Aus der Klinik für Anaesthesiologie und
Intensivmedizin des Universitätsklinikums Charité
der Humboldt-Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. Dr. W.J. Kox FRCP

PDF-Version
der Dissertation

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

sCD14, TNFα, Interleukin-6, sICAM-1 und sE-Selektin im septischen Geschehen

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Frau Dipl.-Med. U t e R o h r, geb. Liebich

geb. am: 12.04.1959 in: Berlin

Dekan: Prof. Dr.med. M. Dietel

Gutachter: 1.) Dr. sc. med. Dr. rer. nat. K. Egerer

2.) PD Dr. F. Feyerherd

3.) Prof. Dr. med. E. Faist

eingereicht: April 1998
Datum der Promotion: 28.09.1998

Abstract

In einer prospektiven Studie wurden bei 28 kritisch kranken Patienten einer interdisziplinären Intensivstation die Plasmaspiegel von TNFα, sCD14, Interleukin-6 (IL-6), sICAM-1 und sE-Selektin gemessen. Ziel der Studie war es, die genannten Parameter in ihrer Wertigkeit als Frühparameter der Sepsis zu untersuchen.

Die Plasmaspiegel der Parameter TNFα, IL-6, sCD14, sICAM-1 und sE-Selektin wurden mittels ELISA-Testkits bestimmt. Insgesamt wurde in einem Zeitraum von 11 Beobachtungstagen täglich 10 ml Blut entnommen, zentrifugiert und bis zur Verarbeitung tiefgefroren.

- **Gruppe 1:** Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum keine Sepsis entwickelten. Alle Patienten dieser Gruppe überlebten,
- **Gruppe 2:** Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum eine Sepsis mit Organdysfunktion entwickelt haben und überlebten,
- **Gruppe 3:** Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum eine schwere Sepsis mit Organdysfunktion entwickelt haben und im septischen Multiorganversagen verstorben sind.

Ergebnisse:

1.) Bei septischen Patienten waren **TNFα**-Spiegel signifikant höher als bei Patienten ohne Sepsis. Als Prognoseparameter für das septische Geschehen ist der TNFα-Spiegel aber auf Grund der kurzen Halbwertzeit nicht verwendbar.

2.) Die **sCD14**-Spiegel septischer Patienten waren nur an den beiden ersten Beobachtungstagen signifikant höher als die Spiegel nicht septischer Patienten. Eine Prognose der Sepsis ist an Hand der

3.) Patienten mit Sepsis hatten signifikant höhere **Interleukin-6-Spiegel** als Patienten ohne Sepsis. IL-6 ist ein guter Sepsismarker. In Kombination mit den Plasmaspiegeln von sE-Selektin ist eine Aussage zum Schweregrad und zur Prognose einer Sepsis möglich.

4.) Bei septischen Patienten wurden pathologisch erhöhte Plasmaspiegel von **sICAM-1** gemessen. sICAM-1 kann frühzeitig eine Leukozytenaktivierung anzeigen und damit eine mögliche Sepsisgefährdung. Die Höhe der sICAM-1-Spiegel korrelieren nicht mit dem Outcome einer Sepsis.

5.) Septische Patienten hatten signifikant höhere **sE-Selektin**-Spiegel als nicht septische Patienten. Konstant hohe **sE-Selektin** können frühzeitig eine mögliche Sepsis anzeigen und korrelieren mit dem Outcome.

Inhaltsverzeichnis **Seite**

1.	Einleitung	4
1.1.	Sepsis	4
1.1.1.	Definition	4
1.1.2.	Pathophysiologie	5
1.1.3.	Die Frühphase der Sepsis	5
1.1.3.1.	Die Mediatorkaskade	6
1.1.3.2.	Endotoxin	7
1.1.3.3.	sCD14	7
1.1.3.4.	Tumornekrosefaktor α und Interleukin-1β	9
1.1.3.5.	Interleukin 6 (IL-6)	9
1.1.3.6.	Adhäsionsmoleküle	10
1.1.3.7.	Zirkulierende Adhäsionsmoleküle	13
1.2.	Multiorganversagen (MOV)	16
1.2.1.	Definition des Multiorganversagens	16
1.2.2.	Pathophysiologie des Multiorganversagens	16
1.2.3.	Störungen der Mikrozirkulation	17
2.	Problemstellung	19
3.	Materialien und Methoden	20
3.1.	Patientengut	20
3.1.1.	Einschlußkriterien	20
3.1.1.1.	Kriterien für Infektion, SIRS und Sepsis	20
3.1.2.	Ausschlußkriterien	21

3.1.3.	Kriterien des Multiorganversagens	21
3.1.4.	Intensivtherapie bei Sepsis	22
3.1.5.	Blutabnahmeschema	22
3.2.	Methoden	23
3.2.1.	Der Enzymimmunoassay	23
3.2.2.	Die Bestimmung von TNFα im Plasma	24
3.2.3.	Die Bestimmung von IL-6 im Plasma	25
3.2.4.	Die Bestimmung von sCD14 im Plasma	26
3.2.5.	Die Bestimmung von sICAM-1 im Plasma	27
3.2.6.	Die Bestimmung von sE-Selektin im Plasma	28
3.3	Statistik	29
4.	Ergebnisse	30
4.1.	Klinische Daten der einzelnen Patienten	30
4.2.	Infektionserreger	33
4.3.	Score-Werte	34
4.4.	Ergebnisse der Mediatorenbestimmungen im Plasma	36
4.4.1.	Ergebnisse der Gruppe 1 (keine Sepsis)	36
4.4.2.	Ergebnisse der Gruppe 2 (Sepsis, survivor)	38
4.4.3.	Ergebnisse der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor)	40
4.4.4.	Graphische Darstellung der einzelnen Parameter	42
4.4.4.1.	Plasmaspiegel von TNFα	42
4.4.4.2.	Plasmaspiegel von sCD14	44
4.4.4.3.	Plasmaspiegel von Interleukin 6	46
4.4.4.4.	Plasmaspiegel von sICAM-1	48

4.4.4.5.	Plasmaspiegel von sE-Selektin	50
4.4.5.	Korrelation zwischen IL-6 und sE-Selektin	53
5.	Diskussion	54
6.	Zusammenfassung	61
	Literaturverzeichnis	
	Abkürzungsverzeichnis	
	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	
	Danksagung	
	Lebenslauf	
	Erklärung an Eides Statt	
	Thesen zur Dissertation	

1. Einleitung

1.1. Sepsis

1.1.1. Definition

Die Invasion pathogener Keime in die Blutbahn mit der Überwindung der natürlichen Endothelbarriere und einer überschießenden Antwort des Organismus wird mit dem Begriff - Sepsis - beschrieben [16,79,128] und ist die gefürchtete Komplikation einer lokalen Infektion.

Die klinisch-infektologische Begriffsbestimmung der Sepsis geht auf eine Definition von Schottmüller aus dem Jahre 1914 zurück [103]. Er beschrieb schon damals die Rolle des chirurgischen Fokus und der bakterielle Toxine in der Entstehung des klinischen Krankheitsbildes.

Nach dem heutigen Wissenstand kann die mikrobielle Sepsis folgendermaßen definiert werden:

„Sepsis ist die Gesamtheit der lebensbedrohlichen klinischen Krankheitserscheinungen und pathophysiologischen Veränderungen als Folge der Aktion pathogener Keime und ihrer Produkte, die aus einem Infektionsherd in den Blutstrom eindringen, die großen biologischen Kaskadensysteme und speziellen Zellsysteme aktivieren und die Bildung und Freisetzung humoraler und zellulärer Mediatoren auslösen“ [107].

Das Krankheitsbild der Sepsis entsteht dann, wenn eine an sich sinnvolle Abwehrreaktion aus der Kontrolle der physiologischen Inhibitormechanismen gerät und damit in unkontrollierter, überschießender und generalisierter Form nicht mehr nur die auslösende pathogene Noxe eliminiert, sondern zusätzliche autodestruktive Schädigungen körpereigener Zellsysteme und Organe verursacht.

Die Sepsis stellt ein dynamisches Krankheitsbild dar. Im klinischen Verlauf werden verschiedene Phasen unterschieden, die sich abwechseln oder ineinander übergehen können.

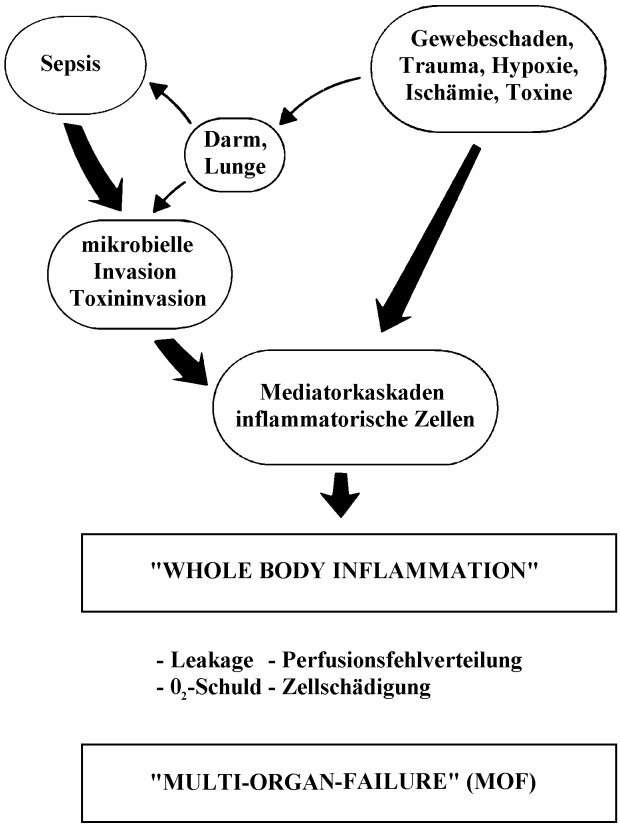


Abb. 1: Äthiologie von Sepsis und Multiorganversagen [109]

1.1.2. Pathophysiologie

Die Pathophysiologie der Sepsis basiert auf 5 grundlegenden Mechanismen des septischen Prozesses [25]:

1. den Infektionsherd als *septischen Fokus*
2. die *Invasion* pathogener Keime und toxischer Keimprodukte
3. die überschießende Aktivierung von Mediatoren *(Mediatorenexplosion)*
4. die morphologische *Zellschädigung* als Grundlage der Organschädigung
5. die *Multiorganinsuffizienz* und -organversagen als Endpunkt des septischen Prozesses.

Der Krankheitsverlauf der Sepsis wird primär durch Ausmaß und Ablauf der Reaktion des Patienten auf die auslösende Noxe und weniger von der Art, Zahl, Pathogenität oder Virulenz der Erreger bestimmt [38,127].

Die Sepsis ist ein biphasisch ablaufendes Krankheitsbild. Eine initiale hyperdyname, proinflammatorische Phase mit unkontrollierter Freisetzung von Mediatoren wird gefolgt vom einem antiinflammatorisch, hypodynamen Folgestadium [33,129]. Klinische Beobachtungen zeigen, daß sich diese Phasen bei einem Patienten wiederholen können, je nach operativer Sanierbarkeit des Fokus. Infolge der modernen Intensivtherapie mit adäquatem Volumenausgleich und Katecholaminen ist die hyperdyname Schockphase oft bis unmittelbar präfinal zu beobachten [79,124,128]. Andererseits sind die klassischen Zeichen einer hyperdynamen Kreislaufsituation nur bei ausgeglichenem Volumenstatus und adäquater kardialer Kompensationsfähigkeit des Organismus zu beobachten [17].

Deshalb ist die globale Einteilung der Sepsis in eine „frühe hyperdyname Schockphase“ und eine „späte hypodyname Phase“ klinisch nicht immer erfaßbar [96].

Aufgrund der immunologischen Konstellation läßt sich das septische Krankheitsbild ebenfalls in 2 Phasen einteilen. Eine frühe Phase mit Überwiegen proinflammatorischer Mediatoren (TNFα, Komponenten des Komplementsystems: C3,C5a, Interleukine 1,2,6,8 und γ–Interferon) wird gefolgt von einer späten Phase mit Überwiegen antiinflammatorischer Mediatoren (IL10-12) [17,68].

Eine frühzeitige Diagnosestellung Sepsis und damit das Einleiten einer entsprechenden Intensivtherapie ist für das Überleben des Patienten von entscheidender Bedeutung [127].

1.1.3. Die Frühphase der Sepsis

Am Beginn der Sepsiskaskade steht die Einschwemmung von Erregern, oder deren Toxinen in die Blutbahn. Sie erhalten Kontakt mit den Zellen des Immunsystems. Dadurch kommt es zu einer Mediatorenexplosion, die sich kaskadenartig verstärkt [15,128]. Durch gleichzeitige Ausschüttung spezifischer Antagonisten und Inhibitoren stoppt sich dieser physiologische Mechanismus der

Keimabwehr bei einer Infektion selbst, wodurch die überschießende Reaktion des aktivierten Immunsystems zum Stillstand gebracht wird [25,52]. Bei der Sepsis scheint ein Versagen dieser Inhibitormechanismen vorzuliegen [96].

1.1.3.1. Die Mediatorkaskade

Innerhalb der proinflammatorischen Mediatoren wird folgende Hierarchie angenommen [18].

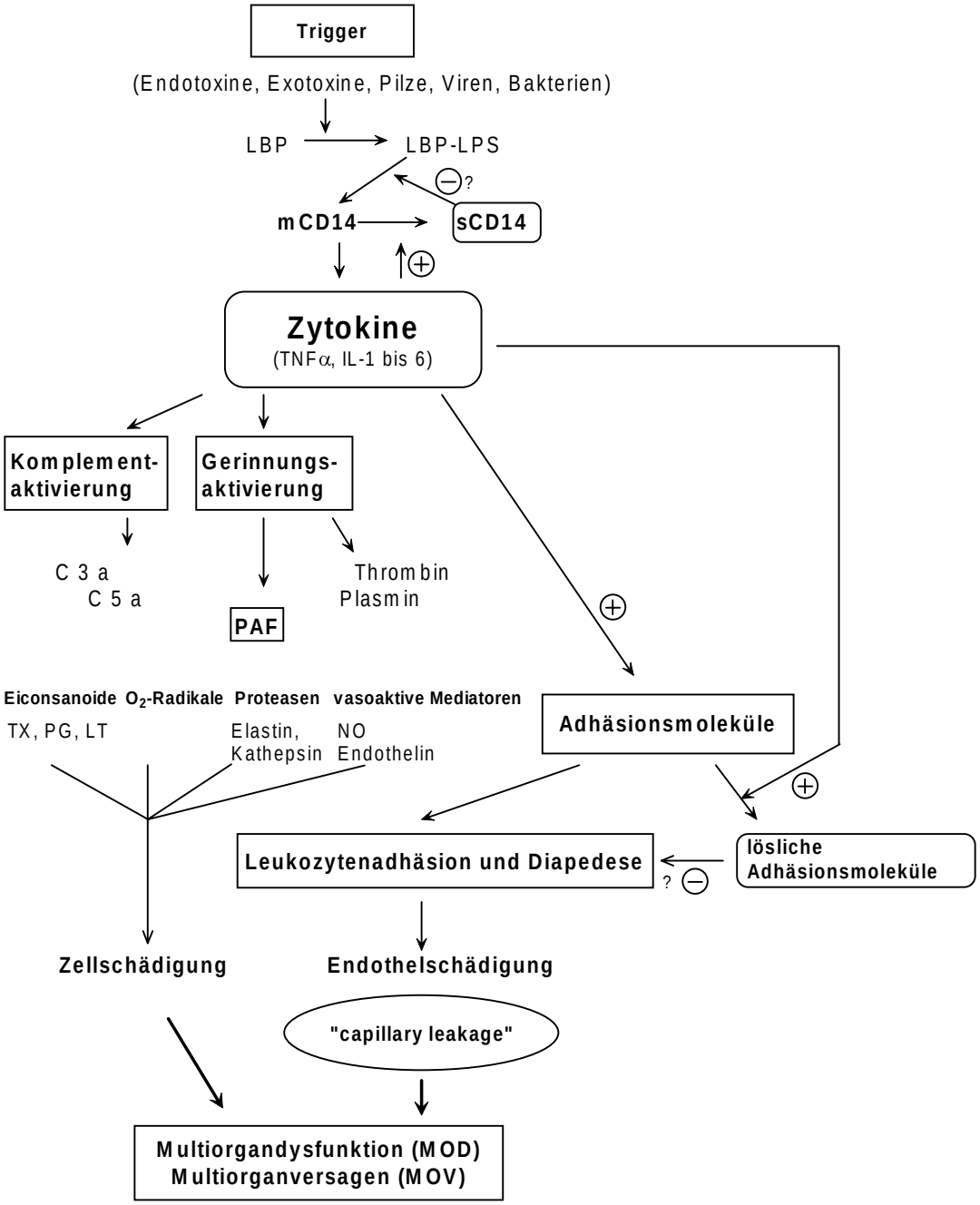


Abb. 2: Sepsiskaskade (modifiziert nach SCHUSTER [108])

⊕ = Aktivierung, Θ ? = Hemmung möglich

Die freigesetzten Mediatoren verursachen über komplizierte und zum Teil noch nicht aufgeklärte Mechanismen eine Schädigung am Endothel und an den Zellorganellen. In der Endkonsequenz führt diese Kaskade zum Kapillarleck und Organversagen.

1.1.3.2. Endotoxin

Einer der Triggersubstanzen für die Mediatorexplosion ist das Endotoxin gramnegativer Bakterien, welches bei der Keiminvasion in die Blutbahn gelangt.

Der Ablauf der Sepsiskaskade ist für die gramnegative Sepsis bisher am besten untersucht. Endotoxin trifft auf immunkompetente Zellen, aktiviert diese und wirkt so als Initiator der Kaskadensysteme. Es nimmt eine Sonderstellung ein, in dem es den Initialschritt einleitet, selbst Mediatorfunktion hat und an den sekundären Mediatorwirkungen auf zellulärer Ebene wie Endothelläsion und metabolisch-toxischen Zellschädigung direkt beteiligt ist [25,113].

Endotoxin ist ein Lipopolysaccharid (LPS) der Zellwand gramnegativer Bakterien, dessen Lipid-A-Struktur für die immunologische Funktion verantwortlich ist [99,100]. Der laborchemische Nachweis von Endotoxin im Blut septischer Patienten gelingt nicht immer [95] und zählt nicht zu den Kriterien einer Sepsis [79].

LPS wird im Organismus an ein spezifisches Protein gebunden, das LPS-bindende-Protein (LBP) [106,134]. LBP wird als akute-Phase-Protein von der Leber gebildet und hat eine Verstärkung der LPS-Wirkung zur Folge. Im physiologischen Mikrogrammbereich (Normwerte 1-2 µg/ml) wird dem LBP eine immunstimulierende Funktion zugeschrieben [104]. Bereits kleinste Mengen an Endotoxin, physiologischer Weise aus dem Darm stammend, werden durch LBP verstärkt, um somit die Aktivierung der Abwehrkaskade sicherzustellen. Bei der akuten Entzündung wurden Werte von LBP bis 20 µg/ml gemessen [104,137]. Im Falle der Keimüberflutung, wie bei der Sepsis, werden so hohe Endotoxinkonzentrationen erreicht, daß die zellulären Effekte von LPS auch ohne LBP erzielt werden. Die Bedeutung von LBP scheint im Niederdosisbereich zu liegen und ist dort für die Aufrechterhaltung eines funktionsfähigen Immunsystems verantwortlich [106].

1.1.3.3. sCD14

CD 14 ist ein 53 kD-Glykoprotein, das sich auf der Zelloberfläche reifer myeloische Zellen befindet. Vor Bekanntwerden seiner immunologischen Funktion wurde es als Differenzierungsmarker für Leukozyten verwendet [51]. Seit 1990 ist seine zentrale Bedeutung bei der LPS induzierten sekretorischen Zellantwort bekannt [134]. Es handelt sich um einen Oberflächenrezeptor, der auf Monozyten, Makrophagen und auch auf neutrophilen Granulozyten vorkommt. Das membrangebundene CD14 (mCD14) ist im Gegensatz zu anderen transmembranösen Rezeptoren durch eine Phosphatidyl-Inositol-Brücke (PI-Anker) in der

Lipidschicht der Zellmembran verankert [57] (s. Abbildung 3). Über mCD14 kommt es zum Andocken des LPS-LBP-Komplexes an Zelloberflächen. Die so aktivierte Zelle wird zur Produktion proinflammatorischer Zytokine angeregt [26,62,100].

mCD14 kann nach LPS/LBP-Kontakt von der Zelloberfläche abgelöst werden [8]. Diesen Vorgang bezeichnet man als „shedding“. Er führt zu einem Anstieg von löslichem CD14 (sCD14) im Blut, der im zeitlichen Ablauf der Entzündungsreaktion dem TNFα-Peak folgt [7]. Dieses „shedding“ wird durch Überstimulation proinflammatorischer Mediatoren (u.a.TNFα) ausgelöst, und wird als „Down-Regulation“ des LPS-Rezeptors mCD14 interpretiert [8]. Die biologische Funktion von sCD14 wird kontrovers diskutiert. Obwohl der lösliche Rezeptor keinen PI-Anker besitzt, sind zelluläre Effekte beschrieben worden [41]. Auf der einen Seite bindet sCD14 freies Endotoxin und kann so die zellulären und proinflammatorischen LPS-induzierten Effekte verhindern [104]. Andererseits ist an isolierten Endothelzellen (diese besitzen kein mCD14 auf der Oberfläche) nachgewiesen worden, daß die direkte Endotoxinwirkung nur im sCD14 haltigen Serum auslösbar und durch Anti-CD14-Antikörper hemmbar ist [41,106]. Das sCD14 übernimmt hier die Funktion des membranständigen CD14 und „transportiert“ das LPS zur Endothelzelle.

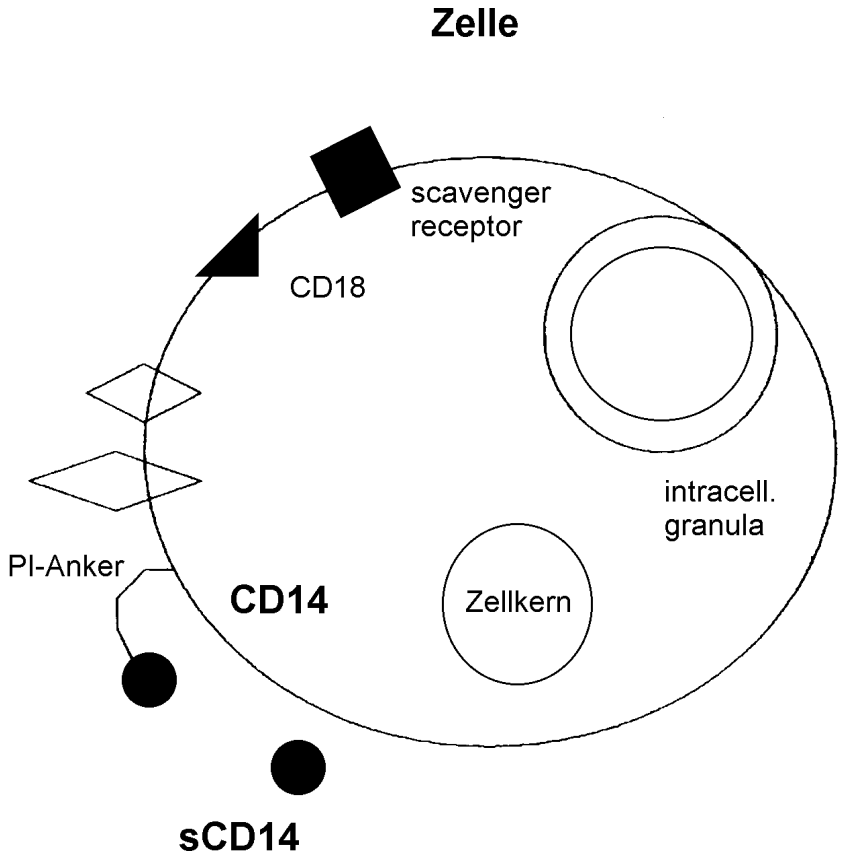


Abb. 3: CD14-positive Zelle mit membranständigen Rezeptoren und sCD14 im Plasma (modifiziert nach SCHUMANN [105])

1.1.3.4. Tumornekrosefaktor α (TNFα) und Interleukin-1β (IL-1β)

Der Tumornekrosefaktor α (TNFα) wird von aktivierten Monozyten ausgeschüttet und ist als initialer Mediator bei allen Reparaturvorgängen und Keimabwehrprozessen beteiligt [6,29,37,92,128]. Daneben ist TNFα bei der Reifung und Differenzierung von weißen Blutzellen von Bedeutung [88].

Bei der Sepsis wirkt er im Sinne einer Multiplikation des Endotoxineffektes und ist als essentieller Mediator verantwortlich für die klinischen Symptome der Sepsis [15,40,81,126]. TNFα ist in der Lage, aus aktivierten Immunzellen (Makrophagen, PMN, Endothelzellen) eine weitere Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren IL-1, 2, 6, 8, γ-Interferon (IFNγ) und GM-CSF zu induzieren. Es kommt zur „whole body inflammmation“ [29,91].

Das proinflammatorische Zytokin IL-1β wird nach dem TNFα-Stimulus von fast allen kernhaltigen weißen Blutzellen ausgeschüttet [40]. Im Ablauf der Entzündungsreaktion wird es fast gleichzeitig mit TNFα ausgeschüttet. Nach Endotoxininfusion kommt es bei gesunden Probanden innerhalb von 30 min bis 3 h zu einem 4-5fachen Anstieg der TNFα-Spiegel im Plasma und des löslichen TNF-Rezeptors [116]. Es werden Aktivierungsintervalle von 30 min bis zu 1 h mit einem Maximum nach 2h bei Patienten angegeben [52,63].

TNFα bewirkt die klinischen Symptome wie Fieber [67], Tachykardie, Hyperventilation und Gefäßerweiterung [9]. Es induziert die Bildung von Interleukin-6 (IL-6) und wirkt synergistisch mit IL-6 als Aktivator der Akut-Phase-Proteine (Fibrinogen, CRP, Leukozyten-Elastase) und der Komplementkaskade [18,63,91]. Am Endothel fördert TNFα die Adhärenz von Granulozyten [92] und damit die Diapedese von weißen Blutzellen in das Entzündungsgebiet. IL-1β fördert gemeinsam mit TNFα die Exprimierung von Adhäsionsmolekülen auf Zelloberflächen [18,37,63,136]. Im peripheren Gefäßbett entstehen infolge seiner Wirkung sekundäre Mediatoren wie der Platelet-Activating-Factor (PAF), Prostaglandinderivate (PA) und Nitric-Oxid (NO) [20,37,132].

