

## 1. Einleitung

### 1.1 Allgemeines

Die derzeitige Auffassung der Pathogenese eines Systemischen Inflammatorischen Reaktions-Syndroms (SIRS) und einer Sepsis (Tab. 1) geht davon aus, dass eine allgemeine entzündliche Abwehrreaktion des menschlichen Organismus durch unterschiedliche Aggressionen sowohl infektiöser als auch nichtinfektiöser Art hervorgerufen werden kann. Diese bewirken eine Mediatorzell-Aktivierung und die Triggerung diverser Abwehrkaskaden mit dem biologisch sinnvollen Ziel, Mikroben zu zerstören und Toxine zu inaktivieren. Es können jedoch in einer überschießenden Reaktion auch die Organe des betroffenen Organismus geschädigt und ein Multiorganversagen verursacht werden (Müller-Werdan et al. 2003, Makrides et al.).

---

#### Tabelle 1

Nach den Kriterien der amerikanischen Konsensuskonferenz aus Vertretern der Thoracic Society und der Society of Critical Care Medicine von 1991 wird ein SIRS durch zwei oder mehr der folgenden Symptome definiert:

Körpertemperatur  $>38,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  oder  $<36,0\text{ }^{\circ}\text{C}$

Herzfrequenz  $>90/\text{min}$

Atemfrequenz  $>20/\text{min}$  oder  $\text{paCO}_2 <32\text{ mmHg}$

Leukozyten  $>12000/\text{mm}^3$  oder  $<4000/\text{mm}^3$  oder  $>10\%$  unreife Formen

Eine Sepsis wird entsprechend dazu als eine systemische Reaktion auf eine Infektion definiert, die zwei oder mehr der Symptome 1. – 4. hervorruft.

---

### 1.2 Das Complementsystem

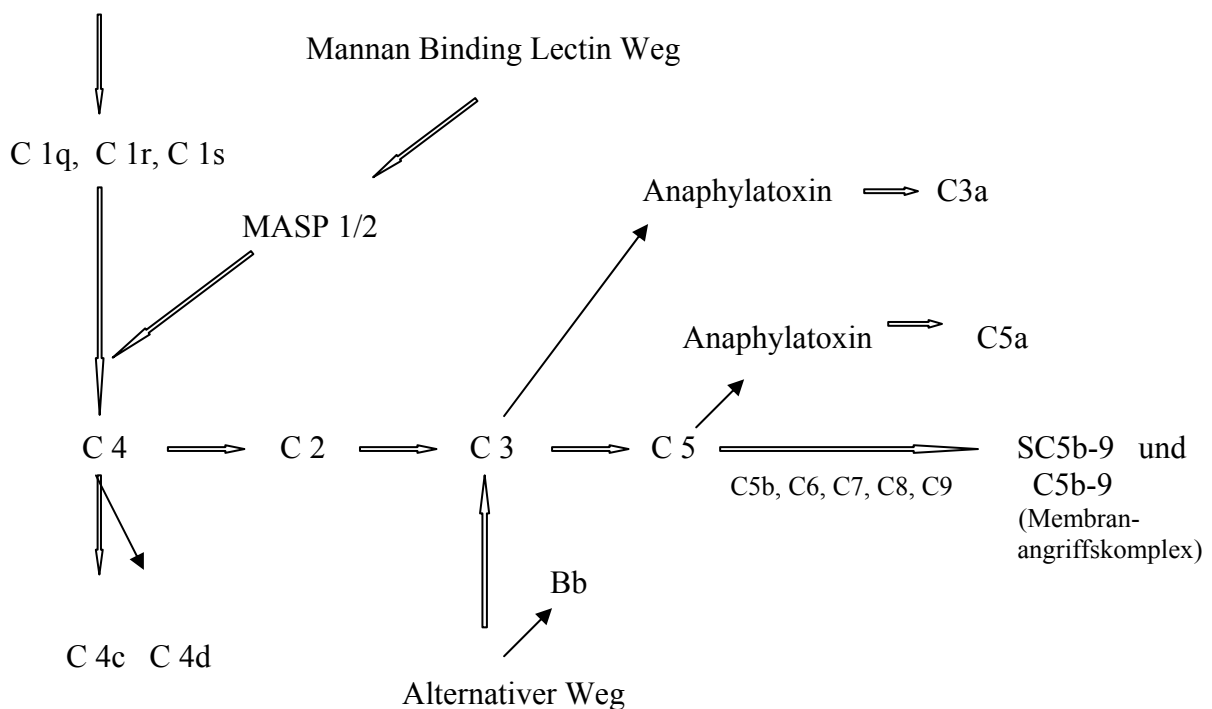
Das Complementsystem (Abb. 1) ist eines der wichtigsten Abwehrsysteme des Menschen und moduliert bzw. initiiert eine proinflammatorische Immunantwort sowohl bei Kontakt mit Antigen-Antikörper-Komplexen, mit bakteriellen Zellwandkomponenten, als auch bei jeglichem Kontakt mit verletztem Endothel oder mit künstlichen Oberflächen (Butler et al., Jansen et al. 1992, Mollness et al.). In der Herzchirurgie kann die Anwendung der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) zu einem SIRS führen, wie es bereits in den 80er Jahren von Kirklin und Westaby als „whole-body-inflammation-syndrom“ beschrieben wurde. Als Hauptursache wurde zunächst der Kontakt des Blutes mit den Fremdoberflächen und dem Oxigenator der EKZ angesehen. In unterschiedlichen klinischen und experimentellen Studien

