

C. MATERIAL UND METHODEN

Im folgenden Abschnitt werden zunächst (Abschnitt C1) die Einschlusskriterien (Diagnose, Alter, Injury Severity Score) in die vorliegende Studie vorgestellt. Im Anschluss wird der zeitliche Ablauf der Messprotokolle dargestellt. Zur Einordnung des klinischen Zustandes der Patienten werden verschiedene, etablierte Scores eingesetzt und vorgestellt (ISS, PTS, APACHE II, SAPS II und MODS). Dann werden die Messmethoden Durchflusszytometrie (Abschnitt C2) und ELISA (Abschnitt C3) gezeigt. Abschließend wird die Datenerfassung und statistische Auswertung besprochen (Abschnitt C4).

C.1. Patienten, Gruppeneinteilung, Scoringsysteme

Bei 51 polytraumatisierten Patienten wurde der Verlauf der Expression des zellgebundenen Adhäsionsmoleküls CD62L (Lecam-1) auf CD19+ (B-) Lymphozyten, CD3+ (T-) Lymphozyten, CD14+ Monozyten und Granulozyten, sowie der löslichen Adhäsionsmoleküle E-, L- und P-Selektin (sCD62 E, sCD62 L, sCD62 P) vom Unfallort bis zum sechsten stationären Tag untersucht. Diese Ergebnisse wurden mit dem klinischen Bild anhand der Aufnahmescores APACHE II, dem Injury Severity Score (ISS), dem Polytraumaschlüssel (PTS), dem Multiorganversagensscore nach Goris, sowie dem Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) verglichen. Ferner wurden die Patienten nach der Menge der innerhalb der ersten 24 Stunden transfundierten Erythrozytenkonzentrate und nach Versterben und Überleben eingeteilt. In die Untersuchung eingeschlossen wurden Patienten ab einem Alter von 16 Jahren mit der Diagnose Polytrauma und einem Punktwert im ISS >15.

Definition Polytrauma

Zur Primärdiagnose Polytrauma wurden folgende Kriterien herangezogen: mindestens zwei Körperregionen müssen betroffen sein, durch die Summe der Verletzungen sind die Vitalfunktionen beeinträchtigt, aus der Summe der Verletzungen und bei unzureichender Erstbehandlung resultiert die Gefahr sekundärer Organschäden oder des Todes (Larsen 1994), Injury Severity Score (ISS) >15 (Baker 1976, Friedl 1992).

Blutprobengewinnung

In Abstimmung und Zusammenarbeit mit sechs Nordberliner Notarzteinheiten wurde von Patienten mit der notärztlichen Primärdiagnose „Polytrauma“ eine Probe von 10 ml EDTA- Blut zur Verfügung gestellt. Diese erste Blutentnahme erfolgte am Unfallort (s. Tabelle 1), bevor die Patienten medikamentös behandelt wurden oder Volumen substituiert wurde. Alle Patienten wurden am Unfallort vom Notarzt intubiert und demnach bereits vor Eintreffen in der Rettungsstelle künstlich beatmet.

Die zweite Blutentnahme erfolgte direkt nach Eintreffen der Patienten in der chirurgischen Rettungsstelle des Campus Virchow-Klinikum der Charité, Berlin, wiederum vor Aufnahme der dortigen therapeutischen Maßnahmen. Die Blutproben zur durchflusszytometrischen Zelldiagnostik wurden sofort weiterbehandelt (Macey 1993). 7ml Vollblut wurden direkt bei 4°C und 3000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert und der Überstand bis zur weiteren Verarbeitung im Immunoassay bei -85 °C tiefgefroren (Parks 1989). Die dritte Blutentnahme erfolgte exakt vier Stunden nach dem Unfall, während die Patienten in aller Regel, nach Abschluss der Primärdiagnostik, operativ versorgt wurden. Die vierte Blutentnahme erfolgte nach 12 Stunden. Der Großteil der Patienten befand sich nun auf einer Intensivstation. Alle weiteren Blutentnahmen (Nummer 5 bis 10) erfolgten exakt im 24-Stundentakt nach dem Unfallgeschehen.

Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zeit nach Trauma (Stunden)	0	1	4	12	24	48	72	96	120	144
Abnahmeort	Unfallort	Rettsungsstelle	OP	OP / IPS	IPS	IPS	IPS	IPS	IPS	IPS

Tabelle 1: Übersicht über das Zeitraster der Blutprobengewinnung

Injury Severity Score (ISS)

Der „Injury Severity Score“ (ISS) basiert auf der „Abbreviated Injury Scale“ (A.I.S.), wobei der ISS als die Summe der Quadrate der AIS-Punkte der drei jeweils am schwersten verletzten Körperregionen des AIS definiert ist. Für diesen anatomisch-morphologischen Score werden die Körperregionen Kopf/ Hals, Gesicht, Thorax, Abdomen, Extremitäten und Haut/ Weichteile unterschieden und erhalten je nach Schweregrad der Verletzungen Punktwerte von eins bis fünf. Es werden stumpfe und

penetrierende Verletzungen unterschieden. Gilt eine einzelne Verletzung einer Körperregion als voraussichtlich letal, so wird ihr im AIS der Punktwert sechs zugeordnet und im ISS resultiert obligat der maximale Scorewert 75. Hohe Scorewerte kennzeichnen eine schwere anatomische Verletzung und korrelieren mit einer schlechten Überlebensprognose.

