

Aus der Klinik und Poliklinik für Chirurgie,  
Abteilung für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. A. Ekkernkamp  
der Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Die Bedeutung der genetischen Polymorphismen -1087  
und -597 in der Promotorregion des Interleukin-10 Gens  
für die posttraumatische Entwicklung einer Sepsis beim  
Mehrfachverletzten**

Inaugural - Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen  
Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.) der  
Universitätsmedizin  
der  
Ernst-Moritz-Arndt-Universität  
Greifswald  
2012

vorgelegt von:  
Matthias Hesse  
geb. am: 23. Mai 1979  
in: Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reiner Biffar

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. A. Ekkernkamp

2. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Paech

Ort, Raum: Universitätsklinikum Greifswald, L02.22

Tag der Disputation: 28. August 2013

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
1.1	Definition und Epidemiologie des Polytraumas . . . . .	8
1.2	Ganzkörperinflammationssyndrom und Sepsis . . . . .	10
1.2.1	Definition und pathophysiologische Konzepte des SIRS . . . . .	12
1.2.2	Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome . . . . .	13
1.2.3	Definition und pathophysiologische Konzepte der Sepsis . . . . .	13
1.2.4	Multiorgandysfunktionssyndrom nach schwerem Trauma . . . . .	16
1.2.5	Therapeutische Ansätze der Sepsisbehandlung . . . . .	18
1.2.6	Epidemiologie der septischen Syndrome . . . . .	19
1.3	Interleukin-10 . . . . .	21
1.3.1	Entdeckung und Erstbeschreibung von Interleukin-10 . . . . .	21
1.3.2	Interleukin-10 produzierende Zellen . . . . .	21
1.3.3	Zielzellen und Effekte des Interleukin-10 . . . . .	22
1.3.4	Biochemische, molekulare und molekularbiologische Eigenschaften des Interleukin-10 . . . . .	24
1.3.5	Der Interleukin-10 Rezeptor . . . . .	24
1.3.6	Signaltransduktion . . . . .	25
1.4	Die Polymorphismen -1087, -824 und -597 des Interleukin-10 Gens . . . . .	26
1.4.1	Variabilität im humanen Genom . . . . .	26
1.4.2	Charakterisierung und phänotypische Relevanz der Polymorphismen -1087, -824 und -597 des Interleukin-10 Gens . . . . .	27
1.4.3	Assoziationen der Polymorphismen -1087, -824 und -597 zu ausgewählten Erkrankungen . . . . .	28

<b>2 Fragestellung und Zielsetzung</b>	<b>30</b>
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>32</b>
3.1 Aufbau der Studie . . . . .	32
3.2 Datenerhebung und Dokumentation . . . . .	33
3.3 Definition der klinischen Zielgrößen . . . . .	34
3.4 Bestimmung der laborchemischen und klinischen Parameter . . . . .	34
3.4.1 Parameter des Blutbilds . . . . .	35
3.4.1.1 Hämatokrit . . . . .	35
3.4.1.2 Hämoglobin . . . . .	35
3.4.1.3 Leukozyten . . . . .	36
3.4.2 Parameter der Blutgasanalyse . . . . .	36
3.4.2.1 pH-Wert . . . . .	36
3.4.2.2 Base Excess . . . . .	37
3.4.2.3 arterieller Sauerstoffpartialdruck . . . . .	37
3.4.3 Stoffwechselfparameter und Elektrolyte . . . . .	37
3.4.3.1 Kreatinin . . . . .	37
3.4.3.2 Kalium . . . . .	38
3.4.3.3 Natrium . . . . .	38
3.4.4 Klinische Parameter . . . . .	39
3.4.4.1 Temperatur . . . . .	39
3.4.4.2 Kreislaufparameter . . . . .	39
3.4.4.3 Beatmungsparameter . . . . .	39
3.4.4.4 Glasgow-Coma-Scale . . . . .	40
3.5 Gewinnung der Vollblut- und Plasmaproben . . . . .	40
3.6 Verwendete Scoresysteme . . . . .	41
3.6.1 Abbreviated Injury Scale und Injury Severity Score . . . . .	41
3.6.2 Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II . . . . .	42
3.7 Definition der prätraumatischen Vorerkrankungen . . . . .	44
3.8 Bestimmung der Promotorpolymorphismen -597 und -1087 . . . . .	45
3.8.1 Isolierung der DNA . . . . .	45

3.8.2	Amplifizierung der DNA - Polymerasekettenreaktion . . . . .	46
3.8.3	Restriktionsverdau der Amplimere . . . . .	48
3.8.3.1	Verdau mit RSA I (Polymorphismus -597) . . . . .	48
3.8.3.2	Verdau durch Mnl I (Polymorphismus -1087) . . . . .	49
3.8.4	Auftrennung der Restriktionsfragmente / Agarosegel-Elektrophorese . . . . .	49
3.8.4.1	Photodokumentation . . . . .	50
3.9	Statistische Analyse . . . . .	50
3.9.1	Häufigkeitsanalyse . . . . .	50
3.9.2	Berechnung des Mittelwertes (arithmetisches Mittel) . . . . .	51
3.9.3	Berechnung der Standardabweichung (standard deviation) . . . . .	51
3.9.4	Chi <sup>2</sup> -Test ( $\chi^2$ -Test) und FISHERs exakter Test . . . . .	51
3.9.5	Kruskal-Wallis-Test . . . . .	53
3.9.6	KAPLAN-MEIER-Überlebensschätzer . . . . .	53
3.9.7	Log-Rank-Test . . . . .	55
3.9.8	Multiple Regressionsanalyse COX-Regressionsanalyse und Bonferroni-Korrektur . . . . .	55
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>57</b>
4.1	Charakterisierung des Patientenkollektivs . . . . .	57
4.1.1	Basisdaten . . . . .	57
4.2	Assoziation des Polymorphismus -1087 zum Auftreten einer Sepsis nach schwerem Trauma . . . . .	60
4.2.1	Univariate Analyse - Häufigkeitsanalyse . . . . .	60
4.2.2	Homogenitätsnachweis für den Polymorphismus -1087 . . . . .	60
4.2.3	Genotypenanalyse des Polymorphismus -1087 . . . . .	61
4.2.4	Alleltypenanalyse des Polymorphismus -1087 . . . . .	63
4.3	Assoziation des Polymorphismus -597 zum Auftreten einer Sepsis nach schwerem Trauma . . . . .	64
4.3.1	Univariate Analyse - Häufigkeitsanalyse . . . . .	64
4.3.2	Homogenitätsnachweis Polymorphismus -597 . . . . .	65

