

Aus der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Effekt der Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem
Wundblut auf die im Blut zirkulierenden Zytokine bei Patienten nach
endoprothetischem Gelenkersatz**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Frau Kristin Döring

aus Brandenburg a. d. Havel

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. Th. Volk
2. Prof. Dr. med. A. Heller
3. Priv.-Doz. Dr. med. M. Hensel

Datum der Promotion: 22.02.2008

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Allogene Bluttransfusionen in der orthopädischen Chirurgie	6
1.2	Alternativen zu allogenen Bluttransfusionen	7
1.3	Historische Entwicklung der autologen Bluttransfusion	9
1.4	Aktueller Wissensstand	11
1.5	Zusammenfassung und Zielsetzung	16
1.6	Fragestellung	18
2	Material und Methoden	19
2.1	Patienten	19
2.1.1	Auswahlkriterien	19
2.1.2	Ausschlusskriterien	19
2.1.3	Abbruchkriterien	19
2.2	Studienbeschreibung	20
2.2.1	Aufklärung der Patienten	20
2.2.2	Ablauf der postoperativen Wundblutaufbereitung und Retransfusion	20
2.2.3	Probengewinnung und Datenerhebung	21
2.2.4	Verarbeitung der Proben	22
2.2.4.1	Blutgasanalysen	22
2.2.4.2	Asservierung des Patientenserums	22
2.2.4.3	LPS-Stimulation	22
2.2.5	Messung der Zytokinparameter	22
2.2.5.1	Geräte und Testkits	22
2.2.5.2	Durchführung der ELISAs	23
2.3	Angaben zur Statistik	24
3	Ergebnisse	25
3.1	Patienten	25
3.2	Retransfusionsblutmenge	27
3.3	Systemische Parameter	28
3.3.1	Kreislaufparameter	28
3.3.2	Hämoglobin und Hämatokrit	29
3.4	Immunparameter	31
3.4.1	IL-6	31
3.4.2	TNF-alpha	33
3.4.2.1	Unstimuliertes TNF-alpha	33
3.4.2.2	LPS-stimuliertes TNF-alpha	35
3.4.3	IL-10	37
3.4.4	IL-8	39
3.4.5	MCP-1	41

4	Diskussion	44
4.1	Diskussion der Methode	44
4.2	Diskussion der Ergebnisse	47
4.2.1	Systemische Parameter	47
4.2.1.1	Hämoglobin und Hämatokrit	47
4.2.1.2	Kreislaufparameter	49
4.2.2	Immunparameter	50
4.2.2.1	IL-6	50
4.2.2.2	TNF-alpha	53
4.2.2.3	IL-10	56
4.2.2.4	IL-8 und MCP-1	58
5	Zusammenfassung und Beantwortung der Fragestellung	61
6	Literaturverzeichnis	63
7	Lebenslauf	71
8	Danksagungen	72

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
Aqua dest.	Aqua destillata
ATP	Adenosintriphosphat
BGA	Blutgasanalyse
BMI	body mass index
C.A.T.S.	continious autotransfusion system
COPD	chronic obstructive lung disease
CRP	C-reaktives Protein
DIC	disseminated intravascular coagulation
DPG	Diphosphoglycerat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EK	Erythrozytenkonzentrat
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
HAES	Hydroxyethylstärke
IFN- γ	Interferon- γ
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-10	Interleukin-10
intraop.	intraoperativ
LPS	Lipopolysaccharid
MCP-1	monocyte chemotactic proteine-1
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
präop.	präoperativ
postop.	postoperativ
post transf.	nach Transfusion
TEP	Totalendoprothese
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
Z.n.	Zustand nach

1 Einleitung

1.1 Allogene Bluttransfusionen in der orthopädischen Chirurgie

Der endoprothetische Gelenkersatz von Knie- und Hüftgelenk ist oft mit einem hohem Blutverlust verbunden. So wird bei primärem Kniegelenkersatz der mittlere Blutverlust mit 1934ml angegeben und bei primärem Hüftgelenkersatz mit 1944ml. Noch höher ist der Blutverlust bei Revisionskniegelenkersatz mit durchschnittlich 2528ml und Revisionshüftgelenkersatz mit durchschnittlich 2875ml [53]. Diese Blutverluste erklären die häufige Notwendigkeit von Bluttransfusionen.

Je nach angewendeten Transfusionsrichtlinien erhalten 20-50% der Patienten Bluttransfusionen nach endoprothetischem Gelenkersatz [11,48]. Rosencher et al. verglichen in der OSTHEO-Studie Daten über das Blutmanagement in der Knie- und Hüftendoprothetik [53]. Insgesamt wurden Daten von 4013 Fallberichten führender Zentren aus sechs europäischen Ländern (Frankreich, Deutschland, Italien, Griechenland, Niederlande und Spanien) in die Studie einbezogen. Es zeigte sich, dass von insgesamt 3996 Patienten in dieser Studie sogar 69% Bluttransfusionen benötigten. Das Risiko, Bluttransfusionen zu benötigen, steigt mit verlängerter Operationszeit, höherem Alter der Patienten und niedrigen präoperativen Hämoglobinwerten [33].

Die Transfusion von allogenen Blut und Blutbestandteilen ist mit Nachteilen, wie dem Risiko von Inkompatibilitätsreaktionen, verbunden. Auch besteht die Gefahr, Infektionen zu übertragen. Das Risiko einer transfusionsbedingten viralen Hepatitis beträgt in den USA 1: 5 000, das einer HIV- Infektion 1: 420 000 [36]. Bierbaum et al analysierten die Daten zum Transfusionsmanagement von fast 9500 Patienten nach endoprothetischem Gelenkersatz [11]. Es stellte sich heraus, dass die Transfusion von allogenen Blutkonserven im Vergleich zu autologen Transfusionen erwartungsgemäß mit einer höheren Infektionsrate und verlängertem Krankenhausaufenthalt assoziiert war.

In einigen Studien wird außerdem von einer immunsuppressiven Wirkung allogener Transfusionen auf den Patienten berichtet. So soll die Rezidivrate bei Patienten, die nach vollständiger Resektion bösartiger Tumoren Fremdblutkonserven erhielten, höher sein als bei Patienten, die keine Bluttransfusionen bekamen [6].

Dass bei der immunsuppressiven Wirkung von Fremdblutkonserven neben Allogenen auch lagerungsbedingte Faktoren eine Rolle spielen, zeigten Biedler et al [10]. Sie konnten nachweisen, dass in gelagerten Blutkonserven die durch Lipopolysachharid (LPS)

induzierte Bildung des proinflammatorischen Zytokins Tumornekrosefaktor α (TNF α) vermindert und die Bildung des antiinflammatorisch wirkenden Zytokins Interleukin 10 (IL-10) erhöht ist. Die durch das operative Trauma auftretende Beeinträchtigung des Immunsystems kann durch die immunsuppressive Wirkung der allogenen Bluttransfusion verstärkt werden [9,29]. So wurde nachgewiesen, dass nach operativem Trauma die Zahl der natürlichen Killerzellen und die Bildung von Interferon γ abnimmt [24]. Dieser Effekt wurde noch verstärkt, wenn die Patienten allogene Bluttransfusionen erhielten.

Auf diese Weise erhöhen allogene Bluttransfusionen die Empfänglichkeit des Patienten gegenüber postoperativen Infektionen [30]. Diese Theorie wird durch eine Studie von Carson et al bestätigt [14]. Die Autoren konnten nachweisen, dass Patienten, die während oder nach Hüftfrakturen Fremdblutkonserven erhielten, ein um 35% höheres Risiko für post-operative Infektionen hatten. Das Risiko war um so höher, je mehr Fremdblut transfundiert wurde. Einen Ansatz zur Lösung des Problems liefern Tietze et al. in ihren Untersuchungen. Sie konnten zeigen, dass eine Leukozytenreduktion der Blutkonserven die Immunsuppression nach allogenen Transfusion vermindert [61].

Aus den geschilderten Gründen wird ein zurückhaltender Einsatz von allogenen Bluttransfusionen als vorteilhaft angesehen. Ein weiterer Grund ist, dass durch die steigende Zahl an elektiven Eingriffen auch dementsprechend mehr Blutkonserven mit kompatiblen Blutgruppen bereit gestellt werden müssen. Allein in Deutschland werden im Jahr ca. 200 000 Hüft- und ca. 100 000 Knieendoprothesen eingesetzt. Die Hüftendoprothetik verzeichnete im Jahr 2005 eine Zuwachsrate von 8%. Gerade bei seltenen Blutgruppen sind somit nicht immer genügend Blutkonserven verfügbar. Allogene Blutkonserven sind eine knappe Ressource. Außerdem verlangen nicht zuletzt auch immer mehr Patienten, sei es aus Angst vor den Risiken oder aus religiösen Gründen, den Verzicht auf allogene Blutkonserven.

1.2 Alternativen zu allogenen Bluttransfusionen

Um den Fremdbluteinsatz in der orthopädischen Chirurgie zu verringern, sollten zunächst die hohen Blutverluste bei elektiven Eingriffen minimiert werden. Dies wird zum einen durch eine sorgfältige und gewebeschonende Operationstechnik erreicht. Gleichzeitig sollte auf exakte Blutstillung geachtet werden. Weiterhin spielen die Lagerung des

Patienten und die Verkürzung der Operationszeit eine entscheidende Rolle bei der Reduktion des intraoperativen Blutverlustes.

Trotzdem lassen sich Bluttransfusionen häufig nicht vermeiden. Inzwischen stehen jedoch verschiedene Alternativen zu Fremdblutkonserven zur Verfügung, zum Beispiel die präoperative Eigenblutspende. Wie jede medizinische Intervention hat aber auch diese Methode einige Nachteile und Kontraindikationen. So muss auf Risiken und Komplikationen beim Spendevorgang und den hohen administrativen Aufwand hingewiesen werden. Die Patienten müssen mehrere Wochen vor dem Eingriff mehrmals in ausreichenden Abständen zur Blutspende einbestellt werden. Wird die Operation dann nicht spätestens zehn Wochen nach der Blutspende durchgeführt, muss das Blut verworfen werden. Kosteneinsparungen bei dieser Methode werden erst ersichtlich, wenn man die Behandlungskosten durch infektiöse Komplikationen nach allogenen Blutersatz einbezieht [51]. Des Weiteren ist das Risiko, eine perioperative Anämie zu entwickeln, erhöht. Außerdem kann es bei dieser Methode, genauso wie bei allogenen Transfusionen, zu Verwechslungen und damit zu Inkompatibilitätsreaktionen kommen. Nicht zuletzt spielt auch bei der Eigenblutspende die durch lagerungsbedingte Faktoren ausgelöste Immunsuppression eine Rolle [10], da die Patienten frühestens zehn Tage nach der Eigenblutspende operiert werden können. Kontraindikationen, die eine Eigenblutspende verbieten sind: Anämie, dekompensierte Herzinsuffizienz, instabile Angina Pectoris, Myokardinfarkt innerhalb der letzten drei Monate und koronare Herzerkrankung [26].

Eine weitere Möglichkeit, den Bedarf an Bluttransfusionen zu verringern, ist die präoperative Gabe von Erythropoetin. Dieses regt die Bildung von roten Blutzellen an und kann so die perioperative Erythrozytenmasse erhöhen. Die Erythropoetingabe ist eine sehr kostenintensive Therapie und sollte deshalb vor allem bei den Patienten angewendet werden, für die andere Methoden nicht in Betracht kommen. So sind hier Patienten mit therapieresistenter chronischer Anämie, wie sie unter Kortisontherapie, bei Kollagenosen oder chronischen Nierenerkrankungen entstehen kann, zu nennen. Für diese Patienten ist die Eigenblutspende kontraindiziert. Eine Alternative ist die Erythropoetingabe auch bei Patienten wie den Zeugen Jehovas, die aus religiösen Gründen kein extrakorporales Blut transfundiert bekommen wollen.

Mehrere Studien konnten eine effektive Reduktion des intraoperativen Blutverlustes und damit eine Verminderung des Transfusionsbedarfs durch den Einsatz der induzierten hypotensiven Anästhesie nachweisen [38,40]. Bei dieser Methode werden Nitroprussid, Nitroglycerin und eine tiefe Isofluran-Anästhesie eingesetzt und der arterielle Mitteldruck

auf Werte bis zu 60mmHg abgesenkt. Angewendet wird die induzierte hypotensive Anästhesie vor allem in der Wirbelsäulenchirurgie und bei orthopädischen Hüftoperationen. Kontraindikationen sind angeborene und erworbene Herzerkrankungen, koronare Herzkrankheit, schlecht eingestellter arterieller Hypertonus, erhöhter intrakranieller Druck und signifikante zerebrovaskuläre Erkrankungen [49]. Dadurch kommt diese Methode bei Patienten, die einen endoprothetischen Gelenkersatz erhalten, eher selten in Betracht. Diese sind nämlich im Mittel 70 Jahre alt und weisen häufig relevante Begleiterkrankungen auf [53].

Der postoperative Blutverlust kann auch durch Verzicht auf intraartikuläre Drainagen vermindert werden. Nachteilig bei dieser Methode sind jedoch vermehrte Hämatombildungen und Wundheilungsstörungen, wodurch die Mobilisation konsekutiv verzögert wird [41].

Eine seit langem erforschte und viel diskutierte Methode, um die Rate allogener Bluttransfusionen zu vermindern, ist die postoperative Retransfusion von Drainageblut. Verschiedene Autoren konnten bereits zeigen, dass die postoperative Retransfusion von Wundblut den Bedarf an Fremdbluttransfusionen nach Hüft- und Kniegelenkersatz ohne Einfluss auf die postoperativen Hämoglobinwerte reduziert [15,33,44,60]. So liefert die postoperative Drainage des Wundblutes in etwa die Blutmenge von zwei Erythrozytenkonzentraten, nämlich durchschnittlich 575ml [50]. Munoz berichtet außerdem, dass durch die Retransfusion des Drainageblutes aufgrund kürzerer Krankenhausverweildauer Kosten eingespart werden können. Verantwortlich dafür ist die verminderte Inzidenz postoperativer Infektionen durch Fremdblutkonserven [44,45].

Es lohnt sich also, diese Methode näher zu betrachten. Zunächst ein Rückblick zu den Anfängen der autologen Bluttransfusion.

1.3 Historische Entwicklung der autologen Bluttransfusion

Die Retransfusion von ungewaschenem Wundblut ist keine neue Methode, sondern geht zurück zu den Anfängen der Transfusionsmedizin und basiert auf den Erfahrungen von ca. 190 Jahren.

Bereits 1818 wandte James Blundell in London die Autotransfusion bei zehn Frauen an, die an starken postpartalen Blutungen litten und konnte fünf von ihnen retten [zitiert in 59]. 1885 berichtete Miller und 1886 Duncan über erfolgreiche intraoperative

Autotransfusion bei Patienten, die traumatische Amputationen von Extremitäten erlitten hatten [zitiert in 59]. Duncan soll berichtet haben, er sei beeindruckt davon gewesen, dass selbst kleine Mengen an Blut einen unmittelbaren und anhaltenden Erfolg zeigten.

1914 veröffentlichte Theis die erste Fallbeschreibung einer Technik, mit der man Blut aus der Bauchhöhle sammeln und retransfundieren konnte. Davis und Cushing beschrieben 1925 22 Fälle, bei denen sie die Blutverluste während oder nach großen intrakraniellen Eingriffen mittels Autotransfusion ersetzten [zitiert in 59]. Die Methoden waren damals sehr einfach und nicht mit den heutigen Standards vergleichbar. Das Blut wurde aus der Wunde abgesaugt, mit einigen Millilitern einer Natrium-Citrat-Lösung gemischt, durch sterile Gaze gefiltert und in eine periphere Vene infundiert. Die Technik erlaubte den Operateuren jedoch die komplette Exstirpation von Meningeomen in einer Operation.

1943 berichteten Griswold und Ortner von 100 Fällen, bei denen Autotransfusionen nach Abdomen- und Thoraxtraumata angewandt wurden [zitiert in 59]. Sie beschrieben nur einen durch fehlerhafte Technik ausgelösten Todesfall. Daraus schlossen sie, dass selbst die Transfusion von stark kontaminiertem Blut besser sei, als gar keine Transfusion.

1966 entwickelte Dyer das erste Autotransfusionssystem mit Einwegbehältern, Pumpen und Filtern, das den heutigen Standards nahe kommt [21]. Er wollte in einer Zeit, wo der Bedarf an Blutkonserven ständig wuchs und Fremdblut nicht immer verfügbar war, ein einfaches und sicheres System für die Autotransfusion etablieren. Dyer schreibt, Eigenblut hat den Vorteil, dass es keine Inkompatibilitätsreaktionen auslöst, immer verfügbar und wirtschaftlich ist.

Zunächst wurde die Methode der Retransfusion hauptsächlich bei gynäkologischen und traumatologischen Notfällen angewandt. Im Jahr 1975 wird berichtet, dass die Retransfusion inzwischen nicht nur in Notfallsituationen, sondern auch bei einer Reihe elektiver Eingriffe mit Blutverlusten ab 1000ml Verwendung findet [59]. Es wurde gezeigt, dass Patienten Autotransfusionen bis 3500ml gut vertragen. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass ab einem Retransfusionsvolumen von sieben Litern, die Mortalitätsrate 81% beträgt. Wobei die hohe Mortalitätsrate hier sicherlich nicht nur mit dem hohen Retransfusionsvolumen, sondern auch mit dem größeren Trauma in Zusammenhang steht.

Man begann, die Inhaltsstoffe des Retransfusionsblutes im Labor zu untersuchen und mit homologem Blut zu vergleichen. Es wurde gezeigt, dass aufgrund der starken Hämolyse im Wundblut der Erythrozytengehalt und der Hämatokrit absinkt sowie der Anteil an freiem Hämoglobin sehr hoch ist. Auch Gerinnungsstörungen durch geringere Thrombozytenzahlen mit alterierter Funktion und vermindertem Fibrinogengehalt wurden im Wundblut

nachgewiesen. Es wurde darauf hingewiesen, dass dadurch eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) ausgelöst werden könnte [59]. Daraufhin wird empfohlen, den Patienten zusätzlich Plasma- und Thrombozytenkonzentrate zu geben, wie es auch nach massiven Fremdbluttransfusionen üblich ist. Insgesamt wurden die bis dahin gewonnenen Erfahrungen mit der Retransfusion von Wundblut positiv beurteilt.

1.4 Aktueller Wissensstand

Mit der steigenden Angst vor durch Blutprodukte übertragbaren Krankheiten, wie Hepatitis oder AIDS, wuchs in den 90er Jahren die Nachfrage von Ärzten und Patienten nach Alternativen zu Fremdblutkonserven. Autologe Blutkonserven wurden immer gebräuchlicher, um den perioperativen Blutverlust, insbesondere bei elektiven Eingriffen, auszugleichen. Seit den 80er Jahren wird die Retransfusion von Drainageblut erfolgreich in der orthopädischen Chirurgie angewendet.

Es gibt prinzipiell die Möglichkeit, das Wundblut gewaschen oder ungewaschen zu retransfundieren. Beim Waschvorgang wird das Drainageblut in der Regel in automatischen Autotransfusionssystemen zunächst zentrifugiert und dann mit isotoner Kochsalzlösung gewaschen. Dadurch entsteht ein Erythrozytenkonzentrat, welches 80% weniger Leukozyten und auch weniger Entzündungsmediatoren und Trümmerfragmente enthält [8]. Für die Retransfusion von ungewaschenem Blut benötigt man spezielle Drainagesysteme. Diese verfügen über einen Sammelbehälter, in den das Blut aus dem Operationsgebiet mittels negativem Druck oder passiv abgesaugt wird. Danach wird das Blut gefiltert und in einen Transfusionsbeutel überführt, aus dem das Blut nach nochmaliger Filterung retransfundiert werden kann.