konnte jedoch nachgewiesen werden, dass es sich beim SIRS nach Herzoperationen um ein komplexes inflammatorisches Geschehen handelt, bei dem u.a. die relative Hypotension bei nicht-pulsatilem Blutfluss, vasoaktive Substanzen (z.B.: Vasopressin, Katecholamine, Thromboxan A2), eine Endotoxinämie und viele andere Faktoren zu einer Aktivierung von Kaskadensystemen führen. Dabei scheint das Complementsystem eine wesentliche Rolle zu spielen (Butler et al., Chello et al., Kirklin et al. 1991, Le Deist et al., Wan et al.).

In der Folge kommt es zu einer vermehrten Bildung von Complementfaktoren (z.B.: C3a, C5a und Membranangriffskomplex), Gerinnungsprodukten, freien Sauerstoffradikalen, aktivierten Leukozyten, Adhäsionsmolekülen und Cytokinen.

---

#### Klassischer Weg




---

**Abbildung 1** Schematische und vereinfachte Illustration der Complementkaskade mit Aktivierungswegen. SC5b-9 ist der lösliche Membranangriffskomplex, der nach Bindung an Zielzellen diese direkt durch Zellyse als membrangebundener C5b-9 zerstören kann.

Ein weiterer Faktor bei der Entstehung eines SIRS ist der Ischämie- und Reperfusionsschaden. Im Rahmen der EKZ kommt es einerseits in der ischämischen Phase zu zellulären Läsionen durch freie Radikale, andererseits werden während der Reperfusion Mediatoren erzeugt (Proteasen, Laktat, Kallikrein, Histamin, Complementfaktoren etc.), welche sowohl direkt am Herzen (Entman et al., Murohara et al.) als auch an anderen Organen zu Schädigungen führen können, mit dem klinischen Resultat einer renalen, intestinalen,

pulmonalen, zerebralen und kardialen Dysfunktion (Asimakopoulos et al. 1999 und 2001, Breda et al., Butler et al., Chello et al., Cremer et al., Dreyer et al., Pearson et al., Prodnzinsky et al., Wan et al.). Auch beim Ischämie- und Reperfusionsschaden ist das Complementsystem maßgeblich beteiligt (Butler et al., Murohara et al.). Das Ausmaß der systemischen Inflammation bei herzchirurgischen Patienten und die damit einhergehende Organdysfunktion ist individuell sehr unterschiedlich, von vielen prä- und intraoperativen Faktoren abhängig und bisher für den einzelnen Patienten nicht vorhersehbar.