4.3.3	Genotypenanalyse des Polymorphismus -597 . . . . .	66
4.3.4	Alleltypenanalyse des Polymorphismus -597 . . . . .	68
4.3.5	Multivariate Regressionsanalyse . . . . .	70
4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse . . . . .	72
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>74</b>
5.1	Allgemeines . . . . .	74
5.1.1	Können Polymorphismen den klinischen Verlauf nach einem Trauma beeinflussen? . . . . .	74
5.2	Diskussion der Methodik . . . . .	75
5.2.1	Vorteile dieser Studie . . . . .	75
5.2.2	Patientenkollektiv - ist die Stichprobe repräsentativ? . . . . .	75
5.2.3	KAPLAN-MEIER-Überlebensschätzer als Methode der Wahl? . . . . .	77
5.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	77
5.3.1	Wissenstand über die IL-10 Polymorphismen und die IL-10 Plasmakonzentration bei intensivpflichtigen Patienten . . . . .	77
5.3.2	Die Frage der klinischen Relevanz der Interleukin-10 Plasmakonzentration . . . . .	79
5.3.3	Keine signifikanten Assoziationen für den Polymorphismus -597 . . . . .	81
5.3.4	Signifikante Assoziationen für den Polymorphismus -1087 . . . . .	82
5.4	Schlussfolgerung . . . . .	86
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>87</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>89</b>
	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>110</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>115</b>
	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>116</b>
	<b>Diagrammverzeichnis</b>	<b>118</b>



# 1 Einleitung

## 1.1 Definition und Epidemiologie des Polytraumas

Auf Grund unterschiedlicher Scores zur Beurteilung der Verletzungsschwere gibt es keine einheitliche, international übereinstimmende Definition des „Polytraumas“. Die Erhebung vergleichbarer epidemiologischer Daten ist daher problematisch.

Nach TSCHERNE und ERTEL wird als „Polytrauma“ ein Verletzungsmuster definiert, welches schwere, gleichzeitig entstandene Verletzungen in mindestens zwei verschiedenen Körperregionen beinhaltet, von denen mindestens eine einen unmittelbar lebensbedrohlichen Zustand darstellt [36, 154].

Es gibt keine amtliche statistische Erhebung. Die durch die DGU (Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie) für das Jahr 2002 geschätzte Anzahl beträgt ca. 8000 Polytraumata pro Jahr [36].

Im Jahr 1996 starben in Deutschland insgesamt 23.549 Menschen an den Folgen eines Unfalls, d. h. durchschnittlich 65 Personen pro Tag. Bei den unter 40jährigen ist nahezu die Hälfte der Todesfälle (44,9%) durch ein Trauma bedingt [38, 99, 143].

In einer multizentrischen Studie von BARDENHEUER et al. zwischen 1993 und 1997 an 2069 Traumatpatienten betrug der Altersdurchschnitt  $38,5 \pm 18,7$  Jahre. Unfälle im Straßenverkehr waren hier mit 56,7% am häufigsten. 32,9% der insgesamt verunfallten Patienten waren Pkw- bzw. Lkw-Insassen, gefolgt von Motorrad- bzw. Fahrradfahrern (15,3%) und Fußgängern (8,4%). Das Geschlechterverhältnis männlich zu weiblich betrug 2,6 : 1. Andere Untersuchung schätzen den Anteil der männlichen Verletzten ebenfalls auf 65-80% [9, 116]. Aus o.g. Studie geht weiterhin hervor, dass schwere Traumata hauptsächlich aus Straßenverkehrsunfällen (56,7%), Stürzen aus großer Höhe (13,9%) und Suizidversuchen (7,4%) resultieren.



Im Jahr 2001 wurden 501.290 Personen bei Unfällen im Straßenverkehr verletzt. Nahezu die Hälfte der Verunfallten (238.381,  $\hat{=}$  47,6%) fallen in die Altersgruppe zwischen 15 und 40 Jahren. 6.975 von diesen 501.290 Patienten starben in Folge des Unfalls (1,4% der Verunfallten). 5.052 der Verstorbenen waren männlich (72,4%, s. Diagramm 1.2) [141].

Neuere Zahlen zeigen eine im Verlauf der Jahre deutliche Regredienz der Unfälle mit Personenschäden im Straßenverkehr. Im Jahr 2005 wurden noch 438.804 Personen bei Straßenverkehrsunfällen verletzt. Im Jahr 2010 sind noch 288.297 Strassenverkehrsunfälle mit Personenschaden dokumentiert (Rückgang um ca. 12,5% bzw. 42,5% im Vergleich zu 2001). 5361 Personen starben 2005 in Folge des Unfalls (entspricht 1,2% der Verunfallten). 3913 waren männlich (73,0%). Im Jahr 2010 starben 3648 Personen im Strassenverkehr (entspricht ebenfalls ca. 1,2% der Verunfallten) [142]. Der prozentuale Anteil der schwerverletzten bzw. getöteten Personen ändert sich nach diesen Daten nur unwesentlich.

