

Aus dem Institut für chirurgische Forschung
der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des
Universitätsklinikums Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. med. Jakob R. Izbicki)
der Universität Hamburg

**Der Einfluss der kontinuierlichen veno-venösen
Hämofiltration auf die Entwicklung und den
Verlauf der experimentell induzierten,
hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis am
Schweinemodell**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin,
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg
vorgelegt von

Hendrik Treede
aus Elmshorn / Schleswig-Holstein
Hamburg, 2004

Verwendete Abkürzungen:

ANV	Akutes Nierenversagen
AP	Arterieller Druck
ARDS	Adult Respiratory Distress Syndrome
CPFA	Kombinierte Plasmafiltration und -adsorption
CRP	C-reaktives Peptid
CVVHF	Kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration
CVVHDF	Kontinuierliche veno-venöse Hämodiafiltration
FIO ₂	Inspiratorischer Sauerstoffgehalt
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
IL	Interleukin
KG	Körpergewicht
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MG	Molgewicht
MOV	Multiorganversagen
PAF	Platelet-Activating-Factor
PaO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	Pulmonalarterieller Druck
PCWP	Pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PEEP	Positiver endexpiratorischer Druck
PLA ₂	Phospholipase A ₂
PVR	Pulmonalvaskulärer Widerstand
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SV	Schlagvolumen

SVR	Systemischer Gefäßwiderstand
TAP	Trypsinogen Aktivierendes Peptid
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
VIP	Vasointestinales Polypeptid
ZVD	Zentralvenöser Druck

INHALTSVERZEICHNIS

A. ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG

B. EINLEITUNG

C. MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchsaufbau und Ablauf
 - 1.1. Versuchstiere
 - 1.2. Biometrisches Design
 - 1.3. Narkose und Beatmung
 - 1.4. Präparation
2. Monitoring
 - 2.1. Hämodynamik
 - 2.2. Gasaustausch
3. Hämofiltration
4. Induktion der Pankreatitis
5. Biochemische Untersuchungen
 - 5.1. Probenentnahmen
 - 5.2. Pankreasenzyme
 - 5.2.1. Allgemeiner Teil
 - 5.2.2. Bestimmung der Lipase
 - 5.2.3. Bestimmung der Phospholipase A₂ (PLA₂)
 - 5.2.4. Bestimmung des Trypsinogen aktivierenden Peptids
(TAP)
 - 5.3. Kallikrein - Kinin System
 - 5.3.1. Allgemeiner Teil

- 5.3.2 Bestimmung von Kinin
- 5.4. C-reaktives Protein (CRP)
 - 5.4.1. Allgemeiner Teil
 - 5.4.2. Bestimmung des CRP
- 5.5. Leukocyte neutral proteinase inhibitor (LNPI)
 - 5.5.1. Allgemeiner Teil
 - 5.5.2. Bestimmung des LNPI
- 6. Versuchsdurchführung und -ablauf
- 7. Statistik

D. ERGEBNISSE

- 1. Überlebenszeiten
- 2. Hämodynamik
- 3. Gasaustausch
- 4. Hämokonzentration und Proteinverlust
- 5. Biochemische Parameter
 - 5.1. Pankreas Enzyme
 - 5.1.1. Lipase
 - 5.1.2. PLA2
 - 5.1.3. TAP
 - 5.2. Kinin
 - 5.3. C-reaktives Protein
 - 5.4. Leukocyte neutral proteinase inhibitor (LNPI)

E. DISKUSSION

1. Allgemeiner Teil
2. Diskussion der Methode
 - 2.1. Versuchstier
 - 2.2. Anästhesie
 - 2.3. Modell der NaT-EK Pankreatitis
3. Diskussion der Ergebnisse
 - 3.1. Überlebenszeiten, Hämodynamik und Gasaustausch
 - 3.2. Biochemische Parameter

F. ZUSAMMENFASSUNG

G. LITERATURVERZEICHNIS

H. DANKSAGUNG

I. LEBENSLAUF

A. ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG

Die hier vorgelegte experimentelle Arbeit beschäftigt sich mit der Möglichkeit einer Elimination von Entzündungsmediatoren aus dem Blut von Schweinen mit schwerer nekrotisierender Pankreatitis über den Weg der kontinuierlichen venovenösen Hämofiltration (CVVH).

Die experimentell induzierte Pankreatitis diente im Versuchsaufbau als Auslöser für ein schweres Sepsis-artiges Krankheitsbild mit kaskadenhafter Aktivierung und Expression von Kininen, Zytokinen und anderen proinflammatorischen Mediatoren. Ausgehend von der Hypothese, dass das massenhafte Ausschwemmen inflammatorischer Mediatoren konsekutiv zu einem Multiorganversagen der Versuchstiere führt, sollte überprüft werden, ob eine Entfernung filtrierbarer Mediatoren durch die CVVH ein solches Multiorganversagen verzögern kann.

Überprüft werden sollte, ob es durch Hämofiltration zu einer relevanten Reduktion filtrierbarer Mediatoren im Blut der Versuchstiere kommt. Ein möglicher Einfluss des zeitlichen Beginns der Hämofiltration wurde untersucht, indem neben der unbehandelten Kontrollgruppe zwei Therapiegruppen mit unterschiedlichen Zeitpunkten des Beginns der Hämofiltration eingerichtet wurden. Zur Überprüfung der Hypothesen wurden die Überlebenszeiten in den einzelnen Versuchsgruppen registriert, sowie verschiedenste hämodynamische und laborchemische Parameter bestimmt.

Der theoretische Hintergrund der Studie, sowie der Versuchsaufbau und die Versuchsergebnisse werden in der Promotionsarbeit erläutert und im Zusammenhang diskutiert.

B. EINLEITUNG

Die Idee einer Detoxifikation des Blutes septischer Patienten wird seit mehr als zehn Jahren lebhaft diskutiert. Wird Sepsis mit Septikämie gleichgesetzt, zielt der Behandlungsansatz auf die Entfernung von Bakterien und ihrer Toxine aus dem Kreislauf. Es zeigte sich allerdings, dass bei einem Großteil der Patienten mit schweren Sepsis ähnlichen Krankheitsbildern weder eine Bakteriämie noch bakterielle Toxine im Blut nachgewiesen werden konnten. Die mit solchen Krankheitsbildern einhergehenden Prozesse erwiesen sich demnach als Folge einer Art intravaskulären Inflammation als Folge eines kaskadenhaften Anstiegs von proinflammatorischen Mediatoren im Blut der Patienten.

Mit zunehmender Zahl von isolierten Mediatoren, die bei einer Sepsis nachgewiesen werden können, wurde klar, dass eine spezifische Inhibition einzelner Mediatoren durch Antikörper oder Rezeptorantagonisten keinen relevanten Einfluss auf die Entwicklung und den Verlauf einer schweren Sepsis mit Multi-Organ Versagen (MOV) haben kann. Die Möglichkeit, ein möglichst breites Spektrum solcher Mediatoren aus dem Blut zu eliminieren, ließ den Einsatz der Hämofiltration als Blutreinigungsverfahren mit der Möglichkeit der Elimination auch größerer Moleküle (bis 40000 Dalton) vielversprechend erscheinen. Theoretisch können nahezu alle Zytokine dem Patientenblut durch Hämofiltration entzogen werden (Bellomo 1995). Eine Art Autoregulation des Sepsisprozesses durch gleichmäßiges Entfernen von sepsisrelevanten pro- und antiinflammatorischen Komponenten wäre die Folge. Im heutigen Verständnis des septiformen Krankheitsbildes spielt nicht nur der gedankliche Ansatz einer unkontrollierten intravasalen Inflammation eine Rolle, auch die durch eine Sepsis induzierte Immunsuppression trägt ihren Teil zum oft deletären Verlauf bei. Neutrophile Granulozyten als Immuneffektorzellen büßen ihre Funktion ein oder führen auf Grund ihrer zytotoxischen Wirkung zu einem irreversiblen Gewebsschaden. Die Folge sind Infektionen, fortschreitende Inflammation und Gewebsschäden an lebenswichtigen Organen (Bone 1996). Die akute nekrotisierende Pankreatitis birgt besonders in ihren schweren Verlaufsformen ein hohes Risiko für die Entwicklung einer schweren Sepsis und zeigt bei Patienten mit MOV einen oft letalen Verlauf.

Die jährliche Inzidenz der akuten Pankreatitis beträgt derzeit etwa 0,5 - 1 % (Cavallini 1987, O`Sullivan 1972). Ca. 25 % dieser Patienten entwickeln lokale Komplikationen im Sinne von Nekrosen oder Abszessen oder, bei schweren Verläufen, sekundäre Organkomplikationen bis hin zum Multiorganversagen (MOV). Die Letalität schwerer klinischer Verlaufsformen, die morphologisch mit einer hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis einhergehen, wird mit bis zu 50 % angegeben (Fölsch 1992).

Im Allgemeinen gilt als gemeinsames charakteristisches Merkmal der akuten Pankreatitis die Autodigestion des Pankreasgewebes durch die pathologische Aktivierung organeigener Enzyme. Unter klinisch-morphologischen Gesichtspunkten lässt sich die akute Pankreatitis in drei unterschiedliche Schweregrade einteilen (Klose 1983, Kümmerle 1975):

- Grad I: ödematöse Pankreatitis
- Grad II: partiell-nekrotisierende Pankreatitis
- Grad III: subtotale oder totale Organnekrose

Das Hauptaugenmerk dieser Studie richtet sich auf den Grad III der Erkrankung, die schwere hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis. Grundsätzlich lässt sich der Spontanverlauf dieser Form in eine toxische Früh- und eine septische Spätphase einteilen. Hierbei ist eine sekundäre Keimbesiedlung primär steriler Nekrosen als ursächlich für septische Spätkomplikationen zu betrachten.

Die Therapie der schweren Pankreatitis war in den letzten Jahrzehnten vielfältigen Wandlungen unterzogen. Strittig ist vor allem der Stellenwert chirurgischer Maßnahmen bei Patienten, die trotz frühzeitiger intensivmedizinischer Behandlung ein MOV entwickeln. Das Spektrum chirurgischer Therapieansätze reicht von aggressiven chirurgischen Sanierungsversuchen noch vor Eintritt sekundärer Organkomplikationen (Kümmerle 1975, Roscher 1989) bis zu einem grundsätzlich nicht-chirurgischen Therapiekonzept, welches lediglich beim definitiven bakteriologischen Nachweis einer Sekundärinfektion pankreatogener Nekrosen chirurgischen Handlungsbedarf sieht (Gebhardt 1994).

Operative Maßnahmen gründen sich auf die Überlegung, dass es durch eine Sanierung des lokalen Entzündungsherdes zu einer Verbesserung sekundär gestörter Organfunktionen kommt. Ausgangspunkt dieser Einschätzung ist die Tatsache, dass der ausgedehnte Zelluntergang im Pankreas und im peripankreatischen Gewebe im Verlauf einer schweren Pankreatitis zur Freisetzung hochpotenter Zellbestandteile führt. Letztere führen zu einer kaskadenartige Aktivierung von Akutphaseproteinen, Toxinen und Sepsismediatoren, die ihrerseits nach Eintritt in den Systemkreislauf das sekundäre MOV in Gang setzen und unterhalten.

Dem chirurgischen Anspruch, durch eine Fokussanierung eine septisch-toxische Verlaufsform durchbrechen zu können, steht der auch unter aggressiven chirurgischen Maßnahmen oft deletäre Verlauf der Pankreatitis entgegen. Demgegenüber berichten jüngere Studien über bemerkenswerte Erfolge in der nicht-chirurgischen Therapie der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis durch konsequente intensivmedizinische Therapie unter Einschluss der Hämofiltration. Grundsätzlich wird auch in diesen Studien davon ausgegangen, dass ein im Rahmen einer schweren Pankreatitis eintretendes MOV Folge einer kaskadenartigen Mediatoraktivierung ist (Blinzler 1991, Gebhardt 1994).

Zugrunde liegendes Prinzip der Hämofiltration ist ein konvektiver Transport von Plasmateilchen durch den Hämofilter entlang des durch die Rollerpumpe aufgebauten Druck-/Konzentrationsgefälles an der Membran. Die Zusammensetzung des abgepressten Hämofiltrats wird dabei durch die Porengröße des eingesetzten Hämofilters bestimmt. Die Menge des entstehenden Filtrats ist abhängig vom Blutfluss, der durch die Laufgeschwindigkeit der Rollerpumpe reguliert wird.

Der Fortschritt in der Entwicklung der eingesetzten Hämofilter hat das Spektrum der prinzipiell eliminierbaren Stoffe zunehmend erweitert und damit auch das Indikationsspektrum für den Einsatz der Hämofiltration verändert. Filter der neuen Generation mit einer Porengröße von ca. 40000 D erlauben auch die Elimination von Plasmabestandteilen deren Molgewicht (MG) das der bekannten harnpflichtigen Substanzen überschreitet. Dies betrifft zum Beispiel

Zytokine mit einem MG von 14000 - 21000 Dalton. Gotloib et al. wiesen der Hämofiltration daher die Funktion einer künstlichen 'endokrinen Lunge' im Sinne einer Neutralisierung zirkulierender Mediatoren zu. Zur Untermauerung dieser These wurde von den Autoren auf die mit 0,89 - 0,94 hohen Siebkoeffizienten von TXB₂ (MG 600 D), Vasopressin (MG 1084 D), VIP (MG 4000 D) und β -Endorphin (MG 4056 D) verwiesen, die im Rahmen ihrer Arbeit ermittelt wurden (Gotloib 1986).

Die Möglichkeit, die Hämofiltration zur Mediatorelimination zu nutzen, ist nicht selten im Rahmen klinischer Studien erprobt worden. Allerdings gibt es wenige Studien, die die prinzipielle Eliminierbarkeit von Mediatoren bedenken, die durch die Porengröße der Filter bzw. die Bindung an Transportmoleküle gegeben ist. Zudem wird die Beurteilung klinischer Untersuchungen zu dieser Fragestellung dadurch erschwert, dass der Nachweis der bisher bekannten Auslöser und Vermittler der Sepsis nach wie vor mit großen methodischen Schwierigkeiten verbunden ist. Dies gilt insbesondere für den Nachweis der Substanzen im Hämofiltrat.

Die teilweise überraschend deutlichen Therapieerfolge der Hämofiltration bei septischen Krankheitsbildern werden von einigen Autoren auf die Tatsache zurückgeführt, dass bisher nicht näher definierte Mittelmoleküle mit Molgewichten < 30000 - 50000 D eliminiert werden. Chromatographische Untersuchungen des Filtrats septischer Patienten wiesen Adsorptionsbanden im Bereich dieser Moleküle auf (Coraim 1986, Gotloib 1986). In Übereinstimmung mit diesen Befunden soll laut klinischen Untersuchungen die Überlebensrate septischer Patienten sogar in Abhängigkeit von der Filtrationsrate deutlich verbessert sein (Storck 1991).

Insgesamt befasst sich seit Anfang der 80'er Jahre eine Vielzahl von klinischen und experimentellen Studien mit der Frage, ob die Hämofiltration den Verlauf der Pankreatitis oder anderer septischer Krankheitsbilder positiv zu beeinflussen vermag. Bei den klinischen Studien fällt die Beurteilung der klinischen Relevanz oft schwer, da es sich zum großen Teil um nicht-kontrollierte, z.T. retrospektive Untersuchungen mit nicht randomisierten Patientenkollektiven handelt. Die Vielzahl der gewählten Studienbedingungen

(verschiedene Hämofilter, unterschiedlicher Filtratumsatz, Modus der Hämofiltration, Bilanzierung) erschweren zusätzlich den direkten Vergleich dieser Studien. Dennoch haben einige Studien wesentliche Erkenntnisse gebracht. Gotloib et al. berichten über signifikante Verbesserungen von Hämodynamik, respiratorischer Funktion und Blutgasparametern bei Patienten mit septisch assoziiertem ARDS, bei denen eine Hämofiltration durchgeführt wurde (Gotloib 1986). Coraim et al. berichten über eine signifikante Verbesserung des pulmonalen Gasaustausches durch die Hämofiltration bei Patienten, die im Anschluss an herzchirurgische Eingriffe ein anderes intensivmedizinisches Maßnahmen gegenüber therapierefraktäres Lungenversagen entwickelten (Coraim 1986). Gemessen wurde ein signifikanter Abfall der Plasmakonzentrationen des 'Myocardial Depressant Factor' gemessen an den Werten vor Beginn der Hämofiltration.