1.1.3.5. Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 wird durch den TNFα-Stimulus von den Zellen des Immunsystems (aktivierte Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen) ausgeschüttet [59,91]. Es wirkt synergistisch mit TNFα und IL-1β und wird als das Interleukin der „akuten Phase“ bezeichnet [82]. Interleukin-6 wirkt auf alle peripheren Zielzellen (B-Zellen, Hepatozyten, Fibroblasten) proinflammatorisch und ist für die klinischen Symptome des SIRS verantwortlich [18,28,47,118]. Bei einer experimentellen Sepsis konnten sowohl die gastrointestinalen Symptome wie Cholestase und bakterielle Translokation [24,36,53] als auch die septisch bedingte Hyperkoagulabilität [77] auf direkte IL-6-Wirkungen zurückgeführt werden. Von allen Sepsismediatoren ist der IL-6

Spiegel bisher der beste Parameter für den Schweregrad einer Sepsis [18,28,90,118,136] insbesondere der neonatalen Sepsis [91].

Auch bei anderen Streßreaktionen, großen Operationen, Verbrennungen und Trauma wird IL-6 vermehrt ausgeschüttet und korreliert mit dem Ausmaß des Gewebetraumas [28,56,90].

Auf der Oberfläche polymorphkerniger Leukozyten (PMN) bewirkt IL-6 eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen, die zur Verlangsamung des Blutstromes und zum Auswandern der Leukozyten in das entzündete Gewebe führt [73,101,112]. Die Stimulation von Endothelzellen durch IL-6 bewirkt eine Expression von spezifischen endothelialen Adhäsionsmolekülen [77].

Neben seinen peripheren Effekten hat IL-6 eine zentrale Wirkung auf die neuroendokrinen Zellen des hypothalamisch-hypophysären Systems. IL-6 induziert im Hypothalamus eine zentralen Temperaturerhöhung. Gleichzeitig kommt es zu einer vermehrten Freisetzung des Corticotropin-releasing Hormons (CRH), welches im Hypophysenvorderlappen eine Erhöhung der ACTH-Produktion (Adrenocorticotropes Hormon) bewirkt. Die Nebennierenrinde schüttet daraufhin vermehrt Cortisol aus, welches die Produktion von IL-6 aus Monozyten und Fibroblasten hemmt [59,121].

1.1.3.6. Adhäsionsmoleküle

Voraussetzung für die Immunantwort des Organismus auf eine Keiminvasion ist die interzelluläre Kontaktaufnahme eines T-Helfer-Lymphozyten mit einer antigenpräsentierenden Zelle. Dieser Zell-Zell-Kontakt wird durch Adhäsionsmoleküle auf der Zelloberfläche vermittelt [117,127].

Adhäsionsmoleküle sind Rezeptoren, die sich auf der Oberfläche verschiedener Zelltypen (Monozyten, Granulozyten, Thrombozyten, Endothelzellen) befinden. Durch die Einwirkung proinflammarorischer Zytokine (TNFα, IL-1β, IL-6, γ-Interferon, PAF) werden diese Zellen zur Exprimierung von Adhäsionsmolekülen angeregt [13,31,32,112,114,117,132,135]. Die Adhäsionsmoleküle gehen eine Verbindung mit den entsprechenden Gegenrezeptoren der Zielzellen ein und stellen so die Kommunikation der Zellsysteme dar.

Neben der Aktivierung bei Trauma, Schock, Sepsis und Reperfusionsprozessen werden Adhäsionsmoleküle auch bei allergischen Erkrankungen [50,89], Tumormetastasierung [123], Embryogenese [54], Plazentabildung und Transplantatabstoßung [45] exprimiert.

Die Adhäsionsmoleküle werden nach ihrer chemischen Struktur in Selektine, Integrine und Moleküle der Immunglobulin-Superfamilie (IGSF) unterteilt [3,45].

Familie	**Orte der Expression**
1) Selektine	
- E-Selektin (ELAM-1) endothelial-leukocyte-adhesion-molecule-1	aktivierte Endothelzellen
- P-Selektin (GMP-140) granule-membrane-protein 140	(aktivierte) Thrombozyten
- L-Selektin	Leukozyten (PMN)
2) Integrine	
- LFA-1 (CD11b/CD18) lymphocyte-function-associated-antigen-1	Leukozyten (PMN)
- VLA-4 (CD94d/CD29) very-late-activating-antigen-4	Leukozyten (PMN)
3) Ig-Superfamilie	
- ICAM-1 intercellular-adhesion-molecule-1	Endothelzellen
- ICAM-3 intercellular-adhesion-molecule-3	Endothelzellen
- VCAM-1 vascular-cell-adhesion-molecule-1	Endothelzellen

Die chemische Struktur der korrespondierenden Liganden auf den Zielzellen der Adhäsionsmoleküle ist noch nicht bis in alle Details aufgeklärt. Von den bisher am besten untersuchten Adhäsionsmolekülen ICAM, VCAM und E-Selektin sind folgende Bindungspartner charakterisiert worden (vgl. Abbildung 4):

ICAM-1 → bindet an LFA-1 (CD11b/CD18)
VCAM-1 → bindet an VLA-4
ELAM-1 → bindet an sLeX (sialyl-Lewis-X) [3,45].

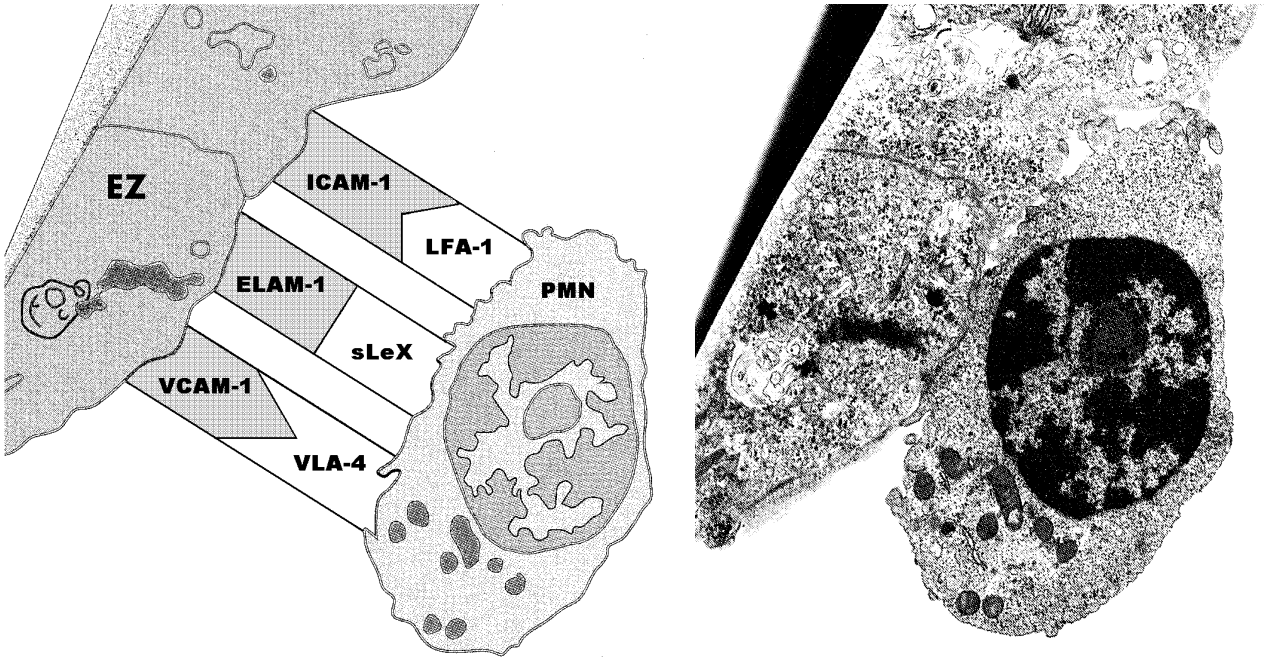


Abb. 4: Adhäsion eines Leukozyten an eine Endothelzelle in schematischer und elektronenmikroskopischer Darstellung (modifiziert nach MARKUS et al. [76])
EZ - Endothelzelle **PMN** - Polymorphonuclear Neutrophils

Im Entzündungsprozeß führt dieser Zell-Zell-Kontakt zum „Zusammenkleben“ von polymorphkernigen Leukozyten (PMN) und zur Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit des Blutes im Kapillarbett [44,117,132]. Die Leukozyten kommen dadurch in engeren Kontakt mit dem vaskulären Endothel [110,135]. Auf der Oberfläche der Endothelzelle werden daraufhin endothelspezifische Adhäsionsmoleküle exprimiert [42]. Es kommt zum „Rollen“ und „Sticking“ der Leukozyten und Thrombozyten am Endothel [1,39,120]. Die Adhäsion verläuft in zwei Phasen [3,110]. Eine initiale langsame Phase der Expression, die zu einem Leukozyten-„Priming“ führt, wird gefolgt von einer schnellen und hoch sensiblen Phase der Zelladhäsion. Diese zweite, schnelle Phase der Leukozytenadhäsion verläuft proportional zum TNFα-Spiegel im Plasma [131]. Das „Rollen“ ist eine instabile Leukozyten-Endothelzellverbindung und kann in einen stabilen Zell-Zell-Kontakt übergehen der im transendothelialen Migrationsprozeß endet [39,111,125].
Die Leukozytenadhäsion ist ein initialer Schritt der natürlichen Keimabwehr des Organismus und korreliert mit dem Ausmaß der Leukozytenaktivierung durch Trauma, Schock und Sepsis [1,71,130].

Die schwere Zerstörung des endothelialen Zellverbandes durch Leukozytenadhäsion in der Frühphase der Sepsis ist mit verantwortlich für den Verlust der Barrierefunktion des Endothels und führt zur Extravasation von Plasmawasser, Eiweißverlust und zum „capillary leakage“ [1,27,42].

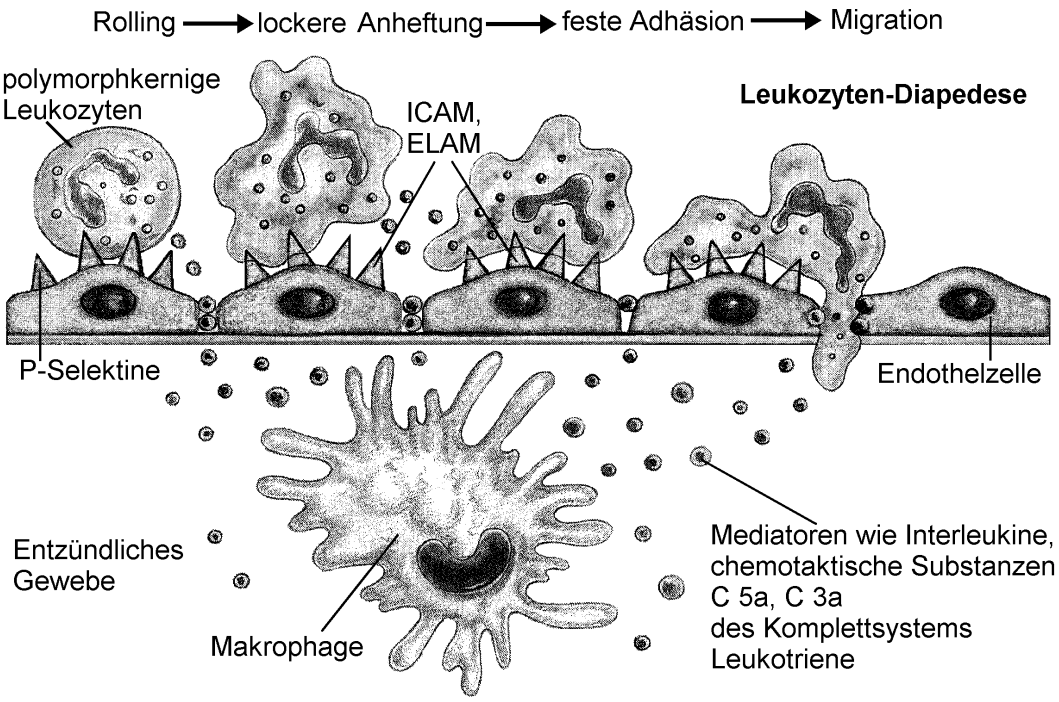


Abb. 5: Leukozytenadhäsion und Diapedese (modifiziert nach STEUERNAGEL [119])

1.1.3.7. Zirkulierende Adhäsionsmoleküle

Von einigen Adhäsionsmolekülen gibt es lösliche Isoformen, die im peripheren Blut nachweisbar sind. Sie entstehen durch Ablösung des membranständigen Moleküls von der Zelloberfläche. Dieser Prozeß wird als „shedding“ bezeichnet und wird durch die Einwirkung proinflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren (TNFα, IL-1,2,6,8, γIFN, GM-CSF) hervorgerufen [3,32,42,124].

Infolge der guten Bestimmbarkeit der löslichen Adhäsionsmoleküle im Plasma wurde deren Wertigkeit bei verschiedenen Krankheitsprozessen untersucht [23,30,45,54,89,123].

Die biologische Funktion der löslichen Adhäsionsmoleküle ist noch nicht endgültig geklärt. Auf der einen Seite können lösliche Adhäsionsmoleküle die Leukozytenadhäsion verhindern, andererseits sind sei biologisch aktiv, reagieren mit den Liganden der Zielzellen und können

zelluläre Effekte am Endothel auslösen [27,43,66,72,86,111]. Das Ablösen der Adhäsionsmoleküle von den Zelloberflächen wird als „Down-Regulation“ der proinflammatorischen Antwort bezeichnet [22,45].

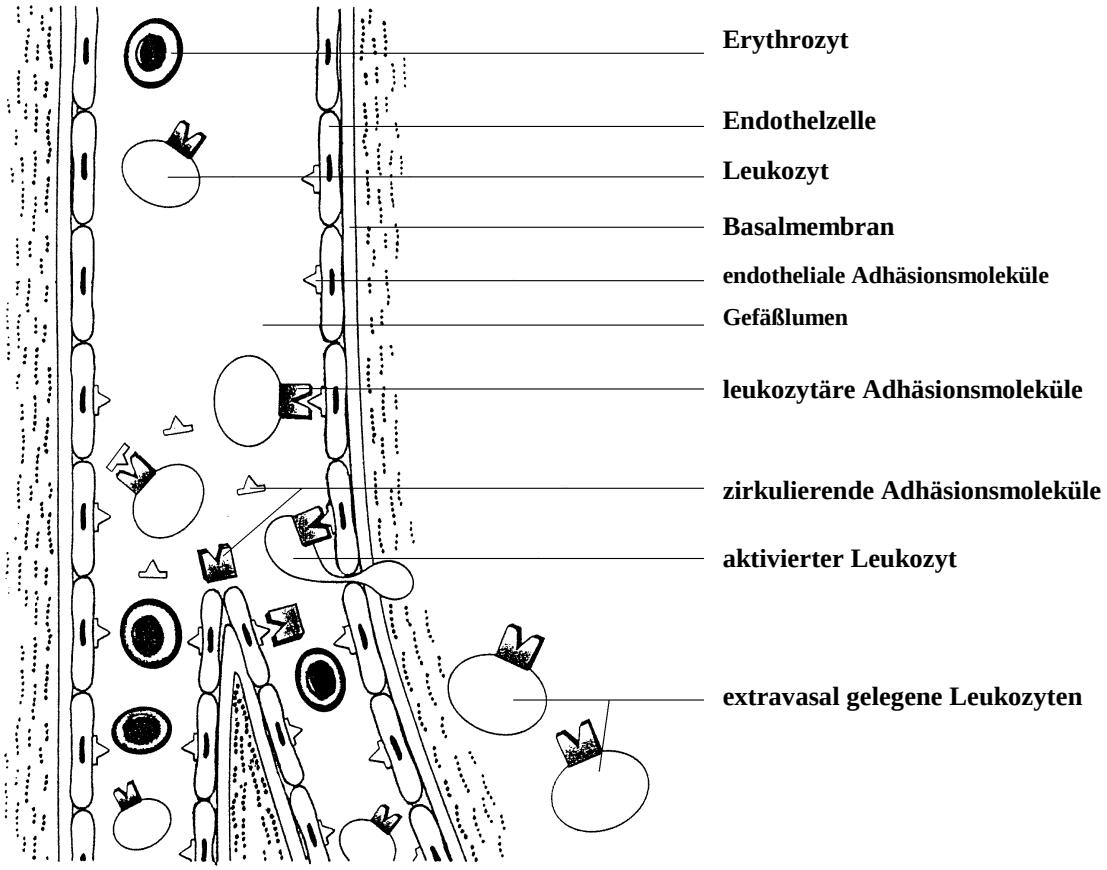


Abb. 6: Funktion der membranständigen und zirkulierenden Adhäsionsmoleküle (modifiziert nach GEARING [45])

sICAM-1

sICAM-1 (soluble intercellular adhesion molecule-1) ist biologisch aktiv und bindet an LFA-1 (s. Abb. 4) [45]. Es vermittelt gemeinsam mit seinem Liganden LFA-1 (ICAM-1/LFA-1) sowohl die Leukozyten-Leukozyten-Interaktionen als auch die Leukozyten-Endothel-Interaktionen. Das Ablösen des membranständigen Moleküls ICAM von der Zelloberfläche, ausgelöst durch proinflammatorische Mediatoren [31,114], geschieht durch Proteolyse [32]. Lösliches ICAM-1 besitzt nur die extrazellulären Strukturen des membranständigen Moleküls [101].

Der zeitliche Ablauf der ICAM-1 Expression wird mit 4 h nach Stimulierung bis zu 12(24) h beschrieben [93]. Im Plasma von gesunden Probanden wird ein sICAM-1-Spiegel von 229 - 410

ng/ml angegeben [45]. Erhöhte sICAM-1-Spiegel werden bei allen lokalen und generalisierten inflammatorischen Prozessen, bei der Tumormetastasierung [123] und Transplantatabstoßung gefunden [45]. sICAM-1 spielt hauptsächlich eine Rolle bei der T-Zell-Differenzierung und -Aktivierung [5,80,135].

sE-Selektin

Selektine steuern die initiale Interaktion von Neutrophilen mit dem Endothel. Dabei interagieren sie mit Kohlenhydrat-Liganden und vermitteln das initiale „Rollen“ der Leukozyten am Endothel und initiieren den transendothelialen Migrationsprozeß [14,37,45,92,133].

E-Selektin nimmt eine Sonderstellung unter den Adhäsionsmolekülen ein. Während andere Adhäsionsmoleküle auf fast allen Zellen des Immunsystems gefunden werden, ist E-Selektin endothelspezifisch und wird nur vom aktivierten Endothel exprimiert [83,86].

Der Anstieg von sE-Selektin im Blut ist auf eine schwere Endothelschädigung zurückzuführen.

Der Prozeß des „shedding“ von sE-Selektin geschieht durch Proteolyse und wird durch proinflammatorische Mediatoren induziert [37,72,124].

Es wird ein Freisetzungs-Peak von 4-6 Stunden angegeben [11]. sE-Selektin ist biologisch aktiv und bindet an sialyl-Lewis-X, ein bislang nicht genauer differenzierter Oberflächenrezeptor. Lösliches E-Selektin kann die Aktivierung von polymorphkernigen Leukozyten an das vaskuläre Endothel steuern. Es ist aber auch möglich, daß durch Bindung freier Leukozyten eine Adhäsion verhindern wird [3,72,83]. Im Plasma von gesunden Probanden werden sE-Selektin-Spiegel von 9 bis 42 ng/ml gefunden [45].

Bei septischen Patienten wurden ebenfalls stark erhöhte Werte von sE-Selektin und sICAM-1 im Plasma gefunden [14,27]. Hierbei korrelieren die sE-Selektin-Spiegel mit dem Outcome [35]. Im septischen Schock wurden sE-Selektin-Spiegel gefunden, die bis auf das 20-fache erhöht waren [86].

1.2. Multiorganversagen (MOV)

1.2.1. Definition des Multiorganversagens

Als Multiorganversagen bezeichnet man das gleichzeitig oder in rascher zeitlicher Abfolge auftretende Versagen von zwei oder mehr vitalen Organsystemen. Das Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS) geht als initiale Organinsuffizienz dem MOV voraus [85].

Man spricht heute vom Multiorganversagen wenn zwei oder mehr Organe gleichzeitig oder nacheinander Funktionstörungen aufweisen, wobei ein chronisch persistierendes Organversagen auszuschließen ist [46].

1.2.2. Pathophysiologie des Multiorganversagens

Das Multiorganversagen ist ein Krankheitsbild mit einer komplexen Pathophysiologie. Das noch lückenhafte Wissen über die Abläufe in der Frühphase des MOV ist der Grund dafür, das es bis heute keine kausale Therapie gibt. Die Therapieziele bestehen in unterstützenden Maßnahmen jedes einzelnen Organs, um Zeit zu gewinnen für die Rückbildung und Heilung der auslösenden Ursache.

Das MOV läuft klinisch in drei Phasen ab [102]:

1. **Organ im Schock**

   Der auslösende pathophysiologiche Mechanismus ist ein Perfusionsdefizit unterschiedlichster Genese. Dieses Geschehen spielt sich innerhalb von Stunden ab und hinterläßt noch keine bleibenden Schäden.

2. **Organdysfunktion**

   Ein fortbestehendes Perfusionsdefizites innerhalb der nächsten Tage führt zur Entstehung eines SIRS mit lokalen Ödemen und Zellschädigungen. Diese Phase wird als Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS) bezeichnet.

3. **Organversagen**

   Das fortbestehende Perfusionsdefizit führt zur Stase im Splanchnikusgebiet, wodurch es zur Superinfektion und Translokation von Endotoxinen aus dem Darm kommt. Das führt zu einer Potenzierung der klinischen Symptome und zum Vollbild der Sepsis. Aus der Organdysfunktion wird ein Organversagen.

Neben dem primären Organschaden, dem Perfusionsdefizit, kommt ein zweites Ereignis - die Endotoxinämie - die zur sekundären Organschädigung führt, hinzu. Dieses „two-hit-phänomen“ spielt eine wichtige pathogenetische Rolle und ist wahrscheinlich verantwortlich für den sogenannten „point of no return“. Eine Rückbildung der gestörten Organfunktion ist nicht mehr möglich [46,85].

Bei der Suche nach Frühparametern des Multiorganversagens sollten diese in der ersten oder zweiten Phase des MOV meßbar sein.

Die klinischen Frühsymptome Fieber, Leukozytose, Tachykardie und Tachypnoe sind völlig unspezifisch. In letzter Zeit wurden zahlreiche biochemische Parameter auf ihren prädiktiven Charakter für die Entwicklung eines MOV untersucht. Parameter, welche die Mikrozirkulationsstörungen früh erfassen, wie pH-Veränderungen der Drammukosa [75] und Laktatspiegel im Kapillarbett [10,74] sowie das Auftreten einer respiratorischen Insuffizienz, deren Ursache nicht in der Lunge liegt [46], sind als Frühparameter für ein Multiorganversagen geeignet. Desweiteren ist in der Frühphase des MOV der Anstieg der Leukozyten-Elastase [34,87] und im späteren Verlauf die Höhe des Neopterin-Spiegels [84] von prädiktivem Charakter. Die Aktivierung polymorphkerniger Leukozyten (PMN) und die Höhe des IL-6-Spiegels [55,94] nach großen chirurgischen Eingriffen korreliert mit dem Auftreten septischer Komplikationen [121,130].

Die Prognose des septischen Multiorganversagens hängt eng mit der Anzahl der beteiligten Organsysteme zusammen. Die Mortalität beträgt bei Versagen eines Organs innerhalb der ersten 24 Stunden 22%, nach 7 Tagen 41 %. Beim Versagen von drei Organsystemen steigt die Mortalität am ersten Tag auf 80 % und nach 4 Tagen auf 100 % an [64].

1.2.3. Störungen der Mikrozirkulation

Trotz ausreichender Sauerstoffspannung im Blut und eines erhöhten Herzzeitvolumens (HZV) bei erniedrigtem systemischen Gefäßwiderstand (SVR) ist bereits in der Frühphase der Sepsis ein Mißverhältnis von Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf im Gewebe nachweisbar. Die Ursache liegt in einer frühen Störung des nutritiven Blutflusses auf der Ebene der Mikrozirkulation. Die Ursachen dieses „circulus vitiosus“ ist in einer frühen Schädigung des Endothels zu suchen. Es kommt über:

1.- Verteilungsstörungen des Blutflusses im Bereich der Mikrozirkulation
2.- Obliteration der Kapillaren durch Mikrothromben
3.- verlängerte Diffusionsstrecke für Sauerstoff durch ein Kapillarödem

zum Sauerstoffmangel der Parenchymzelle, was die erste Phase des Multiorganversagen darstellt.

Durch Einwirkung der proinflammatorischer Mediatoren (TNFα, IL-1β, IL-6,8 und IFNγ) entstehen Bezirke mit Vasodilatation und Vasokonstriktion direkt nebeneinander. Die Autoregulation der lokalen Durchblutung, welche vom Kapillarendothel durch ein eng reguliertes

Wechselspiel von Thromboxan A_2 (TXA_2), Prostazyklin (PGI_2) und Stickstoffmonoxid (NO) gewährleistet wird, ist aufgehoben [12,98].

Die lokalen Wirkungen von Endotoxin auf die Endothelzelle stört das Gleichgewicht zwischen antithrombogenen und prothrombogenen Eigenschaften des Endothels [113,133] und ruft so eine Gerinnungsaktivierung hervor. Endothelschädigung führt zur Freisetzung des plättchen-aktivierenden Faktors (PAF) [20,114] der die Aggregation und Adhäsion der Thrombozyten [44] und Leukozyten am Endothel über Adhäsionsmoleküle fördert [58]. Gleichzeitig nimmt die Fähigkeit zur Prostazyklinsynthese ab [98].

Die Aktivierung des Komplement- und Bradikininsystems bewirkt innerhalb der Endothelzelle eine Kontraktion des Zytoskeletts. Durch die sich öffnenden Spalten kann Plasma in das Interstitium austreten. Endothelschäden und Endothelkontraktionen führen somit zum Kapillarleck [133].

Das Ausmaß der Endothelschädigung in der Frühphase der Sepsis ist ein wichtiger pathogenetischer Faktor bei der Entstehung des Multiorganversagens. Parameter, welche die Endothelschädigung frühzeitig erfassen, können ein wichtiger Marker für den Schweregrad und das Outcome einer Sepsis sein.