Von vielen Autoren wurde gezeigt, dass sowohl die intraoperative Gabe von gewaschenem Wundblut als auch die postoperative Gabe von gewaschenem oder ungewaschenem Wundblut die Rate an homologen Bluttransfusionen senkt [16,22,55,57,64]. Bei 90-95% der Patienten, die eine Gelenksendoprothese erhalten, kann mit der intraoperativen Transfusion von gewaschenem Wundblut die Gabe von Fremdblutkonserven vermieden werden [58]. Im folgenden werde ich mich auf die Studienlage zur Retransfusion von postoperativ gewonnenem Wund- bzw. Drainageblut beziehen, da diese die Grundlage unserer Untersuchungen bildet.

Sowohl das gewaschene als auch das ungewaschene, gefilterte Wundblut wurde in zahlreichen Studien untersucht und sein Nutzen oft kontrovers diskutiert. Zunächst werde ich einen Überblick über die Studienlage zur Retransfusion von ungewaschenem Wundblut geben.

Einige Autoren bezweifeln den Nutzen und die Sicherheit dieser Methode [28], insbesondere, da von einer signifikanten Morbiditäts- und sogar Mortalitätszunahme im Zusammenhang mit der Transfusion von ungewaschenem Wundblut berichtet wurde. Bis jetzt konnten diese unerwünschten Wirkungen jedoch nicht eindeutig der Methode selbst zugeschrieben werden.

Ungewaschenes Wundblut ist eine verdünnte Mischung aus verschiedenen Blutzellen, Plasma, aktivierten Gerinnungs- und Komplementfaktoren, fibrinolytischen Produkten, freiem Hämoglobin und anderen Trümmerfaktoren. Der Hämatokrit des Drainageblutes ist vermindert und liegt durchschnittlich bei 20-35% [16,22,50]. Dies wird auf Verdünnungseffekte, unter anderem aufgrund von Spülflüssigkeit zurückgeführt, wodurch auch der Hämoglobingehalt und die Thrombozytenzahl vermindert wird.

Die häufigsten Nebenwirkungen, die nach Retransfusion von ungewaschenem Wundblut auftraten, sind fieberhafte Reaktionen. Aber es wurden auch schon Fälle von hämodynamischer Instabilität mit Hypotension beschrieben. Es soll sogar ein Patient einen akuten Myokardinfarkt im Zusammenhang mit der Gabe von ungewaschenem Drainageblut erlitten haben [55].

Daraufhin wurden die genauen Inhaltsstoffe des ungewaschenen Drainageblutes untersucht und nach den Ursachen dieser Komplikationen geforscht. Man fand im Drainageblut hohe Konzentrationen molekularer Mediatoren wie Zytokine, Phospholipidprodukte von Zellmembranen, reaktive Sauerstoff-Metabolite und aktivierte Zellen als wahrscheinliche Auslöser dieser unerwünschten Reaktionen [23,27].

Sebastian et al. untersuchten in einer Studie die Qualität des Drainageblutes und insbesondere die Funktion der Erythrozyten [54]. Sie konnten keine Störung der Morphologie und des Metabolismus der Erythrozyten und auch keine Erhöhung ihrer Fragilität nachweisen. Daraus schlossen die Autoren, dass das Wundblut eine exzellente Quelle für Erythrozyten mit normaler Funktion ist. Auch die Untersuchungen von Mottel-Link et al. bestätigen diese Vermutung. Sie wiesen nach, dass die osmotische Fragilität der Erythrozyten durch Retransfusionssysteme nicht beeinträchtigt wird, insbesondere wenn ein System ohne Zusatz von Antikoagulantien benutzt wird [43]. Sebastian et al. wiesen jedoch darauf hin, dass es trotz unbeeinträchtigter Funktion der Erythrozyten nach

Retransfusion von Drainageblut zu erhöhten Werten von CK, LDH, GOT und GPT kommt. Dies sei nicht primär bedenklich, sollte jedoch Beachtung finden, wenn die Enzyme für diagnostische Zwecke verwendet werden [54].

Weitere Untersuchungen zeigten, dass die Konzentration des freien Hämoglobins im Drainageblut durch Hämolyse stark erhöht ist [12,22]. Es wurde gewarnt, der hohe Gehalt an freiem Hämoglobin könne die Nieren schädigen [28]. In Studien wurde jedoch nachgewiesen, dass bei Wundbluttransfusionen bis 1000ml die Konzentration des Haptoglobins im zirkulierenden Blut ausreicht, um das freie Hämoglobin zu binden [12]. Schäden der Nieren durch die hohe Konzentration an freiem Hämoglobin sind deshalb nicht zu befürchten.

Untersuchungen zeigten weiterhin, dass Gerinnungsfaktoren wie Fibrinogen, Faktor VIII, Faktor V, Plasminogen und Antithrombin III im Drainageblut auf mehr als die Hälfte der Normwerte reduziert sind [12,22,57]. Zu diesen Ergebnissen kamen auch Silva et al in tierexperimentellen Untersuchungen zu Auswirkungen der Retransfusion von Drainageblut auf Gerinnungsparameter [56]. Die Autoren wiesen außerdem eine verminderte Anzahl sowie eine Dysfunktion der Thrombozyten nach Retransfusion von Drainageblut nach. Dies äußerte sich in einer verlängerten Blutungszeit bei der Gruppe, die Drainageblut retransfundierte bekam. Trotzdem wurden in klinischen Studien keine signifikanten Beeinträchtigungen der Gerinnungszeiten im Patientenblut nach Retransfusion nachgewiesen [52,54]. Munoz et al. fassten in ihrer Veröffentlichung zusammen, dass in 13 Studien zur postoperativen Wundblutretansfusion mit fast 700 Patienten keine klinisch relevanten Gerinnungsstörungen oder verstärkte Blutverluste auftraten [44].

Viele Autoren beschrieben bei ihren Untersuchungen des ungewaschenen Drainageblutes einen starken Anstieg proinflammatorischer Zytokinen wie TNF- α , IL-1 α , IL-6 und IL-8 [3,5,7,27]. Im Blut des Patienten konnten jedoch nach der Transfusion des Drainageblutes nur erhöhte Werte von IL-6 und IL-8 nachgewiesen werden [3,7,27,37,58]. Jacobi et al zeigten demgegenüber, dass die Zytokinspiegel nach Retransfusion innerhalb physiologischer Grenzen bleiben [32]. Handel et al. stellten bei ihren Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen steigenden IL-6-Konzentrationen und dem Auftreten fieberhafter Reaktionen fest [27]. In einer Studie von Southern et al traten, im Gegensatz zu Handel, trotz erhöhter IL-6 Werte nach Retransfusion keine unerwünschten Reaktionen wie Fieber, kardiale oder renale Dysfunktionen auf [58]. Auch Altinel et al. stellten keine erhöhte Fiebertemperatur nach Retransfusion von ungewaschenem Wundblut im Vergleich zu Patienten, die homologe Bluttransfusionen erhielten, fest [2]. Die Autoren folgerten

daraus, dass die Retransfusion von ungewaschenem Drainageblut keinen Effekt auf die postoperative Thermoregulation des Körpers hat.

Weiterhin wurde untersucht, ob eine Leukozytenreduktion mittels spezieller Filter Vorteile in Hinblick auf die erhöhten Konzentrationen der Entzündungsmediatoren im Drainageblut bringt. Tatsächlich führte die Leukozytenreduktion mittels Filterung des Blutes zu Verminderung der TNF- α - und IL-8-Konzentrationen im Drainageblut. Gleichzeitig wurde jedoch eine verstärkte Komplementaktivierung nachgewiesen [18,45].

Die Frage ist, welche Vorteile das Waschen des Wundblutes bringt. Werden potentiell schädliche Stoffe wie Zytokine, aktivierte Leukozyten, Trümmerfragmente und das freie Hämoglobin vollständig entfernt und damit Komplikationsraten nach Retransfusion vermindert? Auch hier sind die Meinungen über den Nutzen gegensätzlich. Die intraoperative Aufbereitung des Wundblutes mittels Cell-Saver und anschließende Retransfusion ist bereits eine häufig angewandte und etablierte Methode. Vorteilhaft am intraoperativen Einsatz der maschinellen Blutaufbereitungssysteme ist auch hier die nachgewiesene Einsparung von allogenen Blutkonserven [42,55]. Die Frage ist jedoch, ob für die postoperative Retransfusion des Drainageblutes die vorherige Aufbereitung durch Waschen notwendig und vorteilhaft ist.

Zur Qualität von gewaschenem Wundblut gibt es Untersuchungen von Bentzien et al. [8]. Die Autoren berichteten, dass der Hämatokrit durch den Waschvorgang und die Konzentrierung des Blutproduktes ansteigt. So hat das gewaschene Blut einen Hämatokrit von 60%, wohingegen ungewaschenes Wundblut nur einen durchschnittlichen Hämatokrit von 20% hat. Auch der Hämoglobingehalt und der relative Erythrozytenanteil nehmen durch die Konzentrierung des Blutproduktes deutlich zu. Histologische Untersuchungen zeigten jedoch vielfach Veränderungen der Erythrozytenmorphologie, die eine verkürzte Lebensdauer und verstärkte Hämolyse neigung vermuten lassen [8]. Dem gegenüber wurden im ungewaschenen Wundblut wie oben beschrieben morphologisch und funktionell einwandfreie Erythrozyten nachgewiesen [54]. Vorteile sehen Bentzien et al. in der Eiweißelimination von über 95% durch den Waschvorgang. Weiterhin zeigten Allen et al. in ihren Untersuchungen, dass die Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine wie IL-6, IL-8 und TNF- α um über 90% reduziert werden [1]. Daher spekulierte man, dass nach Retransfusion von gewaschenem Wundblut geringere Komplikationsraten zu erwarten wären.

Clements et al. verglichen die Komplikationsraten bei Patienten nach Retransfusion von gewaschenem bzw. ungewaschenem Wundblut [16]. Bei ihren Untersuchungen zeigte sich, dass die Patienten, die gewaschenes Blut erhielten, keinerlei Nebenwirkungen hatten. Dem gegenüber traten in der Gruppe, die ungewaschenes Wundblut bekam, vereinzelt Hypotonie und Hyperthermie auf.

Andere Autoren stellten den Vorteil des Waschvorgangs in Frage. Bentzien et al. [8] konnten mit ihren Untersuchungen zeigen, dass durch maschinelle Aufbereitungsverfahren die hohen IL-6- und IL-10-Konzentrationen im gesammelten Drainageblut deutlich reduziert werden. Der Leukozytengehalt nimmt durch die Aufbereitung um etwa 80% ab. Es bleibt also noch ein erheblicher Rest an Leukozyten im aufbereiteten Blut erhalten. Außerdem wurde, im Gegensatz zu den oben erwähnten Untersuchungen von Allen et al. [1], eine Zunahme der TNF- α -Konzentration im gewaschenen Blut nachgewiesen. Die Autoren führen diese Beobachtung auf eine erhöhte Aktivität der im aufbereiteten Blut verbleibenden mononukleären Zellen zurück. Die verbleibenden Leukozyten zeigten zudem im Ausstrichpräparat morphologische Auffälligkeiten. Zahlreiche Leukozyten waren zerstört oder in Lyse begriffen. Außerdem ist durch die maschinelle Wundblutreinigung eine Stimulation der zytokinproduzierenden Immunzellen zu erwarten. Bestätigt sehen die Autoren diese Vermutung durch den gestiegenen TNF- α -Gehalt nach dem Waschvorgang. Ausgelöst wird dies zum einen durch den Kontakt mit anderen Zellen, Gewebebestandteilen und mit Fremdoberflächen. Zum anderen ist das Aufsaugen und die anschließende Zentrifugation der Blutzellen mit einem erheblichen mechanischen Trauma verbunden. Eine vermehrte Expression von bestimmten Rezeptormolekülen auf Leukozyten im gewaschenen Wundblut ist nachgewiesen worden. Dies wird als Ausdruck der Zellaktivierung gewertet [17]. Diese Auffälligkeiten spiegeln die erheblichen unphysiologischen Einflüsse wider, die bis zur Fertigstellung eines autologen Erythrozytenkonzentrates auf die einzelnen Blutzellen einwirken.

Eine weitere Studie, die die Vorteile der maschinellen Aufbereitung in Frage stellt, stammt von Bottner et al. [13]. Sie wiesen in gewaschenem Drainageblut signifikant höhere Konzentrationen von IL-6 und IL-8 nach. Keine Unterschiede fanden sie im Hinblick auf die Konzentrationen von TNF- α und IL-1 β bei den Untersuchungen vor und nach der Aufbereitung des Drainageblutes. Auch auf die Zytokinkonzentrationen im Blut der Patienten nach Retransfusion schien der Waschvorgang keinen Einfluss zu haben. Die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 stiegen nach der Retransfusion in der Zirkulation aller Patienten an. Es zeigte sich jedoch kein Unterschied zwischen der Gruppe, die

gewaschenes Blut erhielt, und der Gruppe, die aufbereitetes Eigenblut erhielt. Die Autoren folgern daraus, dass dieser Zytokinanstieg durch den chirurgischen Eingriff und nicht durch die Wundblutrettransfusion induziert wird.

Der Vorteil des teuren maschinellen Aufbereitens des Drainageblutes vor der Retransfusion ist also zweifelhaft. Insbesondere im Hinblick auf eine Entzündungsaktivierung im Blut der Patienten konnten bis jetzt keine eindeutigen Vorteile durch den Waschvorgang nachgewiesen werden.

1.5 Zusammenfassung und Zielsetzung

Der endoprothetische Gelenkersatz von Hüft- und Kniegelenk ist mit hohen Blutverlusten verbunden. Daraus resultiert, dass 20-50% der Patienten postoperativ Blutkonserven benötigen. Da die Transfusion von Fremdblut mit erheblichen Nachteilen wie Inkompatibilitätsreaktionen, Übertragung von Infektionen und immunsuppressiven Effekten auf das Immunsystem verbunden ist, wird seit vielen Jahren nach Alternativen gesucht.

Eine sehr vielversprechende, einfache und kostensparende Alternative ist die Transfusion von postoperativ gesammeltem Drainageblut. Doch auch diese Methode ist nicht frei von Komplikationen und wird in der Literatur kontrovers beurteilt.

Problematisch ist, dass die komplexen Vorgänge die nach der Retransfusion im Körper ausgelöst werden, noch nicht vollständig geklärt sind. Es ist zudem schwierig abzugrenzen, ob die Vorgänge durch die Retransfusion selbst oder durch Operation und Anästhesie ausgelöst werden. Daher kann nicht genau gesagt werden, welche Faktoren für Komplikationen und Nebenwirkungen, von denen im Zusammenhang mit der Wundblutrettransfusion berichtet wurde, verantwortlich sind. Sicher ist, dass hohe Konzentrationen an freiem Hämoglobin, Zytokinen, aktivierten Zellen und Trümmerfragmenten aus dem Operationsgebiet im Drainageblut nachgewiesen wurden. Es wird vermutet, dass diese Faktoren für die vereinzelt auftretenden fieberhaften Reaktionen nach Wundblutrettransfusion verantwortlich sind. Eine nicht unerhebliche Rolle scheinen hier die Zytokine, insbesondere IL-6, zu spielen. Zytokine sind Entzündungsmediatoren der Immunzellen und spiegeln die Aktivität des Immunsystems wider. Es wurde nachgewiesen, dass zum Beispiel IL-6 die Produktion von Akut-Phase-Proteinen in der Leber anregt und regelnd in das Temperaturzentrum im Hypothalamus eingreift. In

Studien wurde gezeigt, dass die Höhe der IL-6 Konzentration im Blut des Patienten mit dem Auftreten von fieberhaften Reaktionen korreliert [27]. Es scheint also vorteilhaft zu sein, wenn durch den Waschvorgang die hohen Zytokinspiegel im Drainageblut gesenkt werden. Verschiedene Autoren untersuchten deshalb, ob die Aufbereitung des Drainageblutes einen Vorteil bringt. Die Ergebnisse der Studien waren nicht einheitlich. Zwar zeigten einige Autoren, dass die Komplikationsrate nach Retransfusion von gewaschenem im Vergleich zur Retransfusion von ungewaschenem Blut absinkt, andere wiederum wiesen eine erhöhte Aktivität von Immunzellen nach der maschinellen Aufbereitung nach.

Diese kontroversen Ergebnisse waren der Anlass für unsere Untersuchungen. So interessierte uns besonders, ob es nach der Retransfusion von gewaschenem Blut, welches Studien zufolge geringere Zytokinkonzentrationen enthält, trotzdem zu einem relevanten Anstieg von Entzündungsmediatoren in der Zirkulation kommt. Sollten nach Retransfusion von gewaschenem Blut geringere Konzentrationen an Zytokinen im Blut der Patienten nachgewiesen werden, spricht das für eine weniger starke Aktivierung des Immunsystems. In diesem Fall könnte durch den Waschvorgang die Komplikationsrate nach Wundblutretansfusion vermindert werden.

Die Komplikationsrate korreliert mit den Zytokinspiegeln im Patientenblut nach Retransfusion von Wundblut, insbesondere mit der Konzentration von IL-6 [27]. Entscheidend für die Komplikationsrate nach Retransfusion ist vorliegenden Studien zufolge also nicht der Zytokinspiegel im Drainageblut, sondern die Zytokinantwort im Blut des Patienten. Dies wird durch mehrere Studien bewiesen, die zeigen, dass im Drainageblut zum Beispiel hohe Konzentrationen von TNF- α , IL-1 α und IL-8 vorhanden sind, diese im Blut des Patienten nach Retransfusion jedoch nicht signifikant ansteigen [3,5,7,27,37,58].

In unserer Studie untersuchten wir die Zytokinspiegel von TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10 und MCP-1 sowohl im Drainageblut als auch im Blut des Patienten vor und nach Retransfusion. Es ist bekannt, dass IL-6 und TNF- α eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung des Entzündungsvorganges im Körper spielen. IL-10 gilt als eher immun-supprimierender Parameter, wirkt also antagonistisch zu IL-6 und TNF- α . IL-8 und MCP-1 wirken als chemotaktische Faktoren und locken Entzündungszellen in das betroffene Gebiet. Erhöhte Konzentrationen sprechen also ebenfalls für eine aktivierte Entzündungsreaktion. Die Funktion der Monozyten und Makrophagen untersuchten wir durch Stimulation mit Lipopolysachharid. Intakte Zellen sollten auf die Stimulation mit

Lipopolysachharid mit einer erhöhten Ausschüttung von TNF- α reagieren. Ein fehlender Anstieg dieses Zytokins nach LPS-Stimulation würde für eine alterierte Funktion von Monozyten und Makrophagen sprechen, also für eine Immunsuppression.

1.6 Fragestellung

In der von uns durchgeführten Studie untersuchten wir die Auswirkungen der Retransfusion von gewaschenem bzw. ungewaschen Wundblut auf Immunparameter im Blut der Patienten.

Dabei stellten wir uns folgende Fragen:

1. Wie wirkt sich die Retransfusion von gewaschenem Wundblut im Vergleich zur Transfusion von ungewaschenem Wundblut auf die zirkulierenden Zytokine im Blut der Patienten aus?
2. Hat der Waschvorgang Einfluss auf monozytäre Funktionsparameter wie die LPS-stimulierte TNF- α -Sekretion?

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

2.1.1 Auswahlkriterien

Nach Zustimmung der lokalen Ethikkommission begannen wir mit der Aufklärung der Studienpatienten. Im Zeitraum von März 2004 bis November 2006 wurden nach präoperativer Aufklärung und Einverständniserklärung insgesamt 24 Patienten mit anstehender Operation zum primären Kniegelenkersatz bzw. Revisions-Hüftgelenkersatz in die Untersuchungen eingeschlossen.

Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Patienten mindestens 18 Jahre alt sein, der Klassifizierung I-III der American Society of Anesthesiology entsprechen („ASA I-III“), sowie eine Operation zum primären Kniegelenkersatz bzw. Revisions-Hüftgelenkersatz erhalten.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden Patienten, die nicht in die Studie einwilligten, noch nicht das 18. Lebensjahr erreicht hatten und präoperativ Infektparameter wie erhöhte Leukozytenzahl, erhöhtes CRP oder Fieber zeigten. Des weiteren führten Gerinnungsstörungen mit veränderter aPTT oder verändertem Quick-Wert, sowie Infektionen oder Tumoren im Wundbereich und Schwangerschaft zum Ausschluss des Patienten.

