mykoplasmen nachgewiesen werden (Tabelle 7). Auch zwischen den TNF β genotypisierten Gruppen konnten keinen signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Keimspektrums festgestellt werden.

Tabelle 7: Keimspektrum der Patienten bei TNF β -Genotypisierung.

Infektionserreger	Gruppe 1 n = 6 TNF B1/B1	Gruppe 2 n = 35 TNF B1/B2	Gruppe 3 n = 24 TNF B2/B2
Grampositiv			
Staphylokokkus aureus	-	-	1
Pneumokokken	-	1	1
Koagulase negative Staphylokokken [CNS]	-	-	-
Enterokokken	-	1	2
Gramnegativ			
Escherichia coli	1	1	2
Pseudomonas aeruginosae	1	2	3
Klebsiellen	-	1	1
Serratia ssp.	1	-	2
Enterobacter	-	1	1
Bacteroides	-	1	1
Candida ssp	-	-	2
Mycoplasmen	-	-	1
Sonstiges	-	-	-

4.6 Organfunktionsstörungen

Organfunktionsstörungen waren zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses wie auch im weiteren Verlauf der Studie in Anzahl und Verteilung für alle 65 polytraumatisierten Patienten ohne signifikanten Unterschied (Tabelle 8).

Tabelle 8: Häufigkeit von Organdysfunktionen (%) der Patienten bei TNF β -Genotypisierung.

	Gruppe 1 n = 6 TNF B1/B1	Gruppe 2 n = 35 TNF B1/B2	Gruppe 3 n = 24 TNF B2/B2
Herz-Kreislauf (Schock)	78%	68%	59%
Lunge	48%	69%	31%
Niere	51%	45%	38%
Leber	25%	23%	33%
Gastrointestinaltrakt	17%	34%	14%
Gerinnung	8%	18%	17%

4.7 Genotypisierung der polytraumatisierten Patienten

Tabelle 9 zeigt die Verteilung möglicher Folgen des Polytraumas (Überleben, Versterben, Sepsis, MOD) in Abhängigkeit der Allelausprägungen hinsichtlich des TNF β -Genotyps.

Tabelle 9: Folgen des Polytraumas in Abhängigkeit des TNF β -Genotyps

Genotyp	Patienten n = 65	Überlebende n = 44	Verstorben n = 21	Sepsis n = 28	MOD n = 23	Normalkollektiv n = 32
Homozygot TNF B1/B1 [Gruppe 1, Patienten, %]	6 [9,2%]	6	0	3	1	4 [12,2%]
Heterozygot TNF B1/B2 [Gruppe 2, Patienten, %]	35 [53,3%]	29	6	8	7	15 [45,7%]
Homozygot TNF B2/B2 [Gruppe 3, Patienten, %]	24 [37,3%]	9	15	17	15	13 [42,1%]

Die Verteilung des einzelnen Genotyps der Patienten für TNF β [TNF β 1//TNF β 1, 9,2%; TNF β 1//TNF β 2, 53,2%; TNF β 2//TNF β 2, 37,3%] entsprach der des Normalkollektivs von 32 Patienten. Auch die Allelfrequenz der Patienten entsprach mit einer Verteilung des TNF β [TNF β 1 31%, TNF β 2 69%] der Allelfrequenz des Normalkollektivs. Von den insgesamt 65 Patienten entwickelten 28 Patienten [43,1%] eine Sepsis, 23 Patienten [35,4%] schwerwiegende Organfunktionsstörungen bis hin zum Multiorganversagen und 21 Patienten [32,3%] verstarben zwischen dem 13. und 35. Tag nach Studieneinschluß. Nicht überlebende Patienten zeigten für das Allel TNF β 2, im Gegensatz zur Allelfrequenz aller polytraumatisierten Patienten, eine signifikant höhere Prävalenz. Allgemein war für den Zwei-Allel-Polymorphismus im TNF β Genlocus eine auffällige Genotypverteilung in Assoziation zur Entwicklung einer Sepsis, dem Auftreten eines Multiorganversagen und der Prognose des Patienten festzustellen

Die Aufteilung der 28 septischen Patienten auf die drei Genotypgruppen des Genpolymorphismus war signifikant unterschiedlich. Insgesamt 17 septische Patienten konnten TNF β 2//TNF β 2 homozygot typisiert werden. Dem Genotyp TNF β 1//TNF β 2 heterozygot konnten acht septische Patienten zugeordnet werden. Drei septische Patienten waren TNF β 1//TNF β 1 homozygot.

Ordnete man die Patienten nach Allelausprägung einer der drei Genotypgruppen zu, so ließ sich für den TNF β -Polymorphismus folgende Genotypfrequenz erfassen. Ein Multiorganversagen entwickelten 15 der 24 TNF β 2 homozygoten Patienten. 71,1% der TNF β 2 homozygoten Patienten entwickelten eine Sepsis. Fünfzehn von 24 Patienten homozygot für TNF β 2 verstarben. 85,7%

TNFβ1//TNFβ2 heterozygote Patienten sowie alle TNFβ1 homozygote Patienten überlebten.

Bewertete man die auffällige Allelverteilung der polytraumatisierten Patienten unter Berücksichtigung der Faktoren Prognose [Outcome], Sepsis und Multiorganversagen (Tabelle 10, Tabelle 11 und Tabelle 12) mit dem Chi [Σ²]-Quadrat-Test [exakt nach Fischer], so konnte für die Verteilung der drei Genotypen TNFβ1//TNFβ1, TNFβ1//TNFβ2 und TNFβ2//TNFβ2 ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. TNFβ2 homozygot typisierte Patienten entwickelten posttraumatisch signifikant häufiger eine Sepsis [p=0,00001] und ein Multiorganversagen [p=0,00002]. Auch die Prognose der TNFβ2 homozygoten Patient war im Vergleich zu TNFβ1//TNFβ2 heterozygoten und TNFβ1 homozygoten Patienten mit p=0,00329 signifikant schlechter.

Tabelle 10: Patienten verstorben/überlebt [Prozentwerte sind Prozentwerte der Spalten]

Outcome	TNF B1/B1	TNF B1/B2	TNF B2/B2	Summe
Überlebt	6[100%]	29[82,9%]	9[37,5%]	44[67,7%]
Gestorben	0[0%]	6[17,1%]	15[62,5%]	21[32,3%]
Summe	6	35	24	65

Chi-Quadratkoeffizient: Chi²=10,729 mit p=0,00329

Tabelle 11: Sepsis [Prozentwerte sind Prozentwerte der Spalten]

Sepsis	TNF B1/B1	TNF B1/B2	TNF B2/B2	Summe
Septisch	3[50%]	8[22,9%]	17[70,8%]	28[43,1%]
Nicht-septisch	3[50%]	27[77,1%]	7[29,2%]	37[56,9%]
Summe	6	35	24	65

Chi-Quadratkoeffizient: $\chi^2=22,613$ mit $p=0,00001$

Tabelle 12: MOD [Prozentwerte sind Prozentwerte der Spalten]

MOD	TNF B1/B1	TNF B1/B2	TNF B2/B2	Summe
MOD $\geq 10^*$	1[16,7%]	7[20%]	15[62,5%]	23[35,4%]
MOD $< 10^{**}$	5[83,3%]	28[80%]	9[37,5%]	42[64,6%]
Summe	6	35	24	65

Chi-Quadratkoeffizient: $\chi^2=19,494$ mit $p=0,00002$

* MOD-Wert bei wenigstens einem der 15 Zeitpunkte größer oder gleich zehn

** MOD-Wert bei allen Zeitpunkten kleiner als zehn.

4.8 Mediatorenverlauf der genotypisierten Patienten

Die Daten des TNF α -Plasmaspiegels sowie die Werte weiterer Mediatoren wurden, geordnet nach der Allelausprägung des TNF β -Gens eines Patienten, in je eine von drei Genotypgruppen zusammengefaßt. Da die Daten der Mediatoren nicht normalverteilt waren, wurden sie einer logarithmischen Transformation unterzogen.

Die höchsten TNF α -Plasmaspiegel ließen sich für die TNF β 2 homozygoten Patienten [Gruppe 3] erfassen, die überwiegend auch das schwerste posttraumatische Krankheitsbild entwickelten [p=0,001] (Abbildung 6).

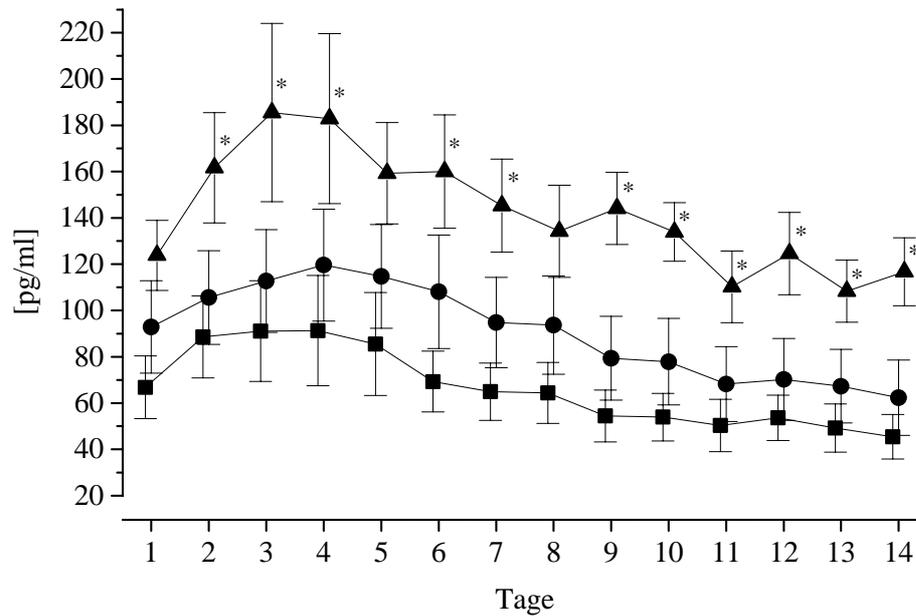


Abbildung 6: Plasmaspiegel TNF α .

Die Abbildung zeigt Patienten der Gruppe 3 [▲, Homozygot TNF β 2/TNF β 2, n=24] im Vergleich zu Patienten der Gruppe 2 [●, TNF β 1/TNF β 2, n=35] und Patienten der Gruppe 1 [■, TNF β 1/TNF β 1, n=6].

Auch für die Plasmaspiegel des zirkulierenden löslichen TNF α -Rezeptors sTNF α rI [p55] konnte eine signifikante Differenz der Größenordnung beobachtet werden [p=0,002], was auf die signifikant unterschiedlichen TNF α Plasmaspiegel zurückgeführt werden kann (Abbildung 7). Die Größenordnung des löslichen TNF α -Rezeptors weist auf die massive Freisetzung des TNF α insbesondere bei

TNF β 2 homozygoten Patienten hin, da der lösliche TNF α -Rezeptor als physiologischer Antipode zirkulierendes TNF α bindet, mithin auf die biologischen TNF α Effekte regulierend einwirkt (37;202).

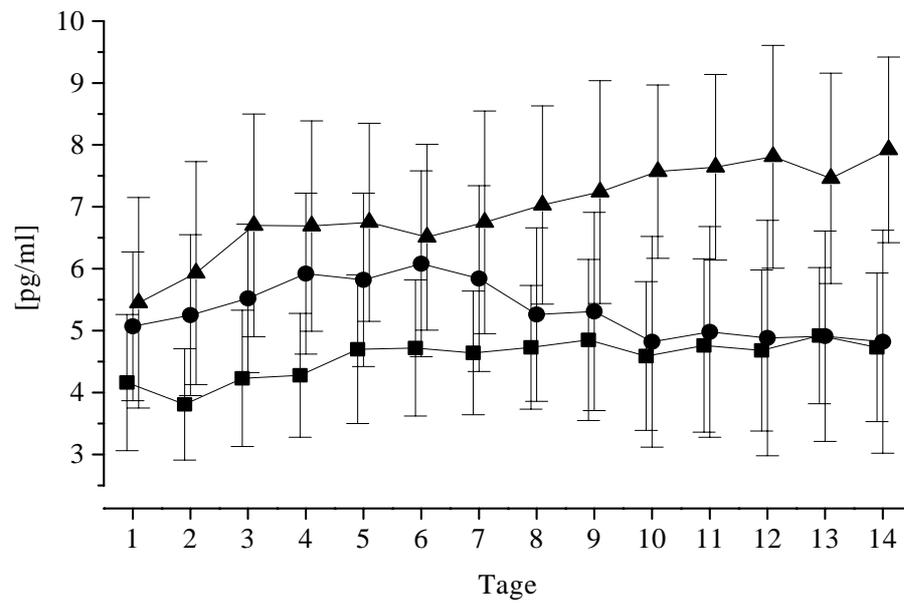


Abbildung 7: Plasmaspiegel sTNF α rI.

Die Abbildung zeigt Patienten der Gruppe 3 [▲, Homozygot TNF β 2/TNF β 2, n=24] im Vergleich zu Patienten der Gruppe 2 [●, TNF β 1/TNF β 2, n=35] und Patienten der Gruppe 1 [■, TNF β 1/TNF β 1, n=6]

Für die Plasmaspiegel des TNF α -Rezeptors sTNF α rII [p75] konnte hingegen keine signifikante Differenz der Größenordnung beobachtet werden (Abbildung 8).

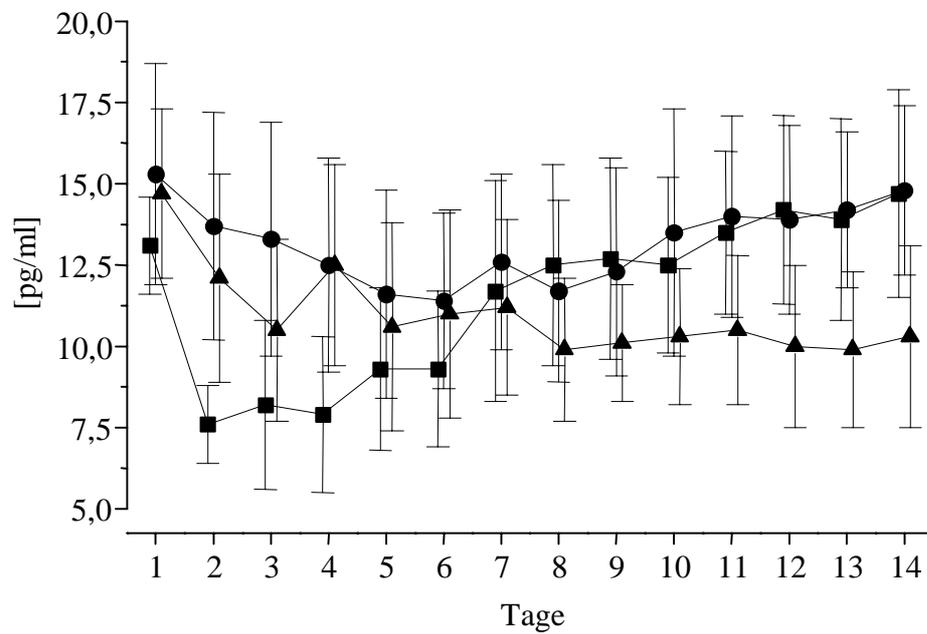


Abbildung 8: Plasmaspiegel sTNF α rII.

Die Abbildung zeigt Patienten der Gruppe 3 (▲, Homozygot TNFB2/TNFB2, n=24) im Vergleich zu Patienten der Gruppe 2 (●, B1/B2, n=35) und Patienten der Gruppe 1 (■, B1/B1, n=6).

Die Resultate der Meßwiederholungsanalyse in tabellarischer Form zeigt, daß hinsichtlich der TNF α - und sTNF α rI [p55]-Plasmaspiegel deutliche Differenzen erkennbar waren (Tabelle 13).