2. Problemstellung

Die erhöhte Infektionsgefahr nach großen Operationen, Traumata und Gewebszerstörungen kommt nicht durch eine Virulenzsteigerung bestimmter Mikroorganismen zustande, sondern vielmehr durch die Anergie des Organismus innerhalb des posttraumatischen Geschehens, also der reduzierten Fähigkeit, einer mikrobiellen Invasion zu widerstehen [38]. Trotz moderner Antibiotikaregime und verbesserter Intensivtherapie ist die Letalität einer Sepsis unverändert hoch. Sie beträgt für Patienten mit Sepsis 30-40 % und liegt bei Patienten im septischen Schock bei 70-80 % [122]. Auf chirurgischen Intensivstationen sind 80% aller späten lebensbedrohlichen Komplikationen durch das Nichtbeherrschen von Infektionen bedingt [4,78,129]. Ein Multiorganversagen nach schwerer Hypoperfusion oder Reanimation kann der Motor eines septischen Geschehens sein. Andererseits kann eine Sepsis in ein Multiorganversagen führen. Eine mikrobielle Sepsis ist in ca. 50 % aller Fälle die auslösende Ursache eines Multiorganversagens [49]. Die Prognose des MOV kann durch eine frühzeitige Diagnose und damit rechtzeitiger adäquater Therapie verbessert werden [4,38].

Daraus resultiert die Notwendigkeit der Etablierung von Frühparametern der Sepsis und der drohenden Organdysfunktion in die Routinediagnostik einer Intensivstation.

In der Literatur werden neben den gängigen Parametern wie Temperatur, Leukozytenzahl, C-reaktives Protein (CRP); auch die Leukozytenelastase [34] und die Anwesenheit von Mediatoren, insbesondere der Tumornekrosefaktor α (TNFα) und Interleukin-6 (IL-6) diskutiert [28,38].

Bei septischen Patienten wurden erhöhte Werte von sE-Selektin und sICAM-1 gefunden [14,27]. Hierbei korrelieren die sE-Selektin Spiegel mit dem Outcome [35]. KÜSTER und DEGITZ [70] postulierten, daß sICAM ein Marker für die neonatale Sepsis ist. Bei ihren Untersuchungen beobachteten sie einen Anstieg der sICAM-1-Spiegel im Durchschnitt 2 - 3 Tage bevor klinische Zeichen einer Sepsis auftraten. BURGMANN et al. [21] beschreiben den löslichen Endotoxinrezeptor sCD14 als Prognoseparameter bei grampositiver Sepsis.

In der vorliegenden Arbeit werden die Zytokine TNFα, Interleukin-6 (IL-6), die löslichen Adhäsionsmoleküle sICAM und sE-Selektin (sELAM) und der lösliche Endotoxinrezeptor sCD14 bei kritisch Kranken in ihrer Wertigkeit als Frühparameter der Sepsis untersucht.

Dabei sollen Antworten auf folgende Fragen gefunden werden:

1. Kann man an Hand der Serumspiegel der Zytokine (TNFα, IL-6), der löslichen Adhäsionsmoleküle oder des sCD14 den Beginn einer Sepsis frühzeitig erkennen ?

2. Lassen Veränderungen der Spiegel proinflammatorischer Zytokine (TNFα, IL-6), zirkulierender Adhäsionsmoleküle oder sCD14 eine Aussage über Sepsisverlauf und Prognose zu ?

3. Materialien und Methoden

3.1. Patientengut

3.1.1. Einschlußkriterien

Für die vorliegende prospektive Studie wurden 28 Patienten einer interdisziplinären Intensivstation untersucht. Alle Patienten hatten bei Aufnahme klinische Zeichen eines SIRS. Bei allen Patienten konnte im Laufe des stationären Aufenthaltes ein oder mehrere Infektionserreger, die für die klinisch manifeste Infektion verantwortlich waren, isoliert werden. Bei 19 Patienten entwickelte sich daraus eine schwere Sepsis mit katecholaminpflichtiger Kreislaufinsuffizienz und Organdysfunktionen von denen 10 Patienten im septischen Multiorganversagen verstarben. Die Einteilung in 3 Gruppen erfolgte retrospektiv.

Gruppe 1.: Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum keine Zeichen einer Sepsis entwickelten. Alle Patienten dieser Gruppe überlebten.

Gruppe 2.: Patienten mit einer schweren mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum eine schwere Sepsis mit Organdysfunktion entwickelten und überlebt haben.

Gruppe 3.: Patienten mit einer schweren mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum eine schwere Sepsis mit Organdysfunktion entwickelt haben und im septischen Multiorganversagen verstorben sind.

Die Differenzierung zwischen den 3 Gruppen erfolgte nach den klinischen Sepsiskriterien [79]. Der Tag des klinischen Sepsisbeginns wird mit SB = Tag 0 bezeichnet. An diesem Tag waren die Kriterien für eine Sepsis mit Organdysfunktion erstmals erfüllt.

3.1.1.1. Kriterien für Infektion, SIRS und Sepsis

Eine **Infektion** ist eine entzündliche Gewebereaktion auf Mikroorganismen oder Invasion von Mikroorganismen in normalerweise steriles Gewebe verstanden.

Ein **SIRS** liegt dann vor, wenn 2 oder mehr der folgenden Symptome erfüllt sind, welche durch ein Trauma oder anderen klinischen Insult verursacht sind [79]:

1. Körpertemperatur: > 38°C oder < 36 °C
2. Herzfrequenz: > 90/min
3. Atemfrequenz: > 20/min oder $paCO_2$ < 32 mm Hg
4. Leukozyten: > 12000 /mm^3 oder < 4000 /mm^3, oder > 10% unreife Formen.

Eine **Sepsis** liegt dann vor, wenn 2 oder mehr der folgenden Symptome durch eine mikrobielle Infektion bedingt sind:

1. Körpertemperatur: > 38°C oder < 36 °C
2. Herzfrequenz: > 90/min
3. Atemfrequenz: > 20/min oder $paCO_2$ < 32 mm Hg
4. Leukozyten: > 12000 /mm^3 oder < 4000 /mm^3, oder > 10% unreife Formen.

Eine **schwere Sepsis** ist gekennzeichnet durch das Vorliegen der Sepsiskriterien mit zusätzlichen Zeichen der Organdysfunktion, Hypoperfusion oder septisch induzierter Hypotension.
Eine **Hypoperfusion** wird definiert als Laktat-Erhöhung, Azidose, Oligurie oder eine akute Veränderung der Bewußtseinslage.
Die **septische Hypotension** wird definiert als systolischer Blutdruck < 90 mmHg oder ein Abfall von > 40 mmHg vom Ausgangswert bei Ausschluß anderer Ursachen.
Als **septischer Schock** wird eine septische Hypotension bezeichnet, die trotz adäquater Flüssigkeitszufuhr persistiert und mit Zeichen der allgemeinen Hypoperfusion oder Organdysfunktionen einhergeht. [79]

3.1.2. Ausschlußkriterien

Das Vorliegen folgender Kriterien bei der Aufnahme des Patienten auf der Intensivstation galt als Ausschlußkriterium:

- Alter < 18 Jahre
- Patient im Vollbild einer Sepsis
- Patient in präfinalem Zustand
- akute Rejektion nach Organtransplantation

3.1.3. Kriterien des Multiorganversagens (MOV)

Zur Diagnose des Organversagens wurde der Multiple-Organ-Failure-Score (MOF-Score) von GORIS et al. [48] benutzt. Er erlaubt eine schnelle und klinisch einfache Beurteilung der Organfunktion in 3 Abstufungen. Er besteht aus einem Punktesystem von maximal 14 Punkten. Innerhalb der 7 betrachteten Organsysteme erfolgt eine Bewertung des Schweregrades der Funktionsstörung.
Ein MOF-Score > 4 wird als Multiorganversagen bezeichnet [95]. Ein Rückgang der Werte um 2 Punkte innerhalb von 24 h wird als eine Verbesserung der Organfunktion interpretiert [95,100].
Die Erfassung des physiologischen Ausgangsstatus erfolgte anhand des APACHE-II-Score [65].

3.1.4. Intensivtherapie bei Sepsis

Die Therapie war in allen 3 Gruppen gleich und basiert auf den Richtlinien der Gesellschaft für Intensivmedizin (SCCM) [115]. Sie beinhaltet eine kalkulierte bzw. gezielte Antibiotikatherapie, Gerinnungsoptimierung, mögliche Sanierung des Sepsisherdes, Beatmungstherapie, Volumen- und Katecholamintherapie sowie frühzeitiger Einsatz der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration (CVVH).

Bei allen Patienten wurde ein invasives hämodynamisches Monitoring durchgeführt. Dieses beinhaltete einen zentralen Venenkatheter, eine arterielle Blutdrucküberwachung, einen Blasenkatheter und einen Rechtsherzkatheter (Swan-Ganz-Katheter). Zielgrößen der Behandlung waren:

arterielle Mitteldruck (MAD):	> 70 mmHg
zentraler Venendruck (ZVD):	10-12 mmHg
pulmonalkapillärer Verschlußdruck (PAWP):	12-14 mmHg
systemischer Gefäßwiderstand (SVR):	800-1300 dyn x cm^{-5} x sec
Urinausscheidung:	1 ml /kg/h
Hämatokrit (Hk):	34 - 38 Vol %
Gerinnungsoptimierung:	AT III ≥ 100 % der Norm
Optimierung der SvO_2:	60 - 70%

3.1.5. Blutabnahmeschema

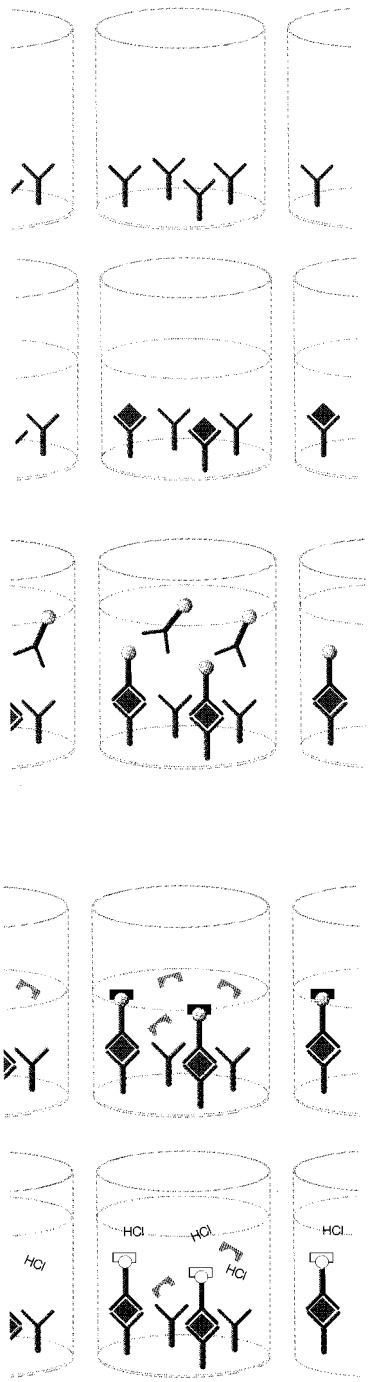
Von allen Patienten wurden vom Aufnahmetag an, an 11 aufeinanderfolgenden Tagen morgens 7.00 Uhr 10 ml Blut mittels EDTA - Monovetten abgenommen. Bei den Patienten der Gruppen 2 und 3 wurden nach dem klinischen Sepsisbeginn die Blutentnahmen noch 7 Tage fortgesetzt.

Das Blut wurde sofort bei 3000 U/min kühlzentrifugiert, das gewonnene Plasma aliquotisiert und bis zur Bearbeitung bei < -35 °C eingefroren.

3.2. Methoden

3.2.1. Der Enzymimmunoassay

Die Bestimmung von sCD14, der Mediatoren TNFα und Interleukin-6 sowie der löslichen Adhäsionsmoleküle sE-Selekin und sICAM-1 erfolgte mittels Enzymimmunoassay.



Die im Kit enthaltene Mikrotiterplatte ist mit einem monoklonalen Antikörper gegen die zu untersuchende Substanz beschichtet (1.Antikörper).

Zuerst werden die Standards oder Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert und reagieren mit dem 1. Antikörper. Nach Abschluß der Reaktion werden überschüssige Bestandteile der Proben durch Waschen entfernt.

Nach Zugabe von Meerrettich-Peroxydase (HRP) markiertem polyklonalen Antikörpern (2.Antikörper) kann sich in einer anschließenden Inkubation ein Sandwich-Komplex aus dem 1. Antikörper, der zu untersuchenden Substanz in der Probe und dem enzymmarkierten Antikörper (2. Antikörper) bilden. Überschüssiger enzymmarkierter Antikörper wird durch Waschen entfernt.

Mit Zugabe der chromogenen Lösung (Tetramethylbenzidin=TMB) beginnt die Bildung eines farbigen Endproduktes, wobei die Farbintensität der Menge der zu untersuchenden Substanz in der Probe oder im Standard proportional ist.

Diese Reaktion wird durch Zugabe einer Säurelösung beendet. Anschließend wird die Absorption des farbigen Endproduktes bei 450 nm gemessen und ausgewertet.

Abb. 7: Prinzip des Enzymimmunossays

3.2.2. Die Bestimmung von TNFα im Plasma

Die Bestimmung von TNFα im Plasma wurde mit dem MILENIA®-Testkit der DPC-Biermann GmbH Deutschland durchgeführt.

Durchführungsvorschrift

100 µl Probe oder Standard in die mit dem 1. Antikörper beschichtete Mikrotiterplatte pipettieren

↓

+ 150µl Probenpuffer

↓ 2 h bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren

4x mit je 300 µl Pufferlösung waschen

↓

+ 200 µl Anti-TNFα - HRP Konjugat

↓ 2 h bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren

4x mit je 300 µl Pufferlösung waschen

↓

+200 µl Substratlösung (TMB)

↓ 30 min bei Raumtemperatur abgedunkelt inkubieren

+ 50 µl Stopplösung

↓ schütteln

Messung der Extinktion bei 450 nm innerhalb von 15 min und Auswertung der Ergebnisse

Referenzwerte:

Der laborinterne Referenzbereich liegt von 0-40 pg/ml (n = 45 gesunde Probanden). Die Empfindlichkeit des Tests wird mit 6 pg/ml angegeben.

3.2.3. Die Bestimmung von IL-6 im Plasma

Die Bestimmung von IL-6 im Plasma erfolgte mittels des Enzymimmunoassays (MILENIA®-Testkit) der DPC-Biermann GmbH Deutschland.

Durchführungsvorschrift

100 µl Probe oder Standard in die mit dem 1. Antikörper beschichtete Mikrotiterplatte pipettieren

↓

+ 150µl Probenpuffer

↓ 2 h bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren

4x mit je 300 µl Pufferlösung waschen

↓

+ 200 µl Anti-IL-6 - HRP Konjugat

↓ 2 h bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren

4x mit je 300 µl Pufferlösung waschen

↓

+200 µl Substratlösung (TMB)

↓ 30 min bei Raumtemperatur abgedunkelt inkubieren

+ 50 µl Stopplösung

↓ schütteln

Messung der Extinktion bei 450 nm innerhalb von 15 min und Auswertung der Ergebnisse

Referenzwerte:

Der laborinterne Referenzbereich liegt bei 0 - 48 pg/ml (n = 56 gesunde Probanden). Die Nachweisgrenze dieses Testsystems liegt bei 4,0 pg/ml.

3.2.4. Die Bestimmung von sCD14 im Plasma

Die Bestimmung des löslichen LPS-Rezeptors sCD14 im Plasma erfolgte nach der ELISA-Technik mittels eines Testsystems der IBL-Hamburg. Das in der Probe enthaltene sCD14 wird spezifisch an die Antikörper gebunden, die an die Mikrotiterplatte immobilisiert sind. Im gleichen Schritt bindet der zweite, mit Biotin kunjugierte, monoklonale Antikörper an ein weiteres Epitop des sCD14-Moleküls. Ein Streptavidin-Peroxidase-Konjugat bindet sich an den Komplex. Nach Zugabe der Substratlösung entsteht eine Färbung, die der Konzentration an sCD14 proportional ist. Die Farbreaktion wird durch Zugabe der Stopplösung beendet und die optische Dichte bei 450 nm gemessen und ausgewertet. Vor Testbeginn müssen die Proben je nach sCD14-Gehalt mit gebrauchsfertigem Puffer verdünnt werden.

Durchführungsvorschrift:

5 µl Plasma auf 1000 µl Verdünnungspuffer

↓

50 µl Probe in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren
+ 50 µl Anti-sCD 14

↓ 2 h bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren

3x mit Pufferlösung waschen

↓

+ 150 µl Anti-sCD14-Peroydase Konjugat

↓ 1 h bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubieren

3x mit Pufferlösung waschen

↓

+ 200 µl Substratlösung

↓ 20 min bei Raumtemperatur abgedunkelt inkubieren

+ 100 µl Stopplösung

↓

Messung der optischen Dichte bei 450 nm innerhalb von 15 min und computergestützte Auswertung

Referenzbereich:

Der laborinterne Referenzbereich für sCD14 im Plasma reicht von 1,4 - 4,4 µg/ml (n = 48 gesunde Probanden). Die untere Nachweisgrenze für diesen Test beträgt < 1,0 ng/ml.

3.2.5. Die Bestimmung von sICAM-1 im Plasma

Die Bestimmung des löslichen ICAM-1 im Plasma erfolgte mittels des sICAM-1-Parameter®-Testkits der R & D Systems, Minneapolis, MN USA.

Durchführungsvorschrift:

100 µl Anti-sICAM-HRP Konjugat in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben

↓

+ 100 µl Probe oder Standard

↓ 1,5 h bei Raumtemperatur inkubieren

6x mit Pufferlösung waschen

↓

+100 µl Substratlösung (TMB)

↓ 30 min bei Raumtemperatur inkubieren

+ 100 µl Stopplösung

↓

Messung der Extinktion bei 450 nm innerhalb von 15 min und Auswertung der Ergebnisse

Referenzbereich:

Die Referenzwerte für die sICAM-1-Spiegel im Plasma werden mit 229,0 - 410,0 ng/ml angegeben. [45]. Die Empfindlichkeit des Tests liegt bei < 0,35 ng/ml.

3.2.6. Die Bestimmung von sE-Selektin im Plasma

Die Bestimmung des löslichen E-Selektins im Plasma erfolgte mittels des sE-Selektin-Parameter®-Testkits der Firma R & D Systems, Minneapolis, MN USA. Der Test ist ein Enzymimmunoassay, wie er unter 3.2.1. beschrieben wurde.

Durchführungsvorschrift:

100 µl Anti-sE-Selektin-HRP Kunjugat in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben

↓

+ 100 µl Probe oder Standard

↓ 1,5 h bei Raumtemperatur inkubieren

6x mit je 300 µl Pufferlösung waschen

↓

+100 µl Substratlösung (Tetramethylbenzidin = TMB)

↓ 30 min bei Raumtemperatur inkubieren

+ 100 µl Stopplösung

↓

Messung der Extinktion bei 450 nm innerhalb von 15 min und Auswertung der Ergebnisse

Referenzwerte:
Die Referenzwerte für sE-Selektin-Spiegel im Plasma werden mit 9,0 - 42,0 ng/ml angegeben. [45]
Die Empfindlichkeit des Tests beträgt < 0,1 ng/ml.

3.3. Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Statistikprogramm SigmaStat Version 1.0 (1992 - 1994) der Jandel Corporation.

Die Ergebnisse werden innerhalb der tabellarischen Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (**x** ± SD) und innerhalb graphischer Darstellungen als Mittelwerte ± Standardfehler (**x** ± SEM) angegeben.

Zur Auswertung der Ergebnisse wurde eine Varianzanalyse nach Friedman (ANOVA) durchgeführt. Für den Vergleich verschiedener Daten innerhalb von Gruppen wurde der Student-Newman-Keuls-Test angewendet.

Bei signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen wurden Multiple-Range-Teste vorgenommen. Die Korrelation wurde mit dem Sperman´schen-Rankkorrelationskoeffizient berechnet. Eine Signifikanz wurde bei einem $p < 0,05$ angenommen.

4. Ergebnisse

4.1. Klinische Daten der einzelnen Patienten

Grunderkrankung, Infektionsdiagnose, Erregerspektrum sowie der APACHE-II-Score bei Aufnahme auf der Intensivstation sind in den Tabellen 1-3 dargestellt.

Pat Nr.	**Alter (Jahre)**	**APACHE-II-Score**	**sex**	**Grund-erkrankung**	**Infektions-diagnose**	**Erreger**
01	35	10	m	Mundboden-CA	Osteomyelitis	Staphylococcus aureus
02	47	17	m	Mundboden-CA	Osteomyelitis	Staphylococcus aureus
03	66	31	w	Hirnblutung	Beatmungs-pneumonie	Klebsiella pneum.
04	52	21	w	Hirnblutung	NNH-Infektion, Meningitis	Escherichia coli
05	43	17	m	SHT Hirnblutung	NNH-Infektion	Escherichia coli
06	73	19	m	BAA	Pneumonie	Klebsiella pneum., Candida albicans
07	35	11	m	Thoraxtrauma	Pneumonie, Katheterinfektion	Klebsiella pneum., Candida albicans
08	54	23	m	Coma diabeticum	Pneumonie, Katheterinfektion	Pneumokokken, Candida albicans.
09	19	5	m	traumatischer Bronchusabriß	Mediastinitis	koagulase negative Staphylokokken
x	47,1	17,1				
SD	16,58	7,75				

Tabelle 1: Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis)

x = Mittelwert SD = Standardabweichung

NNH = Nasen-Neben-Höhlen SHT = Schädel-Hirn-Trauma

BAA = Bauchaortenaneurysma pneum. = pneumoniae

CA = Carzinom

Pat Nr.	Alter (Jahre)	APACHE-II-Score	sex	Grund-erkrankung	Infektions-diagnose	Erreger
10	24	22	m	Polytrauma, ARDS	Pneumonie	Ps. aeruginosa
11	46	18	w	Nephrolithiasis	Urosepsis	Escherichia coli Staph. aureus
12	47	42	w	Dermatomyesitis	Kathetersepsis	Staph. aureus
13	60	20	m	thorako-abdominales AA	Enterocolitis	Clostridium defficile
14	19	15	m	Hirnstammtumor	Aspirations-pneumonie	Klebsiella pneum., Ps. aeruginosa
15	53	29	m	Hirnblutung, Herzinsuffizienz	NNH-Infektion, Pneumonie	Staph. aureus
16	44	25	w	Myasthenie	Pneumonie	Ps. aeruginosa
17	76	27	w	Inhalationstrauma	Pneumonie	Ps. aeruginosa, Candida albicans
18	70	29	m	thorakales AA	Pneumonie, Kathetersepsis	Enterobacter cloacae Candida albicans
x	48,77	25,2				
SD	18,94	7,97				

Tabelle 2: Patienten der Gruppe 2 (Sepsis, survivor)

x = Mittelwert
SD = Standardabweichung
NNH = Nasen-Neben-Höhlen
ARDS = Adult Respiratory Distress Syndrome
AA = Aortenaneurysma
Ps. = Pseudomonas
pneum. = pneumoniae
Staph. = Staphylococcus

Pat Nr.	Alter (Jahre)	APACHE-II-Score	sex	Grund-erkrankung	Infektions-diagnose	Erreger
19	73	21	w	Nierentumor, Cavazapfen	Pneumonie, Peritonitis	Enterobacter cloacae
20	78	36	m	Nierentumor, BAA	Pneumonie, Peritonitis	Staphylococcus aureus
21	40	25	w	Lupus eryth., Nieren-TPL	Pankreatitis, Peritonitis	Enterokokken
22	60	13	m	Nierentumor, COLD	Peritonitis	Enterokokken
23	62	14	m	Lebercirrhose, Nephrolithiasis	Pneumonie, Urosepsis	Ps. aeruginosa, Escherichia coli
24	60	10	m	COLD, Darmperforation	Peritonitis, Pneumonie	Enterokokken
25	44	20	w	Uterus myomatosus	Peritonitis	Escherichia coli, Enterokokken
26	40	13	w	Hirntumor	Pneumonie	Ps. aeruginosa
27	71	30	m	Mesenterial-infarkt	Enterocolitis	Clostridium defficile Enterokokken
28	59	19	m	Cholecystektomie, Pankreatitis	Pneumonie, Peritonitis	Ps. aeruginosa, Enterokokken
x	58,7	20,1				
SD	13,57	8,28				

Tabelle 3: Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor)

x = Mittelwert
BAA = Bauchaortenaneurysma
COLD = Chronic Obstructiv Lung Disease
TPL = Transplantation
SD = Standardabweichung
Lupus eryth. = Lupus erythematodes
Ps. = Pseudomonas

Das Durchschnittsalter der Gruppen 1 und 2 ist mit 47 bzw. 48 Jahren identisch. Die Patienten in der Gruppe der Verstorbenen sind mit 58,7 ± 13,5 Jahren im Durchschnitt älter als die Patienten der Gruppen 1 und 2. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant. Die Geschlechtsverteilung

ist in allen Gruppen identisch. Insgesamt wurden mehr Männer als Frauen in die Studie eingeschlossen.

4.2. Infektionserreger

Bei 89 % (26) der Patienten handelte es sich um eine nosokomiale Infektion. 11 % (3) Patienten wurden mit einer ambulant erworbenen Infektion aufgenommen. Diese Patienten verteilen sich gleichmäßig auf die betrachteten Patientenkollektive. Im Gesamtkollektiv wurden 43 % der Infektionen durch grampositive und 46 % durch gramnegative Erreger verursacht. Bei 3 (11 %) Patienten war eine Mischinfektion aus gramnegativen und grampositiven Erregern die Ursache. 5 Patienten (18 %) hatten zusätzlich eine Superinfektion durch Hefen (Candida albicans). Die prozentuale Verteilung der Infektionserreger in den 3 Gruppen ist in der Abbildung 8 dargestellt.