### 1.2.1 Die Aktivierung des klassischen Wegs des Complementsystems

Das Complementsystem (CS) besteht aus über 30 Serum- und Zelloberflächenproteinen, die in einer Kaskadenreaktion aus proteolytischen Schritten miteinander verbunden sind. Jedes Protein des klassischen Wegs ist mit einer Nummer bezeichnet, wobei die Reaktion in folgender Reihenfolge abläuft: C1q, C1r, C1s, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9 und schließlich zur Aktivierung des Membranangriffskomplexes führt (Roitt et al.). Klassisch findet die Aktivierung der ersten Complementkomponente C1, welche aus einem C1q-Molekül, zwei C1s- und zwei C1r-Molekülen besteht, durch Bindung von C1q an Antigen-Antikörper-Komplexe statt (Roitt et al.). In der Herzchirurgie kommt es durch C-reaktives Protein (CRP)-Complement-Komplexe zu einer Aktivierung des klassischen Wegs des Complementsystems (Volanakis et al., Wolbink et al. 1996) und damit zu einer systemischen Inflammation. Dabei scheint insbesondere der CRP-vermittelte Myokardschaden eine wichtige Rolle zu spielen. So konnten bei Patienten mit akutem Herzinfarkt erhöhte Plasmaspiegel von CRP-induzierten Complementfragmenten nachgewiesen werden (Lagrand et al. 1997). Griselli et al. zeigten, dass humanes CRP in einem Rattenmodell Complement-abhängig das Ausmaß eines Myokardschadens verstärkte. Dieser Effekt konnte vollständig aufgehoben werden durch eine in vivo Complement-Blockierung. Eine weitere Aktivierung des klassischen Wegs findet durch Protamin-Heparin-Komplexe im Rahmen der Protamingabe zur Heparinneutralisierung statt (Cavarocchi et al. 1985).

### 1.2.2 Die Aktivierung des alternativen Wegs des Complementsystems

Durch direkte C3-Aktivierung an den Fremdoberflächen der EKZ wird der alternative Weg aktiviert (Cavarocchi et al. 1986, Heller et al.). Andererseits kann es durch die während der EKZ verursachte Ischämie und Permeabilitätsstörung der Darmwandmucosa des herzchirurgischen Patienten (Cox et al., Tao et al.) zur Translokation von Endotoxin/Lipopolysaccharid (LPS) in den systemischen Kreislauf kommen (Andersen et al.,

Baue et al., Fiddian-Green, Hill, McNicol et al., Ohri et al. 1993, Oudemans-van Straten et al. 1996). LPS stimuliert die Cytokinproduktion von Monozyten und Neutrophilen (Reinke et al., Riedemann et al.) und führt via C3 zu einer starken Triggerung des alternativen Wegs (Caliezi et al., Kalter et al., Roitt et al.). Schließlich werden in einer gemeinsamen Endstrecke mit dem klassischen Weg die Anaphylatoxine und der Membranangriffskomplex generiert.

#### 1.2.3 Die Aktivierung des mannan binding lectin (MBL) Wegs des Complementsystems

Über den Lectin Weg, bei dem Mannose bindendes Lectin (MBL) bakterielle Zuckeroberflächen erkennt, erfolgt die Aktivierung von C2 (Heller et al., Turner et al.). Die Bedeutung dieses Aktivierungswegs in der Herzchirurgie ist jedoch noch unklar.

#### 1.2.4 Die Anaphylatoxine

Die in der Complementkaskade aktivierten Peptide C3a und C5a sind bekannt als Anaphylatoxine. Sie vermitteln verschiedene Entzündungsreaktionen wie eine Zunahme der Gefäßpermeabilität, die Kontraktion der glatten Muskelzellen, die Chemotaxis von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) und von Mastzellen (Björk et al., Hack et al. 1989, Haeney) und die Aktivierung und Aggregation von Thrombozyten (Caliezi et al.). Der Nettoeffekt dieser Aktivitäten besteht in der Auswanderung von PMN, Monozyten und Makrophagen aus den Blutgefäßen in das umliegende Gewebe. Durch eine Degranulation von PMN mit Ausschüttung von zytotoxischen Proteasen (z.B. Elastase und Myeloperoxidase) und freien Sauerstoffradikalen kann das umliegende Gewebe und das Endothel geschädigt werden (Boyle et al., Tonz et al.). Zusätzlich führt die Induktion von proinflammatorischen Cytokinen wie z.B. IL6 und TNF  $\alpha$  zu einer Verstärkung der Gewebeschädigung (Dinarello 1996, Roitt et al., Scholz et al., Smedly et al., Yao et al.). Dabei scheint, im Vergleich mit anderen Cytokinen, der IL6-Serumspiegel die höchste prognostische Aussagekraft zur Beurteilung einer Sepsis und der Korrelation mit einer Organdysfunktion zu haben (Müller-Werdan 2003).