A.I.S.	1	2	3	4	5
Kopf/ Hals	Kopfschmerzen/ Benommenheit HWS-Distorsion ohne Fraktur bzw. Luxation	Amnesie Lethargie/ Stupor. Erweckbar durch verbale Reize. Bewusstlosigkeit <1 Stunde Einfache Wirbelfraktur Schilddrüsenkontusion Armplexusverletzg. Luxation oder Fraktur eines Dorn- oder Gelenkfortsatzes der HWS Leichte (<20%) HWK- Kompressionsfraktur	Bewusstlosigkeit 1-6 Stunden. Bewusstlosigkeit <1 Stunde mit neurologischen Ausfallerscheinungen Schädelbasisfraktur. Wirbelkörpersplitterfrakt. Hirnkontusion/ Subarachnoidalblutung. Intimaeinriss/ Thrombose der A. carotis. Larynx-/ Pharynxkontusion. Rückenmarkskontusion. Kompressionsfraktur >1 HWK bzw. > 20% Vorderwandhöhe.	Bewusstlosigkeit 1-6 Stunden mit neurologischen Ausfallerscheinungen. Bewusstlosigkeit 6-24 Stunden. Adäquate Reaktion nur auf Schmerzreiz. Schädelfraktur (Kompression >2cm oder Duraeinriss oder Gewebeverlust). Intrakranielle Blutung <100 ml. Inkomplette Rückenmarksverletzu ng. Larynxquetschung. Intimaeinriss/ Thrombose der A. carotis mit neurologischen Ausfallerscheinungen.	Bewusstlosigkeit mit pathologischen Reflexen. Bewusstlosigkeit >24 Stunden. Hirnstammverletzung. Intrakranielle Blutung >100 ml. Komplette Rückenmarksdurchtrennung C4 oder tiefer.
Ge- sicht	Hornhautschürfg. Zungeneinriss. Nasenbein-, Unterkieferfrakt.* Zahnfraktur, - abriss, - lockerung.	Jochbein-, Orbita-*, infracondyläre- oder Unterkieferkörperfrak- tur*. LeFort I° Sklera-/ Hornhautzerreißung	Zerreiβung/ Einriss N. opticus. LeFort II°	LeFort III°	
Thorax	Rippenfraktur (#). BWS-Distorsion. Brustkorbprellung Brustbeinprellung (#) +1 bei Vorliegen von Hämatothorax, Pneumothorax oder Hämatopneumom ediastinum	Fraktur von 2-3 Rippen (#). Brustbeinfraktur. Luxation oder Fraktur eines BWK-Dorn- oder Querfortsatzes. BWK- Kompressionsfraktur (< 20%)	Lungenkontusion/ - einriss ein Lobus. Einseitiger Hämato- oder Pneumothorax. Fraktur von >3 Rippen(#). Zwerchfellruptur. Kleinerer Intimaeinriss/ Thrombose A. subclavia/ A. anonyma. Inhalationstrauma. BWK- Kompressionsfraktur (>20%) oder >1 BWK. Rückenmarkskontusion mit vorüber gehenden neurologischen Ausfallerscheinungen.	Multilobuläre Lungenkontusion /- einriss. Hämatopneumomedia- stinum. Beidseitiger Hämatopneumothorax Instabiler Thorax (Flutterbrust). Herzkontusion. Spannungspneumotho- rax. Hämatothorax > 1000 ml. Tracheafraktur. Intimaeinriss der Aorta. Ausgedehnter Intimaeinriss der A. subclavia/ A. anonyma. Inkomplettes Querschnittsyndrom.	Ausgedehnte Aortenruptur. Herzmuskeleinriss. Bronchial-/ Trachealruptur. Instabiler Thorax/ Inhalationstrauma, beatmungspflichtig. Multilobulärer Lungeneinriss mit Spannungspn.thorax, Hämatopn.mediastinum oder Hämatothorax >1000 ml. Rückenmarkseinriss oder komplettes Querschnittsyndrom.
Abdo- men	Abschürfung/ Prellung/ oberfl. Ablederung von Skrotum/ Vagina/ Vulva/ Perineum. LWS-Distorsion. Hämaturie	Abschürfung/ Prellung/ oberfl. Ablederung von Magen/ Mesenterium/ Harnblase/ Ureter/ Urethra. Leichte Kontusion/ Einriss von Niere/ Leber/ Milz/	Schwerer Dünndarm-, Dickdarm- oder Rektumeinriss. Perforation von Harnblase/ Mesenterium/ Ureter/ Urethra. Schwere Kontusion/ leichte Kontusion mit ausgedehnter Gefäßbeteiligung bzw.	Perforation von Magen/ Duodenum/ Kolon/ Rektum. Perforation mit Defekt von Magen/ Harnblase/ Ureter/ Urethra. Schwerer Lebereinriss. Schwerer Einriss A.	Schwerer Einriss mit Defekt oder ausgedehnter Kontamination von Kolon/ Duodenum/ Rektum. Komplexe Leber-/ Nieren-/ Pankreasruptur. Komplettes Querschnittsyndrom.