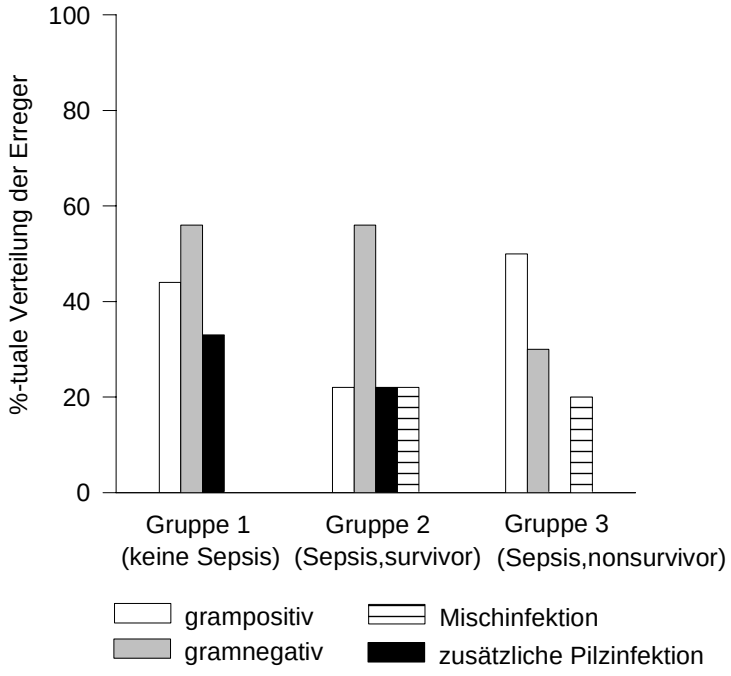


Abb. 8: prozentuale Verteilung der Infektionserreger

4.3. Score-Werte

APACHE II-Score

Von allen Patienten wurde am Aufnahmetag der APACHE II-Score ermittelt. (s. Tabellen 1-3). Die Patienten der Gruppe 1 (Infektion) hatten einen durchschnittlichen APACHE II-Score von 17,1 ± 7,75 (x ± SD) Punkten. Bei den Patienten der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) betrug der APACHE II-Score 25,2 ± 7,97 (x ± SD) Punkte. Die Gruppe der verstorbenen Septiker (Gruppe 3) hatte mit 20,1 ± 8,28 (x ± SD) Punkten einen gering niedrigeren APACHE II-Score als die Patienten der Gruppe 2. Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. Die Gruppen waren hinsichtlich der Schwere der Erkrankung am Aufnahmetag vergleichbar.

Multiple-Organ-Failure-Score (MOF-Score)

Die Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis) wiesen zum keinem Zeitpunkt einen MOF-Score > 4 Punkten auf. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes fielen die Score-Werte deutlich ab. Am Ende der Beobachtungszeit von 11 Tagen hatten diese Patienten noch einen MOF-Score von 1,2 ± 0,9 (x ± SD). Der Abfall war statistisch signifikant ($p<0,05$) (s. Abbildung 9.).

Bei den Patienten der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) war ein signifikanter Anstieg ($p<0,05$) des MOF-Scores am 4. Beobachtungstag, der dem Sepsisbeginn (SB) entspricht, zu verzeichnen. Von 3,3 ± 0,7 (x ± SD) am Aufnahmetag auf 6,3 ± 1,4 (x ± SD) am Tag des klinischen Sepsisbeginns. Zu einem kontinuierlichen, statistisch nicht signifikanten Abfall kommt es erst am 4. Tag nach SB. Alle Patienten dieser Gruppe hatten ab dem Tag des klinischen Sepsisbeginns einen MOF-Score > 4. Die Gruppen 1 und 2 waren an den beiden ersten Beobachtungstagen hinsichtlich ihres MOF-Scores völlig identisch.

Die Patienten der Gruppe 3 hatten schon am ersten Beobachtungstag einen MOF-Score > 4. An den ersten beiden Beobachtungstagen hatten die Patienten der Gruppe 3 einen höheren MOF-Score als die Patienten der Gruppen 1 und 2. Die Unterschiede waren statistisch jedoch nicht signifikant.

Am dritten Beobachtungstag, bereits 24 h vor der klinischen Sepsisdiagnose, hatten alle Patienten der Gruppe 3 einen MOF-Score > 6 und unterscheiden sich signifikant von den Patienten der Gruppen 1 und 2. Im weiteren Verlauf steigt der MOF-Score dieser Gruppe kontinuierlich an. Dieser Anstieg war statistisch signifikant ($p<0,05$). Die Diagnose Multiorganversagen wurde bei diesen Patienten 24 h vor der Diagnose Sepsis gestellt.

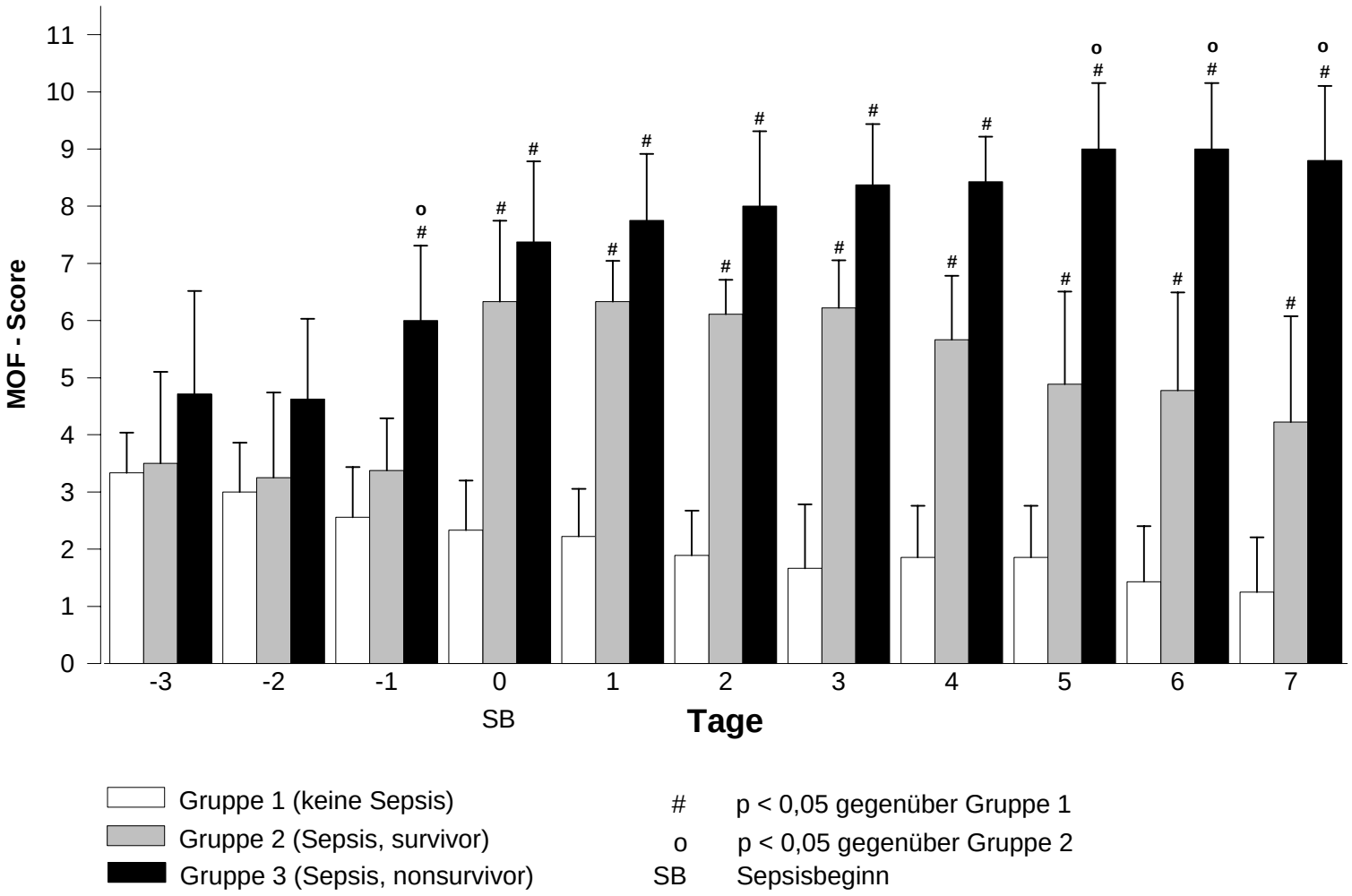


Abb. 9: MOF-Score der Gruppen 1-3

4.4. Ergebnisse der Mediatorenbestimmungen im Plasma

4.4.1. Ergebnisse der Gruppe 1 (keine Sepsis)

Alle Ergebnisse der Gruppe 1 (n = 9) sind als Übersicht in der Tabelle 4 enthalten.

Die **TNFα**-Spiegel in der Infektionsgruppe lagen im Beobachtungszeitraumes von 11 Tagen alle unterhalb des Referenzbereiches (< 40 pg/ml). Innerhalb des Beobachtungszeitraumes war kein signifikanter Anstieg der Werte zu verzeichnen.

Die Spiegel des **sCD14** lagen mit Ausnahme der ersten beiden Tage alle gering oberhalb des mit 4,4 µg/ml angegebenen Referenzbereiches. Während des Beobachtungszeitraumes von 11 Tagen war ein leichter, nicht signifikanter Anstieg der sCD14-Spiegel zu verzeichnen.

Die **IL- 6 Spiegel** in dieser Gruppen zeigten während der betrachteten 11 Tage eine ansteigende Dynamik, die statistisch nicht signifikant war. Sie lagen gering oberhalb des Referenzbereiches, der für den Assay mit 0 - 48 pg/ml angegeben wird. Am 4. und 6. Beobachtungstag war ein geringer Anstieg der Mittelwerte zu verzeichnen, der nicht signifikant war.

Die Spiegel des löslichen **ICAM-1** lagen bei Patienten der Gruppe 1 alle im oberen Teil des Referenzbereiches oder leicht darüber (229,0 - 410,0 ng/ml). Innerhalb dieser Gruppe gab es zwischen den einzelnen Abnahmepunkten keine signifikanten Unterschiede. Die Spiegel des **sE-Selektins** waren bei Intensivpatienten mit einer Infektion ohne septischer Entgleisung nicht erhöht. Sie liegen alle innerhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden (9,0 - 42,0 ng/ml) und blieben im Beobachtungszeitraum konstant.

Abnahme-tag	**TNF** (pg/ml) (x ± SD)	**sCD 14** (µg/ml) (x ± SD)	**IL- 6** (pg/ml) (x ± SD)	**sICAM-1** (ng/ml) (x ± SD)	**sE-Selektin** (ng/ml) (x ± SD)
1	0,8 ± 1,3	4,2 ± 1,4	38,4 ± 25,1	219,6 ± 77,4	28,0 ± 7,0
2	1,2 ± 1,7	4,5 ± 1,4	47,5 ± 46,1	239,4 ± 71,4	28,3 ± 8,8
3	1,3 ± 1,2	5,2 ± 1,4	51,2 ± 46,3	300,8 ± 112,1	28,1 ± 8,4
4	1,8 ± 1,5	5,3 ± 1,4	56,1 ± 40,3	368,5 ± 128,4	30,6 ± 6,3
5	1,0 ± 0,7	5,7 ± 1,7	52,9 ± 30,4	368,5 ± 166,0	29,8 ± 9,0
6	1,1 ± 0,7	5,7 ± 1,8	64,8 ± 58,8	334,2 ± 103,6	34,6 ±12,2
7	1,9 ± 1,6	5,6 ± 1,9	53,8 ± 40,9	378,4 ± 126,3	35,5 ± 8,2
8	2,2 ± 1,6	6,0 ± 2,1	48,1 ± 22,6	370,9 ± 119,4	34,2 ± 5,0
9	4,7 ± 5,4	5,8 ± 2,1	52,2 ± 20,6	385,5 ± 115,1	33,0 ± 8,0
10	4,2 ± 4,1	5,5 ± 1,8	33,7 ± 13,5	397,6 ± 108,3	32,3 ± 8,6
11	2,2 ± 1,9	5,3 ± 1,6	41,3 ± 27,2	374,0 ± 99,9	28,8 ± 6,6

Tab. 4: Ergebnisse der Gruppe 1 (Infektion) (x ± SD)

4.4.2. Ergebnisse der Gruppe 2 (Sepsis, survivor)

TNFα war bei überlebenden Septikern über den gesamten Beobachtungszeitraum von 11 Tagen leicht erhöht. Die Mittelwerte lagen im oberen Teil des Referenzbereiches (< 40 pg/ml). Innerhalb der Gruppe gab es zwischen den einzelnen Abnahmepunkten starke Schwankungen. Es existierten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Abnahmepunkten.

sCD14 war bei den Patienten der Gruppe 2 über den gesamten Beobachtungszeitraum erhöht. Auch bei klinischer Besserung des septischen Krankheitsbildes blieben die Werte deutlich über dem Referenzbereich (1,4 - 4,4 µg/ml). Während des septischen Verlaufes war ein Anstieg der Werte am 3. Tag nach Sepsis zu verzeichnen, der statistisch nicht signifikant war.

Die **IL-6**- Spiegel lagen bei Patienten mit Sepsis alle oberhalb des Referenzbereiches (< 48 pg/ml). Bereits 3 Tage vor einem Sepsisbeginn waren die Spiegel mit 51,8 ± 28,1 pg/ml pathologisch erhöht. Am Tag des klinischen Sepsisbeginns (SB) kam es zu einem signifikanten Anstieg gegenüber den Ausgangswerten ($p<0,05$). Nach einem weiteren Anstieg am 2. und 3. Tag fielen die IL-6-Spiegel ab dem 5. Tag nach Sepsisbeginn signifikant ab. Am Ende der Beobachtungszeit lagen die Plasmaspiegel von IL-6 mit 75,6 ± 54,1 pg/ml (x ± SD) noch im pathologischen Bereich (s. Tabelle 5).

Die löslichen Adhäsionsmoleküle **sICAM-1** und **sE-Selektin** waren bei septischen Patienten gegenüber dem Referenzbereich für gesunde Probanden erhöht. Die **sICAM-1**-Spiegel waren über den gesamten Beobachtungszeitraum konstant hoch und unterlagen nur geringen Schwankungen. 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn lagen die Mittelwerte von sICAM-1 nur geringfügig oberhalb des Referenzbereiches von 229,0 - 410 ng/ml. Am Tag 1 nach Sepsisbeginn kam es zu einem leichten Anstieg. Am Ende der Beobachtungszeit von 11 Tagen hatten sich die Werte bei klinischer Besserung des Krankheitsbildes noch nicht normalisiert.

Am 1 Beobachtungstag, 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn, lagen die Plasmaspiegel von **sE-Selektin** im oberen Teil des Referenzbereiches (42 ng/ml). Im Verlauf der Sepsis stiegen die Werte deutlich an. Ein signifikanter Anstieg ist erst am 1. Tag nach SB zu verzeichnen. Am 7. Tag nach Sepsisbeginn erreichten die Plasmaspiegel von sE-Selektin wieder die Ausgangswerte, bleiben aber im pathologischen Bereich.

Abnahme-tag	Sepsis tag	**TNF** (pg/ml) (x ± SD)	**sCD 14** (µg/ml) (x ± SD)	**IL- 6** (pg/ml) (x ± SD)	**sICAM-1** (ng/ml) (x ± SD)	**sE-Selektin** (ng/ml) (x ± SD)
1	-3	9,0 ± 7,9	6,0 ± 1,2	51,8 ± 28,1	439,1 ± 280,3	46,6 ± 22,0
2	-2	22,6 ± 39,1	5,9 ± 1,1	93,3 ± 98,30	411,0 ± 286,1	68,9 ± 69,0
3	-1	23,1 ± 39,9	6,4 ± 1,7	114,0 ± 106,9	459,8 ± 253,9	72,6 ± 75,0
4	0=SB	13,0 ± 11,4	6,3 ± 1,0	108,9 ± 71,40 *	385,5 ± 138,4	87,0 ± 71,3
5	1	37,8 ± 69,9	6,5 ± 2,5	245,9 ± 366,0 *	524,6 ± 290,3	97,5 ± 65,6 *
6	2	15,0 ± 11,4	6,3 ± 2,8	123,2 ± 106,9 *	498,7 ± 149,1	86,5 ± 37,1 *
7	3	11,6 ± 10,9	7,0 ± 3,0	178,7 ± 126,0 *	478,4 ± 295,5	74,9 ± 18,0 *
8	4	14,7 ± 10,4	5,7 ± 1,2	96,3 ± 50,70	529,0 ± 258,4	73,0 ± 24,3
9	5	12,5 ± 7,90	6,2 ± 1,1	93,6 ± 18,8 **	494,1 ± 275,6	64,6 ± 20,2
10	6	16,1 ± 12,4	6,1 ± 1,2	55,0 ± 34,7 **	492,4 ± 260,9	57,8 ± 14,9
11	7	29,2 ± 43,4	5,9 ± 1,1	75,6 ± 54,1 **	478,1 ± 224,2	54,1 ± 16,7

Tab. 5: Ergebnisse der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) (x ± SD)

***** $p < 0,05$ gegenüber Abnahmetag 1

****** $p < 0,05$ gegenüber Abnahmetag 7

4.4.3. Ergebnisse der Gruppe 3 (nonsurvivor)

Die Mittelwerte von **TNFα** lagen bei Patienten mit schwerer Sepsis innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 11 Tagen alle unterhalb des Referenzbereiches von 40 pg/ml. Am 7. Tag nach Sepsisbeginn war ein Anstieg auf 35,4 ± 44,2 pg/ml zu verzeichnen, der statistisch nicht signifikant war.

Auf Grund der große Schwankungen innerhalb der Gruppe 3 existierten keine signifikanten Unterschiede in den TNFα-Spiegeln zwischen den einzelnen Abnahmepunkten.

Die Plasmaspiegel von **sCD14** lagen bei Patienten mit einer schweren Sepsis und Multiorganversagen bereits 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn (Tag 0 = SB) pathologisch erhöht. Innerhalb der Gruppe gabt es keine signifikanten Differenzen der Werte zwischen den einzelnen Abnahmepunkten. Die Plasmaspiegel von sCD14 blieben über den gesamten Zeitraum von 11 Tagen konstant hoch.

Die Plasmaspiegel von **IL-6** lagen bei Patienten mit einer schweren Sepsis schon 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn im pathologischen Bereich. Sie blieben mit Ausnahme geringer Schwankungen über den gesamten Beobachtungszeitraum konstant. Am ersten Sepsistag kam es zu einem scheinbaren, nicht signifikanten Abfall der Plasmaspiegel von IL-6, dem ein ebenfalls nicht signifikanter Anstieg am 4.- 7. Sepsistag folgte.

Auch in der Gruppe der verstorbenen Septiker wurden konstant hohe Plasmaspiegel der löslichen Adhäsionsmoleküle **sICAM-1** und **sE-Selektin** gemessen. Die Plasmaspiegel von **sICAM-1** waren sind bereits 3 Tage vor Sepsisbeginn signifikant gegenüber dem Referenzbereich erhöht und blieben auf diesen Niveau. Ab dem 2. Tag nach Sepsisbeginn kam es zu einem kontinuierlichen, nicht signifikanten Anstieg der Plasmaspiegel, der bis zum Ende der Beobachtungszeit nicht mehr abfiel.

Die Spiegel von **sE-Selektin** bei verstorbenen Septikern lagen mit 97,7 ± 38,0 ng/ml (x ±) schon 3 Tage vor den klinischen Sepsiszeichen signifikant höher ($p<0,05$) als der Referenzbereich für gesunde Probanden (42,0 ng/ml). Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 11 Tagen zeigten die Plasmaspiegel von sE-Selektin erst eine leicht fallende, im späteren Verlauf der Sepsis eine ansteigende Dynamik. Sie zeigten am 1. und 2. Tag nach Sepsisbeginn einen leichten, nicht signifikanten Abfall um dann am 6. Tag ihr Maximum mit 114,6 ± 51,0 ng/ml zu erreichen. Signifikante Unterschiede in den Plasmaspiegeln des sE-Selektins zwischen den einzelnen Abnahmetagen gab es nicht.

Abnahme-tag	Sepsis tag	**TNF** (pg/ml) (x ± SD)	**sCD 14** (µg/ml) (x ± SD)	**IL- 6** (pg/ml) (x ± SD)	**sICAM-1** (ng/ml) (x ± SD)	**sE-Selektin** (ng/ml) (x ± SD)
1	-3	8,3 ± 8,2	5,9 ± 0,9	367,1 ± 491,3	605,4 ± 280,1	97,7 ± 38,0
2	-2	14,2 ± 14,0	6,5 ± 1,5	423,7 ± 530,1	638,0 ± 234,0	119,7 ± 31,9
3	-1	18,7 ± 15,2	6,4 ± 0,7	438,5 ± 386,0	569,5 ± 268,0	101,7 ± 50,1
4	0=SB	16,9 ± 10,7	6,3 ± 1,4	436,5 ± 278,0	585,0 ± 264,0	105,2 ± 43,0
5	1	16,9 ± 9,0	6,4 ± 1,2	295,6 ± 251,1	584,6 ± 249,8	82,2 ± 15,0
6	2	17,3 ± 8,8	6,5 ± 1,8	283,6 ± 252,1	701,7 ± 237,0	81,7 ± 29,2
7	3	18,9 ± 8,3	6,3 ± 1,1	326,4 ± 245,0	680,5 ± 297,1	81,4 ± 23,0
8	4	17,8 ± 10,5	6,1 ± 1,8	353,5 ± 287,0	738,5 ± 220,4	93,2 ± 16,0
9	5	16,9 ± 11,0	5,8 ± 1,1	333,4 ± 272,0	730,2 ± 275,3	85,4 ± 27,0
10	6	24,0 ± 9,0	5,6 ± 0,6	360,9 ± 262,0	813,9 ± 790,1	114,6 ± 51,0
11	7	35,4 ± 44,2	6,0 ± 1,3	389,3 ± 265,0	368,4 ± 360,0	108,9 ± 27,0

Tab. 6: Ergebnisse der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) (x ± SD)

4.4.4 Graphische Darstellung der einzelnen Parameter

4.4.4.1. Plasmaspiegel von TNFα

Die TNFα-Spiegel aller Gruppen sind vergleichend in den Abbildungen 10 und 11 dargestellt.

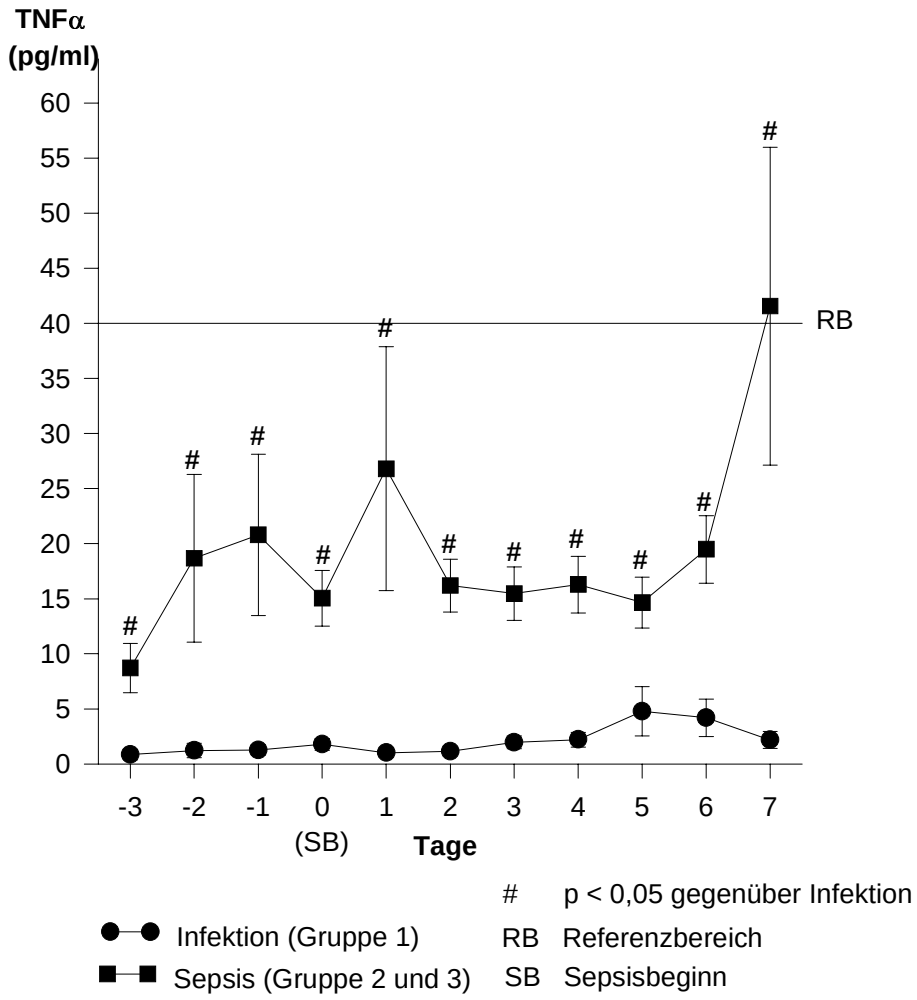


Abb. 10: TNFα-Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion (x ± SEM)

Patienten mit Sepsis wiesen über den gesamten Beobachtungszeitraum von 11 Tagen signifikant höhere TNFα-Spiegel auf als die Patienten ohne Sepsis.

Die Mittelwerte der Plasmaspiegel von TNFα der septischen Patienten (Gruppe 2) lagen ebenso

wie die der Gruppe 1 innerhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden. An den beiden letzten Beobachtungstagen kommt es zu einem Anstieg der TNFα-Spiegel bei septischen Patienten.

