

Diskussion

In dem angewandten Modell einer dreistündigen Ischämie beider Hinterläufe der Ratte mit nachfolgender dreistündiger Reperfusion kommt es zu einem Anstieg von Parametern außerhalb des Ischämie-Gebietes, die auf eine systemische Inflammation hinweisen.

Unbehandelt nimmt die Anzahl rollender neutrophiler Granulozyten in der Mikrozirkulation außerhalb des Ischämiegebietes nach dreistündiger Ischämie während der Reperfusion zu. Dies deutet darauf hin, dass es durch die Reperfusion zu einer inflammatorischen Reaktion gekommen ist, die auch außerhalb des Ischämie/Reperfusiongebietes das Endothel aktiviert. Da L-Selektin konstitutiv auf PMN exprimiert wird, ist für das Rollen der Neutrophilen als ersten Schritt der Leukozytenrekrutierung vor allem die Endothelaktivierung von essentieller Bedeutung [44,45,46]. Die Endothelaktivierung führt zur erhöhten Expression von Adhäsionsmolekülen, wobei für das Rollen der Leukozyten den L-Selektin-Liganden (sulfatisierte Sialyl Lewis Oligosaccharide, wie z.B. CD34 oder GlyCAM-1) besondere Bedeutung zukommt. Spertini et al (1991) [45] konnten nachweisen, dass der Ligand des L-Selektins erst zwei bis vier Stunden nach Aktivierung des Endothels (durch Stimulantien wie TNF, IL-1 β oder LPS) nachweisbar war. Es konnte gezeigt werden, dass L-Selektin Bindungen zu aktivierten, nicht jedoch zu unstimulierten Endothelzellen aufbaut [44,45]. Daraus kann geschlossen werden, dass der Ligand für L-Selektin unter physiologischen Bedingungen nicht in funktioneller Form auf Endothelzellen exprimiert ist. Eine Aktivierung von PMN ist für die initialen Bindungen zwischen Endothel sowie Leukozyten nicht erforderlich. Durch Spertini et al wurde 1991 nachgewiesen, dass Leukozyten zu stimuliertem Endothel, nicht aber zu unstimuliertem Endothel Bindungen aufbauen können [45]. In diesen Versuchen wurde ein Effekt der Zytokinstimulation auf die Leukozyten ausgeschlossen. Auch Smith et al konnten 1991 Bindungen zwischen unstimulierten PMN und Zytokin-stimuliertem Endothel unter Flussbedingungen nachweisen und die entscheidende Rolle von LECAM-1, welches dem L-Selektin entspricht, bei diesem Prozess unterstreichen [44].

Die Zunahme der Anzahl rollender Leukozyten in der Reperfusion in den hier vorgelegten Untersuchungen deutet somit auf eine systemische Endothelaktivierung hin.

Der anfängliche transiente Anstieg rollender PMN in allen Versuchsgruppen kann auf eine entzündliche Reaktion im Anschluß an die Ausführung des chirurgischen Traumas bei der Hals- und Cremasterpräparation zurückgeführt werden.

Durch den Einsatz von C1-INH konnte in den vorliegenden Versuchen der Anstieg der Anzahl rollender PMN verhindert werden. In der behandelten Kontrollgruppe (Gruppe K+C1INH) wurde nach C1-INH-Applikation 5min vor virtuellem Reperfusionbeginn die Anzahl rollender Leukozyten sogar signifikant gesenkt. Dies deutet auf eine wichtige Rolle des Komplementsystems bei der Endothelzellaktivierung hin [80,81,82]. Daraus lässt sich die Vermutung schlussfolgern, dass die Hemmung des Komplementsystems über eine gehemmte Endothelzellaktivierung zu vermindertem Rollen von Neutrophilen entlang der Endothelien führt. Auch der in zahlreichen Arbeiten nachgewiesene Mechanismus der direkten Aktivierung von PMN durch Komplement [96] führt im Falle einer Komplementinhibition zu einer verminderten Aktivierung von PMN, was sich unter anderem in einer Verminderung der Anzahl rollender PMN widerspiegeln kann.