### 1.3 Immunkompetenz und -suppression

Obwohl dem perioperativen Organversagen in der Herzchirurgie fast regelhaft eine generalisierte Entzündungsreaktion (SIRS) vorausgeht, mehren sich jedoch die Hinweise aus der Sepsis-Forschung (Döcke et al.) als auch durch Arbeiten bezüglich der koronaren Herzchirurgie (Volk T. et al. 2001), dass möglicherweise schon gleichzeitig mit der initialen Hyperinflammation ein Zustand der Gegenregulation mit antiinflammatorischen und

immunsuppressiven Vorgängen angeregt wird, welche schließlich zu einer Immunschwäche führen und dass das Überleben der Patienten im Wesentlichen von der Erholung der Immunkompetenz abhängt. Volk HD et al. 1996 fanden im Rahmen der Transplantationsmedizin und des immunologischen „monitoring“ allotransplantierte Patienten, dass eine immunsuppressive Behandlung einen Abfall der HLA-DR-Expression (human leukocyte antigen-DR expression) auf Monozyten nach sich zog, welche, je nach Dauer und Intensität, mit dem Auftreten von Infektionen und/oder einer Sepsis assoziiert war.

Die Arbeitsgruppe von Wolk et al. konnte als weiteres Zeichen der Immunsuppression eine verringerte ex vivo Stimulierbarkeit der Monozyten auf LPS demonstrieren. Diese Befunde weisen darauf hin, dass sowohl die HLA-DR-Expression auf Monozyten als auch die reduzierte Stimulierbarkeit von Monozyten auf LPS zur Früherkennung gefährdeter Patienten für ein SIRS oder eine Sepsis nach herzchirurgischer Operation dienen könnte.

#### **1.4 Der C1-Esterase-Inhibitor**

Die wichtigste Steuerfunktion des klassischen Wegs der Complementaktivierung erfolgt durch den C1-Esterase-Inhibitor (C1-INH), durch die Inaktivierung der beiden aktivierten Complementmoleküle C1r und C1s der ersten Complementkomponente C1 des CS (Roitt et al., Zeerleder et al.). Zusätzlich inaktiviert C1-INH Kallikrein, den aktivierten Faktor XII (Hagemann-Faktor) und den aktivierten Faktor XI des Kontaktsystems der plasmatischen Gerinnung (Caliezi et al., Nuijens et al., Zeerleder et al.).

Bei dem Versuch, Ansatzpunkte zu finden, mit denen ein SIRS verhindert werden kann, gab es immer wieder Überlegungen, dass eine Hemmung der überschießenden Complementaktivierung zu einer Abschwächung der systemischen Inflammation und der dadurch bedingten Gewebeschädigungen führen könnte. So konnten Murohara et al. in einem Rattenmodell den indirekten Nachweis führen, dass sich durch das Complementsystem aktivierte polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) im kardialen Gewebe anreichern und eine wesentliche Rolle in der Pathogenese des myokardialen Ischämie/Reperfusionsschaden spielen. Sowohl die Inhibierung des klassischen Wegs durch einen C1-INH als auch die Inhibierung des alternativen Wegs der Complementkaskade durch einen löslichen Complementrezeptor vor der Reperfusion reduzierten die PMN-Anreicherung als auch den Myokardschaden signifikant. Die Blockierung des klassischen Wegs der Complementkaskade durch den C1-INH war dabei effektiver in Bezug auf den direkten Schaden an den Kardiomyozyten, während die PMN-Migration in das reperfundierte

Myokardareal durch Blockierung sowohl des alternativen als auch des klassischen Wegs gleichermaßen reduziert werden konnte.

C1-INH wird in zahlreichen Zellen synthetisiert, z.B. Hepatozyten, Monozyten und Endothelzellen und es kann, da es sich bei C1-INH um ein „akute Phase Protein“ handelt, im Rahmen einer Inflammation zu einer Steigerung seiner Syntheserate kommen (Caliezi et al.). Abgesehen von einem Verbrauch des funktionellen C1-INH durch Inaktivierung von aktiviertem C1, von Kallikrein, aktiviertem Faktor XII und aktiviertem Faktor XI (Caliezi et al.) wird C1-INH hauptsächlich inaktiviert durch proteolytische Spaltung und auch durch Plasmin, ein Enzym, welches ubiquitär in den unterschiedlichsten inflammatorischen Zuständen aktiviert wird (Caliezi et al., Nuijens et al., Wallace et al.). Auch das in humanen PMN vorkommende Enzym Elastase ist bei der Spaltung und Inaktivierung von funktionellem C1-INH beteiligt (Brower et al.). Dabei wird die Ausschüttung von Elastase durch diverse Faktoren, z.B. C5a, TNF  $\alpha$  und Endotoxin, verstärkt (Nuijens et al.).