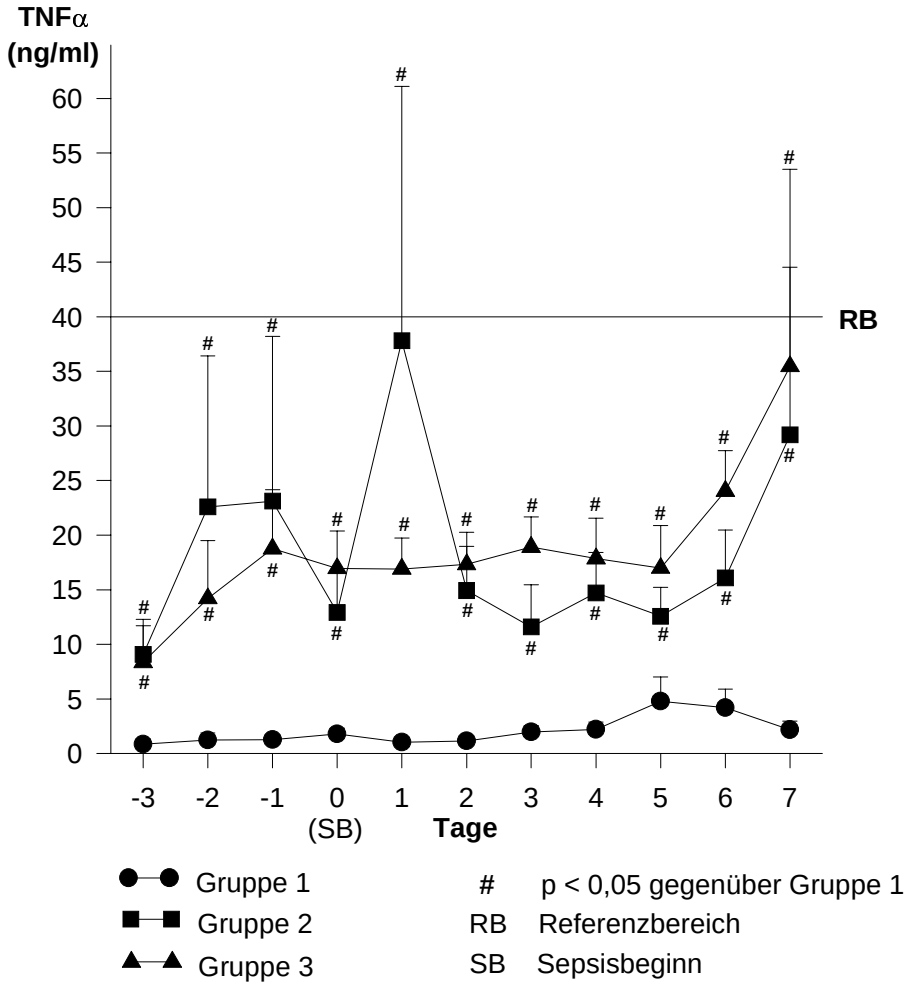


Abb. 11: TNFα-Spiegel der Gruppe 1-3 (x + SEM)

Eine Differenzierung der septischen Patienten in überlebene (Gruppe 2) und verstorbene Septiker (Gruppe 3) ergab keine signifikanten Unterschiede in den Plasmaspiegeln von TNFα zwischen diesen beiden Gruppen. Am Tag 1 nach Sepsisbeginn lagen die Mittelwerte der TNFα-Spiegel in der Gruppe der überlebenden Septiker (Gruppe 2) über denen der verstorbenen Septiker. Der Unterschied war nicht signifikant.

4.4.4.2. Plasmaspiegel von sCD14

Eine vergleichende Darstellung der Spiegel von sCD14 aller Gruppen zeigen die Abbildungen 12 und 13.

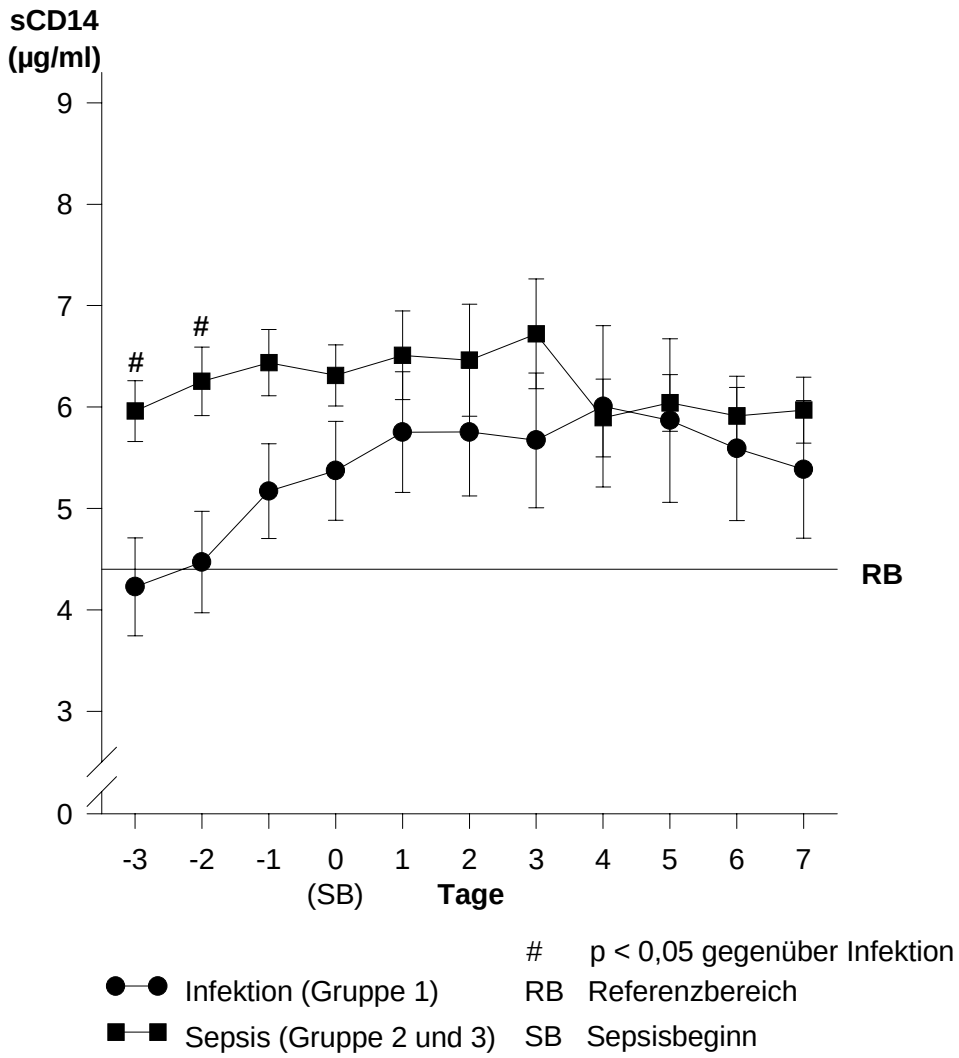


Abb. 12: sCD14-Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion (x ± SEM)

Die Mehrzahl der untersuchten Patienten wiesen über den gesamten Beobachtungszeitraum erhöhte Plasmaspiegel von sCD14 auf. Bereits 3 Tage vor Sepsisbeginn (Tag -3) lagen die Plasmaspiegel von sCD14 der Gruppen 2 und 3 signifikant höher als die sCD14-Spiegel der Infektionsgruppe. Im Verlauf stiegen die sCD14-Spiegel auch bei den Patienten mit einer Infektion

(Gruppe 1) deutlich über den Referenzbereich an. Der Anstieg war statistisch nicht signifikant.
Bei septischen Patienten lagen die sCD14-Spiegel bereits am ersten Abnahmetag deutlich im pathologischen Bereich und blieben über den gesamten Beobachtungszeitraum auf diesem Niveau.

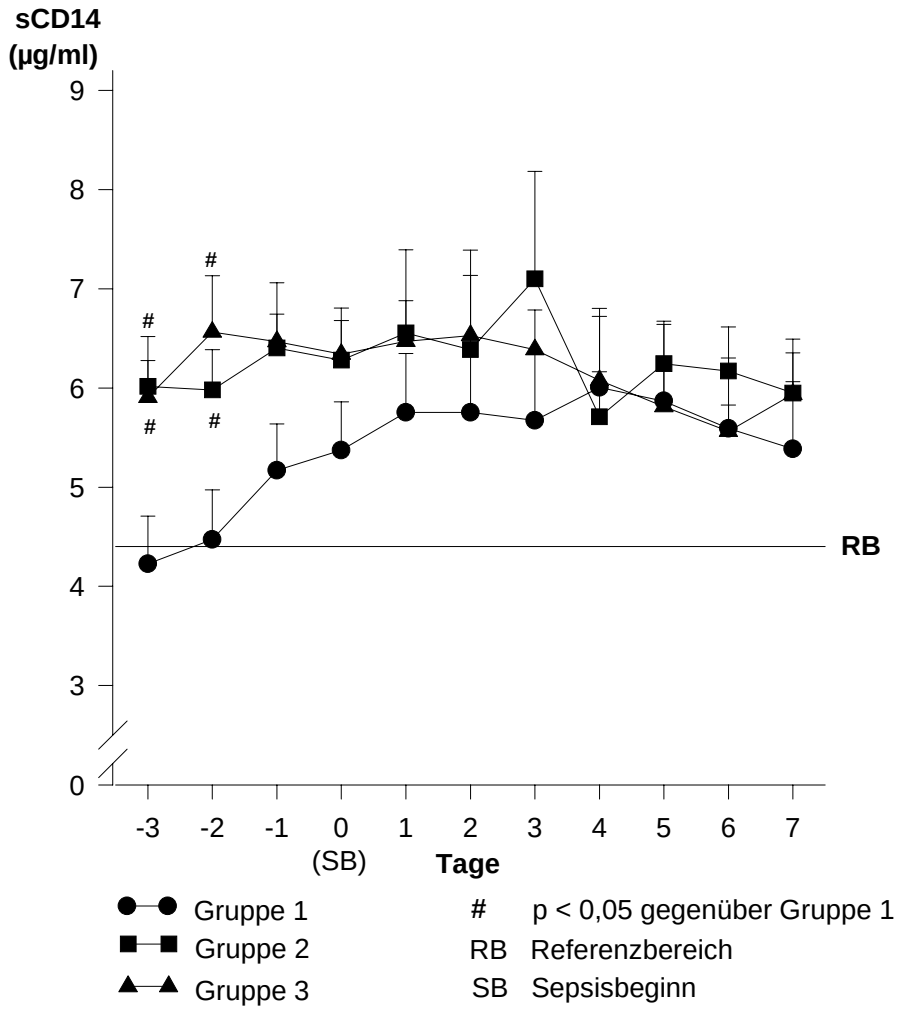


Abb. 13: sCD14-Spiegel der Gruppen 1-3 (x + SEM)

Eine Differenzierung der Gruppe der septischen Patienten in überlebende (Gruppe 2) und verstorbene Septiker (Gruppe 3) ist in Abbildung 13 ersichtlich. Die Kurven verlaufen über den gesamten Beobachtungszeitraum nahezu parallel.
Es gab keine signifikanten Unterschiede in den Plasmaspiegeln von sCD14 zwischen verstorbenen und überlebenden Septikern.

4.4.4.3. Plasmaspiegel von Interleukin-6

Eine vergleichende Darstellung der Interleukin-6 Werte aller Gruppen zeigen die Abbildungen 14 und 15.

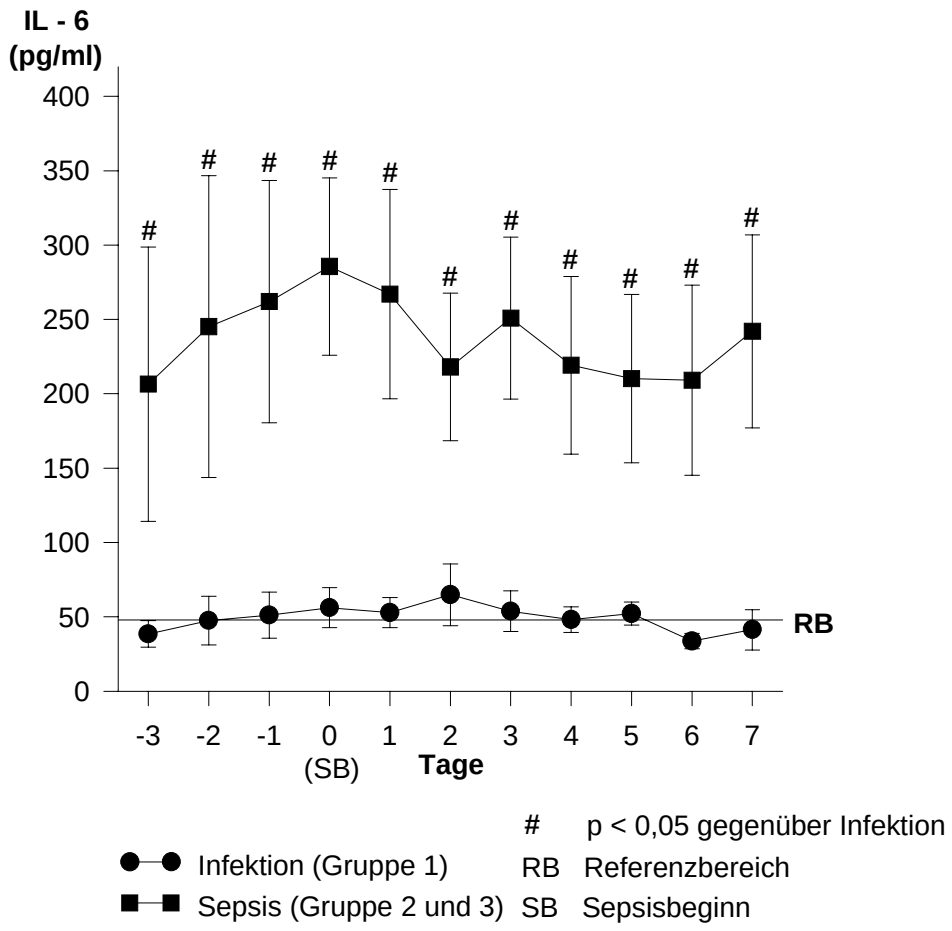


Abb. 14: IL-6- Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion (x ± SEM)

Die Interleukin-6-Spiegel septischer Patienten lagen über den gesamten Beobachtungszeitraum von 11 Tagen signifikant über denen nicht septischer Patienten. Schon am ersten Beobachtungstag, d.h. 3 Tage vor der klinischen Diagnose Sepsis (SB) waren bei diesen Patienten die IL-6-Spiegel signifikant erhöht und blieben bis zum Ende der Beobachtungszeit auf diesem Niveau stabil.

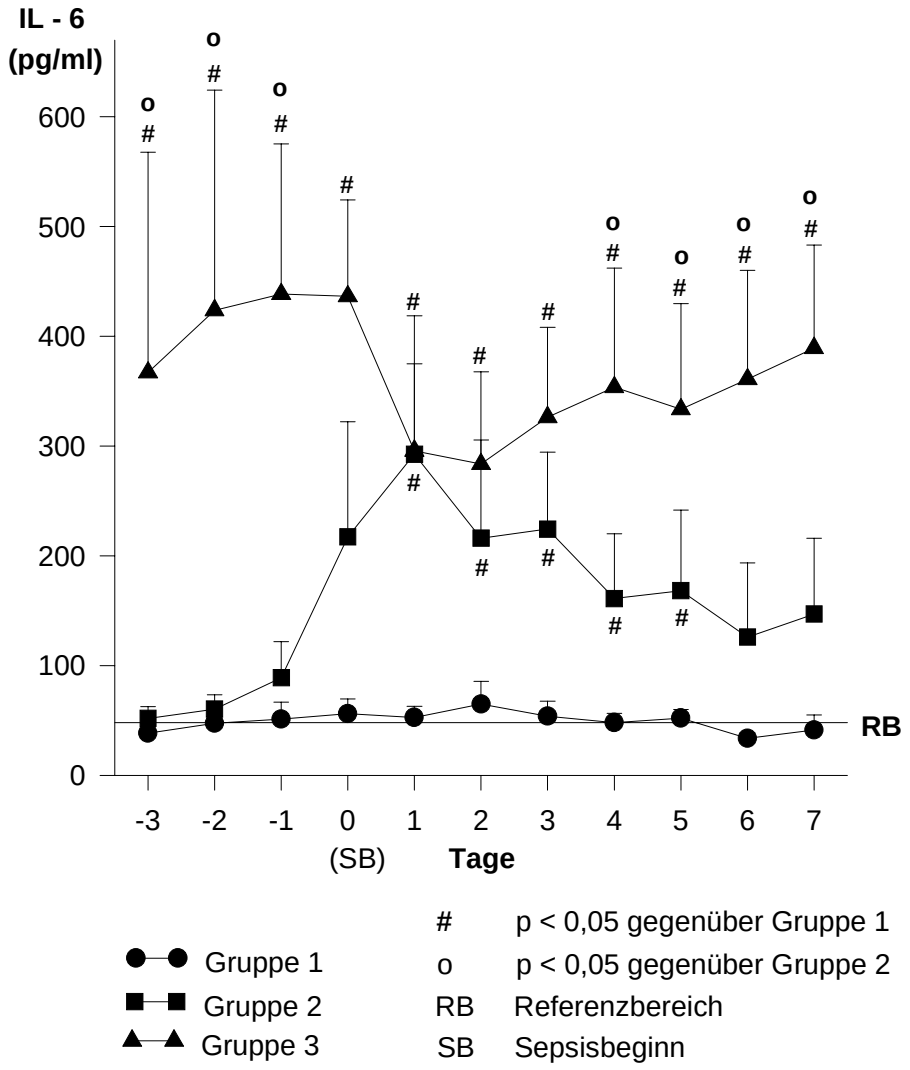


Abb.15: IL-6-Spiegel der Gruppen 1-3 (x + SEM)

Eine Differenzierung der septischen Patienten in überlebende (Gruppe 2) und verstorbene Septiker (Gruppe 3) ergab signifikante Unterschiede in den Plasmaspiegel von IL-6 zwischen diesen beiden Gruppen.

Die Patienten der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) hatten 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn noch keine erhöhten IL-6 Werte und unterschieden sich nicht von den Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis). Erst am 1. Tag nach klinischer Diagnosestellung Sepsis stiegen die Mittelwerte innerhalb dieser Gruppe signifikant an und blieben bis zum 5. Tag nach Sepsisbeginn signifikant über den Werten der Gruppe 1.

Die Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) hatten 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn bereits signifikant höhere IL-6-Spiegel als die Patienten der Gruppen 1 und 2. In dieser Gruppe blieben die IL-6-Spiegel über den gesamten Zeitraum auf hohem Niveau konstant.

4.4.4.4. Plasmaspiegel von sICAM-1

Die sICAM-1 Spiegel aller Gruppen sind vergleichend in den Abbildungen 16 und 17 dargestellt.

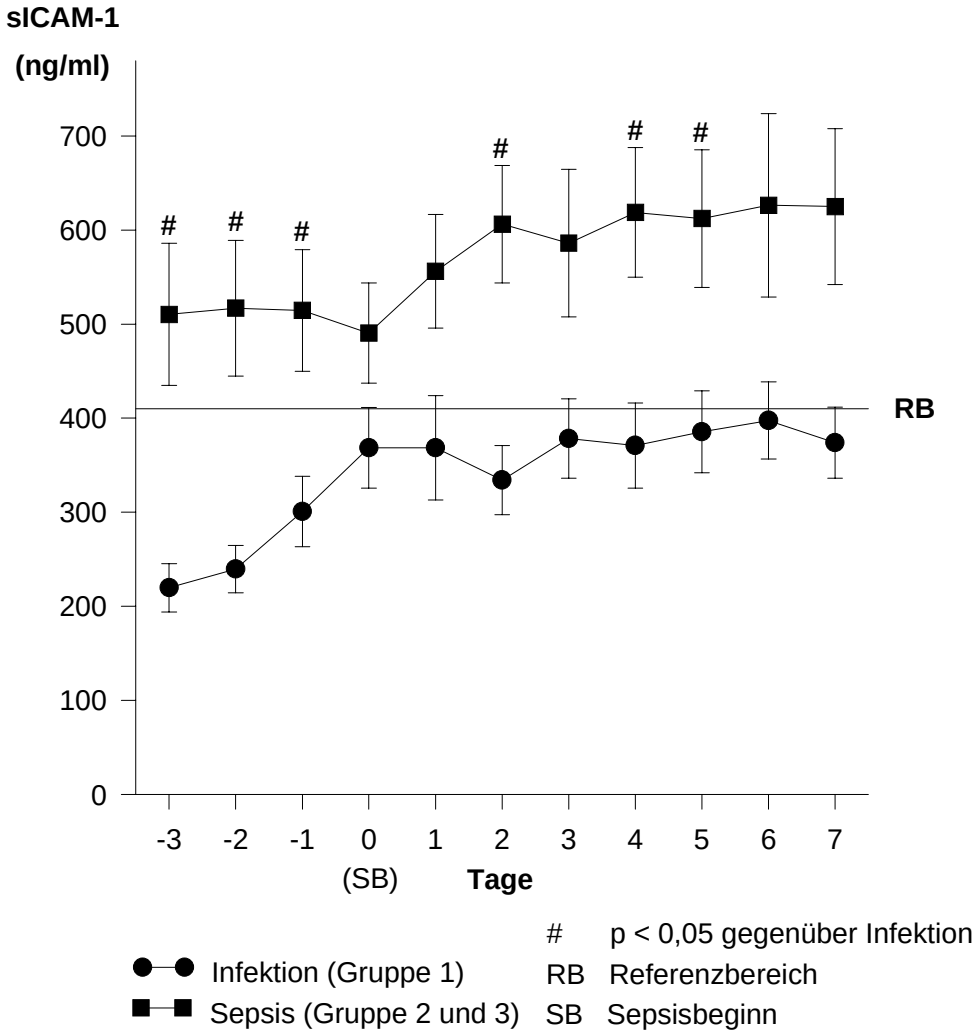


Abb. 16: sICAM-1 bei septischen Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion (x ± SEM)

Septische Patienten hatten im Beobachtungszeitraum von 11 Tagen gegenüber nicht septischen Patienten höhere Mittelwerte der sICAM-1-Spiegel im Plasma. Die Unterschiede waren an 6 von

11 Beobachtungstagen signifikant (vgl Abb.16). Die Plasmaspiegel von sICAM-1 septischer Patienten liegen über den gesamten Beobachtungszeitraum im pathologischen Bereich. Bereits 3 Tage vor der klinischen Diagnosestellung Sepsis hatten diese Patienten signifikant höhere sICAM-1-Spiegel als die Patienten ohne Sepsis. Bei den Patienten der Gruppe 1 lagen die Mittelwerte der sICAM-1-Spiegel alle unterhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden.

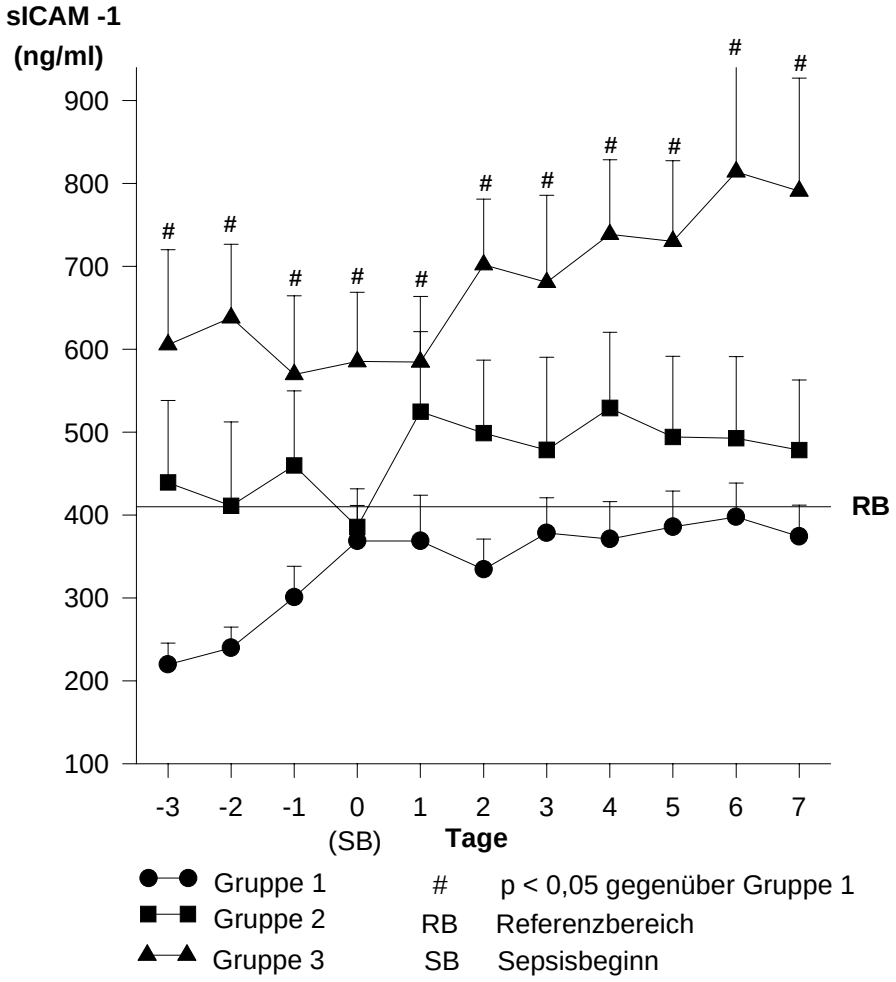


Abb. 17: sICAM-1 Spiegel der Gruppen 1-3 (x + SEM)

Eine Differenzierung der septischen Patienten in überlebende (Gruppe 2) und verstorbene Septiker (Gruppe 3) ergab keine signifikanten Unterschiede in den Plasmaspiegel sICAM-1 zwischen diesen beiden Gruppen. Signifikante Unterschiede in den Plasmaspiegel von sICAM-1 traten nur auf zwischen der Gruppe 1 (keine Sepsis) und der Gruppe der verstorbenen Septiker (Gruppe 3). 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn (Tag -3) lagen die Plasmaspiegel der später verstorbenen

Septiker (Gruppe 3) schon signifikant über denen der Gruppe 1. Zwischen den Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis) und den Patienten der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) gab es keine signifikanten Unterschiede in den Plasmaspiegeln von sICAM-1.

4.4.4.5. Plasmaspiegel von sE-Selektin

Die sE-Selektin-Spiegel aller Gruppen sind vergleichend in den Abbildungen 18 und 19 dargestellt.