		Pankreas. Kontusion von Dick- bzw. Dünndarm. Fraktur oder Luxation von Quer- oder Dornfortsatz der LWS. Leichte Kompressionsfraktur (<20%) eines LWK. Nervenwurzelverletzung.	Hämatorperitoneum >1000ml von Niere/ Leber/ Milz/ Pankreas. Leichter Einriss A. oder V. iliaca. Retroperitoneales Hämatom. Kompressionsfraktur (>20% oder >1WK) der LWS. Rückenmarkskontusion mit vorübergehenden neurologischen Ausfallerscheinungen.	oder V. iliaca. Inkomplettes Querschnittssyndrom. Plazentalösung.	
Extremitäten	Kontusion von Ellenbogen/ Schulter/ Handwurzel/ Knöchel. Fraktur/ Luxation von Finger/Zehe. Verstauchung von AC-Gelenk/ Schulter/ Ellenbogen/ Finger/ Handwurzel/ Hüfte/ Knöchel/ Zehe.	Humerus-*, Radius-*, Ulna-*, Fibula-, Tibia-*, Klavikula-, Skapula-, Handwurzel-, Mittelhand-, Kalkaneus-, Fußwurzel-, Mittelfuß-, Schambein-, einfache Beckenfraktur. Luxation Ellenbogen, Fingergelenke, Schulter. Sprengung AC-Gelenk. Ausgedehnter Muskel-/ Sehneneinriß. Intimazerrung/ leichter Einriss A. axillaris/ A. brachialis/ A. poplitea/ V. femoralis/ V. poplitea.	Beckentrümmerfraktur. Femurfraktur. Dislokationsfraktur von Handgelenk/ Sprunggelenk/ Knie/ Hüfte. Amputationsverletzung distal des Kniegelenkes oder der oberen Extremität. Bandrupturen Kniegelenk. Einriss des N. ischiadicus. Intimazerrung/ leichter Einriss A. femoralis. Ausgedehnter Einriss (mit/ ohne Thrombose) A. axillaris/ A. poplitea/ V. axillaris/ V. poplitea/ V. femoralis.	Beckenringfraktur Amputationsverletzg. / Quetschverletzung proximal des Kniegelenkes Ausgedehnter Einriss A. femoralis/ A. brachialis.	Offene Beckenringfraktur
					* +1 bei offenen/ dislozierten/ Trümmerfrakturen
Haut/ Weichteile	Schürfungen/ Prellungen bis 25 cm ² an Gesicht/ Hand/ bis 50 cm ² am Körper. Oberflächliche Ablederungen/ Prellungen bis 25 cm ² an Gesicht/ Hand/ bis 50 cm ² am Körper. I° Verbrennung bis 100%, II° und III° Verbrennung <10% Körperoberfläche.	Schürfungen/ Prellungen > 25 cm ² an Gesicht/ Hand/ > 50 cm ² am Körper. Oberflächliche Ablederungen/ Prellungen > 25 cm ² an Gesicht/ Hand/ > 50 cm ² am Körper. II° und III° Verbrennung 10-19% Körperoberfläche.	II° und III° Verbrennung 20-29% Körperoberfläche.	II° und III° Verbrennung 30-39% Körperoberfläche.	II° und III° Verbrennung 40-89% Körperoberfläche.

Tabelle 2: ISS für stumpfes Trauma

A.I.S.= 6

schwerst mögliche Verletzung => ISS= 75

Kopf/ Hals:

Zerquetsungsfraktur/ Hirnstammzerquetschung/ -zerreiung.
Dekapitation. Rückenmarkszerquetschung/ -zerreiung oder
Totalabriss mit/ ohne Fraktur C3 oder höher.

Thorax:

Totale Aortendurchtrennung. Brustkorb massiv zerquetscht.

Abdomen:

Torso vollständig abgetrennt.

Haut/ Weichteile:

II° und III° Verbrennung >89% der Körperoberfläche.