Das Ausmaß der durch Spaltung oder Komplexbildung bedingten Inaktivierung des C1-INH kann durch die Bestimmung des Abfalls der funktionellen Aktivität des C1-INH eingeschätzt werden (Caliezi et al., Nuijens et al., Nürnberger et al.). Nuijens et al. konnten bei Patienten im septischen Schock einen Abfall der funktionellen Aktivität des C1-INH im Vergleich zu normotensiven Sepsis-Patienten als auch zu gesunden Probanden nachweisen. Es scheint demnach eine Korrelation zwischen dem Abfall der funktionellen Aktivität von C1-INH und dem Ausmaß einer Inflammation im Rahmen einer Sepsis zu geben. Da es auch bei anderen Formen der systemischen Inflammation, z.B. beim „vascular leak syndrom“ zu einer gesteigerten Complementaktivierung mit Abfall der funktionellen C1-INH-Aktivität kommen kann (Nürnberger et al.), ist zu vermuten, dass ein ausgeprägtes SIRS im Rahmen der Herzchirurgie, welches durch eine Complementaktivierung mitverursacht wird, ebenfalls mit einer Reduktion der funktionellen C1-INH-Aktivität korreliert.

Es wäre denkbar, dass eine präoperative CRP-Erhöhung in der Herzchirurgie einen Indikator für eine gesteigerte Complementaktivierung über den klassischen Weg darstellt und daher mit einem C1-INH-Aktivitätsverlust einhergeht. Die dadurch ungebremste perioperative Complementaktivierung könnte dann in einer Verstärkungsschleife zu einer Potenzierung der systemischen Inflammation führen. Zusätzlich könnte auch eine durch Complement induzierte Schädigung des Herzmuskels und die dadurch verminderte Herzleistung mit reduzierter Organperfusion zu einer weiteren ischämischen Verletzung im betroffenen Gewebe führen und die Complementaktivierung perpetuieren. Ob der Einsatz eines C1-INH bei herzchirurgischen Patienten protektiv wirken könnte ist jedoch bisher nicht eindeutig geklärt.

### **1.5 Kriterien für ein SIRS in der Herzchirurgie**

Organinsuffizienzen treten bei ca. 10 % der Patienten nach herzchirurgischen Operationen auf (Pilz et al.). Die klinischen SIRS-Symptome (Tab. 1) sind jedoch hinsichtlich der prognostischen Aussagekraft, welcher Patient im Rahmen eines SIRS eine Organinsuffizienz erleiden wird, wenig hilfreich (Pilz et al., Sablotzki et al. 2001). Aufgrund eigener klinischer Erfahrungen als auch der Untersuchungsergebnisse der Arbeitsgruppe von Kobayashi et al., die in einer prospektiven Studie von SIRS-Patienten zeigen konnte, dass ein erhöhter Laktat Spiegel (optimaler „cut off“ – Wert  $>2,5$  mmol/l) einen verlässlichen Parameter für eine erhöhte Morbidität darstellt, kann angenommen werden, dass die Spezifität der SIRS-Symptome durch den oben genannten Laktat-Wert erhöht würde. Dass ein perioperativer Laktatanstieg Ausdruck eines SIRS sein könnte, wurde auch von der Arbeitsgruppe um Haisjackl et al. in ihrer Untersuchung von Patienten mit elektiver aortokoronarer Bypassoperation in Normothermie als wahrscheinlich angenommen.

### **1.6 Begründung der Fragestellung**

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die intra- und postoperative systemische Inflammation bei herzchirurgischen Patienten in entscheidendem Maße durch die Complementaktivierung des klassischen Wegs getriggert und wahrscheinlich durch das akute Phase Protein CRP wesentlich beeinflusst wird. Dabei spielt CRP zusätzlich eine Rolle in der Ischämie/Reperfusion - bedingten Myokardschädigung. Ob der prä- und/oder postoperative CRP-Spiegel als Referenz-Marker in Frage käme, um eine gesteigerte postoperative inflammatorische Reaktion bzw. eine erhöhte perioperative Morbidität und Mortalität vorherzusagen, wird bisher kontrovers diskutiert.