2.1.3 Abbruchkriterien

Die Untersuchungen an einem Patienten wurden abgebrochen, wenn wir als Untersucher zu dem Schluss kamen, dass der Abbruch im Interesse des Patienten ist, also insbesondere im Fall von Operations- und Narkosekomplikationen. Außerdem beendeten wir die Studienuntersuchungen, wenn während der Operation desinfizierende Wundspülungen notwendig wurden. Des weiteren wurden die Untersuchungen abgebrochen, wenn der Patient es verlangte.

2.2 Studienbeschreibung

2.2.1 Aufklärung der Patienten

Die Aufklärung der Patienten über die Operation und damit verbundene Risiken erfolgte durch die operierenden Orthopäden. Vor Einschluss in die Studie wurden die Patienten zusätzlich von einem Anästhesisten über die Möglichkeit zur Teilnahme an der Studie informiert. In diesem Gespräch wurden die Patienten über das Ziel und den Nutzen der Studie sowie den Ablauf der notwendigen Untersuchungen aufgeklärt. Es wurden die Zeitpunkte der Blutentnahmen und das Kreislaufmonitoring sowie die Aufbereitung und Retransfusion des Wundblutes erläutert. Außerdem wurden die Patienten über mögliche Risiken, die Vertraulichkeit der erhobenen Daten sowie über Versicherungsfragen und die Freiwilligkeit der Teilnahme aufgeklärt.

Insgesamt wurden ca. 50 Patienten für die Studie aufgeklärt, von denen jedoch nur 24 vollständig in die Untersuchungen eingeschlossen werden konnten. Ausschließen mussten wir Patienten, die nicht in die Studienuntersuchungen einwilligten, präoperativ erhöhte Infektparameter zeigten und intraoperativ antiseptische Wundspülungen erhielten. Fünf Patienten verlangten nach bereits begonnenen Untersuchungen den Abbruch derselben.

Bereits im Vorfeld wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie der Charité eine Randomisierungsliste erstellt, mit deren Hilfe die eingeschlossenen Patienten auf zwei Behandlungsgruppen zufällig verteilt wurden. In Gruppe A wurde das Wundblut nach Aufbereitung in einem Cell-Saver (CATS, Fa. Fresenius-Kabi, Bad Nauheim) gewaschen retransfundiert. In Gruppe B wurde das Wundblut ungewaschen retransfundiert.

2.2.2 Ablauf der postoperativen Wundblutaufbereitung und Retransfusion

Die Operation und Narkosedurchführung erfolgte nach den Standards der Kliniken für Orthopädie und Anästhesiologie des Campus Charité Mitte. Alle Patienten wurden am Ende der Operation mit einer speziellen Wunddrainage (CostaVac™ CBC II; Stryker® Instruments) versorgt. Diese ist mit einem 0,45 Mikron Luftfilter und einem 200 Mikron Vorfilter ausgestattet. Das Wundblut wird über ein elektrisches Einwegsystem mit Sogregulierung in 3 Stufen von 25-100mmHg in einem Blutsammelsystem mit 800ml Füllvermögen gesammelt. An den Sammelbehälter ist ein handelsübliches Transfusionsset

mit 200 Mikron Tropfkammerfilter angeschlossen, über welches die Tranfusion erfolgte. Die Patienten wurden nach der Operation in den Aufwachraum oder auf die Intensivstation verlegt, wo dann die Studienuntersuchungen durchgeführt wurden. Die Retransfusion des Wundblutes erfolgte fünf Stunden postoperativ. Für die Retransfusion wurde das Blut in den Transfusionsbeutel des Stryker®-Systems abgelassen. Dabei verblieben die letzten 60-80ml des Wundblutes im Drainagebehälter, damit Fettpartikel und andere Trümmerfragmente aus dem Wundgebiet nicht in das Retransfusat gelangten. Je nach Gruppenzuteilung des Patienten wurde das Wundblut entweder ungewaschen direkt aus dem Transfusionsbeutel des Stryker®-Systems oder nach maschineller Aufarbeitung transfundiert. Die Aufarbeitung erfolgte über ein in der täglichen Routine in der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin eingesetztes Cell-Saver-Gerät (Continious Autotransfusions System (C.A.T.S.), Fresenius Hemo Care, Fresenius AG Netherlands). In diesem Gerät wird das Wundblut erst zentrifugiert und dann mit isotoner Kochsalzlösung gewaschen. Das dadurch gewonnene gewaschene Erythrozytenkonzentrat wurde durch Auffüllen mit isotoner Kochsalzlösung auf das Ausgangsvolumen gebracht und dann retransfundiert.

2.2.3 Probengewinnung und Datenerhebung

Insgesamt wurden zu sechs Zeitpunkten Blutproben entnommen. Die Blutprobenentnahmen von den Patienten erfolgten zu folgenden Zeiten: präoperativ unmittelbar vor Narkoseeinleitung, eine und fünf Stunden postoperativ sowie fünf Minuten und eine Stunde nach der Retransfusion. Dabei wurden jeweils ein Plastikröhrchen (BD Vacutainer™ Systems; Plymoth, United Kingdom) für Blutgasanalyse sowie zwei EDTA-Röhrchen und ein heparinisierendes Röhrchen (S-Monovette®, Sarstedt; Nümbrecht, Germany) Blut entnommen.

Vor der Retransfusion und dem eventuellen Waschvorgang wurde auch aus dem Transfusionsbeutel jeweils ein BGA-Röhrchen, ein heparinisierendes Röhrchen und zwei EDTA-Röhrchen Drainageblut entnommen.

Zusätzlich wurden zu den oben genannten Zeitpunkten folgende Kreislaufparameter vom Monitor abgelesen und notiert: diastolischer und systolischer Blutdruck, Mitteldruck und Herzfrequenz.

2.2.4 Verarbeitung der Proben

2.2.4.1 Blutgasanalyse

Sofort nach Blutentnahme wurde die Blutgasanalyse durchgeführt (ABL 700 Series, Radiometer; Kopenhagen).

2.2.4.2 Asservierung des Patientenserums

Die EDTA-Röhrchen wurden 10min bei 2500g zentrifugiert (Allegra 2IR-Centrifuge, Beckmann Coulter). Danach wurde der Überstand abpipettiert und in Eppendorfgläsern bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C (Tiefkühlschrank, Sanyo Ultra Low) tiefgefroren.

2.2.4.3 LPS-Stimulation

Für die LPS-Stimulation der heparinisierten Röhrchen wurde zunächst steril unter einer Sicherheitswerkbank (Technoflow Integra Bioscience 2F 180- II GS) die Stimulationslösung zubereitet. Dafür wurde lyophilisiertes LPS (10 000pg, Milena ex vivo stimulation (MKEVS), Milena Biotec) im Originalfläschchen mit 5ml sterilem Aqua dest. 30min vor Gebrauch aufgelöst. Diese Lösung wurde mittels einer 1:40 Verdünnung mit vorgefertigter Verdünnungslösung auf eine Endkonzentration von 50pg/ml gebracht. Je 500 μl dieser Stimulationslösung wurden dann zusammen mit 50 μl Vollblut aus dem heparinisierten Abnahmeröhrchen in pyrogenfreie Eppendorfgläser gegeben. Diese Ansätze wurden dann bei 37°C für vier Stunden in einem Inkubatorschrank (Labotec Inkubator C200) inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde der Ansatz leicht geschwenkt und für 5min bei 1000g zentrifugiert. Danach wurde der Überstand unter der Sicherheitswerkbank steril in pyrogenfreie Eppendorfgläser pipettiert und ebenfalls bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C tiefgefroren.

2.2.5 Messung der Zytokinparameter

2.2.5.1 Geräte und Testkits

Zur Messung der Zytokinparameter in den Patientenseren und den LPS-stimulierten Proben verwendeten wir handelsübliche ELISA-Kits (Quantine[®], R&D Systems;

Minneapolis, United States of America). Die Absorptionsmessung bei 450nm zur Konzentrationsbestimmung erfolgte mit dem Gerät Dynatech MR 5000, welches vor der Messung auf den jeweiligen Parameter kalibriert wurde.

2.2.5.2 Durchführung der ELISAs

Die Assays zur quantitativen Messung der einzelnen Immunparameter funktionierten nach dem Prinzip der „Sandwich Enzym-Immunoassay-Methode“. Hierbei benutzt man 96-Loch Mikrotiterplatten, die mit einem monoklonalen Antikörper für den zu bestimmenden Parameter beschichtet sind. Die Standards und die Proben (bei MCP-1 vorherige 1:1 Vorverdünnung mit Calibrator Diluent RD6Q) werden bei Raumtemperatur in die Vertiefungen der Platte pipettiert. Die vorhandenen Zytokine binden während einer Inkubationszeit von zwei Stunden an den feststehenden Antikörper. Durch vier Waschvorgänge mit Pufferlösung werden die nicht gebundenen Substanzen weggespült. Danach wird ein enzymmarkierter polyklonaler Antikörper, der spezifisch an das jeweilige Zytokin bindet, in die Vertiefungen gegeben. Nach zwei Stunden Inkubation folgt ein erneuter Waschvorgang, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Danach wird ein Farbindikator, welcher Substrat des Enzyms ist, in die Vertiefungen pipettiert. Durch Reaktion mit dem Enzym entwickelt sich eine Färbung, die photometrisch gemessen werden kann. Proportional zu der Konzentration des im ersten Schritt gebundenen Zytokins, verstärkt sich die Farbe. Nach einer Reaktionszeit von 20-30min wird die Farbentwicklung durch ein Stop-Reagenz beendet und die Absorption kann mittels eines Photometers gemessen werden. Aus den steigenden Konzentrationen der pipettierten Standards erstellt das Gerät eine Eichkurve, aus der es die jeweilige Konzentration des Zytokins in den Proben berechnet.

Die Sensitivität der verwendeten ELISAs geht aus der folgenden Tabelle hervor:

Zytokin	MMMK*
IL-6	0,7 pg/ml
IL-8	3,5 pg/ml
IL-10	3,9 pg/ml
MCP-1	5,0 pg/ml
TNF- α	1,6 pg/ml

Tabelle 1: Sensitivität der ELISAs

* = mittlere minimale messbare Konzentration

2.3 Angaben zur Statistik

Für die statistischen Angaben und Berechnungen benutzten wir das Programm SPSS 12.0 für Windows. Als Kennziffern der beschreibenden Statistik wurden Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die Gruppenvergleiche wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Außerdem verwendeten wir den Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben ohne Durchführung der Bonferroni-Korrektur, um Hinweise für signifikante Konzentrationsänderungen innerhalb der beiden Gruppen zu erkennen.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

In unsere Studienuntersuchungen konnten wir insgesamt 24 Patienten (11 Frauen und 13 Männer) einschließen. Von diesen Patienten erhielten 8 eine sekundäre Hüftendoprothese und 16 eine primäre Knieendoprothese. Jeweils 12 Patienten wurden den zwei Gruppen zufällig zugeteilt und bekamen das Wundblut gewaschen (Gruppe A) bzw. ungewaschen (Gruppe B) retransfundiert. Die Patientengruppen unterschieden sich nicht signifikant in Geschlechtsverteilung, Alter, Größe, Gewicht und Nebenerkrankungen. Auch bezüglich der intra- und postoperativ verabreichten Infusionen bzw. Transfusionen gab es, bis auf eine signifikant höhere Rate an HAES-Infusionen in Gruppe B, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. In Gruppe B erhielten zwei Patienten intraoperativ ein Erythrozytenkonzentrat. Des weiteren wurde einem Patienten der Gruppe A intra-operativ Cell-Saver-Blut verabreicht, während in Gruppe B drei Patienten intraoperativ Cell-Saver-Blut erhielten. Die allgemeinen Patientendaten sind in Tabelle 2 auf der nächsten Seite dargestellt.

Tabelle 2: Patientencharakteristik

	Gruppe A (gewaschen)	Gruppe B (ungewaschen)	p-Wert
Geschlecht (w/m)	5/7	6/6	n.s.
Alter (J)	66,5 ± 13,5	64,25 ± 12,8	n.s.
Gewicht (kg)	88,4 ± 18,8	86,8 ± 19,8	n.s.
Größe (m)	1,71 ± 0,10	1,66 ± 0,12	n.s.
BMI (kg/m ²)	30,1 ± 5,1	31,1 ± 4,3	n.s.
<u>Eingriff:</u>			
Hüft-TEP	2	6	n.s.
Knie-TEP	10	6	n.s.
<u>Nebenerkrankungen:</u>			
keine	3 (25%)	4 (33,3%)	n.s.
Arterieller Hypertonus	5 (41,7%)	5 (41,7%)	n.s.
Diabetes mellitus	1 (8,3%)	5 (41,7%)	n.s.
KHK	3 (25%)	4 (33,3%)	n.s.
Z.n. Myokardinfarkt	1 (8,3%)	1 (8,3%)	n.s.
COPD	2 (16,6%)	2 (16,6%)	n.s.
Herzinsuffizienz	0	1 (8,3%)	n.s.
Niereninsuffizienz	1 (8,3%)	0	n.s.
Adipositas	5 (41,7%)	6 (50%)	n.s.
Osteoporose	1 (8,3%)	0	n.s.

Die Daten sind angegeben als absolute Werte bzw. als Mittelwert ± Standardabweichung.

* p < 0,05 (Gruppenvergleich)

n.s. = nicht signifikant

3.2 Retransfusionsblutmenge

Die mittleren Retransfusionsblutmengen in beiden Gruppen waren nicht signifikant unterschiedlich. In Gruppe A wurden im Mittel $362,5 \pm 173\text{ml}$ retransfundiert und in Gruppe B $351,7 \pm 180\text{ml}$. Diese Angaben sind ebenfalls aus Tabelle 2 auf der nächsten Seite ersichtlich. Die minimal retransfundierte Menge an Drainageblut war 100ml in Gruppe B. Die maximal retransfundierte Menge an Drainageblut war 700ml jeweils einmal in jeder Gruppe.

Tabelle 3: Intra- und postoperative Infusionen/Transfusionen

	Gruppe A (gewaschen)	Gruppe B (ungewaschen)	p-Wert
Jonosteril [®] (500ml) gesamt	33	39	n.s.
Jonosteril [®] (ml/kg)	$15,8 \pm 8,5$	$23,7 \pm 17,5$	n.s.
HAES [®] (500ml) gesamt	4	13	0,028*
HAES [®] (ml/kg)	$1,7 \pm 2,6$	$6,2 \pm 4,7$	0,028*
Gelafundin [®] (500ml) gesamt	3	3	n.s.
Gelafundin [®] (ml/kg)	$1,5 \pm 4,0$	$1,8 \pm 4,4$	n.s.
EK (Anzahl) gesamt	0	2	n.s.
EK Cell-Saver Blut (intraop.)	1x400ml	1x700ml; 2x200ml	n.s.
Retransfusionsblut (ml)	$362,5 (\pm 173,4)$	$351,7 (\pm 180,5)$	n.s.

Die Daten sind angegeben als absolute Werte bzw. als Mittelwert \pm Standardabweichung.

* $p < 0,05$ (Gruppenvergleich)

n.s. = nicht signifikant

3.3 Systemische Parameter

3.3.1 Kreislaufparameter

Beide Patientengruppen lagen in Bezug auf die prä- und postoperativ, sowie nach der Retransfusion gemessenen Blutdruckwerte im physiologischen Bereich und unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Ersichtlich ist dies in Abbildung 1.

Präoperativ zeigten in Gruppe A drei Patienten und in Gruppe B zwei Patienten eine Hypotonie mit einem systolischen Blutdruckwert unter 100mmHg. Postoperativ war in beiden Gruppen jeweils ein Patient kurz nach der Retransfusion hypoton. Die Hypotonie war aber innerhalb einer Stunde nach Retransfusion rückläufig.

Die Herzfrequenz lag, wie in Abbildung 2 zu sehen ist, bei allen Patienten sowohl präoperativ, als auch postoperativ und nach der Retransfusion im physiologischen Bereich.

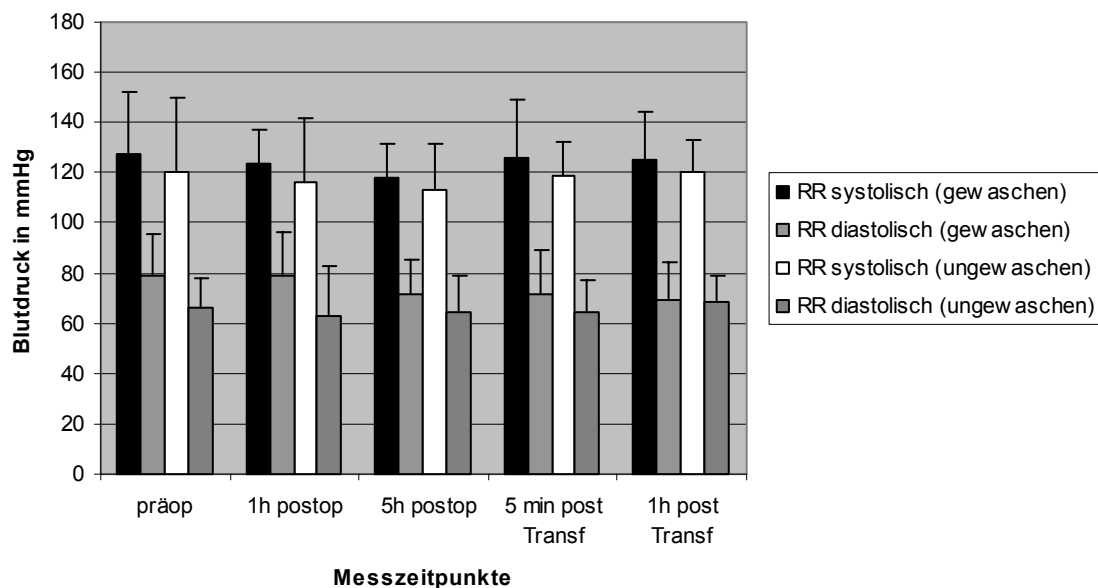


Abb. 1 Blutdruck:

Dargestellt sind die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte beider Gruppen als Mittelwerte und Standardabweichung.

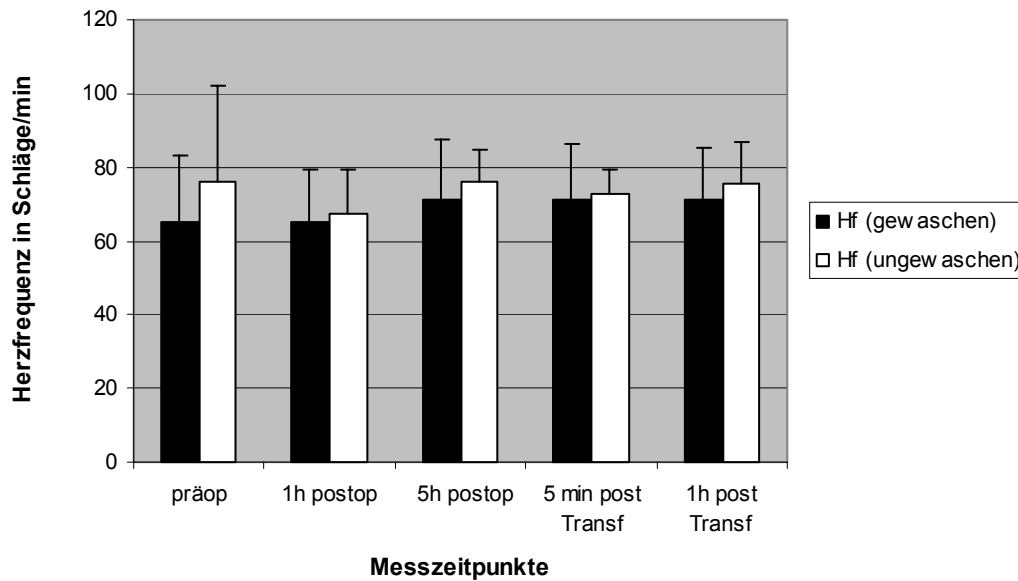


Abb. 2 Herzfrequenz:

Dargestellt sind die gemessenen Werte der Herzfrequenz beider Gruppen als Mittelwert mit Standardabweichung.