Nach der Klassifizierung durch den Abbreviated Injury Scale (AIS, siehe Abschnitt 3.6.1) ist eine Verletzung als schwer zu betrachten, wenn dieser einen Wert  $\geq 3$  annimmt. Bei der Betrachtung des Verletzungsspektrums (wenn der AIS  $\geq 3$  ist) ist das Thoraxtrauma nach Untersuchungen von BARDENHEUER et al. bezüglich der Häufigkeit mit 44,5% führend. An zweiter Stelle ist das Schädel-Hirn-Trauma (SHT) mit 39,2% zu nennen, gefolgt vom Abdominaltrauma (18,9%) [5, 9].

Am häufigsten von schweren Traumata betroffen sind junge Männer in der 2. bzw. 3. Lebensdekade (s. Diagramme 1.1 und 1.2). Neben den Aufgaben der medizinischen Versorgung stellt das Krankheitsbild des Polytraumas deshalb auch eine große sozio-ökonomische Herausforderung dar. Hier ist u.a. die rehabilitative Wiedereingliederung der zumeist jungen Patienten in das Berufsleben und ihren sozialen Kontext zu nennen [9, 168]. Die Geschlechter- und Altersverteilung von Verletzten und Verstorbenen in Folge eines Unfalls im Straßenverkehr sind in den Diagrammen 1.1 und 1.2 dargestellt [141].

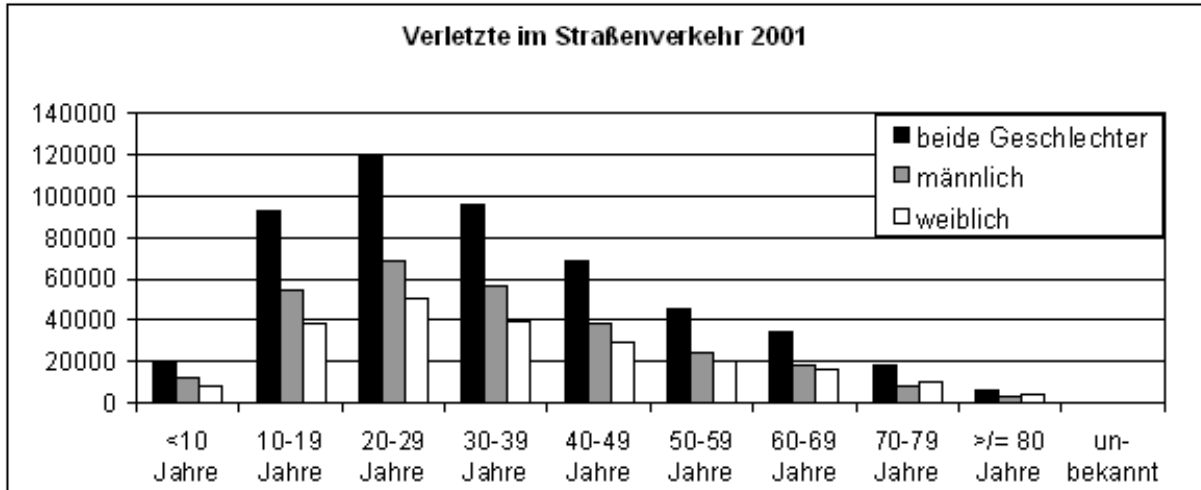


Diagramm 1.1: Verletzte im Straßenverkehr 2001 [141]

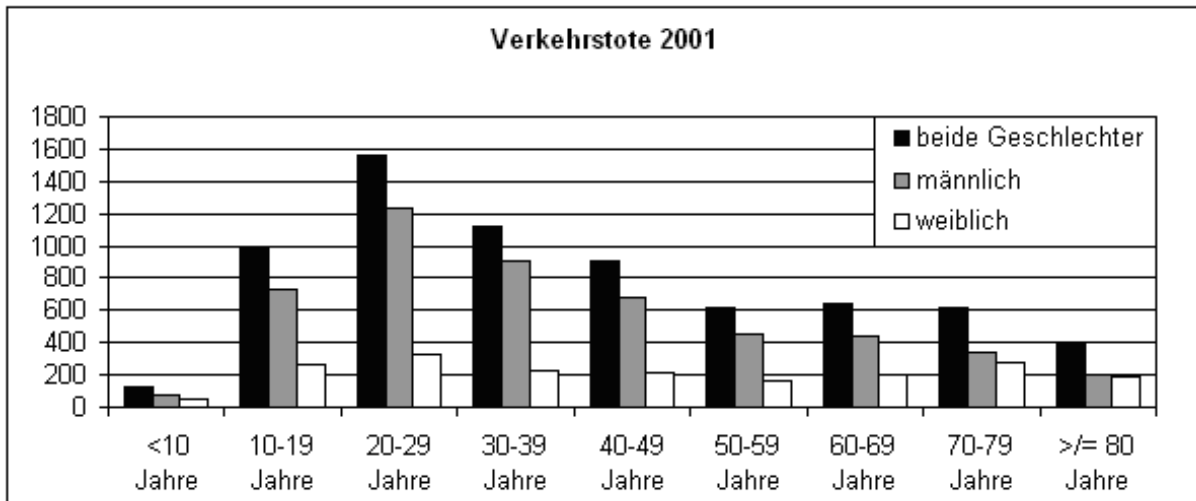


Diagramm 1.2: Verstorbene im Straßenverkehr 2001 [141]

## 1.2 Ganzkörperinflammationssyndrom und Sepsis

Die Definitionen für die „septischen Syndrome“ waren lange Zeit divergent. Die „septischen Syndrome“ wurden erst 1991 durch die American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine (ACCP / SCCM) Consensus Conference genauer differenziert und definiert. Es erfolgte die Einführung der Begriffe „systemisches Ganz-

körperentzündungssyndrom (Systemic Inflammatory Response Syndrom, SIRS)“ und „Multiorgandysfunktionssyndrom (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS)“ (siehe Tabelle 1.1) [1].