Die Abnahme der Anzahl CD62L positiver Leukozyten in den unbehandelten Versuchsgruppen zeigt eine Aktivierung der Leukozyten an. L-Selektin, das auf Leukozyten konstitutiv exprimiert ist, wird nach Aktivierung von der Oberfläche der Leukozyten enzymatisch abgespalten (L-Selektin-shedding) [47, 48], was zu einer Abnahme der Anzahl L-Selektin positiver Leukozyten führt. Die Aktivierung der Leukozyten ist neben anderen durch aktiviertes Komplement sowie sezerniertes systemisches Interleukin 6 vermittelt [6,7,41,43]. Sowohl die Komplementaktivierung als auch die erhöhte Produktion und Sekretion von IL-6 ist auf die vorherige Ischämie mit nachfolgender Reperfusion zurückzuführen [3,4,22,42].

Aufgrund der fehlenden Abnahme der Anzahl CD62L positiver PMN bzw. den nicht signifikanten Veränderungen in den mit C1-INH behandelten Gruppen kann geschlossen werden, dass diese leukozytäre Aktivierung durch die Applikation von C1-INH vermindert wurde. Die Fähigkeit von C1-INH zur Reduktion der Aktivierung von Neutrophilen konnten Zeerleder et al in einer klinischen Arbeit bei septischen Patienten nachweisen [90]

Der durch zahlreiche Arbeiten und Versuche belegte Sachverhalt, dass die Abnahme der Anzahl L-Selektin positiver PMN als leukozytäre Aktivierung zu verstehen und

durch das L-Selektin shedding begründet ist, führt bei genauer Analyse der in dieser Arbeit vorgelegten Daten zu Interpretationsschwierigkeiten. Einerseits zeigte sich, wie bereits aufgeführt, in den unbehandelten Gruppen die Abnahme der Anzahl L-Selektin positiver PMN, die durch die Applikation von C1INH weitestgehend verhindert werden konnte. Andererseits kam es im Versuchsverlauf in allen Versuchsgruppen zur Abnahme der MFI von CD62L, ohne dass relevante Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Gruppen erkennbar waren. Dies deutet zunächst auf einen Widerspruch hin. Während die Angabe über die Anzahl CD62L positiver Leukozyten lediglich eine Aussage über das Vorhandensein oder Fehlen einer Qualität (der Expression von L-Selektin) trifft, bezeichnet die MFI die Quantität dieser Eigenschaft. Die MFI trifft also eine Aussage über die Menge an vorhandenem L-Selektin auf einer neutrophilen Leukozytenzelle und ist daher ein sensitiver Parameter zum Erfassen des L-Selektin sheddings, welches zur Abnahme der Anzahl von L-Selektin-Ketten und damit zur Abnahme der MFI führt. Eine fehlende Abnahme der Anzahl L-Selektin positiver PMN bei gleichzeitiger Abnahme der MFI, wie z.B. in der Versuchsgruppe I+C1INH nachgewiesen, erscheint daher paradox.

Andererseits könnten die Befunde auch für ein bisher wenig erforschtes Phänomen sprechen, das Vorhandensein von Subpopulationen innerhalb der neutrophilen Granulozyten. Die anscheinend widersprüchlichen Ergebnisse der L-Selektin Messungen sprechen dafür, dass C1INH das vollständige L-Selektin shedding verhindert. Es muß demzufolge eine Subpopulation von Leukozyten geben, die ihr L-Selektin vollständig „abwerfen“. Möglicherweise wird genau diese Untergruppe von PMN durch C1INH „geschützt“. C1INH verhindert also nicht das L-Selektin shedding allgemein, sondern das vollständige shedding nach Ischämie/Reperfusionsschädigung.

Ob die Subpopulation die PMN mit relativ niedrigem Aktivierungsgrad umfasst, die sich außerhalb des durch die Ischämie betroffenen Areal befinden oder ob es sich z.B. um neu aus dem Knochenmark oder dem Lymphgefäßen rekrutierte Leukozyten handelt, ist spekulativ und bisher nicht untersucht.