Eine Senkung der Letalität unter Hämofiltration wird in mehreren Studien nachgewiesen. So berichten Blinzler et al. über ein Gesamtüberleben von ca. 90 % bei Patienten, die aufgrund eines MOV im Rahmen einer schweren Pankreatitis einer Hämofiltration zugeführt wurden. Die Autoren vermuteten eine durch die Hämofiltration bewirkte Eliminierung von nieder- bis mittelmolekularen Mediatoren wie Phospholipase A₂ (PLA₂), aktivierten Faktoren des Komplementsystems (C3a, C5a), IL-1 und TNF (Blinzler 1991). Gotloib et al. berichten über große Erfolge bei schwerst septischen Patienten mit einem mindestens drei Organsysteme betreffenden MOV, bei denen eine Hämofiltration durchgeführt wurde: 73 % der überlebenden Patienten hatten vor Therapiebeginn einen mit einer Mortalitätswahrscheinlichkeit von 97 - 99 % (Chang 1988) assoziierten Apache II Score von > 30. Die Autoren postulierten, dass die Hämofiltration zu einer drastischen Abnahme von kleinen und Mittelmolekülen, insbesondere von Bradykinin, PAF, Eicosanoiden und Zytokinen geführt habe, deren Freisetzung durch aktiviertes Komplement im Rahmen des septischen Geschehens induziert werde (Gotloib 1990). Tonnesen et al. fanden eine deutliche Senkung der Zytokin-Konzentration im Plasma septischer Patienten durch die Hämofiltration.

Umgekehrt gelang der Nachweis von Zytokinen im Hämofiltrat in signifikant höheren Konzentrationen als in zum gleichen Zeitpunkt gewonnenen

Plasmaproben. Die Autoren schlossen aus diesen Beobachtungen, dass die Hämofiltration eine Eliminierung bestimmter Sepsismediatoren aus der Systemzirkulation bewirke (Tonnesen 1993).

In experimentellen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass die Hämofiltration eine Plasmaeliminierung von Platelet-activating Factor (PAF) bewirkt, welches im Gegenzug im Eluat nachzuweisen ist (Ronco 1995). Im Sepsis-Modell am Schwein zeigen hämofiltrierte Tiere signifikant niedrigere Plasmakonzentrationen der Eicosanoide TXB₂ und 6-keto PGF_{1α} als Kontrolltiere ohne Hämofiltration (Staubach 1989). In einer tierexperimentellen Studie wurde nach Induktion einer E.coli-Sepsis bei hämofiltrierten Tieren eine deutlich bessere linksventrikuläre Funktion als bei Kontrolltieren beschrieben. Dieser Effekt der Hämofiltration wurde auf eine Eliminierung des 'Myocardial Depressant Factor' mit einem MG < 30000 zurückgeführt (Gomez 1990).

Nach wie vor ungeklärt ist jedoch die Frage, ob eine frühzeitig eingesetzte Hämofiltration durch eine wirksame Elimination von Entzündungsmediatoren die deletären Folgen einer schweren akuten Pankreatitis verhindern oder zumindest mildern kann.

Im Rahmen der hier vorgestellten Studie wurden Tierexperimente vorgenommen, die folgendende Schlüsselfragen zu klären versucht:

1. Wird der Verlauf einer durch Gallensalze und Enterokinase hervorgerufenen akuten hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis unter einer effektiven Hämofiltration positiv beeinflusst ?
2. Welche Rolle spielt der Zeitpunkt zu dem die Hämofiltration begonnen wird (prophylaktische versus therapeutische Hämofiltration) ?
3. Gibt es signifikante Unterschiede im Verlauf bei hämofiltrierten und nicht hämofiltrierten Tieren ?
4. Wie verändern sich die Mediatorkonzentrationen in Blut und Urin unter Hämofiltration ?
5. Welchen Einfluss nimmt die Hämofiltration auf hämodynamische Parameter und Überlebenszeiten ?

C. MATERIAL UND METHODEN

Die hier vorgestellten Tierversuche wurden in den Jahren 1995-1997 mit Genehmigung der Behörde für Wissenschaft und Forschung der Universität Hamburg in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Eppendorf durchgeführt. Teile der Arbeit wurden zwischenzeitlich in der wissenschaftlichen Literatur veröffentlicht (Yekebas E, Treede H et al. 1999, Yekebas E, Treede H et al. 2000).

1. Versuchsaufbau und -ablauf

1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten Schweine der deutschen Landrasse beiderlei Geschlechts. Das mittlere Körpergewicht betrug 37 kg.

1.2. Biometrisches Design

Vor Beginn der Versuche wurden die Tiere randomisiert einer der Behandlungs- oder der Kontrollgruppe zugeteilt. Die Auswahl wurde durch das Los getroffen.

In der Kontrollgruppe (n=8, Gruppe 1) wurde der spontane Verlauf der Pankreatitis ohne weitere Behandlung beobachtet und protokolliert.

Tiere der Gruppe 2 (n=10) wurden nach einem Abfall des MAP um 20 % unter den Ausgangswert hämofiltriert ('therapeutische Hämofiltration').

In der Gruppe 3 (n=10) begann die Hämofiltration zeitgleich mit der Induktion der Pankreatitis ('prophylaktische Hämofiltration').

1.3. Narkose und Beatmung

Die Prämedikation erfolgte über eine intramuskuläre Injektion von Ketamin (10 mg/kg KG, Ketanest®, Parke, Davis & Co., Berlin), Flunitrazepam (0,1 mg/kg KG, Rohypnol®, Hoffmann La Roche AG, Grenzach Wyhlen) und Atropin (0,06 mg/kg KG, Atropinsulfat Braun®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) in die Nackenmuskulatur der Versuchstiere.

Ein intravenöser Zugang wurde über die Kanülierung einer Ohrvene sichergestellt.

Nach Fixation der Versuchstiere am OP-Tisch wurden sie endotracheal intubiert und über ein Narkose / Beatmungsgerät der Firma Siemens kontrolliert beatmet. Die Beatmung erfolgte mit einem Sauerstoff/Luftgemisch wobei ein arterieller Sauerstoffpartialdruck (P_{aO_2}) zwischen 120 und 140 mmHg angestrebt wurde. Die Atemfrequenz betrug durchschnittlich 12 Hübe/min. Das Atemhubvolumen wurde so eingestellt, dass der endexpiratorische CO_2 -Gehalt bei 4,5 Vol% lag. Ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 3 cm H_2O diente der Atelektasenprophylaxe.

Zur kontinuierlichen Überwachung der Herztätigkeit wurden drei kutane Elektroden an der zuvor rasierten und entfetteten Haut des Thorax fixiert. Die Überwachung erfolgte über einen Monitor der Firma Marquette, der ebenfalls zur kontinuierlichen Registrierung von arteriellem Blutdruck (AP), pulmonalarteriellem Druck (PAP), zentralvenösem Druck (ZVD) sowie pulmonalkapillärem Verschlussdruck (PCWP, sog. Wedge-Druck) diente.

Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte über die intravenöse Gabe von Piritramid (0,8 -1,0 mg/kg KG/h, Dipidolor[®], Janssen-Cilag, Neuss), Midazolam (0,3-0,5 mg/kg KG/h, Dormicum[®], Roche, Grenzach) und Pancuronium (0,2 mg/kg KG/h, Pancuronium-ratiopharm[®], Ratiopharm, Ulm), zur Sicherstellung einer ausreichenden Anästhesietiefe und Relaxation.

1.4. Präparation

Nach Präparation der jeweiligen Gefäße wurden folgende Katheter platziert:

Ein arterieller Katheter wurde durch die rechte A. femoralis in die Aorta abdominalis gelegt und diente der kontinuierlichen Messung des arteriellen Blutdruckes sowie der Gewinnung arterieller Blutproben.

Ein dreilumiger 7-F-Thermodilutionskatheter wurde über die rechte V. jugularis interna unter Monitorkontrolle in Wedge-Position in die A. pulmonalis gelegt. Er diente der Messung von ZVD, PAP, PCWP sowie des HZV und der pulmonalarteriellen sowie systemischen Gefäßwiderstände nach der Thermodilutionsmethode.

In den Therapiegruppen wurde zur Durchführung der Hämofiltration in beide Vv. femorales ein jeweils einlumiger Sheldon-Katheter platziert.

Zur Kontrolle der Ausscheidungsfunktion und Ableitung des Urins diente ein suprapubischer Blasen Katheter.

Im Anschluss an die Katheteranlage wurde der Ductus pancreaticus kanüliert. Nach medianer Laparotomie wurde das Duodenum mobilisiert und der Pankreasgang im Bereich seines Eintritts in die Duodenalwand identifiziert. Die transduktale Kanülierung erfolgte dann mittels eines Umbilikalvenenkatheters (Argyle, Sherwood Medical, Sulzbach).

2. Monitoring

2.1. Hämodynamik

Hämodynamische Messungen beinhalteten die kontinuierliche Monitorüberwachung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP), des mittleren pulmonalarteriellen Blutdruckes (MPAP), des zentralvenösen Druckes (ZVD), des pulmonalkapillären Verschlussdruckes (PCWP) und der Herzfrequenz (HF) sowie der Körpertemperatur über eine intrarektal gelegene Sonde.

Intermittierend wurde nach der Methode der Kälteverdünnung (Thermodilution) mit einem HZV-Computer der Firma Marquette unter Verwendung von Swan-Ganz-Kathetern der Größe 7 F das Herzzeitvolumen (HZV) sowie das Schlagvolumen (SV) gemessen. Hierzu wurden 10 ml einer eisgekühlten Kochsalzlösung über das proximale Lumen des Swan-Ganz-Katheters injiziert. Über die Messsonde an der Katheterspitze wurde die dadurch bewirkte Temperaturveränderung des vorbeiströmenden Blutes aufgezeichnet. Aus dem jeweiligen Kurvenverlauf errechnete der Computer das Herzzeitvolumen. Es wurden endexpiratorisch jeweils drei Messungen durchgeführt und das arithmetische Mittel gebildet.

Hieraus ließen sich die pulmonalarteriellen sowie die systemischen Widerstände nach folgenden Formeln berechnen:

$$PVR = \frac{MPAP - PCWP}{HZV} * 80 \quad [dyne*sec*cm^{-5}]$$

$$SVR = \frac{MAP - ZVD}{HZV} * 80 \quad [dyne*sec*cm^{-5}]$$

30 min nach Beendigung der chirurgischen Präparation wurden unter stabilen hämodynamischen Bedingungen die Ausgangswerte gemessen und im

Anschluss daran in halbstündigen Abständen aufgezeichnet. Messungen des HZV, sowie der Gefäßwiderstände fanden in stündlichen Abständen statt.

2.2 Gasaustausch

Der inspiratorische Sauerstoffgehalt der Atemluft (FiO_2) wurde während der Versuche kontinuierlich verändert, um einen konstanten pO_2 von 120-140 mmHg aufrechtzuerhalten. Der regelmäßig gemessene p_aO_2 war folglich ungeeignet um eine Aussage über den pulmonalen Gasaustausch treffen zu können. Letzterer wurde über den Oxygenierungsindex, d.h. dem Verhältnis von p_aO_2 zum inspiratorischen Sauerstoffgehalt (FiO_2) nach folgender Formel beurteilt: $Oxygenierungsindex = p_aO_2 / FiO_2$

3. Hämofiltration

Die in den Therapiegruppen vorgenommene Hämofiltration erfolgte nach dem Prinzip der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration über die in beiden Vv. femorales platzierten einlumigen Sheldonkatheter. Ziel war eine ausgeglichene Flüssigkeitsbilanz: Das den Versuchstieren entzogene Ultrafiltrat wurde somit zeitgleich per infusionem über den zuführenden Schenkel der Hämofiltration ersetzt. Verwendet wurde eine Rollerpumpe (NFG05, Dialysetechnik, Karlsruhe) sowie ein Polysulfonfilter mit einer Porengröße von ca. 40 kD (Ultraflux AV 600 S, Fresenius, Bad Homburg). Die Hämofiltration erfolgte unter Heparinschutz, d.h. dem System wurde mittels einer Spritzenpumpe über einen vor dem Filter gelegenen Zugang kontinuierlich 8 U/kg KG/h niedermolekulares Heparin (Heparin-Natrium[®], Braun, Melsungen) zugeführt. Über eine Regulierung des extrakorporalen Blutflusses zwischen 70-130 ml/min wurde ein standardisiertes Ultrafiltratvolumen von ca. 20 ml/kg KG/h erreicht. Zur Substitution diente eine isotonische Hämofiltrationslösung (HF 03[®], Fresenius, Bad Homburg).

4. Induktion der Pankreatitis

Die Induktion der Pankreatitis erfolgte über eine druckkontrollierte Injektion von Na-Taurocholat (Sigma Co., Deisenhofen) und Enterokinase (Sigma Co., Deisenhofen) in den Pankreasgang, wobei der zuvor platzierte Umbilikalvenenkatheter schrittweise zurückgezogen wurde, um eine gleichmäßige Verteilung des Gallensalzgemisches im Pankreasgewebe zu gewährleisten. Der Injektionsdruck wurde über einen Druckabnehmer aufgezeichnet, wobei darauf geachtet wurde, dass der Wert die Grenze von 30 mmHg nicht überschritt. Zur Herstellung des Injektionsgemisches wurden 0,05 g/kg KG Na-Taurocholat in 1 ml/kg KG Kochsalzlösung gelöst und mit 5 U/kg KG Enterokinase versetzt. Dies entsprach einer 5%igen Gallensalzlösung mit Enterokinase. Am Ende der Injektion wurde der Katheter gezogen und der Pankreasgang distal der Einstichstelle ligiert. Die Injektionsdauer betrug durchschnittlich 10-15 min.

5. Biochemische Untersuchungen

5.1. Probenentnahme

Vor der Laparotomie und 30 min nach Beendigung der chirurgischen Präparation wurden basale Blutproben abgenommen. Nach Induktion der Pankreatitis erfolgte die Abnahme weiterer Proben in zweistündlichen Intervallen. Die entnommenen Blutröhrchen wurden soweit nötig direkt nach der Abnahme zentrifugiert, das Serum abpipettiert und aufbereitet bzw. gekühlt.

Um Bestimmungen aus dem Aszites vorzunehmen wurde den Tieren direkt aus dem Bauchraum über die mediane Laparotomie Aszites entnommen. Dies erfolgte parallel zu den Blutproben in zweistündlichen Abständen.

Zeitgleich zu den Blutproben erfolgte die Abnahme des Urins über den suprapubischen Blasenkateter.

5.2. Pankreasenzyme

5.2.1. Allgemeiner Teil

Pro Tag produziert der Mensch je nach Nahrungsaufnahme etwa 1,5 l Pankreassekret (Forell 1982), dessen wichtigste Bestandteile die in ihm

enthaltenen Enzyme sind, welche für die proteolytische Spaltung der Nahrungsbestandteile verantwortlich sind. Hierzu zählen Trypsin, Chymotrypsin, Carboxypeptidase A und B, sowie die Elastase. Zusätzlich produziert werden Hydrolasen zur Aufspaltung von Kohlenhydraten, Lipiden und Nukleinsäuren. Einen Überblick bietet folgende Tabelle:

ENZYME	MOLGEWICHT
α -Amylase	53000 D
Lipase	46000 D
Phospholipase A2	13800 \pm 500 D
Phospholipase B	15000 - 20000 D
Trypsin	23800 D
Chymotrypsin A	25761 D
Chymotrypsin B	24850 D
Chymotrypsin C	31800 D
Elastase	25000 D
Kallikrein A,B	26000 D
Carboxypeptidase A	34472 D
Carboxypeptidase B	34000 D
Ribonukleasen A-D	13680 - 14700 D
Desoxyribonukleasen	31000 D

Tab.1: *Wichtige Enzyme des Pankreassekrets und ihr Molgewicht*

Die proteolytischen Enzyme werden in den exokrinen Zellen des Pankreas in Form inaktiver Proenzyme synthetisiert und intrazellulär in den Zymogengranula gespeichert. Bei Sekretionsreiz kommt es zur Entleerung des Inhalts der Zymogengranula in das Lumen der Ausführungsgänge. Trypsin aktiviert die Enzyme im Duodenum, nachdem es durch eine in der Duodenalschleimhaut freigesetzte Enteropeptidase aus Trypsinogen gebildet wird. Dabei spielen freie Trypsinogen-aktivierende Peptide (TAP) eine entscheidende Rolle und haben

sich zudem als ein guter Marker für den Schweregrad der Pankreatitis erwiesen (Gudgeon 1990).

Während Amylase und Lipase als aktive Enzyme sezerniert werden, liegen die Peptidasen und Phospholipasen als inaktive Proenzyme vor.