<b>Septisches Syndrom</b>	<b>Kriterien/Definitionen</b>
1. Infektion	Reaktion auf Vorhandensein von Mikroorganismen bzw. deren Invasion in sterile Gewebe
2. Bakteriämie	Nachweis von Mikroorganismen im Blutkreislauf
3. SIRS	Das Auftreten von zwei oder mehr der folgenden Kriterien an einem Tag wird als SIRS bezeichnet: 1. Körperkerntemperatur > 38,0°C oder < 36,0°C 2. Herzfrequenz > 90 Schläge pro Minute 3. Atemfrequenz > 20 Atemzüge pro Minute bzw. PaCO <sub>2</sub> < 32 mmHG 4. Leukozyten > 12.000 pro mm <sup>3</sup> oder < 4000 pro mm <sup>3</sup> oder mehr als 10% unreife neutrophile Granulozyten
4. Sepsis	Systemische Entzündungsreaktion auf eine Infektion (Nachweis von Infektion und mindestens zwei SIRS-Kriterien)
5. Schwere Sepsis	Sepsis mit Organversagen <b>oder</b> mit Hypoperfusion <b>oder</b> mit sepsisinduzierter Hypotension*. Manifestiert durch, aber nicht beschränkt auf: 1. Laktatazidose 2. Oligurie 3. akute Alteration des psychischen Status
6. Septischer Schock	Schwere Sepsis <b>und</b> sepsisinduzierte Hypotension* trotz adäquater Flüssigkeitssubstitution <b>sowie</b> Hypoperfusion <b>oder</b> Organversagen
7. Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS)	Veränderungen von Organfunktionen beim intensivpflichtigen Patienten, so dass eine Homöostase ohne Interventionen nicht mehr gewährleistet ist
* sepsisinduzierte Hypotension ist als ein systolischer Blutdruck unter 90 mmHg bzw. dessen Reduktion um mehr als 40 mmHg definiert	

Tabelle 1.1: Definitionen der septischen Syndrome nach der ACCP/SCCM Consensus Conference [1]

Im Jahr 2001 wurden diese Definitionen in einem noch größeren Konsens, der „International Sepsis Definitions Conference“, überarbeitet. Die klinischen und vor allem paraklinischen Kriterien wurden erweitert [92]. 2003 wurde das PIRO-Konzept (P für predisposition, I für insult or infection, R für response und O für organ dysfunction) vorgeschlagen. Dieses Konzept soll unter Betrachtung prädisponierender Faktoren, der Ko-

morbidität sowie des Ausmaßes der individuellen Reaktion (sog. „Wirtsantwort“) und Organdysfunktionen (Einbeziehung verschiedener klinischer Symptome und Laborparameter) in Zukunft eine spezifischere Charakterisierung der septischen Syndrome ermöglichen [4, 52, 158, 159]. Auf eine detaillierte Darstellung dieser Modelle wird hier verzichtet, da während der Durchführung der vorliegenden Studie (1999-2001) die Kriterien von der ACCP / SCCM Consensus Conference (1991) Anwendung fanden.

### **1.2.1 Definition und pathophysiologische Konzepte des SIRS**

Die Bezeichnung SIRS beschreibt ein klinisches Erscheinungsbild des Organismus als unspezifische Antwort auf eine Stresssituation ohne Beachtung der Ätiologie [102]. Neben Verbrennungen und schweren Entzündungen (z.B. Pankreatitis) bilden Traumata eine große ätiologische Gruppe für die Entwicklung eines SIRS (siehe Abbildung 1.3). Somit kann das SIRS als entzündliche (inflammatorische) Antwort auf traumatisch bedingten Stress betrachtet werden.

Nach der ACCP / SCCM Consensus Conference wurden 1991 vier SIRS-Kriterien festgelegt (siehe Tabelle 1.1). Die klinische Diagnose SIRS ist zu stellen, wenn zwei der vier Kriterien an einem Tag erfüllt sind [1].

Als Initiator der komplexen pathophysiologischen Abläufe des SIRS wird eine Aktivierung des spezifischen und unspezifischen Immunsystems angenommen. Durch Genexpression von Botenstoffen (sogenannte Zytokine, Chemokine und Interleukine) werden u.a. Zellen der weißen Blutreihe (Makrophagen, Monozyten und polymorphonukleäre neutrophile Granulozyten) aktiviert [10, 88, 129]. Deren Aktivierung resultiert in einer weiteren, vermehrten Freisetzung (sogenanntes „burst“) von entzündungsfördernden (proinflammatorischen) Zytokinen (z.B. Interleukin-6, Interleukin-8, Interleukin-1-beta und Tumor-Nekrose-Faktor-alpha) [10, 12, 122, 136].

Die Ausprägung und der Schweregrad des SIRS spielen eine wichtige Rolle für den weiteren Krankheitsverlauf nach einem schweren Trauma. Unter anderem sind diese für die Pathogenese eines Multiorgan dysfunktionssyndroms (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS) von entscheidender Bedeutung [56, 101, 112, 115, 127]. Die Inzidenz des MODS und die Mortalität von intensivpflichtigen Patienten korrelieren mit der

Entwicklung und dem Schweregrad eines SIRS [146]. Durch Untersuchungen von ERTEL et al. hat sich eine Einteilung des SIRS in 3 Schweregrade (Erfüllung von zwei, drei oder vier Kriterien) bezüglich seiner prognostischen Bedeutung als sinnvoll erwiesen. Traumatisierte Patienten zeigten mit zunehmenden SIRS-Schweregrad steigende Inzidenzen eines MODS bzw. einer akuten respiratorischen Insuffizienz (Adult Respiratory Distress Syndrome, ARDS) [40].