A.I.S.	1	2	3	4	5
Kopf/ Hals	PV = penetrierende Verletzung	PV Hals/ Nacken ohne Organbeteiligung	Komplexe OV mit Gewebeverlust/ Organbeteiligung. Kleinerer Einriß A. carotis/ vertebralis/ V.jug.int.. Schilddrüsenriss. Oberfl. Einriss larynx/ Pharynx Rückenmarkskontusion mit vorübergehenden neurolog. Auffälligkeiten.	Abriss V.jug.int. Kleinerer Einriß A. carotis/ vertebralis mit neurolog. Defizit. Transection A./V. carotis/ vertebralis/ V.jug.int.. Perforation Larynx/ Pharynx. Rückenmarkskontusio n mit inkomplettem Querschnittsyndrom.	PV mit mit Ein- und Austritt.
Ge- sicht	PV ohne Gewebeverlust				
Thorax	PV ohne Beteiligung der Pleurahöhle	Einriss Ductus thoracicus	Komplexe PV mit Eröffnung der Pleurahöhle. Oberfl. Einriss V. anonyma/ pulmonaris/ subclavia, Trachea/ Bronchus/ Ösophagus. Lungeneinriss bis 1 Segment. Einseitiger Hämato/- pneumothorax. Zwerchfelleinriss. Rückenmarkskontusion mit vorübergehenden neurologischen Auffälligkeiten.	Oberfl. Einriss Aorta. Ausgedehnter Einriss A. anonyma/ pulmonaris/ subclavia, V. cava/ brachiocephalica/ subclavia/ pulmonaris u.a. Perforation Trachea/ Bronchus/ Ösophagus. Mehrsegmentaler Lungeneinriss. Hämatopneumomedia stinum. Spannungs-/ mehrsseitiger Hämatopneumothorax Hämatothorax> 1.0L Herztamponade. Rückenmarkskontusio n mit inkomplettem Querschnittsyndrom.	Großer Aorteneinriss. Transection V. cava/ pulmonalis/ brachiocephalica. Einriss mit Gewebeverlust Trachea/ Bronchus/ Ösophagus. Mehrsegmentaler Lungeneinriss mit Hämatothorax> 1L/ Spannungspneumothora x. Herzmuskel/- klappeneinriss. Rückenmarkseinriss.
Abdo- men	PV , Peritoneum intakt	PV mit oberflächlichem Gewebeverlust, Peritoneum intakt. Oberfl. Verletzung Magen/ Gallen-/ Harnblase/ Mesenterium/ Ureter/ Leber/ Niere/ Milz/ Pankreas. Peritonealeinriss.	PV mit ausgedehntem Gewebeverlust, Peritoneum intakt. Oberfl. Einriss V. vava/ liaca. Zerreißung Gallen-/ Harnblase/ Mesenterium/ Ureter. Großer Einriss/ kleiner Einriss mit Gefäßverletzung/ Hämatoperitoneum > 1L Niere/ leber/ Milz/ Pankreas. Rückenmarkskontusion mit vorübergehenden neurologischen Auffälligkeiten.	Oberfl. Einriss Aorta. Ausgedehnter Einriss A./V. iliaca/ Vena Cava. Transection V. iliaca. Zerreißung Magen/ Kolon/ Duodenum/ Rektum. Gewebeverlust/ ausgedehnte Verschmutzung Magen/ Gallen-/ Harnblase/ Mesenterium/ Ureter. Rückenmarkskontusio n mit inkomplettem Querschnittsyndrom.	Großer Aorteneinriss. Transection C. cava/ iliaca. Gewebeverlust/ ausgedehnte Verschmutzung Duodenum/ Kolon/ Rektum. Gewebeverlust Niere/ Leber/ Milz/ Pankreas. Rückenmarkseinriss.
Extre- mität	Oberflächliche Venenerverletzung	Oberfl. PV. Oberfl. Einriss A. axillaris/ brachialis/ poplitea. Ausgedehnter Einriss V. brachialis. Einriss N. medianus/ radialis/ ulnaris/ femoralis/ tibialis/ peronäus. Großfl. Sehnen-/ Muskeleinriss	Komplexe tiefe PV. Oberfl. Einriss A. femoralis. Ausgedehnter Einriss A./ V. axillaris/ poplitea, V. femoralis. PV N. ischiadicus. PV > 1Nerv/Extremität. Multiple Sehnen- Muskelrisse in der selben Extremität	Ausgedehnter Einriss A. brachialis/ femoralis.	Streckenverlust A. femoralis.
Haut/ Weicht eile	Oberflächliche Schnittverletzung en bis 5 cm an Gesicht/ bis 10cm am Körper	Schnittverletzungen ab 5 cm im Gesicht/ ab 10 cm am Körper. OV mit Gewebeverlust			

Tabelle 3: ISS für penetrierende Verletzungen

A.I.S.= 6	schwerst mögliche Verletzung => ISS= 75
Kopf/ Hals:	Hirnstammeinriss.
Thorax:	Aortentransektion. Segmentverlust Aorta, A. anonyma/ pulmonaris/ subclavia. Komplexe Herzmuskelzerreißung
Abdomen:	Aortentransektion

Polytraumaschlüssel (PTS)

Der Polytraumaschlüssel (PTS) spiegelt die Bedeutung der Einzelverletzungen für die Prognose der Patienten wider. Auch dies ist ein anatomisch-morphologischer Score, der erst nach Abschluss der Diagnostik erhoben werden kann. Er setzt sich aus den Punktwerten, die aus dem Alter der Patienten und definierten Verletzungen fünf verschiedener Körperregionen resultieren, zusammen. Es können Punktwerte von 0 bis über 70 erreicht werden. Er wird mittels folgender Einteilung erhoben:

PTS Schädel		PTS Thorax	
SHT 1°	4	Brustbein-Rippenbrüche (1-3)	2
SHT 2°	8	Rippenserienbruch	5
SHT 3°	12	Rippenserienbruch beidseits	10
Mittelgesichtsfraktur leicht	2	Hämatopneumothorax	2
Mittelgesichtsfraktur schwer	4	Lungenkontusion	7
		Lungenkontusion beidseits	9
		instabiler Thorax	3
		Aortenruptur	7
PTS Abdomen		PTS Becken und Wirbelsäule	
Milzruptur	9	einfacher Beckenbruch	3
Milz- und Leberruptur	13	kombinierter Beckenbruch	9
Leberruptur ausgedehnt	13	Becken- und Urogenitalverletzung	12
Darm, Mesenterium, Niere, Pankreas	9	Wirbelbruch	3
		Wirbelbruch mit Querschnitt	3
		Beckenquetschung	15
PTS Extremitäten		PTS Alter (Jahre)	
zentraler Hüftverrenksbruch	12	0 - 39	0
Oberschenkelfraktur einfach	8	40 - 49	1
OSstück- bzw. -trümmerfraktur	12	50 - 54	2
Unterschenkelfraktur	4	55 - 59	3
Knieband, -scheibe, Sprunggelenk	2	60 - 64	5
Oberarm, Schulter	4	65 - 69	8
Ellebogen, Unterarm	2	70 - 74	13
Gefäßverletzung unter Ellebogen/ Kniegelenk	4	>74	21
Gefäßverletzung über Ellebogen/ Kniegelenk	8		
Oberschenkel-, Oberarmamputation	12		
Unterschenkel-, Unterarmamputation	8		
je 2° und 3° offener Bruch	4		
große Weichteilquetschung	2		