Die enzymatische Tätigkeit der Pankreasamylase besteht in der Spaltung 1-4 α glykosidischer Bindungen in Polysacchariden (z.B. Stärke oder Glykogen). Die Bestimmung der Amylase in Serum oder Urin ist von entscheidender Bedeutung bei der Diagnostik entzündlicher Pankreaserkrankungen und galt lange Zeit als Standardinstrument in der Diagnostik der akuten Pankreatitis. Aufgrund ihrer höheren Spezifität hat heute die Lipase neben den bildgebenden Verfahren einen höheren Stellenwert in der Diagnostik (Mayer 1985).

Die Pankreaslipase katalysiert in der Hauptsache die in 1- bzw. 3- Position stehenden Fettsäuren aus den Triglyceriden und spielt damit eine wichtige Rolle bei der Fettverdauung. Kommt es im Rahmen der akuten Pankreatitis zur Autolyse, so ist die Lipase verantwortlich für die entstehenden Fettgewebsnekrosen, die nach Einlagerung von Calcium radiologisch und morphologisch als Kalkspritzer imponieren.

Phospholipase A_2 wird wie die proteolytischen Enzyme als inaktive Präphospholipase in den Zymogengranula gespeichert und nach Sekretion im Duodenum durch Trypsin aktiviert, indem ein Peptid bestehend aus sieben Aminosäuren abgespalten wird. PLA_2 katalysiert durch Hydrolyse von in Position 2 an Glycerophospholipide gebundenen Estern die Bildung von Lysophospholipiden. So ist sie z.B. verantwortlich für die Bildung von Lysolecithin aus Lecithin und Lysocephalin aus Cephalin. Lecithin und Cephalin übernehmen neben anderen Phospholipiden in den Zellen wichtige Aufgaben beim Stoffwechsel und im Aufbau der Zellstrukturen (Terry 1985). Lysophospholipide dagegen wirken zytotoxisch und membranschädigend und können ebenfalls zu Parenchymnekrosen führen. Im Rahmen der Diagnostik der akuten Pankreatitis gilt die PLA_2 heute als wichtiger Marker der Differenzierung zwischen ödematösen und hämorrhagisch-nekrotisierenden Verlaufsformen (Büchler 1989).

5.2.2. Bestimmung der Lipase

Die Bestimmung der Lipase erfolgte mit einem kommerziellen Assay (Delta Test Assay for Pancreatic Lipase, Sigma Co., Deisenhofen) turbidimetrisch in der nach Vogel beschriebenen Methode (Vogel 1963).

5.2.3. Bestimmung der Phospholipase A₂ (PLA₂)

Die Bestimmung der PLA₂ erfolgte photometrisch nach der Methode von Hoffmann et al. (Hoffmann 1989). Mit ihr gelingt der Nachweis aktiv vorliegender Phospholipase A, ohne dabei zwischen den Isomeren der PLA zu unterscheiden. Als Gradmesser des Schweregrades der Pankreatitis ist sie jedoch sehr gut geeignet.

Der Assay beruht auf einer Freisetzung von Fettsäuren aus einer Emulsion von Phosphatidylcholin der Sojabohne durch Phospholipase A nach folgendem Reaktionsprinzip:

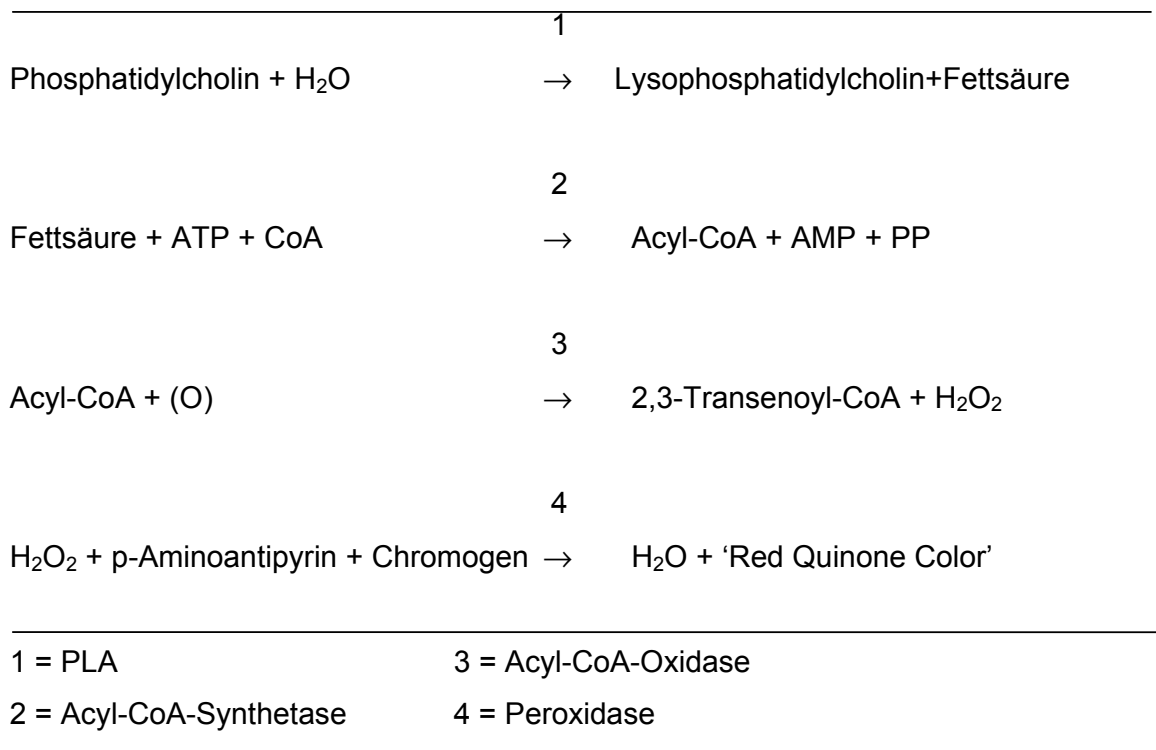


Abb. 1: Reaktionsprinzip der vollenzymatischen Nachweismethoden für Phospholipase A

Eine Einheit (U) wurde definiert als die Freisetzung von 1 µmol Fettsäuren / min.

5.2.4. Bestimmung des Trypsinogen-aktivierenden Peptids (TAP)

Messungen des TAP wurden im Urin vorgenommen und erfolgten mittels eines kompetitiven ELISA nach der Methode von Hermon-Taylor (Gudgeon 1990, Hurley 1988, Karanjia 1993).

Hierzu wurden 2 ml Urin mit 20 µl einer 0,5 M EDTA-Lösung vermischt und bei -70 °C bis zur Analyse tiefgefroren. Für die Durchführung des ELISA wurden die Mikrotiterplatten mit 100 µl eines in Pufferlösung auf 1:30000 verdünnten Kaninchen-Serumalbumins (YD4K) je Vertiefung gefüllt und anschließend für 24 h inkubiert. Nach dreimaliger Waschung mit Tris-Puffer-Lösung (0,05 % Tris-Base) wurden die Platten geleert. Für alle Standards, Kontrollen und Proben wurden Dreifachbestimmungen durchgeführt. Für die Standardreihen wurden 50 µl einer 3 mM TAP Lösung in die erste Vertiefung gegeben und anschließend seriell in 50 µl Schritten verdünnt. Zu allen Proben wurden dann 100 µl eines auf 1:600 in Assay-Puffer verdünnten Kaninchen Anti-TAP Antiserums (R 18-74, Prof. Hermon-Taylor, Surgical Research Institute, St. George's Hospital, London, GB) pipettiert und bei Raumtemperatur für 60 min inkubiert. Nach dreimaliger Waschung mit Pufferlösung wurden 100 µl einer auf 1:1000 in Assay-Puffer verdünnten Biotin-beschichteten Anti-Kaninchen IgG Lösung (No. 9642, Anti-Rabbit IgG Biotin Conjugate, Sigma Co., Deisenhofen) zugegeben und die Platten für nochmals 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die wiederum dreimalig gewaschenen Platten wurden dann mit 100 µl eines auf 1:500 in Waschpuffer Lösung verdünnten Extravidin-Alkalische Phosphatase-Konjugats (No. E-2636, ExtrAvidin®-Alkaline Phosphatase, Sigma Co., Deisenhofen) beschichtet und ebenfalls 30 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend wiederum dreimal gewaschen. Nach Zugabe von 100 µl Substratlösung (1 mg/ml para-Nitrophenyl Phosphat in Substrat-Puffer) konnte dann mit Hilfe eines ELISA Readers (Fa. Medgenix, Belgien) die optische Dichte bei 405 nm gemessen werden. Aus dem Vergleich mit der Standardkurve ergaben sich die Werte für die TAP-Konzentrationen im Urin.

5.3. Kallikrein-Kinin System

5.3.1. Allgemeiner Teil

Das Kallikrein-Kinin System spielt im Rahmen der Pathogenese vieler klinischer Krankheitsbilder wie der essentiellen Hypertonie, des Lungenödems, des Bronchialasthmas, der Leberzirrhose oder der rheumatoiden Arthritis eine wesentliche Rolle (Yotsumoto 1993). Gleiches gilt für die akute Pankreatitis und den mit ihr verbundenen Schockzustand. Das im Pankreasgewebe in hohen Konzentrationen vorkommende glanduläre Kallikrein ist in der Lage, aus hoch- und niedermolekularen Kininogenen Lys-Bradykinin (Kallidin) freizusetzen, ein Dekapeptid, das ebenso wie das durch Plasmakallikreine freigesetzte Bradykinin ein wichtiger Mediator der Entzündung ist (Uehara 1989). Einen Überblick über die wesentlichen Unterschiede zwischen Plasmakallikrein und glandulärem Kallikrein bietet Tabelle 2.

Kinine sind Oligopeptide mit nachgewiesenermaßen permeabilitätssteigernden, vasodilatatorischen und schmerzerzeugenden Eigenschaften. Bei einem Molgewicht von 1060 D zählt das Bradykinin zu den prinzipiell filtergängigen Substanzen und ist durch das Verfahren der Hämofiltration potentiell eliminierbar.

	PLASMAKALLIKREIN	GLANDULÄRES KALLIKREIN
Proenzym	Prokallikrein (hepatisch synthetisiert)	Prokallikrein (glandulären Ursprungs)
Aktivierung durch	Hagemann-Faktor	Trypsin
MG	95000 - 100000	27000 - 43000
Substrat	HMW-Kininogen	HMW + LMW-Kininogen
Produkt	Bradykinin (BK)	Kallidin (Lys-BK)
Wirkung	Permeabilitätssteigerung Vasodilatation Schmerz	Permeabilitätssteigerung Vasodilatation Schmerz

Tab. 2: *Vergleich Plasmakallikrein - glanduläres Kallikrein*

5.3.2. Bestimmung von Kinin

Die Bestimmung von Kinin erfolgte radioimmunologisch in Anlehnung an die von *Fink et al.* (Fink 1985) und *Shimamoto et al.* (Shimamoto 1988) beschriebenen Methoden. Tyrosyl-Bradykinin wurde mit Jod¹²⁵ markiert, in Puffer A bis zu einer Konzentration von 2.000.000 Messungen/min/ml verdünnt und anschließend mit 70 mg Kaninchen- γ -Globulin/l versetzt. Standardverdünnungen von Bradykinin (4 - 4000 pM/l) wurden mit Puffer A hergestellt. Bradykinin-Antiserum wurde in Puffer D als Bindungsfraction des markierten Antigens um den Faktor 0,3 verdünnt. 100 μ L Probevolumen, 100 μ l Puffer A, 100 μ l ¹²⁵I-Tyrosyl-Bradykinin und 100 μ l des verdünnten Antiserums wurden gemischt und bei 4 °C inkubiert. Nach 17 h wurden 100 μ l eines Anti-Kaninchen IgG Serums (RD 17, Wellcome Co., München) in Puffer A verdünnt (1 : 24) und 500 μ l des Puffers C dazugegeben. Anschließend wurden die Röhrchen bei 3800 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert und die Radioaktivität der verbliebenen Präzipitate in einem Spectrometer gemessen. Sowohl für Proben als auch für Standards wurden Doppelmessungen durchgeführt.

5.4. C-reaktives Protein (CRP)

5.4.1. Allgemeiner Teil

Das C-reaktive Protein gilt seit langem als zuverlässiger Infektions- und Entzündungsindikator. Es handelt sich dabei um ein hepatisch synthetisiertes pentameres Protein, mit einem Molekulargewicht von 105 kD, das sich im Blut Gesunder nur in Spuren nachweisen lässt. Finden sich Serumkonzentrationen über 3 - 10 mg/ml so gelten diese als pathologisch und weisen sicher auf einen Entzündungsprozess hin. Bis zu 1000-fache Konzentrationsanstiege finden sich nicht selten bei akuten Entzündungen wie der akuten, hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis oder bei fulminanten bakteriellen Infektionen (Tegtmeyer 1990). Ein Abfall der CRP-Konzentrationen im Serum korreliert mit einem Abklingen der Entzündung und lässt das Akut-Phase-Protein zu einem wertvollen Parameter in der Verlaufskontrolle der akuten Pankreatitis werden.

5.4.2. Bestimmung des CRP

Die Messung von CRP erfolgte in Anlehnung an eine von Schrödl beschriebene Methode mittels eines Enzym-Immuno-Assays (EIA) (Schrödl 1994). Intra- und Interassayvariationen lagen unter 8% bzw. unter 13%. Normwerte für CRP (<0,6 mg/l) wurden definiert als Mittelwert \pm 2 Standardabweichungen der Ausgangswerte.

5.5. Leukocyte neutral proteinase inhibitor (LNPI)

5.5.1. Allgemeiner Teil

Leucocyte neutral proteinase inhibitor (LNPI) findet sich ebenfalls bei inflammatorischen Pankreas-Prozessen. Es entstammt dem Zytosol von Granulozyten und richtet sich gegen zelluläre neutrophile Elastase (Trefz 1987). LNPI gehört zur Familie der Proteinase-Inhibitoren die den biologischen Auswirkungen von Serin Proteinasen entgegenwirken (Geiger 1988, Teschauer 1993). Im Blut erscheint es in verschiedenen Formen: Als freie Substanz und damit inhibitorisch aktiv oder als Proteinase-Inhibitor Komplex (z.B. Elastase-LNPI). Sowohl freies als auch komplexgebundenes LNPI können mittels ELISA (modifiziert nach Teschauer) nachgewiesen und quantifiziert werden. Erhöhte Plasmakonzentrationen von LNPI können als Parameter für die Aktivierung von Granulozyten gewertet werden.

5.5.2. Bestimmung von LNPI

ELISA Mikrotiter Platten wurden mit purifizierten Hasen-Anti-Leukocyte-Proteinase-Inhibitor-Antikörpern (anti-LNPI-IgG) gefüllt (0,6 μ g anti-LNPI-IgG/ml in Carbonat-Puffer, pH 9,6) und über Nacht bei 4°C inkubiert. Die Platten wurden dann dreimal mit PBS/Tween Puffer gewaschen. Purifiziertes LNPI wurde in acht verschiedenen Konzentrationen (serielle Verdünnung von 34 ng/ml bis 0,266 ng/ml) zusammen mit den 1:30 verdünnten Test-Seren auf die Platten gebracht. Nach Inkubation für 2 h bei 37°C erfolgte die erneute Waschung mit PBS/Tween Puffern. Biotinyliertes Hasen-Anti-LNPI-IgG wurde aufgebracht und die Platten erneut für 2 h bei 37°C inkubiert. Nach Waschen mit PBS/Tween Puffer, Aufbringen von Horse Radish Peroxidase (HRP)-konjugiertem Avidin (Dako, code P347, Hamburg) und Inkubation für 45 min bei 4°C. Nach erneuter Waschung, dann Zugabe der Substrat-Lösung 2,2'-acino-

bis(3-ethylbenzothiazolin-6 Sulphon-Säure)-Ammonium-Chlorid und Inkubation für 15 min bei Raumtemperatur. Messung der Proben im ELISA Reader bei 405 nm. Die Konzentrationen an LNPI ergaben sich aus dem Vergleich mit der Standardkurve (Semi-Log-Spline Methode). Als Normalwerte für LNPI bei Schweinen ergaben sich 20-100 ng/ml.