3.3.2 Hämoglobin und Hämatokrit

In Bezug auf Hämoglobin- und Hämatokritwerte bestanden bereits präoperativ signifikante Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen ($p = 0,06$). So waren in Gruppe B präoperativ elf Patienten (91,6%) anämisch mit Hämoglobinwerten unter 13g/dl. Zwei Frauen in Gruppe B hatten präoperativ sogar einen Hämoglobinwert unter 10g/dl. In Gruppe A waren präoperativ drei Patienten (25%) leicht anämisch, wobei kein Patient einen präoperativen Hämoglobinwert unter 11g/dl hatte. Die Patienten in Gruppe B zeigten zu allen Messzeitpunkten durchschnittlich niedrigere Hämoglobin- und Hämatokritwerte als die Patienten in Gruppe A. Postoperativ sanken die Hämoglobin- und Hämatokritwerte in beiden Gruppen ab. In Gruppe A wurde fünf Stunden postoperativ ein mittlerer Hämoglobinwert von $11,9 \pm 2,1$ g/dl erreicht. In Gruppe B sanken die Hämoglobinwerte im Mittel auf $10,3 \pm 1,3$ g/dl. Die postoperative Verminderung des Hämoglobin- und Hämatokritwertes war in beiden Gruppen signifikant ($p < 0,05$). Die Unterschiede der Hämoglobin- und Hämatokritwerte zwischen beiden Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

Auch im Drainageblut beider Gruppen fanden sich signifikante Unterschiede in Bezug auf Hämoglobin- und Hämatokritwerte ($p=0,09$). So wurde im Drainageblut der Gruppe A ein durchschnittlicher Hämoglobinwert von $12,7 \pm 2,2$ g/dl gemessen und im Drainageblut der Gruppe B ein durchschnittlicher Hämoglobinwert von $8,4 \pm 4,0$ g/dl. Der Hämatokrit im Drainageblut der Gruppe A lag im Mittel bei $39,1 \pm 6,5\%$ und im Drainageblut der Gruppe B bei $26,2 \pm 12,0\%$.

Nach der Retransfusion stiegen in beiden Gruppen die Hämoglobin- und Hämatokritwerte im Vergleich zu den fünf Stunden postoperativ gemessenen Werten an. Der Anstieg des Hämoglobinwertes durch die Retransfusion in Gruppe A war im Mittel $0,72$ g/dl und in Gruppe B im Mittel $0,5$ g/dl. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind in Bezug auf den Anstieg der Hämoglobin- und Hämatokritwerte durch die Retransfusion nicht signifikant.

Die Hämoglobinwerte sind ersichtlich in Tabelle 4. Die Hämatokritwerte sind dargestellt in Tabelle 5.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
präop.	13,3*	1,2	11,3*	1,8
1h postop.	11,9	1,5	10,3	2,2
5h postop.	11,9 ^w	2,1	10,3 ^w	1,3
Drainageblut	12,7*	2,2	8,4* ^w	4,0
5min post Transf.	12,5*	2,9	10,5*	1,6
1h post Transf.	11,9*	1,9	10,2*	1,5
Hb-Anstieg nach Retransfusion ^a	0,7	2,1	0,5	1,2

Tabelle 4: Hämoglobinwerte in g/dl

^a Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

* $p < 0,05$ (Gruppenvergleich)

^w $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
präop.	40,8*	3,5	34,7*	5,5
1h postop.	36,5	4,6	31,7	6,7
5h postop.	36,6 ^w	6,2	31,7 ^w	3,7
Drainageblut	39,1*	6,5	26,2* ^w	12,0
5min post Transf.	38,3*	8,5	32,4*	5,0
1h post Transf.	36,7*	5,7	31,5*	4,6
Hk-Änderung nach Retransfusion ^a	2,0	6,1	1,6	3,9

Tabelle 5: Hämatokritwerte in %

^a Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

* $p < 0,05$ (Gruppenvergleich)

^w $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

3.4 Immunparameter

3.4.1 IL-6

Die IL-6-Konzentrationen im Patientenserum waren präoperativ in beiden Gruppen sehr niedrig. In Gruppe A lag die IL-6 Konzentration im Mittel bei $3,6 \pm 2,9$ pg/ml. In Gruppe B lag sie im Mittel bei $4,4 \pm 3,7$ pg/ml.

Postoperativ stiegen die Werte in beiden Gruppen kontinuierlich und signifikant an und erreichten fünf Stunden nach der Operation in Gruppe A einen Mittelwert von $83,3 \pm 29,8$ pg/ml ($p=0,02$) und in Gruppe B $151,3 \pm 96,9$ pg/ml ($p=0,02$). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war nicht signifikant.

Die höchsten IL-6-Konzentrationen wurden im Drainageblut gemessen. Hier zeigten sich in Gruppe A im Mittel Werte von $310,0 \pm 22,2$ pg/ml und in Gruppe B Werte von $311,3 \pm 22,0$ pg/ml. Die IL-6-Werte im Drainageblut waren signifikant höher als die präoperativ gemessenen IL-6-Konzentrationen ($p<0,001$).

Nach der Retransfusion kam es in beiden Gruppen zu einem signifikanten Anstieg der IL-6-Konzentration. Fünf Minuten nach Retransfusion lagen die Werte der Gruppe A im Mittel bei

131,1 ± 47,6pg/ml (p=0,003) und die Werte der Gruppe B bei 206,3 ± 83,3pg/ml (p= 0,005). Auch hier war der Unterschied zwischen beiden Gruppen nicht signifikant.

Ein weiterer leichter Anstieg der IL-6-Konzentration war auch noch eine Stunde nach der Transfusion zu verzeichnen. Verglichen mit den präoperativ gemessenen Werten war auch eine Stunde nach der Retransfusion der Konzentrationsanstieg von IL-6 signifikant. In Gruppe A wurden zu diesem Abnahmezeitpunkt im Mittel Werte von 140,2 ± 82,8pg/ml (p=0,03) gemessen und in Gruppe B Werte von 213,5 ± 99,5pg/ml (p=0,001). Auch zu diesem Messzeitpunkt war der Unterschied zwischen beiden Gruppen nicht signifikant.

Der Anstieg der IL-6-Konzentration fünf Minuten und eine Stunde nach der Retransfusion ist in Tabelle 6 ersichtlich. In Gruppe A ist die IL-6-Konzentration fünf Minuten nach Retransfusion im Mittel um 47,8 ± 36,9pg/ml angestiegen und in Gruppe B um 74,4 ± 60,0pg/ml. Der Anstieg eine Stunde nach Retransfusion betrug in Gruppe A 57,6 ± 70,2pg/ml und in Gruppe B 82,4 ± 85,3pg/ml. Die Unterschiede im Anstieg der IL-6-Konzentration zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

Die Daten der IL-6-Konzentrationen sind ersichtlich in Abbildung 3 und in Tabelle 6.

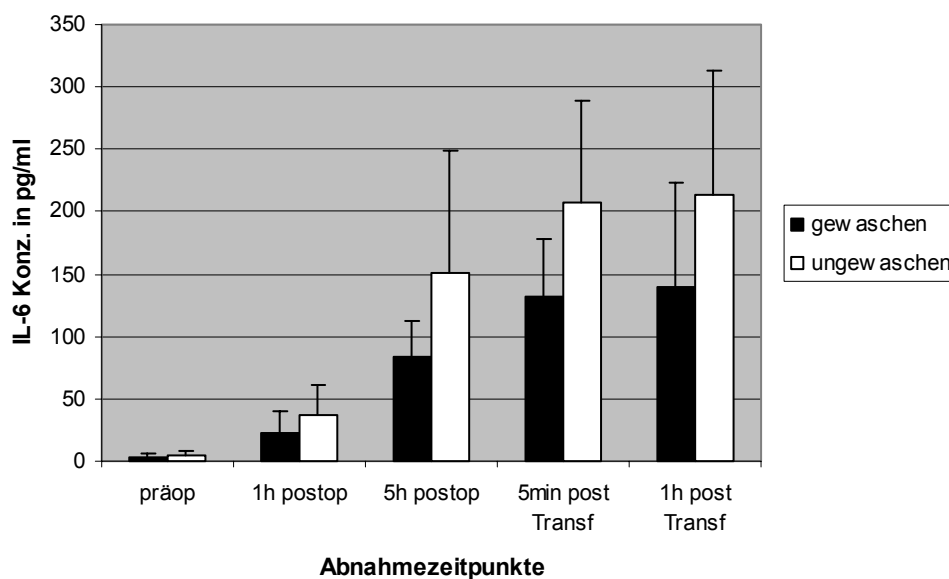


Abb. 3 IL-6-Konzentration:

Dargestellt ist die IL-6-Konzentration im Patientenserum beider Gruppen in pg/ml als Mittelwert mit Standardabweichung.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standard- abweichung	Mittelwert	Standard- abweichung
Drainageblut	310,0 ^w	22,2	311,3 ^w	22,0
Anstieg 1	47,8 ^w	36,9	74,4 ^w	60,0
Anstieg 2	57,6 ^w	70,2	82,4 ^w	85,3

Tabelle 6: IL-6-Konzentration in pg/ml

Anstieg 1: Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

Anstieg 2: Differenz aus den Werten 1h nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

^w $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

3.4.2 TNF-alpha

3.4.2.1 Unstimuliertes TNF-alpha

Die präoperativen Werte der TNF- α -Konzentration waren in beiden Gruppen niedrig und nicht signifikant unterschiedlich. In Gruppe A lag die Konzentration im Mittel bei $8,2 \pm 3,9$ pg/ml und in Gruppe B bei $7,4 \pm 4,0$ pg/ml.

Postoperativ änderte sich die TNF- α -Konzentration in beiden Gruppen nicht wesentlich. Fünf Stunden nach der Operation wurde in Gruppe A eine mittlere TNF- α -Konzentration von $12,3 \pm 12,5$ pg/ml gemessen und in Gruppe B eine mittlere TNF- α -Konzentration von $11,1 \pm 11,2$ pg/ml.

Die TNF- α -Konzentration im Drainageblut lag in beiden Gruppen signifikant höher als die Konzentration im Patientenserum ($p=0,001$). In Gruppe A erreichte sie im Mittel $15,9 \pm 16,4$ pg/ml und in Gruppe B im Mittel $39,7 \pm 64,5$ pg/ml. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

Nach der Retransfusion kam es nicht zu einer signifikanten Änderung der TNF- α -Konzentration im Patientenserum. Es zeigten sich zu beiden Messzeitpunkten niedrigere Werte als vor der Retransfusion. In Gruppe A lag die TNF- α -Konzentration fünf Minuten nach Retransfusion durchschnittlich bei $7,3 \pm 2,9$ pg/ml und in Gruppe B bei $7,3 \pm 5,8$ pg/ml.

Innerhalb einer Stunde nach Retransfusion verminderten sich die Werte noch weiter: in Gruppe A auf einen Mittelwert von $7,1 \pm 3,0$ pg/ml und in Gruppe B auf einen Mittelwert von $6,5 \pm 2,6$ pg/ml.

Die TNF- α -Konzentration sank nach Retransfusion im Vergleich zu den Werten, die fünf Stunden postoperativ gemessen wurden, in Gruppe A im Mittel um 5,0pg/ml und in Gruppe B um 3,6pg/ml. Eine Stunde nach der Retransfusion waren die Werte der TNF- α -Konzentration in Gruppe A durchschnittlich um 1,4pg/ml gefallen in Gruppe B um 4,9pg/ml. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren nicht signifikant.

Die Daten der TNF- α -Konzentrationen sind in Tabelle 7 und Abbildung 4 dargestellt.

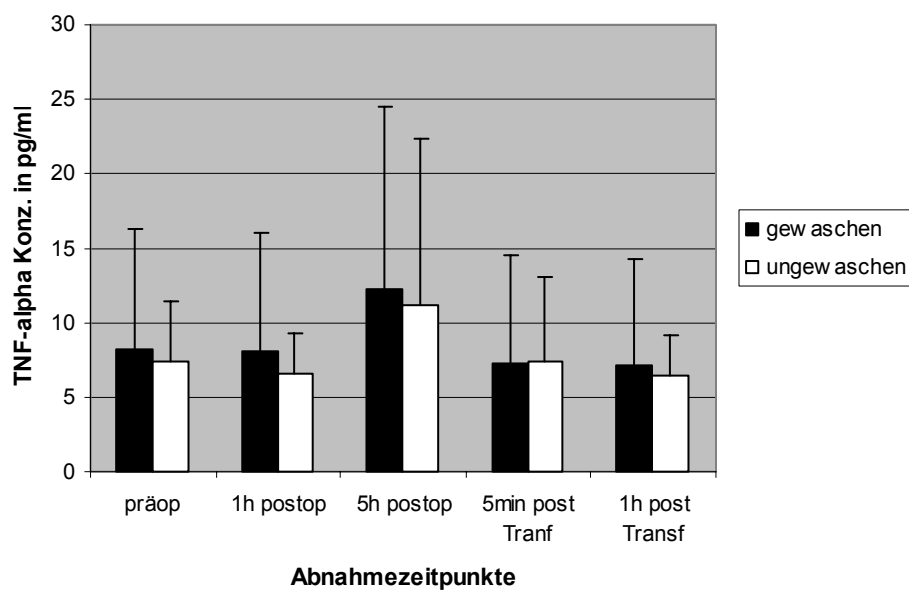


Abb. 4 Unstimulierte TNF-alpha-Konzentration:

Dargestellt ist die unstimulierte TNF-alpha-Konzentration im Patientenserum beider Gruppen in pg/ml als Mittelwert und Standardabweichung.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standardabw eichung
Drainageblut	15,9 ^w	16,4	39,7 ^w	64,5
Anstieg 1	-5,0	12,7	-3,6	14,7
Anstieg 2	-1,4	3,2	-4,9	12,0

Tabelle 7: unstimulierte TNF-alpha-Konzentration in pg/ml

Anstieg 1: Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

Anstieg 2: Differenz aus den Werten 1h nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

^wp < 0,05 (Wilcoxon-Test)

3.4.4.2 LPS-stimuliertes TNF-alpha

Die Stimulationsbereitschaft des Patientenblutes mit Lipopolysaccharid war präoperativ sehr gut. Die Werte der TNF- α -Konzentration stiegen im präoperativen Patientenserum stark an. So wurde in Gruppe A präoperativ eine TNF- α -Konzentration von durchschnittlich $199,9 \pm 95,2$ pg/ml erreicht und in Gruppe B eine durchschnittliche Konzentration von $149,7 \pm 98,1$ pg/ml.

Die LPS-Stimulierbarkeit von TNF- α nahm postoperativ in beiden Gruppen signifikant ab ($p=0,03$). So lagen die Werte fünf Stunden nach der Operation in Gruppe A bei einem Mittelwert von $117,4 \pm 84,1$ pg/ml und in Gruppe B im Mittel bei $115,9 \pm 77,6$ pg/ml. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

Im Drainageblut war die LPS-Stimulierbarkeit von TNF- α signifikant niedriger als im Patientenblut. Es zeigte sich in Gruppe A ein Durchschnittswert von $30,6 \pm 29,6$ pg/ml ($p=0,003$) und in Gruppe B ein Wert von $19,7 \pm 19,6$ pg/ml ($p=0,002$).

Nach der Retransfusion kam es im Patientenblut zu einer tendenziellen Erniedrigung der LPS-stimulierten TNF- α -Konzentration im Vergleich zu den Werten, die fünf Stunden postoperativ gemessen wurden. In Gruppe A wurde fünf Minuten nach Retransfusion im Mittel eine LPS-stimulierte TNF- α -Konzentration von $116,4 \pm 80,2$ pg/ml gemessen. In Gruppe B war der Abfall der stimulierten TNF- α -Konzentration mit $91,4 \pm 77,5$ pg/ml signifikant ($p=0,04$).

Eine Stunde nach Retransfusion nahm die LPS-stimulierte TNF- α -Konzentration in Gruppe A weiter leicht ab und lag durchschnittlich bei $77,3 \pm 71,4$ pg/ml. In Gruppe B dagegen nahm die LPS-stimulierte TNF- α -Konzentration wieder leicht zu und lag hier im Mittel bei $107,1 \pm 69,6$ pg/ml. Die Gruppenunterschiede der Werte nach Retransfusion waren jedoch nicht signifikant.

Die Daten der LPS-stimulierten TNF- α -Konzentration sind ersichtlich in Tabelle 8 und Abbildung 5.

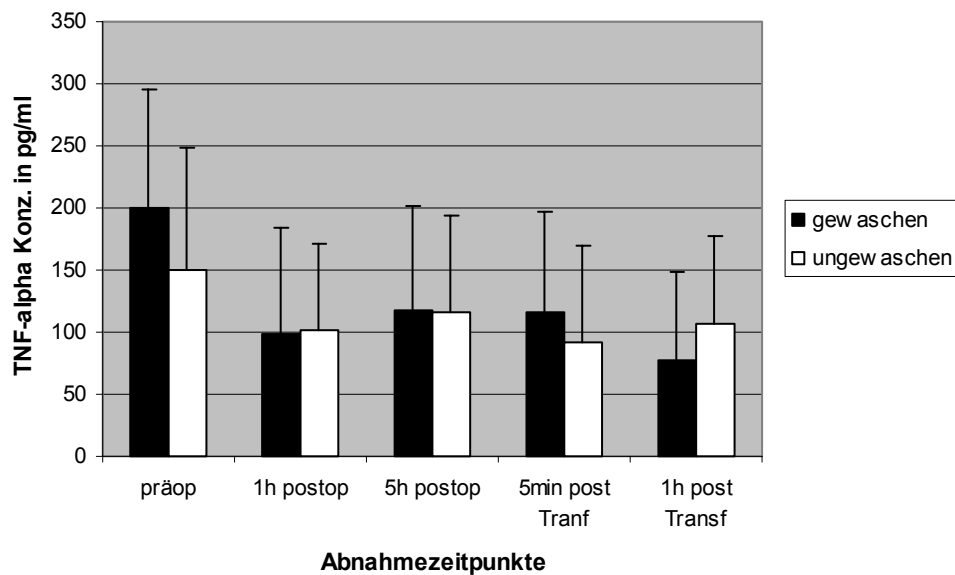


Abb. 5 LPS-stimulierte TNF-alpha-Konzentration:

Dargestellt ist die TNF-alpha-Konzentration im Patientenserum beider Gruppen nach Stimulation mit Lipopolysaccharid in pg/ml als Mittelwert und Standardabweichung.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
Stim Drainageblut	30,6 ^w	29,6	19,7 ^w	19,6
Anstieg 1	-1,0	31,1	-29,1 ^w	39,5
Anstieg 2	-44,4	85,6	0,9	45,9

Tabelle 8: LPS-stimulierte TNF- α -Konzentration in pg/ml

Anstieg 1: Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

Anstieg 2: Differenz aus den Werten 1h nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

^wp < 0,05 (Wilcoxon-Test)

3.4.3 IL-10

Die Serumkonzentration von IL-10 war präoperativ in beiden Gruppen niedrig und nicht signifikant unterschiedlich. In Gruppe A lagen die Werte im Mittel bei $11,0 \pm 5,3$ pg/ml und in Gruppe B bei $10,4 \pm 4,0$ pg/ml.