Das Postulat der PMN Subpopulationen ermöglicht eine neuartige Interpretation der vorliegenden Ergebnisse und könnte als ein mögliches Erklärungsmodell dienen.

Der Vorgang des L-Selektin shedding ist in seiner Bedeutung umstritten und wird kontrovers diskutiert. Während Walcheck et al 1996 berichteten [50], dass Inhibition des L-Selektin-sheddings die Rollgeschwindigkeit der Neutrophilen in-vitro verringert, konnten die Resultate von Allport et al 1997 diese Ergebnisse nicht bestätigen. Es konnte im Gegensatz kein Einfluß von L-Selektin auf das Rollen sowie die nachfolgende Adhäsion und Transmigration in-vitro nachgewiesen werden [51]. Hafezi-Moghadam und Ley [48] konnten diese Widersprüche auf das Vorhandensein oder Fehlen von E-Selektin zurückführen. Wenn E-Selektin auf Endothelzellen exprimiert ist, hat die Inhibition von L-Selektin keinen Effekt auf das Rollen bzw. die Rollgeschwindigkeit der Leukozyten.

In einem Experiment von wild-typ Mäusen konnten Hafezi Moghadam et al nachweisen, dass die Inhibition des L-Selektin-sheddings die leukozytäre Rollgeschwindigkeit in vivo vermindert [48]. Eine verringerte Rollgeschwindigkeit erhöht die Transitzeit der rollenden Leukozyten am Endothel. Jung et al konnten zeigen, dass die Transitzeit eine wichtige Determinante bei der Leukozytenrekrutierung in das Gewebe ist [52].

In einer weiteren Arbeit konnten Hafezi-Moghadam et al nachweisen, dass Inhibition des L-Selektin shedding die Leukozytenadhäsion und -transmigration steigert [53]. Als Erklärung dieser Ergebnisse werden zum einen die erhöhte Exposition der Leukozyten zum aktivierten Endothel durch verringerte Rollgeschwindigkeit und verringerte Variabilität der Rollgeschwindigkeit („jerkiness“) angeführt. Zum anderen kommt es durch die Bindung von L-Selektin mit seinem endothelialen Liganden zum „outside-in-signaling“, das die Leukozytenaktivierung weiter fördert. Diese Untersuchungen implizieren eine neue Rolle des L-Selektin-sheddings. L-Selektin shedding ist zwar ein Prozess, der Leukozytenaktivierung und damit inflammatorische Prozesse anzeigt. Aber das L-Selektin shedding kann auch als anti-inflammatorischer Vorgang verstanden werden, der die Rollgeschwindigkeit der Leukozyten am aktivierten Endothel erhöht, die Kontaktzeit zwischen Leukozyten und Endothel verringert und damit zu verminderter konsekutiver Adhäsion und Transmigration von Leukozyten in das Gewebe führt. Man kann also postulieren, dass das L-Selektin shedding möglicherweise ein programmierter Vorgang nach Leukozytenaktivierung ist, der die angestoßene Entzündung limitieren und damit kontrollieren kann.

In den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen wurde durch den Einsatz von C1-INH die Abnahme von L-Selektin positiven Leukozyten in der Reperusionsphase vermindert. Dies sollte jedoch nicht als Hemmung des L-Selektin sheddings aufgefasst werden. Eine solche Betrachtungsweise würde implizieren, dass aufgrund der Identifikation des L-Selektin sheddings als anti-inflammatorischer Vorgang der Einsatz von C1-INH die Inflammation durch Hemmung des L-Selektin sheddings fördern würde. C1-INH kann jedoch das L-Selektin shedding nicht direkt inhibieren, so dass die fehlende Abnahme der L-Selektin positiven Leukozyten bei vermindertem L-Selektin shedding in den mit C1-INH behandelten Versuchsgruppen mit der verminderten Leukozytenaktivierung erklärt werden kann. Diese kommt durch die Komplementhemmung als Folge der C1-INH Therapie zustande. Daher sind diese Ergebnisse als C1-INH vermittelte Hemmung der Leukozytenaktivierung und der C1-INH Einsatz als anti-inflammatorische Intervention aufzufassen.

