

Thomas Claus Chatterjee
Dr. med.

Effekt von Interventionen im Kontaktaktivierungssystem auf die Mikrozirkulationsstörung nach extrakorporaler Zirkulation – Untersuchungen am Modell der Hamsterrückenhautkammer

Geboren am 30.11.1972 in Ludwigshafen am Rhein
Reifeprüfung am 22.06.1992 in Ludwigshafen am Rhein
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993 /94 bis SS 2000
Physikum am 29.08.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Mannheim
Praktisches Jahr in Mannheim und Brugg (Schweiz)
Staatsexamen am 13.11.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Heinz Jakob

Das klinische Bild des „Post-Perfusions-Syndroms“ ist durch eine systemische Aktivierung verschiedener zellulärer und humoraler Komponenten des Immun- und des Gerinnungssystems bedingt. Nach heutigem Wissensstand spielt bei diesem Prozeß die Kontaktaktivierung während der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) eine entscheidende Rolle. In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass EKZ zu einer gesteigerten Leukozyten/Endothel-Interaktion (L/E-Interaktion) *in vivo* führt.

Ziel dieser Studie war es, den Effekt einer bioaktiven PEG-Hirudin-Iloprost-Beschichtung des EKZ-Systems sowie der systemischen Applikation des Thrombinantagonisten Hirudin und des Thrombozytenaggregationshemmers Iloprost auf die nach EKZ beobachtete Mikro-zirkulationsstörungen zu evaluieren.

Die Mikro-zirkulation von Haut und Skelettmuskulatur wurde am Modell der Hamsterrückenhautkammer an wachen Versuchstieren intravitalfluoreszenzmikroskopisch untersucht. Die EKZ erfolgte mittels einer Rollerpumpe und eines Silikonschlauches, über den das Blut 20 Minuten lang arteriovenös zirkuliert wurde. Die Tiere wurden randomisiert einem der vier Behandlungsregime zugeteilt: Kontrolle, Beschichtung des EKZ-Systems, Iloprost *i.v.* (0,8 mg/kg/h) und Hirudin, *i.v.* (1 mg/kg). Zu jedem Messzeitpunkt (BL, 30 min, 4h und 24h nach Versuchsbeginn) erfolgten die intravitalmikroskopische Untersuchung derselben Gefäßabschnitte, eine Blutentnahme und die Messung des mittleren arteriellen Blutdrucks sowie der Herzfrequenz. Videomikroskopisch wurden am Endothel entlangrollende Leukozyten (Roller) und am Endothel adhärenente Leukozyten (Sticker) bestimmt. Zur Beurteilung der Mikro-hämodynamik dienten Gefäßdurchmesser und Blutzellgeschwindigkeit. Die Gewebepерfusion wurde anhand der funktionellen Kapillardichte beurteilt. Zusätzlich wurden Hämoglobingehalt, Hämatokrit und Thrombozytenzahl bestimmt. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0.05$ angenommen.

Die 20 minütige EKZ führte zu einer gesteigerten L/E-Interaktion in Venolen. Die bioaktive Beschichtung führte zu signifikant verminderter L/E-Interaktion, während es in der Hirudingruppe über den gesamten Beobachtungszeitraum zu keinem bedeutsamen Anstieg der Roller- und Stickerwerte nach EKZ kam. Die Iloprostgruppe zeigte eine nahezu identische L/E-Interaktion wie die Kontrollgruppe. Die Parameter der Mikro-, Makro-hämodynamik, die funktionelle Kapillardichte und die Laborparameter waren im Wesentlichen konstant. Die Thrombozytenzahl zeigte nach EKZ in der Kontrollgruppe einen statistisch bedeutsamen Abfall, bei Verwendung der Beschichtung hingegen war dieser deutlich schwächer.

Der protektive Effekt der bioaktiven Oberfläche unterstreicht die kausale Bedeutung der Kontaktaktivierung bei dem klinisch beobachteten inflammatorischen Syndrom nach Einsatz extrakorporaler Verfahren. Der signifikant schwächere Abfall der Thrombozytenzahl nach EKZ gegenüber der Kontrollgruppe ist Hinweis auf die bessere Biokompatibilität dieser Oberfläche gegenüber herkömmlichen Silikonsystemen. Eine Weiterentwicklung dieses therapeutischen Ansatzes könnte in Zukunft die systemische Applikation von Antikoagulantien überflüssig machen und würde so das Blutungsrisiko des Patienten nach extrakorporalen Verfahren erheblich senken. Der gefundene protektive Effekt von Hirudin steht in Einklang mit anderen Studien und gibt Anhalt für die entscheidende Rolle des Thrombins bei der durch EKZ induzierten L/E-Interaktion. Hirudin wird klinisch bereits als Ersatzkoagulanzen bei heparininduzierter Thrombozytopenie anstelle des Heparins eingesetzt. In Zukunft könnte Hirudin als Antikoagulanzen bei extrakorporalen Verfahren zunehmend an Bedeutung gewinnen. Dies ist auch im Hinblick auf die Nebenwirkungen einer Vollheparinisierung von Bedeutung. Eine protektive Wirkung von Iloprost konnte nicht nachgewiesen werden. Es ist deshalb fraglich, ob die Thrombozytenaggregation der entscheidende Prozess bei den inflammatorischen Geschehnissen nach EKZ ist. Auch in der Literatur finden sich hierzu kontroverse Ergebnisse. Es konnte gezeigt werden, dass sich das modifizierte Hamster-Rückenhaut-Kammer-Modell dazu eignet, die EKZ-induzierte Mikro-zirkulationsstörung direkt zu visualisieren, zu quantifizieren und potentielle therapeutische Interventionsstrategien zu untersuchen.

Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass Hirudin die für den protektiven Effekt verantwortliche Wirksubstanz der verwendeten Beschichtung ist. Weitere Studien mit Modifikationen hinsichtlich der Konzentrationen der Wirksubstanzen und ihren Freisetzungsraten sind notwendig, um die Effektivität und Biokompatibilität zu verbessern. Ein besonderes Augenmerk sollte auf die Thrombozytenfunktion gelegt werden. In immunhistologische Untersuchungen sollte geklärt werden, welche Adhäsionsmoleküle des Endothels nach EKZ exprimiert werden und ob eine selektiven Suppression einzelner Klassen von Adhäsionsmolekülen erreicht werden kann.