Tabelle 13: TNF β Meßwiederholungsstudie [ersten 14 Zeitpunkte]; [Tests beziehen sich auf die logarithmierten Werte].

Variable / Faktor	Faktor TNF beta
TNF-alpha	p=0,001 **
TNF-R1	p=0,041 *
TNF-R2	p=0,069

* = signifikant unterschiedlich sind die Gruppen TNF B2/B2 und TNF B1/B1

** = signifikant unterschiedlich sind die Gruppen TNF B2/B2 und TNF B1/B1 sowie TNFB2/B2 und TNF B1/B2

Homozygote Patienten für das Allel TNF β 2, hatten signifikant höhere TNF α -Plasmaspiegel als heterozygote und TNF β 1 homozygote Patienten [p<0,01].

Das Allel TNF β 2 korrelierte mit einer signifikant höheren Mediatorenfreisetzung.

Für den einzelnen polytraumatisierten Patienten bestand eine Assoziation zwischen der individuellen Genotypkonstellation und der Schwere des posttraumatischen Krankheitsverlaufes. Je nach Genotyp in Abhängigkeit von der Allelausprägung war das Risiko des einzelnen polytraumatisierten Patienten, posttraumatisch Komplikationen wie Sepsis und Multiorgandysfunktionen zu entwickeln, unterschiedlich hoch. Der individuellen Typisierung des einzelnen Patienten entsprach, vom Genotyp abgeleitet, eine unterschiedliche

Wahrscheinlichkeit, das posttraumatische Krankheitsgeschehen zu überleben, mithin einer abgestuft günstigen oder ungünstigen Prognose [Outcome] des einzelnen Patienten.

4.9 Risikoabschätzung des einzelnen Patienten

Das Risiko des einzelnen Genotyps konnte mittels inferenzstatistischer Methoden [Logistische Regression] beurteilt werden, indem das Risiko des einzelnen Patienten aufsteigend nach Vorkommen des Prognosefaktors “verstorben“ codiert wurde. Unter Berücksichtigung des zugrunde liegenden Genotyps schätzte man die Wahrscheinlichkeit des Auftretens des Ereignisses “Patient verstorben“ [Odds, siehe Tabelle 14]. Die Allelausprägung TNF $\beta 1//\beta 1$ war der Genotyp mit dem retrospektiv am geringsten zu erfassenden Risiko. Für den Genotyp TNF $\beta 1//\beta 1$ wurde der Basiswert errechnet. Die Erhöhung des Risikos bei Veränderungen des Genotyps wurde bewertet, indem der Basiswert mit dem spezifischen Faktor [Multiplikator] des einzelnen Genotyps multipliziert wurde (98).

Tabelle 14: Multiplikatoren zur Abschätzung des Risikos.

Parameter	Code	
	2	3
TNF B1/B2 Genotyp	1,6791	8,6619

Die Existenz des homozygoten Genotyps TNF β 2// β 2=22 vergrößert nach diesem Verfahren das Risiko um das 4,1-fache [TNF β 2] gegenüber dem Basiswert für den einzelnen Patienten (Tabelle 15). In Prozentzahlen beschrieben ist das Risiko für TNF β 2 homozygote Patienten gegenüber TNF β 1 homozygoten Patienten um 59,1% [TNF β 2] erhöht, an den Folgen der Verletzungen posttraumatisch zu versterben.

Tabelle 15: Multiplikatoren zur Risikobeurteilung für einen Code

TNF β Code	Anzahl	davon verstorben	verstorben	Odds	P [Patient verstirbt]	Verhältnis P / Basiswert
11	7	1	14,3	0,167 [Basiswert]	0,143 [Basiswert]	1
12	32	7	21,9	0,28	0,219	1,53
22	22	13	59,1	1,444	0,591	4,132

5 Diskussion

5.1 Kurze Einführung in die Problematik

Das Multi-Organ-Dysfunction-Syndrome (MODS) ist eines der Hauptprobleme bei der Behandlung polytraumatisierter Patienten (20;21). Nach heutiger Erkenntnis spielen entzündliche bzw. immunologische Prozesse bei seiner Entwicklung eine entscheidende Rolle. Sie werden zwar initial durch das Gewebetrauma und die daraus resultierenden Schockfolgen unterhalten, doch kommt es in vielen Fällen durch Bakterien und ihre Toxine zusätzlich zum Entstehen eines septischen Krankheitsbildes (53;70;82). Da einerseits der Nachweis eines infektiösen Geschehens jedoch oft misslingt, andererseits das klinische Bild des MODS für seine Ursache nicht pathognomonisch ist, kann in der Praxis häufig trotz moderner Tests (z.B. Procalcitonin) und international anerkannter Definitionen (SIRS, Sepsis, severe sepsis, septischer Schock, etc. (Consensus Conference 1992)) nicht mit letzter Sicherheit bestimmt werden, ob es sich im Einzelfall um ein SIRS oder eine Sepsis handelt (28).

Mit TNF- α wurde einer der zentraler Mediatoren entzündlicher Reaktionen identifiziert. Es kann während einer Sepsis aber auch nach Trauma zum Teil in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden und spielt nach heutiger Ansicht bei der Entwicklung des MODS eine zentrale Rolle. Versuche, TNF- α im Organismus mittels Antikörper oder löslichen TNF-Rezeptoren zu inhibieren, schlugen zur großen Enttäuschung der behandelnden Ärzte in der Vergangenheit jedoch fehl (53). Für das Versagen dieser Therapiekonzepte lassen sich mehrere Gründe diskutieren (siehe spätere Kapitel)

Eine Ursache könnte aber darin liegen, dass Individuen auf einen definierten Stimulus sehr unterschiedliche Mengen an TNF- α bilden und verschieden empfindlich darauf reagieren. Die Reaktion auf eine Noxe scheint daher u.a. genetisch determiniert zu sein. So konnten sowohl im TNF- α - als auch im TNF- β -Genlocus Polymorphismen charakterisiert werden, die Einfluß auf die Menge des im Organismus gebildeten TNF- α haben (197).

Mittels genetischer Analysen ließen sich somit Patienten mit einem hohem Risiko für eine Sepsis und MODS nach Trauma erkennen. So wäre es denkbar, innerhalb der Gruppe Schwerverletzter Subpopulationen zu identifizieren, die aufgrund ihrer genetischen Prädisposition zu einem bestimmtem Zeitpunkt durchaus von einer „Anti-TNF- α -Therapie“ profitieren könnten.

In der vorliegenden Arbeit sollte daher bei polytraumatisierten Patienten der Einfluss von Polymorphismen innerhalb des TNF- β -Genlocus (Genotypus) hinsichtlich der Entwicklung einer Sepsis und eines MODS (Phenotypus) untersucht werden.

5.2 Polytraumatisierte Patienten

Polytraumatisierte Patienten unterscheiden sich mitunter stark bezüglich des Verletzungsmusters und der Verletzungsschwere. In Bezug auf die dadurch ausgelösten inflammatorischen Prozesse reagiert der einzelne Organismus jedoch relativ uniform.

Häufigste Verletzungen sind Schädelhirn-, Thorax- und Extremitätenverletzungen, wobei aber bestimmte Verletzungskonstellationen mit einer höheren Letalität einhergehen. Schädelhirn-, Thorax- und

Abdominalverletzungen, besonders wenn sie kombiniert auftreten, bedeuten für einen Unfallverletzten ein vitales Risiko (163).

In dieser Untersuchung hatten 65 % der Patienten eine Thoraxverletzung, 48 % eine Abdominalverletzung, 17 % eine Schädelverletzung, 68 % Verletzungen der Wirbelsäule und des Beckens, 77 % Extremitätenverletzungen und 34 % Weichteilverletzungen. Um ein derart heterogenes Patientengut hinsichtlich des Verletzungsausmaßes vergleichen zu können, wurden Score-Systeme wie der Injury-Severity-Score (ISS) und der Polytraumaschlüssel (PTS) eingeführt und an großen Patientenzahlen evaluiert. In dieser Studie wurden insgesamt 65 polytraumatisierte Patienten untersucht. Mit einem mittleren ISS von 34.1 (range) und einem mittleren PTS von 38.3 (range) handelte es sich dabei um eine Population deren Verletzungsschwere mit der anderer Untersuchungen vergleichbar ist (12;46;124;151;199;203;222;227). Nordamerikanische Studien bilden eine Ausnahme, da dort im Gegensatz zu Europa, Schuß- und Stichverletzungen häufiger sind, während hierzulande die stumpfen Mehrfachverletzungen und Accelerationstraumata vorherrschen.

In unserer Untersuchung unterschieden sich die Patientengruppen nicht signifikant hinsichtlich des Lebensalters und des Verletzungsgrades gemessen an den Mittelwerten für ISS und PTS. Lediglich in Gruppe 3 (TNF B2/B2) war ein tendenziell höherer ISS und PTS festzustellen. Offensichtlich hatten in dieser Studie Alter und ISS/PTS lediglich einen geringen Einfluss auf die Entwicklung von Komplikationen wie Sepsis und MODS sowie das Überleben der Patienten. Auch unterschieden sich Rettungszeit, behandlungsfreies Intervall und die Menge der verabreichten Volumentherapie (präklinische und klinische) kaum zwischen

den Gruppen. Diese Tatsache ist dem in Deutschland gut organisierten Rettungsdienst, der üblicherweise durch einen Notarzt durchgeführten Primärversorgung sowie den meist kurzen Anfahrtswegen zum Krankenhaus zu zuschreiben. Ausmaß und Dauer eines bei Schwerverletzten möglichen Volumenmangelschocks mit den Folgen einer Gewebehypoxie, - ischämie sowie eines Reperfusionsschadens bestimmen jedoch das Ausmaß der primären entzündlichen Reaktion und damit die Prognose dieser Patienten. So wird nach einem Trauma etwa die Ursache für eine Erhöhung der TNF- α -Spiegel von vielen Autoren in einem klinisch bedeutsamen Blutverlust mit traumatisch-hypovolämischem Schock und Hypoxie gesehen (7-9;68). In diesem Zusammenhang ist auch die operative Versorgung im Krankenhaus von Bedeutung. Eine frühe operative Stabilisierung hilft am besten, zusätzliche Mikrotraumen zu vermeiden und ist einer abwartenden Haltung hinsichtlich möglicher septischer Komplikationen überlegen. Unsere Patienten hatten, bei im Mittel 6.1 Einzelverletzungen, durchschnittlich 5.7 Operationen, wovon 65.1 % innerhalb der ersten 48 h durchgeführt wurden. Nur wenige Patienten (35 %) mussten sich zu einem späteren Zeitpunkt einer Operationen (34,9 % aller Operationen) unterziehen. Dabei handelte es sich häufig um wiederholt durchgeführte Revisionen z.B. bei Wundinfektionen.

Die epidemiologischen Daten dieser Studie entsprechen hinsichtlich Unfallereignis, Verletzungsschwere und Letalität den Ergebnissen anderer Untersucher (65;70). Während Nerlich in einer Ergebnisstatistik von 1241 schwerverletzten Patienten mit vergleichbarer Alters- und Unfallursachenverteilung eine Gesamtletalität von 31,6% angibt, ist die Letalitätsrate im Patientenkontext von Wolff mit 17,6% bei 250 Mehrfachverletzten deutlich niedriger (150;224). In der hier vorliegenden Studie

ist die Letalität (32,3%), wie auch von Nerlich festgestellt, zum Teil durch die Schwere der Verletzungen der Patienten zu erklären (150).

5.3 Infektionen/Sepsis

Trotz innovativer Neuerungen in der Antibiotikatherapie, früher Versorgung von Verletzungen und moderner Intensivtherapie entwickeln 3,3-19 % aller polytraumatisierten Patienten eine lebensbedrohliche systemische Infektion (166). Davon versterben an einer Sepsis 8-30 % (43;176).

Während sich die Letalität der Sepsis im Vergleich zu den vergangenen Jahren nicht verändert hat, stieg ihre Inzidenz kontinuierlich an. Zwischen 1979 und 1987 stieg sie um 139% von 73,6 auf 176 pro 100.000 Krankenhauspatienten, in der Altersklasse der über 65-Jährigen sogar um 165% (38).

Dieser Anstieg ist zum Teil auf die immer invasiveren Diagnose- und Behandlungsmöglichkeiten aber auch auf die zunehmende Anzahl immunsuppressiv wirkender Medikamente zurückzuführen (143).

Bedauerlicherweise haben sich die Therapiemöglichkeiten der Sepsis, des septischen Schock und der septischen Organfunktionsstörungen nicht in vergleichbarer Weise entwickeln lassen, so daß die Gesamtletalität der Sepsis weiterhin in einem Bereich von 40%-45% rangiert (101).

Aufgrund großer Wundflächen, Beatmungspflichtigkeit mit der Notwendigkeit einer Intubation und oft ausgeprägter Darmparalyse kommt es trotz aufwendiger pflegerischer Maßnahmen zur Kolonisation des Patienten durch potentiell gefährliche Bakterien und Pilze. Die Beobachtung, dass opportunistische und

primär apathogene Keime rein zahlenmäßig häufiger als Erreger der septisch-toxischen Komplikationen isoliert werden konnten, wurde bereits 1986 von Faist et al. als Hinweis auf die traumabedingte Suppression des humoralen und vor allem des zellmedierten Immunsystems gewertet (42;71;93).

Nach heutiger Vorstellung kommt es nach einem Trauma, neben pro- bzw. hyperinflammatorischen Zuständen, zur einer tiefen Beeinträchtigung des Immunsystems, auf invasive Pathogene reagieren zu können. So waren bei diesen Patienten erhöhte Plasmaspiegel immunsuppressiv wirkender Mediatoren, wie z.B. PGE-2, TGF-beta-1, IL-10, IL-4 nachzuweisen (74;219). PGE-2 führt zum „T-Helfer-switch“, es werden proportional mehr TH-2-Zellen gebildet, die über IL-4 zur „Herunterregulation“ einer Immunantwort beitragen. Auch ist die Expression von HLA- (bzw. MCH-) Rezeptoren auf Makrophagen nach Trauma reduziert (215). Zudem kommt es im Sinne einer Gegenregulation zu einem Anstieg von Proteinen, wie etwa der löslichen TNF-Rezeptoren (p55 + p75), welche auf proinflammatorisch Mediatoren antagonistisch wirken. Einige Untersucher fanden auch eine bei Makrophagen und polymorphkernigen Granulozyten reduzierte Phagozytoseaktivität sowie eingeschränkte Fähigkeit, Pathogene durch den „oxydative burst“ abzutöten (99).

Der Zustand der „Immunparalyse“ kann parallel zur Hyperinflammation bestehen oder aber, im Sinne einer Erschöpfungsreaktion, auf sie folgen (60;72;73). Ein charakteristischer zeitlicher Verlauf wurde von Moore et. al. postuliert (142). Da diese Prozesse aber in der überwiegenden Zahl der Fälle nebeneinander ablaufen, ist durch ein immunologisches Monitoring häufig nicht sicher zu klären, ob bei einem Patienten zu einem gegebenen Zeitpunkt abhängig vom betrachteten Kompartiment, der Zustand einer Hyperinflammation oder

Immunsuppression überwiegt. In dem von uns untersuchten Patientengut wurden an insgesamt 529 Untersuchungstagen 1307 mikrobiologische Analysen durchgeführt, mehr als die Hälfte (63.1 %) waren positiv. Handelte es sich in der Mehrzahl um eine apathogene Kolonisation, kam es bei insgesamt 28 Patienten (43.1 %) zu einer nachweisbaren Sepsis, 19 Patienten (29.2 %) mit gemischter oder rein gramnegativer Sepsis, 6 Patienten (9.3 %) mit grampositiver und 2 Patienten (3.1 %) mit Sepsis durch *Candida albicans*.