Der in beiden Ischämie/Reperusionsgruppen insbesondere während der Reperfusion beobachtete systemische Anstieg der Konzentration von IL-6 deutet ebenfalls auf eine Reaktion im Sinne einer systemischen Inflammation hin. In der Kontrollgruppe K ist ein geringer ausfallender Anstieg des IL-6 auffällig, der aber in der behandelten Kontrollgruppe nicht mehr aufgetreten ist. Die geringen, kaum nachweisbaren IL-6 Konzentrationen der mit C1-INH behandelten Kontrollgruppe (Gruppe K+C1INH) entsprechen dem Befund der niedrigsten Anzahl rollender polymorphkerniger Granulozyten in dieser Gruppe.

Die steigenden Konzentrationen von IL-6 können zum einen auf die lokale Ischämie/Reperusionsschädigung direkt zurückgeführt werden [20,40,42], zum anderen aber auch auf eine systemische Aktivierung des Komplementsystems, welches seinerseits die Sekretion von IL-6 aus Endothelzellen und Monozyten stimuliert [23]. IL-6 kann Endothel und Leukozyten aktivieren [41,43] und ist vermutlich an der Induktion des Rollens der Leukozyten am aktivierten Endothel beteiligt.

Es ist bekannt, dass hohe systemische Interleukin-6 Konzentrationen positiv mit septischem Schock sowie Mortalität in einer Reihe von entzündlichen Erkrankungen korrelieren [72-79]. In Ischämie/Reperusionsversuchen ist ein signifikanter Anstieg des IL-6 vor allem in der Reperfusion nachweisbar. Yassin et al zeigten in einem Ischämie/Reperusionsmodell der Hinterläufe an Ratten mit einem dieser Arbeit

ähnlichen Versuchsaufbau, dass die IL-6 Konzentrationen proportional mit zunehmender Dauer der Reperfusion nach erfolgter dreistündiger Ischämie anstiegen [85]. Hierbei waren die Interleukin-6 Konzentrationen in der systemischen Zirkulation signifikant höher als in der portalen Zirkulation, was den Darm als Hauptquelle der Zytokinproduktion ausschließt.

Yao et al konnten nachweisen, dass die Interleukin-6 Freisetzung bei Ischämie-Reperfusionsschädigung zumindest teilweise durch TNFa-abhängige Mechanismen vermittelt wird [57]. Möglichweise ist dieser Sachverhalt auch daran beteiligt, dass der Einsatz von C1-INH in den in dieser Arbeit vorgestellten Untersuchungen keinen signifikanten Einfluß auf die IL-6 Konzentration zeigt. Auch in einer Arbeit von Zeerleder et al zeigte die Applikation von C1-INH bei Patienten mit Sepsis keinen signifikanten Effekt auf die Interleukin-6 Konzentration [90]. Andererseits konnten Scholz et al nachweisen, dass Komplement, insbesondere der Komplementfaktor C5a, in der Lage ist, die Produktion und Freisetzung von Interleukin-6 zu induzieren oder zu verstärken [88]. Riedemann et al zeigten signifikant reduzierte IL-6-Serumspiegel durch blockierende Antikörper gegen den Komplementfaktor C5a in einem Tier-Sepsis-Modell [94].