6. Versuchsdurchführung und -ablauf

Nach Prämedikation, Narkoseeinleitung und Intubation wurden die Tiere an das Beatmungsgerät und den Hämodynamikmonitor angeschlossen. Im Anschluss erfolgte die bereits in Abschnitt 1.4 näher erläuterte Katheteranlage und mediane Laparotomie mit Kanülierung des Ductus pancreaticus. Es folgte eine hämodynamische Stabilisierungsphase von 30 min, in der begonnen wurde den Flüssigkeitsverlust der Tiere nach standardisierten Bedingungen auszugleichen. Hierzu wurde den Tieren konstant 5 ml/kg KG/h einer kristallinen isotonischen Ringerlösung intravenös verabreicht. Diese Volumengaben wurden standardisiert allen Tieren aus allen Versuchsgruppen für die Dauer der Versuche verabreicht.

Sowohl vor der Laparotomie als auch direkt vor der Induktion der Pankreatitis wurden basale Blut- und Urinproben entnommen. Weitere Probeentnahmen erfolgten nach Induktion der Pankreatitis in zweistündigen Abständen. Aszites wurde parallel zu den Blutproben gewonnen sobald eine Aszitesbildung sichtbar wurde.

Hämodynamische Messungen wurden zum Teil kontinuierlich, zum Teil zu definierten Zeitpunkten vorgenommen (siehe 2.1). Als Ausgangswerte galten die nach Beendigung der Stabilisierungsphase gemessenen Werte für HF, MAP, MPAP, ZVD, PCWP, HZV, SV, PVR und SVR.

Nach Beendigung der Stabilisierungsphase wurde die Pankreatitis wie unter 4 beschrieben induziert. Dieser Zeitpunkt wurde gleich 0 gesetzt.

Bei Tieren der Gruppe 1 (n=8) wurde der Spontanverlauf der Pankreatitis ohne Therapie beobachtet. Die Beobachtungszeit endete mit dem durch die Pankreatitis bedingten Tod der Versuchstiere.

In der Gruppe 2 (n=10) wurde abgewartet, bis der kontinuierlich gemessene Mitteldruck (MAP) der Tiere um 20 %, gemessen am Ausgangsdruck zum Zeitpunkt 0, abgefallen war. Dies wurde als Zeichen des beginnenden Pankreatitis-bedingten Kreislaufschocks gewertet. Es folgte sodann der Beginn der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration (CVVHF) über die beiden Sheldonkatheter nach der unter 3 beschriebenen Methode.

Versuchstiere der Gruppe 3 (n=10) wurden bereits zeitgleich mit der Induktion der Pankreatitis an die Hämofiltration angeschlossen ('prophylaktische CVVHF'). Die Bedingungen der HF waren die gleichen wie bei Tieren der Gruppe 2.

In beiden Therapiegruppen (Gruppe 2 und 3) war das Versuchsende ebenfalls durch den Pankreatitis-bedingten spontanen Tod der Versuchstiere definiert.

7. Statistik

Daten wurden aufgezeichnet als Mittelwerte \pm Standardabweichung. Der Kolmogorow-Smirnow Test überprüfte die Normalverteilung der Daten. Mit der Kaplan-Meier Analyse (log-rank Test) wurden die Überlebenszeiten berechnet und verglichen. Statistische Unterschiede zwischen Ausgangswerten und den veränderten Werten nach Induktion der Pankreatitis wurden mittels der Ein-Weg-Analyse der Varianzen (ANOVA) für wiederholte Messungen bestimmt. Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen wurden durch die Varianzen-Analyse bestimmt gefolgt vom Scheffé Test, wenn sich signifikante Unterschiede fanden.

D. ERGEBNISSE

1. Überlebenszeiten

Durch kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration konnte eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeiten nach Pankreatitis-Induktion erreicht werden (Abb. 2). Tiere der Gruppen 2 und 3 (späte und frühe Hämofiltration) überlebten signifikant länger als Tiere der Kontrollgruppe 1. Ein signifikanter Unterschied fand sich ebenfalls zwischen den Tieren der beiden Hämofiltrationsgruppen. Hier zeigte sich eine längere Überlebenszeit der Tiere der Gruppe 3, die früh ('prophylaktisch') hämofiltriert wurden im Vergleich zu Tieren der Gruppe 2 (späte, 'therapeutische' HF). Die mittleren Überlebenszeiten betrugen $7,0 \pm 1,2$ h in der Kontrollgruppe (Gruppe 1), $12,3 \pm 1,4$ h in Gruppe 2 ($p < 0,001$ vs. Gruppe 1) und $14,7 \pm 1,3$ h in Gruppe 3 ($p < 0,001$ vs. Gruppe 1, $p < 0,02$ vs. Gruppe 2).

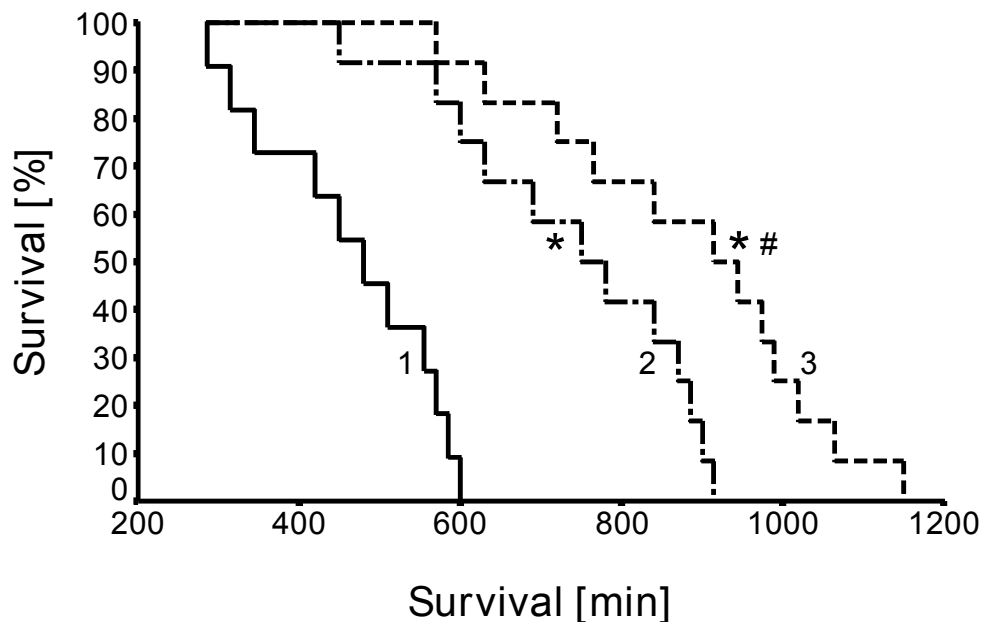


Abb. 2: Kaplan-Meier-Analyse der Überlebenszeiten nach Pankreatitis.

2. Hämodynamik

Im folgenden Abschnitt sind die Messergebnisse der Hämodynamik dargestellt. Die einzelnen Werte für MAP, HZV, SV, HF und ZVD zeigt Tabelle 3. Ausgangswerte vor Induktion der Pankreatitis sind ausgedrückt als Mittelwerte \pm Standardabweichung, Veränderungen nach Induktion der Pankreatitis als prozentualer Abfall (MAP, HZV, SV, ZVD) oder Anstieg (HF) gemessen an den Ausgangswerten.

Die Kontrolltiere der Gruppe 1 zeigten einen schnellen und sofortigen Abfall des MAP und HZV nach Induktion der Pankreatitis. Gleichzeitig kam es zu einem signifikanten Anstieg der Herzfrequenz und zu einem signifikanten Abfall des ZVD trotz ausgeglichener Bilanzierung. Der pulmonale Widerstand (PVR) zeigte keine signifikanten Veränderungen.

Bei den Tieren der Gruppe 2 fiel im Mittel 100 min nach Induktion der Pankreatitis der MAP um 20 % und veranlasste somit den Beginn der CVVHF. Nach dem Start der Hämofiltration blieb der MAP dann aber für ca. 2-3 h nahezu stabil ($69,2 \pm 4,7$ vs. $70,2 \pm 6,2$ mmHg, 2 h und 4 h post inductionem). Nach dieser *Plateau*-Phase zeigte sich ein deutlicher Abfall des MAP. Die Veränderungen von HZV, HF und ZVD verhielten sich nach einem ähnlichen Muster. Auch hier kam es erst nach einer relativ stabilen Plateau-Phase zu einer deutlichen Verschlechterung im weiteren Verlauf der Pankreatitis.

Ein noch deutlicherer Effekt der CVVHF zeigte sich in der Gruppe 3: Eine initiale stabile Phase nach Beginn der Hämofiltration hielt für ungefähr 3,5 h an. Die ersten signifikanten Veränderungen der wichtigen hämodynamischen Parameter zeigten sich ca. 4 h nach Induktion. Dann kam es ebenso wie in den Vergleichsgruppen zu einem deutlichen Abfall des MAP und des HZV mit konsekutiver Steigerung der Herzfrequenz.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte die Gruppe der frühen Hämofiltration eine signifikant geringere Verschlechterung der hämodynamischen Parameter bezogen auf alle Zeitpunkte. Signifikante Unterschiede fanden sich ebenso im Hinblick auf Gruppe 2.

Parameter	Gruppen	Ausgangswerte (100%)	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
MAP (mmHg)	1	98 ± 9	30 % [#]	44 % [#]	65 % [#]	-	-	-
	2	103 ± 8	29 % [#]	31 % [#]	38 % ^{#†}	55 % [#]	70 % [#]	-
	3	95 ± 10	5 % ^{†‡}	12 % ^{†‡}	21 % ^{*†‡}	32 % ^{#‡}	44 % ^{#‡}	72 % [#]
HZV (l/min)	1	6,1 ± 1,1	20 % [*]	50 % [#]	66 % [#]	-	-	-
	2	6,0 ± 0,6	19 % [*]	32 % ^{#†}	35 % ^{#†}	56 % [#]	72 % [#]	-
	3	5,8 ± 0,7	4 % ^{†‡}	11 % ^{*†‡}	21 % ^{#†}	39 % [#]	53 % ^{#‡}	67 % [#]
SV (l/min)	1	56 ± 8	35 % [#]	67 % [#]	81 % [#]	-	-	-
	2	60 ± 6	37 % [#]	42 % ^{#†}	56 % ^{#†}	68 % [#]	79 % [#]	-
	3	61 ± 9	9 % ^{†‡}	22 % ^{#†‡}	39 % ^{#†‡}	58 % [#]	73 % [#]	84 % [#]
HF	1	94 ± 7	26 % [#]	55 % [#]	81 % [#]			
	2	99 ± 6	28 % [*]	31 % ^{*†}	47 % ^{#†}	62 % [#]	82 % [#]	
	3	99 ± 5	6 % ^{†‡}	15 % ^{*†}	30 % ^{#†}	51 % [#]	68 % [#]	85 % [#]
ZVD (mmHg)	1	5 ± 1	44 % [#]	78 % [#]	98 % [#]			
	2	6 ± 1	34 % [*]	38 % ^{#†}	50 % ^{#†}	59 % [#]	76 % [#]	
	3	5 ± 2	10 % ^{†‡}	23 % ^{*†}	35 % ^{#†}	39 % ^{#‡}	56 % ^{#‡}	90 % [#]

*Tab. 3: * p<0,05 vs. den Ausgangswerten; # p<0,01 vs. den Ausgangswerten; † p<0,05 vs. den korrespondierenden Werten bei den Kontrolltieren; ‡ p<0,05 vs. den korrespondierenden Werten in Gruppe 2.*

3. Gasaustausch

Die Verschlechterung der hämodynamischen Situation wurde von einem deutlichen Absinken des arteriellen PO_2 begleitet, dem durch kontinuierliche Steigerung des FIO_2 während des Experiments entgegengewirkt werden musste (Abb. 3).

Vor Induktion konnte in allen Gruppen durch einen FIO_2 von 30 % ein arterieller PO_2 von 120-140 mmHg aufrechterhalten werden. Die Pankreatitis führte zu einer zunehmenden Verschlechterung des transpulmonalen O_2 Transports, so dass eine Erhöhung des FIO_2 bis 100 % nötig wurde, um eine Hypoxämie zu verhindern.

Infolge dessen sank der Oxygenierungsindex (PaO_2 / FIO_2) von 4,9 - 5,3 vor Induktion auf 1,3 - 1,6 prä mortal. Der Abfall der PaO_2 / FIO_2 -Ratio 2 h nach Induktion war signifikant weniger ausgeprägt in der Gruppe 3 ('prophylaktische CVVHF') im Vergleich mit der Kontrollgruppe und den Tieren der Gruppe 2, die zu diesem Zeitpunkt gerade an die Hämofiltration angeschlossen wurden. 6 h nach Induktion war der Abfall des Oxygenierungsindex in beiden Kontrollgruppen signifikant vermindert im Vergleich zur Kontrollgruppe.

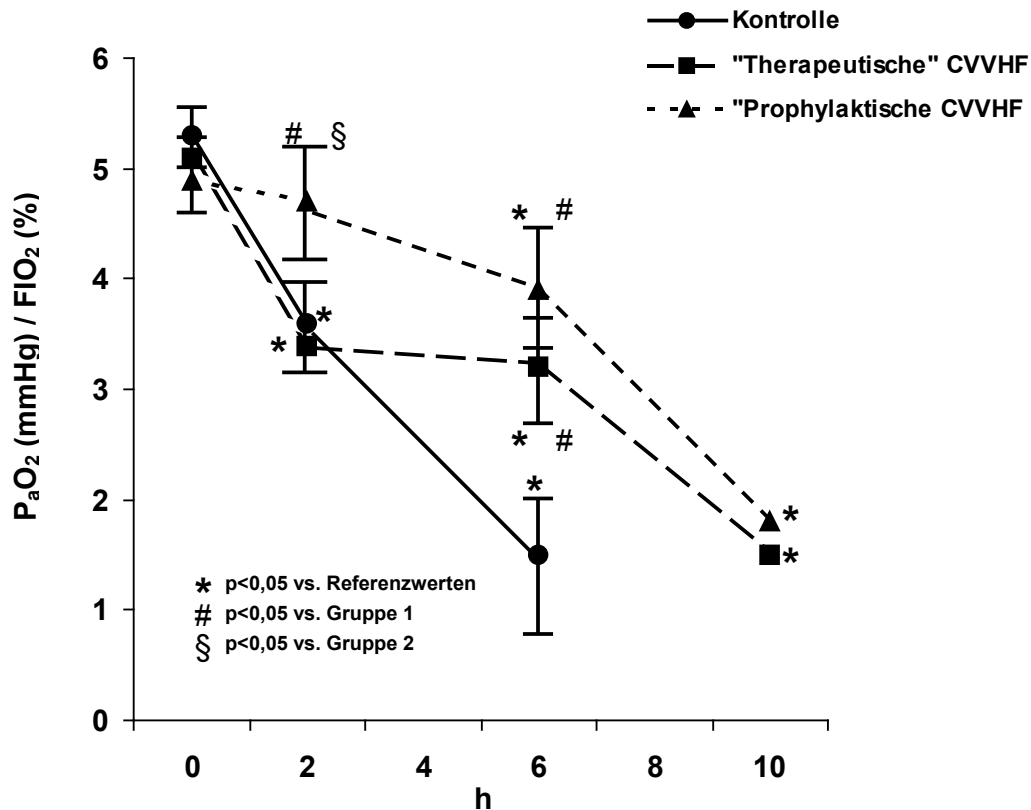


Abb.3 : Oxygenierungsindex (PaO_2/FiO_2) nach Pankreatitis.
Mittelwerte \pm SA.

4. Hämokonzentration und Proteinverschiebung

Die Pankreatitis führte zu einer deutlichen Hämokonzentration, d.h. zu einem signifikanten Anstieg des Hämoglobins und des Hämatokrit in allen Gruppen. Tiere der Kontrollgruppe und der Gruppe 2 zeigten bereits 2 h nach Induktion einen signifikanten Anstieg der Hämoglobin-Konzentration. Im Gegensatz dazu verlief der Anstieg des Hämoglobins in der Gruppe der prophylaktisch hämofiltrierten Tiere (Gruppe 3) moderater und verlangsamt, so dass zu den einzelnen Zeitpunkten der Messungen signifikante Unterschiede zu den beiden anderen Gruppen entstanden (Tabelle 4, Abb. 4).

Der Hämatokrit lag vor Induktion im Mittel bei 30-35 % in allen Gruppen und stieg auf Mittelwerte zwischen 43,9 % und 44,8 % am Versuchsende: In den

Gruppen 1 und 2 zeigte sich ein kontinuierlicher Anstieg während der Experimente mit signifikanten Unterschieden 2 h nach Induktion. In der Gruppe 3 blieb der Hämatokrit initial stabil und stieg erst im weiteren Verlauf des Experiments.