Neben dem Darm, Wundflächen und Fremdkörpern wie Zentralvenenkatheter, stellt der Respirationstrakt eine häufige Eintrittspforte bei Polytraumatisierten dar. In der vorgeliegenden Studie gingen insgesamt 23 % aller Infektionen von den Atemwegen aus, die übrigen Infektionsherde entfielen mit 10.7 % auf Wunden, mit 4.6 % auf das Abdomen bzw. waren in 3 % katheterassoziiert. Das Keimspektrum, die immunologische Abwehr sowie die antibiotische Abdeckung waren bei allen Patienten vergleichbar.

Um so mehr überraschte es, dass nach Aufteilung der 28 septischen Patienten bezüglich ihres Genotyps, TNF-B2/B2 homozygote Patienten signifikant häufiger an einer Sepsis (70.8 %) erkrankt waren als Patienten der Genotypen TNF-B1/B2 (22.9 %) und TNF-B1/B1 (50 %) . Die Verteilung der Genotypen innerhalb der Gesamtpopulation der untersuchten Polytraumatisierten entsprach dabei annähernd der des Normalkollektivs. Ein Einfluss genetischer Faktoren auf die Entwicklung von Infektionen und Sepsis wurde 1996 auch von Stüber et al. nachgewiesen (197). Somit scheint der jeweilige Genotypus eines Individuums die Resistenzlage einerseits, die Reaktion auf ein Pathogen andererseits, nachhaltig zu beeinflussen.

5.4 Multi-Organ-Dysfunction-Syndrome (MODS)

Das Auftreten einer Sepsis, die Entwicklung eines MODS sowie das Überleben von Patienten nach einem schweren Trauma stellen wichtige Zielkriterien dieser Studie dar. Polytraumatisierte Patienten sind für eine solche Untersuchung gut geeignet, da sie im Gegensatz zu anderen Patienten in der Regel jung und frei von schweren Vorerkrankungen sind (Unfall im Zustand voller Gesundheit), vergleichbare standardisierte Therapieschemata für diese Patienten bestehen (Rettung, Reanimation, Operationen und Intensivtherapie) und ein definierter Nullpunkt (der Unfalltag) vorliegt, von dem ausgehend der Verlauf unabhängig von der jeweiligen Entwicklung beobachtet werden kann. Entscheidende Veränderungen können so frühzeitig anhand festgelegter Definitionen (siehe Einleitung Kapitel Definitionen) charakterisiert werden.

Der Krankheitsverlauf polytraumatisierter Patienten ist dabei nicht einheitlich, er stellt vielmehr ein Kontinuum unterschiedlicher Erkrankungsschweregrade dar. Ausprägung, zeitlicher Verlauf, betroffene Organe sowie Ausgang können von Patient zu Patient sehr unterschiedlich sein (118;199;227).

Die Sequenz des Versagens der einzelnen Organe und Systeme etwa wird eindeutig vom Versagen der Lunge geprägt und ist im hier vorgestellten Kollektiv vergleichbar mit den anderer Studien (150;155). Faist hingegen stellt in einer Untersuchung an vergleichsweise leichter verletzten Patienten [18% Letalität, 433 Patienten] eine andere Organversagenssequenz fest (70;76). In ihrem Kollektiv sind das Nierenversagen vor dem Leberversagen und Gerinnungsstörungen führend. Unter Berücksichtigung unterschiedlicher Therapiekonzepte ist ein

Nierenversagen unter einer restriktiveren Volumentherapie aber häufiger vorstellbar (102).

Signifikante Unterschiede hinsichtlich der Ausprägung und der Verteilung der Organstörungen bei Patienten mit MODS waren in unserem Patientenkollektiv zwischen den jeweiligen Gruppen nicht festzustellen.

Die Sepsis und MODS sind nach Verletzungen in der Regel keine von einander trennbaren Entitäten. Sie können klinisch häufig nicht eindeutig diskriminiert werden, die Erkrankungsschwere wird aber durch beide drastisch beeinflusst. So findet sich bei vielen polytraumatisierten Patienten bereits am ersten Tag nach dem Unfall ein durch die Verletzungen bedingtes MODS, dieses wird von einigen Autoren als „primäres oder frühes MODS“ bezeichnet (140). Im weiteren Verlauf können sich Organe erholen oder aber z. B. durch Infektionen mit folgender Sepsis geschädigt werden. Septische Prozesse können dabei mit nur geringen Organdysfunktionen einhergehen, aber auch primär unbeteiligte Organe nachhaltig schädigen und so selbst zu einem MODS führen. In diesen Fällen spricht man auch von „sekundärem MODS“ (140). In der vorliegenden Studie wurde nicht hinsichtlich der „frühen“ bzw. „späten“ Entwicklung eines MODS unterschieden. Untersuchungsgegenstand war vielmehr das Ausmaß des MODS (MOD-Score > 6 Punkte). Dieses kann durch MOD- und APACHE-III-Scores bestimmt werden (112;129).

Die Wertigkeit der Scores ist unterschiedlich, jeder Score besitzt hinsichtlich einer speziellen Fragestellung seine Stärken oder Schwächen (203). Der APACHE-III zeigt bereits sehr frühzeitig und präzise auf eine Divergenz in Bezug auf septische und nicht septische Patienten hin (108;112). Der MOD- Score trennt am schärfsten zwischen Überlebenden und Verstorbenen (129).

Die Erkrankungsschwere der Patienten war so zu erfassen. Zwar waren die MOD- (durchschnittlich 5-6 Punkte) und die APACHE-III-Scores (durchschnittlich 69-75 Punkte) am jeweiligen Sepsisbeginn zwischen den Patientengruppen nicht signifikant unterschiedlich, doch zeigte sich in der Gruppe für TNF-B2/B2 homozygoter Patienten eine deutliche Häufung (62.5 %) an einem MODS erkrankter Individuen. Da bei diesen Patienten auch im Vergleich zu Patienten anderen Genotyps signifikant häufiger eine Sepsis sowie im Durchschnitt höhere TNF- α -Plasmaspiegel vorlagen, muss hier von einem kausalem Zusammenhang ausgegangen werden.

Grundsätzlich ist in diesem Zusammenhang zu diskutieren, ob es eine genetisch festgeschriebene erhöhte Anfälligkeit für Krankheiten, unabhängig von einzelnen Erkrankungen, aber als immunologische Reagibilität gegenüber einer Noxe "per se" gibt, die sich in der Analyse einzelner Genpolymorphismen erkennen läßt. Alle vorliegenden Studien zum bisher am ausführlichsten untersuchten Genkomplex, dem TNF-Genlocus, konnten nur für einen Polymorphismus im ersten Intron des TNF β -Gens einen Zusammenhang zwischen Genotypverteilung, Erkrankungshäufigkeit und Risiko des Patienten feststellen (136;197). Einschränkend muß dabei aber berücksichtigt werden, daß die Zuordnung von Erkrankungshäufigkeit und Prognose zu bestimmten TNF β Genotypausprägungen für verschiedene Erkrankungen in allen dazu vorliegenden Untersuchungen unterschiedliche Resultate ergab (23;136;197).

Stüber et al. konnten für septische Patienten mit unterschiedlichstem Erregerspektrum und Infektionsfokus nachweisen, daß TNF β 2 homozygot septische Patienten signifikant häufiger verstarben als heterozygote und TNF β 1 homozygote. Für TNF β 2 homozygote Patienten ließen sich insgesamt am

häufigsten Komplikationen feststellen (197). Alle in unsere Studie einbezogenen polytraumatisierten Patienten hatten vor dem Unfallereignis einen weitgehend unbeeinträchtigten Gesundheitszustand. Signifikante Unterschiede ergaben sich schließlich durch die Genotypisierung und unterschiedliche Plasmaspiegel, nicht aber durch morphometrische, präklinische und klinische Daten. Bei solch vergleichbarer Ausgangssituation konnte trotzdem ein übereinstimmendes Resultat für die Zuordnung von Erkrankungshäufigkeit und Prognose zu einem bestimmten TNF β Genotyp [TNF β 2] gefunden werden (136;197).

Polytraumatisierte, TNF β 2 homozygote Patienten, entwickelten als "High Responder" posttraumatisch die höchsten TNF α Plasmaspiegel. Signifikant häufiger mündete der Krankheitsprozeß in septisch-toxische Komplikationen und ein Multiorganversagen. Das Risiko des einzelnen TNF β 2 homozygoten Patienten, posttraumatisch zu versterben, war mit 59,1% um über 45% höher als das des als "Low Responder" einzustufenden TNF β 1 homozygoten Patienten [14,3%]. Die Daten lassen erkennen, daß die Häufigkeit der posttraumatischen Komplikationen und das Risiko des Patienten abgestuft in Assoziation zu einzelnen TNF β -Genotypen steht (134;136).

Aufgrund ihrer schweren Erkrankung verstarben insgesamt 21 Patienten (32.3 % aller Patienten) am MODS. Von den 21 Patienten waren 15 (71.4 %) für TNF-B2/B2-homozygoten, 6 (28.5 %) für TNF-B1/B2 heterozygot und 0 (0 %) Patienten für TNF-B1/B1 homozygot. Dementsprechend hatten für TNF-B1/B2 heterozygote und für TNF-B1/B1 homozygote Patienten eine signifikant höhere Überlebenschancen. TNF-B2/B2 homozygote Patient hatten dagegen die schlechteste Prognose. Damit ergab sich für diese Patienten gegenüber dem Basiswert ein um das 4.1`fache erhöhte Risiko an den Folgen eines Traumas zu versterben.

Da TNF-B2/B2 homozygote Patienten mit 42.1 % die im Normalkollektiv am zweithäufigsten vertretene Gruppe darstellen, stellt sich aus evolutionärer Sicht die Frage, weshalb die Natur einen Genotypus begünstigt hat, der in der heutigen Intensivtherapie eine schlechte Überlebenschance besitzt. Eine mögliche Erklärung dieser Frage liefert Chaudry in einem Essay (42). Gemessen an der Evolution ist die moderne Intensivtherapie jung. In vergangenen Jahrtausenden starben schwerstverletzte Individuen mehr oder weniger bald an den Folgen des Traumas (Verbluten, Schock, Infektion, etc.). Bei Säugetieren mit starken sozialen Gruppenbindungen, wie z.B. dem afrikanischen Elefanten oder dem Homo sapiens, hält ein einzelnes verletztes Individuum die Gruppe auf und vermindert so die Überlebenschance. Stirbt das Individuum jedoch schnell, kann die Gruppe weiterziehen, was von Vorteil ist. So könnten sich Genotypen, die eine ungünstige Prognose bestimmen, herausgebildet haben.

Inwiefern durch genetische Analysen Hochrisikopatienten identifiziert werden können, die zu einem bestimmten Zeitpunkt ihres Krankheitsverlaufes von Therapiestrategien wie z.B. einer TNF- α -Antagonisierung profitieren, bleibt abzuwarten. Dennoch erscheint dieser Gedanken auf dem schwierigen Feld des posttraumatischen Sepsis/MODS-Syndroms verlockend.

5.5 Der „TNF-alpha/beta-Genpolymorphismus“

Bereits die Position des TNF- α -Gens innerhalb der Region des “major-histocompatibility-complex” (MHC) auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 war Anlaß, über die Rolle von TNF-Allelen bei MHC-assoziierten Erkrankungen zu spekulieren. Seit gezeigt werden konnte, dass die TNF- α -Expression vom individuellen HLA-DR-Allel abhängen kann, ging man davon aus, dass auch die

Menge des produzierten TNF- α von HLA-Haplotypen bzw. anderen polymorphen Markern (z.B. Genpolymorphismen im TNF- α -Genlocus) bedingt ist. Individuen mit dem HLA-DR2+, HLA-DR5+ sowie HLA-DWQ+1 Genotypus zeigten z.B. eine geringe TNF- α -Produktion („low responder genotype“), wohingegen Personen mit dem HLA-DR3+ und HLA-DR4+ Genotypus eine hohe TNF- α -Produktion hatten („high responder genotype“). Letztere waren häufiger von Autoimmunerkrankungen betroffen. „Low responder“ dagegen könnten durch Anfälligkeit auf Infektionskrankheiten gefährdet sein (177-179;182-186;188-191).

In einer Untersuchung an septischen Patienten fanden Stüber et al. (1996), dass TNF-B2-Homozygote eine höhere Mortalität gegenüber TNF-B1-Homozygoten sowie TNF-B1/B2 heterozygoten Patienten hatten. Bei diesen Patienten wurden auch die höchsten TNF- α -Spiegel gemessen. Die Autoren folgerten daraus, dass TNF-B2 ein genetischer Marker für eine schlechtere Prognose sowie höhere TNF- α -Spiegel bei Patienten mit „severe sepsis“ sein könnte (197). Nach Stimulation mit Endotoxin (LPS) zeigten TNF-B2/B2-homozygote signifikant höhere TNF- α -Spiegel im Vergleich zu TNF-B1/B1-Homozygoten (159)

Auch in unserer Untersuchung hatten für TNF-B2/B2 homozygote Patienten innerhalb der ersten 14 Tage nach dem Trauma die höchsten TNF- α -Plasma-Spiegel. Sie waren zum Teil doppelt so hoch wie die von TNF-B1/B2 heterozygoten Patienten und nahezu dreimal so hoch wie die von TNF-B1/B1 homozygoten Patienten.

Dennoch kann der Phänotypus des Polymorphismus (TNF- β) noch nicht als vollständig geklärt gelten, da in einigen Studien eine Korrelation zwischen dem

Genotyp und einer erhöhten TNF- α -Produktion nicht nachweisbar war (137). In einer Studie von Derkx et al. produzierten TNF-B1-Homozygote mehr TNF- α als TNF-B2-Homozygote. In dieser Arbeit hatten sogar TNF-B1/B2-Heterozygote die höchsten endotoxinvermittelten TNF- α -Spiegel (57;231).

Eine der Hauptquellen für TNF- α sind aktivierte Makrophagen. Es wird von diesen auf eine Vielzahl von Reizen hin ausgeschüttet. Als ein klassischer Weg gilt die Stimulation durch bakterielle Endotoxine (Lipopolysaccharide), die zum Beispiel, gebunden an Lipopolysaccharide-bindendes-Protein (LPB), Makrophagen über den CD-14-Rezeptor zur TNF- α -Produktion anregen können (138;206;210). Weiterhin konnten körpereigene Mediatoren (Interleukin-1 (IL-1), Prostaglandine (z.B. PGE-2), etc.), aber auch Stresszustände wie zum Beispiel eine Hypoxie, als Reiz identifiziert werden (68;84). Viele dieser Stimuli finden sich gleichzeitig oder in enger Abfolge nach einem Trauma. Seeger et al. und andere Autoren konnten zudem zeigen, dass Makrophagen zunächst durch einen primären Reiz in einen „angeregten“ Zustand versetzt werden mit relativ geringer TNF- α -Produktion, dass diese aber nach einen zweiten Stimulus sprunghaft und zum Teil überproportional ansteigt (40;56). Sie vermuteten daher, dass es mehrerer Stimuli bedarf, um die volle Reaktion zu erhalten. Bei polytraumatisierten Patienten lässt sich aber in der Regel nicht bestimmen, welcher Stimulus im einzelnen als Hauptfaktor zu gelten hat.