Ein anderer Aspekt zu der Rolle von Interleukin-6 wurde unter anderem durch die Arbeit von Kimizuka et al hervorgehoben [91]. Kimizuka et al untersuchten die Wirkung von exogenem Interleukin-6 auf die Ischämie/Reperfusionsschädigung nach Dünndarmtransplantation bei Ratten und zeigten, dass rekombinantes exogen appliziertes IL-6 die akute inflammatorische Reaktion und die Ischämie-Reperfusionsschädigung hemmt. Es gibt einige Studien, die anti-inflammatorische Eigenschaften von IL-6 suggerieren [92,93]. Ein weiterer interessanter Aspekt zur Rolle von IL-6 wurde wiederum von Riedemann et al untersucht [104]. Riedemann und Mitarbeiter konnten zeigen, dass hohe Interleukin-6 Spiegel in einem Sepsis-Tiermodell schädlich sind und die Blockade dieses Interleukins durch entsprechende Antikörper einen protektiven Effekt hat. Andererseits zeigte sich aber bei hohen Dosen von Anti-IL-6 kein protektiver Effekt mehr, sondern die Tiermortalität nahm im Gegenteil zu. Dies suggeriert, dass geringe Mengen an Interleukin-6 eine wichtige Rolle für die natürlichen Abwehrmechanismen der Organismen bei akuten Inflammationen haben und für eine effektive und angemessene Abwehr notwendig sein können. Trotz der zahlreichen Studien zur Bedeutung von Interleukin-6 als pro-

inflammatorisches Agens erscheint daher die Rolle von IL-6 aktuell noch nicht ausreichend verstanden.

Die Anzahl der adhärenenten sowie transmigrierten Leukozyten in den durchgeführten Untersuchungen war gering. Die Anzahl adhärenenter Leukozyten zeigte in drei von vier Versuchsgruppen keine Veränderungen. Lediglich in der mit C1-INH behandelten Versuchsgruppe I+C1INH kam es in der Reperfusion nach Einsatz von C1-INH zu einer signifikanten Abnahme. Dies ist (falls in diesem Umfang relevant) möglicherweise auf die durch C1-INH verminderte Leukozytenaktivierung zurückzuführen, die sich in dieser Gruppe auch in dem fehlenden Abfall der Anzahl L-Selektin positiver PMN sowie in der Abschwächung der Zahl rollender Leukozyten widerspiegelt.

Die signifikante Zunahme der Zahl extravasierter Leukozyten in den unbehandelten Versuchsgruppen ist nach Applikation von C1-INH in den behandelten Gruppen nicht mehr nachzuweisen, was ebenfalls mit einer Verminderung der systemischen Inflammation durch Inhibition der C1-Esterase vereinbar ist.

Nach Präparation des M.cremaster wurden im Durchschnitt 33 rollende PMN gezählt. Diese zum großen Teil in Abhängigkeit von der Versuchsgruppe weiter gesteigerte Anzahl rollender Leukozyten steht in Diskrepanz zu der in allen Gruppen niedrigen Zahl adhärenenter und transmigrierter Neutrophiler. In zahlreichen Untersuchungen korrelierte die Zahl rollender Leukozyten positiv mit der Zahl adhärenenter sowie transmigrierter Leukozyten, denn die im Rahmen des Leukozytenrollens intensiveren Interaktionen zwischen Endothel und Leukozyten führen bei entsprechender Aktivierung zu konsekutiver Adhärenz und Transmigration. Das Ausbleiben einer dem Ausmaß des Rollens adäquaten Adhärenz und Extravasation weist auf eine nur mäßige Aktivierung von Endothel und Leukozyten hin. In der Mehrzahl der bisherigen in-vivo durchgeführten Untersuchungen wurde das leukozytäre Verhalten nach Ischämie/Reperfusionsschädigung im ischämisch geschädigten Areal vorgenommen. Die Ischämie der Hinterläufe der Versuchsratten führt zu einer systemischen Aktivierung von Endothelien und Leukozyten, die anscheinend jedoch nicht stark genug ist, in nicht-ischämischen postkapillären Gefäßarealen den Übergang von initialen Bindungen und temporären Interaktionen zwischen Endothel und PMN hin zu festeren und dauerhafteren Bindungen herbeizuführen. Daraus kann geschlossen

werden, dass in dem angewandten Modell der Aktivierungsreiz einer dreistündigen Ischämie mit nachfolgender dreistündiger Reperfusion nicht ausreichend ist, um nach initialer Aktivierung auch eine erhöhte Expressierung von β_2 -Integrinen sowie von entsprechenden endothelialen Adressinen auszulösen. Erst eine ausreichende Anzahl aktivierter Oberflächenmoleküle vom Typ der β_2 -Integrine (z.B. CD11b/CD18) auf den Leukozyten sowie der entsprechenden Liganden auf dem Endothel (z.B. ICAM-1) kann die feste Adhäsion von Leukozyten am Endothel ermöglichen.