Postoperativ stieg die IL-10-Konzentration in beiden Gruppen signifikant an ($p=0,002$). Fünf Stunden postoperativ wurde in Gruppe A ein Durchschnittswert von $57,4 \pm 58,0$ pg/ml und in Gruppe B von $30,3 \pm 29,2$ pg/ml gemessen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

Auch im Drainageblut war die IL-10-Konzentration im Vergleich zur präoperativen Konzentration im Patientenserum signifikant erhöht ($p=0,001$). In der Gruppe A zeigte sich ein Mittelwert von $23,5 \pm 25,9$ pg/ml und in Gruppe B von $18,2 \pm 9,8$ pg/ml.

Nach der Retransfusion veränderten sich die IL-10-Konzentrationen im Serum der Patienten nicht signifikant zu den Werten, die vor der Retransfusion gemessen wurden. Fünf Minuten nach Retransfusion lagen die Werte in Gruppe A im Mittel bei $50,8 \pm 37,9$ pg/ml und in Gruppe B bei $30,6 \pm 35,2$ pg/ml. Dies entspricht einem Abfall der IL-10-Konzentration in Gruppe A um durchschnittlich 6,6pg/ml und einem Anstieg in Gruppe B um durchschnittlich 6,8pg/ml.

In Gruppe A fiel die IL-10-Konzentration innerhalb einer Stunde nach Retransfusion auf einen durchschnittlichen Wert von $34,5 \pm 24,9$ pg/ml ab. Insgesamt ist hier ein Abfall der IL-

IL-10-Konzentration von den Werten vor Retransfusion um 23,5pg/ml zu verzeichnen. In Gruppe B jedoch stieg die IL-10-Konzentration weiter leicht an auf im Mittel $46,6 \pm 41,0$ pg/ml. Insgesamt stieg hier die IL-10-Konzentration im Vergleich zu den Werten vor Retransfusion um 11,3pg/ml an. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

Die Mittelwerte der IL-10-Konzentration sind in Tabelle 9 und in Abbildung 6 dargestellt.

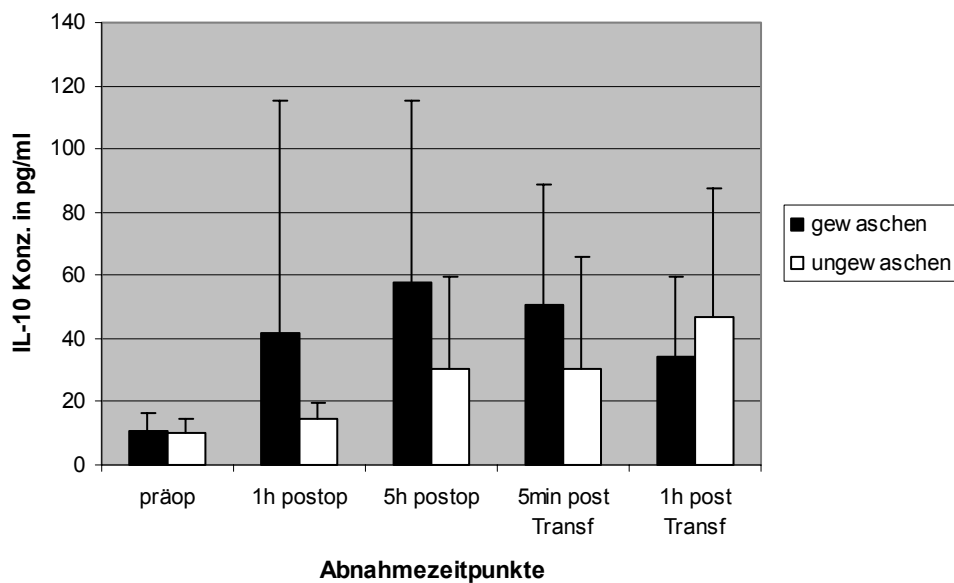


Abb. 6 IL-10-Konzentration:

Dargestellt ist die IL-10-Konzentration im Patientenserum beider Gruppen in pg/ml als Mittelwert und Standardabweichung.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standard-abweichung
Drainageblut	23,5 ^w	25,9	18,2 ^w	9,8
Anstieg 1	-6,6	46,6	1,8	33,0
Anstieg 2	-23,5	57,0	11,3	23,1

Tabelle 9: IL-10 Konzentration in pg/ml

Anstieg 1: Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

Anstieg 2: Differenz aus den Werten 1h nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

^wp < 0,05 (Wilcoxon-Test)

3.4.4 IL-8

Die IL-8-Konzentration im Patientenserum war präoperativ in beiden Gruppen niedrig und nicht signifikant unterschiedlich. Sie lag in Gruppe A im Mittel bei $23,6 \pm 18,2$ pg/ml und in Gruppe B bei $15,4 \pm 1,8$ pg/ml.

Im postoperativen Verlauf stiegen die IL-8-Konzentrationen gemittelt über beide Gruppen signifikant an ($p=0,01$). Es zeigte sich fünf Stunden postoperativ in Gruppe A ein Mittelwert von $23,2 \pm 19,6$ pg/ml und in Gruppe B von $22,6 \pm 11,3$ pg/ml.

Im Drainageblut waren sehr hohe Konzentrationen an IL-8 messbar. Diese waren verglichen mit den präoperativ gemessenen Werten signifikant höher ($p=0,001$). So wurden im Drainageblut der Gruppe A durchschnittliche IL-8-Konzentrationen von $1123,9 \pm 894,0$ pg/ml gemessen und im Drainageblut der Gruppe B im Mittel $2436,2 \pm 1060,0$ pg/ml. Der Unterschied zwischen den Gruppen war signifikant ($p=0,007$).

Die signifikant hohen IL-8-Konzentrationen im Drainageblut der beiden Gruppen führten nach Retransfusion des Wundblutes zu einem signifikanten Anstieg der IL-8-Konzentration im Patientenserum ($p=0,005$). So lag der Wert in Gruppe A fünf Minuten nach Retransfusion im Mittel bei $29,0 \pm 22,5$ pg/ml und in Gruppe B bei $36,3 \pm 18,9$ pg/ml. Die Konzentrationsänderung war signifikant und ergab in Gruppe A einen Anstieg um $5,44$ pg/ml ($p=0,003$) und in Gruppe B einen Anstieg um $17,2$ pg/ml ($p=0,005$). Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

Innerhalb einer Stunde nach der Retransfusion stieg der Mittelwert in Gruppe A auf $34,6 \pm 24,8$ pg/ml, der Anstieg war signifikant im Vergleich zu den Werten fünf Stunden postoperativ ($p=0,003$). In Gruppe B sanken die Werte im Mittel auf $26,7 \pm 18,2$ pg/ml, wobei auch hier noch ein signifikanter Unterschied zu den Werten fünf Stunden postoperativ zu verzeichnen war ($p=0,005$). Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant. Dargestellt sind die Daten der IL-8-Konzentration in Tabelle 10 und in Abbildung 7.

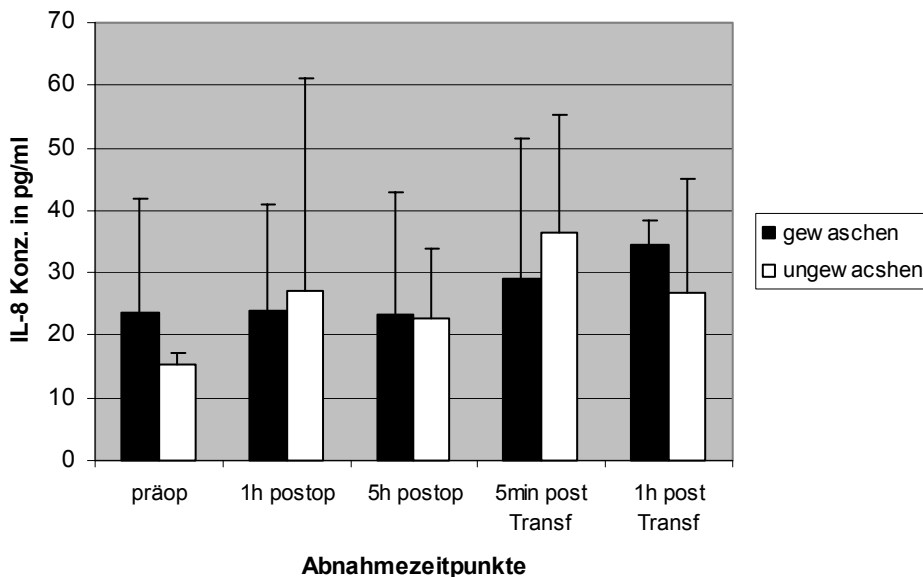


Abb. 7 IL-8-Konzentration:

Dargestellt ist die IL-8-Konzentration im Patientenserum beider Gruppen in pg/ml als Mittelwert und Standardabweichung.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standard-abweichung
Drainageblut	1123,9 ^{w*}	894,0	2436,2 ^{w*}	1060,0
Anstieg 1	5,4 ^w	5,1	17,2 ^w	12,5
Anstieg 2	10,5 ^w	15,1	6,4 ^w	7,1

Tabelle 10: IL-8 Konzentration in pg/ml

Anstieg 1: Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

Anstieg 2: Differenz aus den Werten 1h nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

* $p < 0,05$ (Gruppenvergleich)

^w $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

3.4.5 MCP-1

Die MCP-1-Konzentrationen im Patientenserum waren in beiden Gruppen präoperativ nicht signifikant unterschiedlich. Sie lagen in Gruppe A bei einem Mittelwert von $277,0 \pm 96,6$ pg/ml und in Gruppe B im Mittel bei $212,8 \pm 51,6$ pg/ml.

Postoperativ kam es in beiden Gruppen zu einem leichten Anstieg der MCP-1-Konzentration. So zeigte sich fünf Stunden postoperativ in Gruppe A ein durchschnittlicher Wert von $318,1 \pm 125,3$ pg/ml und in Gruppe B von $343,9 \pm 144,4$ pg/ml.

Die MCP-1-Konzentration im Drainageblut war bei beiden Gruppen im Vergleich zu den präoperativen Werten im Patientenserum signifikant erhöht ($p=0,0001$) und auch zwischen den Gruppen signifikant unterschiedlich ($p=0,02$). Die Werte im Drainageblut lagen in Gruppe A im Mittel bei $1991,9 \pm 615,5$ pg/ml und bei Gruppe B im Mittel bei $3082,9 \pm 1285,0$ pg/ml.

Trotzdem wurden nach der Retransfusion im Patientenserum beider Gruppen niedrigere MCP-1-Konzentrationen als vor der Retransfusion gemessen. Die Konzentrationsänderungen und Gruppenunterschiede waren nicht signifikant. In der Gruppe A zeigte sich fünf Minuten nach Retransfusion eine mittlere Konzentration von $308,8 \pm 104,6$ pg/ml und in Gruppe B eine mittlere Konzentration von $328,7 \pm 132,1$ pg/ml. Eine Stunde nach der Retransfusion war ein leichter Anstieg der MCP-1-Konzentration messbar. In Gruppe A stieg der Wert auf durchschnittlich $354,1 \pm 149,1$ pg/ml und in Gruppe B auf $367,5 \pm 141,1$ pg/ml.

Ingesamt verminderte sich die MCP-1-Konzentration fünf Minuten nach der Retransfusion im Vergleich zu den Werten vor Retransfusion. In Gruppe A fiel die MCP-1-Konzentration im Mittel um 7,0pg/ml, in Gruppe B um 7,5pg/ml. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren zu keinem Messzeitpunkt signifikant.

Ersichtlich sind die Daten der MCP-1-Konzentration in Tabelle 11 und in Abbildung 8.

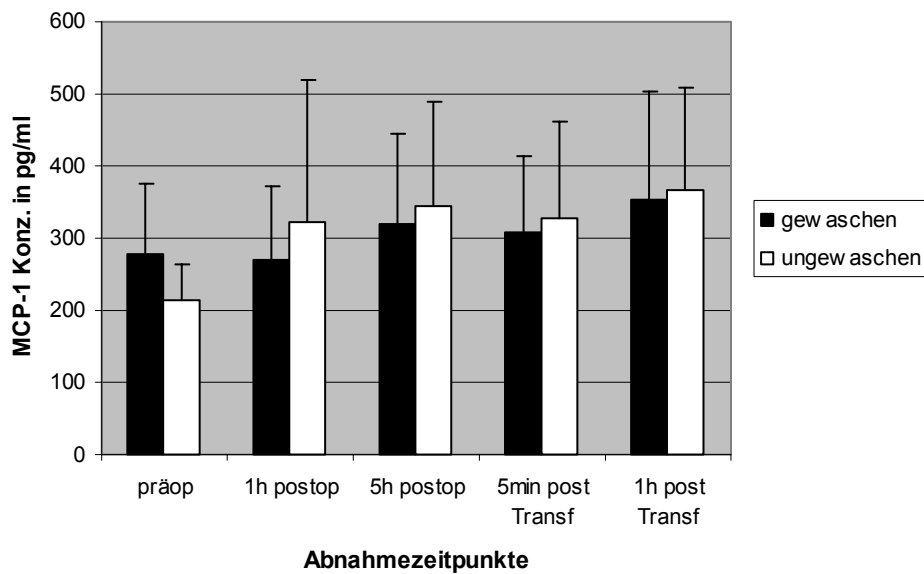


Abb. 8 MCP-1-Konzentration:

Dargestellt ist die MCP-1-Konzentration im Patientenserum beider Gruppen in pg/ml als Mittelwert mit Standardabweichung.

	Retransfusion			
	Gr. A (gewaschen)		Gr. B (ungewaschen)	
	Mittelwert	Standard- abweichung	Mittelwert	Standard- abweichung
Drainageblut	1991,9 ^{w*}	615,5	3082,9 ^{w*}	1285,0
Anstieg 1	-7,0	81,4	-7,5	49,9
Anstieg 2	29,2	159,5	22,8	112,2

Tabelle 11: MCP-1 Konzentration in pg/ml

Anstieg 1: Differenz aus den Werten 5min nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

Anstieg 2: Differenz aus den Werten 1h nach Retransfusion und den Werten 5h postoperativ

* $p < 0,05$ (Gruppenvergleich)

^w $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methode

In unserer Studie haben wir untersucht, welchen Einfluss die Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut auf die im Blut zirkulierenden Zytokine bei Patienten nach endoprothetischem Gelenksersatz hat.

Anlass für unsere Untersuchungen war, dass in der orthopädischen Chirurgie, insbesondere der Endoprothetik, bei jährlich steigenden Fallzahlen ein sehr hoher Bedarf an Blutkonserven besteht. Fremdblutkonserven werden jedoch von vielen Autoren aufgrund der damit verbundenen Risiken, wie Übertragung von Infektionen und aufgrund immunsuppressiver Effekte nicht mehr bevorzugt empfohlen [6,10].

Deshalb wird seit langem nach Alternativen zu allogenen Bluttransfusionen gesucht. Von diesen Alternativen scheint die Retransfusion des postoperativ gesammelten Drainageblutes sehr vielversprechend zu sein.

In unserer Studie untersuchten wir Patienten, die sich orthopädischen Eingriffen unterzogen. Diese Patientengruppe hat sich für unsere Untersuchungen angeboten, da der endoprothetische Gelenksersatz ein repräsentatives Beispiel für einen häufig durchgeführten Eingriff mit hohen intraoperativen Blutverlusten darstellt. In Deutschland erhalten im Jahr jeweils etwa 100 000 Patienten eine Kniegelenksendoprothese oder einen Hüftendoprothesenwechsel. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, sind diese Operationen mit hohen Blutverlusten zwischen 1000-2000ml verbunden, wodurch sehr oft Bluttransfusionen notwendig werden. An dieser Untersuchungsgruppe lässt sich deshalb sehr gut die Effektivität der Retransfusion von Drainageblut untersuchen. Vorteilhaft ist außerdem, dass die endoprothetischen Eingriffe in hohem Maße standardisiert und die Patienten dadurch gut miteinander vergleichbar sind.

Den höchsten Standard klinischer Studien erreicht man, wenn man sie kontrolliert, randomisiert und doppelblind durchführt. Dies war bei unseren Untersuchungen nicht vollständig umsetzbar. Da die Aufbereitung des Blutes direkt am Patientenbett stattfinden muss, sehen sowohl Arzt als auch Patient, welche Therapieform angewendet wird. In unserer Studie haben wir versucht, den höchstmöglich umsetzbaren Standard zu erreichen. So haben wir eine kontrollierte randomisierte Studie durchgeführt. Dadurch erreicht man

Strukturgleichheit innerhalb der Gruppen, erhält vergleichbare Ergebnisse und verhindert mögliche Selektionsbias.

Wir setzten als Messzeitpunkte kurze Intervalle nach der Operation an, da in verschiedenen Untersuchungen gezeigt wurde, dass innerhalb der ersten Stunden nach der Operation die höchsten Zytokinspiegel gemessen werden [37]. Außerdem sollte das Drainageblut zur Verminderung von unerwünschten Nebenwirkungen durch lagerungsbedingte Faktoren möglichst innerhalb von sechs Stunden nach der Operation retransfundiert werden.

In verschiedenen Studien wurden bereits die Auswirkungen der Retransfusion von ungewaschenem und gewaschenem Wundblut auf Immunparameter untersucht. Meist wurden die Ergebnisse jedoch mit Gruppen verglichen, die entweder keine Transfusionen oder allogene Bluttransfusionen erhielten [3,7,13,27,37,58]. So verglichen Bottner et al. zum Beispiel die Veränderungen der Zytokine nach Retransfusion von gewaschenem Wundblut und Transfusion von aufbereitetem Eigenblut bei orthopädischen Patienten nach endoprothetischem Kniegelenksersatz miteinander[13]. Die Autoren stellten fest, dass gewaschenes Wundblut signifikant höhere Konzentrationen an IL-6 und IL-8 enthielt als das aufbereitete Eigenblut. Nach der Retransfusion des Drainageblutes stiegen die Plasmaspiegel beider Zytokine im Blut der Patienten an. Dabei gab es zwischen den Gruppen jedoch keine signifikanten Unterschiede. Daraus schlossen die Autoren, dass die Veränderungen im Zytokinmuster hauptsächlich durch den chirurgischen Eingriff und nicht durch die Retransfusion ausgelöst werden.

Bisher gibt es nur eine Studien, die sich mit der Veränderung der zirkulierenden Zytokine nach Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut beschäftigt. So untersuchten bisher nur Allen et al. die Auswirkungen von gewaschenem und ungewaschenem Blut auf Zytokinkonzentrationen in Blut und Urin von Patienten, allerdings nach Bypass-Operationen [1]. Sie fanden zwischen den Gruppen nur Unterschiede hinsichtlich des löslichen TNF- α -Rezeptors. Dieser war in der Gruppe, die gewaschenes Drainageblut erhielt signifikant vermindert. In Bezug auf IL-6, IL-8 und IL-10 waren keine Gruppenunterschiede nachweisbar. Wir wollten in unserer Studie untersuchen, ob sich diese Aussagen auch auf Patienten nach endoprothetischem Gelenksersatz übertragen lassen. Außerdem wollten wir die bestehenden Daten durch weitere Untersuchungen bestätigen und ergänzen.

Andere Studien, die beide Methoden direkt miteinander vergleichen, beschäftigen sich nicht mit Immunparametern. Clements et al. betrachteten unerwünschte Nebenwirkungen, die nach Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Drainageblut auftraten [16]. Silva et al.

untersuchten beide Methoden auf Unterschiede hinsichtlich der Auswirkungen auf die Gerinnungsaktivierung [56].