Die Expression von Genen auf einen Reiz wird in der Zelle auf allen Ebenen genau kontrolliert. Auf transkriptiver Ebene wird die TNF- α -Expression in Makrophagen, wie in vielen anderen Körperzellen, durch den nukleären Faktor NF-kappa-B reguliert. Dieses Heterodimer besteht aus zwei Untereinheiten, p50 und p 65, die ihrerseits im Zytoplasma von einem dritten Inhibitor-Molekül, dem

I-kappa-B, gebunden sind (92). Um die Transkription beginnen zu können, muß I-kappa-B dissoziieren, damit NF-kappa-B in den Nukleus gelangen kann (Translokation) . Die Aktivität von I-kappa-B wiederum wird über den Phosphorylierungs-Status des Proteins durch eine Serie von Enzymen reguliert. Trotz der komplizierten Zusammenhänge ergeben sich für die Regulation von NF-kappa-B vier wesentliche Mechanismen: 1) Expression der beteiligten Proteine; 2) Aktivierungsstatus der verschiedenen Komponenten; 3) Translokation vom Zytoplasma in den Zellkern; 4) Binden an die Ziel DNS-Sequenz. Polymorphismen innerhalb des TNF-Locus (TNF-A1 und -A2 sowie TNF-B1 und -B2) scheinen Einfluß auf die Bindung des NF-kappa-B zu nehmen, wodurch es zu einer gesteigerten Transkription der m-RNS für TNF- α und somit zu einer vermehrten Translation dieses Proteins kommt (197).

Auch von anderen Untersuchern konnte zum Teil bereits Mitte der 90`er Jahre ein Zusammenhang zwischen dem jeweiligen Genotypus für TNF-alpha/beta und der Ausprägung von Infektionskrankheiten festgestellt werden (134;136;197).

5.6 Die Rolle des TNF- α und seiner Rezeptoren nach

Polytrauma

Als Ursache für eine erhöhte TNF- α -Produktion unmittelbar nach einem Trauma wird von vielen Autoren ein klinisch bedeutsamer Blutverlust mit traumatisch-hypovolämischem Schock (8;9;168;220) und Hypoxie (68;84) angesehen. Ob ein Gewebetrauma ohne tiefgreifende Haemorrhagie zur TNF- α -Erhöhung führen kann, ist dagegen unklar (9). Das Monozyten/Makrophagen-System gilt auch hier als Hauptquelle für TNF- α . Da diese Zellen ihre Wirkung überwiegend im

Gewebe entfalten, kommt es zunächst zum Anstieg lokaler TNF- α -Spiegel.

Besonders Leber und Lunge sind reich an immunreaktiven Zellen. Diese Organe spielen aufgrund ihrer Anordnung in der Zirkulation eine besondere Rolle als Filter für Bakterien und Toxine. Einerseits können sie Zytokine (wie z.B. TNF- α) aus der Zirkulation aufnehmen, andererseits solche in diese freisetzen (61;141).

Da die wesentlichen immunologischen Reaktionen auf lokaler Ebene ablaufen, muss ein Anstieg der Plasma-Spiegel somit in der Regel als „spill-over“-Effekt interpretiert werden, was vergleichbar wäre mit der sogenannten „Spitze des Eisberges“.

Als weitere Ursache für einen TNF- α -Anstieg nach Trauma wird die Einschwemmung (Translokation) von Bakterien und ihren Bestandteilen (Endo- bzw. Exotoxine) über einen ischämisch geschädigten Darm diskutiert . Die Datenlage dazu ist weiterhin widersprüchlich . Hierbei ist, wie auch bei posttraumatischen Infektionen, der Anstieg der TNF- α -Spiegel als Antwort auf einen „mikrobiellen Reiz“ und damit nicht als unmittelbare Traumafolge anzusehen.

Beim Polytraumatisierten kommen für einen TNF- α -Anstieg mehrere Ursachen gleichzeitig oder aber in enger Abfolge in Frage. Welche Faktoren im einzelnen wirken, ist häufig nicht zu klären, gleichwohl glauben wir, dass in unserer Untersuchung alle möglichen Ursachen in Frage kommen.

Während erhöhte TNF- α -Spiegel in der bakteriellen Sepsis und nach schweren Verbrennungen mit einer erhöhten Letalität verknüpft zu sein scheinen, ist eine solche Korrelation bei Polytraumatisierten nicht eindeutig nachgewiesen (216).

Unterschiedliche Zytokin-Spiegel konnten von Waage et al. (1992) bei einem Vergleich zwischen schwerverletzten und Meningokokken-infizierten Patienten gezeigt werden (216). Patienten mit einer bakteriellen Sepsis hatten dabei wesentlich höhere TNF- α -Spiegel als polytraumatisierte Patienten. Dieses Ergebnis konnte von Martin et al. (1997) bestätigt werden. Sie verglichen IL-6- sowie TNF- α -Spiegel von unverletzten Patienten im septischen Schock mit denen von Polytraumatisierten ohne Sepsis und fanden sehr viel höhere Werte bei den Patienten im septischen Schock (130). Im Gegensatz zu den polytraumatisierten Patienten waren die Zytokin-Spiegel hier mit dem Versterben der Patienten korreliert.

So ist die genaue Rolle des TNF- α im Pathomechanismus nach einem Trauma noch nicht umfassend geklärt. Einerseits wurde TNF- α in bisherigen Studien an Schwerstverletzten wenig beständig gefunden (die TNF- α -Spiegel schwanken zwischen keinem Nachweis bis zu „hohen“ Werten) (Tabelle 16), andererseits betragen die gemessenen Plasma-Spiegel unmittelbar nach einem Trauma häufig nur einen Bruchteil derer, die während einer bakteriellen Sepsis gemessen werden können – sie lagen sogar oft im Normbereich (< 20 pg/ml) . Wechselnde Ergebnisse für TNF- α könnten zum Teil durch die Verwendung unterschiedlicher Definitionen, Einschlusskriterien und Testverfahren bedingt sein. Zudem hat TNF- α eine kurze Halbwertszeit (max. 20 min), so dass relevante Spiegel auch leicht verpasst werden können.

Tabelle 16: Die Tabelle zeigt unterschiedliche Ergebnisse zur Messung zirkulierender TNF- α -Spiegel bei verschiedenen Patienten-Populationen.

	kein messbares TNF-a fänden	messbares TNF-a fänden (davon erhöhte Werte: *)
nach größeren elektiven Operationen	Shenkin et al. (1989),	
	Baigrie et al. (1992),	
nach Operationen oder Polytrauma	Pullicino et al. (1990),	Roumen et al. (1993),
nach Polytrauma	Keel et al. (1996),	Suter et al. (1992),
	Donelly et al. (1994),	Svoboda et al. (1994),
	von Waage et al. (1992),	Rabinovici et al. (1993),
		Hoch et al. (1993),
		Martin et al. (1997)

In unserer Untersuchung befanden sich die höchsten Werte im Bereich von 200 pg/ml (range) und waren damit deutlich erhöht. Damas et al. (1997) dagegen konnten bei Patienten mit Meningokokken-Sepsis Werte bis > 5000 pg/ml im Plasma nachweisen, auch bei diesen Patienten korrelierte die Letalität mit dem TNF- α (48).

Die in Abbildung 6 wiedergegebenen TNF- α -Plasma-Spiegel dagegen können nicht mit denen solcher Studien verglichen werden, bei denen ausschließlich aus septischen Patienten bestehende Gruppen gebildet wurden. Bei der Interpretation unserer TNF- α -Plasma-Spiegel, muss nämlich bedacht werden, dass die Gruppen bezüglich ihres Genotyps unterschieden wurden, und daher innerhalb einer Gruppe sowohl septische als auch nicht septische Patienten repräsentiert sind. Da die Patienten zudem an unterschiedlichen Zeitpunkten Komplikationen, wie z.B. eine Infektion mit Sepsis, entwickeln, geben die in Abbildung 6 für jeden Messzeitpunkt wiedergegebenen TNF- α -Plasma-Spiegel sowohl „septische“ als auch „nicht septische“ Werte wieder (im jeweiligem Verhältnis). Neben interindividuellen Variationen in der Zytokin-Produktion, könnten so hohe Standardabweichungen in Abbildung 6 erklärt werden.

In unserer Untersuchung sollte der Einfluss verschiedener Genotypen auf TNF- α -Plasma-Spiegel untersucht werden. Die Patienten wurden daher hinsichtlich ihres Genotypus unterschieden, nicht bezüglich der Erkrankungsschwere. Werte zwischen 33 pg/ml und 200 pg/ml konnten nachgewiesen werden. Die höchsten Werte fanden wir bei TNF- β -B2/B2 homozygoten Patienten. Sie waren für den gesamten Beobachtungszeitraum signifikant gegenüber denen der anderen Gruppen erhöht. TNF- β -B1/B1 homozygote Patienten hingegen hatten die niedrigsten TNF- α -Konzentrationen, während TNF- β -B1/B2 heterozygote Patienten mit 43 pg/ml bis 158 pg/ml „intermediäre“ TNF- α -Werte aufwiesen.

Eine Abhängigkeit des TNF- α -Plasma-Spiegels vom jeweiligen Genotyp ließ sich in dieser Untersuchung klar zeigen, signifikante Unterschiede waren aber lediglich für die Werte der TNF- β -B2/B2 homozygoten Patienten festzustellen. Da sich in dieser Gruppe die höchste Anzahl an septischen Patienten und Patienten mit MODS befanden, muss diskutiert werden, welche Rolle erhöhte TNF- α -Plasma-Spiegel hierbei spielen.

Ob ein bestimmter Faktor (z.B. Mikroorganismus, Zytokin, etc.) als Pathogen gelten kann, wird häufig an der Erfüllbarkeit der „Koch’schen Postulate“ gemessen: 1) das mutmaßliche Pathogen muss in jedem Einzelfall der Erkrankung anzutreffen sein, 2) es muss von den erkrankten Individuen isoliert werden können (und ggf. in Kultur reproduziert werden können) und 3) die Erkrankung muss reproduzierbar sein, wenn man es in ein gesundes, darauf empfindliches Individuum injiziert.

Bereits 1986 zeigten Beutler und Tracey, dass TNF- α im Tierversuch alle diese Kriterien hinsichtlich der Entwicklung eines septischen Schocks erfüllen kann (206). Im Rahmen systemischer, bakterieller Infektionen sind auch beim

Menschen sehr hohe TNF- α -Spiegel (100 - 5000 pg/ml) nachgewiesen worden (49). Besonders gut untersucht ist die durch Endotoxine (LPS) vermittelte Stimulation der TNF- α -Produktion von Makrophagen (LPS + LPB über CD14 oder direkt LPS über CD11/CD18) im Rahmen einer Bakteriämie bzw. Endotoxinämie (138;206;210). Nahezu alle Symptome einer Sepsis bis hin zum septischen Schock können nach TNF- α -Gabe im Versuch beobachtet werden (206;207). Am Menschen sowie im Tier ist der Effekt dosisabhängig (139). Aufgrund dieser Ergebnisse gilt TNF- α als einer der zentralen Mediatoren in der Pathogenese der bakteriellen Sepsis.

Neben methodischen und studiendesignbedingten (siehe oben) Erklärungen für „niedrigere“ TNF- α Spiegel im Plasma bei Polytraumatisierte kommt aber noch eine weitere Ursache in Frage. Majetschak et al. konnten zum Beispiel zeigen, dass die TNF- α -Produktion von Makrophagen Polytraumatisierter nach Stimulation mit Endotoxinen für 6 Tage eingeschränkt war. Eine Korrelation dieses Phänomens mit anti-inflammatorischen Mediatoren (IL-10, PGE-2, TG- β -1, etc.) ließ sich dabei nicht nachweisen, so dass die Autoren von einem „Zell-Defekt“ ausgingen (125). Sollte es diesen Mechanismus geben, könnten die z.T. 10⁴ fach über dem Normbereich liegenden Plasma-Spiegel unserer Patienten eine neue Wertigkeit bekommen, da nun trotz „Immunparalyse“ „hohe“ Werte als Zeichen einer Inflammation interpretiert werden könnten. Eine geringe TNF- α -Produktion wäre demnach als protektiv anzusehen. Da in unserer Untersuchung für TNF- B2/B2 homozygote Patienten die höchsten TNF- α -Spiegel sowie die schlechteste Prognose aufwiesen, könnte hier ein Ansatzpunkt für eine zukünftige Therapie liegen.

Der Einfluß von löslichen TNF- α -Rezeptoren (sTNFR-I und sTNFR-II) auf die bei Polytrauma und Sepsis erhöhten TNF- α -Konzentrationen und auf das 'Outcome' der Patienten ist in diesem Zusammenhang ebenfalls zu diskutieren .

Diese sind Teile extramembranaler Fragmente zweier zellgebundener TNF- α -Rezeptoren und kommen in einer hochaffinen (p55) und einer niedrigaffinen (p75) Form vor. Sie werden im Rahmen der Entzündung (stimuliert u.a. durch TNF- α) proteolytisch von der Zellmembran abgeschert und gelangen so in die Zirkulation. Dort vermögen sie die biologische Aktivität von TNF- α zu inhibieren (211). Ertel et al. wiesen erhöhte Spiegel an löslichen TNF- α -Rezeptoren bei Traumapatienten nach, diese waren mit dem ISS-Wert und einer ungünstigen klinischen Prognose korreliert (66). Tan et al. und Law et al. fanden ebenfalls hohe lösliche TNF- α -Rezeptor-Spiegel nach schwerem Trauma, eine Korrelation mit der Verletzungsschwere oder der Letalität konnte hier jedoch nicht gezeigt werden (119;202). Die Imbalance zwischen TNF- α und seinen löslichen Rezeptoren (TNF- α /sTNFR-Ratio) sowie spezifische Unterschiede der biologischen Wirksamkeit dieser Rezeptoren könnten von entscheidender pathophysiologischer Bedeutung sein. So schien die TNF- α /sTNFR-Ratio in einer Untersuchung an Patienten mit Meningokokken-Sepsis prognostische Aussagekraft zu haben (86). Auch existiert eine membrangebundene Form von TNF- α , der wichtige Wirkungen auf lokaler Ebene zugeschrieben werden (115). An Sepsis-Patienten konnte gezeigt werden, daß zirkulierende TNF- α -Spiegel nicht mit der Monozyten-assoziierten Form korreliert sind (147). Diese und von TNF- α -Rezeptoren gebundenes TNF- α werden aber von den meisten ELISA nicht erfaßt, so daß die gemessenen "freien" TNF- α -Spiegel die jeweilige

Situation im Organismus nicht ausreichend korrekt wiedergeben könnten (63).

Vor diesem Hintergrund erscheint es um so wichtiger und plausibler, daß neben TNF- α -Plasma-Spiegeln ebenfalls TNF- α -Rezeptor-Konzentrationen erfaßt werden, um ein vollständigeres Bild davon zu erhalten, was im Organismus nach Polytrauma und/oder während einer Sepsis auf Zytokin-Ebene geschieht.

Überraschenderweise zeigten die von uns untersuchten Patienten im Beobachtungszeitraum entsprechend ihrer Allelausprägung hinsichtlich des TNF- β -Genotyps, auch drei unterschiedliche Anhebungen der TNF- α -Rezeptor-Konzentrationen.

Die höchsten TNF- α -Rezeptor-Konzentrationen fanden wir bei TNF β 2 homozygoten Patienten während des gesamten Beobachtungszeitraumes. Bei den TNF β 1 homozygoten Patienten ließen sich die niedrigsten TNF- α -Rezeptor-Konzentrationen messen. Die TNF β 1/TNF β 2 heterozygoten Patienten wiederum wiesen TNF- α -Rezeptor-Plasmaspiegel auf, welche sich in einem Konzentrationsbereich bewegten, der zwischen dem der beiden anderen Genotypen lag.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß es nach einem Trauma sowohl zu einem meßbaren Anstieg des TNF- α -, als auch der TNF- α -Rezeptor-Plasmaspiegel, kommen kann.