Aus diesem Grunde passt das gering ausgeprägte Adhäsionsverhalten auch zu den fehlenden Veränderungen in den durchgeführten CD11b/CD18 Bestimmungen.

Zwar nahm die Zahl der CD11b/CD18 positiven Leukozyten in allen Versuchsgruppen außer der behandelten Kontrollgruppe K+C1INH zu, aber die Expression von CD11b/CD18 zeigte keine signifikanten Veränderungen. Zusätzlich ist anzufügen, dass die Expression nicht zwangsläufig mit der funktionellen Aktivität korreliert [59]. Für die Funktion notwendige konformationelle Veränderungen der Struktur der β_2 -Integrine an der Zelloberfläche erfordern entsprechend starke aktivierende Reize durch Chemokine und outside-in-signaling im Rahmen von Zell-zu-Zell Bindungen. Condliffe, A.M. et al untersuchten Substanzen, die Leukozyten aktivieren können [59]. Hierbei stellten sie fest, dass es zahlreiche auch in-vivo vorkommende und klinisch relevante Substanzen gibt, die unterschiedliche Auswirkungen auf die Expression und funktionelle Aktivität von β_2 -Integrinen sowie L-Selektin haben. Beispielsweise wurde nach Leukozytenaktivierung durch LPS eine Abnahme von CD62L auf Leukozyten ohne Veränderungen an CD11b/CD18 nachgewiesen. Die Behandlung mit PAF (platelet activating factor) zeigte hingegen eine erhöhte Expression von CD11b/CD18, aber die funktionelle Aktivität (gemessen anhand der Bindungsfähigkeit von entsprechenden Latexkügelchen) sank bereits nach wenigen Minuten wieder ab. Dies unterstreicht, dass neben einer erhöhten Expression von CD11b/CD18 als Voraussetzung für die Adhäsion von Leukozyten am Endothel eine Konversion des Oberflächenmoleküls in eine aktive funktionelle Form notwendig ist.

Funktionelle Untersuchungen zu Organschädigungen nach Ischämie-Reperfusionsschädigungen zeigten widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Bedeutung von CD18 für die Gewebsschädigung. Nielsen et al zeigten, dass C1-INH, aber nicht Antikörper gegen CD18, die Gewebsschädigung an Skelettmuskeln nach Ischämie-Reperfusionsschädigung durch infrarenales Abklemmen der Aorta vermindern kann

[97]. Die Autoren diskutierten in ihrer Arbeit unter anderem für CD18 abhängige Mechanismen eine mögliche Abhängigkeit von der Ischämiedauer. Arbeiten, die eine kurze Ischämiedauer angewendet hatten, konnten einen protektiven Effekt von Antikörpern gegen CD18 auf die Gewebsschädigung zeigen, während bei längerer Ischämiedauer dieser Effekt nicht mehr nachweisbar war. Auch Iwata et al zeigten, dass bei längerer Ischämiedauer es zu CD18 unabhängiger Gewebsschädigung kommt [98]. Dies könnte einen weiteren Erklärungsansatz für die nur geringen Veränderungen in der CD11b/CD18 Expression in den hier vorgestellten Untersuchungen bieten.

Man kann schlussfolgern, dass in Untersuchungen dieser Arbeit die Stimuli zwar für eine Aktivierung des Endothels außerhalb des Ischämiegebietes, erkennbar am Rollen der Leukozyten, sowie für die Aktivierung der Leukozyten, erkennbar am L-Selektin shedding und der erhöhten Anzahl CD11b/CD18 positiver PMN, ausgereicht haben. Die Stärke der Stimuli war jedoch nicht ausreichend für eine Erhöhung der Expression der β_2 -Integrine einschließlich der notwendigen Erhöhung der Affinität und Avidität (Konversion in die funktionelle Form), was sich in der niedrigen Zahl adhärenter sowie transmigrierter Leukozyten widerspiegelt.