Parameter	Gruppen	Ausgangswerte (100%)	2 h	6 h	10 h
Hämoglobin (g/dl)	1	9,6 ± 0,5	11,9 ± 0,7 [*]	13,9 ± 0,6 [#]	-
	2	9,6 ± 0,4	11,6 ± 0,5 [*]	12,8 ± 0,7 [#]	14,0 ± 0,6 [#]
	3	9,3 ± 0,3	9,8 ± 0,5 ^{†‡}	10,8 ± 0,7 ^{*†‡}	12,9 ± 0,8 [#]
Hämatokrit (%)	1	30,0 ± 4,3	37,9 ± 5,0 [*]	44,4 ± 5,0 [#]	-
	2	33,2 ± 3,1	38,1 ± 3,0 [*]	42,0 ± 3,2 [#]	43,9 ± 4,1 [#]
	3	32,6 ± 3,0	33,7 ± 4,1 ^{†‡}	39,8 ± 4,0 ^{*†‡}	44,8 ± 4,0 [#]

*Tab. 4: Hämoglobin und Hämatokrit nach Pankreatitis.
Mittelwerte ± SA.*

^{*}p<0,05 vs. den Ausgangswerten; [#] p<0,01 vs. den Ausgangswerten; [†] p<0,05 vs. den korrespondierenden Werten bei den Kontrolltieren; [‡] p<0,05 vs. den korrespondierenden Werten in Gruppe 2.

Die Hämokonzentration wurde begleitet von einem Abfall der totalen Proteinkonzentration im Plasma. Der Proteinverlust lag in allen Gruppen bei etwa 50 %. Diese Veränderungen zeigten sich ähnlich dem Anstieg des Hämoglobin und Hämatokrit signifikant deutlicher in der Kontrollgruppe, als in den Hämodilutionsgruppen (Abb. 4).

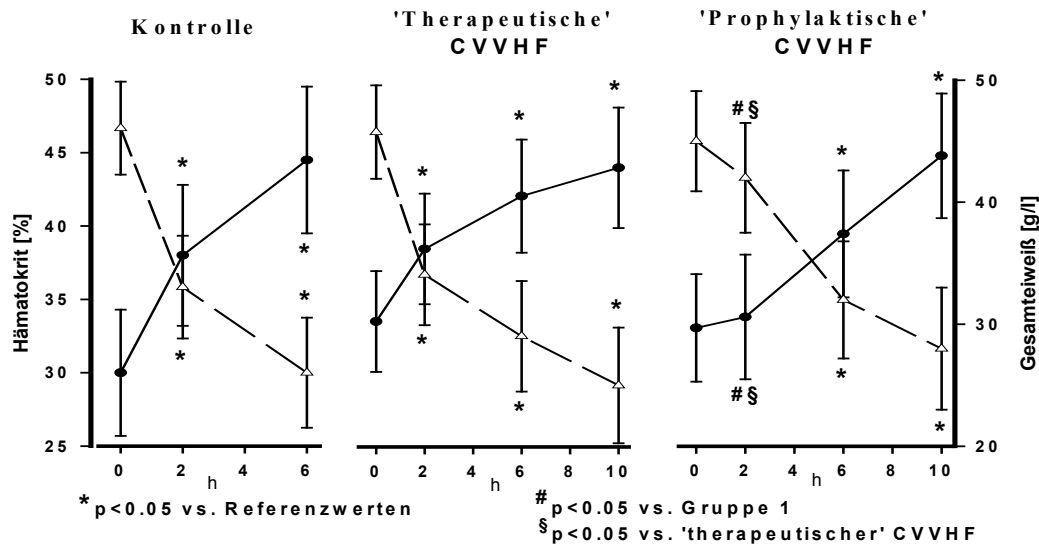


Abb. 4: Hämatokrit (Kreise) und Gesamtprotein (Dreiecke) nach Pankreatitis. Mittelwerte \pm SA.

5. Biochemische Parameter

5.1. Pankreasenzyme

5.1.1. Lipase

Tabelle 5 gibt einen Überblick auf den Verlauf der Lipase-Aktivität in den einzelnen Versuchsgruppen. Es fand sich in allen Gruppen ein signifikanter Anstieg der Lipase-Werte bereits 2 h nach Induktion der Pankreatitis. Geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen waren dabei nicht von statistischer Signifikanz.

Parameter	Gruppen	Ausgangswert e (100%)	2 h	6 h	10 h
Lipase (U/l)	1	72 ± 21	570 ± 212 [#]	1180 ± 210 [#]	-
	2	67 ± 17	520 ± 98 [#]	845 ± 160 [#]	1340 ± 380 [#]
	3	75 ± 22	580 ± 258 [#]	1060 ± 325 [#]	1540 ± 371 [#]

Tab. 5: Lipase nach Pankreatitis. Mittelwerte ± SA.
[#] p<0,01 vs. den Ausgangswerten

5.1.2. PLA₂

Die Pankreatitis führte zu einem signifikanten Anstieg der PLA₂-Konzentrationen im Plasma und im Aszites (Abb. 5). Während im Aszites der Anstieg der PLA₂-Konzentrationen in allen Gruppen ähnlich verlief, zeigte die Analyse der Plasma-Konzentrationen 2 und 6 h nach Induktion eine signifikante Abschwächung der PLA₂-Antwort in der Gruppe 3 (14±10 U/l initial; 89±23 U/l 6 h nach Induktion) im Vergleich zu den Kontrolltieren (8±6 U/l initial; 201±54 U/l 6 h nach Induktion). Derselbe Trend konnte in der Gruppe 2 beobachtet werden. Nach Beginn der Hämofiltration stiegen die PLA₂-Werte weniger deutlich als in der Kontrollgruppe (145±58 U/l in Gruppe 2 vs. 201±54 U/l in der Kontrollgruppe 6 h nach Induktion). Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant.

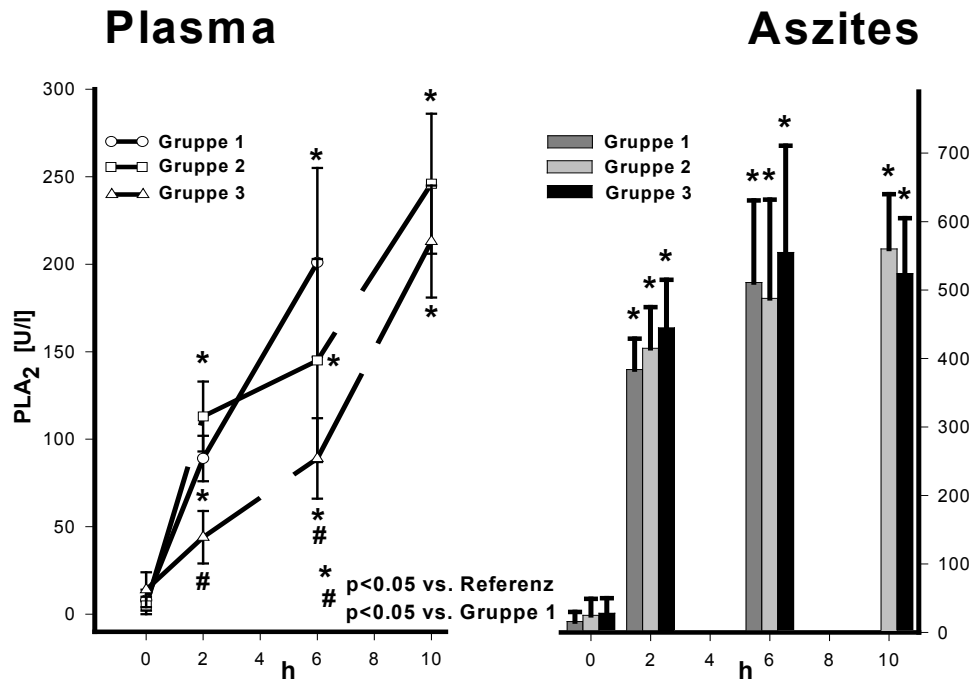


Abb. 5: Konzentration von PLA₂ in Plasma und Aszites nach Pankreatitis. Mittelwerte ± SA.

5.1.3. Trypsinogen-Aktivierendes-Peptid (TAP)

Die Urinkonzentration von TAP lag vor Induktion der Pankreatitis in allen Gruppen unter 1nmol/l (Abb. 6). Nach Induktion zeigte sich ein signifikanter Anstieg der TAP-Konzentration auf bis zu 700 nmol/l. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen des Experiments fanden sich nicht.

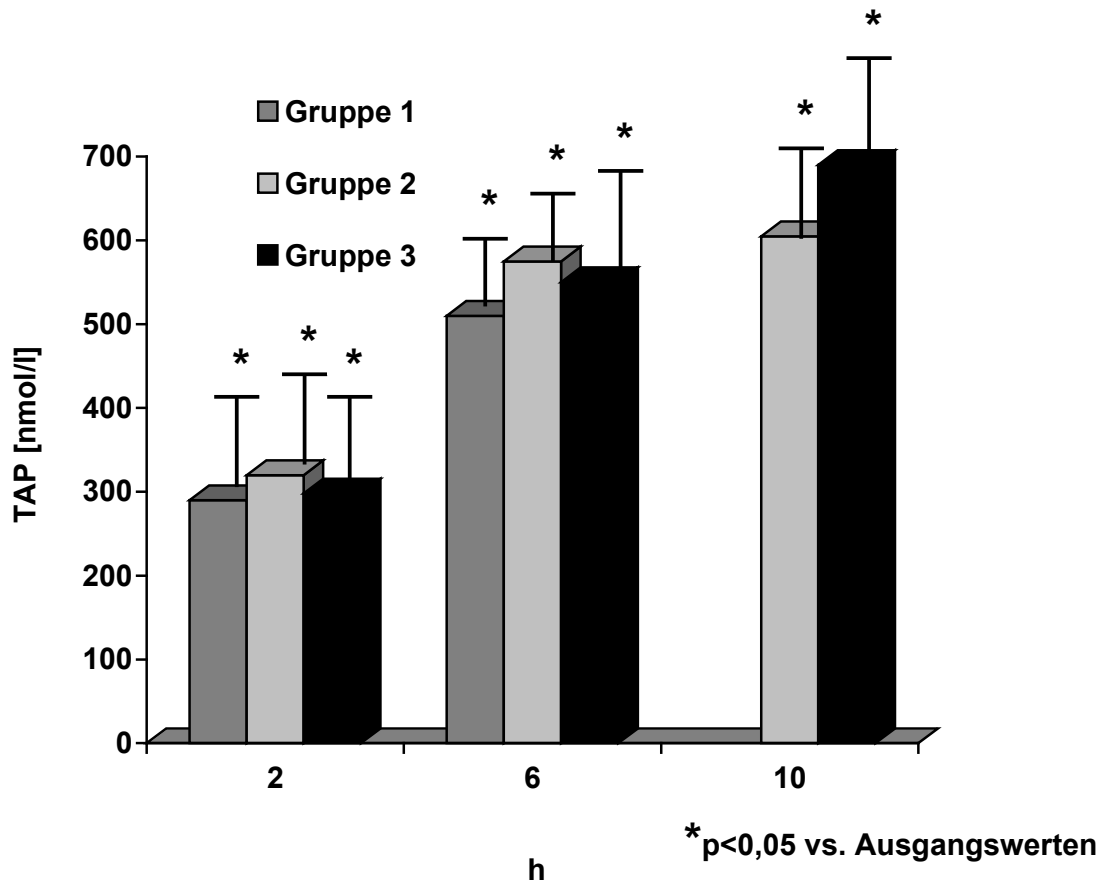


Abb. 6: TAP-Konzentrationen im Urin nach Pankreatitis. Mittelwerte \pm SA. (Werte < 1 nmol/l vor Induktion nicht graphisch dargestellt).

5.2. Kinin

Die Kinin-Konzentrationen stiegen signifikant in allen Gruppen sowohl im Plasma, als auch im Aszites (Abb. 7). Der bis zu 20-fache Anstieg der Konzentrationen im Aszites von weniger als 60 fmol/ml auf ca. 1 pmol/ml vor und nach Induktion der Pankreatitis zeigte keinen signifikanten Unterschied im Gruppenvergleich. Im Gegensatz dazu wurde die Kinin-Antwort im Plasma durch die CVVHF 6 h nach Induktion signifikant gemindert: Die vergleichbaren Konzentrationen stiegen von $5,0 \pm 4,4$ fmol/ml (initial) auf $137,9 \pm 35,6$ fmol/ml (6 h nach Induktion) in der Kontrollgruppe, von $5,8 \pm 5,1$ fmol/ml auf $75,4 \pm 20,7$ fmol/ml in der Gruppe 2 und von $7,2 \pm 6,1$ fmol/ml auf $44,0 \pm 18,9$ fmol/ml in der Gruppe 3. Der Unterschied zwischen früher und später Hämofiltration 6 h nach Induktion war statistisch nicht signifikant.

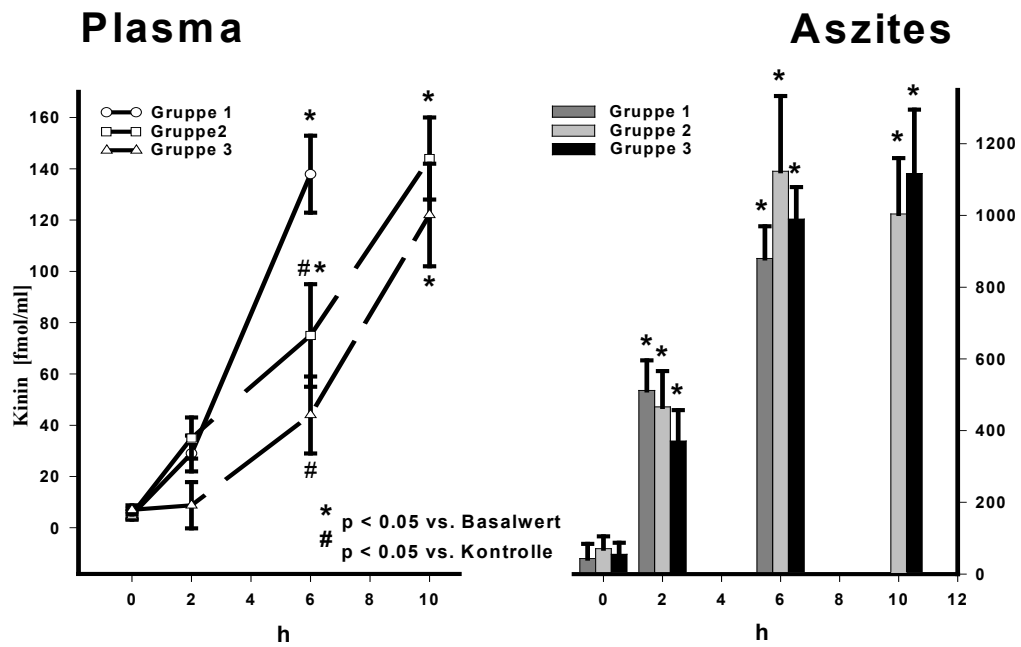


Abb. 7: Konzentration von Kinin in Plasma und Aszites nach Pankreatitis. Mittelwerte \pm SA.

5.3. C-reaktives Protein

Tabelle 6 gibt einen Überblick über den Verlauf der CRP-Konzentrationen im Plasma nach Pankreatitis-Induktion.

Parameter	Gruppen	Ausgangswerte (100%)	2 h	6 h	10 h
CRP (mg/l)	1	5,6 ± 4,6	10,4 ± 6,7	45,0 ± 12,5 [#]	-
	2	6,2 ± 5,7	12,5 ± 7,1	51,3 ± 17,7 [#]	77,2 ± 19,6 [#]
	3	6,8 ± 3,0	13,8 ± 7,4	53,3 ± 14,8 [#]	66,8 ± 23,8 [#]

Tab. 6: CRP nach Pankreatitis. Mittelwerte ± SA.

[#] p<0,01 vs. den Ausgangswerten

Die CRP-Konzentrationen, die initial vor Pankreatitis zwischen 5,6±4,6 mg/l und 6,8±3,0 mg/l lagen, stiegen signifikant auf ca. 50 mg/l (45,0-53,3) 6 h und 70 mg/l (66,8-77,2) 12 h nach Induktion der Pankreatitis. Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

5.4. Leukocyte neutral proteinase inhibitor (LNPI)

Vor der Induktion der Pankreatitis lagen die LNPI Konzentrationen bei ca. 100 pg/ml (Gruppe 1, 86 ± 40 pg/ml, Gruppe 2 105 ± 43 pg/ml, Gruppe 3 94 ± 51 pg/ml). Die Induktion der Pankreatitis führte zu einem mehr als zweifachen Anstieg der LNPI Plasma-Konzentrationen. Es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen.