### **1.2.2 Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome**

Das initiale SIRS zeigt im Verlauf oft eine Regredienz. Eine exakte Definition für das kompensatorische antiinflammatorische Syndrom (Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome, CARs), wie sie im internationalen Konsens für SIRS und Sepsis erstellt worden ist, wurde noch nicht formuliert. Das CARs ist durch erhöhte Serumspiegel von entzündungshemmenden (antiinflammatorischen) Zytokinen (u.a. Interleukin-10) und humoralen Mediatoren gekennzeichnet. Dieser Zustand kann, im Verlauf betrachtet, als erworbene Immunsuppression bezeichnet werden und ist durch eingeschränkte Funktion der T-Zellen, Makrophagen und antigenpräsentierenden Zellen sowie Apoptose der T- und B-Zellen charakterisiert [108].

Da diese Gegenregulation der potentiell autodestruktiven Prozesse des SIRS in einer zu starken Immunsuppression enden kann, haben Patienten während der Ausprägung eines CARs ein höheres Infektionsrisiko (insbesondere für nosokomiale Infektionen). Sie sind somit für einen weiteren proinflammatorischen Insult, und die Entwicklung einer Sepsis prädisponiert [11, 108]. Die bestehende Immundepression bzw. -suppression während des CARs spielt somit, neben dem initialen SIRS, eine wesentliche Rolle für die Entwicklung einer Sepsis und / oder eines MODS im weiteren Verlauf (siehe Abbildungen 1.1 und 1.2 sowie Kapitel 1.2.4).

### **1.2.3 Definition und pathophysiologische Konzepte der Sepsis**

Die erste Definition der Sepsis geht auf SCHOTTMÜLLER aus dem Jahre 1914 zurück. SCHOTTMÜLLER postulierte, dass eine Septikämie das Ergebnis der Invasion

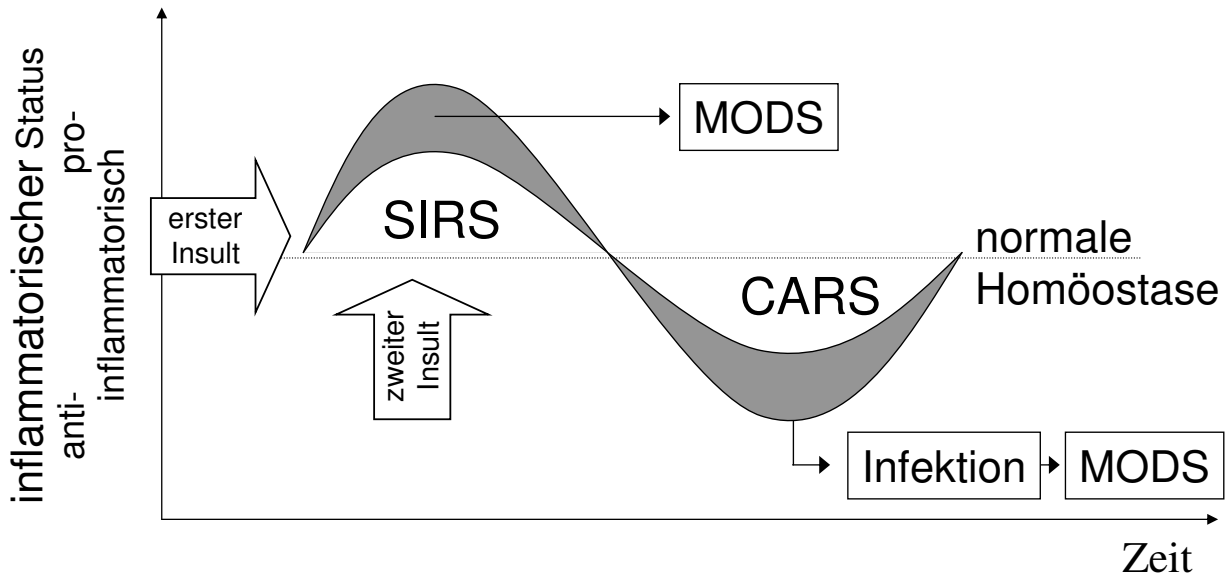


Abbildung 1.1: SIRS, CARS und MODS nach MOORE et al. [94]

mikrobieller Organismen in den Blutstrom ist, welche krankhafte Veränderungen hervorrufen [130].

Nach heutigem Erkenntnisstand und internationalem Konsens ist eine Sepsis als systemische Entzündungsreaktion im Sinne eines SIRS zu verstehen, zu der eine Infektion hinzugetreten ist [1]. Im Gegensatz zum SIRS, ist die Diagnose Sepsis also keine reine klinische Diagnose mehr, sondern beinhaltet das paraklinische, mikrobiologische Kriterium des kulturellen Keimwachstums. Der Zusammenhang zwischen SIRS, Infektion und Sepsis ist in Abbildung 1.3 graphisch dargestellt (nach ACCP / SCCM) [1].