Kritik des Modells

Das verwandte Modell einer dreistündigen Hinterlauf-Ischämie mit konsekutiver dreistündiger Ischämie ist geeignet, lokale als auch systemische inflammatorische Prozesse zu induzieren und zu untersuchen.

In der Analyse der Ergebnisse fallen die großen Streuungen und Standardfehler auf, die vor allem in den relativ niedrigen Fallzahlen (40 Versuchstiere) begründet liegen. Ähnliche große Variationen in den gemessenen Werten beschrieben Nielsen et al [97] in einem Tourniquet-Ischämie-Modell bei Mäusen, die von den Autoren vor allem auf die Schwierigkeit bei der exakten und vergleichbaren Positionierung des Tourniquets zurückgeführt worden sind.

Aufgrund der manuell ausgeführten Tourniquetischämie konnte bei nachgewiesener vollständiger Ischämie der Hinterläufe jedoch die Stärke der durch die Tourniquets selbst ausgelösten lokalen Traumata nur ungenügend beeinflusst und berücksichtigt werden.

Ein weiteres praktisches Problem ist der Volumenbedarf der Versuchstiere in den beiden Ischämiegruppen, der aufgrund des Ischämietraumas deutlich größer ist als in den Kontrollgruppen. Die Volumenzufuhr mittels physiologischer Kochsalzlösung war auch nötig, um ein Überleben der Versuchstiere vor allem während der Reperfusionphase zu garantieren, die durch starke systemische Blutdruckabfälle gekennzeichnet war. Dies schränkt aber die Vergleichbarkeit einiger Parameter vor allem zwischen Ischämie- und Kontrollgruppen nicht zuletzt wegen der mit der Kochsalzzufuhr einhergehenden Hämodilution ein. Dies beeinflusst die Messungen des Interleukins-6, aber auch die Messungen des Hämatokrits, der Leukozytenzahlen und nicht zuletzt der arteriellen Blutdruckwerte.

Die Dosierung des C1-Esterase-Inhibitors ist unter Berücksichtigung aktueller Studien kritikwürdig. Horstick et al untersuchten den Effekt unterschiedlicher Dosierungen von C1-INH auf die Myokardprotektion in einem koronaren Ischämie-Reperusionsmodell [99]. Hierbei zeigte sich ein protektiver Effekt bei einer Dosierung von 40 IU/kg C1-INH, nicht aber bei einer Dosierung von 100 IU/kg, die in der hier vorgelegten Arbeit verwandt wurde. In höheren Dosierungen traten Nebenwirkungen vor allem im Sinne von Gerinnungsstörungen auf. Im Gegensatz

dazu konnten Buerke et al mit einer Dosierung von 100 IU/kg C1-INH in einem Ratten-Modell mit myokardialer Ischämie und Reperfusion einen kardioprotektiven Effekt nachweisen [25]. Es bleibt daher spekulativ, welche C1-INH Dosierung einen optimalen inhibitorischen Effekt auf die Ischämie-Reperfusionsschädigung bewirkt.

Trotz der Blindung des Auswerters bei der Analyse der intravitalmikroskopischen Ergebnisse ist das Auszählen der Anzahl rollender, adhärenter oder transmigrierter Leukozyten auch bei definierten Kriterien eine subjektive und potentiell fehleranfällige Methode. Es stehen allerdings derzeit keine Alternativen zur Verfügung.

Bei entsprechend großen Fallzahlen ist es mit dem vorliegenden Modell trotz der hier diskutierten Modellkritik möglich, systemische inflammatorische Vorgänge zu induzieren, im Rahmen kontrollierter Studien zu untersuchen und Aussagen bezüglich der Auswirkungen medikamentöser Interventionen zu treffen.