Ob TNF- α aber tatsächlich „das böse Zytokin“ ist, wie früher geglaubt, ist heute umstritten. Erste Zweifel an dieser Hypothese kamen in den 90`iger Jahren auf, als Patienten, die mit TNF-AK behandelt worden waren, keinen positiven Effekt hinsichtlich einer zu reduzierenden Mortalität zeigten (1;45;59). Im „Zymosan-Modell“ an TNF-alpha-Rezeptor-knock-out-Mäusen konnte jetzt gezeigt werden,

dass TNF- α in der frühen Phase sogar eher protektive Aufgaben erfüllt, in der Spätphase aber zur Entwicklung eines MODS, und damit zum Versterben der Tiere, beiträgt (knock-out-Mäuse erholten sich in dieser Phase). Somit scheinen die Wirkungen dieses Zytokins innerhalb der komplexen immunologischen Prozesse differenziert, als auch „Zeit“-abhängig. Eine generelle Blockade zumindest scheint nicht erfolgversprechend.

Zusammenfassend stellen wir fest, dass es nach schwerem Trauma zu einer messbaren Erhöhung der TNF- α -Plasma-Spiegel kommen kann. Das Ausmaß der TNF- α -Produktion ist dabei vom jeweiligen Genotypus eines Patienten abhängig, vorausgesetzt wir gehen von vergleichbarer Verletzungs- und Erkrankungsschwere aus. TNF-beta-B2/B2 homozygote Patienten haben die höchsten Werte. Die TNF- α -Plasma-Spiegel bleiben über einen Zeitraum von 14 Tagen erhöht, mit einem Maximum am 3.-4. posttraumatischen Tag. Ausmaß und Dauer der Erhöhung von TNF-alpha im Plasma könnte einen Einfluss auf die Entwicklung von posttraumatischen Komplikationen haben. In der Patienten-Gruppe mit den höchsten Werten (TNF-beta-B2/B2 homozygote Patienten) entwickelten überdurchschnittlich viele Patienten eine Sepsis (70,8 %) sowie ein MODS (62,5 %). Ein kausaler Zusammenhang ist daher anzunehmen.

Dennoch bleibt die genaue Rolle von TNF- α nach schweren Verletzungen unklar. Die Interpretation der Plasma-Spiegel ist dadurch erschwert.

6 Zusammenfassung

Schwere Verletzungen führen zu einer Funktionsstörung der körpereigenen humoralen und zellulären Abwehrsysteme. Die Ursachen für dieses Phänomen finden sich sowohl in der ausgeprägten Gewebeerstörung, als auch im Durchlaufen eines hämorrhagischen Schocks und nicht zuletzt in der ziemlich früh einsetzenden aggressiven Endotoxinämie. Diese wird überwiegend durch eine bakterielle Translokation aus dem Gastrointestinaltrakt hervorgerufen. Die nach Trauma einsetzende Störung der zellvermittelten Immunfunktionen korrespondiert mit einer ungeordneten Zytokinsynthese. Dies mündet für den Betroffenen nach initialer Stabilisierung oft im Unvermögen der endogenen Defensivsysteme, die sekundären Auswirkungen eines Hochrasanztraumas zu kompensieren und ein Überleben zu sichern. Während also manche Bereiche des Immunsystems überreagieren und den Organismus im Sinne eines "horror autotoxicus" gefährden, sind andere wiederum supprimiert. Die Resistenz des Patienten gegenüber Infektionen wird vermindert. Hierbei spielen pro- und antiinflammatorische Einflüsse durch immunologische Zellen und ihre Mediatoren eine entscheidende Rolle. Eine frühzeitige Erkennung von Hochrisikopatienten und eine frühe Wiederherstellung der Immunhomeostase sind also wichtige Herausforderungen für eine zukünftige intensivmedizinische Therapie nach schweren Verletzungen.

Auch in dieser Studie überwog nicht der frühe, sondern der späte Tod nach Trauma mit der Hauptkomponente Multiorganversagen und war somit die eigentliche Limitierung der Polytraumabehandlung.

Ziel der Arbeit war, in einer prospektiven Studie an einer homogenen Population polytraumatisierter Patienten den Einfluß genetischer Polymorphismen innerhalb des TNF- β -Genlocus hinsichtlich ihrer Prognose, der Entwicklung einer Sepsis und/oder eines MOV zu untersuchen. Dazu wurden 65 polytraumatisierte Patienten prospektiv über einen Zeitraum von 14 Tagen auf der Intensivstation verfolgt. In regelmäßig gewonnenen Blutproben waren die systemischen Spiegel von TNF- α und der zirkulierenden, löslichen TNF- α -Rezeptoren per ELISA zu ermitteln. Eine klinische Beurteilung der Patienten erfolgte täglich durch Ermitteln von APACHE-II-, APACHE-III- und MOF-Score-Werten. Die Gruppeneinteilung folgte der Hypothese, dass polytraumatisierte Patienten abhängig von der Ausprägung ihres TNF- β -Genotyps unterschiedlich stark zur Entwicklung einer Sepsis und oder eines MOV neigen könnten und somit auch unterschiedliche Schweregrade von Krankheitsverläufen erleben. Die untersuchten Gruppen polytraumatisierter Patienten unterschieden sich weder wesentlich in ihren morphometrischen Daten, der Traumaschwere (ISS und PTS) oder im Verletzungsmuster. Auch hinsichtlich des Keimspektrums konnten zwischen den TNF β genotypisierten Gruppen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Bewertete man die auffällige Allelverteilung der polytraumatisierten Patienten unter Berücksichtigung der Faktoren Prognose [Outcome], Sepsis und Multiorganversagen (Tab 9) mit dem Chi [χ^2]-Quadrat-Test [exakt nach Fischer], so konnte für die Verteilung der drei Genotypen TNF β 1//TNF β 1, TNF β 1//TNF β 2 und TNF β 2//TNF β 2 tatsächlich ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. TNF β 2 homozygot typisierte Patienten entwickelten posttraumatisch signifikant häufiger eine Sepsis [p=0,00001] und ein Multiorganversagen [p=0,00002]. Auch die Prognose der TNF β 2 homozygoten

Patient war im Vergleich zu TNF β 1//TNF β 2 heterozygoten und TNF β 1 homozygoten Patienten mit $p=0,00329$ signifikant schlechter.

Dies spiegelte sich auch bei Betrachtung des Mediatorenverlaufes wieder. So ließen sich die höchsten TNF α -Plasmaspiegel für die TNF β 2 homozygoten Patienten [Gruppe 3] erfassen, die überwiegend auch das schwerste posttraumatische Krankheitsbild entwickelten [$p=0,001$] (Abbildung 6).

Auch hinsichtlich der Plasmaspiegel des zirkulierenden löslichen TNF α -Rezeptors sTNF α rI [p55] zeigte sich eine signifikante Differenz [$p=0,002$]. TNF β 2 homozygote Patienten zeigten gegenüber den beiden anderen Genotypausprägungen die höchsten Spiegel des löslichen TNF α -Rezeptors, was auf die massive Freisetzung des TNF α zurückgeführt werden kann (Abbildung 7).

Für die verschiedenen Patientengruppen ergaben sich hieraus unterschiedliche Risiken, in Folge des Traumas noch schwerer zu erkranken und folglich auch unterschiedliche Prognosen. Das Risiko des einzelnen Genotyps wurde mittels inferenzstatistischer Methoden [Logistische Regression] beurteilt, indem das Risiko des einzelnen Patienten aufsteigend nach Vorkommen des Prognosefaktors "verstorben" codiert wurde. Unter Berücksichtigung des zugrundeliegenden Genotyps schätzte man die Wahrscheinlichkeit des Auftretens des Ereignisses "Patient verstorben" [Odds, siehe Tabelle 14]. Die Allelausprägung TNF β 1// β 1 war der Genotyp mit dem retrospektiv am geringsten zu erfassenden Risiko. Für diesen Genotyp TNF β 1// β 1 wurde der Basiswert errechnet. Die Erhöhung des Risikos bei Veränderungen des Genotyps wurde bewertet, indem der Basiswert mit dem spezifischen Faktor [Multiplikator] des einzelnen Genotyps multipliziert wurde. Die Existenz des homozygoten

Genotyps TNF β 2// β 2=22 vergrößert nach diesem Verfahren das Risiko um das 4,1-fache [TNF β 2] gegenüber dem Basiswert für den einzelnen Patienten (Tabelle 15). In Prozentzahlen beschrieben ist das Risiko für TNF β 2 homozygote Patienten gegenüber TNF β 1 homozygoten Patienten um 59,1% [TNF β 2] erhöht, an den Folgen der Verletzungen posttraumatisch zu versterben. Die Genotypisierung polytraumatisierter Patienten hat geholfen, eine präzisere Definition von Zielparametern zu gewähren, indem sie Hochrisikopatienten diskriminiert. Unter Berücksichtigung einer potentiell verbesserten Unterscheidung von "High- und Low Respondern" mag die Genotypisierung daher eine Basis eröffnen, dass interventionellen Therapiestudien Patienten zugeführt werden, die tatsächlich von einer solchen Therapie profitieren. Eine zukünftige intensivmedizinische Standardtherapie kritisch kranker Patienten nach Trauma könnte verbessert werden durch genaue Identifizierung und Quantifizierung einer Immunschwäche sowie durch präzise Diskriminierung von Hochrisikopatienten. In Folge dessen kann schließlich unter Einbeziehung der Genotypisierung pro- und antiinflammatorischer Mediatoren eine gezielte präventive, immunmodulatorische Therapie angestrebt werden.

7 Summary

Severe injuries lead to a malfunction of the humoral and cellular defense systems. This phenomenon occurs due to severe tissue destruction, a hemorrhagic shock and a rather early initiated aggressive endotoxinaemia. This endotoxinaemia is caused predominantly by a bacterial translocation from the alimentary system. The disturbance of the cellular immune functions after trauma corresponds with a not systematical synthesis of cytokines. After an initial stabilization this often leads to a situation where the endogenous defense systems become unable to compensate these secondary effects of a multiple trauma. Thus some parts of the immune system over-react in the sense of "horror autotoxicus", others are suppressed. The resistance of the patient in relation to infections is decreased. Pro- and antiinflammatory influences of immunological cells and their mediators play a crucial role in this setting. An early recognition of high risk patients and an early re-establishment of homeostasis of the immunsystem are thus important challenges for a future intensive-medical therapy after severe injuries.

In this study not the early, but the late death after trauma with the main component multi-organ failure predominated and was thus the actual limitation of a medical treatment of multiple trauma patients. Aim of this prospective study was to investigate a homogeneous population of multiple trauma patients with respect to an the influence of the genetic polymorphism of the TNF β Genlocus regarding their prognosis to develop sepsis and/or MOF and patients' outcome. Therefore 65 patients with multiple trauma were screened prospectively over a period of 14 days on the intensive care unit. Blood samples were drawn at regular intervals to measure systemic levels of TNF- α and of the soluble TNF-

α receptors with an ELISA. The clinical evaluation of the patients was performed daily via determining APACHE II -, APACHE III and MOF score values. The classification of the groups followed the hypothesis that patients with multiple trauma develop sepsis and/or MOF with variable probability depending on the specificity of their TNF- β genotype. The groups of patients with multiple trauma differed neither substantially in any morphometrical data, severity code of trauma (ISS and PTS) or in the pattern of injuries. Also regarding the spectrum of germs, no significant differences were found in the groups of patients with diverse TNF β genotypes.

Evaluating the remarkable distribution of alleles of the patients with multiple trauma with respect to prognosis [Outcome], sepsis and multi-organ-failure (tab 9) statistically [Chi [χ^2]-square-test accurately after Fischer], a significant difference of distribution of the three genotypes was found. Patients homozygous for TNF β 2 developed significantly more often sepsis [$p=0,00001$] and multi-organ-failure [$p=0,00002$] compared to patients patients of any other group. In addition the prognosis of the TNF β 2 homozygous patients was considerably worse ($p=0,00329$) than the one of TNF β 1//TNF β 2 heterozygous and TNF β 1 homozygous patients.

This was also confirmed by cytokine plasma levels: the highest levels of TNF α in plasma were found in TNF β 2 homozygous patients [group 3], who predominantly also had the most severe post traumatic course [$p=0,001$] (Table 6). Also regarding plasma levels of the circulating, soluble TNF α -receptor sTNF α rI [p55] a significant difference [$p=0,002$] was found. Compared to patients of the other groups, TNF β 2 homozygous patients developed the highest

levels of the soluble TNF α receptor which points to the fact of a substantial release of TNF α (Table 7)

Because of these results different risks of severe illness after multiple trauma and therefore also different prognosis, have been calculated.

The risk of the individual genotype was judged by means of inference-statistic-methods [logistic regression], as the risk of the individual patient was coded according to the occurrences of the prognosis factor "deceased". With consideration of the underlying genotype we estimated the probability of the occurrence of the event "patient deceased [Odds, see table 14]. The specificity of the allele TNF $\beta 1//\beta 1$ was retrospectively the genotype with the lowest risk. For this genotype TNF $\beta 1//\beta 1$ the base value was calculated. The increase of the risk by variation of the genotype was evaluated, as the base value was multiplied by the specific factor [multiplicator] of the individual genotype. In this procedure the existence of the homozygous genotype TNF $\beta 2//\beta 2=22$ increases the risk up to 4,1 times [TNF $\beta 2$] in relation to the base value for the individual patient (Table 15).

In percentage the risk of TNF $\beta 2$ homozygous patients compared to the one of TNF $\beta 1$ homozygous patients, is 59,1% [TNF $\beta 2$] higher to decrease due to post traumatic injuries.

The classification of patients with multiple trauma has helped to find a more precise definition of important parameters, by discriminating high risk patients according to their genotypes. In consideration of a potentially improved distinction of "high and low responder" the discrimination of genotypes may therefore help to treat patients according to their genotype, thus they will benefit from such a treatment. A future medical standard intensive care therapy of

critically ill patients after trauma could also benefit, because by exact identification and quantification of the function and malfunction of the immune system and by precise discrimination of high risk patients including the classification of genotypes of pro- and antiinflammatory mediators. A more precise, and preventive therapy modulating the immune system is one perspective of such an aim.

8 Literatur

- (1) Abraham E, Anzueto A, Gutierrez G, Tessler S, San Pedro G, Wunderink R et al. Double-blind randomised controlled trial of monoclonal antibody to human tumour necrosis factor in treatment of septic shock. NORASEPT II Study Group . Lancet 1998; 351(9107):929-933.
- (2) Abraham E, Glauser MP, Butler T, Garbino J, Gelmont D, Laterre PF et al. p55 Tumor necrosis factor receptor fusion protein in the treatment of patients with severe sepsis and septic shock. A randomized controlled multicenter trial. Ro 45-2081 Study Group. JAMA 1997; 277(19):1531-1538.
- (3) Treatment of patients with sepsis syndrome with soluble TNF receptor (STNFr). Program and abstracts of the 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Interscience 1994.: 1994.
- (4) Anderson BO, Brown JM, Harken AH. Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. J Surg Res 1991; 51(2):170-179.
- (5) Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the new born infant. Anaesthesia Analgesia 1957; 32:260-265.
- (6) Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. Lancet 1967; 2(7511):319-323.
- (7) Ayala A, Meldrum DR, Perrin MM, Chaudry IH. The release of transforming growth factor-beta following haemorrhage: its role as a mediator of host immunosuppression. Immunology 1993; 79(3):479-484.
- (8) Ayala A, Perrin MM, Meldrum DR, Ertel W, Chaudry IH. Hemorrhage induces an increase in serum TNF which is not associated with elevated levels of endotoxin. Cytokine 1990; 2(3):170-174.
- (9) Ayala A, Wang P, Ba ZF, Perrin MM, Ertel W, Chaudry IH. Differential alterations in plasma IL-6 and TNF levels after trauma and hemorrhage. Am J Physiol 1991; 260(1 Pt 2):R167-R171.
- (10) Babcock GF, Rodeberg DA, White-Owen C. Changes in neutrophil function following major trauma or thermal injury. Journal of Intensive Care Medicine 1994; 20:172-180.