Tabelle 4: Zuordnung von den sechs Variablen zu Punktwerten im PTS (nach Regel 1994)

APACHE II

Der APACHE-II-Score ("Acute physiology and chronic health evaluation II") wurde einmal innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme des Patienten auf die Intensivstation erhoben. Als pathophysiologisch-biochemischer Score setzt er sich zusammen aus dem APS (acute physiology score), wobei der jeweils "pathologischste" Wert der folgenden zwölf Parameter in die Berechnung einfließt (Knaus 1985), einem Punktwert für das Alter und einem Punktwert für chronische Grunderkrankungen. Er darf nicht angewendet werden für Patienten jünger als 16 Jahre und Verbrennungspatienten. Neurologische Defizite gehen anhand der Glasgow Coma Scale (GCS) in den APACHE II ein.

APS Punkte	4	3	2	1	0	1	2	3	4
Temperatur (°C)	>40,9	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	<30
arter. Mitteldruck (mmHg)	<159	130-159	110-129		70-109		50-69		<50
Herzfrequenz (min ⁻¹)	>179	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	<40
Atemfrequenz (min ⁻¹)	>49	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		<6
A-aD _{O2} (F _{iO2} >0,5) Pa _{O2} (F _{iO2} <0,5)	>499	350-499	200-349		<200 >70	61-70		55-60	<55
arterieller pH	>7,69	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	<7,15
Plasma Na ⁺	>179	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	<111
Plasma K ⁺	>6,9	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		<2,5
Plasmakreatinin	>3,4	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
Hämatokrit	>59,9		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		<20
Leukozytenzahl	>39,9		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		<1
Zusätzlich	0 bis 15 Punkte (15 minus aktueller Wert im Glasgow Coma Score)								
Zusätzlich	0	0	3	5	6 Punkte für				
Alter (Jahre)	<44	45-54	55-64	65-74	>75				
Zusätzlich	2 Punkte		biopsich gesicherte Leberzirrhose, Herzinsuffizienz NYHA Stadium IV, schwere COPD, dialysepflichtige chronische Niereninsuffizienz, Immunsuppression.						
zusätzlich	3 Punkte		Bei Notfalloperationen						

Tabelle 5: Darstellung der Parameter welche in den APACHE II Score einfließen und Übersicht über die Punktbewertung

APACHE II Score = APS + Altersbewertung + Krankheitsbewertung

SAPS II

Der "Simplified Acute Physiology Score II" (SAPS II), ebenfalls ein pathophysiologisch-biochemischer Score, beschreibt als intensivmedizinischer Score die Schwere eines akut bedrohlichen Krankheitszustandes. Er wird anhand der unten folgenden Parameter, deren jeweils schlechtester Wert innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation in die Berechnung eingeht, erhoben. Aus dem gewonnenen Punktwert lässt sich mittels Algorithmus eine Nicht-Überlebenschance berechnen (LeGall 1993).

SAPS-Punkte	26	13	12	11	9	7	6	5	4	3	2	0	1
Alter												<40	
Herzfrequenz				<40							40-69	70-119	
Syst. RR (mmHg)		<70						70-99				100-199	
Temperatur (°C)												<39	
PaO ₂ /FIO ₂ (mmHg)				<100	100-199		>199						
Urin (L/Tag)				<0,5					0,5-0,99			>0,999	
Harnstoff (g/dL)												<60	
Leukos (nL ⁻¹)			<1,0									1,0-19,9	
Kalium i.S. (mmol/d)										<3,0		3,0-4,9	
Natrium i.S. (mmol/L)								<125				125-144	>144
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)							<15			15-19		>19	
Bilirubin (mg/dL)												<4,0	
GCS	<6	6-8				9-10		11-13				14-15	
Einweisung												Chir. elektiv	
Summe													
SAPS-Punkte	2	3	4	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18
Alter									60-69	70-74	75-79		>79
Herzfrequenz			120-159		>159								
Syst. RR (mmHg)	>199												
Temperatur (°C)		>39											
Harnstoff (g/dL)				60-179				>179					
Leukos (nL ⁻¹)		>20											
Kalium i.S. (mmol/d)		>4,9											
Bilirubin (mg/dL)			4,0-5,9				>5,9						
Chron. Krankheit							Meta. CA	Malig. Hämat.				AIDS	
Einweisung				Int. Notf.		Chir. Notf.							
Summe													

Tabelle 6: SAPS II Punkteverteilung

Organversagen/ MODS

Zur Beurteilung eines isolierten oder multiplen Organversagens wurde der seit Mitte der 80er Jahre etablierte Organversagensscore nach Goris verwendet. Er besteht aus einem Punktesystem von maximal 14 Punkten. Innerhalb der 7 betrachteten Organsysteme erfolgt eine Bewertung des Schweregrades der Funktionsstörung. Ein MODS-Score > 4 wird als Multiorganversagen bezeichnet. Dem Score liegen für die sieben Organsysteme die in Tabelle 7 aufgelisteten klinischen Kriterien zugrunde (Goris et al., 1985, Roumen et al., 1995).