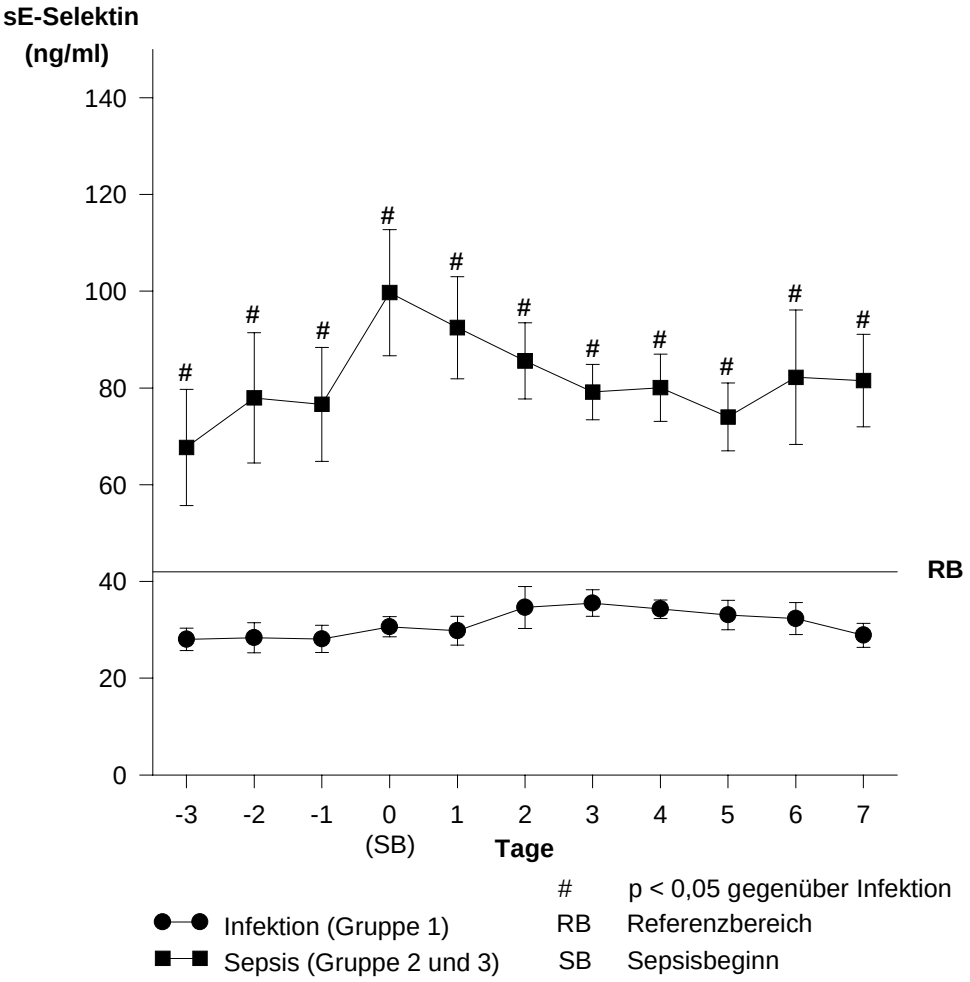


Abb. 18: sE-Selektin-Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion (x ± SEM)

Patienten mit Sepsis hatten über den gesamten Beobachtungszeitraum von 11 Tagen signifikant höhere sE-Selektin-Spiegel als Patienten ohne Sepsis. Bereits 3 Tage vor der klinischen

Sepsisdiagnose lagen die Mittelwerte von sE-Selektin aller septischen Patienten signifikant höher als die Mittelwerte der Gruppe 1 (keine Sepsis) und blieben bis zum Ende der Beobachtungszeit auf diesem Niveau. Bei Patienten mit einer Infektion ohne septische Entgleisung lagen die sE-Selektin-Spiegel im Plasma alle innerhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden.

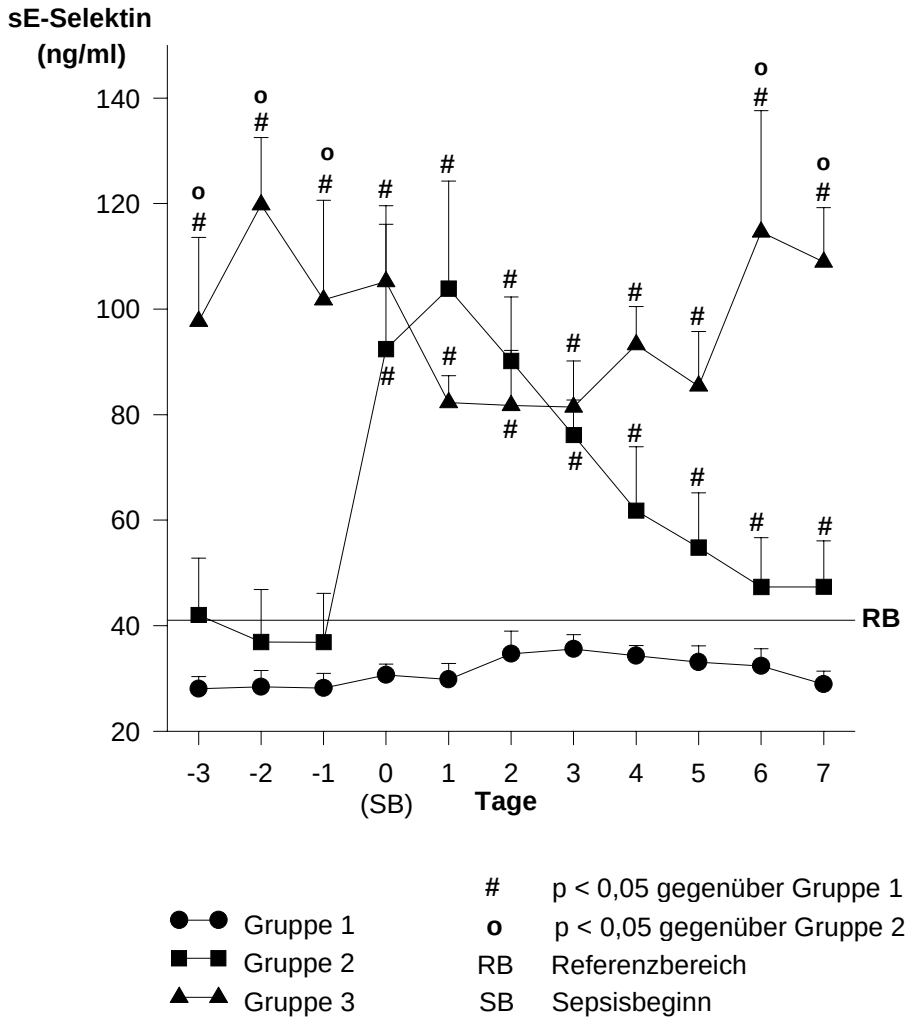


Abb. 19: sE-Selektin-Spiegel der Gruppen 1-3 (x + SEM)

Eine Differenzierung der septischen Patienten in überlebende (Gruppe 2) und verstorbene (Gruppe 3) Septiker ergab signifikante Unterschiede in den Plasmaspiegeln von sE-Selektin zwischen diesen beiden Gruppen nur an den Tagen vor dem klinischen Sepsisbeginn (Tag-3 bis Tag -1) und am 6. und 7. Tag nach Sepsisbeginn.

Die Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) hatten 3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn bereits signifikant ($p < 0,05$) höhere sE-Selektin-Spiegel als die Patienten der Gruppen 1 und 2. In

der Gruppe der verstorbenen Septiker waren die sE-Selektin-Spiegel über den gesamten Zeitraum erhöht und stiegen zum Ende der Beobachtungszeit noch weiter an.

Die Patienten der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) hatten 3 Tage vor den klinischen Sepsiszeichen noch keine erhöhten sE-Selektin-Spiegel im Plasma und unterschieden sich nicht von den Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis). Mit dem Beginn der septischen Symptomatik (Tag 0 = SB) stiegen die sE-Selektin-Spiegel dieser Gruppe signifikant an und blieben bis zum Ende der Beobachtungszeit über den sE-Selektin-Spiegeln nicht septischer Patienten.

4.4.5. Korrelation zwischen IL-6 und sE-Selektin

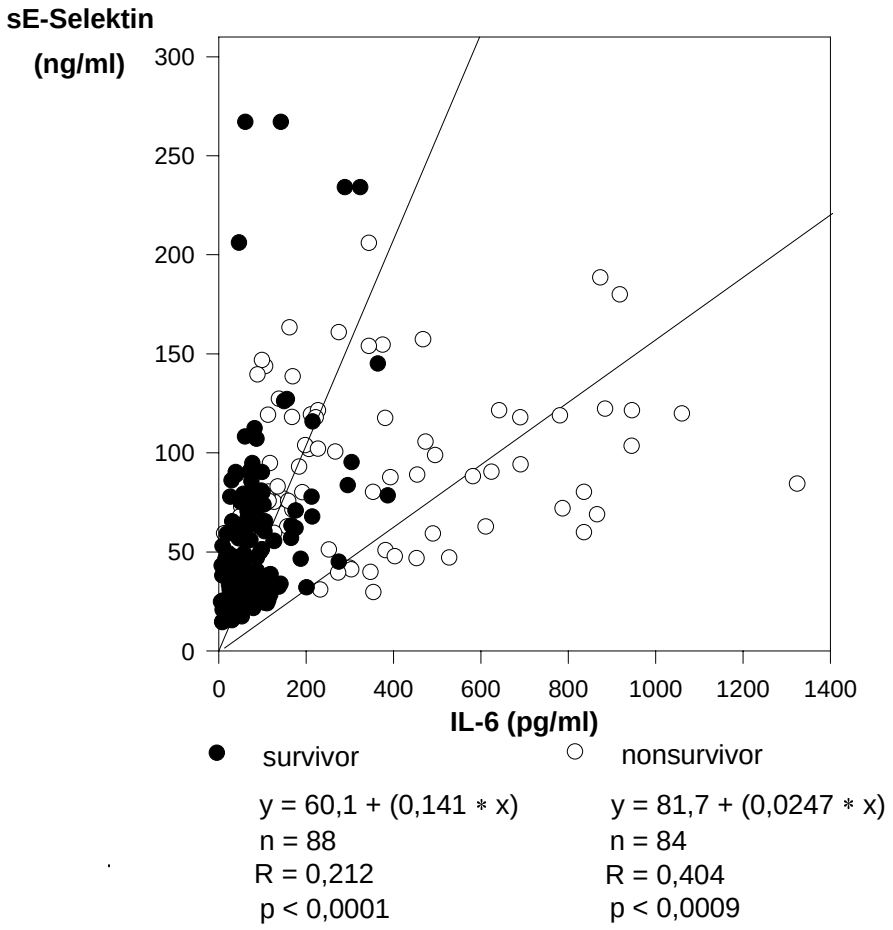


Abb. 20: Korrelation zwischen IL-6 und sE-Selektin

Die mathematische Abhängigkeit der beiden Parameter IL-6 und sE-Selektin wurde durch eine lineare Regressionsanalyse ermittelt. Die Abbildung 20 stellt die Ergebnisse dieser Analyse getrennt in überlebende und verstorbene Patienten dar.

Bei verstorbenen Septikern korrelieren die Interleukin-6-Spiegel gut mit den Plasmaspiegeln von sE-Selektin. Bei den überlebenden Patienten bestand im Gegensatz dazu eine geringere Korrelation dieser beiden Parameter. Die Korrelation war in beiden Gruppen statistisch signifikant.

5. Diskussion

TNFα als initialer Mediator der Sepsis erreicht sein Ausschüttungsmaximum in einem Zeitintervall von 45 min bis 2 h nach stattgefundenem Stimulus [6,19,37]. Die Bestimmbarkeit von TNFα-Spiegeln bei septischen Patienten hinken der Schnelligkeit der Sepsiskaskade hinterher [29,74,126]. In der vorliegenden Arbeit wurden TNFα-Konzentrationen einmal täglich bei Patienten mit Sepsis gemessen. Da der genaue Zeitpunkt der Endotoxineinschwämmung bei septischen Patienten meist unbekannt ist und sich je nach Sanierbarkeit des septischen Fokus jederzeit wiederholen kann, haben tägliche Spiegelbestimmungen von TNFα bei septischen Patienten eine eingeschränkte Aussagekraft. Es gibt keine Unterschiede zwischen den Patienten, welche die Sepsis überlebt haben und denen, die im septischen Multiorganversagen verstorben sind. Die Unterschiede zur Kontrollgruppe sind zwar statistisch signifikant, die Mittelwerte aller Gruppen liegen aber innerhalb des Referenzbereiches (40 pg/ml) für gesunde Probanden.

Hohe TNFα-Konzentrationen wurden nur im septischen Schock gemessen. Die höchsten Werte von 122,0 pg/ml bzw. 222,8 pg/ml wurden in der Gruppe der überlebenen Septiker gemessen und sind mit den Spitzenwerten der verstorbenen Septiker (159,2 pg/ml, bzw. 124,0 pg/ml) vergleichbar. Bei Patienten, die klinisch keine Sepsis hatten, wurden zu keinem Zeitpunkt vergleichbar hohe Werte gemessen.

Diese Ergebnisse decken sich mit denen von DAMAS et al. [28], die nur im septischen Schock hohe TNFα- Spiegel gemessen haben. Die Autoren fanden keine Korrelation zwischen den TNFα-Spiegeln und dem Outcome des Patienten. BORELLI et al. [19] fanden bei Patienten, die im septischen Multiorganversagen verstarben, TNFα-Spiegel die sich lediglich im oberen Normbereich von 40 pg/ml bewegten.

Bei dem vorliegenden Patientengut konnte mittels TNFα-Bestimmungen eine Differenzierung zwischen septischen und nicht septischen Patienten erfolgen. Die Höhe der TNFα-Konzentrationen korrelieren nicht mit der Prognose einer Sepsis oder der Inzidenz des Multiorganversagens.

Auf Grund der kurzen Halbwertzeit müßten TNFα-Bestimmungen bei septischen Patienten mehrmals täglich durchgeführt werden, was im täglichen Routinebetrieb nicht machbar ist. Die prognostische Wertigkeit dieses Parameters wäre auch dann anzuzweifeln, da die meisten Patienten mit Sepsis die hyperinflammatorische, schockinduzierte Phase der Sepsis durch eine aggressivere, moderne Intensivtherapie überleben, die Sterblichkeit aber in der zweiten Phase der Sepsis durch ein persistierendes Multiorganversagen, Superinfektion und weiteren Komplikationen durch die Grunderkrankung beeinflußt wird [38].

Der Zelloberflächenrezeptor **CD14** ist ein Glykoprotein, das über eine Phosphatidyl-Inositol-Brücke in der Membran von Monozyten, Makrophagen und in geringerer Zahl auch von neutrophilen Granulozyten (PMN) verankert ist [7,51]. Es ist ein hochspezifischer Marker für humane Monozyten und dient als Rezeptor für Endotoxine [134]. CD14 ist für die LPS-induzierte sekretorische Zellantwort von zentraler Bedeutung [26,62]. COUTURIER [26] und WRIGHT [134] konnten durch Blockierung mittels monoklonaler Antikörper gegen CD14 die LPS-Bindung an und die TNFα-Produktion von Makrophagen unterdrücken.

Die Funktion des von der Zelle abgelösten CD14-Moleküls ist dagegen noch unklar. Bei einigen Erkrankungen, bei denen das Immunsystem beteiligt ist, wurden höhere Spiegel sCD14 gemessen als bei gesunden Probanden [2,21,69].

Die Endothelzelle besitzt keinen CD14-Rezeptor. FREY et al. [41] konnten an isolierten Endothelzellen zeigen, daß eine Stimulation durch LPS im serumfreien System nur durch Zugabe von sCD14 auslösbar ist. Lösliches CD14 im Serum dürfte hier die Funktion des zellulären CD14 übernommen haben und so die zelluläre LPS-Antwort ermöglicht haben. Andererseits könnte sCD14 eine Pufferfunktion haben und zelluläre LPS-Effekte verhindern. LPS kann an sCD14 binden, die Zelle wird aber nicht mehr stimuliert, da sich der Komplex von der Zelle abgelöst hat [8].

Die sCD14-Spiegel der untersuchten Patienten waren alle erhöht. Man kann daraus schließen, daß bei allen Patienten ein Endotoxinkontakt, der über dem physiologischen Bereich lag, stattgefunden hatte. Alle Patienten hatten eine nachgewiesene Infektion. Patienten der Gruppe 2 und 3 (Sepsis) hatten an den ersten beiden Abnahmetagen signifikant höhere sCD14-Spiegel als die Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis). Das läßt vermuten, daß bei den Patienten, bei denen sich später eine Sepsis entwickelte, schon mehr Endotoxin und Mediatoren anwesend waren, als bei den Patienten, die eine Infektion ohne Sepsis überstanden. Die sCD14-Spiegel korrelieren nicht mit den TNFα-Spiegeln, was mit den unterschiedlichen zeitlichen Abläufen nach Endotoxinämie und mit der kurzen Halbwertzeit von TNFα erklärt werden kann.

Im Verlauf steigen die sCD14-Werte aller Gruppen gleichmäßig an, was bedeutet, daß alle Patienten an einer Infektion erkrankten. Innerhalb der Gruppe 1 traten im weiteren Verlauf der Erkrankung genauso hohe Werte (maximal 14,6 µg/ml) auf, wie in der Gruppe der verstorbenen Septiker (Gruppe 3). In dieser Gruppe wurde ein Maximalwert von 10,6 µg/ml gemessen. In der Gruppe 2 (Sepsis, survivor) betrug der Maximalwert 13,7 µg/ml. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen von BURGMANN et al [21], der sCD14 als Prognoseparameter bei grampositiver Sepsis beschreibt, lassen die hier vorliegenden Ergebnisse diese Aussage nicht zu.

Am Beginn einer Infektion sind die Plasmaspiegel von sCD14 möglicherweise als Frühparameter einer drohenden septischen Entgleisung verwendbar. Die Höhe der sCD14-Spiegel am Beginn einer Infektion können etwas über die Menge an Endotoxin und der freigesetzten Mediatoren (TNFα) aussagen. sCD14 wird nach Einwirkung von TNFα und anderer proinflammatorischer Mediatoren von den Zelloberfläche abgelöst [8,105]. Welche TNFα-Konzentrationen für diesen Prozeß notwendig sind ist nicht bekannt.

Für das Outcome nach Sepsis scheint die Höhe der Plasmaspiegel von sCD14 nicht ausschlaggebend zu sein. Ob es sich hierbei um eine Pufferwirkung des sCD14 handelt, geht aus diesen Untersuchungen nicht hervor.

Interleukin-6 wirkt synergistisch mit TNFα und Interleukin-1-β und wurde bisher als der beste Parameter für den Schweregrad einer Sepsis bezeichnet [28,94,128,136]. Auch bei vielen anderen Streßreaktionen, Trauma, OP-Streß [121], Gewebszerstörung und Verbrennung wird Interleukin-6 vermehrt ausgeschüttet [128] und führt im Organismus zu den systemischen Reaktionen wie Fieber, Tachykardie und Anstieg der Akut-Phase-Proteine im Blut.

DAMAS et al. [28] fanden bei septischen Patienten eine signifikante Korrelation zwischen den IL-6-Spiegeln und dem APACHE II-Score sowie dem Outcome der Patienten nach Sepsis.

Durch die Wirkung von IL-6 und einer direkten Endotoxinwirkung werden auf der Oberfläche von Endothelzellen die Exprimierung von Adhäsionsmolekülen sowie die Ausschüttung von weiteren lokalen Entzündungsmediatoren (NO, freie Sauerstoff - Radikale, Proteasen) angeregt [97,133].

Bei den untersuchten Patienten lagen die IL-6-Spiegel aller Gruppen über den gesamten Beobachtungszeitraum oberhalb des Referenzbereiches von < 48 pg/ml für gesunde Probanden. Auch die Patienten der Gruppe 1 (Infektion), die zu keinem Zeitpunkt Zeichen einer Sepsis hatten (MOF-Score < 4) wiesen während des Aufenthaltes auf der Intensivstation leicht erhöhte Plasmaspiegel von IL-6 auf. Die erhöhten Interleukin-6-Werte sind Ausdruck der abgelaufenen Traumatisierung (Blutung und Gewebszerstörung) und reflektieren die Auseinandersetzung des Organismus mit Trauma und Infektion.

Die Interleukin-6-Spiegel korrelieren mit dem Outcome des Patienten und mit der Zahl postoperativer Komplikationen [28,90]. Sie sind Ausdruck der inflammatorischen Antwort des Organismus auf den septischen Stimulus. Gleichzeitig aber auch als unspezifischer Marker auf chirurgischen Streß [121], Gewebszerstörung und Blutung. Bei Patienten nach Trauma oder großen Operationen (Gruppe 1), die keine Sepsis entwickelten, wurden vereinzelt genauso hohe Werte (max. 141,6 pg/ml) gemessen wie in der Gruppe 2 (Sepsis, survivor). In der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) waren bereits 3 Tage vor dem Auftreten der klinischen Sepsissymptome die IL-6-Spiegel hoch pathologisch (Maximalwert von 645 pg/ml). Hier sind sie Ausdruck des bereits eingetretenen Organdysfunktion, die sich nicht mehr erholen konnte und im septischen Organversagen endete.

Diese Ergebnisse decken sich nur zum Teil mit denen von MARECAUX et al. [74]. Sie fanden ebenfalls eine gute Korrelation zwischen hohen IL-6-Spiegeln und schlechtem Outcome des Patienten. Hinsichtlich der Aussage über TNFα-Spiegel bei septischen Patienten fanden sie ebenfalls eine Korrelation zwischen der Höhe des TNFα-Spiegels und schlechtem Outcome einer Sepsis. Die Ergebnisse von MARECAUX et al. [74] sind mit denen in dieser Arbeit gemessenen Werten nicht direkt vergleichbar, da eine andere Bestimmungsmethode für TNFα verwendet wurde.

Das Gefäßendothel spielt unter physiologischen Bedingungen eine zentrale Rolle für die Regulation der transkapillären Permeabilität, für antithrombogene und immunologische Prozesse sowie für die Modulation von Organfunktionen durch Freisetzung biologisch aktiver Stoffe [97]. Die Zerstörung der endothelialen Barrierefunktion während des septischen Geschehens ist für die spezifischen Zell-Zell-Interaktionen zwischen Leukozyten und Endothelzellen und für die endotheliale Freisetzung potenter Mediatoren ursächlich verantwortlich [3,39,60,111,135]. Eine Schädigung der Gefäßwand bei schwerer Sepsis führt in der Endkonsequenz zum Kapillarleck und zum unkontrollierten Eiweißverlust in das Gewebe. Dieser Mechanismus führt zu lokalen Ödemen und Zellschädigungen vor allem in den parenchymatösen Organen wie Lunge, Leber, Niere und in der Darmwand.

Durch Zytokineinwirkung kommt es auf der Oberfläche von Leukozyten und Endothelzellen zur Expression von Adhäsionsmolekülen, vor allem ICAM-1 und E-Selektin. Durch sie wird die Adhäsion von Neutrophilen und anderen zirkulierenden Blutzellen am Gefäßendothel vermittelt. Es kommt zur Verlangsamung der Fließrate der zirkulierenden Leukozyten, zum Anheften an der Gefäßwand und zur Migration der Leukozyten in das umliegende Gewebe. Diese transendotheliale Passage ist eine Funktion der Gefäßwand und ist bei jeder Entzündungsreaktion Voraussetzung für das „Auswandern“ der Leukozyten an den Ort der Entzündung.

Tierexperimentelle Studien konnten den direkten Einfluß hoher Spiegel verschiedener proinflammatorischer Mediatoren, wie TNFα, IL-1β [132], IL-6 und Interferon γ [112], auf die Exprimierung von ICAM-1, VCAM-1 und E-Selektin nachweisen [110].

Die Funktion der zirkulierenden Isoformen der untersuchten Adhäsionsmoleküle ist noch nicht klar definiert worden. **sE-Selektin** wurde nur am aktiviertem Endothel gefunden und soll biologisch in aktiver Form vorliegen [45]. Lösliches E-Selektin bindet spezifisch an den sLeX-Rezeptor neutrophiler Granulozyten, an den normalerweise das membrangebundene E-Selektin bindet [92] und könnte somit eine weitere Adhäsion dieser Leukozyten an das Endothel verhindern [27,72].

sICAM-1 ist ebenfalls biologisch aktiv und bindet an LFA-1 (CD11b/CD18). Es scheint nach ROTHLEIN [101] möglich zu sein, daß zirkulierendes ICAM-1 die Zelladhäsion durch Bindung an den Rezeptor verhindert.

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, daß sich die Spiegel der zirkulierenden Adhäsionsmoleküle (sICAM-1 und sE-Selektin) bei Intensivpatienten mit einer Infektion ohne Zeichen eines septischen Organversagens nicht von den Werten gesunder Probanden unterscheiden. Es kann daraus geschlußfolgert werden, daß es bei diesen Patienten trotz erhöhter Interleukin-6-Spiegel zu keiner Schädigung des Endothels gekommen ist. Die klinischen Daten dieser Patienten belegen, daß während der intensivmedizinischen Behandlung keine Zeichen einer Sepsis oder Organdysfunktion aufgetreten waren.

Die Arbeiten von COWLEY et al. [27] und BOLDT et al. [14] fanden ähnliche Ergebnisse im Vergleich zwischen Patienten mit Sepsis und unkompliziertem SIRS bzw. Trauma.

sICAM-1 spielt bei der T-Zellaktivierung eine entscheidende Rolle [80]. Es ist ein Marker für die Leukozytenaktivierung [130] nach Trauma, Schock und Sepsis, korreliert aber nicht mit dem Outcome einer Sepsis.

In einer Arbeit von KAYAL et al. [61] wurde bei Patienten mit ARDS und Sepsis eine gute Korrelation zwischen anhaltend hohen sICAM-1-Spiegeln und der Inzidenz des Lungenversagens gefunden [61].

Die Plasmaspiegel von sICAM-1 lagen bei Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) im gesamten Beobachtungszeitraum von 11 Tagen über denen der Gruppe 2 (Sepsis, survivor). Der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen war statistisch nicht signifikant.

Im weiteren Verlauf der Sepsis stiegen die Plasmaspiegel von sICAM-1 bei verstorbenen Septikern deutlich an. Im Gegensatz dazu blieben die Plasmaspiegel sICAM-1 bei Patienten, die die Sepsis überlebt haben unter denen der Verstorbenen.

Bei den Patienten, welche die Infektion ohne septische Entgleisungen überstanden haben, lagen die sICAM-1-Spiegel unterhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden. Signifikante Unterschiede in Vergleich septischer und nicht septischer Patienten traten nur zu den Patienten auf, die an der Sepsis verstorben sind (vgl. Abb. 17). In der Gruppe der überlebenden Septiker (Gruppe 2) wurden zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede in den Plasmaspiegel von sICAM-1 im Vergleich zu nicht septischen Patienten der Gruppe 1 gemessen.

Bei dem hier untersuchten Patientengut läßt sich anhand der sICAM-1-Spiegel keine Unterteilung in überlebende oder verstorbene Septiker machen. Eine Aussage über die Prognose einer Sepsis ist anhand dieses Parameters schlecht möglich. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von KÜSTER und DEGITZ [70], welche bei der neonatalen Sepsis vergleichbare Werte gemessen haben. Es werden aber keine Aussagen zum Outcome gemacht.

