

Elfie Hörer
Dr. med.

Untersuchungen zur hepatischen Leukozyten-Endothel-Interaktion und Thrombozytenadhäsion im CLP-Sepsismodell bei der Ratte

Geboren am 19.12.1977 in Heidelberg
Staatsexamen am 29.04.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie
Doktorvater: Professor Dr. med. E. Klar

Sepsis und SIRS, septischer Schock und Multiorganversagen zählen weltweit zu den häufigsten Todesursachen auf Intensivstationen. Eine zentrale Bedeutung in der Genese dieser Erkrankungen kommt dabei der Leber zu, bei der es sehr früh im Krankheitsverlauf zu Schädigung und Dysfunktion kommt. Die genauen Mechanismen, die letztendlich zum Multiorganversagen führen, sind noch nicht vollständig geklärt.

Eine wichtige Rolle im Krankheitsverlauf einer Sepsis spielt die Leber. Endotoxine, die über die Pfortader die Leber erreichen, werden hier unter physiologischen Bedingungen von Kupffer-Zellen neutralisiert. Im Verlauf einer Sepsis kommt es bei gestörter Mikrozirkulation und erhöhter Endotoxinbelastung zur Dysfunktion von Hepatozyten und Kupffer-Zellen. Durch Endotoxin aktivierte Kupffer-Zellen lösen die Freisetzung von Entzündungsmediatoren aus. Dies führt über eine Reihe von Mechanismen letztendlich zu fortschreitender Dysfunktion der Hepatozyten und Kupffer-Zellen und schließlich zum Zelltod. Dies hat einen Rückgang der Entgiftungskapazität der Leber zur Folge, wodurch sich zunächst lokal, später auch systemisch, die Konzentration von Endotoxin und Entzündungsmediatoren weiter erhöht. Dadurch wird ein Fortschreiten der Erkrankung gefördert.

Bisherige Untersuchungen haben sich schwerpunktmäßig auf die Leukozytenaktivierung konzentriert. Daher besteht Bedarf nach einer weiteren Analyse des Thrombozytenverhaltens bei Sepsis. Aus diesem Grund war es Ziel dieser Studie, die Thrombozytenaggregation am Leberendothel im Zeitverlauf der Sepsis zu erfassen. Um das Thrombozytenverhalten in Zusammenhang mit der Organdurchblutung bringen zu können, erfassten wir auch die Höhe und die Veränderungen des Blutflusses in Lebersinusoiden und Lebervenenolen.

Die Grundlagen der Leukozyten-Endothel-Interaktion sind bekannt. Durch Erfassung der Leukozyten-Endothel-Interaktion und Thrombozyten-Endothel-Interaktion war es uns möglich, anhand von Gemeinsamkeiten oder Unterschieden im Verhalten der Leukozyten und Thrombozyten auf ähnliche oder verschiedene pathophysiologische Mechanismen zu schließen, auf denen die Interaktion beruht.

Als Versuchstiere wählten wir männliche Wistar-Ratten. Insgesamt 96 Tiere wurden auf zwölf Versuchsgruppen verteilt. Bei sechs der zwölf Gruppen untersuchten wir die Thrombozyten-Endothel-Interaktion, bei den anderen sechs Gruppen beobachteten wir die Leukozyten-Endothel-Interaktion und die Leberperfusion. Die Dokumentation der Thrombozyten- bzw. Leukozyten-Endothel-Interaktion erfolgte je nach Gruppe nach 0 (Kontrollgruppe), 1, 3, 5, 10 oder 20 Stunden Sepsis.

Durch Coecalpollygatur und Perforation induzierten wir bei den Versuchstieren eine Sepsis. 0, 1, 3, 5, 10 oder 20 Stunden später erfolgte zunächst die Katheterisierung der A. carotis communis und die Erfassung von Blutdruck und Herzfrequenz der Versuchstiere. Dann wurde eine Laparotomie und Auslagerung des linken Leberlappens auf eine speziell dafür vorgesehene Bühne durchgeführt. Nach Gabe von mit Rhodamin angefärbten Thrombozyten oder von FITC-Erythrozyten und Rhodamin-6G erfolgte die Intravitalmikroskopie. Die

markierten Zellen stammten hierbei von einem Spendertier. Hierbei wurden Durchmesser und Länge der postsinusoidalen Venolen, mittlerer Durchmesser der Sinusoide und die Größe der beobachteten Leberoberfläche bestimmt, außerdem die Anzahl thrombozytärer und leukozytärer Sticker und Roller. Die Anzahl der Sinusoide, in denen sich Thromben gebildet hatten, wurde bestimmt und in Verhältnis zur Gesamtanzahl der beobachteten Sinusoide gesetzt. Bei der späteren Auswertung am Computer errechneten wir die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten und daraus den Blutfluss in den Sinusoiden.

Im Anschluss daran erfolgte die Messung des Blutflusses in der Pfortader mittels einer um die Pfortader platzierten Ultraschallsonde.

Am Ende des Versuchs erfolgte eine Blutentnahme zur klinisch-chemischen und hämatologischen Untersuchung.

Im Verlauf der Sepsis zeigten sich signifikante Abnahmen der Fließgeschwindigkeit und des Blutflusses in den Lebersinusoiden und Lebervenolen sowie ein signifikanter Rückgang des portalvenösen Blutflusses. Veränderungen der Laborparameter im Sepsisverlauf ließen auf hepatische Dysfunktion und Hepatozytenschaden schließen. Das Auftreten einer Blutgerinnungsstörung und DIC äußerte sich durch eine signifikante Zunahme der Thrombozytenaggregation und Thrombenbildung in den Lebersinusoiden. Die fortschreitende Thrombozytopenie, die wir im Verlauf beobachten konnten, trägt zur Diagnose einer DIC bei. Die Leukozyten-Endothel-Interaktion nahm im Verlauf der Sepsis signifikant zu, ebenso kam es zu einem signifikanten Anstieg der Thrombozyten-Endothel-Interaktion. Dabei zeigten die Leukozyten und Thrombozyten ein ähnliches Verhalten im Zeitverlauf. Dies lässt vermuten, dass die Thrombozyten-Endothel-Interaktion durch ähnliche Mechanismen ausgelöst wird wie die Leukozyten-Endothel-Interaktion. Darüber hinaus kann vermutet werden, dass sich Leukozyten und Thrombozyten gegenseitig in ihrem Verhalten beeinflussen.