Organsystem	1 Punkt	2 Punkte
Herz	Hypotension > 100 mmHg; Dopamin $\leq 20 \mu\text{g/kg/min}$; Nitroglyzerin $\leq 20 \mu\text{g/kg/min}$;	Hypotension $\leq 100 \text{mmHg}$; Dopamin $> 10 \mu\text{g/kg/min}$; Nitroglyzerin $> 20 \mu\text{g/kg/min}$;
Lunge	Maschinelle Beatmung mit $\leq 10 \text{cm H}_2\text{O}$ PEEP, $\text{FIO}_2 \leq 0,4$	Maschinelle Beatmung mit $> 10 \text{cm H}_2\text{O}$ PEEP, $\text{FIO}_2 > 0,4$
Niere	Kreatininkonzentration im Plasma $\geq 2 \text{mg/dL}$	Hämodialyse
Gastrointestinaltrakt	Akalkulöse Cholezystitis; Streßulzera	Gallenblasenperforation; Gabe von mehr als zwei Erythrozytenkonzentraten in 24 Stunden aufgrund blutender Ulzera; Nekrotisierende Enterokolitis; Pankreatitis
Blutsystem	< 50 Thrombozyten / nL und/oder ≥ 30 Leukozyten / nL	Verbrauchskoagulopathie; $< 2,5$ oder ≥ 60 Leukozyten / nL
Zentralnervensystem	Verlangsamte Reizbeantwortung	Erheblich gestörte Reizbeantwortung und/oder diffuse Neuropathie
Leber	Bilirubinkonzentration im Plasma $\geq 2 \text{mg/dL}$	Bilirubinkonzentration im Plasma $\geq 6 \text{mg/dL}$ oder GOT $\geq 50 \text{U/L}$

Tabelle 7: organbezogene Kriterienliste und Punktezuordnung MODS-Score

Schock

Die Beurteilung der hämodynamischen Situation der Patienten erfolgte mittels der auf dem Notarztprotokoll festgehaltenen initialen Blutdruckwerte:

Ein systolischer Blutdruck unter 80 mmHg innerhalb der ersten Stunde post Trauma gilt als schwerer Schock, ein systolischer Blutdruck zwischen 80 mmHg und 100 mmHg als moderater Schock.

C.2. Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie trennt verschiedene Zellpopulationen mit Hilfe ihrer optischen Eigenschaften. Sie misst die Zellfluoreszenz, die Streuung und Absorption eines definierten Lichtstrahls einer bestimmten und bekannten Wellenlänge, sowie das Zellvolumen bzw. die Granularität. Dabei werden suspensierte Zellen über einen Druckgradienten durch eine Glaskapillare gespült und einzeln von fokussierten Laserstrahlen erfasst. Hier wird ein Argonlaser senkrecht zur Flussrichtung der Zellsuspension verwendet. Jede Zellart produziert so in Abhängigkeit ihrer Größe und Granularität ein spezifisches Muster an Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht.

Die zu untersuchenden Zellen können entsprechend ihrer Oberflächenantigene zusätzlich an spezifische Antikörper, welche mit Fluoreszenzfarbstoff markiert sind, gebunden werden. Das Messen der Fluoreszenz einer einzelnen Zelle gibt über die Menge des an der Zelloberfläche gebundenen fluoreszierenden Farbstoffs und somit über die Menge des Oberflächenantigens Auskunft, wobei bis zu drei verschiedene Farben und somit bis zu drei verschiedene Oberflächenantigene quantitativ erfasst werden können.

Die Leukozyten-Subpopulationen T-Lymphozyten (CD3-positiv), B-Lymphozyten (CD19-positiv) und Monozyten (CD14-positiv) wurden über farbkodierte, monoklonale Antikörper identifiziert und Granulozyten über ihre charakteristische Auftrennung im Forward Light Scatter (FS)- Side Light Scatter (SS) eingegrenzt.

Die Fluoreszenz der mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC, Emissionsmaximum 525 nm, Farbe grün) bzw. Rhodamin 1 (RD1, Emissionsmaximum 575 nm, Farbe rot) gefärbten Antikörper wurde nach Eingrenzung der zu untersuchenden Zellpopulation gemessen und als Mittelwert auf der logarithmischen Skala im Zwei-Parameter-Histogramm dargestellt (Holmes 1992).

Für die hier präsentierten Messungen wurde das Durchflusszytometer Coulter EPICS XL, Coulter Inc., USA, verwendet.

Folgende Kombinationen aus je 100 µl Vollblut und je 10 µl vorgekühlter (4°C) und unverdünnter spezifischer Antikörper, die an fluoreszierende Farbstoffe gebunden sind, wurden vorbereitet:

C62L Expression auf B-Lymphozyten: Anti-human-CD19-RD1 (Coulter, USA) und Anti-CD62L-FITC (Immunotech, Frankreich).