- (11) Baker CC, Miller ID, Baue AE. Multi organ failure: Predictors of outcome. *J Trauma* 1983; 23:627-653.
- (12) Baker JW, Deitch EA, Li M, Berg RD, Specian RD. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. *J Trauma* 1988; 28(7):896-906.
- (13) Baker SP, O'Neill B. The injury severity score: an update. *J Trauma* 1976; 16(11):882-885.
- (14) Baker SP, O'Neill B, Haddon W, Long WB. The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *J Trauma* 1974; 14(3):187-196.
- (15) Balk R, Bone RC. The adult respiratory distress syndrome. *Med Clin North Am* 1983; 67(3):685-700.
- (16) Battistini B, Forget MA, Laight D. Potential roles for endothelins in systemic inflammatory response syndrome with a particular relationship to cytokines. *Shock* 1996; 5(3):167-183.
- (17) Baue AE. Multiple, progressive, or sequential systems failure. A syndrome of the 1970s. *Arch Surg* 1975; 110(7):779-781.
- (18) Baue AE. The horror autotoxicus and multiple-organ failure. *Arch Surg* 1992; 127(12):1451-1462.
- (19) Baue AE. MOF/MODS, SIRS: an update. *Shock* 1996; 6 Suppl 1:S1-S5.
- (20) Baue AE. Multiple organ failure, multiple organ dysfunction syndrome, and systemic inflammatory response syndrome. Why no magic bullets? . *Arch Surg* 1997; 132(7):703-707.
- (21) 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.
- (22) Bellamy R, Hill AV. Genetic susceptibility to mycobacteria and other infectious pathogens in humans. *Curr Opin Immunol* 1998; 10(4):483-487.
- (23) Bernal W, Donaldson P, Wenden J. Pro-Inflammatory Cytokine Genomic Polymorphism and Critical Illness. In: Vincent JL, editor. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*. 1999.
- (24) Biffi WL, Moore EE. Splanchnic ischaemia/reperfusion and multiple organ failure. *Br J Anaesth* 1996; 77(1):59-70.
- (25) Blalock A. Experimental shock: The cause of the low blood pressure produced by muscle injury. *Arch Surg* 1930; 20:959-964.

- (26) Boldt J, Müller M, Kuhn D, Linke LC, Hempelmann G. Circulating adhesion molecules in the critically ill: a comparison between trauma and sepsis patients. *Intensive Care Med* 1996; 22(2):122-128.
- (27) Bone RC. Sepsis, the sepsis syndrome, multi-organ failure: a plea for comparable definitions. *Ann Intern Med* 1991; 114(4):332-333.
- (28) Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115(6):457-469.
- (29) 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.
- (30) Bone RC. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* 1996; 24(1):163-172.
- (31) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA et al. 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.
- (32) Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997; 112(1):235-243.
- (33) Bone RC, Sprung CL, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure . *Crit Care Med* 1992; 20(6):724-726.
- (34) Border JR, Hassett J, LaDuca J, Seibel R, Steinberg S, Mills B et al. The gut origin septic states in blunt multiple trauma (ISS = 40) in the ICU. *Ann Surg* 1987; 206(4):427-448.
- (35) Botha AJ, Moore FA, Moore EE, Kim FJ, Banerjee A, Peterson VM. Postinjury neutrophil priming and activation: an early vulnerable window. *Surgery* 1995; 118(2):358-364.
- (36) Bouillon B, Kramer M, Tiling T, Neugebauer E. Trauma score systems as instruments in quality control. A prospective study on validation of 7 trauma score systems with 612 trauma patients. *Unfallchirurg* 1993; 96(2):55-61.
- (37) Brockhaus M. Soluble TNF receptor: what is the significance? *Intensive Care Med* 1997; 23(8):808-809.
- (38) Brun BC, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A

multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. JAMA 1995; 274(12):968-974.

- (39) Bywaters EGC. Ischemic muscle necrosis: A type of injury seen in air raid casualties following burial beneath debris. JAMA 1944; 124:1103-1109.
- (40) Cavaillon JM, Munoz C, Fitting C, Misset B, Carlet J. Circulating cytokines: the tip of the iceberg? Circ Shock 1992; 38(2):145-152.
- (41) Cerra FB. Hypermetabolism, organ failure, and metabolic support. Surgery 1987; 101(1):1-14.
- (42) Chaudry IH, Ayala A. Immune consequences of hypovolemic shock and resuscitation. Current Opinion Anaesthesiology 1993; 6:385-392.
- (43) Christou NV, Tellado RJ, Chartrand L, Giannas B, Kapadia B, Meakins J et al. Estimating mortality risk in preoperative patients using immunologic, nutritional, and acute-phase response variables. Ann Surg 1989; 210(1):69-77.
- (44) Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. N Engl J Med 1995; 332(20):1351-1362.
- (45) Cohen J, Carlet J. INTERSEPT: an international, multicenter, placebo-controlled trial of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor-alpha in patients with sepsis. International Sepsis Trial Study Group. Crit Care Med 1996; 24(9):1431-1440.
- (46) Association for the advancement of Automovement Medicine, editor. Abbreviated Injury Scale 1990 Revision. Des Plaines, Illinois: 1990.
- (47) Crowther JR. ELISA. Theory and practice. Methods Mol Biol 1995; 42:1-218.
- (48) Damas P, Canivet JL, De Groote D, Vrindts Y, Albert A, Franchimont P et al. Sepsis and serum cytokine concentrations. Crit Care Med 1997; 25(3):405-412.
- (49) Damas P, Reuter A, Gysen P, Demonty J, Lamy M, Franchimont P. Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans. Crit Care Med 1989; 17(10):975-978.
- (50) Debets JM, Kampmeijer R, van der Linden MP, Buurman WA, van der Linden CJ. Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. Crit Care Med 1989; 17(6):489-494.
- (51) Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. Ann Surg 1992; 216(2):117-134.
- (52) Deitch EA. Cytokines yes, cytokines no, cytokines maybe? Crit Care Med 1993; 21(6):817-819.

- (53) Deitch EA, Bridges RM. Effect of stress and trauma on bacterial translocation from the gut. *J Surg Res* 1987; 42(5):536-542.
- (54) Deitch EA, Bridges W, Berg R, Specian RD, Granger DN. Hemorrhagic shock-induced bacterial translocation: the role of neutrophils and hydroxyl radicals. *J Trauma* 1990; 30(8):942-951.
- (55) Deitch EA, Winterton J, Li M, Berg R. The gut as a portal of entry for bacteremia. Role of protein malnutrition. *Ann Surg* 1987; 205(6):681-692.
- (56) Deitch EA, Xu D, Franko L, Ayala A, Chaudry IH. Evidence favoring the role of the gut as a cytokine-generating organ in rats subjected to hemorrhagic shock. *Shock* 1994; 1(2):141-145.
- (57) Derkx BHF, Bruin KF, Jongeneel CV, Deventer SHJ. Endotoxin reactivity of mononuclear cells and TNF- gene polymorphism. Endotoxin responsiveness in humans 1994.
- (58) Deutschman CS. Acute-phase responses and SIRS/MODS: the good, the bad, and the nebulous. *Crit Care Med* 1998; 26(10):1630-1631.
- (59) Dhainaut JF, Vincent JL, Richard C, Lejeune P, Martin C, Fierobe L et al. CDP571, a humanized antibody to human tumor necrosis factor-alpha: safety, pharmacokinetics, immune response, and influence of the antibody on cytokine concentrations in patients with septic shock. CPD571 Sepsis Study Group. *Crit Care Med* 1995; 23(9):1461-1469.
- (60) Docke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med* 1997; 3(6):678-681.
- (61) Douzinas EE, Tsidemiadou PD, Pitaridis MT, Andrianakis I, Bobota CA, Katsouyanni K et al. The regional production of cytokines and lactate in sepsis-related multiple organ failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(1):53-59.
- (62) Eiseman B, Beart R, Norton L. Multiple organ failure. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 144(3):323-326.
- (63) Engelberts I, Stephens S, Francot GJ, van der Linden CJ, Buurman WA. Evidence for different effects of soluble TNF-receptors on various TNF measurements in human biological fluids. *Lancet* 1991; 338(8765):515-516.
- (64) Ertel W, Faist E. Immunologic monitoring after severe trauma. *Unfallchirurg* 1993; 96(4):200-212.

- (65) Ertel W, Friedl HP, Trentz O. Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) following multiple trauma: rationale and concept of therapeutic approach. *Eur J Pediatr Surg* 1994; 4(4):243-248.
- (66) Ertel W, Keel M, Bonaccio M, Steckholzer U, Gallati H, Kenney JS et al. Release of anti-inflammatory mediators after mechanical trauma correlates with severity of injury and clinical outcome. *J Trauma* 1995; 39(5):879-885.
- (67) Ertel W, Kremer JP, Kenney J, Steckholzer U, Jarrar D, Trentz O et al. Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients. *Blood* 1995; 85(5):1341-1347.
- (68) Ertel W, Morrison MH, Ayala A, Chaudry IH. Hypoxemia in the absence of blood loss or significant hypotension causes inflammatory cytokine release. *Am J Physiol* 1995; 269(1 Pt 2):R160-R166.
- (69) Ertel W, Trentz O. Polytrauma and multi-organ failure syndrome. Definition--pathophysiology--therapy. *Zentralbl Chir* 1994; 119(3):159-167.
- (70) Faist E, Baue AE, Dittmer H, Heberer G. Multiple organ failure in polytrauma patients. *J Trauma* 1983; 23(9):775-787.
- (71) Faist E, Hartl WH, Baue AE. Immune mechanisms of post-traumatic hyperinflammation and sepsis. *Immun Infekt* 1994; 22(6):203-213.
- (72) 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.
- (73) Faist E, Mewes A, Baker CC, Strasser T, Alkan SS, Rieber P et al. Prostaglandin E2 (PGE2)-dependent suppression of interleukin alpha (IL-2) production in patients with major trauma. *J Trauma* 1987; 27(8):837-848.
- (74) Faist E, Mewes A, Strasser T, Walz A, Alkan S, Baker C et al. Alteration of monocyte function following major injury. *Arch Surg* 1988; 123(3):287-292.
- (75) Faist E, Schinkel C, Zimmer S. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. *World J Surg* 1996; 20(4):454-459.
- (76) Faist E, Wichmann MW. Immunology in the severely injured. *Chirurg* 1997; 68(11):1066-1070.
- (77) Ferraris VA. Exploratory laparotomy for potential abdominal sepsis in patients with multiple-organ failure. *Arch Surg* 1983; 118(10):1130-1133.
- (78) Fisher-CJ J, Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC et al. Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein.

- The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group . N Engl J Med 1996; 334(26):1697-1702.
- (79) Frey L, Messmer K. What is the cause of death of the intensive care patient? Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd 1996; 113:283-288.
- (80) Friedl HP, Trentz O. Multiple trauma: definition, shock, multiple organ failure. Unfallchirurgie 1992; 18(2):64-68.
- (81) Fry DE. Multiple system organ failure. Surg Clin North Am 1988; 68(1):107-122.
- (82) Fry DE, Pearlstein L, Fulton RL, Polk-HC J. Multiple system organ failure. The role of uncontrolled infection. Arch Surg 1980; 115(2):136-140.
- (83) Gando S, Kameue T, Nanzaki S, Nakanishi Y. Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systemic inflammatory response syndrome. Thromb Haemost 1996; 75(2):224-228.
- (84) Ghezzi P, Dinarello CA, Bianchi M, Rosandich ME, Repine JE, White CW. Hypoxia increases production of interleukin-1 and tumor necrosis factor by human mononuclear cells. Cytokine 1991; 3(3):189-194.
- (85) Giangiuliani G, Mancini A, Gui D. Validation of a severity of illness score (APACHE II) in a surgical intensive care unit. Intensive Care Med 1989; 15(8):519-522.
- (86) Girardin E, Roux LP, Grau GE, Suter P, Gallati H, Dayer JM. Imbalance between tumour necrosis factor-alpha and soluble TNF receptor concentrations in severe meningococcaemia. The J5 Study Group. Immunology 1992; 76(1):20-23.
- (87) Goris RJ. Mediators of multiple organ failure. Intensive Care Med 1990; 16 Suppl 3:S192-S196.
- (88) Goris RJ. Conclusions of the workshops held during the Second International Congress on The Integrated Approach to Trauma Care, Nijmegen, May 1995. Eur J Emerg Med 1995; 2(4):236-238.
- (89) Goris RJ. MODS/SIRS: result of an overwhelming inflammatory response? World J Surg 1996; 20(4):418-421.
- (90) Goris RJ, Boekholtz WK, van Bebber IP, Nuytinck JK, Schillings PH. Multiple organ failure and sepsis without bacteria. An experimental model. Arch Surg 1986; 121(8):897-901.
- (91) Goris RJ, te-Boekhorst TP, Nuytinck JK, Gimbrere JS. Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? Arch Surg 1985; 120(10):1109-1115.

- (92) Grant PJ. Polymorphisms of coagulation/fibrinolysis genes: gene environment interactions and vascular risk. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 57(4-5):473-477.
- (93) Grob PJ, Holch M, Brunner W. Post-traumatic/postoperative immune deficiency syndrome. *Schweiz Med Wochenschr* 1987; 117(13):471-480.
- (94) Gross R. Indices und Scores. *DtArztebl* 1989; 86:1578-1579.
- (95) Haas NP, Hoffmann RF, Mauch C, von Fournier C, Südkamp NP. The management of polytraumatized patients in Germany. *Clin Orthop* 1995;(318):25-35.
- (96) Heiss M, Madler C, Jauch KW. Polytrauma. In: Madler C, Jauch KW, Werdan K, editors. *Das NAW Buch*. München;Wien;Baltimore; Urban&Schwarzenberg, 1994.
- (97) Hoch RC, Rodriguez R, Manning T, Bishop M, Mead P, Shoemaker WC et al. Effects of accidental trauma on cytokine and endotoxin production . *Crit Care Med* 1993; 21(6):839-845.
- (98) Hosmer, Lemeshow. *Applied logistic regression*. SPSS Advanced Statistics 6.1. New York: John Wiley and sons., 1994.
- (99) Hoyt DB, Ozkan AN. Immunosuppression in Trauma Patients. *Intensive Care Med* 1991; 6:71-90.
- (100) Jacobs S, Chang RW, Lee B. One year's experience with the APACHE II severity of disease classification system in a general intensive care unit. *Anaesthesia* 1987; 42(7):738-744.
- (101) Jones GR, Lowes JA. The systemic inflammatory response syndrome as a predictor of bacteraemia and outcome from sepsis. *QJM* 1996; 89(7):515-522.
- (102) Karnik AM, Bashir R, Khan FA, Carvounis CP. Renal involvement in the systemic inflammatory reaction syndrome. *Ren Fail* 1998; 20(1):103-116.
- (103) Keel M, Ecknauer E, Stocker R, Ungethum U, Steckholzer U, Kenney J et al. Different patterns 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.
- (104) Kelso A. Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? *Immunol Today* 1995; 16(8):374-379.
- (105) Kirkpatrick CJ, Bittinger F, Klein CL, Hauptmann S, Klosterhalfen B. The role of the microcirculation in multiple organ dysfunction syndrome (MODS): a review and perspective. *Virchows Arch* 1996; 427(5):461-476.