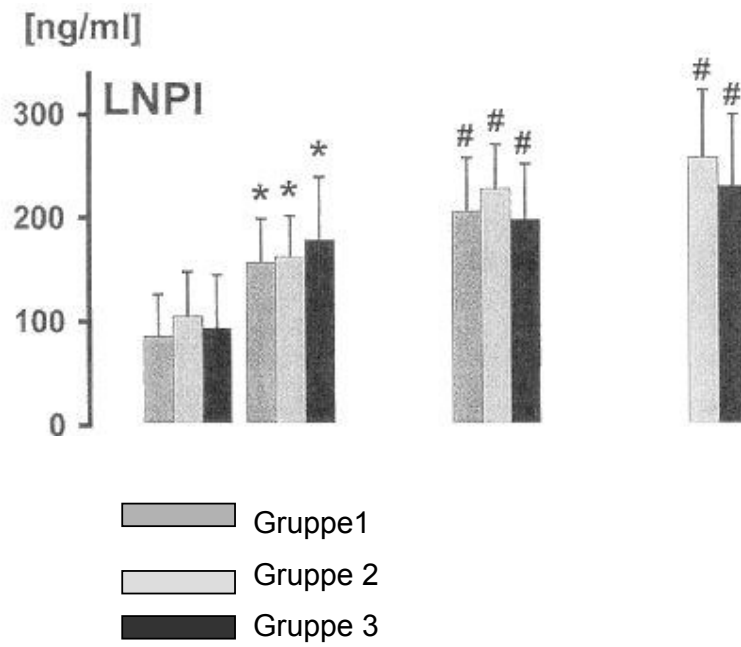


Abb. 8: Leukocyte neutral proteinase inhibitor (LNPI) Konzentrationen im Plasma. Werte dargestellt als $MW \pm SD$. * $p < 0,05$ vs. Ausgangswerten. # $p < 0,01$ vs. Ausgangswerten.

E. DISKUSSION

1. Allgemeiner Teil

Schon bald nach der Einführung der Hämofiltration zur Behandlung des akuten Nierenversagens wurden viele klinische und experimentelle Studien vorgestellt, die von der Annahme ausgingen, dass Patienten mit schweren septischen Erkrankungen von blutreinigenden Verfahren, wie z.B. der Hämofiltration, profitieren könnten, die in einigen klinischen Versuchsanordnungen durch Plasmapherese oder Hämodialyse ergänzt wurden. Zur Diskussion standen mehrere Mechanismen, um diesen hypothetischen Nutzen zu erklären, so z.B. die Entfernung von Sepsismediatoren sowohl durch konvektiven Transport durch den Filter, als auch durch Absorption an die Filtermembran.

Von der Hämofiltration nimmt man an, dass sie den klinischen Verlauf der Sepsis und des Multiorganversagens günstig beeinflussen kann (Bellomo 1993, Bellomo 1995, Blinzler 1991, Groeneveld 1990, Guice 1987). Gotloib et al. legten in einer klinischen Studie dar, dass die Hämofiltration sogar bei verheerenden septischen Erkrankungen einen signifikant günstigen Einfluss auf das Überleben nehmen kann (Gotloib 1990). 73 % der Patienten mit einem APACHE II Score > 30, der normalerweise mit einer Mortalitätsrate von über 95 % einher geht, überlebten. Andere nahmen an, dass die Hämofiltration stabilisierend auf Hämodynamik, metabolische Parameter und pulmonalen Gasaustausch bei Sepsis oder im kardiogenen Schock wirken könnte (Barzilay 1989, Blinzler 1991, Coraim 1986, Gotloib 1984). Storck berichtete in einer Diskussion über die besseren Ergebnisse der pumpengesteuerten CVVHF im Vergleich zur spontanen arteriovenösen HF, über einen direkten Zusammenhang zwischen dem kumulativen Ultrafiltratvolumen und der Überlebensrate von Patienten mit akutem Nierenversagen (Storck 1991). Die Beobachtung, dass die hochvolumige Hämofiltration, wie in anderen Studien ebenfalls berichtet (Bellomo 1993, Lee 1993), von größerem Nutzen war als ein geringer Plasmaumsatz, könnte einer besseren Kontrolle der Urämie und/oder einer effektiveren Entfernung von Sepsismediatoren zugeschrieben werden.

Mediatoren von denen man annimmt, dass sie möglicherweise filtrierbar sind oder die sogar schon im Hämofiltrat nachgewiesen werden konnten, sind z.B. Zytokine (Blinzler 1991, Gotloib 1990, Staubach 1989) aktivierte Faktoren des Komplementsystems (Blinzler 1991, Gotloib 1986, Gotloib 1990), Arachidonsäuremetaboliten (Gotloib 1986, Gotloib 1990, Hoffmann 1989), Platelet Activating Factor (PAF) (Goldfarb 1994, Gotloib 1990), Myocardial Depressant Factor (Gomez 1990), Kinine (Gotloib 1984, Gotloib 1990), und PLA₂ (Blinzler 1991).

In der vorgelegten Studie wurde eine ausgeglichene bilanzierte CVVHF durchgeführt, um positive Effekte einer Plusbilanz auf den Verlauf der Pankreatitis und des MOV weitgehend auszuschließen. Der benutzte Hämofilter erlaubte die Entfernung von Plasmabestandteilen bis zu einem Molekulargewicht von 30 kD. Es ist gerechtfertigt anzunehmen, dass viele kleine und mittelgroße Mediatoren, die im Rahmen einer schweren Pankreatitis freigesetzt werden, wie z.B. PLA₂ und Kinine, durch konvektiven Transport durch oder Adsorption an die Filtermembran aus dem Plasma eliminiert werden können. Die Filtration dieser Mediatoren könnte von bedeutender klinischer Relevanz sein unter der Annahme, dass sie mitverantwortlich für die Entwicklung schwerer systemischer Komplikationen sind.

2. Diskussion der Methode

2. 1. Versuchstier

Wir wählten als Versuchstiere Schweine der deutschen Landrasse, weil sie wie alle Hausschweine in der anatomischen Struktur ihres Gastrointestinaltraktes dem Menschen sehr ähneln (Skiennald 1982). Das Pankreas des Schweins liegt ebenfalls teils intra- teils retroperitoneal und gleicht in seiner Gefäßversorgung und in seinem anatomischen Aufbau dem humanen Pankreas (Glodeck und Oldigs 1981). Gleiches gilt für das Enzymmuster des exokrinen Pankreas, das sowohl lipolytische, proteolytische als auch glykolytische Enzyme umfasst (Ketz 1974). Die von uns untersuchten biochemischen Parameter waren somit allesamt analytisch zugänglich und erlaubten eine

bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die humane Pankreatitis als andere Tiermodelle

2.2. Anästhesie

Die von uns in diesem Modell eingesetzte intravenöse Narkose mit Piritramid, Midazolam sowie Pancuronium zur Relaxation ermöglichte eine ausreichende Narkosetiefe bei gleichzeitig guter Steuerbarkeit der medikamentösen Applikation. Inhalative Narkotika wie Enfluran hätten, zur Erreichung einer für die chirurgische Präparation nötigen Narkosetiefe, in Konzentrationen > 1 MAC dosiert werden müssen. Die bei Schweinen im Vergleich zum Menschen deutlich empfindlichere Hämodynamik und Herzfunktion wäre so entschieden beeinflusst worden. Die Kombination von Opioiden und Benzodiazepin dagegen wirkte sich nur gering auf die Herz- Kreislauffunktion der Tiere aus und ermöglichte eine von störenden Einflüssen der Narkotika weitgehend unabhängige Aufzeichnung der Hämodynamik.

2.3. Modell der NaT-EK Pankreatitis

Gallensalze wie Natrium-Taurocholat (NaT) dienen in vielen Modellen der Erzeugung einer hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis (Aho 1980, Ruud 1983). Die angewandten Methoden unterscheiden sich zum einen durch die Konzentration des NaT-Gemisches, zum anderen durch die Zugabe anderer proteolytischer Substanzen, in unserem Modell der Enterokinase. Aus methodischen Gründen wählten wir eine Methode, die binnen weniger Stunden zu einer Totalnekrose des pankreatischen Gewebes führte. Dies ermöglichte einen direkten Vergleich der Überlebenszeiten im Rahmen der durch die Versuchsbedingungen begrenzten Zeitspanne.

Führt die NaT Gabe zu einer Schädigung der pankreatischen Acinuszellen mit resultierender ödematöser Pankreatitis, so kommt es durch die Zugabe von Enterokinase zu einer zusätzlichen spezifischen Umwandlung von Trypsinogen in Trypsin und damit zu einer kaskadenartigen Aktivierung digestiver Proenzyme. Die daraus resultierende Autodigestion des Pankreas führt zum klinischen Vollbild der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis (Terry, 1985). Am Ende der Versuche zeigten alle Tiere eine Totalnekrose des

Pankreas und des peripankreatischen Gewebes. Eine genauere histopathologische Aufarbeitung war somit nicht sinnvoll. Als Marker für den Schweregrad der Pankreatitis im Versuchsverlauf diente ersatzweise der Nachweis von TAP im Urin.

Neben den intraduktal injizierten Substanzen ist auch der Druck der Injektion von entscheidender Bedeutung. Wird mit zu hohem Druck injiziert, können druckpassive Schäden am Gangepithel und an den Acinuszellen primär schädigend wirken und damit den Detergenzeffekt der Gallensalze, der das morphologische Bild der biliären Pankreatitis prägt, in den Hintergrund drängen (Reber, 1985). Um eine Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit des von uns angestrebten Modells der biliären Pankreatitis zu erreichen, erfolgte die Injektion des NaT-EK-Gemisches druckkontrolliert mit einem Maximum von 30 mmHg. Unter physiologischen Bedingungen beträgt der Druck im Ductus pancreaticus etwa 8 mmHg, bei Obstruktion werden intraduktale Drücke von 20 mmHg gemessen. 30 mmHg stellt die Obergrenze des vom Gangsystem tolerierten Druckes dar (Austin und Sieckmann, 1984).

3. Diskussion der Ergebnisse

3.1. Überlebenszeiten, Hämodynamik und Gasaustausch

Sowohl die gemessenen hämodynamischen Parameter als auch die Überlebenszeiten unterschieden sich im Zwischengruppenvergleich signifikant. Obwohl weder die frühe ('prophylaktische') noch die späte ('therapeutische') ausgeglichene bilanzierte CVVHF einen tödlichen Ausgang der Pankreatitis verhindern konnten, zeigten sie doch eine deutliche Verlangsamung der hämodynamischen Verschlechterung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Hieraus resultierte eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeiten. Tiere, die zeitgleich mit der Induktion der Pankreatitis hämofiltriert wurden, überlebten doppelt so lang wie Tiere der Kontrollgruppe.

Signifikante Unterschiede zeigten sich auch im Vergleich der beiden Hämofiltrationsgruppen. Mit 14,7 h war die mittlere Überlebenszeit der früh

(,prophylaktisch') hämofiltrierten Tiere signifikant verlängert gegenüber 12,3 h in der Gruppe der Tiere, die spät (,therapeutisch') hämofiltriert wurden. Da sich nach Versuchsende bei allen Tieren eine gleichsam ausgeprägte Totalnekrose des Pankreas zeigte, muss davon ausgegangen werden, dass die Ursache für die unterschiedlichen Überlebenszeiten nicht morphologisch, im Sinne einer mildereren Verlaufsform des lokalen pankreatitischen Geschehens begründet ist.

Vielmehr kann ein verzögert auftretendes Multiorganversagen als Folge einer Mediatorelimination über die Hämofiltration angenommen werden. Die Elimination von hämodynamisch wirksamen Substanzen, z.B. von Zytokinen und Kininen würde erklären, warum es in den Hämofiltrationsgruppen zu einem deutlich verzögerten Einbruch der Hämodynamik im Vergleich zur Kontrollgruppe kam.

Die positive Beeinflussung der Hämofiltration auf die hämodynamischen Veränderungen zeigte sich am deutlichsten bei den 'prophylaktisch' hämofiltrierten Tieren, bei denen die Hämofiltration simultan mit der Induktion der Pankreatitis gestartet wurde. Bei den 'therapeutisch' hämofiltrierten Tieren wurde die CVVHF erst nach der Verschlechterung der Hämodynamik begonnen, definiert als ein Absinken des MAP um 20 % unter die Ausgangswerte. Dies war ca. 2 h nach Induktion der Fall. In beiden Hämofiltrationsgruppen konnte ein diskontinuierlicher Verlauf des Experiments beobachtet werden: Eine Initial-Periode von ungefähr 3 h in der die kardinalen hämodynamischen Parameter relativ stabil blieben, wurde gefolgt von einer zweiten Phase zunehmender hämodynamischer Instabilität.

Diverse Gründe könnten diese Ergebnisse erklären: Zum einen könnte die sequentielle Aktivierung verschiedener Mediatorkaskaden zu einer verzögerten Freisetzung von Mediatoren > 30 kD führen, die somit nicht filtrierbar wären. Zum zweiten könnten Plasmabestandteile die nicht konvektiv durch den Filter transportiert werden sondern an ihn absorbieren, die Filtermembran verstopfen und somit zu einer zunehmenden Verkleinerung der effektiven Membranoberfläche führen. Zum dritten könnten Mediatoren, die zunächst an den Filter absorbiert wurden, im Verlauf des Versuches erneut in den Kreislauf

freigesetzt werden. Letzteres wurde für die Bindung von TNF an Polyamid Filter beschrieben (Goldfarb 1994). Des weiteren könnte die absolute Menge der durch die Pankreatitis freigesetzten Mediatoren die Kapazität des Hämofilters zur Elimination von Plasmabestandteilen eventuell überschreiten.

Im Hinblick auf die respiratorische Situation der Versuchstiere zeigte sich, als Zeichen zunehmender respiratorischer Insuffizienz, ein dramatischer Abfall der $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Ratio in der Gruppe der Kontrolltiere. Dieser wurde durch die CVVHF ebenfalls signifikant verlangsamt. Diese Beobachtung könnte diverse Gründe haben: Sowohl in der Kontroll- als auch in den Behandlungsgruppen ging der Abfall der Protein-Konzentration im Plasma mit einem deutlichen Abfall des ZVD einher, was auf eine Verschiebung von Flüssigkeit in das extravaskuläre Kompartiment hindeutete. Das Pankreatitis-bedingte kapilläre Leck führte somit zu einer erheblichen Flüssigkeitssequestration ins Gewebe. Folge war ein progressives Lungenödem in dessen Verlauf es zu einer zunehmenden respiratorischen Insuffizienz kam.

Ein anderer Mechanismus, der mitverantwortlich für die respiratorische Dysfunktion gewesen sein könnte, ist der negative Einfluss von Mediatoren, wie zum Beispiel des PLA_2 , von dem man annimmt, dass es durch Lyse des Lecithins des Lungen-Surfactants eine wichtige Rolle bei der pankreatogenen Störung des Gasaustausches spielt (Aho 1980, Guice 1987, Lankisch 1979, Maciver 1977, Morgan 1968). Unsere Ergebnisse stimmen somit mit denen vorangegangener Studien überein, die ebenfalls eine Verbesserung des pulmonalen Gasaustausches durch HF bei Sepsis oder kardiogenem Schock ergaben (Blinzler 1991, Coraim 1986, Gotloib 1986).

3.2. Biochemische Parameter

Die in dieser Studie gewählte Form der Pankreatitis induziert durch Na-Taurocholat in Kombination mit Enterokinase führte zu einer Totalnekrose des Pankreas und des peripankreatischen Gewebes. Wir verzichteten daher auf

eine histologische Aufarbeitung des Gewebes und untersuchten TAP im Urin als Parameter für den Schweregrad der pankreatischen Nekrose. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass erhöhte TAP-Konzentrationen hoch sensitiv und spezifisch für die Formation der pankreatischen Nekrose waren und somit hilfreich bei der Vorhersage des Schweregrades der akuten Pankreatitis (Hurley 1988, Karanjia 1993). Die Untersuchung von Lipase im Serum ließ außerdem Aussagen über den klinischen Schweregrad der Pankreatitis zu. CRP als unspezifischer Marker der Entzündung wurde ebenso wie LNPI im Serum bestimmt. Die LNPI und CRP Konzentrationen im Plasma zeigten als Indikatoren für einen bestehenden inflammatorischen Prozess einen signifikanten Anstieg nach Induktion der Pankreatitis.