CD62L Expression auf T-Lymphozyten: Anti-human-CD3(IgG1)-RD1 (Coulter, USA) und Anti-CD62L-FITC (Immunotech, Frankreich).

CD62L Expression auf Monozyten: Anti-human-CD14-PE (Immunotech, Frankreich) und Anti-CD62L-FITC (Immunotech, Frankreich).

CD62L Expression auf Granulozyten: Anti-CD62L-FITC (Immunotech, Frankreich); Bestimmung der Granulozyten per Light Scatter (Parks 1989).

Protokolle	Antikörper-FITC	Antikörper RD1/PE	Spezifität der Antikörper	
CD62L auf B-Lymphozyten	Anti-CD62L-FITC	Anti-human-CD19-RD1	CD19+	B-Lymphozyten
CD62L auf T-Lymphozyten	Anti-CD62L-FITC	Anti-human-CD3-RD1	CD3+	T-Lymphozyten
CD62L auf Monozyten	Anti-CD62L-FITC	Anti-human-CD14-PE	CD14+	Monozyten
CD62L auf PMN	Anti-CD62L-FITC	Analyse über FSC, SSC		

Tabelle 8: Übersicht über die Messprotokolle der Durchflusszytometrie

Die folgende Abbildung 5 zeigt das Histogramm-Display des Coulter Epics XL. Beispielhaft dargestellt ist hier das Protokoll CD62L / CD19.

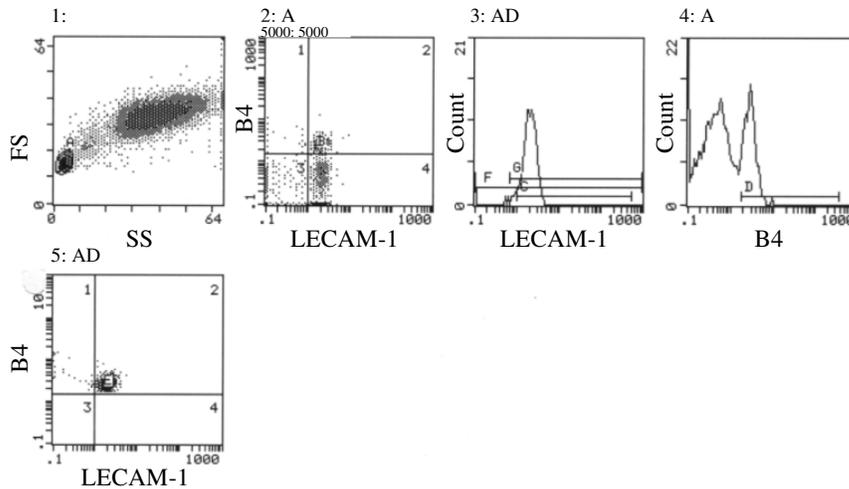


Abbildung 5: In (1:) ist die Auftrennung der Leukozytensubpopulationen im FS-SS-Scatter-Histogramm zu sehen. Es erfolgt die Eingrenzung der als Lymphozyten (A) anzusehenden Zellen.
 (2:) zeigt das Quadstat Histogramm der Lymphozyten (A).
 (3:) zeigt die Single-Parameter-Darstellung der Achse Lecam-1 der in (4:) als B4 (= CD19-positiven)abgegrenzten Zellen. Bestimmung der Mean-Fluoreszenz (G).
 (4:) Single Parameter Darstellung der Achse B4 von (2:). Abgrenzung der CD19-positiven Zellen gegen CD-19-negative Zellen.

C.3. Enzymimmunoassays

Die quantitative Bestimmung der Konzentration der löslichen Selektine erfolgte per Enzymimmunoassay (ELISA) -Technik.

Ein monoklonaler Antikörper gegen ein Selektin ist an der Mikrotitrationsplattenkavität verankert, welcher mit im Verhältnis 1:100 verdünntem EDTA-Plasma bzw. Standards bekannter Selektin- Konzentration für eine Stunde inkubiert wurde. Nach weiterer Inkubation mit an Meerrettichperoxidase (HRP) gebundenem, polyklonalen anti-humanen Immunglobulin für 30 Minuten wurden die nicht gebundenen Antikörper in sechs Waschvorgängen entfernt. Die entstandenen Antikörper-Antigen-Antikörperbrücken wurden für weitere 30 Minuten mit Substrat für die HRP inkubiert. Diese Farbumschlagsreaktion wurde durch Zugabe einer Stopplösung abgebrochen.

Abschließend erfolgte die photometrische Messung bei einer Wellenlänge von 450 nm bei 620 nm Korrekturwellenlänge im Dynatech MR 5000.