- (106) Kirkpatrick JR, Youmans RL. Trauma index. An aid in the evaluation of injury victims. *J Trauma* 1971; 11(8):711-714.
- (107) Kirschfink M. Controlling the complement system in inflammation. *Immunopharmacology* 1997; 38(1-2):51-62.
- (108) Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13(10):818-829.
- (109) Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. Prognosis in acute organ-system failure. *Ann Surg* 1985; 202(6):685-693.
- (110) Knaus WA, Wagner DP. Acute physiology and chronic health evaluation and Glasgow coma scores. *Crit Care Med* 1992; 20(12):1736-1738.
- (111) Knaus WA, Wagner DP, Draper EA. The development of APACHE. *Crit Care Med* 1989; 17:181-185.
- (112) Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG et al. The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest* 1991; 100(6):1619-1636.
- (113) Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med* 1981; 9(8):591-597.
- (114) Köhler W. Zum Chi-Quadrat-Test bei Kreuztabellen. *Biostatistik*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1996: 58.
- (115) Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 1988; 53(1):45-53.
- (116) Ksontini R, MacKay SL, Moldawer LL. Revisiting the role of tumor necrosis factor alpha and the response to surgical injury and inflammation. *Arch Surg* 1998; 133(5):558-567.
- (117) Kwok S, Mack DH, Mullis KB, Poesz B, Ehrlich G, Blair D et al. Identification of human immunodeficiency virus sequences by using in vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *J Virol* 1987; 61(5):1690-1694.
- (118) Lauterjung KL, Hofmann GO, Mittlmeier T, Huf R. Thoracic and abdominal injuries in polytrauma. *Chirurg* 1987; 58(10):641-647.
- (119) Law MM, Cryer HG, Abraham E. Elevated levels of soluble ICAM-1 correlate with the development of multiple organ failure in severely injured trauma patients. *J Trauma* 1994; 37(1):100-109.

- (120) Le Gall JR, Klar J, Lemeshow S. The Logistic Organ Dysfunction System. In: Vincent JL, editor. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine. New York: Springer, 1997: 180-194.
- (121) Le Gall JR, Lemeshow S, Leleu G, Klar J, Huillard J, Rue M et al. Customized probability models for early severe sepsis in adult intensive care patients. Intensive Care Unit Scoring Group . JAMA 1995; 273(8):644-650.
- (122) Levine JH, Durham RM, Moran J, Baue A. Multiple organ failure: is it disappearing? World J Surg 1996; 20(4):471-473.
- (123) Lucchesi BR. Complement, neutrophils and free radicals: mediators of reperfusion injury. Arzneimittelforschung 1994; 44(3A):420-432.
- (124) MacKenzie EJ. Injury severity scales: overview and directions for future research. Am J Emerg Med 1984; 2(6):537-549.
- (125) Majetschak M, Flach R, Heukamp T, Jennissen V, Obertacke U, Neudeck F et al. Regulation of whole blood tumor necrosis factor production upon endotoxin stimulation after severe blunt trauma. J Trauma 1997; 43(6):880-887.
- (126) Mammen EF. The haematological manifestations of sepsis. J Antimicrob Chemother 1998; 41 Suppl A:17-24.
- (127) Marshall J. Both the disposition and the means of cure: "Severe SIRS," "sterile shock," and the ongoing challenge of description. Crit Care Med 1997; 25(11):1765-1766.
- (128) Marshall J, Sweeney D. Microbial infection and the septic response in critical surgical illness. Sepsis, not infection, determines outcome. Arch Surg 1990; 125(1):17-22.
- (129) Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome . Crit Care Med 1995; 23(10):1638-1652.
- (130) Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma . Crit Care Med 1997; 25(11):1813-1819.
- (131) McCarter MD, Mack VE, Daly JM, Naama HA, Calvano SE. Trauma-induced alterations in macrophage function. Surgery 1998; 123(1):96-101.
- (132) McMenemy RH, Birkhahn R, Oswald G, Reed R, Rumph C, Vaidyanath N et al. Multiple systems organ failure: I. The basal state. J Trauma 1981; 21(2):99-114.

- (133) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee. Definition for sepsis and organ failure and guidelines for the way of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20:864-874.
- (134) Menges T, Böning O, Little S, Langefeld T, Welters I. Genpolymorphisms of proinflammatory cytokines and serine proteases. Association with prognosis and outcome of trauma patients. *Anaesthesiologie und Intensivmedizin* 1999; 40 Suppl.1:141.
- (135) Menges T, Engel J, Welters I, Wagner RM, Little S, Ruwoldt R et al. Changes in blood lymphocyte populations after multiple trauma: association with posttraumatic complications. *Crit Care Med* 1999; 27(4):733-740.
- (136) Menges T, Kostrzewa M, Welters I, Little S, Wagner RM, Gronau S et al. Association of a bi-allelic NCO I polymorphism within the tumor necrosis factor locus with the prognosis and outcome of severely injured trauma patients. In: Faist E, editor. 4th International Congress on The Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis. Mechanisms and Therapeutic Approaches. Bologna: Monduzzi Editore, 1997: 811-815.
- (137) Messer G, Spengler U, Jung MC, Honold G, Blomer K, Pape GR et al. Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF-beta gene correlates with a variant aminoacid in position 26 and a reduced level of TNF-beta production. *J Exp Med* 1991; 173(1):209-219.
- (138) Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, Revhaug A, O'Dwyer S, Dinarello CA et al. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* 1988; 318(23):1481-1486.
- (139) Michie HR, Spriggs DR, Manogue KR, Sherman ML, Revhaug A, O'Dwyer ST et al. Tumor necrosis factor and endotoxin induce similar metabolic responses in human beings. *Surgery* 1988; 104(2):280-286.
- (140) Moore FA, Moore EE. Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. *Surg Clin North Am* 1995; 75(2):257-277.
- (141) Moore FA, Moore EE, Poggetti R, McAnena OJ, Peterson VM, Abernathy CM et al. Gut bacterial translocation via the portal vein: a clinical perspective with major torso trauma. *J Trauma* 1991; 31(5):629-636.
- (142) Moore FA, Sauaia A, Moore EE, Haenel JB, Burch JM, Lezotte DC. Postinjury multiple organ failure: a bimodal phenomenon. *J Trauma* 1996; 40(4):501-510.
- (143) Moschmeyer G. Sepsistherapie der Zukunft. *Krankenhauspharmazie* 1996; 17:230-233.

- (144) Muckart DJ, Bhagwanjee S. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients . *Crit Care Med* 1997; 25(11):1789-1795.
- (145) Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. In: Wu R, editor. *Methods in Enzymology*. San Diego: Academic Press, 1987.
- (146) Munford RS. Sepsis and Septic Shock. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JE, Fauci AS, Kasper DL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill, 1994: 511-515.
- (147) Munoz C, Misset B, Fitting C, Bleriot JP, Carlet J, Cavaillon JM. Dissociation between plasma and monocyte-associated cytokines during sepsis. *Eur J Immunol* 1991; 21(9):2177-2184.
- (148) Nathens AB, Marshall JC. Sepsis, SIRS, and MODS: what's in a name? *World J Surg* 1996; 20(4):386-391.
- (149) Nerlich M, Flynn J, Demling RH. Effect of thermal injury on endotoxin-induced lung injury. *Surgery* 1983; 93(2):289-296.
- (150) Nerlich ML, Tscherne H. A trauma algorithm--a decision tool in first aid for severely injured patients. *Zentralbl Chir* 1987; 112(23):1465-1472.
- (151) Oestern HJ, Kabus K, Neumann G. Der Hannoversche Polytraumaschlüssel. *Hefte Unfallheilkunde* 1991; 97:210-215.
- (152) Oestern HJ, Tscherne H, Sturm J, Nerlich M. Classification of the severity of injury. *Unfallchirurg* 1985; 88(11):465-472.
- (153) Oh TE, Hutchinson R, Short S, Buckley T, Lin E, Leung D. Verification of the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation scoring system in a Hong Kong intensive care unit . *Crit Care Med* 1993; 21(5):698-705.
- (154) Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, Suffredini AF, Danner RL, Cunnion RE et al. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy . *Ann Intern Med* 1990; 113(3):227-242.
- (155) Pine RW, Wertz MJ, Lennard ES, Dellinger EP, Carrico CJ, Minshew BH. Determinants of organ malfunction or death in patients with intra-abdominal sepsis. A discriminant analysis. *Arch Surg* 1983; 118(2):242-249.
- (156) Pinsky MR. Clinical studies on cytokines in sepsis: role of serum cytokines in the development of multiple-systems organ failure. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9 Suppl 4:94-98.

- (157) Pinsky MR. Balancing the inflammatory response in sepsis. In: Vincent JL, editor. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine. New York: Springer, 1998: 3-13.
- (158) Pittet D, Rangel FS, Li N, Tarara D, Costigan M, Rempe L et al. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients . Intensive Care Med 1995; 21(4):302-309.
- (159) Pociot F, Wilson AG, Nerup J, Duff GW. No independent association between a tumor necrosis factor-alpha promoter region polymorphism and insulin-dependent diabetes mellitus. Eur J Immunol 1993; 23(11):3050-3053.
- (160) Polk-HC J, Shields CL. Remote organ failure: a valid sign of occult intra-abdominal infection. Surgery 1977; 81(3):310-313.
- (161) Pontoppidan H, Geffin B, Lowenstein E. Acute respiratory failure in the adults. N Engl J Med 1972; 287(15):743-752.
- (162) Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study . JAMA 1995; 273(2):117-123.
- (163) Regel G, Grotz M, Weltner T, Sturm JA, Tscherne H. Pattern of organ failure following severe trauma. World J Surg 1996; 20(4):422-429.
- (164) Regel G, Lobenhoffer P, Grotz M, Pape HC, Lehmann U, Tscherne H. Treatment results of patients with multiple trauma: an analysis of 3406 cases treated between 1972 and 1991 at a German Level I Trauma Center. J Trauma 1995; 38(1):70-78.
- (165) Regel G, Sturm JA, Pape HC, Gratz KF, Tscherne H. Multiple organ failure. Reflection of generalized cell damage of all organs following severe trauma. Unfallchirurg 1991; 94(10):487-497.
- (166) Rixen D, Siegel JH, Friedman HP. "Sepsis/SIRS," physiologic classification, severity stratification, relation to cytokine elaboration and outcome prediction in posttrauma critical illness. J Trauma 1996; 41(4):581-598.
- (167) Rossi M, Whitcomb S, Lindemann R. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha production by human monocytes cultured with L-thyroxine and thyrocalcitonin: relation to severe root shortening. Am J Orthod. Dentofacial Orthop 1996; 110(4):399-404.
- (168) Roumen RM, Hendriks T, van d, V, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW et al. 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.

(169) Rutledge R, Fakhry SM, Rutherford EJ, Muakkassa F, Baker CC, Koruda M et al. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II) score and outcome in the surgical intensive care unit: an analysis of multiple intervention and outcome variables in 1,238 patients. *Crit Care Med* 1991; 19(8):1048-1053.

(170) Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230(4732):1350-1354.

(171) Salvo I, de Cian W, Musicco M, Langer M, Piadena R, Wolfler A et al. The Italian SEPSIS study: preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 1995; 21 Suppl 2:S244-S249.

(172) Sands KE, Bates DW, Lanken PN, Graman PS, Hibberd PL, Kahn KL et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *JAMA* 1997; 278(3):234-240.

(173) Santtila S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand J Immunol* 1998; 47(3):195-198.

(174) Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Lezotte DC. Early risk factors for postinjury multiple organ failure. *World J Surg* 1996; 20(4):392-400.

(175) Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Moser KS, Brennan R, Read RA et al. Epidemiology of trauma deaths: a reassessment. *J Trauma* 1995; 38(2):185-193.

(176) Schimpff SC, Miller RM, Polkavetz S, Hornick RB. Infection in the severely traumatized patient. *Ann Surg* 1974; 179(3):352-357.

(177) Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood* 1990; 75(1):40-47.

(178) Schinkel C, Faist E, Zimmer S, Piltz S, Walz A, Rose R et al. Kinetics of circulating adhesion molecules and chemokines after mechanical trauma and burns. *Eur J Surg* 1996; 162(10):763-768.

(179) Schirmer WJ, Schirmer JM, Fry DE. Recombinant human tumor necrosis factor produces hemodynamic changes characteristic of sepsis and endotoxemia. *Arch Surg* 1989; 124(4):445-448.

- (180) Schlag G, Redl H. Mediators of injury and inflammation. *World J Surg* 1996; 20(4):406-410.
- (181) Schlag G, Redl H, Hallstrom S. The cell in shock: the origin of multiple organ failure. *Resuscitation* 1991; 21(2-3):137-180.
- (182) Schlag G, Redl H, Radmore K, Davies J. Bacterial translocation in a baboon model of hypovolemic/traumatic shock. *Circ Shock* 1989; 27:331-337.
- (183) Schleiffenbaum B, Spertini O, Tedder TF. Soluble L-selectin is present in human plasma at high levels and retains functional activity. *J Cell Biol* 1992; 119(1):229-238.
- (184) Schlüter B, König B, Bergmann U, Müller FE, König W. Interleukin 6--a potential mediator of lethal sepsis after major thermal trauma: evidence for increased IL-6 production by peripheral blood mononuclear cells. *J Trauma* 1991; 31(12):1663-1670.
- (185) Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21(9):1376-1386.
- (186) Schottmüller H. Wesen und Behandlung der Sepsis. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1914; 31:257-259.
- (187) Schraut W, Wendelgass P, Calzada-Wack JC, Frankenberger M, Ziegler-Heitbrock HW. TNF gene expression in monocytes of low and high responder individuals. *Cytokine* 1997; 9(3):206-211.
- (188) Schuster HP. Score systems optimize intensive care medicine. *Med Klin* 1988; 83(2):68-70,77.
- (189) Schuster HP, Müller-Werdan U. Abriss der Pathophysiologie als Grundlage der Therapie. In: Schuster HP, Werdan K, editors. *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 1999: 27-72.
- (190) Schuster HP, Müller-Werdan U. Definitionen und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen. In: Schuster HP, Werdan K, editors. *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 1999: 3-26.
- (191) Seeger W. Sepsis oder SIRS: Problem der Definition. *MMW* 1993; 10:121-122.
- (192) 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.
- (193) Simms HH, D'Amico R. Polymorphonuclear leukocyte dysregulation during the systemic inflammatory response syndrome. *Blood* 1994; 83(5):1398-1407.

- (194) Skillman JJ, Bushnell LS, Goldman H, Silen W. Respiratory failure, hypotension, sepsis, and jaundice. A clinical syndrome associated with lethal hemorrhage from acute stress ulceration of the stomach. *Am J Surg* 1969; 117(4):523-530.
- (195) Smail N, Messiah A, Edouard A, Descorps DA, Duranteau J, Vigue B et al. Role of systemic inflammatory response syndrome and infection in the occurrence of early multiple organ dysfunction syndrome following severe trauma. *Intensive Care Med* 1995; 21(10):813-816.
- (196) Statistisches B. Todesursachenstatistik. Statistisches B, editor. 1999. Wiesbaden.
- (197) Stüber F, Petersen M, Bokelmann F, Schade U. A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 1996; 24(3):381-384.
- (198) Stüber F, Udalova IA, Book M, Drutskaya LN, Kuprash DV, Turetskaya RL et al. -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J Inflamm* 1995; 46(1):42-50.
- (199) Sturm J, Tscherne H. Polytrauma. In: Benzer H, Burchardi H, Larsen R, Suter P, editors. *Intensivmedizin*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer., 1993.
- (200) Suter P, Armaganidis A, Beaufils F, Bonfill H, Burchardi H, Cook D et al. Consensus Conference organized by the ESICM and SRLF: Predicting outcome in ICU patients. *Intensive Care Med* 1994; 20:390-397.
- (201) Takakuwa T, Endo S, Inada K, Kasai T, Yamada Y, Ogawa M. Assessment of inflammatory cytokines, nitrate/nitrite, type II phospholipase A2, and soluble adhesion molecules in systemic inflammatory response syndrome. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997; 98(1):43-52.
- (202) Tan LR, Waxman K, Scannell G, Ioli G, Granger GA. Trauma causes early release of soluble receptors for tumor necrosis factor. *J Trauma* 1993; 34(5):634-638.
- (203) Tejjink JA, Dwars BJ, Patka P, Haarman HJ. Scoring multitrauma patients: which scoring system? *Injury* 1993; 24(1):13-16.
- (204) Thofern E, Botzenhardt K. *Hygiene und Infektion im Krankenhaus*. Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1983.
- (205) 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.