Um definitive Aussagen über Vor- und Nachteile der beiden Retransfusionsmethoden machen zu können, müssen in Studien Patientengruppen gegenüber gestellt werden, die das Wundblut entweder gewaschen oder ungewaschen retransfundiert bekommen. Wie oben geschildert gibt es hierzu noch sehr wenige Studien. Wir entschieden uns dafür, in unserer Studie zu untersuchen, welche Auswirkungen der Waschvorgang vor Retransfusion des Drainageblutes auf die im Blut der Patienten zirkulierenden Zytokine hat. Es wird vermutet, dass im Blut zirkulierende Zytokine für Nebenwirkungen nach Retransfusion verantwortlich sind [27]. Weiterhin konnte man nachweisen, dass durch den Waschvorgang Zytokine und Leukozyten um bis 80-90% reduziert werden [1,8]. Uns interessierte nun besonders, ob durch den Waschvorgang vor Retransfusion des Drainageblutes die hohen Zytokin-Konzentrationen im Patientenblut vermindert werden können. Insbesondere die hohen IL-6-Konzentrationen, die nach Retransfusion von ungewaschenem Wundblut in der Zirkulation nachweisbar sind, sollen mit unerwünschten Nebenwirkungen im Zusammenhang stehen [27]. Weitere wichtige Zytokine, die aufgrund ihrer Wirkung zur Auslösung von pathologischen Reaktionen nach Operationen und Retransfusion von Drainageblut führen sollen, sind TNF- α , IL-10 und IL-8. Zusätzlich zu diesen Zytokinen haben wir auch die Konzentration von MCP-1 gemessen. MCP-1 stellt, wie IL-8, ein wichtiges Chemokin im Entzündungsprozess dar und wurde in bisherigen Studien noch nicht betrachtet.

Weiterhin haben wir untersucht, inwiefern die Funktion des Immunsystems, auf pathogene Reize zu reagieren, durch die Retransfusion von Wundblut beeinträchtigt wird. Dafür stimulierten wir die Monozyten im Blut unserer Patientengruppen mit Lipopolysaccharid. Als Marker der Immunfunktion diente uns also die LPS-induzierte TNF- α -Ausschüttung der Monozyten im Patienten- und Drainageblut. Bisher gibt es noch keine Studie, die die LPS-induzierte TNF- α -Ausschüttung der Monozyten nach Retransfusion von gewaschenem Wundblut mit ihrer Reaktion nach der Retransfusion von ungewaschenem Wundblut vergleicht. Es wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass operative Eingriffe sowie die Transfusion von Fremdblut das Immunsystem schwächen [6,9,10,29]. Uns interessierte besonders, ob es nach Retransfusion des Drainageblutes zu ähnlichen immunmodulatorischen Effekten kommt und ob diese durch den Waschvorgang beeinflusst werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Systemische Parameter

4.2.1.1 Hämoglobin und Hämatokrit

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, dass die postoperativ verminderten Hämoglobin- und Hämatokritwerte der Patienten sowohl durch Retransfusion von gewaschenem als auch ungewaschenem Wundblut ansteigen. Dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Die Werte lagen nach der Retransfusion nur leicht und nicht signifikant unter den präoperativ gemessenen Werten und die Patienten benötigten keine zusätzlichen Blutkonserven. Der intraoperative Blutverlust bei endoprothetischem Gelenkersatz kann demzufolge durch die postoperative Retransfusion von Drainageblut ausgeglichen werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch schon von anderen Autoren berichtet [15,26,31,33,46,60]. So verglichen zum Beispiel Huët et al. in einer Meta-Analyse 27 randomisierte Studien, in denen entweder gewaschenes oder ungewaschenes Drainageblut retransfundiert wurde [31]. Sie stellten fest, dass beide Methoden die Rate an allogenen Transfusionen nach orthopädischen und kardialen Eingriffen vermindern, ohne dabei vermehrt unerwünschte Nebenwirkungen zu verursachen. Auch Handel et al. wiesen in ihren Untersuchungen eine Reduktion von Fremdbluttransfusionen bei orthopädischen Patienten nach [26]. Sie senkten mittels postoperativen Einsatzes des Cell-Savers das Risiko für präoperativ nicht anämische Patienten, eine Fremdblutkonserve zu erhalten, auf unter 1%. Munoz et al. konnten in ihren Untersuchungen nachweisen, dass insbesondere Patienten mit präoperativen Hämoglobinwerten zwischen 12 und 15g/dl von der Retransfusion des Drainageblutes profitieren und keine Fremdblutkonserven benötigen [47]. Patienten mit präoperativen Hämoglobinwerten unter 12g/dl würden ihrer Meinung nach von der Kombination aus der Retransfusion des Drainageblutes und anderen fremdblutsparenden Methoden profitieren.

Wie Sebastian et al außerdem in Bezug auf die Qualität des Drainageblutes zeigen konnten, haben die Erythrozyten im Drainageblut keine morphologischen und metabolischen Auffälligkeiten [54]. Die Autoren begründeten ihre Aussage anhand unveränderter intrazellulärer ATP- und DPG- (2,3-Diphosphoglycerat) Spiegel in den aus dem Drainageblut gewonnenen Erythrozyten. Dalen et al zeigte, dass die Hämolyserate im Drainageblut weniger als 1% beträgt [19]. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Erythrozyten aus dem

Drainageblut funktionstüchtig sind und die Retransfusion des Drainageblutes eine gute Alternative zu allogenen Transfusionen darstellt. Diese These wird auch von anderen Autoren unterstützt [19,22,46].

Unsere Patientengruppen wiesen hinsichtlich des Vorhandenseins präoperativer Anämie bereits zu Beginn der Messungen signifikante Unterschiede auf. Dieser Selektionsbias konnte auch durch die Randomisierung nicht verhindert werden. In Gruppe A lag der Mittelwert des Hämoglobins präoperativ bei 13,28g/dl und der Mittelwert des Hämatokrit bei 40,82%. In dieser Gruppe hatten drei Patienten (25%) präoperativ eine Anämie. In Gruppe B dagegen hatten elf Patienten (91,3%) präoperativ eine Anämie. Dadurch war präoperativ der mittlere Hämoglobinwert in dieser Gruppe mit 11,27g/dl viel niedriger und auch der mittlere Hämatokritwert lag nur bei 34,7%. Dementsprechend waren die Hämoglobin- und Hämatokritwerte in Gruppe B zu allen Messzeitpunkten signifikant niedriger als in Gruppe A. Wir haben uns deshalb zusätzlich auf die Änderung der Werte bezogen, um die vorhandenen Unterschiede zwischen den Gruppen auszugleichen und abzuschätzen, ob beide Methoden gleich effektiv im Ausgleich des Blutverlustes sind. Es zeigte sich, dass der Hämoglobinwert in Gruppe A durch die Retransfusion durchschnittlich um 0,7g/dl angehoben werden konnte und in Gruppe B um durchschnittlich 0,5g/dl. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war nicht signifikant, weshalb uns die Methoden zum Ausgleich des Blutverlustes gleichwertig erscheinen.

Die hohe Rate an anämischen Patienten in Gruppe B bedingte auch, dass aus dieser Gruppe zwei Patienten intraoperativ Erythrozytenkonzentrate erhielten und außerdem signifikant mehr HAES-Infusionen benötigten. Diese Patienten fielen hinsichtlich ihrer Zytokinspiegel nicht als Ausreißer in der jeweiligen Gruppe auf, so dass hierdurch die Werte wahrscheinlich nicht beeinflusst wurden.

Die Untersuchungen des Drainageblutes ergaben in beiden Gruppen verminderte Hämoglobin- und Hämatokritwerte im Vergleich zu Werten in der Zirkulation der Patienten. Auch hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. So hatte das Drainageblut der Gruppe A im Mittel einen Hämoglobinwert von 12,73g/dl und das der Gruppe B im Mittel einen Hämoglobinwert von 8,43g/dl. Dies könnte die Ursache dafür sein, dass in Gruppe A der Anstieg des Hämoglobinwertes etwas höher war als in Gruppe B. Verminderte Hämoglobin- und Hämatokritwerte im Drainageblut wurden auch von anderen Autoren berichtet [46,51,54]. Als Ursache wird die Verdünnung des Wundblutes mit Wundspüllösung angesehen. Durch Verdünnungseffekte ist auch die Zahl der Erythrozyten im Drainageblut reduziert.

4.2.1.2 Kreislaufparameter

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, dass der Hauptteil der Patienten aus beiden Gruppen sowohl präoperativ als auch postoperativ und nach Retransfusion bezüglich der Blutdruckwerte im physiologischen Bereich lag. In Gruppe A wurde nach der Retransfusion ein systolischer Blutdruck von durchschnittlich $118,5 \pm 13,9$ mmHg gemessen und in Gruppe B ein systolischer Blutdruck von durchschnittlich $126,2 \pm 22,4$ mmHg.

Präoperativ waren in Gruppe A drei Patienten hypoton mit systolischen Blutdruckwerten unter 100 mmHg und in Gruppe B zwei Patienten. Fünf Minuten nach der Retransfusion des Wundblutes wurde in Gruppe A bei einem Patienten ein systolischer Blutdruckwert von 98 mmHg gemessen. Dies war einer der Patienten, der bereits präoperativ hypoton war. In Gruppe B waren fünf Minuten nach Retransfusion zwei Patienten hypoton mit systolischen Blutdruckwerten von 91 und 92 mmHg. Einer dieser Patienten war ebenfalls schon präoperativ hypoton gewesen. Bereits eine Stunde nach der Retransfusion war bei keinem dieser Patienten eine Hypotonie mehr nachweisbar.

In der Literatur wird berichtet, dass nach der Retransfusion von ungewaschenem Drainageblut im Vergleich mit der Retransfusion von gewaschenem Drainageblut vermehrt hypotone Kreislaufreaktionen beobachtet wurden [16]. Jeweils ein Patient aus Gruppe A und ein Patient aus Gruppe B, die in unseren Untersuchungen kurz nach der Retransfusion des Wundblutes hypoton waren, hatten bereits präoperativ niedrige Blutdruckwerte. Wir werten die Hypotonie deshalb nicht als Effekt der Retransfusion. Ein Patient in Gruppe A, der also gewaschenes Drainageblut erhielt, war kurz nach der Retransfusion hypoton ohne vorher eine ähnliche Kreislaufsituation gezeigt zu haben. In diesem Fall könnte die Hypotonie durch die Retransfusion des gewaschenen Wundblutes ausgelöst worden sein. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu den von Clements et al. gemachten Aussagen [16].

Des Weiteren wurde ein Zusammenhang von erhöhten IL-6-Konzentrationen im Blut der Patienten nach Retransfusion und dem Auftreten von unerwünschten Reaktionen, wie hypotonen Kreislaufsituationen, festgestellt [27]. Diese Beobachtung können wir nicht bestätigen. Die Patienten, bei denen nach Retransfusion hypotone Blutdruckwerte auftraten, hatten keine signifikant höhere IL-6-Konzentration im Blut als die anderen Patienten.

In Bezug auf die Herzfrequenz zeigte keiner der Patienten in Gruppe A und B Auffälligkeiten. Nach der Retransfusion lag die Herzfrequenz aller Patienten im physiologischen Bereich.

Die Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut scheint bezüglich der Kreislaufparameter keine schwerwiegenden Störungen auszulösen und für die Patienten gut

verträglich zu sein. Zwischen beiden Methoden bestehen keine signifikanten Unterschiede. Diese These wird unterstützt durch eine Meta-Analyse von Huët et al. [31]. In den 27 Studien, die die Autoren verglichen haben, wurde die Rate unerwünschter Reaktionen durch die Retransfusion von ungewaschenem Wundblut nicht erhöht. Auch Munoz et al. konnten keine erhöhten Komplikationsraten nach Retransfusion von ungewaschenem Wundblut im Vergleich zur Transfusion allogener Blutkonserven nachweisen [44].

4.2.2 Immunparameter

4.2.2.1 IL-6

IL-6 ist ein proinflammatorisches Zytokin, dessen Konzentration in der Zirkulation nach fast allen Situationen gestörter Homöostase ansteigt. So findet man erhöhte Serumkonzentrationen von IL-6 typischerweise bei Endotoxämie, nach Trauma und bei akuten Infektionen [63,65]. Gebildet wird IL-6 hauptsächlich von Monozyten, Makrophagen und T-Zellen. Als Induktor der Akut-Phase-Reaktion stimuliert es in der Leber die Produktion von Akut-Phase-Proteinen, wie zum Beispiel CRP, erhöht die Kortisol-Ausschüttung der Nebennieren und löst zusammen mit TNF- α und IL-1 Fieber aus.

Dass sich durch traumatische Eingriffe die IL-6-Konzentration im Serum von Patienten erhöht, konnte man auch in unseren Untersuchungen sehen. Sowohl eine Stunde als auch fünf Stunden postoperativ war in beiden Gruppen ein signifikanter Anstieg der IL-6-Konzentration zu verzeichnen.

Besonders hohe Konzentrationen von IL-6 fanden sich im Drainageblut mit etwa 300pg/ml. Der Anstieg der IL-6-Konzentration im Drainageblut ist signifikant gegenüber den präoperativ gemessenen Werten. Ursache dafür ist wahrscheinlich, dass das Blut in der Drainage direkt aus dem traumatisiertem Wundgebiet stammt, wo die Konzentration an aktivierten Entzündungszellen besonders hoch ist. Bestätigt werden unsere Ergebnisse auch durch zahlreiche andere Autoren, die im Drainageblut hohe Konzentrationen von Zytokinen nachgewiesen haben [4,5,7,37,45].

Kristianson et al. diskutieren in ihren Untersuchungen verschiedene Ursachen für die sehr hohen IL-6-Konzentrationen im Drainageblut [37]. So könnten aktivierte Zellen im Wundgebiet IL-6 produzieren, welches über die Drainage in den Auffangbehälter gelangt. Außerdem könnten aktivierte Zellen aus dem Wundgebiet in den Behälter gelangen und dort

weiterhin Zytokine produzieren. Nicht zuletzt könnte auch der Kontakt mit dem Behältermaterial die Zellen im Drainageblut zur Produktion von Entzündungsmediatoren anregen. Wahrscheinlich haben alle diese Prozesse einen Anteil an der massiven IL-6-Erhöhung im Drainageblut. Interessant sind auch die Untersuchungen des Drainageblutes zu unterschiedlichen Zeitpunkten. So fanden die Autoren kurze Zeit nach der Operation erhöhte Konzentrationen an TNF- α und IL-1, jedoch nur geringe Konzentrationen von IL-6 im Drainageblut [37]. Zu einem späteren Messzeitpunkt, 4-6 Stunden nach der Operation, waren sowohl TNF- α als auch IL-1 nicht mehr nachweisbar. Dafür aber war die IL-6-Konzentration stark angestiegen. Als Ursache sehen die Autoren eine vorübergehende Produktion von TNF- α und IL-1 in der Wunde, welche die IL-6-Ausschüttung anregt. Diese wiederum hemmt die TNF- α -Produktion. So wurde in einer Studie von Xing et al. gezeigt, dass IL-6 neben seinen proinflammatorischen Eigenschaften auch antiinflammatorisch wirkt, um eine überschießende Entzündungsreaktion zu verhindern [65]. So hemmt es im Rahmen akuter Infektionen und Traumata die Ausschüttung von TNF- α und aktiviert die Ausschüttung von löslichem TNF- α -Rezeptor [65]. Dies erklärt, weshalb in den Untersuchungen von Kristianson et al. 4-6 Stunden postoperativ zwar hohe IL-6-Konzentrationen im Drainageblut nachweisbar waren, die Konzentrationen von TNF- α und IL-1 jedoch stark abgesunken waren. Dieses Ergebnis konnten wir auch in unseren Untersuchungen des Drainageblutes teilweise bestätigen. Auch wir konnten fünf Stunden postoperativ einen signifikanten IL-6-Anstieg nachweisen. Im Unterschied zu Kristianson et al. fanden wir jedoch auch zu diesem Zeitpunkt eine relevant hohe TNF- α -Konzentration im Vergleich zu den präoperativ gemessenen Werten. Da wir im Drainageblut nur zu einem Messzeitpunkt fünf Stunden postoperativ Zytokinkonzentrationen bestimmt haben, können wir keine Aussagen zu den eventuell unterschiedlichen Zytokinspiegeln davor machen.

In unseren Untersuchungen führte die Retransfusion des Wundblutes in beiden Gruppen zu einem weiteren signifikanten Anstieg der IL-6-Konzentration in der Zirkulation. Dies haben auch schon zahlreiche andere Autoren nachgewiesen [4,5,7,37]. Da die Unterschiede im Anstieg der IL-6-Konzentration nach Retransfusion zwischen beiden Gruppen nicht signifikant waren, erscheinen beide Methoden hinsichtlich ihres Einflusses auf die IL-6-Konzentration in der Zirkulation gleichwertige Effekte zu haben.

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass durch den Waschvorgang Zytokine und Entzündungszellen um etwa 80% reduziert werden [5,8]. Deshalb vermuteten wir, dass die Retransfusion von gewaschenem Wundblut zu einem signifikant niedrigeren Anstieg von

Zytokinen im Blut der Patienten führen würde. Diese Vermutung wurde durch unsere Ergebnisse widerlegt. Dass der Waschvorgang keinen Einfluss auf die Zytokinspiegel nach Retransfusion hat, zeigten auch Bottner et al. [13]. Die Autoren fanden ebenfalls signifikant erhöhte Konzentrationen an IL-6 und IL-8 im Blut der Probanden nach Retransfusion von gewaschenem Drainageblut. Der Unterschied im Anstieg der Zytokinparameter war jedoch nicht signifikant zu der Gruppe, die aufbereitetes Eigenblut erhielt. Die Autoren folgerten daraus, dass die Zytokinspiegel nach Retransfusion nicht durch den vorherigen Waschvorgang beeinflusst wurden. Diese Annahme wird auch durch die Ergebnisse unserer Studie untermauert. Außerdem spricht gegen eine Beeinflussung der Zytokinspiegel durch die Retransfusion, dass sich bei den von Bottner et al. durchgeführten Untersuchungen kein Zusammenhang zwischen der Menge des retransfundierten Wundblutes und dem Anstieg der Zytokine zeigte [13]. Der Anstieg der IL-6-Konzentration nach Retransfusion muss also andere Ursachen haben als den hohen Zytokingehalt des Drainageblutes. Die Autoren schlussfolgern aus den Ergebnissen ihrer Studie, dass der Anstieg der Zytokine hauptsächlich durch den traumatischen Eingriff und nicht durch die Retransfusion des Wundblutes ausgelöst wird.

Einen Ansatz auf die Frage, weshalb auch nach der Retransfusion von gewaschenem Wundblut die IL-6-Konzentration in der Zirkulation ansteigt, liefern Bentzien et al. in ihren Untersuchungen [8]. Sie wiesen nach, dass durch den Waschvorgang eine Reduktion der Leukozyten um 80% sowie eine deutliche Reduktion von IL-6 erfolgt. Jedoch nahm durch die Aufbereitung des Blutes die TNF- α -Konzentration signifikant zu. Die Autoren erklären dies mit einer Stimulation der verbleibenden Leukozyten durch die mechanische Irritation während der maschinellen Aufbereitung. Auch zeigten die Leukozyten nach dem Waschen deutliche morphologische Auffälligkeiten, waren zerstört oder in Lyse begriffen [8]. Durch Retransfusion dieses aufbereiteten Blutes, welches erhöhte TNF- α -Konzentrationen und aktivierte bzw. zerstörte Zellen enthält, kann es also durchaus in der Zirkulation zur Aktivierung von Entzündungszellen und damit Erhöhung der IL-6-Konzentration kommen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl der chirurgische Eingriff als auch die Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut zu einer signifikanten Zunahme der IL-6-Konzentration im Patientenserum führen. Da die Unterschiede im IL-6-Anstieg zwischen den Gruppen nicht signifikant waren, lässt sich schlussfolgern, dass beide Methoden gleichwertig sind. Ob die signifikante Zunahme der IL-6-Konzentration Auswirkungen auf die Komplikationsraten nach Retransfusion von Drainageblut hat, muss in weiteren Studien untersucht werden. Unsere Beobachtungen der Blutdruckwerte und

Herzfrequenz, die oben geschildert wurden, implizieren zunächst zumindest keine schwerwiegenden Einflüsse der Retransfusion auf die Kreislaufsituation der Patienten.