Die Berechnung der Konzentrationen erfolgte nach der Regressionsgleichung resultierend aus einer Standardkurve in doppelt-logarithmischer Darstellung.

sE-Selektin ELISA Kits von Bender Med Systems, Österreich (Katalognummer: BMS 205)

- ◆ 96-Loch Mikrotitrierplatten beschichtet mit monoklonalen Maus-Antikörpern gegen humanes sE-Selektin
- ◆ 0,2 ml HRP-Konjugat anti-sE-Selektin monoklonale Antikörper
- ◆ sE-Selektin Standard der Konzentration 50 ng/ml
- ◆ 50 ml Wasch-Puffer in 20facher Konzentration, 0,01% Thimerosal
- ◆ 12ml Probenverdünnung, 0,01% Thimerosal
- ◆ 5ml Assay-Puffer in 20facher Konzentration, 0,01% Thimerosal
- ◆ 7ml Substratlösung I (Tetramethylbenzidin)
- ◆ 7ml Substratlösung II (0,02% gepuffertes Wasserstoffperoxid)

sP-Selektin ELISA Kits von Bender Med Systems, Österreich (Katalognummer BMS 219)

- ◆ 96-Loch Mikrotitrierplatten beschichtet mit monoklonalen Maus-Antikörpern gegen humanes sP-Selektin
- ◆ 0,2 ml HRP-Konjugat anti-sP-Selektin monoklonale Antikörper
- ◆ sP-Selektin Standard der Konzentration 25 ng/ml
- ◆ 50 ml Wasch-Puffer in 20facher Konzentration, 0,01% Thimerosal
- ◆ 5ml Assay-Puffer in 20facher Konzentration, 0,01% Thimerosal
- ◆ 7ml Substratlösung I (Tetramethylbenzidin)
- ◆ 7ml Substratlösung II (0,02% gepuffertes Wasserstoffperoxid)

sL-Selektin ELISA Kits von Bender Med Systems, Österreich (Katalognummer BMS 206)

- ◆ 96-Loch Mikrotitrierplatten beschichtet mit monoklonalen Maus-Antikörpern gegen humanes sL-Selektin
- ◆ 0,2 ml HRP-Konjugat anti-sL-Selektin monoklonale Antikörper
- ◆ sE-Selektin Standard der Konzentration 12,5 ng/ml
- ◆ 50 ml Wasch-Puffer in 20facher Konzentration, 0,01% Thimerosal
- ◆ 5ml Assay-Puffer in 20facher Konzentration, 0,01% Thimerosal
- ◆ 7ml Substratlösung I (Tetramethylbenzidin)
- ◆ 7ml Substratlösung II (0,02% gepuffertes Wasserstoffperoxid)

Für die Analysen aller löslichen Selektine wurden ferner benötigt:

- ◆ 5 ml und 10 ml Pipetten
- ◆ einstellbare Mikropipetten (20 - 1000 μ l) mit Einwegpipettenspitzen (Eppendorf)
- ◆ einstellbare Multichannel-Mikropipetten (50 - 300 μ l) mit Einwegpipettenspitzen (electronic digital pipette, edp)
- ◆ Mikrotitrierplattenwaschgerät (812 SW1, SLT Lab, Straßburg, Frankreich)
- ◆ destilliertes Wasser
- ◆ photometrisches Platten-Lesegerät (Dynatech MR 5000, Kat.Nr. DL 1000)
- ◆ 4N H₂SO₄

C.4. Datenerfassung und statistische Auswertung

Die statistische Datenauswertung erfolgte mittels des Statistikprogramms SPSS, Version 12.0.

Um die prinzipielle Verteilung der Daten zu erfassen und eine Plausibilitätskontrolle der eingegebenen Daten zu erhalten, wurden alle Parameter im Verlauf graphisch dargestellt um extreme Abweichungen (Ausreißer) zu identifizieren. Dabei zeigte sich, dass die Daten nicht normalverteilt waren (Kolmogorov-Smirnov-Test). Aufgrund dieser Tatsache wurden nichtparametrische Verfahren angewendet.

Um signifikante Konzentrationsunterschiede bzw. Unterschiede der Hauptfluoreszenz im Vergleich zum Ausgangszeitpunkt zu bestimmen fand der Wilcoxon-Test Verwendung. Dies ist ein nichtparametrischer Test bei zwei verbundenen Stichproben.

Für Gruppenvergleiche (z.B. SAPS II, APACHE II, MODS, Outcome) wurden Gruppierungen ($n > 10$) vorgenommen und die Messwerte gegeneinander mit Hilfe des Mann-Whitney U-Tests auf signifikante Unterschiede hin untersucht. Anhand der vorgestellten Scoringsysteme (ISS, PTS, APACHE II, SAPS II, MODS) wurden Gruppierungen vorgenommen und deren Einfluss auf die abhängigen Variablen (Selektinwerte) mittels des Mann-Whitney U-Test überprüft. Damit ein Ergebnis als signifikant gewertet wurde, wurde ein $p < 0,05$ vorausgesetzt.

Für die Bestimmung von Sensitivität und Spezifität wurden die Daten mittels einer Receiver-Operating-Characteristic-(ROC) Analyse untersucht. Dabei wird auch ein optimaler Cut-off-Wert (Trennwert) eines Parameters berechnet. Dieser diente dann der Gruppenunterteilung um eine bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman durchzuführen.

Die graphische Darstellung erfolgte als Box-Whisker-Plots, basierend auf Median, Quartile und Extremwerten. Die Box stellt den Interquartilbereich mit 50% der Werte dar. Die von der Box ausgehenden Linien führen jeweils bis zum höchsten und niedrigsten Wert, ohne Ausreißer zu berücksichtigen. Die quer über die Box gelegte Linie gibt die Lage des Medians wieder.