Bei Patienten mit schwerer Sepsis und letalem Ausgang (Gruppe 3) lagen die Plasmaspiegel von sE-Selektin 3 Tage vor klinischem Sepsisbeginn bereits deutlich im pathologischen Bereich. Sie sind Ausdruck der bereits stattgefundenen Endothelschädigung. Die klinischen Sepsiszeichen, wie

Hypotension und Organdysfunktion hinken diesen auf der Ebene der Mikrozirkulation stattfindenden Veränderungen um 2 bis 3 Tage hinterher. Die Spiegel von sE-Selektin bei verstorbenen Septikern unterschieden sich an diesen 3 Tagen signifikant von den Spiegeln der Patienten, welche die Sepsis überlebt haben und von den Patienten ohne Sepsis.

Signifikant erhöhte sE-Selektin-Spiegel, die auf diesem hohen Niveau bleiben, scheinen eine schlechte Prognose für den Patienten zu signalisieren. Klinisch bedeutet dieses, daß der Sepsisherd nicht eliminiert werden konnte und der septische Prozeß in ein Multiorganversagen führt, das mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht mehr aufzuhalten ist.

Mit Hilfe dieses biochemischen Markers könnten rechtzeitig die Patienten identifiziert werden, bei denen auf der Ebene der Mikrozirkulation schon eine Endothelaktivierung abgelaufen ist und die mit hoher Wahrscheinlichkeit an der drohenden Sepsis versterben werden.

sE-Selektin sollte als Verlaufsparameter verwendet werden, um die Patienten frühzeitig zu identifizieren, bei denen eine alternative Sepsistherapie im Rahmen einer Therapiestudie sinnvoll erscheint, da sie ein sehr hohes Risiko haben, an der Sepsis zu versterben.

Interleukin-6 wird neben aktivierten Monozyten auch von Endothelzellen freigesetzt [55,121]. Bei der Aktivierung des Immunsystems durch mikrobielle Krankheitserreger, durch Streß oder Trauma ist eine gewisse Interleukin-6-Ausschüttung essentiell notwendig für das Überstehen dieser Invasion [47]. Interleukin-6 wird einerseits von der Endothelzelle produziert, andererseits bewirkt es die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Endothelzellmembran [27,112].

Bei hohen Interleukin-6-Spiegeln ist an gleichzeitig erhöhten Plasmaspiegeln von sE-Selektin eine bereits eingetretene Endothelschädigung zu erkennen. Alle Patienten mit sehr hohen IL-6-Spiegeln und gleichzeitig hohen sE-Selektin-Spiegeln verstarben im Multiorganversagen. Bei diesen Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) wurde eine signifikante Korrelation zwischen den IL-6- und sE-Selektin-Spiegeln ($p<0,05$) gefunden. Der Korrelationskoeffizienten war mit $R = 0,41$ deutlich höher als der Korrelationskoeffizienten in der Gruppe der überlebenden Patienten ($R = 0,2$).

Die Bestimmung von Interleukin-6 und sE-Selektin erfolgte in einer Probe, d.h. zum selben Zeitpunkt. Es ist zu vermuten, das Unterschiede in den Halbwertzeiten und Ausschüttungsmaxima beider Mediatoren dazu führen, daß die tatsächlichen maximalen Spitzenspiegel beider Parameter nicht zum selben Zeitpunkt gemessen werden können.

Zwischen den Interleukin-6- und sICAM-1-Spiegeln bestand keine Korrelation, sowie auch nicht zwischen den IL-6- und TNFα-Spiegeln.

Alle Patienten hatten am Aufnahmetag (3 Tage vor dem klinischen Sepsisbeginn) Zeichen eines SIRS mit Leukozytose, Tachykardie und Temperaturerhöhungen. Etwa 30 % dieser Patienten hatten zu diesem Zeitpunkt schon eine Aktivierung des Endothels bei fehlenden klinischen Zeichen einer Organdysfunktion.

Die Plasmaspiegel von sE-Selektin scheinen gut mit dem MOF-Score übereinzustimmen. Am dritten Beobachtungstag, bereits 24 h vor der klinischen Diagnosestellung Sepsis, hatten alle Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) einen MOF-Score > 6 und stiegen im weiteren Verlauf kontinuierlich an. Dieser Anstieg war statistisch signifikant ($p<0,05$). Die Diagnose Multiorganversagen wurde bei diesen Patienten 24 h vor der Diagnose Sepsis gestellt. Diese Konstellation scheint ein ungünstiges Zeichen für die Prognose einer Sepsis.

Die erhaltenen Ergebnisse führen zu folgenden Schlußfolgerungen:

1) TNFα ist als Prognoseparameter für das septische Geschehen nicht verwendbar. Er ist nur im septischen Schock erhöht und korreliert nicht mit dem Outcome.

2) sCD14 ist als Frühparameter für die Sepsisdiagnose nur bedingt verwendbar. Ein Anstieg des sCD14 signalisiert den Endotoxinkontakt und damit eine stattgefundene bakterielle Infektion. Eine Sepsisprognose anhand des sCD14-Spiegels ist nicht möglich. Inwiefern eine Aussage über eine mögliche Sepsisgefährdung des Patienten anhand hoher sCD14-Spiegel am Aufnahmetag gemacht werden kann, müßte an einem größeren Patientengut untersucht werden.

3) Interleukin-6 ist ein relativ guter Sepsismarker. Er ist aber auch nach chirurgischem Streß erhöht. Die Höhe der IL-6-Spiegel korrelieren mit postoperativen Komplikationen. In Kombination mit den Plasmaspiegeln von sE-Selektin ist eine Prognose der Sepsis möglich. Es besteht ein signifikanter Unterschied in den Plasmaspiegeln von IL-6 zwischen septischen und nicht septischen Patienten und zwischen überlebenden und verstorbenen Septikern.

4) sICAM-1 ist ein unspezifischer Marker für die Leukozytenaktivierung. Die Vorhersage und Prognose einer Sepsis ist anhand der sICAM-1-Spiegel alleine nicht möglich. Bei Patienten mit Sepsis sind die Plasmaspiegel alle erhöht. Ein signifikanter Unterschied zwischen verstorbenen und überlebenden Septikern besteht nicht.

5) sE-Selektin ist ein spezifischer Marker für die Endothelschädigung bei der Sepsis. Für die frühzeitige Vorhersage und Prognose einer Sepsis, noch vor der klinischen Sepsisdiagnose scheint er ein sehr guter Parameter zu sein. Die verstorbenen Patienten hatten signifikant höhere sE-Selektin-Spiegel als die überlebenden Patienten. Bei verstorbenen Septikern besteht eine gute Korrelation zwischen den IL-6- und den sE-Selektin-Spiegeln.

6. Zusammenfassung

In einer prospektiven Studie wurden bei 28 kritisch kranken Patienten einer interdisziplinären Intensivstation die Plasmaspiegel von TNFα, sCD14, Interleukin-6 (IL-6), sICAM-1 und sE-Selektin gemessen.

Ziel der Studie war es, die genannten Parameter in ihrer Wertigkeit als Frühparameter der Sepsis zu untersuchen.

Bei allen Patienten wurde vom Aufnahmetag an über einen Beobachtungszeitraum von 11 Tagen täglich morgens 7.00 Uhr 10 ml EDTA-Blut entnommen, kühlzentrifugiert und bis zur Bearbeitung bei -35 °C eingefroren. Die Plasmaspiegel der Parameter TNFα, IL-6, sCD14, sICAM-1 und sE-Selektin wurden mittels ELISA-Testkits bestimmt.

Referenzbereiche: TNFα: 0 - 40 pg/ml, IL-6: 0 - 48 pg/ml, sCD14: 1,4 - 4,4 µg/ml, sICAM-1: 229 - 410 ng/ml, sE-Selektin: 9 - 42 ng/ml

Die Patienten wurde retrospektiv in 3 Gruppen eingeteilt:

- **Gruppe 1:** Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum keine Sepsis entwickelten. Alle Patienten dieser Gruppe überlebten,
- **Gruppe 2:** Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum eine Sepsis mit Organdysfunktion entwickelt haben und überlebten,
- **Gruppe 3:** Patienten mit einer mikrobiellen Infektion, die im Beobachtungszeitraum eine schwere Sepsis mit Organdysfunktion entwickelt haben und im septischen Multiorganversagen verstorben sind.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. In allen 3 Gruppen lagen die Mittelwerte von **TNF**α unterhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden. Bei septischen Patienten waren TNFα-Spiegel signifikant höher als bei Patienten ohne Sepsis. Als Prognoseparameter für das septische Geschehen ist der TNFα-Spiegel auf Grund der kurzen Halbwertzeit nicht verwendbar. Pathologisch hohe Spiegel wurden nur im septischen Schock gemessen und korrelierten nicht mit dem Outcome nach Sepsis.

2. Erhöhte **sCD14-**Spiegel signalisieren den stattgefundenen Endotoxinkontakt und damit die mikrobielle Infektion. Die sCD14-Spiegel septischer Patienten waren an den beiden ersten Beobachtungstagen signifikant höher als die Spiegel nicht septischer Patienten. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede in den Plasmaspiegeln von sCD14 zwischen überlebenden und

verstorbenen Septikern. Eine Prognose der Sepsis ist an Hand der sCD14-Spiegel nicht möglich. Eine Frühdiagnose der Sepsis bei kritisch Kranken (Patienten mit SIRS) vor den klinischen Zeichen einer Sepsis scheint an Hand erhöhter sCD14-Spiegel möglich zu sein. Nachfolgende Untersuchungen an einem größeren Patientengut sind dazu notwendig.

3. Bei den Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis) lagen die **Interleukin-6**-Spiegel an allen Tagen des Beobachtungszeitraumes leicht erhöht oberhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden (48 pg/ml). Patienten mit Sepsis hatten signifikant höhere IL-6-Spiegel als Patienten ohne Sepsis. Bei Patienten, die an der Sepsis verstorben sind, lagen die Plasmaspiegel von IL-6 schon am Beginn des Beobachtungszeitraumes (3 Tage vor der klinischen Sepsisdiagnose) signifikant höher als die IL-6-Spiegel der überlebenden Septiker. IL-6 ist ein relativ guter Sepsismarker. In Kombination mit den Plasmaspiegeln von sE-Selektin ist eine Aussage zum Schweregrad und zur Prognose einer Sepsis möglich.

4. Bei den Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis) lagen die Spiegel des löslichen Adhäsionsmoleküls **sICAM-1** unterhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden (410 ng/ml). Bei allen septischen Patienten wurden pathologisch erhöhte Plasmaspiegel von sICAM-1 gemessen. Signifikante Unterschiede in den Plasmaspiegeln von sICAM-1 zwischen der Gruppe der septischen und nicht septischen Patienten finden sich nur bei den Patienten, die im septischen Multiorganversagen verstorben sind. sICAM-1 kann frühzeitig eine überschießende Leukozytenaktivierung anzeigen und damit eine mögliche Sepsisgefährdung. Die Höhe der sICAM-1-Spiegel korrelieren nicht mit dem Outcome einer Sepsis.

5. Bei den Patienten der Gruppe 1 (keine Sepsis) lagen die Spiegel des löslichen Adhäsionsmoleküls **sE-Selektin** innerhalb des Referenzbereiches für gesunde Probanden. Septische Patienten hatten signifikant höhere sE-Selektin-Spiegel. Die Patienten der Gruppe 3 (Sepsis, nonsurvivor) hatten schon 3 Tage vor der klinischen Sepsisdiagnose deutlich höhere sE-Selektin-Spiegel als die Patienten, die die Sepsis überlebt haben. sE-Selektin ist ein spezifischer Marker für die Endothelzerstörung durch die septisch bedingte Mediatorenfreisetzung. Signifikant erhöhte Spiegel können frühzeitig eine mögliche Sepsis anzeigen und korrelieren mit dem Outcome des Patienten nach einer schweren Sepsis.

Literaturverzeichnis

[1] Adams DH, Shaw S
Leukocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration
Lancet 343 (1993), 831-836

[2] Anker SD, Egerer K, Volk HD, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJS
Elevated soluble CD14 receptors and alternate cytokines in chronic heart failure
Am J Cardiol 79 (1997), 1426-1430

[3] Bardenheuer HJ
Endothelial dysfunction during sepsis
in Hartenauer U (ed.)
Sepsis in der Frühphase
München MMV Medizin Verlag (1995), 39-48

[4] Barton R, Cerra FB
The hypermetabolism. Multiple organ failure syndrom
CHEST 96 (1989), 1153-1160.

[5] Barton WW, Wilcoxen S, Christensen JP, Paine R
Disparate cytokine regulation of ICAM-1 in rat alveolar epithel cells and pulmonary endothelial cells in vitro
Am J Physiol 169 (1997), 127-135

[6] Baxter F
Septic Schock
Can J Anaesth 44 (1997), 59-72

[7] Bazil V, Baudys M, Hilgert I, Stefanova I, Low MG, Zbrozek J, Horejsi V
Structural relationship between the soluble and membrane-bound forms of human monocyte surface glucoprotein CD 14
Mol Immunol 26 (1989), 657-662

[8] Bazil V, Strominger JL
Shedding as a mechanism of downmodulation of CD 14 on stimulated monocytes
J Immunol 147 (1991), 1567-1574

[9] Beasley D, Cohen RA, Levinsky NG
Interleukin-1 inhibits contraction of vascular smooth muscle
J Clin Invest 83 (1989), 331-335

[10] Bernardin G, Pradier C, Tiger F, Deloffre P, Mattei M
Blood pressure and arterial lactate level are early indicators of short-term survival in human septic shock
Intensiv Care Med 22 (1996), 17-25

[11] Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA
Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule
PNAS 84 (1987), 9238-9242

[12] Bihari D, Smithies M, Gimson A, Tinker J
The effects of vasodilatation with prostacyclin on oxygen delivery and uptake in critical ill patients
N Engl J Med 317 (1987), 397-403

[13] Bochner BS, Luscinskas FW, Gimbrone MA Jr., Newman W, Sterbinsky SA, Derse-Anthony

CP, Klunk D, Schleimer RP
Adhesion of human basophils, eosinophils, and neutrophils to interleukin 1-activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules
J Exp Med 173 (1991), 1553-1557

[14] Boldt J, Müller M, Kuhn D, Linke LC, Hempelmann G
Circulating adhesion molecules in the critically ill: A comparison between trauma and sepsis patients
Intensiv Care Med 22 (1996), 122-128

[15] Bone RC
Sepsis, the sepsis syndrome, multi-organ failure: A plea for comparable definitions
Ann Intern Med 114 (1991), 332-333

[16] Bone RC
Let`s agree on terminology: Definition of sepsis
Crit Care Med 19 (1991), 973-976

[17] Bone RC
Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS
Crit Care Med 24 (1996), 1125-1128

[18] Bone RC
Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation
Crit Care Med 24 (1996), 163-172

[19] Borelli E, Roux-Lombard P, Grau GE, Girardin E, Ricou B, Dayer JM, Suter PM
Plasma concentration of cytokines, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk
Crit Care Med 24 (1996), 392-397

[20] Braquet P, Hosford D, Braquet M, Bourgain R, Bussolino F
Role of cytokines and platelet-activating factor in microvascular immune injury
Int Arch Allergy Appl Immunol 88 (1989), 88-100

[21] Burgmann H, Winkler S, Locker GJ, Presteri E, Laczika K, Staudinger T, Knapp S, Thalhammer F, Wenisch C, Zedwitz-Liebenstein K, Frass M, Graninger W
Increased serum concentration of soluble CD14 is a prognostic marker in grampositive sepsis
Clin Immunol Immunpathol 80 (1996), 307-310

[22] Campanero MR, Pulido R, Alonso JL, Pivel JP, Pimentel-Muinos FX, Fresno M, Sanchez-Madrid F
Down-regulation by tumor necrosis factor-alpha of neutrophil cell surface expression of the sialophorin CD43 and the hyaluronate receptor CD44 through a proteolytic mechanism
Eur J Immunol 21 (1991), 3045-3048

[23] Carson CW, Beall LD, Hunder GG, Johnson CM, Newman W
Serum ELAM-1 is increased in vasculitis, scleroderma, and systemic lupus erythematosus
J Rheumatol 20 (1993), 809-820

[24] Cerra FB, Mazuski JE, Bankey PE, Billiar TR, Holman RT
Role of monokines in altering hepatic metabolism in sepsis

Prog Clin Biol Res 286 (1989), 265-277

[25] Christmann JW
Potential treatment of sepsis syndrom with cytokine-specific agents
CHEST 102 (1992), 613-617

[26] Couturier C, Haeffner-Cavaillon N, Caroff M, Kazatchkine M
Binding sites for Endotoxin (Lipopolysaccharides) on human monocytes
J Immunol 147 (1991), 1899-1904

[27] Cowley HC, Heney D, Gearing AJH, Hemingway I, Webster NR
Increased circulating adhesion molecule concentrations in patients with systemic inflammatory response syndrom: A prospective cohort study
Crit Care Med 22 (1994), 651-657

[28] Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, de Groote D, Franchimont P, Lamy M
Cytokine serum level during severe sepsis in human, IL-6 as a marker of severity
Ann Surg 215 (1991), 356-362

[29] Damas P, Reuter A, Gysen P, Demonty J, Lamy M, Franchimont P
Tumor necrosis factor-alpha and Interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans
Crit Care Med 17 (1989), 975-978

[30] de Boer OJ, Wakelkamp IM, Pals ST, Claessen N, Bos JD, Das PK
Increased expression of adhesion receptors in both lesional and non-lesional psoriatic skin
Arch Dermatol Res 286 (1994), 304-311

[31] de Caterina R, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA Jr, Libby P
The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells
Arterioscler Thromb 14 (1994), 1829-1836

[32] del Pozo MA, Pulido R, Munoz C, Alvarez V, Humbria A, Campanero MR, Sanchez-Madrid F
Regulation of ICAM-3 (CD50) membrane expression on human neutrophils through a proteolytic shedding mechanism
Eur J Immunol 24 (1994), 2586-2594

[33] Döcke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, Volk HD, Kox WJ
Monocyte deactivation in septic patient: Restoration by IFN-gamma treatment
Nat Med 6 (1997), 678-681

[34] Duswald KH, Jochum M, Schramm W, Fritz H
Released granulocytic elastase: an indicator of pathobiochemical alterations in septicemia after abdominal surgery
Surgery 98 (1985), 892-899

[35] Egerer K, Rohr U, Krausch D, Kox WJ
Die zirkulierenden Adhäsionsmoleküle sICAM und sE-Selektin bei Patienten mit Sepsis
Anaesthesist 46 (1997), 592-598

[36] Enayati P, Brennan MF, Fong Y
Systemic and liver cytokine activation. Implications for liver regeneration and posthepatectomy endotoxemia and sepsis
Arch Surg 129 (1994), 1159-1164

[37] Engelberts I, Möller A, Leeuwenberg JFM, van der Linden CJ, Buurman WA
Administration of tumor necrosis factor a (TNFa) inhibitors after exposure to TNFa prevents development of the maximal biological effect: An argument for clinical treatment with TNFa-inhibitors
J Surg Res 53 (1992), 510-514

[38] Faist E, Storck M
Suppression der zellvermittelten Immunität nach Brand -und Mehrfachverletzungen
Intensivmedizin 26 (1989), 102-110

[39] Firestein GS, Bullough DA, Erion MD, Jimenez R, Ramirez-Weinhouse M, Barankiewicz J, Smith CW, Gruber HE, Mullane KM
Inhibition of the neutrophil adhesion by adenosine and an adenosine kinase inhibitor. The role of selectine
J Immunol 154 (1995), 326-334

[40] Fisher CJ, Opal SM
Role of interleukin-1 and the therapeutic potential of interleukin-1 receptor antagonists in sepsis
Circ Shock 44 (1994), 1-8

[41] Frey EA, Miller DS, Jahr TG, Sundan A, Bazil V, Espevik T, Finlay BB, Wright SD
Soluble CD 14 participates in the response of cells to Lipopolysaccharide
J Exp Med 176 (1992), 1665-1671

[42] Fries JW, Williams AJ, Atkins RC, Newman W, Lipscomb MF, Collins T
Expression of VCAM-1 and E-selectin in an in vivo model of endothelial activation
Am J Pathol 143 (1993), 725-737

[43] Gamble JR, Skinner MP, Berndt MC, Vadas MA
Prevention of activated neutrophil adhesion to endothelium by soluble adhesion protein GMP140
Science 249 (1990), 414-417

[44] Gawaz M, Dickfeld T, Bogner C, Fateh-Moghadam S, Neumann FJ
Platelet function in septic multiple organ dysfunction syndrome
Intensiv Care Med 23 (1997), 379-385

[45] Gearing AJH, Newman W
Circulating adhesion molecules in disease
Immunol Today 14 (1993), 506-512

[46] Geiger K
Frühparameter für Multiorgandysfunktionssyndrom
in Hartenauer U (ed.)
Sepsis in der Frühphase
München MMV Medizin Verlag (1995), 19-25

[47] Gennari R, Alexander JW, Pyles T, Hartmann S, Ogle CK
Effects of antimurine interleukin-6 on bacterial translokation during gut-derived sepsis
Arch Surg 129 (1994), 1191-1197

[48] Goris RI, Bockhorst TP, Nuytinck JKS

Mulitiple organ failure
Arch Surg 120 (1985), 1109-1115

[49] Goris RI, Bockhorst TP, Nuytinck JKS, Gimbere JSF
Multiple organ failure. Generalized autodestructive inflammation ?
Arch Surg 120 (1985), 1109-1115

[50] Gosset P, Tillie-Leblond I, Janin A, Marquette CH, Copin MC, Wallaert B, Tonnel AB
Expression of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 on bronchial biopsies from allergic and non-allergic asthmatic patients
Int Arch Allergy Immunol 106(1). (1995) :69-77.

[51] Goyert SM, Ferrero E, Seremetis SV, Winchester RJ, Silver J, Mattison AC
Biochemistry and expression of myelomonocytic antigens
J Immunol 137 (1986), 3909-3917

[52] Granowitz EV, Santos AA, Poutsiaka DD, Cannon JG, Wilmore DW, Wolff SM, Dinarello CA
Production of interleukin-1-receptor antagonist during experimental endotoxaemia
Lancet 338 (1991), 1423-1424

[53] Green RM, Whiting JF, Rosenbluth AB, Beier D, Gollan JL
Interleukin-6 inhibits hepatocyte taurocholate uptake and sodium-potassium-adenosinetriphosphatase activity
Am J Physiol 167 (1994), 1094-1100

[54] Gurtner GC, Davis V, Li H, McCoy MJ, Sharpe A, Cybulsky MI
Targeted disruption of the murine VCAM1 gene: essential role of VCAM-1 in chorioallantoic fusion and placentation
Genes Dev 9 (1995), 1-14

[55] Hack CE, de Groot ER, Felt-Bersma RJ, Nuijens JH, Strack-van-Schijndel RJ, Thijs LG, Aarden LA
Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis
Blood 74 (1989), 1704-1710

[56] Hall GM, Desborough JP
Interleukin-6 and the metabolic response to surgery
Brit J Anaesth 69 (1992), 337-338

[57] Haziot A, Chen E, Ferrero E, Low MG, Silver J, Goyert SM
The monocyte differentiation antigen CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidyl - inositol linkage
J Immunol 141 (1988), 547-552

[58] Heffner JE
Platelet-neutrophil interactions in sepsis - platelet guilt by association ?
Intensiv Care Med 23 (1997), 366-368

[59] Heinrich PC, Castell JV, Andus T
Interleukin-6 and the acute phase response
Biochem Journal 265 (1990), 621-636

[60] Hinshaw LB
Sepsis/septic shock: Participation of the microcircualtion: An abbreviated reveiw
Crit Care Med 24 (1996), 1072-1078

[61] Kayal S, Guerot E, Rezgui MN, Aissa F, Simonet M, Labrousse J
Elevated levels of circulating ICAM-1 and E-Selectin in the plasma of patients with severe sepsis syndrom
Intensiv Care Med 20 (1994), 26

[62] Kirkland TN, Finley F, Lecturcq D, Moriaty A, Lee JD, Ulevitch RJ, Tobias PC
Analysis of Lipopolysaccharide binding by CD 14
J Biol Chem 268 (1993), 818-823

[63] Kjell O, Björk P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompsen RC
Interleukin-1 receptor antagonist reduced mortality from endotoxin shock.
Nature 348 (1990), 550-552

[64] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmermann JE
Prognosis in acute organ-system failure
Ann Surg 202 (1985), 658-693

[65] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmermann JE
APACHE II: A severity of disease classification system
Crit Care Med 13 (1985), 818-829

[66] Kojima N, Handa K, Newman W, Hakomori S
Inhibition of selectin-dependent tumor cell adhesion to endothelial cells and platelets by blocking O-glycosylation of these cells
Biochem Biophys Res Comm 182 (1992), 1288-1295

[67] Kolb E
Some recent facts on the function of macrophages and their modification
Z Ges Inn Med 44 (1989), 101-105

[68] Kox WJ, Bone RC, Krausch D, Döcke WD, Kox SN, Wauer H, Egerer K, Querner S, Asadullah K, von Baehr R, Volk HD
Interferon gamma-1b in the treatment of compensatory anti-inflammatory response syndrom. A new approach: proof of principle
Arch Intern Med 157 (1997), 389-393

[69] Krüger C, Schütt C, Obertacke U, Joka T, Müller EF, Knöller J, Knöller M, König W, Schönfeld W
Serum CD 14 levels in polytraumatized and severely burned patients
Clin Exp Immunol 85 (1991), 297-301

[70] Küster R, Degitz K
Circulaitng ICAM in neonatal sepsis
Lancet 341 (1993), 506

[71] Liao F, Huynh HK, Eiroa A, Greene T, Polizzi E, Muller WA
Migration of monocytes across endothelium and passage through extracellular matrix involve seperate molecular domains of PECAM
J Exp Med 182 (1995), 1337-1343

[72] Lobb R, Chi-Rosso G, Leone DR
Expression and functional characterization of a soluble form of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1

J Immunol 147 (1991), 124-129

[73] Mandi Y, Farkas G, Ocsovszky I, Nagy Z
Inhibition of tumor necrosis factor production and ICAM-1 expression by pentoxifylline; beneficial effects in sepsis syndrom
Res Exp Med 195 (1995), 297-307

[74] Marecaux G, Pinsky MR, Dupont E, Kahn RJ, Vincent JL
Blood lactate levels are better prognostic indicators than TNF and IL-6 levels in patients with septic shock
Intensiv Care Med 22 (1996), 404-408

[75] Marik PE
Gastric intramucosal pH. A better predictor of multiorgan dysfuction syndrom and death than oxygen derived variables in patients with sepsis
CHEST 104 (1993), 225-229

[76] Markus BH, Blaheta R, Scholz M
Die Immunologie der Endothelzelle und ihre Bedeutung für die Organtransplantation
Aspekte 1 (1995), 19-23