4.2.2.2 TNF-alpha

TNF- α spielt als Zytokin eine zentrale Rolle in der Proinflammation und beim apoptotischen Zelltod. Gebildet wird es hauptsächlich von Monozyten und Makrophagen, aber auch von B-Zellen, T-Zellen und dendritischen Zellen. Praktisch alle kernhaltigen Zellen exprimieren den TNF- α -Rezeptor auf ihrer Oberfläche, wodurch TNF- α ein sehr breites Wirkungsspektrum besitzt. So induziert es beispielsweise in der Leber die Produktion von Akut-Phase-Proteinen, es löst Fieber aus und erhöht in den Nebennieren die Kortisolsynthese. Des Weiteren regt es Immunzellen zur Bildung von IL-6, IL-1 und IL-8 an, erhöht die Zytotoxizität und die Phagozytosebereitschaft von Lymphozyten und wirkt chemotaktisch insbesondere auf Monozyten. Die Ausschüttung von TNF- α wird angeregt durch antigene Strukturen wie Endotoxine. Als Beispiel hierfür ist das Lipopolysaccharid (LPS), ein Faktor der Zellmembran gramnegativer Bakterien, zu nennen. Dieses wurde auch für unsere Untersuchungen der Monozytenfunktion verwendet. Weiterhin wird die TNF- α -Bildung durch Gewebdefekte, zum Beispiel nach Hypoxie oder operativen Eingriffen, angeregt. Außerdem wird die TNF- α -Ausschüttung durch andere Zytokine, wie IL-1, und durch molekulare Mediatoren wie Prostaglandine und Leukotriene induziert.

In unseren Untersuchungen zeigte sich fünf Stunden postoperativ eine leichte und nicht signifikante Erhöhung der TNF- α -Konzentration im Patientenserum, was durch operative Gewebdefekte und dadurch ausgelöster Induktion von Entzündungsprozessen erklärbar ist. Der tendenzielle Anstieg der TNF- α -Konzentration kann mit dem gleichzeitig erhöhten postoperativen IL-10-Spiegel in Zusammenhang stehen, der eine überschießende Entzündungsreaktion verhindert.

Demgegenüber enthielt das Drainageblut eine signifikant höhere Konzentration an TNF- α als das präoperativ entnommene Patientenserum. Diese Beobachtung machten auch andere Autoren in ihren Untersuchungen [8,18,58]. Bentzien et al. berichten zudem von einer signifikanten Zunahme der TNF- α -Konzentration im Drainageblut durch den Waschvorgang [8]. Dies begründen sie mit der mechanischen Irritation der Leukozyten während der maschinellen Aufbereitung. In unserer Studie führte die Retransfusion des Drainageblutes jedoch in keiner der beiden Gruppen zu einer signifikanten Zunahme der TNF- α -Konzentration in der Zirkulation. Die Werte waren sogar tendenziell rückläufig zu den Werten, die fünf Stunden

postoperativ, also vor Retransfusion, gemessen wurden. Es gab auch hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Auch die Untersuchungen von Munoz et al. bestätigen unser Ergebnis [45]. Sie konnten ebenfalls keine erhöhten TNF- α -Konzentrationen nach Wundblutretansfusion feststellen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl die Retransfusion von gewaschenem als auch die Retransfusion von ungewaschenem Wundblut trotz signifikant hoher TNF- α -Spiegel keinen Einfluss auf die TNF- α -Konzentration im Patientenserum hat.

Um den Einfluss der Retransfusion des Drainageblutes auf die Funktion der Monozyten und damit seinen Effekt auf das Immunsystem zu untersuchen, führten wir zusätzlich eine LPS-Stimulation des Patientenblutes durch.

Eine Stunde nach der Operation fand sich eine signifikant niedrigere TNF- α -Ausschüttung auf LPS-Stimulation im Vergleich zu den präoperativ gemessenen Werten. Dieses Ergebnis bestätigt Untersuchungen, die eine Immunsuppression durch operative Eingriffe nachgewiesen haben. So stellten zum Beispiel van Deuren et al. eine im Vergleich zu präoperativen Werten verminderte Konzentration an TNF- α , IL-1 β und IL-6 nach LPS-Stimulation bei gleich bleibenden Monozytenzahlen fest [63]. Sie begründeten ihre Ergebnisse damit, dass sich der Körper auf diese Weise vor einer Überreaktion des Immunsystems schützt. Nachteilig sei aber die dadurch gestörte Reaktion auf sekundäre Stressoren, was sich in postoperativen Infektionen äußern könne. Auch Grundmann et al. kamen zu ähnlichen Ergebnissen [25]. Sie konnten ebenfalls eine erniedrigte LPS-induzierte TNF- α -Ausschüttung nach operativen Eingriffen nachweisen. Gleichzeitig registrierten sie erhöhte postoperative IL-10-Spiegel sowie hohe Kortisol- und AdrenalinKonzentrationen. Diese Stress-Hormone könnten zusammen mit IL-10 für die inhibierte TNF- α -Ausschüttung nach operativen Eingriffen verantwortlich sein. Dass die TNF- α -Konzentration durch LPS-Stimulation fünf Stunden nach der Operation tendenziell wieder ansteigt, könnte für eine langsam beginnende Erholung des Immunsystems sprechen.

Im Vergleich zu der präoperativen LPS-stimulierten TNF- α -Konzentration waren die Werte im Drainageblut signifikant niedriger. Wir vermuten, dass dies mit einer verminderten Zahl an Monozyten im Drainageblut oder einer Störung ihrer Funktion im Zusammenhang stehen könnte. Sowohl Munoz et al. [46] als auch Sebastian et al. [54] zeigten, dass der Leukozytengehalt im Drainageblut etwa genauso hoch ist wie der präoperative Leukozytengehalt im Blut der Patienten. Außerdem wiesen Bentzien et al. in ihren Untersuchungen nach, dass der prozentuale Gehalt des Drainageblutes an Monozyten noch im physiologischen Bereich liegt

[8]. Ein verminderter Monozytengehalt ist also wahrscheinlich nicht die Ursache der von uns gemessenen Werte. Die starke Erniedrigung der LPS-induzierten TNF- α -Konzentration könnte durch die sehr hohen IL-6-Spiegel im Drainageblut ausgelöst worden sein. Wie bereits erwähnt, zeigten Xing et al., dass IL-6 die Ausschüttung von TNF- α vermindert und die Konzentration seines löslichen Rezeptors erhöht [65]. Die signifikant niedrigere LPS-stimulierte TNF- α -Konzentration im Drainageblut scheint mit der signifikant höheren IL-6-Konzentration im Vergleich zu den präoperativen Werten im Patientenserum zu korrelieren.

Die Retransfusion des Drainageblutes führte in beiden Gruppen zu einer tendenziell niedrigeren LPS-Stimulierbarkeit der TNF- α -Konzentration im Vergleich zu den fünf Stunden postoperativ gemessenen Werten. Die Stimulierbarkeit der Monozyten war in Gruppe B, die das Blut ungewaschen retransfundiert bekam, etwas geringer als in Gruppe A. Der Abfall der LPS-stimulierten TNF- α -Konzentration war in Gruppe B fünf Minuten nach der Retransfusion signifikant. Dieser Effekt hielt jedoch nur kurzfristig an und war bereits eine Stunde nach der Retransfusion des Wundblutes nicht mehr nachweisbar. Zudem waren die Konzentrationsunterschiede im Gruppenvergleich nicht signifikant. Man kann also davon ausgehen, dass der Waschvorgang keinen funktionsverbessernden Effekt auf die postoperative Störung der Monozyten hat. Beide Methoden erscheinen hinsichtlich ihres Einflusses auf die LPS-stimulierten TNF- α -Konzentration gleichwertig zu sein.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Munoz et al [48]. Auch sie fanden im Blut der Patienten, die ungewaschenes Drainageblut retransfundiert bekamen, keine Änderung der LPS-induzierten TNF- α -Ausschüttung. Bei in vitro Versuchen, bei denen venöses Vollblut mit Drainageblut kokubiert wurde, zeigte sich dagegen eine signifikant verminderte TNF- α -Konzentration nach LPS-Stimulation. Folglich scheint ungewaschenes Drainageblut eine gewisse immunsuppressive Potenz zu besitzen, die jedoch aufgrund der geringen Retransfusionsmengen keine Auswirkungen auf die TNF- α -Konzentration in der Zirkulation der Patienten hat. Die Autoren vermuteten des weiteren, dass auch die Retransfusion von gewaschenem Drainageblut die Immunfunktion der Patienten nicht beeinträchtigt. Dies konnten wir durch unsere Untersuchungen bestätigen.

Auch in einer anderen Studie konnten Munoz et al nachweisen, dass die Retransfusion von Wundblut keinen Einfluss auf die postoperativ beeinträchtigte zelluläre Immunantwort bei Patienten hat [45]. So gab es keine Unterschiede in der postoperativ erniedrigten Zahl an T-Zellen und natürlichen Killerzellen zwischen der Gruppe, die ungewaschenes Drainageblut retransfundiert bekam, und der Gruppe, die keine Transfusionen erhielt.

Dass die Retransfusion von Drainageblut nicht zu einer verstärkten postoperativen Immunsuppression führt, unterstützt auch eine Studie von Gharehbaghian et al [24]. Sie zeigten sogar, dass es nach Retransfusion von Wundblut zu einer Erhöhung von IFN γ und der Zahl an natürlichen Killerzellen kommt. Im Gegensatz dazu kam es in der Kontrollgruppe, die allogene Transfusionen erhielt, zu einem Abfall der IFN γ -Konzentration und der Zahl an natürlichen Killerzellen. Dies spricht für eine verstärkte postoperative Beeinträchtigung des Immunsystems.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Retransfusion von ungewaschem Drainageblut kurzfristig einen signifikanten Einfluss auf die LPS-induzierte TNF- α -Konzentration im Serum der Patienten hatte. Die Einflüsse der Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Drainageblut auf die LPS-induzierte TNF- α -Ausschüttung waren jedoch nicht signifikant unterschiedlich. Auch in der Gruppe, die gewaschenes Drainageblut retransfundiert bekam war die LPS-induzierte TNF- α -Ausschüttung niedriger als vor Retransfusion. Der Waschvorgang führt nicht zu einer signifikant besseren LPS-induzierten TNF- α -Ausschüttung. Beide Methoden scheinen demnach eine leichte immunsuppressive Potenz zu besitzen. Da sich hier jedoch kein signifikanter Vorteil für eine der beiden Methoden zeigte, erscheinen sie uns hinsichtlich ihrer immunsuppressiven Potenz gleichwertig sein.

4.2.2.3 IL-10

IL-10 ist ein regulierendes Zytokin im Entzündungsprozess und wirkt vor allem anti-inflammatorisch. Es wird hauptsächlich von T-Zellen, sowie aktivierten Monozyten und Makrophagen produziert. Als Down-Regulator von Monozyten- und Makrophagenfunktionen hemmt IL-10 die Produktion von Prostaglandin E₂ und proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α , IL-1, IL-6 und IL-8, sowie die Proliferation von T-Zellen. Die Plasmakonzentration von IL-10 ist während und nach operativen Eingriffen erhöht [25,34]. Die Ausschüttung von IL-10 wird durch proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-6 induziert, um überschießende Entzündungsreaktionen zu verhindern. Demzufolge ist IL-10 ein wichtiges den Entzündungsprozess regulierendes Zytokin, das zur Erhaltung des homöostatischen Gleichgewichts beiträgt.

Auch in unseren Untersuchungen beobachteten wir einen signifikanten Anstieg der IL-10-Konzentration nach der Operation. Dies wird von mehreren Autoren mit einer postoperativen Funktionssteigerung der Th2-Lymphozyten begründet, die hauptsächlich für die Ausschüttung

des antiinflammatorisch wirkenden IL-10 verantwortlich sind [20,35]. Auch Grundmann et al. haben sich mit der Immunsuppression durch operative Eingriffe beschäftigt [45]. Sie zeigten in ihrer Studie, dass nach kardiopulmonaler Bypass-Operation das Zytokinmuster im Blut der Patienten in antiinflammatorische Richtung verschoben wird. Sie konnten eine Erhöhung der IL-10-Konzentration und eine erniedrigte TNF- α -Konzentration im Patientenserum nachweisen. Ihre Ergebnisse begründeten sie damit, dass operative Eingriffe einen endokrinen Stressfaktor darstellen, indem durch sie die Bildung von Kortisol und Noradrenalin angeregt wird. Diese Hormone induzieren die Ausschüttung von IL-10, welches zusammen mit Noradrenalin die TNF- α -Produktion und damit die Funktion von Entzündungszellen hemmt. So konnten sie nachweisen, dass in Anwesenheit von Noradrenalin und IL-10 die LPS-induzierte TNF- α -Ausschüttung von Lymphozyten um 60% reduziert wird.

Die IL-10-Konzentrationen im Drainageblut waren im Vergleich zu den präoperativ gemessenen Plasmakonzentrationen etwa doppelt so hoch und damit signifikant höher als die präoperative Konzentration im Patientenserum. Diese Beobachtung ist erklärbar mit der hohen IL-10-Konzentration im Wundgebiet, sowie durch die Aktivität der Leukozyten im Drainageblut. Das Wundblut enthält hohe Konzentrationen an IL-6, welches ein Trigger für die Ausschüttung von IL-10 darstellt. Im Vergleich zu den IL-10-Konzentrationen im Plasma der Patienten fünf Stunden nach dem Eingriff war die Konzentration im Drainageblut jedoch deutlich niedriger.

Die Retransfusion des Drainageblutes führte nicht zu einer signifikanten Erhöhung der IL-10-Konzentration im Blut der Patienten. In der Gruppe A, die das Blut gewaschen retransfundiert bekam, sank die IL-10-Konzentration tendenziell sogar, während sie in Gruppe B eher anstieg. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen sind jedoch nicht signifikant. Daraus schlussfolgern wir, dass die Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut keinen Einfluss auf die IL-10-Konzentration im Patientenserum hat. Der immunsuppressive Effekt der Operation wird demnach nicht wesentlich durch die Retransfusion des Drainageblutes verstärkt.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch schon andere Autoren. Tylman et al. berichten von erhöhten IL-10-Spiegeln im Plasma der Patienten nach Knieendoprothesen-Operation [62]. Die Retransfusion von ungewaschenem Drainageblut führte in ihren Untersuchungen ebenfalls zu höheren Plasmakonzentrationen von IL-10 als die Retransfusion von gewaschenem Drainageblut, wobei auch hier der Unterschied zwischen den Gruppen nicht signifikant war. Außerdem fanden die Autoren keinen Zusammenhang zwischen der Menge an retransfundiertem Drainageblut und der Höhe der IL-10-Konzentration im Plasma. Des

weiteren beobachteten die Autoren bei einer dritten Gruppe, die kein Drainageblut retransfundiert bekam, ähnliche Verläufe der IL-10-Konzentration. Dies spricht eher für einen Zusammenhang der IL-10-Konzentration mit dem operativen Eingriff als für einen Effekt der Retransfusion von Drainageblutes.

4.2.2.4 IL-8 und MCP-1

IL-8 und MCP-1 gehören beide zur Subklasse der Chemokine und stellen wichtige Faktoren im Entzündungsprozess dar. Sie wirken chemotaktisch auf Entzündungszellen, insbesondere Monozyten, Makrophagen, T-Zellen und neutrophile Granulozyten und locken diese in das Entzündungsgebiet. Gebildet werden IL-8 und MCP-1 vor allem von Monocyten und Makrophagen, aber auch von T-Zellen, sowie von Endothelzellen und Fibroblasten. Diese Zellen werden durch Zytokine wie TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IFN γ , sowie durch Lipopolysaccharid zur Bildung der Chemokine angeregt [39].

Die synergistische Wirkung von IL-8 und MCP-1 spiegelt sich auch in ihren Konzentrationsverläufen bei unseren Untersuchungen wider. So erhöhte sich die Konzentration beider Zytokine im Patientenserum nach dem operativen Eingriff kontinuierlich, was den Entzündungsprozess im Operationsgebiet widerspiegelt.

Signifikant hoch waren die Konzentrationen beider Parameter im Drainageblut. Zu vergleichbaren Ergebnissen gelangten auch andere Autoren [3,4,7,18,45,58]. So berichten Anderson et al. in ihrer Studie von erhöhten IL-8-Konzentrationen nach Hüft- und Knieoperationen sowie besonders hohen Konzentrationen im Drainageblut [3]. Die erhöhten Zytokinpiegel im Drainageblut sind wahrscheinlich ausgelöst durch Gewebefaktoren im Wundgebiet oder/und durch den Kontakt zu den synthetischen Materialien des Drainagesystems.

Dalen et al. fanden in ihren Untersuchungen eine Abhängigkeit der IL-8-Konzentration von der Lagerungszeit der Blutprodukte [18]. Sowohl im Drainageblut als auch in venösem Vollblut stieg die IL-8-Konzentration mit der Dauer der Inkubation an und war nach 24 Stunden sehr stark erhöht. Die Autoren raten deshalb die Retransfusion des Drainageblutes innerhalb von sechs Stunden nach dem Eingriff zu vollenden, wie es auch von der American Association of Blood Banks empfohlen wird. Dieser Empfehlung kamen wir auch bei unseren Untersuchungen nach. Des weiteren untersuchten die Autoren die Auswirkungen von Leukozytenfiltern auf den Zytokinanstieg im Drainageblut [18]. Sie konnten nachweisen, dass durch den Einsatz von Leukozytenfiltern der Anstieg von IL-8 im Drainageblut vermindert

wird, wohingegen die Konzentration von Komplementfaktoren deutlich zunahm. Aktivierte Komplementfaktoren können als vasoaktive Anaphylatoxine Reaktionen wie Hypotension, Tachykardie und Koronarspasmen auslösen. Der Vorteil der Leukozytenfilter ist also fraglich, weshalb wir diese bei unseren Untersuchungen auch nicht einsetzten .

Die Retransfusion des Drainageblutes führte in beiden Gruppen zu einer signifikanten Erhöhung der IL-8-Konzentration. Dabei zeigte sich in Gruppe A, die das Wundblut gewaschen retransfundiert bekam, ein höherer Anstieg als in Gruppe B, die das Blut ungewaschen retransfundiert bekam. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war jedoch nicht signifikant. Der Waschvorgang scheint also hinsichtlich des Anstiegs der IL-8-Konzentration im Patientenserum keinen wesentlichen Effekt zu haben. Innerhalb einer Stunde nach Retransfusion sank die IL-8-Konzentration tendenziell wieder ab.

Auch Munoz et al. konnten in ihren Untersuchungen zeigen, dass IL-8-Konzentration nach Retransfusion von ungewaschenem Wundblut signifikant ansteigt [45]. Dieser Anstieg war aber nicht signifikant unterschiedlich zu den Kontrollgruppen, bei denen das Wundblut vor Retransfusion leukozytenreduziert wurde bzw. die gar kein Wundblut retransfundiert bekamen. Die Autoren führen die Erhöhung der IL-8 Konzentration auf das operative Trauma zurück und nicht auf die Retransfusion des Wundblutes. Da es in unseren Untersuchungen jedoch zu einer signifikanten Zunahme der IL-8-Konzentration nach Retransfusion des Drainageblutes kam, kann der IL-8-Anstieg nicht nur durch die Operation bedingt sein. Dabei scheint es jedoch nicht unbedingt notwendig zu sein, dass Wundblut vor der Retransfusion mittels Waschvorgang aufzubereiten. Der Waschvorgang, bei dem ca. 80% der Zytokine und Leukozyten entfernt werden, führte nämlich nicht zu einer signifikant niedrigeren IL-8-Konzentration nach Retransfusion.