Die Pathophysiologie der Sepsis ist, ausgehend von dem Bestehen eines SIRS, durch eine komplexe immunologische Kaskade geprägt, die durch Exotoxine, Endotoxine, bakterielle DNS, virale RNS, Rezeptoren immunkompetenter Zellen, mechanischen Gewebsuntergang, Ischämie- und anschließende Reperfusionsphasen induziert werden kann [10, 108]. Die pathogenetisch bedeutendsten proinflammatorischen Zytokine sind TNF-alpha, IL-1 und IL-6. Diese proinflammatorischen Zytokine lösen einen kettenreaktionsartigen Verlauf aus [44]. Sie sind in der Lage, weitere Mediatoren und Kaskadensysteme wie NO (Stickstoffmonoxid), PAF (plättchenaktivierender Faktor, Platelet Activating Factor), Prostaglandine, Komplementsystem und das Kallikrein- / Kininsystem zu induzieren. Diese führen zu Endothelveränderungen mit endothelialer Dysfunktion

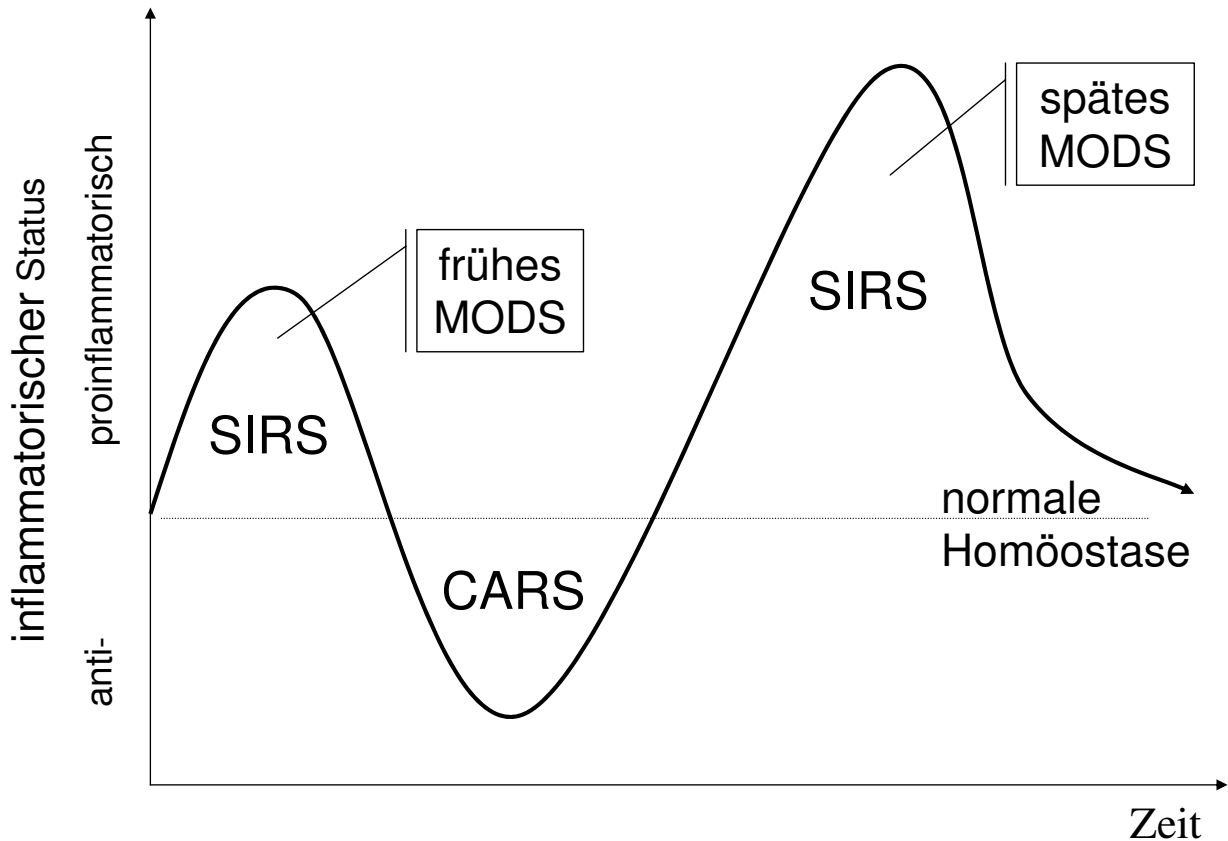


Abbildung 1.2: SIRS, CARS und MODS nach OBERHOLZER et al. [108]

mit konsekutiver Hämostasestörung (Störung des thrombozytären und plasmatischen Gerinnungssystems). Durch den Abfall des peripheren Widerstandes entsteht eine kompensatorische Steigerung des Herzzeitvolumens. Trotz dieser hyperdynamen Kreislaufsituation kommt es auf Grund des übermäßigen Abfalls des peripheren Widerstandes zum Abfall des Blutdrucks, der klinisch als Schock imponiert. Durch die Störung der Balance zwischen pro- und antithrombotischen Komponenten kommt es zur Bildung zirkulierender Fibrins (Mikrogerinnsel). Schock und Gerinnungsstörung potenzieren sich zu einer konsekutiven Sauerstoffunterversorgung verschiedenster Gewebe (Gewebshypoxie). Durch diese Gewebshypoxie und zytotoxische Faktoren (Zyto- und Chemokine aus Monozyten und Makrophagen aber auch direkt durch bakterielle Toxine) kommt es zur Bildung von Sauerstoffradikalen und zur Aktivierung von eiweißspaltenden Enzymen (Proteasen). Die durch Gewebshypoxie induzierte mitochondriale Dysfunktion verstärkt die o.g. Mechanismen im Sinne eines Circulus vitiosus. Die Folge sind zunehmende

hämodynamische und metabolische Dysregulationen sowie Störung der zellulären Integrität mit hypoxischem Zelltod, die in einem vielfältigen klinischen Erscheinungsbild imponieren (Hypotension, (Mikro)-Zirkulationsversagen, Hypoglykämie und Störungen des Säure-Basen-Haushalts) [75, 108].

Auch die Entwicklung nosokomialer Infektionen bei intensivpflichtigen Patienten erfüllt formal die ACCP / SCCM-Definition der Sepsis. Im Kontext der sukzessiven Entwicklung eines MODS aus SIRS und Sepsis werden Infektionen mit typischen nosokomialen Erregern jedoch nicht als dessen Ursache, sondern eher als Ausdruck der Manifestation gedeutet [90].