Die durch eine Darmischämie bzw. Permeabilitätsstörung verursachte Endotoxinämie führt über den alternativen Weg zu einer weiteren Aktivierung des Complementsystems und zu einer verstärkten Bildung von proinflammatorischen Cytokinen. Zusätzlich werden PMN aktiviert, die ihrerseits die Wirkung des Complementsystems potenzieren können. Damit kann die Wechselbeziehung zwischen Complementaktivierung, Endotoxinämie, Cytokinbildung und Aktivierung von PMN als wichtiger Mechanismus einer Perpetuierung der systemischen inflammatorischen Reaktion als wahrscheinlich angesehen werden.

Es erscheint plausibel, dass eine systemische inflammatorische Reaktion, die zu einem hohen Maße durch ein überaktiviertes Complementsystem initiiert wurde, vorteilhaft durch einen C1-INH behandelt werden könnte. Zuvor sollte jedoch bewiesen werden, dass es bei herzchirurgischen Patienten, die ein SIRS erleiden, tatsächlich zu einem Abfall der

funktionellen C1-INH-Aktivität kommt oder dass bei Patienten, die ein SIRS erleiden, eventuell schon präoperativ bereits eine niedrigere funktionelle C1-INH-Aktivität bestand als bei Patienten mit unauffälligem Verlauf. Unklar ist auch, ob die systemische inflammatorische Reaktion beim herzchirurgischen Patienten schon zu einer frühzeitigen Schwächung der Immunfunktion am 1. Tag nach der Operation führt. Spielt der präoperative Immunstatus im Hinblick auf die Empfindlichkeit des herzchirurgischen Patienten für die durch die EKZ-bedingte, intraoperativ auftretende Endotoxämie eine Rolle und gibt es Unterschiede in der Immunantwort auf eine LPS-Stimulation zwischen den Patienten, die ein SIRS erleiden und denen mit unkompliziertem Verlauf?

Wenn eine Korrelation zwischen dem Abfall der funktionellen C1-INH-Aktivität und dem Auftreten eines SIRS bestünde und die SIRS-Patienten eine stärkere Beeinträchtigung ihrer Immunfunktion aufweisen als die unauffälligen Patienten, könnte der indirekte Schluss gezogen werden, dass der Einsatz eines C1-INH in der Herzchirurgie möglicherweise nicht nur die systemische Inflammation und den Myokardschaden reduziert, sondern auch die Immunkompetenz herzchirurgischer Patienten günstig beeinflusst.

Zusätzlich sollte in dieser Arbeit untersucht werden, ob der Cytokin-Serumspiegel von IL6 eine prognostische Aussagekraft zur Beurteilung eines SIRS und einer Organinsuffizienz hat.

Ziel dieser Arbeit war daher die Überprüfung folgender Fragen:

1. Korreliert ein erhöhter prä-/ postoperativer CRP-Spiegel bei herzchirurgischen Patienten mit einem gesteigerten C1-INH-Aktivitätsverlust bzw. mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines SIRS ?
2. Besteht bei herzchirurgischen Patienten ein Zusammenhang zwischen postoperativem SIRS und perioperativem C1-INH-Aktivitätsverlust ?
3. Steht die HLA-DR-Expression auf den Blut-Monozyten der untersuchten herzchirurgischen Patienten als Marker der Immunkompetenz in einem Zusammenhang mit dem Auftreten eines SIRS oder einer Sepsis ?
4. Lassen sich die Patienten, die ein SIRS oder eine Sepsis erleiden, anhand einer reduzierten ex vivo Stimulierbarkeit ihrer Blut-Monozyten auf LPS identifizieren ?
5. Führt die Laktat-Bestimmung zu einer frühzeitigen Erkennung von SIRS-Patienten mit hohem Risiko für eine Organinsuffizienz ?
6. Korreliert der prä-/ postoperative Cytokin-Serumspiegel von IL6 mit dem Auftreten eines SIRS oder einer Organinsuffizienz ?