LNPI ist ein cytosolischer Inhibitor porciner Granulozyten der sich gegen zelleigene neutrophile Elastase richtet. Die LNPI Plasma-Konzentrationen können daher als Marker für die Aktivierung porciner Granulozyten gewertet werden. Hinsichtlich seiner biologischen Eigenschaften gehört LNPI zur Familie der Proteinase-Inhibitoren die sich gegen den Effekt aktivierter Serin-Proteinasen richten. Aus der Tatsache, dass sich kein Unterschied im Anstieg der LNPI Plasma-Konzentrationen zwischen den Gruppen finden ließ, lässt sich schließen, dass der Einfluß aktivierter Granulozyten auf den Verlauf der Hämodynamik bei induzierter Pankreatitis unter Hämofiltrationsbedingungen eine untergeordnete Rolle spielt.

In der vorgelegten Studie konnte außerdem ein enormer Anstieg der Urin-TAP-Konzentrationen beobachtet werden, ohne dass sich ein signifikanter Unterschied in dem Grad des TAP-Anstiegs zwischen den einzelnen Gruppen zeigte. Dies stimmte mit dem signifikanten Anstieg von Lipase, Amylase, CRP und LNPI im Plasma überein: Es fanden sich früh signifikante Anstiege der Serumkonzentrationen im Vergleich mit den Ausgangswerten, im Vergleich der Gruppen untereinander konnten jedoch keine Unterschiede festgestellt werden. Hieran wird, zusätzlich zu den vergleichbaren morphologischen Veränderungen des pankreatischen Gewebes, deutlich, dass nicht der Schweregrad der lokalen Pankreatitis, im Sinne mehr oder minder schwer ausgeprägter Pankreasdestruktion in den einzelnen Gruppen, für die signifikanten Unterschiede der Überlebenszeiten verantwortlich ist.

Der Proteinverlust und die daraus resultierende Verschiebung von Flüssigkeit in das extravaskuläre Kompartiment spiegelten sich in den Hämoglobin- und Hämatokrit-Werten wider, die in allen Gruppen eine deutliche Hämokonzentration anzeigten. Verantwortlich dafür war am ehesten ein kapilläres Leck, das laut verschiedener Studien vasoaktiven Mediatoren wie dem Kinin zugeschrieben werden kann. In Übereinstimmung mit diesen Resultaten berichtet *Griesbacher* über einen deutlichen Abfall des Blutvolumens (28%) infolge des gesunkenen Plasmavolumens (48%) und damit einhergehender Hämokonzentration bei experimenteller Pankreatitis (*Griesbacher* 1993). In unserer Studie zeigte sich eventuell als Folge einer Kininelimination eine unterschiedlich stark ausgeprägte Form der Hämokonzentration in den einzelnen Gruppen. Diese Unterschiede waren ebenfalls signifikant. Mittlerweile konnte auch im Rahmen anderer tierexperimenteller Studien nachgewiesen werden, dass eine solche Hämokonzentration dem Einbruch der hämodynamischen Parameter vorausgeht (*Kinnala* 1999). *Brown et al.* wiesen zudem in klinischen Studien nach, dass der pankreatitisbedingten Hämokonzentration prognostische Bedeutung bei der Entwicklung der nekrotisierenden Pankreatitis und des MOV zukommt. Patienten, die keine Hämokonzentration zeigten, entwickelten nur höchst selten Organnekrosen und/oder ein MOV (Negative predictive value (NPV) = 96% für Organnekrosen und 97% für MOV) (*Brown* 2000).

Die Analysen von Kinin- und PLA₂-Konzentrationen im Plasma legten die Vermutung nahe, dass die CVVHF zumindest teilweise in der Lage war, einige Sepsismediatoren effektiv zu eliminieren. In der Gruppe der Kontrolltiere zeigte sich parallel zum Anstieg der Kinin- und PLA₂-Konzentrationen im Plasma ein signifikanter Anstieg derselben im Aszites. Obwohl in den Behandlungsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe die Kinin- und PLA₂-Konzentrationen im Aszites nahezu identisch waren, führte die CVVHF dennoch zu einer signifikanten Verzögerung der Plasmaantwort bezüglich dieser Mediatoren. Dieser Effekt ließ sich jedoch nicht dauerhaft aufrechterhalten, denn 10 h nach Induktion ähnelten die gemessenen Kinin- und PLA₂-Konzentrationen in den Hämofiltrationsgruppen jenen 6 h nach Induktion in der Kontrollgruppe. Dies

lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass wie oben schon erwähnt, Albumine und/oder andere Plasmabestandteile die Filtermembran in zunehmender Weise verstopft haben könnten. Bis jetzt gibt es keine Studien, die die Frage untersuchen, ob bei längerer Anwendung desselben Filters, mit allmählicher Sättigung der konvektiven und adsorptiven Kapazität, der Siebkoeffizient beeinflusst werden könnte. Sollte dies zutreffen, könnte dies eine rationale und abschließende Erklärung dafür sein, dass die Hämofiltration in diesem experimentellen Ansatz nur vorübergehend und nicht endgültig in der Lage war, Kinin und PLA₂ aus dem Plasma zu filtern. Unter dieser Vorstellung haben Ronco et al. die Hypothese aufgestellt, dass zur Vermeidung eines Verlustes an Effizienz der CVVHF häufigere Filterwechsel von Nöten wären (Ronco 1995). Letztendlich werden weitere Studien zu diesem Thema durchgeführt werden müssen.

In der Zwischenzeit konnte in mehreren klinischen Studien ein Nutzen der verschiedenen Blutreinigungsverfahren bei Patienten mit schwerer akuter Pankreatitis und Gefahr des Multi-Organ-Versagens nachgewiesen werden. Neben der in unserem Versuchsansatz durchgeführten veno-venösen Hämofiltration kommen dabei vermehrt auch andere Verfahren wie die Kombination aus Plasmafiltration und -adsorption (Ronco 2002) oder Plasmapherese (Pupelis 2001) zum Einsatz, die in Verbindung mit der CVVHF mitunter eine noch stärkere Wirksamkeit bei der Elimination von Sepsismediatoren unter Beweis stellen. Problematisch gestaltet sich auch in den klinischen Studien der unmittelbare Nachweis eliminierten Mediatoren im gewonnenen Eluat. Nicht der einmalige Durchlauf des Blutes durch die Filtermembran führt zu einer signifikanten Reduktion von sepsisrelevanten Stoffen, sondern die kontinuierliche Filtration über mehrere Stunden. Der Erfolg einer solchen Therapie zeigt sich in der erhaltenen Immunantwort behandelter Patienten, die einen positiven Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung nimmt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass interventionelle Blutreinigungsverfahren wie die CVVHF als ein Standbein in der Therapie der Sepsis in den letzten zehn Jahren sowohl experimentell als klinisch sehr genau untersucht wurden. Trotz vielversprechender Ergebnisse hat sich das Verfahren

in letzter Konsequenz noch nicht durchgesetzt. Ein Grund hierfür liegt in der großen Variabilität der Behandlungsansätze. Bevor randomisierte und kontrollierte klinische Studien durchgeführt werden, muss experimentell die Frage beantwortet werden, welches Blutreinigungsverfahren (CVVHF, CVVHDF, Plasmapherese, CPFA oder Kombinationen) unter welchen Modalitäten (Blutfluss, Filterwechsel, Start und Dauer der Behandlung) den größten Erfolg bringt. Folgearbeiten der vorgelegten Studie haben ergeben, dass durch noch aggressivere Hämofiltrationsbedingungen (erhöhter Blutfluss, gesteigerte Clearance) und regelmäßige Filterwechsel (alle 12 h) eine weitere Verbesserung von Hämodynamik, Temperaturregulation und Überlebenszeiten als Folge einer erkennbaren Sepsisprotektion erreicht werden (Yekebas 2001). Sollten die in Zukunft erhobenen klinischen Daten von Patienten mit pankreatitisbedingten SIRS oder Sepsis Behandlung mit kontrollierten Blutreinigungsverfahren wie der CVVHF weiterhin für eine Senkung der Mortalität im Vergleich zu den Vorhersagewerten führen, sollte konsequenterweise eine randomisierte klinische Studien folgen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

In der hier vorgestellten experimentellen Forschungsarbeit wurde untersucht, ob eine kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration durch Elimination von Entzündungsmediatoren bei Versuchstieren mit schwerer systemischer Inflammation zu einer Verzögerung des konsekutiven Multi-Organ-Versagens führen kann.

Dazu wurden Schweine der deutschen Landrasse in drei Versuchsgruppen eingeteilt. Bei allen Tieren wurden unter Narkose- und Beatmungsbedingungen chirurgisch, durch Injektion von Gallensalzen in den Ductus pancreaticus, eine schwere nekrotisierende Pankreatitis induziert. Bei Tieren der Gruppe 1 wurde der Spontanverlauf des resultierenden sepsisbedingten Multiorganversagens dokumentiert. Tiere der Gruppe 2 wurden nach einem Abfall des mittleren arteriellen Druckes um >20% „therapeutisch“ hämofiltriert. In Gruppe 3 erfolgte die Hämofiltration „prophylaktisch“ bereits zeitgleich mit der Induktion der Pankreatitis.

Neben der kontinuierlichen Aufzeichnung der wichtigen hämodynamischen Parameter wurden die Überlebenszeiten in den einzelnen Versuchsgruppen dokumentiert. In definierten Zeitabständen wurden Abnahmen zur laborchemische Bestimmungen von Pankreasenzymen (Lipase, PLA₂, TAP) und Mediatoren (Kinin, CRP, LNPI) in Blut, Ascites und Urin durchgeführt.

Die nicht hämofiltrierten Tiere der Kontrollgruppe entwickelten innerhalb von Stunden ein Multiorganversagen, das nach durchschnittlich 7 Stunden zum Tod der Versuchstiere führte. Sowohl Tiere die spät („therapeutisch“) als auch früh („prophylaktisch“) hämofiltriert wurden, zeigten eine signifikant verlängerte Überlebenszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im Vergleich der Hämofiltrationsgruppen untereinander profitierten die Tiere, die früh bereits mit dem Start der Pankreatitisinduktion filtriert wurden. Dies drückte sich auch in den Messungen der hämodynamischen Werte sowie des Oxygenierungsindex aus. Die Bestimmung der Plasma-Lipase sowie der Urin-TAP Konzentrationen zeigte bei allen Tieren stark erhöhte Werte als Ausdruck der massiven Pankreasschädigung nach Induktion der Pankreatitis. Das auf Grund seiner Molekülgröße filterbare PLA₂ zeigte zwar ähnliche Ascites-Konzentrationen bei

allen Versuchstieren, allerdings niedrigere Werte im Plasma der hämofiltrierten Tiere. Ähnliches konnte auch für Kinin als wichtigen filtergängigen Entzündungsmediator nachgewiesen werden. Ein reduzierender Effekt der Hämofiltration auf die Mediatorkonzentration konnte also nachgewiesen werden. Allerdings zeigte sich, dass im weiteren zeitlichen Verlauf nach Start der CVVHF eine Reduktion der Hämofiltrationsleistung in Bezug auf die Mediatorelimination zu verzeichnen war. Dies lässt sich unter anderem durch eine mögliche zunehmende Verstopfung der Filtermembran durch Makromoleküle und Albumine erklären.

Die durchgeführten Experimente lassen den Schluss zu, dass eine möglichst frühzeitig eingesetzte Hämofiltration in der Lage ist, den kaskadenhaften Anstieg von proinflammatorischen Mediatoren im Rahmen eines SIRS oder einer Sepsis durch Elimination der filtergängigen Mediatoren zumindest zeitweise relevant zu verringern. Durch veränderte Modalitäten der Filtration (häufiger Filterwechsel, höherer Filtratumsatz) könnte dieser Effekt vermutlich noch gesteigert werden. Der damit erzielte Nutzen liegt in einer Verzögerung oder bestenfalls Verhinderung des konsekutiven Multiorganversagens, das bei septischen oder Sepsis-ähnlichen Krankheitsbildern nach wie vor mit einer hohen Letalität einher geht.

G. LITERATURVERZEICHNIS

Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate – induced acute haemorrhagic pancreatitis. Scand J Gastroenterol 1980;15 : 411-416

Aho HJ, Ahola RA, Tolvanen AM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Changes in pulmonary phospholipids during sodium taurocholate – induced acute pancreatitis. Res Exp Med (Berl) 1983;182 : 79-84

Austin JL, Sieckmann G. Effect of pancreatic duct pressure on pancreatic duct permeability to macromolecules. Gastroenterology 1984;82 : 1017-1021

Barzilay E, Kessler D, Berlot G, Gullo A, Geber D, Ben-Zeev I. Use of extracorporeal supportive techniques as additional treatment for septic induced multiple organ failure patients. Crit Care Med 1989;17 : 634-637

Bellomo R, Tipping P, Boyce N. Continuous venovenous hemofiltration with dialysis removes cytokines from the circulation of septic patients. Crit Care Med 1993;21 : 522-526

Bellomo R. Continuous hemofiltration as blood purification in sepsis. New Hori 1995;3 : 732-737

Blinzler L, Haußer J, Bödeker H, Zaune U, Martin E, Gebhardt C. Conservative treatment of severe necrotizing pancreatitis using early continuous venovenous hemofiltration. In : Sieberth HG, Mann H, Stummvoll HK (eds.). Continuous hemofiltration. Contrib Nephrol 1991;pp 234-236

Bone RC. Immunologic dissonance: A continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Annals Intern Med 1996;125:680-87

Brown A, Orav J, Banks PA. Hemoconcentration is an early marker for organ failure and necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2000;20(4): 367-72

Büchler M, Malfertheiner P, Schädlich H, Nevalainen T, Mavromatis T, Beger HG. Prognostic value of serum phospholipase A in acute pancreatitis. *Klin Wochenschr* 1989;67 : 186-189

Cavallini G, Riela A, Brocco G et al. Epidemiology of acute pancreatitis. In: Beger HG, Büchler M (eds.). *Acute pancreatitis. Research and clinical management*. Springer Verlag, Berlin, 1987;pp 25-31

Chang RWS, Jacobs S, Lee B. Predicting outcome among intensive care unit patients using computerised trend analysis of daily APACHE II scores corrected for organ system failure. *Intensive Care Med* 1988;14 : 558-566

Coraim FJ, Coraim HP, Ebermann R, Stellwag FM. Acute respiratory failure after cardiac surgery : clinical experience with the application of continuous arteriovenous hemofiltration. *Crit Care Med* 1986;14 : 714-718

Fink E, Schill WB, Fiedler F, Krassnigg F, Geiger R, Shimamoto K. Tissue Kallikrein of human seminal plasma is secreted by the prostate gland. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1985;366 : 917-924

Fölsch UR, Löser C. Aktuelle Trends in der Behandlung der akuten Pankreatitis. *Dtsch Arztebl* 1992;89 : B2459-2466

Forell MM, Lehnert P. Gallenwege und exokrines Pankreas. In : Siegenthaler W (ed) *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1982;pp 956-983

Gebhardt C, Bödeker H, Blinzler L, Kraus D, Hergdt G. Wandel in der Therapie der schweren akuten Pankreatitis. *Chirurg* 1994;65 : 33-41

Geiger R, Sokal S, Trefz G, et al. PMN elastase and leukocyte neutral elastase inhibitor (LNPI) from granulocytes as inflammation markers in experimental septicemia. *Adv Exp Biol Med* 1988;240:465-471

Glodek P, Oldigs B *Das Göttinger Miniaturschwein*. Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg 1981

Goldfarb S, Golper TA. Proinflammatory cytokines and hemofiltration membranes. *J Am Soc Nephrol* 1994;5 : 228-232

Gomez A, Wang R, Unruh H, Light RB, Bose D, Chau T, Correa E, Mink S. Hemofiltration reverses left ventricular dysfunction during sepsis in dogs. *Anaesthesiology* 1990;73 : 671-685

Gotloib L, Barzilay E, Shustak A, Lev A. Sequential hemofiltration in nonoliguric high capillary permeability pulmonary edema of severe sepsis : preliminary report. *Crit Care Med* 1984;12 : 997-1000

Gotloib L, Barzilay E, Shustak A, Wais Z, Jaichenko J, Lev A. Hemofiltration in septic ARDS. The artificial kidney as an artificial endocrine lung. *Resuscitation* 1986;13 : 123-132

Gotloib L, Shostak A, Lev A, Fudin R, Jaichenko J. Treatment of surgical and nonsurgical septic multiple organ failure with bicarbonate hemodialysis and sequential hemofiltration. *Intensive Care Med* 1990;21 : 104-111