Das Zusammenwirken der bereits dargestellten immunologischen Veränderungen (initiale Hyperinflammation des SIRS und Immunsuppression des CARS im weiteren Verlauf) und die nach einem schweren Trauma zumeist mehrmalig notwendige operative Versorgung und lange intensivmedizinische Behandlung unter Intubation und maschineller Beatmung stellen begünstigende Faktoren für eine Keimbesiedelung und somit der Entwicklung einer Sepsis als Komplikation nach schwerem Trauma dar. Untersuchungen von WAYDHAS et al. bestätigen, dass die Notwendigkeit von operativen Interventionen bei Traumapatienten besonders häufig ist. An einem Patientenkollektiv von  $N = 133$  Traumapatienten (mit einer nach dem Injury Severity Score (ISS, s. Abschnitt 3.6) gemessenen Verletzungsschwere von 40,6 Punkten) wurden an  $N = 120$  Patienten 376 Operationen durchgeführt (durchschnittlich 3,13 Operationen pro Patient) [162].

### **1.2.4 Multiorgandysfunktionssyndrom nach schwerem Trauma**

Die Entstehung eines MODS wird auf unterschiedliche Weise diskutiert. MOORE et al. gehen davon aus, dass ein frühes MODS (Manifestation am dritten posttraumatischen Tag) entweder aus einer initialen malignen Hyperinflammation durch das eigentliche Trauma („one-hit“-model, nichtinfektiöses MODS) oder durch ein sehr zeitiges zweites inflammatorisches Ereignis („two-hit“-model) entsteht. Die Entwicklung eines späten MODS (nach dem dritten Tag) wird in einer Dysbalance der pro- und antiinflammatorischen Mediatoren begründet, so dass ein spätes MODS als Resultat einer Immun-



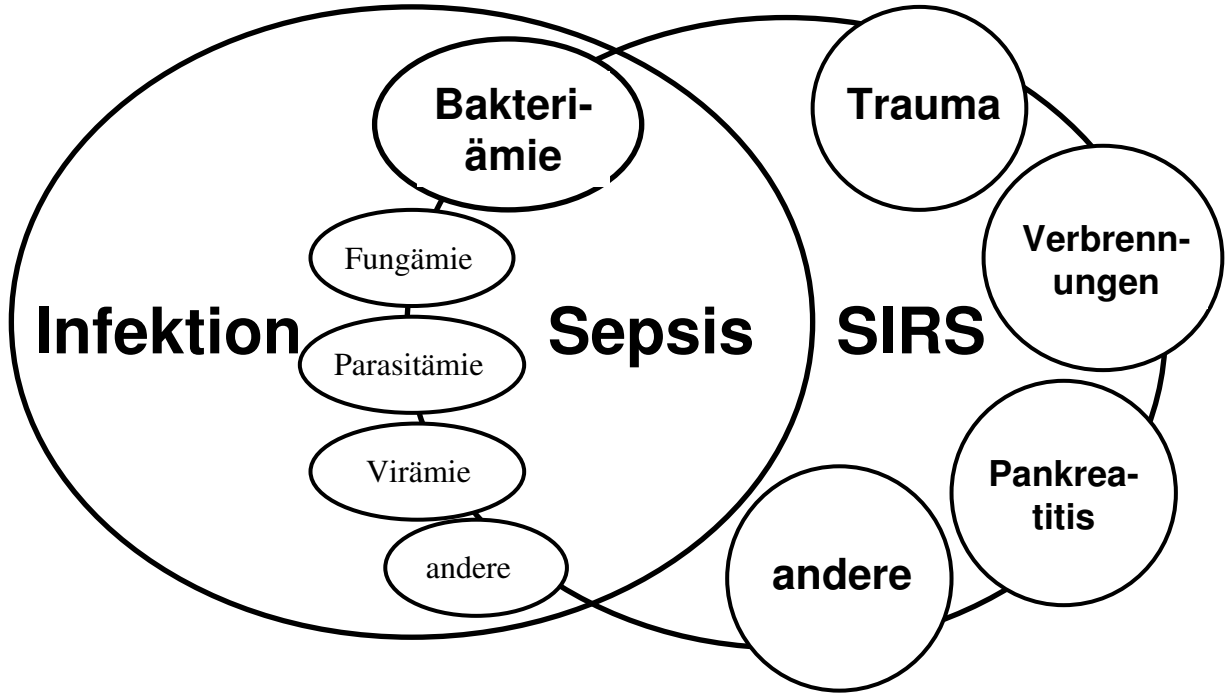


Abbildung 1.3: Synopsis SIRS, Infektion und Sepsis nach ACCP/SCCM Consensus Conference [1]

suppression, nämlich des CARS, infektionsgetriggert auf dem Boden eines septischen Geschehens entstehen kann (infektiöses MODS) [54, 94].

OBERHOLZER et al. postulieren die Entstehung eines späten MODS aus einer erneuten Hyperinflammation (erneutes SIRS) nach dem Durchlaufen der Immunsuppression (CARS).

Das Mitte der 90er Jahre vorgeschlagene „two-hit“-model hat bereits Modifikationen bzw. Erweiterungen erhalten. Insbesondere seien hier die Berücksichtigungen des variablen zeitlichen Verlaufes zwischen Abklingen des SIRS und Beginn des CARS (x-Achse in Abbildung 1.1) und der variablen Amplituden (y-Achse in der Abbildung 1.1), insbesondere des CARS, zu nennen. Es ist davon auszugehen, dass der zeitliche Verlauf und die Intensität beider Syndrome nicht in Form dieser schematisierten Symmetrie stattfinden (siehe auch 5.3.2 und Abbildung 5.1) [93].

In den Abbildungen 1.1 und 1.2 sind diese Erklärungsmodelle graphisch dargestellt.