[77] Massignon D, Lepape A, Bienvenu J, Barbier Y, Boileau C, Coeur P
Coagulation/fibrinolysis balance in septic shock related to cytokines and clinical state
Haemostasis 24 (1994), 36-48

[78] Meakins JL
Prädisponierende Faktoren und körpereigene Abwehr bei Sepsis und septischem Schock.
in Reinhart K and Eyrich K (eds.)
Sepsis
Berlin Heidelberg New-York, Springer-Verlag (1989), 135-148

[79] Members of the American College of Chest Physicans/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee
Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis
CHEST 101 (1992), 1644-1655

[80] Mesri M, Liversidge J, Forrester JV
ICAM-1/LFA-1 interactions in T-lymphocyte activation and adhesion to cells of the blood-retina barrier
Immunology 83 (1994), 52-57

[81] Moldaver LL
Biology of pro-inflammatory cytokines and their antagonists
Crit Care Med 22 (1994), 3-7

[82] Mullen PG, Fisher BJ, Walsh CJ, Susskind BM, Leeper-Woodford SK, Jesmok GJ, Fowler AA, Sugerman HJ
Monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha attenuates plasma interleukin-6 level in porcin gram-negative sepsis
J Surg Res 57 (1994), 625-631

[83] Munro JM, Pober JS, Cotran RS

Recruitment of neutrophils in the local endotoxin response:associatrion with de novo endothelial expression of endothelial leukocyte adhesion molecule-1
Lab Invest 64 (1991), 295-299

[84] Nast-Kolb D, Jochum M, Waydlas C, Schweiberer L
Die Wertigkeit biochemischer Faktoren beim Polytrauma.
Hefte Unfallheilkunde 215 (1991), 215

[85] Natanson C
Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: A reassesment
Crit Care Med 25 (1997), 1095-1099

[86] Newman W, Beall LD, Carson CW, Hunder GG, Graben N, Randhawa ZI, Gopal TV, Wiener-Kronish J, Matthay MA
Soluble E-selectin is found in supernatants of activated endothetial cells and is elevated in the serum of patients with septic shock
J Immunol 150 (1993), 644-654

[87] Nuytinck JKS, Goris RI, Redl H, Schlag G, van Munster PJJ
Posttraumatic complications and inflammatory mediators
Arch Surg 121 (1986), 886-890

[88] Ogle CO, Guo X, Chance WT, Ogle JD
Induction of endotoxin tolerance in rat bone marrow cells by in vivo infusion of tumor necrosis factor
Crit Care Med 25 (1997), 827-833

[89] Ohkawara Y, Yamauchi K, Maruyama N, Hoshi H, Ohno I, Honma M, Tanno Y, Tamura G, Shirato K, Ohtani H
In situ expression of the cell adhesion molecules in bronchial tissues from asthmatics with air flow limitation: in vivo evidence of VCAM-1/VLA-4 interaction in selective eosinophil infiltration
Am J Respir Cell Mol Biol 12 (1995), 4-12

[90] Oka Y, Murata A, Nishijima J
Circulating interleuklin-6 as usefull marker for predicting postoperative complications
Cytokines 4 (1992), 298-304

[91] Ozdemir A, Oygur N, Gultekin M, Coskun M, Yegin O
Neonatal tumor necrosis factor, interleukin-1a, interleukin-1b and interleukin-6 response to infection
Am J Perinatol 11 (1994), 282-285

[92] Palluy O, Morliere L, Gris JC, Bonne C, Modat G
Hypoxia/reoxygenetion stimulates endothelium to promote neutrophil adhesion
Free Rad Biol Med 13 (1992), 21-30

[93] Panés J, Perry MA, Anderson DC
Regional differences in constitutive and induced ICAM-1 expression in vivo.
Am J Physiol 269 (1995), 1955-1964

[94] Patel RT, Deen KI, Youngs D, Warwick J, Keighley MR
Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis
Br J Surg 81 (1994), 1306-1308

[95] Pfeiffer L, Ehrhardt N, Kretschmar R, Urbaschek R, Schubert K, Schirrmeister W
Endotoxinämie und Multiorganversagen nach Polytrauma
Anaesthesiol Reanimat 21 (1996), 91-96

[96] Pilz G, Werdan K
Cardiovascular parameters and scoring systems in the evaluation of response to therapy in sepsis and septic shock
Infection 18 (1990), 253-257

[97] Pober JS, Cotran RS
The role of endothelial cells in inflammation
Transplantation 50 (1990), 537-544

[98] Rademacher P, Scheeren T, Weiss M
Treatment of Sepsis: A Look at Prostacyclin
in Vincent JL (ed.)
Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine
Berlin Heidelberg New-York, Springer-Verlag (1994), 48-56

[99] Rietschel ET, Brade H
Lipopolysaccharide, die Endotoxine und O-Antigene gramnegativer Bakterien: Chemische Struktur, biologische Wirkung und serologische Eigenschaften
Infection 15 (1987), 576-584

[100] Rietschel ET, Brade H
Bakterielle Endotoxine
Spektrum der Wissenschaft 1 (1993), 34-42

[101] Rothlein R, Manolfi EA, Czaikowski M, Marlin SD
A form of circulating ICAM-1 in human serum
J Immunol 147 (1991), 3788-3793

[102] Schlag G, Redl H
Organ in shock, early organ failure, late organ failure
in Schlag G and Redl H (eds.)
Pathophysiology of shock, sepsis, and organ failure
Berlin Heidelberg Springer-Verlag (1993), 1-4

[103] Schottmüller H
Wesen und Behandlung der Sepsis
Verh Dtsch Ges Inn Med 31 (1914), 257-280

[104] Schumann RR
Function of Lipopolysaccharide Binding Protein and CD14, the receptor for LPS/LBP complexes: a short review
Res Immunol 143 (1992), 11-15

[105] Schumann RR
Lösliche, membranständige und intracelluläre LPS-Rezeptoren
in Engelmann L, Kornhuber B, Rommelsheim K, and Vogt S (eds.)
Endotoxin, Infektion, Sepsis

Lengenrich Berlin Düsseldorf, Pabst Science Publishers, (1995), 12-38

[106] Schumann RR, Lamping N, Kirschning C, Knopf HP, Hoess A, Herrmann F
Lipopolysaccharide binding protein: Its role and therapeutic potential in inflammation and sepsis.
Biochem Soc Transact 22 (1994), 80-83

[107] Schuster HP
Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen
in Schuster HP (ed.)
Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen
Berlin Heidelberg New-York, Springer-Verlag, (1996), 3-22

[108] Schuster HP
Abriss der Pathophysiologie als Grundlage der Therapie
in Schuster HP (ed.)
Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen
Berlin Heidelberg New-York, Springer-Verlag, (1996), 23-42

[109] Seeger W, Grimminger F, Walmrath D
Mediatorblockade (Mediatorinhibitoren, -antagonisten, -antikörper)
in Schuster HP (ed.)
Intersivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen
Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag, (1996), 141-165

[110] Shimizu Y, Newman W, Gopal TV, Horgan KJ, Graben N, Beall LD, van Seventer GA, Shaw S.
Four molecular pathways of T cell adhesion to endothelial cells: roles of LFA-1, VCAM-1, and ELAM-1 and changes in pathway hierarchy under different activation conditions.
J Cell Biol 5 (1991), 1203-1212

[111] Shimizu Y, Newman W, Tanaka Y, Shaw S
Lymphocyte interactions with endothelial cells
Immunol Today 13 (1992), 106-112

[112] Shong M, Ro HK, Kim YK, Yoo CJ, Lee JH, Song CU, Cho BY
The cytokines, interleukin-1 beta, interleukin-6 and interferon-gamma upregulate the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in rat thyreoid cell line, FRTL-5
Korean J Intern Med 8 (1994), 88-92

[113] Sibelius U, Mayer K, Grimminger F, Suttorp N, Bhakdi S, Seeger W
Bakterielle Endotoxine und inflammatorische Gefässschädigung
in Engelmann L, Kornhuber B, Rommelsheim K, and Vogt S (eds.)
Endotoxin, Infektion, Sepsis
Lengenrich Berlin Düsseldorf, Pabst Science Publishers (1995), 39-77

[114] Silvestro L, Ruikun C, Sommer F, Duc TM, Biancone L, Montrucchio G, Camussi G
Platelet-activating factor induced endothetial cell expression of adhesion molecules and modualtion of surface glycocalyx, evaluated by electron spectroskopy chemical analysis
Semin Thromb Hemost 20 (1994), 214-222

[115] Society of Critical Care Medicine
Guidlines for the care of patients with hemodynamic instability associated with sepsis
Crit Care Med 20 (1992), 1057-1059

[116] Spinas GA, Keller U, Brockhaus M

Release of soluble receptors for tumor necrosis factor (TNF) in relation to circulating TNF during expimental endotoxinemia
J Clin Invest 90 (1992), 533-536

[117] Springer TA
Adhesion receptors of the immune system
Nature 346 (1990), 425-434

[118] Steinmetz HT, Herbertz A, Bertram M, Diehl V
Increase in interleukin-6 serum level preceding fever in granulocytopenia and correlation with death from sepsis
J Infect Dis 171 (1995), 225-228

[119] Steuernagel C, Schmitz JE
Die Aktivierbarkeit des Kapillarendothels - Regulation der Perfusion, Blutgerinnung und Entzündungsantwort
Aspekte 1 (1995), 14-18

[120] Talbott GA, Sharar SR, Harlan JM, Winn RK
Leukocyte-endothelial interactions and organ injury: The role of adhesion molecules
New Horiz 2 (1994), 545-554

[121] Taylor NM, Lacoumenta S, Hall GM
Fentanyl and interleukin-6 response to surgery
Anaesthesia 52 (1997), 112-115

[122] Thiele R
Frühdiagnostik der Sepsis
in Engelmann L, Kornhuber B, Rommelsheim K, and Vogt S (eds.)
Endotoxin, Infektion, Sepsis
Lengenrich Berlin Düsseldorf, Pabst Science Publishers (1995), 153-169

[123] Tozeren A, Kleinman HK, Grant DS, Morales D, Mercurio AM, Byers SW
E-selectin mediated dynamic interactions of breast- and colon-cancer cells with endothelial cell monolayers
Int J Cancer 60 (1995), 426-431

[124] Ulich TR, Howard SC, Remick DG, Yi ES, Collins T, Guo K, Yin S, Keene JL, Schmuke JJ, Steininger CN
Intratracheale administration of endotoxin and cytokines. LPS induces E-selectin expression; anti-E-selectin and soluble E-selectin inhibits acute inflammation
Inflamm 18 (1994), 389-398

[125] Vadas MA, Gamble JR
Regulation of the adhesion of neutrophils to endothelium
Biochem Pharmacol 40 (1990), 1683-1687

[126] van Deuren M
Kinetics of tumor necrosis factor alpha, soluble tumor necrosis factor receptor, interleukin 1-beta and its receptor antagonist during serious infections
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 13 (1994), 12-16

[127] van Deventer SJH, Pajkrt D

Neutrophil adhesion molecules and MOF
Intensiv Care Med 23 (1997), 487-488

[128] Vincent JL, Bihari D
Sepsis, severe sepsis or sepsis syndrome: need for clarification
Intensiv Care Med 18 (1992), 255-257

[129] Volk HD, Reinke P, Krausch D, Zuckermann H, Asadullah K, Müller JM, Kox WJ, Döcke WD
HLA-DR-Expression auf Monozyten bei Peritonitis und Sepsis - Möglichkeiten eines therapeutischen Ansatzes
Chir Gastroenterol 11 (1995), 34-41

[130] Wakefield CH, Carey PD, Foulds S, Monson JR, Guillou PJ
Polymorphnuclear leukocyte activation. An early marker of the postsurgical sepsis response
Arch Surg 128 (1993), 390-395

[131] Walsh CJ, Leeper-Woodford SK, Carey PD, Cook DJ, Bechard DE, Fowler AA, Sugerman HJ
CD18 adhesion receptors, tumor necrosis factor and neutropenia during septic lung injury
J Surg Res 50 (1991), 323-329

[132] Ward PA, Seekamp A, Mulligan MS
In vivo relationship between cytokines and adhesion molecules
Intensiv Care Med 20 (1994), 20-25

[133] Williams TJ, Hellewell PG
Endothelial cell biology
Am Rev Respir Dis 146 (1992), 45-50

[134] Wright SD, Ramos RA, Tobias PC, Ulevitch RJ, Mathison JC
CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS Bindung Protein
Science 249 (1990), 1431-1433

[135] Yago T, Tsukuda M, Yamazaki H, Nishi T, Amano T, Minami M
Analysis of an initial step of T-cell adhesion to endothelial monolayers under flow conditions
J Immunol 154 (1995), 1216-1222

[136] Yoshimoto T, Nakanishi K, Hirose S, Hiroishi K, Okamura H, Takemoto Y, Kanamaru A, Hada T, Tamura T, Kakishita E, Higashino K
High serum IL-6 level reflects susceptible status of the host to endotoxin and IL-1/ tumor necrosis factor
J Immunol 148 (1992), 3596-3603

[137] Zabel P
Endotoxinbindende Proteine
in Schuster HP (ed.)
Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen
Berlin Heidelberg New-York, Springer-Verlag (1996), 71-86

Abkürzungsverzeichnis

AA	= Aortenaneurysma
ACCP	= American College of Chest Physicans
ACTH	= Adrenocortikotropes Hormon
APACHE II- Score	= Acute Physiological And Chronic Health Evaluation II- Score
ARDS	= Adult Respiratory distress Syndrome
AT III	= Antithrombin III
BAA	= Bauchaortenaneurysma
CA	= Carzinom
CD	= Cluster of Differentiation
CI	= Cardiac Index
COLD	= Chronic Obstructiv Lung Disease
CRH	= Cortikotropin Releasing Hormon
CRP	= C - reaktives Protein
CVVH	= Continuous Veno-Venöse Haemofiltration
EDTA	= Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
ELAM-1	= Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule-1
EZ	= Endothelzelle
GM-CSF	= Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor
GMP	= Granule-Membrane-Protein
H_2O_2	= Wasserstoffperoxid
HK	= Hämatokrit
HO^-	= Hydroxylgruppe
HRP	= Horseradish Peroxidase
HZV	= Herzzeitvolumen
IFNγ	= Interferon γ
IGSF	= Immunglobulin - Superfamilie
IL-1	= Interleukin - 1
IL-6	= Interleukin - 6
kD	= Kolidalton
LBP	= LPS - bindendes Protein
LFA	= Lymphcyte Function Antigen
LFA-1	= Leukozyten Funktionsantigen-1
LPS	= Lipopolysaccharid
LT	= Leukotriene
MAD	= mittlerer arterieller Druck

mCD14	= membrane CD14
MHC	= Major Histocompatibility Complex
MODS	= Multiorgandysfunktionssyndrom
MOF	= Multiple Organ Failure
MOV	= Multiorganversagen
NNH	= Nasen-Neben-Höhlen
NO	= Nitric Oxid (Stickoxid)
O_2	= Sauerstoff
OP	= Operation
PAF	= Platelet Aggregating Factor
Pat.Nr.	= Patienten - Nummer
PAWP	= Pulmonal Arterieller Wedge Pressure
PG	= Prostaglandin
PGI_2	= Prostaglandin I_2
PI	= Phosphatidyl-Inositol
PMN	= Polymorphonuclear Neutrophils
pneum.	= pneumoniae
Ps.	= Pseudomonas
RB	= Referenzbereich
RR	= Blutdruck
SB	= Sepsisbeginn
SCCM	= Society of Critical Care Medicine
sCD14	= soluble CD 14
SD	= Standardabweichung
SEM	= Standard Error of Mean
SHT	= Schädel - Hirn - Trauma
sICAM	= soluble Intercellular Adhesion Molecule
SIRS	= systemic - inflammatory - response - syndrome
sLeX	= sialyl-Lewis-X
Staph.	= Staphylokokken
$Sv0_2$	= gemischtvenöse Sauerstoffkonzentration
SVR	= Systemic Vascular Resistance
TMB	= Tetramethylbenzidin
TNFα	= Tumornekrosefaktor α
TPL	= Transplantation
TX	= Thromboxan
TXA_2	= Thromboxan A_2

U/min	= Umdrehungen pro Minute
VCAM	= Vascular Cell Adhesion Molecule
VLA	= Very Late Activating Antigen
WS	= Wassersäule
x	= Mittelwert
ZVD	= zentraler Venendruck

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen **Seite**

Abb. 1:	Äthiologie von Sepsis und Multiorganversagen	4
Abb. 2:	Sepsiskaskade	6
Abb. 3:	CD14-positive Zelle mit membranständigen Rezeptoren und sCD14 im Plasma	8
Abb. 4:	Adhäsion eines Leukozyten an eine Endothelzelle in schematischer und elektronenmikroskopischer Darstellung	12
Abb. 5:	Leukozytenadhäsion und Diapedese	13
Abb. 6:	Funktion der membranständigen und zirkulierenden Adhäsionsmoleküle	14
Abb. 7:	Prinzip des Enzymimmunoassays	23
Abb. 8:	Prozentuale Verteilung der Infektionserreger	33
Abb. 9:	MOF-Score der Gruppen 1-3	35
Abb. 10:	TNFα-Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion	42
Abb. 11:	TNFα-Spiegel der Gruppen 1-3	43
Abb. 12:	sCD14-Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion	44
Abb. 13:	sCD14-Spiegel der Gruppen 1-3	45
Abb. 14:	IL-6- Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion	46
Abb. 15:	IL-6- Spiegel der Gruppen 1-3	47
Abb. 16:	sICAM-1 bei septischen Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion	48
Abb. 17:	sICAM-1 Spiegel der Gruppen 1-3	49
Abb. 18:	sE-Selektin-Spiegel septischer Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer Infektion	50
Abb. 19:	sE-Selektin-Spiegel der Gruppen 1-3	51
Abb. 20:	Korrelation zwischen IL-6 und sE-Selektin	53

Tabellen **Seite**

Tabelle	1:	Patienten der Gruppe 1	30
Tabelle	2:	Patienten der Gruppe 2	31
Tabelle	3:	Patienten der Gruppe 3	32
Tabelle	4:	Ergebnisse der Gruppe 1	37
Tabelle	5:	Ergebnisse der Gruppe 2	39
Tabelle	6:	Ergebnisse der Gruppe 3	41

Danksagung

In erster Linie möchte ich mich bei meinem Betreuer Herrn Dr. sc. med. Dr. rer. nat. K. Egerer bedanken, für die Überlassung des Themas und für die intensive und unermüdliche Unterstützung bei der Ausfertigung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Dr. W.J. Kox, dem Direktor der Klinik, der mir Dank seiner umfangreichen Erfahrung bei der Erstellung von Doktorarbeiten jederzeit mit besonderen Ratschlägen zur Verfügung stand.

Mein Dank gilt ebenfalls den Mitarbeitern des Forschungslabors der Klinik für Anaesthesiologie und Intensivtherapie, besonders Frau B. Egerer für ihre Hilfe und Anleitung bei den Laborbestimmungen.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei den Ärzten, Schwestern und Pflegern der Intensivstation I, die mir beim Sammeln und Zentrifugieren der Blutproben geholfen haben.

Lebenslauf

12.04.1959 wurde ich, Ute Rohr, geb. Liebich, als Tochter des Bauhandwerksmeisters Manfred Liebich und Ehefrau Ingeborg Liebich geb. Hellwig in Berlin geboren

1965 - 1975 Besuch der allgemeinbildenden polytechnischen Oberschulen in Berlin-Marzahn und Berlin-Lichtenberg

1975 - 1977 Besuch der erweiterten Oberschule „Immanuel Kant“ in Berlin-Lichtenberg mit dem Abschluß der Abiturprüfung 1977

1977 - 1978 Pflegepraktikum an der Kinderklinik der Charité zur Vorbereitung auf das Medizinstudium

1978 - 1980 Medizinstudium an der Wilhelm-Pieck-Universität Rostock mit dem

August 1980 Hochzeit mit dem Dipl.-Ing. Jürgen Rohr

1980 - 1986 Hochschulwechsel an die Humboldt-Universität Berlin mit Fortsetzung des Medizinstudiums

Juli 1982 Geburt meiner ersten Tochter Martina Rohr

Dezember 1983 Verteidigung meiner Diplomarbeit mit dem Thema: „Lipoxygenasen im anämischen Menschenblut“

Mai 1984 Geburt meiner zweiten Tochter Ulrike Rohr

1986 Beendigung des Medizinstudiums mit der Approbation

1986 - 1992 Weiterbildung zur Fachärztin für Anaesthesiologie und Intensivmedizin an der Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin der Humboldt-Universität Berlin, mit dem erfolgreichem Abschluß der Facharztprüfung im Mai 1992

April 1998 Bewerbung um Zulassung zum Promotionsverfahren

Erklärung an Eides Statt

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, daß diese Dissertation von mir selbständig, ohne unzulässige Hilfe Dritter verfaßt wurde. Sie enthält auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten. Die benutzten Hilfsmittel, sowie die Literatur habe ich vollständig angegeben.

Thesen zur Dissertation

1) Die Sepsis ist ein biphasisches Krankheitsbild, in deren Verlauf eine frühe, proinflammatorische Phase und eine späte antiinflammatorische Phase voneinander unterschieden werden.

2) Der Krankheitsverlauf der Sepsis wird primär durch Ausmaß und Ablauf der Reaktion des Patienten auf die auslösende Noxe und weniger von der Art, Zahl, Pathogenität oder Virulenz der Erreger beistimmt.

3) Trotz moderner Antibiotikaregime und verbesserter Intensivtherapie ist die Letalität einer Sepsis unverändert hoch. Sie beträgt für die Sepsis 30-40% und liegt im septischen Schock bei 70%.

4) Am Beginn der Sepsiskaskade steht die Einschwemmung von Erregern oder deren Toxinen in die Blutbahn. Nach Kontakt mit den Zellen des Immunsystems kommt es zur überschießenden Aktivierung einer proinflammatorischen Mediatorenkaskade.

5) TNFα ist ein essentielles Zytokin bei allen Keimabwehrprozessen und ist der initiale Mediator der Sepsis.

6) Als Prognoseparameter einer Sepsis bei kritisch Kranken ist TNFα auf Grund seiner geringen Halbwertzeit nicht zu verwerten. Hohe Spiegel werden nur im septischen Schock gemessen. Die Höhe der Plasmaspiegel korreliert nicht mit dem Outcome.

7) CD14 ist ein Oberflächenmarker auf Leukozyten und dient als Rezeptor für Endotoxine und andere Bakterienbestandteile.

8) Durch Einwirkung proinflammatorischer Mediatoren wird das CD14-Molekül von der Zelloberfläche abgelöst. Dieser Prozeß des „shedding“ führt zur „Down-Regulation“ des LPS-Rezeptors CD14 und zum Anstieg von löslichem CD14 im Blut.

9) Bei kritisch Kranken können erhöhte sCD14-Spiegel in Kombination mit Interleukin-6-Spiegeln eine Aussage über eine mögliche Sepsisgefährdung machen.

10) Interleukin 6 ist ein proinflammatorischers Zytokin und wird auch bei allen Streßreaktionen und Gewebetraumatisierung von den Zellen des Immunsystems (Monozyten, Fibroblasten,

Endothelzellen usw.) ausgeschüttet. Bei SIRS und Sepsis ist es verantwortlich für die klinischen Symptome wie Tachykardie, Temperatur, Hyperventilation, Cholestase und Darmparalyse.

11) Bei der Sepsis ist Interleukin 6 ein relativ guter prognostischer Parameter und zeigt frühzeitig eine Gefährdung des Patienten an. Da die Interleukin 6-Ausschüttung durch exogenes Cortisol hemmbar ist, ist die Aussagekraft bei Patienten mit einer Steroidmedikation eingeschränkt.

12) Auf der Oberfläche polymorphkerniger Leukozyten bewirken proinflammatorische Mediatoren eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen, die zur Verlangsamung des Blutstromes und zur Migration von Leukozyten in das entzündete Gewebe führt.

13) Die Stimulation von Endothelzellen bewirkt eine Expression spezifischer endothelialer Adhäsionsmoleküle. Dieser Prozeß führt zu einer weiteren Schädigung des Endothels und zum Kapillarleck.

14) Lösliche Adhäsionsmoleküle werden durch die Einwirkung proinflammatorischer Zytokine von der Zellmembran abgelöst. Diese erscheinen im peripheren Blut und sind als Marker bei verschiedenen entzündlichen Prozessen erhöht.

15) ICAM-1 ist ein unspezifischer Marker für die Leukozytenaktivierung. Bei septischen Patienten sind die sICAM-1-Spiegel im Vergleich zu Patienten ohne Sepsis pathologisch erhöht, korrelieren aber nicht mit dem Outcome.

16) Die Plasmaspiegel von sICAM-1 bei Patienten mit einer Infektion liegen im Normbereich für gesunde Probanden.

17) Die Plasmaspiegel von sICAM-1 liegen bei Patienten mit Sepsis deutlich im pathologischen Bereich. Es existieren keine signifikanten Unterschiede zwischen überlebenden und verstorbenen Septikern.

18) E-Selektin wird nur vom aktivierten Endothel exprimiert und ist damit ein spezifischer Marker für die funktionelle und morphologische Endothelschädigung bei Sepsis. Erhöhte sE-Selektin-Spiegel im Blut können frühzeitig eine Aktivierung des Endothels anzeigen und korrelieren bei septischen Patienten mit dem Outcome.

19) Bei kritisch Kranken, die im Laufe einer Infektion keine klinischen Zeichen einer Sepsis aufweisen, unterscheiden sich sE-Selektin-Spiegel nicht von den Plasmaspiegeln gesunder Probanden.

20) Bereits 3 Tage vor der klinischen Sepsisdiagnose liegen die Plasmaspiegel von sE-Selektin der später verstorbenen Septiker signifikant höher als die Plasmaspiegel der überlebenden Patienten.

21) Bei den Patienten, die im septischen Multiorganversagen verstorben sind existiert eine gute Korrelation zwischen den IL-6- und den sE-Selektin-Spiegeln.

22) sICAM-1 ist ein eher unspezifischer Marker für das septische Geschehen. Die Abschätzung des Sepsisrisikos bei kritisch Kranken oder einer Prognose ist anhand der Plasmaspiegel von sICAM-1 nicht möglich.

23) sE-Selektin ist ein sehr spezifischer Marker für das septische Multiorganversagen. Anhand erhöhter Plasmaspiegel von sE-Selektin lassen sich schon frühzeitig die Patienten identifizieren, die ein hohes Risiko haben im septischen Multiorganversagen zu versterben.