- (206) Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986; 234(4775):470-474.
- (207) Tracey KJ, Lowry SF, Fahey TJ, Albert JD, Fong Y, Hesse D et al. Cachectin/tumor necrosis factor induces lethal shock and stress hormone responses in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164(5):415-422.
- (208) Tran DD, Cuesta MA, van Leeuwen PA, Nauta JJ, Wesdorp RI. Risk factors for multiple organ system failure and death in critically injured patients. *Surgery* 1993; 114(1):21-30.
- (209) Tscherne H, Trentz O, Sturm J. Mehrfachverletzungen. In: Heberer G, Köle, Tscherne H, editors. *Lehrbuch der Chirurgie*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 1986: 720-725.
- (210) van der PT, Lowry SF. Tumor necrosis factor in sepsis: mediator of multiple organ failure or essential part of host defense?. *Shock* 1995; 3(1):1-12.
- (211) Van Zee KJ, Kohno T, Fischer E, Rock CS, Moldawer LL, Lowry SF. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(11):4845-4849.
- (212) Vincent JL. Prevention and therapy of multiple organ failure. *World J Surg* 1996; 20(4):465-470.
- (213) Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med* 1997; 25(2):372-374.
- (214) Vincent JL, Bakker J, Marecaux G, Schandene L, Kahn RJ, Dupont E. Administration of anti-TNF antibody improves left ventricular function in septic shock patients. Results of a pilot study. *Chest* 1992; 101(3):810-815.
- (215) Volk HD, Reinke P, Krausch D, Zuckermann H, Asadullah K, Müller JM et al. Monocyte deactivation--rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. *Intensive Care Med* 1996; 22 Suppl 4:S474-S481.
- (216) Waage A, Aasen AO. Different role of cytokine mediators in septic shock related to meningococcal disease and surgery/polytrauma. *Immunol Rev* 1992; 127:221-230.
- (217) Wade S, Bussow M, Hanisch E. Epidemiology of systemic inflammatory response syndrome, infection and septic shock in surgical intensive care patients. *Chirurg* 1998; 69(6):648-655.

- (218) Wadhwa J, Sood R. Multiple organ dysfunction syndrome. *Natl Med J India* 1997; 10(6):277-282.
- (219) Wahl SM. Transforming growth factor beta (TGF-beta) in inflammation: a cause and a cure. *J Clin Immunol* 1992; 12(2):61-74.
- (220) Wang P, Ba ZF, Morrison MH, Ayala A, Dean RE, Chaudry IH. Mechanism of the beneficial effects of ATP-MgCl₂ following trauma-hemorrhage and resuscitation: downregulation of inflammatory cytokine (TNF, IL-6) release. *J Surg Res* 1992; 52(4):364-371.
- (221) Waxman K. Shock: ischemia, reperfusion, and inflammation. *New Horiz* 1996; 4(2):153-160.
- (222) Waydhas C, Nast KD, Jochum M, Trupka A, Lenk S, Fritz H et al. Inflammatory mediators, infection, sepsis, and multiple organ failure after severe trauma. *Arch Surg* 1992; 127(4):460-467.
- (223) Waydhas C, Nast KD, Ruchholtz S, Schweiberer L. Practical and theoretical limits of score systems. *Unfallchirurg* 1994; 97(4):185-190.
- (224) Wolff G, Dittmann M, Frede KE. Clinical management of the patient with multiple injuries. Indications for priorities and therapeutic plan. *Chirurg* 1978; 49(12):737-744.
- (225) 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.
- (226) Yoshiaki T, Torti FM. Tumor necrosis factor structure and function. In: Kunkel SL, Rernick WG, editors. *Cytokines in Health and Diseases*. New York: Moral Dekker Int., 1992: 131-151.
- (227) Zenker W, Havemann D, Besch L. Patterns of injuries: a guideline for evaluation of multiple injuries? *Unfallchirurgie* 1992; 18(2):69-74.
- (228) Zimmerman JE, Knaus WA, Sun X, Wagner DP. Severity stratification and outcome prediction for multisystem organ failure and dysfunction. *World J Surg* 1996; 20(4):401-405.
- (229) Zimmerman JE, Knaus WA, Wagner DP, Sun X, Hakim RB, Nystrom PO. A comparison of risks and outcomes for patients with organ system failure: 1982-1990. *Crit Care Med* 1996; 24(10):1633-1641.
- (230) Zimmerman JE, Shortell SM, Rousseau DM, Duffy J, Gillies RR, Knaus WA et al. Improving intensive care: observations based on organizational case studies in nine intensive care units: a prospective, multicenter study. *Crit Care Med* 1993; 21(10):1443-1451.

(231) Zwaveling JH, Maring JK, Mulder AB, Bom VJ, van Ginkel RJ, Schraffordt KH et al. Effects of hyperthermic isolated limb perfusion with recombinant tumor necrosis factor alpha and melphalan on the human fibrinolytic system. *Cancer Res* 1996; 56(17):3948-3953.

9 Anhang

9.1 Klinische Kriterien der Sepsis

- Infektiöse Ätiologie der Inflammation
- Mikrobiologisch dokumentierte Infektion oder Infektion nach klinischen Kriterien
- Schwere inflammatorische Wirtsreaktion [mind. 2 Kriterien]
- Fieber: Körperkerntemperatur $>38^{\circ}\text{C}$ oder
- Hypothermie: Körperkerntemperatur $< 36^{\circ}\text{C}$
- Tachykardie: Kammerfrequenz $> 90/\text{min}$
- Tachypnoe: > 20 Atemzüge/min oder
- Hyperventilation: $\text{PaCO}_2 < 4,3 \text{ kPa}$ ($=33 \text{ mmHg}$)
- Leukozytose $> 12 \text{ G/l}$ oder
- Leukopenie $< 4 \text{ G/l}$ oder
- Linksverschiebung im Differentialblutbild [unreife/Gesamtzahl der neutrophilen Granulozyten $> 0,1$]
- Zeichen der generalisierten Inflammation: akute infektiösferne Organdysfunktionen/-versagen [mind. 1 Kriterium]
- Akute Enzephalopathie: reduzierte Vigilanz, Desorientierung, Unruhe, Delir (bei fehlender Beeinflussung durch psychotrope Pharmaka, endokrine oder metabolische Ursachen)
- Arterielle Hypotension: systolischer Blutdruck zumindest 1 Stunde lang $< 90 \text{ mmHg}$ bei einem zuvor normotensiven Patienten oder ein anhaltender Blutdruckabfall $> 40 \text{ mmHg}$ gegenüber dem Ausgangsblutdruck

Bei Abwesenheit anderer Schockursachen

- Relative oder absolute Thrombozytopenie: Thrombozytenabfall $> 30\%/24\text{h}$ oder Thrombozytenzahl $< 100 \text{ G/l}$

Ohne Blutverluste als Ursache

- Arterielle Hypoxämie: $\text{PaO}_2 < 10 \text{ kPa}$ ($=75 \text{ mmHg}$) unter Atmung von Raumluft oder
- $\text{PaO}_2 [\text{kPa}]/\text{FiO}_2 < 33\text{kPa}$ [$=\text{PaO}_2\text{mmHg}/\text{FiO}_2 < 250 \text{ mmHg}$] unter Sauerstoffsupplementierung

Ohne manifeste pulmonale oder kardiale Erkrankung als Ursache

- Renale Dysfunktion/Oligurie: Urinausscheidung $< 0,5 \text{ ml/kg KG}$ zumindest für 2 Stunden oder
- ein Abfall der Kreatininclearance
- Metabolische Azidose: negativer base excess $> 5 \text{ mmol/l}$, der nicht anderweitig erklärbar ist oder
- eine Laktatkonzentration im Plasma außerhalb des Referenzbereiches des jeweiligen Labors.

9.2 Klinische Kriterien des septischen Schocks

Kriterium 1, 2, 3 und 4 sowie

Zumindest 2 Stunden lang bestehender systolischer arterieller Blutdruck $< 90 \text{ mmHg}$ ohne Ansprechen auf eine adäquate Volumentherapie oder

Einsatz von α -adrenerg wirksamen Katecholaminen erforderlich, um den mittleren arteriellen Blutdruck auf $> 60 \text{ mmHg}$ anzuheben und zu stabilisieren [nicht berücksichtigt wird eine Dopamindosis $< 5 \mu\text{g/kg KG}$]

9.3 Abkürzungsverzeichnis

AaDO ₂	Alveolo-artrielle Sauerstoffdifferenz
AIS	Abbreviated injury scale
APACHE	Acute physiology, age and chronic health evaluation
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
AVDO ₂	Arteriovenöse Sauerstoffdruckdifferenz
BIPAP	Biphasic positive airway pressure
CARS	Compensatory antiinflammatory response syndrome
CI	Cardiac index
CPAP	Continuous positive airway pressure
DIC	Disseminated intravascular coagulation
DNA	Desoxyribonucleic acid
DO ₂	Oxygen Delivery
EKG	Elektrokardiogramm
ELAM	Endothelial leukocyte adhesion molecule
ELISA	Enzym linked immunosorbent assay
FiO ₂	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
GCS	Glasgow coma score
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex
HZV	Herzzeitvolumen
ICAM	Intracellular adhesion molecule
I/R	Ischämie/Reperfusion
ICU	Intensive care unit
IL	Interleukin
ISS	Injury severity score
LAP	Linksatrialer Druck
MAb	Monoclonal antibody
MAP	Mean arterial pressure
MARS	Mixed antagonist response syndrome
MODS	Multiple organ dysfunction syndrome
MOF	Multi organ failure
MOV	Multi Organ Versagen
NF-κB	Nuclear factor kappa B
O ₂	Oxygen
PaCO ₂	Arterieller Kohlenstoffpartialdruck

PaO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAF	Platelet activating factor
PAP	Pulmonary artery pressure
PAW	Pulmonalarterieller Verschlußdruck
PEEP	Positive end-expiratory pressure
PGE	Prostaglandine E
PMN	Polymorphonuclear leukocyte
PTS	Polytrauma Schlüssel
PVR	Pulmonary vascular resistance
QS:QT	Pulmonales Shuntvolumen
RES	Retikulo-endotheliales System
SHT	Schädelhirntrauma
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SSS	Simplified severity score
SVR	Systemic vascular resistance
TNF	Tumor necrosis factor
VCAM	Vascular adhesion molecule
VO ₂	Oxygen consumption/uptake
XO	Xantine oxidase
ZNS	Zentralnervensystem
ZVD	Zentral venöser Druck

9.4 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des TNF alpha und des TNF beta Gens	42
Abbildung 2: TNF beta Gelelektrophorese	81
Abbildung 3: Verteilung der Unfallmechanismen.	86
Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der Verletzungen innerhalb der Patientengruppen.	87
Abbildung 5: Prozentuale Verteilung der Operationen innerhalb des Meßzeitraumes, gemessen an der Gesamtzahl der Operationen innerhalb der einzelnen Gruppen.....	89
Abbildung 6: Plasmaspiegel TNF α	96
Abbildung 7: Plasmaspiegel sTNF α rI.....	97
Abbildung 8: Plasmaspiegel sTNF α rII.	98

9.5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Injury-Severity-Score (ISS) nach Baker et al. (1974)(14).....	50
Tabelle 2: Polytrauma-Schlüssel (PTS) nach Oestern et al.(1991)(151)	51
Tabelle 3: Acute-Physiology-Score des APACHE-II nach Knaus et al. (1985)(108).....	59
Tabelle 4: APACHE-III-Score nach Knaus et al. (1991)(112).....	61
Tabelle 5: MOF-Score nach Goris (1985)(91)	62
Tabelle 6: Morphometrische Daten der Patientengruppen bei TNF β -Genotypisierung.....	85
Tabelle 7: Keimspektrum der Patienten bei TNF β -Genotypisierung.....	91
Tabelle 8: Häufigkeit von Organdysfunktionen (%) der Patienten bei TNF β - Genotypisierung	92
Tabelle 9: Folgen des Polytraumas in Abhängigkeit des TNF β -Genotyps	92
Tabelle 10: Patienten verstorben/überlebt [Prozentwerte sind Prozentwerte der Spalten]	94
Tabelle 11: Sepsis [Prozentwerte sind Prozentwerte der Spalten]	95
Tabelle 12: MOD [Prozentwerte sind Prozentwerte der Spalten]	95
Tabelle 13: TNF β Meßwiederholungsstudie [ersten 14 Zeitpunkte]; [Tests beziehen sich auf die logarithmierten Werte].	99
Tabelle 14: Multiplikatoren zur Abschätzung des Risikos.....	100
Tabelle 15: Multiplikatoren zur Risikobeurteilung für einen Code	101
Tabelle 16: Die Tabelle zeigt unterschiedliche Ergebnisse zur Messung zirkulierender TNF- α -Spiegel bei verschiedenen Patienten-Populationen.	119

9.6 Lebenslauf

Name:	Olav Böning
Geburtstag:	14 Januar 1967
Geburtsort:	Jugenheim
Schulbildung:	
1971 - 1972	Vorschule, École maternelle Francaise de Carthage-Bursa, Karthago, Tunesien
1972	Grundschule, Allendorf an der Lumda, Deutschland
1973 - 1976	Grundschule, École primaire d'Application de Gros Bouquet, Libreville, Gabun
1976 - 1978	Grundschule, Leihgestern, Deutschland
1978 – 1984	Gymnasium, Herderschule, Giessen, Deutschland
1984 - 1985	Highschool, Cartersville, Georgia, USA
1985 - 1988	Gymnasium, Herderschule, Giessen, Deutschland
Juni 1988	Abitur
Zivildienst:	
Aug. 1988 – Mrz. 1990	Zivildienst bei der Johanniter-Unfall-Hilfe in Giessen mit Ausbildung zum Rettungsassistenten
Hochschulbildung:	
Apr. 1990 – Nov. 1997	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität, Giessen
März 1993	Ärztliche Vorprüfung
November 1997	Abschluss der Ärztlichen Prüfung
Berufsausbildung:	
Jan. 1998 – Jun. 1999	Arzt im Praktikum in der Abteilung Anästhesiologie, Intensivmedizin, Schmerztherapie des Universitätsklinikums der Justus-Liebig-Universität Giessen
seit Juli 1999	Arzt in der Abteilung Anästhesiologie, Intensivmedizin, Schmerztherapie des Universitätsklinikums der Justus-Liebig-Universität Giessen
Jan. 2002 – Jan.. 2003	Aufbaustudium Gesundheitsökonomie an der European Business School, Oestrich-Winkel
Januar 2002	Abschlussprüfung Gesundheitsökonomie
November 2003	Facharzt für Anästhesie

9.7 Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr.Dr. Hempelmann, der die Realisierung dieser Arbeit ermöglicht hat. Weiterhin gilt mein Dank Herrn PD Dr. Menges für die fachliche Betreuung und Unterstützung und Herrn Dr. Simon Little für die Zusammenarbeit bei der Durchführung unserer gemeinsamen Studien.

Herrn Dipl. Math. J. Reitze und Herrn Dipl. Math. M. Mogk [Büro für Statistik, Gießen] sei herzlich gedankt für ihre Hilfe bei der Erstellung der Statistik.

Herrn Dr. Christoph Neuhäuser und Herrn PD. Dr. Axel Junger möchte ich für ihre wertvolle und freundschaftliche Hilfe bei der Fertigstellung dieser Promotionsarbeit danken.