In Bezug auf die MCP-1-Konzentration führte die Retransfusion trotz signifikant hoher Konzentrationen im Drainageblut in beiden Gruppen zunächst tendenziell zu einer Erniedrigung der Werte in der Zirkulation. Die Konzentrationsänderungen durch die Retransfusion und die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant. Obwohl durch den Waschvorgang bekanntlich eine Zytokinreduktion von ca. 80% erreicht werden kann [8], kommt es nach Retransfusion von gewaschenem Wundblut nicht zu einer signifikant niedrigeren MCP-1-Konzentration verglichen mit den Werten, die nach Retransfusion von ungewaschenem Wundblut gemessen werden. Der Waschvorgang scheint also auch auf die MCP-1-Konzentration im Patientenserum nach Retransfusion keinen eindeutigen Einfluss zu haben. Die Methoden sind demnach auch in dieser Hinsicht gleichwertig. Sowohl die Retransfusion von gewaschenem als auch die Retransfusion von ungewaschenem

Drainageblut hat keinen wesentlichen Einfluss auf die MCP-1-Konzentration im Patientenserum.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass der Waschvorgang in Bezug auf die IL-8- und MCP-1-Konzentration im Patientenserum nach Retransfusion keine Vorteile bringt.

5. Zusammenfassung und Beantwortung der Fragestellung

In unserer kontrollierten und randomisierten Studie untersuchten wir den Effekt der Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut auf die im Blut zirkulierenden Zytokine bei Patienten nach endoprothetischer Hüft- und Knieoperation. Wir bestimmten präoperativ und im postoperativen Verlauf sowie nach der Retransfusion den Hämatokrit- und Hämoglobinwert sowie Konzentrationen von TNF- α , IL-6, IL-10, IL-8 und MCP-1 im Blut der Patienten und im Drainageblut. Außerdem stimulierten wir zu den oben genannten Zeitpunkten die Blutproben der Patienten und des Drainageblutes mit LPS und bestimmten die daraus resultierende TNF- α -Konzentration als Marker der Monozytenfunktion. Es zeigten sich im postoperativen Verlauf signifikant erhöhte Konzentrationen der Zytokine IL-6, IL-8, und IL-10 sowie verminderte Hämoglobin- und Hämatokritwerte. Signifikant hohe Konzentrationen von IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α und MCP-1 waren außerdem im Drainageblut nachweisbar. Nach Retransfusion des Wundblutes stiegen jedoch nur die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 signifikant an. Dabei war jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachweisbar. Auch hinsichtlich der Konzentration von IL-10, TNF- α und MCP-1 gab es keine signifikanten Gruppenunterschiede. Der Waschvorgang hat also auf die Zytokinkonzentration im Serum der Patienten keinen Einfluss.

In Gruppe B, die das Blut ungewaschen retransfundiert bekam, war nach der Retransfusion kurzfristig eine signifikante Verminderung der LPS-stimulierte TNF- α -Sekretion nachweisbar. Dies spricht für eine immunsuppressive Potenz des ungewaschenen Drainageblutes. Da jedoch der Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der LPS-stimulierten TNF- α -Sekretion ergab, scheint der Waschvorgang keinen wesentlichen Effekt auf diese zu haben. Da auch in Gruppe A die LPS-stimulierte TNF- α -Sekretion nach Retransfusion tendenziell abfiel, scheint durch beide Methoden eine gewisse immunsuppressive Wirkung ausgelöst zu werden. Inwiefern diese relevant für eine mögliche Steigerung der Infektions- und Komplikationsraten nach operativem Eingriff und Retransfusion ist, müsste in weiteren Studien untersucht werden.

Zusammenfassend lässt sich aus unseren Untersuchungen schlussfolgern, dass der Waschvorgang vor Retransfusion des Wundblutes in Bezug auf die zirkulierenden Zytokine im Blut der Patienten keine Vorteile bringt. Wie auch Studien anderer Autoren belegen, werden die Veränderungen der Zytokinspiegel wahrscheinlich vielmehr durch die Operation beeinflusst als durch die Retransfusion des Drainageblutes. Des Weiteren zeigen unsere Untersuchungen,

dass die Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut keinen signifikant unterschiedlichen Effekt auf die LPS-induzierte TNF- α -Sekretion hat. Die in beiden Gruppen verminderte LPS-stimulierte TNF- α -Sekretion nach Retransfusion deutet jedoch auf eine gewisse immunsuppressive Potenz des Drainageblutes hin wie sie auch bei allogenen Transfusionen nachgewiesen wurde. Inwiefern sich diese Immunsuppression auf die postoperativen Komplikationsraten auswirkt bleibt in unseren Untersuchungen offen. Dies sollte in weiteren klinischen Studien untersucht und geklärt werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Allen SJ, McBride WT, McMurray TJ, Phillips AS, Penugonda SP, Campalani G, Young IS, Armstrong MA. Cell salvage alters the systemic inflammatory response after off-pump coronary artery bypass grafting surgery. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(2):578-85.
2. Altinel L, Kose KC, Ergan V. Shed blood transfusion and its effect on postoperative fever: a comparative study. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2006; [Epub ahead of print].
3. Andersson I, Tylman M, Bengtson JP, Bengtsson A. Complement split products and pro-inflammatory cytokines in salvaged blood after hip and knee arthroplasty. *Can J Anaesth* 2001;48(3):251-5.
4. Arnestad JP, Bengtsson A, Bengtson JP, Johansson S, Redl H, Schlag G. Release of cytokines, polymorphonuclear elastase and terminal C5b-9 complement complex by infusion of wound drainage blood. *Acta Orthop Scand.* 1995;66(4):334-8.
5. Arnestad JP, Bengtsson A, Bengtson JP, Tylman M, Redl H, Schlag G. Formation of cytokines by retransfusion of shed whole blood. *Br J Anaesth.* 1994;72(4):422-5.
6. Bauer M. Immunosuppression from transfusion of blood and blood products in tumor surgery. *Anaesthesist.* 2001;50 Suppl 1:S16-20.
7. Bengtsson A, Avall A, Hyllner M, Bengtson JP. Formation of complement split products and proinflammatory cytokines by reinfusion of shed autologous blood. *Toxicol Lett.* 1998;100-101:129-33.
8. Bentzien F, Brand JM, Rohrs E, Munkel H, Schmucker P. Mechanical autotransfusion procedures. The effect of cytokines and leukocytes on washed erythrocyte concentrate. *Anaesthesist.* 2000;49(6):505-10.
9. Berguer R, Bravo N, Bowyer M, Egan C, Knolmayer T, Ferrick D. Major surgery suppresses maximal production of helper T-cell type 1 cytokines without potentiating the release of helper T-cell type 2 cytokines. *Arch Surg.* 1999;134(5):540-4.

10. Biedler AE, Schneider SO, Seyfert U, Rensing H, Grenner S, Girndt M, Bauer I, Bauer M. Impact of alloantigens and storage-associated factors on stimulated cytokine response in an in vitro model of blood transfusion. *Anesthesiology*. 2002;97(5):1102-9.
11. Bierbaum BE, Callaghan JJ, Galante JO, Rubash HE, Tooms RE, Welch RB. An analysis of blood management in patients having a total hip or knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 1999;81(1):2-10.
12. Blevins FT, Shaw B, Valeri CR, Kasser J, Hall J. Reinfusion of shed blood after orthopaedic procedures in children and adolescents. *J Bone Joint Surg Am*. 1993;75(3):363-71.
13. Bottner F, Sheth N, Chimento GF, Sculco TP. Cytokine levels after transfusion of washed wound drainage in total knee arthroplasty: a randomized trial comparing autologous blood and washed wound drainage. *J Knee Surg*. 2003;16(2):93-7.
14. Carson JL, Altman DG, Duff A, Noveck H, Weinstein MP, Sonnenberg FA, Hudson JI, Provenzano G. Risk of bacterial infection associated with allogeneic blood transfusion among patients undergoing hip fracture repair. *Transfusion*. 1999;39(7):694-700.
15. Cheng SC, Hung TS, Tse PY. Investigation of the use of drained blood reinfusion after total knee arthroplasty: a prospective randomised controlled study. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2005;13(2):120-4.
16. Clements DH, Sculco TP, Burke SW, Mayer K, Levine DB. Salvage and reinfusion of postoperative sanguineous wound drainage. A preliminary report. *J Bone Joint Surg Am*. 1992;74(5):646-51.
17. Connall TP, Zhang J, Vaziri ND, Kaupke CJ, Wilson SE. Leukocyte CD11b and CD18 expression are increased in blood salvaged for autotransfusion. *Am Surg*. 1994;60(10):797-800.

18. Dalen T, Bengtsson A, Brorsson B, Engstrom KG. Inflammatory mediators in autotransfusion drain blood after knee arthroplasty, with and without leucocyte reduction. *Vox Sang.* 2003;85(1):31-9.
19. Dalen T, Brostrom LA, Engstrom KG. Autotransfusion after total knee arthroplasty. Effects on blood cells, plasma chemistry, and whole blood rheology. *J Arthroplasty.* 1997;12(5):517-25.
20. Decker D, Schondorf M, Bidlingmaier F, Hirner A, von Ruecker AA. Surgical stress induces a shift in the type-1/type-2 T-helper cell balance, suggesting down-regulation of cell-mediated and up-regulation of antibody-mediated immunity commensurate to the trauma. *Surgery.* 1996;119(3):316-25.
21. Dyer RH Jr. Intraoperative autotransfusion. A preliminary report and new method. *Am J Surg.* 1966;112(6):874-8.
22. Faris PM, Ritter MA, Keating EM, Valeri CR. Unwashed filtered shed blood collected after knee and hip arthroplasties. A source of autologous red blood cells. *J Bone Joint Surg Am.* 199;73(8):1169-78.
23. Feola M, Simoni J, Tran R, Lox CD, Canizaro PC. Toxic factors in the red blood cell membrane. *J Trauma.* 1989;29(8):1065-75.
24. Gharehbaghian A, Haque KM, Truman C, Evans R, Morse R, Newman J, Bannister G, Rogers C, Bradley BA. Effect of autologous salvaged blood on postoperative natural killer cell precursor frequency. *Lancet.* 2004;363(9414):1025-30.
25. Grundmann U, Rensing H, Adams HA, Falk S, Wendler O, Ebinger N, Bauer M. Endotoxin desensitization of human mononuclear cells after cardiopulmonary bypass: role of humoral factors. *Anesthesiology.* 2000;93(2):359-69.
26. Handel M, Boluki D, Loibl O, Schaumburger J, Kalteis T, Matussek J, Grifka J. Postoperative autologous retransfusion of collected shed blood after total knee arthroplasty with the cell saver. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 2006;144(1):97-101.

27. Handel M, Winkler J, Hornlein RF, Northoff H, Heeg P, Teschner M, Sell S. Increased interleukin-6 in collected drainage blood after total knee arthroplasty: an association with febrile reactions during retransfusion. *Acta Orthop Scand*. 2001;72(3):270-2.
28. Hansen E, Hansen MP. Reasons against the retransfusion of unwashed wound blood. *Transfusion*. 2004;44(12 Suppl):45S-53S.
29. Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun*. 1997;65(6):2283-91.
30. Hill GE, Frawley WH, Griffith KE, Forestner JE, Minei JP. Allogeneic blood transfusion increases the risk of postoperative bacterial infection: a meta-analysis. *J Trauma*. 2003;54(5):908-14.
31. Huët C, Salmi LR, Fergusson D, Koopman-van Gemert AW, Rubens F, Laupacis A. A meta-analysis of the effectiveness of cell salvage to minimize perioperative allogeneic blood transfusion in cardiac and orthopedic surgery. International Study of Perioperative Transfusion (ISPOT) Investigators. *Anesth Analg*. 1999;89(4):861-9.
32. Jacobi KE, Wanke C, Jacobi A, Weisbach V, Hemmerling TM. Determination of eicosanoid and cytokine production in salvaged blood, stored red blood cell concentrates, and whole blood. *J Clin Anesth*. 2000;12(2):94-9.
33. Jain R, Jain S. Blood salvage in total hip and knee arthroplasty in a community hospital: a retrospective study. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2005;13(1):19-26.
34. Kato M, Honda I, Suzuki H, Murakami M, Matsukawa S, Hashimoto Y. Interleukin-10 production during and after upper abdominal surgery. *J Clin Anesth*. 1998;10(3):184-8
35. Kirkley SA, Cowles J, Pellegrini VD, Harris CM, Boyd AD, Blumberg N. Blood transfusion and total joint replacement surgery: T helper 2 (TH2) cytokine secretion and clinical outcome. *Transfus Med*. 1998;8(3):195-204.

36. Klein HG. Allogeneic transfusion risks in the surgical patient. *Am J Surg.* 1995;170(6A Suppl):21S-26S.
37. Kristiansson M, Soop M, Saraste L, Sundqvist KG, Suontaka AM, Blomback M. Cytokine and coagulation characteristics of retrieved blood after arthroplasty. *Intensive Care Med.* 1995;21(12):989-95.
38. Lambert DH, Deane RS, Mazuzan JE Jr. Anesthesia and the control of blood pressure in patients with spinal cord injury. *Anesth Analg.* 1982;61(4):344-8.
39. Lund T, Osterud B. The effect of TNF-alpha, PMA, and LPS on plasma and cell-associated IL-8 in human leukocytes. *Thromb Res.* 2004;113(1):75-83.
40. Maktabi M, Warner D, Sokoll M, Boarini D, Adolphson A, Speed T, Kassell N. Comparison of nitroprusside, nitroglycerin, and deep isoflurane anesthesia for induced hypotension. *Neurosurgery.* 1986;19(3):350-5.
41. Martin A, Prenn M, Spiegel T, Sukopp C, von Stempel A. Relevance of wound drainage in total knee arthroplasty--a prospective comparative study. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 2004;142(1):46-50.
42. McMurray MR, Birnbaum MA, Walter NE. Intraoperative autologous transfusion in primary and revision total hip arthroplasty. *J Arthroplasty.* 1990;5(1):61-5.
43. Mottl-Link S, Russlies M, Klinger M, Seyfarth M, Ascherl R, Gradingner R. Erythrocytes and proinflammatory mediators in wound drainage. *Vox Sang.* 1998;75(3):205-11.
44. Munoz M, Ariza D, Garceran MJ, Gomez A, Campos A. Benefits of postoperative shed blood reinfusion in patients undergoing unilateral total knee replacement. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2005;125(6):385-9.
45. Munoz M, Cobos A, Campos A, Ariza D, Munoz E, Gomez A. Post-operative unwashed shed blood transfusion does not modify the cellular immune response to surgery for total knee replacement. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2006;50(4):443-50.

46. Munoz M, Garcia-Vallejo JJ, Ruiz MD, Romero R, Olalla E, Sebastian C. Transfusion of post-operative shed blood: laboratory characteristics and clinical utility. *Eur Spine J.* 2004;13 Suppl 1:S107-13.
47. Munoz M, Kuhlmoegen B, Ariza D, Haro E, Marroqui A, Ramirez G. Which patients are more likely to benefit from postoperative shed blood salvage after unilateral total knee replacement? An analysis of 581 consecutive procedures. *Vox Sang.* 2007;92(2):136-41.
48. Munoz M, Munoz E, Navajas A, Campos A, Rius F, Gomez A. Impact of postoperative unwashed shed blood retrieved after total knee arthroplasty on endotoxin-stimulated tumor necrosis factor alpha release in vitro. *Anesthesiology.* 2006;104(2):267-72.
49. Nelson CL, Fontenot HJ. Ten strategies to reduce blood loss in orthopedic surgery. *Am J Surg.* 1995;170(6A Suppl):64S-68S.
50. Pertl D, Kaltenecker G. Minimizing allogeneic blood transfusion in knee prosthesis implantation. *Unfallchirurg.* 2001;104(9):808-12.
51. Reize P, Ende D, Rudert M, Wulker N. Postoperative autologous transfusion from blood drainage after total hip joint arthroplasty--how much value is really there. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 2006;144(4):400-4.
52. Riou B, Arock M, Guerrero M, Ramos M, Thoreux P, Guillosson JJ, Roy-Camille R, Viars P. Haematological effects of postoperative autotransfusion in spinal surgery. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1994;38(4):336-41.
53. Rosencher N, Kerckamp HE, Macheras G, Munuera LM, Menichella G, Barton DM, Cremers S, Abraham IL; OSTHEO Investigation. Orthopedic Surgery Transfusion Hemoglobin European Overview (OSTHEO) study: blood management in elective knee and hip arthroplasty in Europe. *Transfusion.* 2003; 43(4):459-69.
54. Sebastian C, Romero R, Olalla E, Ferrer C, Garcia-Vallejo JJ, Munoz M. Postoperative blood salvage and reinfusion in spinal surgery: blood quality, effectiveness and impact on patient blood parameters. *Eur Spine J.* 2000;9(6):458-65.

55. Semkiw LB, Schurman DJ, Goodman SB, Woolson ST. Postoperative blood salvage using the Cell Saver after total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1989;71(6):823-7.
56. Silva R, Moore EE, Bar-Or D, Galloway WB, Wright ED. The risk:benefit of autotransfusion--comparison to banked blood in a canine model. *J Trauma.* 1984;24(7):557-64.
57. Simpson MB, Georgopoulos G, Orsini E, Eilert RE. Autologous transfusions for orthopaedic procedures at a children's hospital. *J Bone Joint Surg Am.* 1992;74(5):652-8.
58. Southern EP, Huo MH, Mehta JR, Keggi KJ. Unwashed wound drainage blood. What are we giving our patients? *Clin Orthop Relat Res.* 1995;(320):235-46.
59. Stehling LC, Zauder HL, Rogers W. Intraoperative autotransfusion. *Anesthesiology.* 1975;43(3):337-45.
60. Strumper D, Weber EW, Gielen-Wijffels S, Van Drumpt R, Bulstra S, Slappendel R, Durieux ME, Marcus MA. Clinical efficacy of postoperative autologous transfusion of filtered shed blood in hip and knee arthroplasty. *Transfusion.* 2004;44(11):1567-71.
61. Tietze M, Kluter H, Troch M, Kirchner H. Immune responsiveness in orthopedic surgery patients after transfusion of autologous or allogeneic blood. *Transfusion.* 1995;35(5):378-83.
62. Tylman M, Bengtson JP, Avall A, Hyllner M, Bengtsson A. Release of interleukin-10 by reinfusion of salvaged blood after knee arthroplasty. *Intensive Care Med.* 2001;27(8):1379-84.
63. van Deuren M, Twickler TB, de Waal Malefyt MC, Van Beem H, van der Ven-Jongekrijg J, Verschueren CM, van der Meer JW. Elective orthopedic surgery, a model for the study of cytokine activation and regulation. *Cytokine.* 1998;10(11):897-903.

64. Wilson WJ. Intraoperative autologous transfusion in revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1989;71(1):8-14.

65. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest.* 1998;101(2):311-20.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutztechnischen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

8 Danksagungen

Meinem Doktorvater und Betreuer, Herrn PD Dr. Thomas Volk, Stellvertretender Direktor der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Promotionsthemas sowie seine ständige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft bei der Durchführung und Niederschrift der Arbeit. Seine freundliche Kritik und hilfreichen Anregungen haben zur Vollendung der Arbeit in der heutigen Form beigetragen.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. Christian von Heymann, Herrn Dr. Jürgen Birnbaum und Herrn Dr. Ulf Adler für die Aufklärung der Patienten und die Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei den Untersuchungen im Aufwachraum.

Frau Egerer danke ich für die Zusammenarbeit im Labor, die Einarbeitung in die Handhabung der ELISA und ihre Unterstützung bei der Bestimmung der Zytokinparameter. Vielen Dank außerdem für ihre freundliche Offenheit und Hilfsbereitschaft bei Problemen.

Lucille Granitza, meiner Mitdotorandin, danke ich herzlich für die Zusammenarbeit beim Einschluss der Patienten in die Studie. Die faire und flexible Aufteilung der Aufgaben half sehr bei dem hohen Arbeitsaufwand während der Untersuchungen.

Mein herzlicher Dank für die ständige Motivation und Unterstützung sowie die aufbauenden Worten in Motivations-Tiefpunkten gilt außerdem meiner Familie und ganz besonders meinem Freund Sascha Kahrau.

Erklärung

Ich, Kristin Döring, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Effekt der Retransfusion von gewaschenem und ungewaschenem Wundblut auf die im Blut zirkulierenden Zytokine bei Patienten nach endoprothetischem Gelenksersatz“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum: 30.06.2007

Unterschrift