Griesbacher T, Tiran B, Lembeck F. Pathological events in experimental acute pancreatitis prevented by the bradykinin antagonist , HOE 140. *Br J Pharmacol* 1993;108 : 405-411

Groeneveld ABJ. Septic shock and multiple organ failure : treatment with hemofiltration ? *Intensive Care Med* 1990;16 : 489-490

Gudgeon AM, Heath DI, Hurley P, Jehanli A, Patel G, Wilson C, Shenkin A, Austen BM, Imrie CW, Hermon-Taylor J. Trypsinogen activation peptides assay in the early prediction of severity of acute pancreatitis. *Lancet* 1990;335 : 4-8

Guice KS, Oldham KT, Wolfe RR, Simmons RH. Lung injury in acute pancreatitis : primary inhibition of pulmonary phospholipid synthesis. *Am J Surg* 1987;153 : 54-61

Hoffmann GE, Neumann U. Modified photometric method for the determination of phospholipase A activities. *Klin Wochenschr* 1989;67 : 106-109

Hurley P, Cooke A, Jehanli A, Austen BM, Hermon-Taylor J. TAP assay : a novel immunoassay specific for free trypsinogen activation peptides reporting pathological trypsinogen activation. *Gastroenterology* 1988;94 : A198

Hurley P, Cooke A, Jehanli A, Austen BM, Hermon-Taylor J. Development of radioimmunoassays for free tetra-L-aspartyl-L-lysine trypsinogen activation peptides (TAP). *J Immunol Methods* 1988;111 : 195-203

Karanjia ND, Widdison AL, Jehanli A, Hermon-Taylor J, Reber HA. Assay of trypsinogen activation in the cat experimental model of acute pancreatitis. *Pancreas* 1993;8(2) : 189-195

Ketz HA. In : Kolb E (ed), *Lehrbuch der Physiologie der Haustiere*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1974

Kinnala PJ, Kuttilla KT, Gronroos JM, Havia TV, Nevalainen TJ, Niinikoski J. Central hemodynamics in experimental acute pancreatitis. *Eur J Surg* 1999;165(6): 598-603

Klose KJ, Neher M, Kuhn FP. Operative Behandlung bei akuter Pankreatitis. *Dtsch Med Wschr* 1983;108 : 490-495

Kümmerle F, Neher M, Schönborn M et al. Vorzeitige Operation bei akuter hämorrhagisch nekrotisierender Pankreatitis. Dtsch Med Wschr 1975;100 : 2241-2245

Lankisch PG, Koop H, Woltjen HH, Rahlf G. Post mortem findings in the lungs in severe acute pancreatitis. Gastroenterol Clin Biol 1979;3 : 299A

Lee PA, Matson JR, Pryor RW, Hinshaw LB. Continuous arteriovenous hemofiltration therapy for staphylococcus aureus – induced septicemia in immature swine. Crit Care Med 1993;21 : 914-924

Maciver AG, Metcalfe IL, Possmayer F, Harding PGR, Passi RBJ. Alteration of surfactant chemistry in experimental hemorrhagic pancreatitis. J Surg Res 1977 ;23 : 311-314

Morgan AP, Jenny ME, Haessler H. Phospholipids, acute pancreatitis and the lungs : Effect of lecithinase infusion on pulmonary surface activity in dogs. Ann Surg 1968;167 : 329-335

Mayer AD, McMahon MJ, Corfield AP, Cooper MJ, Williamson RCN, Dickson AP, Shearer MG, Imrie CW. Controlled clinical trial of peritoneal lavage for the treatment of severe acute pancreatitis. New Engl J Med 1985;312 : 399-404

O'Sullivan JN, Nobrega FT, Morlock CG, Brown AL Jr., Bartholomew LG. Acute and chronic pancreatitis in Rochester, Minnesota, 1940 to 1969. Gastroenterology 1972;62 : 373-379

Pupelis G, Austrums E, Snippe K. Blutreinigungsmaßnahmen bei Patienten mit Organversagen bei schwerer Pankreatitis. Zentralbl Chir 2001;126: 780-84

Reber H. Experimental models in acute pancreatitis. Duct perfusion and hypertension. Dig Dis Sci 1985;30 : 577-582

Ronco C, Tetta C, Lupi A, Galloni E, Bettini MC, Sereni L, Mariano F, DeMartino A, Montrucchio G, Camussi G, LaGreca G. Removal of platelet activating factor in experimental continuous arteriovenous hemofiltration. Crit Care Med 1995;23 : 99-107

Ronco C, Brendolan A, Lonnemann G, Bellomo R, Piccinni P, Digito A, Dan M, Irone M, La Greca G, Inguaggiato P, Maggiore U, De Nitti C, Wratten ML, Ricci Z, Tetta C. A pilot study of coupled plasma filtration with adsorption in septic shock. Crit Care Med 2002;30(6): 1250-5

Roscher R, Büchler M, Bittner R, Beger HG. Daten zur Operationsindikation bei nekrotisierender Pankreatitis – Ergebnisse einer Validierungsstudie. Zentralbl Chir 1989;144 : 77ff30

Ruud TE, Aasen AO, Kierulf P, Stadass J, Aune S. Studies on the plasma kallikrein – kinin system in peritoneal exsudate and plasma during experimental acute pancreatitis in pigs. Scand J Gastroenterol 1985;20 : 877-882

Schrödl W. Diagnostische Verwendbarkeit ausgewählter immunologischer Parameter in Seren von Schweinen und Pferden. Vet. Med. Dissertation. Universität Leipzig 1994

Shimamoto K, Ando T, Tanaka S, Iimura O. The determination of kinin and glandular kallikrein in human biological fluids. Atemweg- und Lungenkrkh 1988;14(1) :29-36

Skiennald A. Anatomy of the liver and pancreas in the domestic swine, with special reference to vascular structures. Exp Med Res 15, 1982

Staubach KH, Rau HG, Kooistra A, Shardey HM, Hohlbach G, Schildberg FW. Can hemofiltration increase survival time in acute endotoxemia – a porcine shock model. Second Vienna Shock Forum 1989;pp 821-826

Storck M, Hartl WH, Zimmerer E, Inthorn D. Comparison of pump-driven and spontaneous continuous hemofiltration in postoperative acute renal failure. *Lancet* 1991;337 : 452-455

Tegtmeyer FK, Otte J, Horn C. Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) aus Kapillarblut – ein Vergleich mit der CRP Konzentration in venösem Serum. *Monatsschr Kinderheilkd* 1990;138 : 443-445

Terry TR, Hermon-Taylor J, Grant DAW. The generation of lysolecithin by enterokinase in trypsinogen phospholipase A2 lecithin mixtures, and its relevance to the pathogenesis of acute necrotising pancreatitis. *Clin Chem Acta* 1985;150 : 151-164

Teschauer WT, Mentele R, Sommerhoff CP. Primary structure of a porcine leukocyte serpin. *Eur J Biochem* 1993;217:519-526

Tonnesen E, Hansen MB, Höhndorf K, Diamant M, Bendtzen K, Wanscher M, Toft P. Cytokines in plasma and ultrafiltrat during continuous arteriovenous hemofiltration. *Anaesth Intens Care* 1993;21 : 752-758

Trefz G, Geiger R. Neutral proteinase inhibitors in PMN leukocytes. II. Isolation and characterization of a neutral proteinase inhibitor from porcine PMN leukocytes. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1987;368:1343-53

Uehara S, Honjyo K, Furukawa S, Hirayama A, Sakamoto W. Role of the kallikrain-kinin system in human pancreatitis. *Adv Exp Med Biol* 1989;247B : 643-648

Vogel WC, Zieve L. A rapid and sensitive turbidimetric method for serum lipase estimation based upon differences between the lipase of normal and pancreatitis serum. *Clin Chem* 1963;9 : 168-175

Yekebas EF, Treede H, Knoefel WT, Bloechle C, Fink E, Izbicki JR. Influence of zero-balanced hemofiltration on the course of severe experimental pancreatitis in pigs. *Ann Surg.* 1999 Apr;229(4):514-22.

Yekebas E, Treede H, Jochum M, Gippner-Steppert C, Bloechle C, Knoefel WT, Scholz J, Fink E, Izbicki JR. Bradykinin B2-receptor antagonism attenuates fatal cardiocirculatory breakdown induced by severe experimental pancreatitis. *Crit Care Med.* 2000 Apr;28(4):1119-27.

Yekebas EF, Eisenberger CF, Ohnesorge H, Saalmüller A, Elsner HA, Engelhardt M, Gillesen A, Meins J, The M, Strate T, Busch C, Knoefel WT, Bloechle C, Izbicki JR. Attenuation of sepsis-related immunoparalysis by continuous veno-venous hemofiltration in experimental porcine pancreatitis. *Crit Care Med* 2001;29:1423-30

Yotsumoto F, Manabe T, Ohshio G. Bradykinin Involvement in the Aggravation of Acute Pancreatitis in Rabbits. *Digestion* 1993;54 : 224-230

H. DANKSAGUNG

Ich danke vor allem PD Dr. Emre Yekebas für die exzellente Unterstützung während der experimentellen und theoretischen Arbeit an dieser umfangreichen Studie. Mein Dank gilt natürlich auch Prof. Dr. J. Izbicki für die Möglichkeit in seiner Arbeitsgruppe unter hervorragenden Bedingungen diese Forschungsarbeit durchführen zu können.

Großer Dank geht natürlich auch an meine Eltern die wichtigen Anteil an Studium und beruflichem Erfolg haben.

I. LEBENS LAUF

Name: Hendrik Treede
Adresse: Nissenstr. 9
20251 Hamburg
Telefon: 040 / 890 62 766
0174 / 921 5398
Geburtsdatum: 09.06.1969
Geburtsort: Elmshorn
Familienstand: Ledig
Kinder: 1 Sohn (Lennard Treede geb. 01.06.2003)
Nationalität: Deutsch

Ausbildung

Seit 07/2001	Assistenzarzt	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf Herzzentrum Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
12/1997-06/2001	AiP und Assistenzarzt	Klinikum der Universität München Großhadern Herzchirurgische Klinik
1990 – 1997	Studium Humanmedizin	Universität Hamburg
1979 – 1988	Elsa-Brändström-Gymnasium	Elmshorn
1975 – 1979	Grundschule Kaltenweide	Elmshorn

Approbation und Examina

Vollapprobation als Arzt	Mai 1999
Drittes Staatsexamen Medizin	Oktober 1997
Zweites Staatsexamen Medizin	August 1996
Erstes Staatsexamen Medizin	März 1995
Physikum	März 1993
Abitur	Mai 1988

Praktische Tätigkeiten

Ärztlich:

01.07.2001 – aktuell	Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie UKE / Hamburg	Assistenzarzt
01.12.1997 – 30.06.2001	Herzchirurgische Klinik Klinikum Großhadern LMU / München	AiP und Assistenzarzt

Praktisches Jahr:

01.10.1996 – 30.09.1997	1. Tertial HNO	AK Altona
	2. Tertial Allg. Chirurgie	UKE
	3. Tertial Innere	UKE

Famulaturen:

26.02. – 26.03.1996	Dr. K.-J. Tassius Praktischer Arzt Hamburg	Praxisfamulatur
25.09. – 22.10.1995	Brigham and Women´s Hospital Harvard University, Boston, MA	Thoracic Surgery
28.08. – 24.09.1995	Massachussets General Hospital Harvard University, Boston, MA	Plastic Surgery
05.09. – 30.09.1994	UKE (Station C5) Hamburg	Allgemeinchirurgie
23.08. – 17.09.1993	AK Altona Hamburg	Pathologie

Studentische Hilfskraft:

01.09.1993 – 31.07.1997	UKE Abt. für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie	Intensivstation
01.05.1993 – 31.07.1993	AK Barmbek Abt. Für Allgemeinchirurgie	Intensivstation
01.10.1990 – 31.12.1992	Frauenklinik Finkenau Gynäkologie	Anästhesie Aufwachraum

Lehrtätigkeit:

01.10.1992 – 28.02.1993	Anatomisches Institut UKE	Vorpräparand
-------------------------	------------------------------	--------------

Zivildienst:

01.09.1988 – 30.04.1990	Schwerpunkt Krankenhaus Elmshorn Interdisziplinäre Intensivstation
-------------------------	---

Sprachen

Deutsch
Englisch
Französisch
Latein (Kleines Latinum)

I. VERÖFFENTLICHUNGEN

1. Chalajour F, **Treede H**, Ebrahimnejad A, Lauke H, Reichenspurner H, Ergun S. Angiogenic activation of valvular endothelial cells in aortic valve stenosis. *Exp Cell Res.* 2004 Aug 15;298(2):455-64.
2. Schrepfer S, Deuse T, Detter C, **Treede H**, Koops A, Boehm DH, Willems S, Lacour-Gayet F, Reichenspurner H. Successful resection of a symptomatic right ventricular lipoma. *Ann Thorac Surg.* 2003 Oct;76(4):1305-7.
3. Zuckermann A, Reichenspurner H, Birsan T, **Treede H**, Deviatko E, Reichart B, Klepetko W. Cyclosporine A versus tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil and steroids as primary immunosuppression after lung transplantation: one-year results of a 2-center prospective randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Apr;125(4):891-900.
4. Becker CR, Knez A, Leber A, **Treede H**, Ohnesorge B, Schoepf UJ, Reiser MF. Detection of coronary artery stenoses with multislice helical CT angiography. *J Comput Assist Tomogr.* 2002 Sep-Oct;26(5):750-5.
5. **Treede H**, Becker C, Reichenspurner H, Knez A, Detter C, Reiser M, Reichart B. Multidetector computed tomography (MDCT) in coronary surgery: first experiences with a new tool for diagnosis of coronary artery disease. *Ann Thorac Surg.* 2002 Oct;74(4):S1398-402.
6. Becker CR, Knez A, Leber A, **Treede H**, Haberl R, Reiser MF. Angiography with multi-slice spiral CT. Detecting plaque, before it causes symptoms. *MMW Fortschr Med.* 2001 Apr 19;143(16):30-2.
7. **Treede H**, Klepetko W, Reichenspurner H, Zuckermann A, Meiser B, Birsan T, Wisser W, Reichart B, Munich and Vienna Lung Transplant Group. Tacrolimus versus cyclosporine after lung transplantation: a prospective, open, randomized two-center trial comparing two different immunosuppressive protocols. *J Heart Lung Transplant.* 2001 May;20(5):511-7.
8. **Treede H**, Reichenspurner H, Meiser BM, Kur F, Furst H, Vogelmeier C, Briegel J, Reichart B. Incidence and spectrum of infections in lung transplanted patients: comparison of four different immunosuppressive protocols. *Transplant Proc.* 2001 Feb-Mar;33(1-2):1620-1.
9. **Treede H**, Reichenspurner H, Meiser B, Schenk S, Kur F, Furst H, Vogelmeier C, Briegel J, Reichart B. Influence of four different

immunosuppressive protocols on acute and chronic rejection (BOS) after lung transplantation - experiences in 120 patients.
J Heart Lung Transplant. 2001 Feb;20(2):176.

10. Yekebas E, **Treede H**, Jochum M, Gippner-Steppert C, Bloechle C, Knoefel WT, Scholz J, Fink E, Izbicki JR. Bradykinin B2-receptor antagonism attenuates fatal cardiocirculatory breakdown induced by severe experimental pancreatitis.
Crit Care Med. 2000 Apr;28(4):1119-27.
11. Becker CR, Knez A, Leber A, Hong C, **Treede H**, Wildhirt S, Ohnesorge B, Flohr T, Schoepf UJ, Reiser MF. Initial experiences with multi-slice detector spiral CT in diagnosis of arteriosclerosis of coronary vessels.
Radiologe. 2000 Feb;40(2):118-22.
12. Reichenspurner H, Kur F, **Treede H**, Meiser BM, Deutsch O, Welz A, Vogelmeier C, Schwaiblmair M, Muller C, Furst H, Briegel J, Reichart B. Optimization of the immunosuppressive protocol after lung transplantation.
Transplantation. 1999 Jul 15;68(1):67-71.
13. Yekebas EF, **Treede H**, Knoefel WT, Bloechle C, Fink E, Izbicki JR. Influence of zero-balanced hemofiltration on the course of severe experimental pancreatitis in pigs.
Ann Surg. 1999 Apr;229(4):514-22.
14. Reichenspurner H, Kur F, **Treede H**, Meiser BM, Welz A, Vogelmeier C, Schwaiblmair M, Muller C, Furst H, Briegel J, Reichart B. Tacrolimus-based immunosuppressive protocols in lung transplantation.
Transplant Proc. 1999 Feb-Mar;31(1-2):171-2.