### 1.2.5 Therapeutische Ansätze der Sepsisbehandlung

Die Therapie der Sepsis ist zur Zeit noch eine vorwiegend symptomatische Therapie. Die komplexe multifaktorielle Pathogenese erschwert die gezielte Therapie der Sepsis erheblich. Neben der modernen Intensivtherapie werden Therapieversuche mit monoklonalen Antikörpern gegen Lipopolysaccharide der bakteriellen Zellwand sowie mit Pro- und Antagonisten verschiedener Zytokine und deren Rezeptoren durchgeführt. Bisher zeigen diese noch keine zufriedenstellenden Ergebnisse [84, 114, 166].

Im Vordergrund steht die antiinflammatorische Therapie. Es wurden bzw. werden Steroide und z.B. der Interleukin-1 Rezeptorantagonist sowie Antikörper gegen TNF-alpha (Afelimomab<sup>®</sup>) eingesetzt. Klinische Studien zeigten keinen zufriedenstellenden Benefit des Interleukin-1 Rezeptorantagonisten. Die Senkung der Mortalität im Vergleich zu den Kontrollgruppen liegt weit unter 10% [48, 172]. Bezüglich der monoklonalen Antikörper gegen TNF-alpha wurde eine randomisierte Studie an  $N = 944$  septischen Patienten vorzeitig abgebrochen, weil die Patientengruppe, welche mit dem monoklonalen Antikörper ( $N = 249$ ) bzw. einem Placebo ( $N = 197$ ) behandelt wurde eine signifikant höhere Mortalität hatte, als die Kontrollgruppe mit  $N = 498$  Patienten (55,8% vs. 39,6%,  $p < 0,001$ ) [118].

Ein weiteres Therapiepotenzial liegt in dem sogenannten aktivierten Protein C (Drotrecogin Alpha, Xigris<sup>®</sup>). Die Indikation für den Einsatz des aktivierten Protein C ist das Vorliegen einer schweren Sepsis mit Organdysfunktion (APACHE II  $\geq 25$ ). Aktiviertes Protein C spielt eine zentrale Rolle bei der Blutgerinnung. Es fördert die Fibrinolyse und wirkt somit gerinnungshemmend. Der Spiegel vom aktivierten Protein C ist bei einer Sepsis oft vermindert. Der Einsatz von Xigris<sup>®</sup> soll die Bildung von Mikrothromben hemmen. Die problematischste unerwünschte Wirkung ist die mit der Gerinnungshemmung verbundene Blutungsneigung. Insgesamt zeigen klinische Studien hier nur eine geringe bzw. keine Besserung der Mortalität [33, 60, 161].

Diese Datenlage lässt erahnen, dass auf Grund der komplexen Pathophysiologie der Sepsis (Dynamik von Pro- und Antiinflammation) die alleinige Adressierung des therapeutischen Problems an eine einzelne pathophysiologische Komponente, wie z.B. der Dämpfung der antiinflammatorischen Komponente durch Antagonisierung eines einzel-

nen Zytokins, nicht gerechtfertigt ist. Zudem ist der Zeitpunkt des Einsetzens dieser spezifischen Therapieoptionen von entscheidender Bedeutung [77].

### 1.2.6 Epidemiologie der septischen Syndrome

Wie bereits dargestellt, wurde erst 1991 ein Konzept zur einheitlichen Definition der septischen Syndrome vorgeschlagen. Noch bevor eine international übereinstimmende Anwendung dieser Definitionen stattfand, folgte 2001 die Erweiterung. Die Anwendung dieser einheitlichen Definitionen ist bis dato noch in der Entwicklung. Daher ist die Erstellung exakter und vergleichbarer epidemiologischer Daten erschwert [3].

Einigung besteht darin, dass bei intensivmedizinisch betreuten Patienten Sepsis und MODS als häufigste Todesursachen angesehen werden [7, 104]. Weltweit sterben täglich ca. 1400 Menschen an einer Sepsis, wobei eine hohe Dunkelziffer besteht, da die Totenscheine eher Grund- und Begleiterkrankungen als Komplikationen aufweisen [53]. Die Inzidenz der Sepsis wächst stetig. Nach einer Untersuchung an mehreren Krankenhäusern der USA stieg von 1979 bis 1989 die Inzidenz der Sepsis von 73,6 / 100.000 auf 175,9 / 100.000 [23]. Andere Publikationen schätzen die jährliche Inzidenz der Sepsis auf ca. 3 Erkrankte pro 1000 Einwohner [98]. Als Ursachen hierfür werden eine zunehmende Prävalenz von HIV-Infektionen, zunehmende Durchführung invasiver chirurgischer Eingriffe an zunehmend älteren und gesundheitlich beeinträchtigten Patienten, verbesserte intensivmedizinische Betreuung (Langzeitbeatmung, zentrale Venenkatheter, (minimal-) invasive Diagnostik etc.) und nicht zuletzt Fortschritte bei der Diagnosestellung einer Sepsis diskutiert [3, 23, 98].

RANGEL-FRAUSTO et al. untersuchten an einem Kollektiv von  $N = 3708$  Patienten (Mischkollektiv aus intensivpflichtigen und nicht intensivpflichtigen Patienten) Morbidität und Mortalität der septischen Syndrome. Es erlitten  $N = 2527$  (68%) dieser Patienten ein SIRS. Von diesen Patienten entwickelten  $N = 649$  (26%) eine Sepsis,  $N = 467$  (18%) eine schwere Sepsis und  $N = 110$  (4%) einen septischen Schock nach den Definitionen der ACCP / SCCM. Die Mortalität zeigt eine Progression von SIRS bis hin zum septischen Schock (siehe Diagramm 1.3) [115]. Dieser Studie können keine genau-

en Angaben zur Charakterisierung des Patientenkollektivs und zur Inzidenz entnommen werden [3].

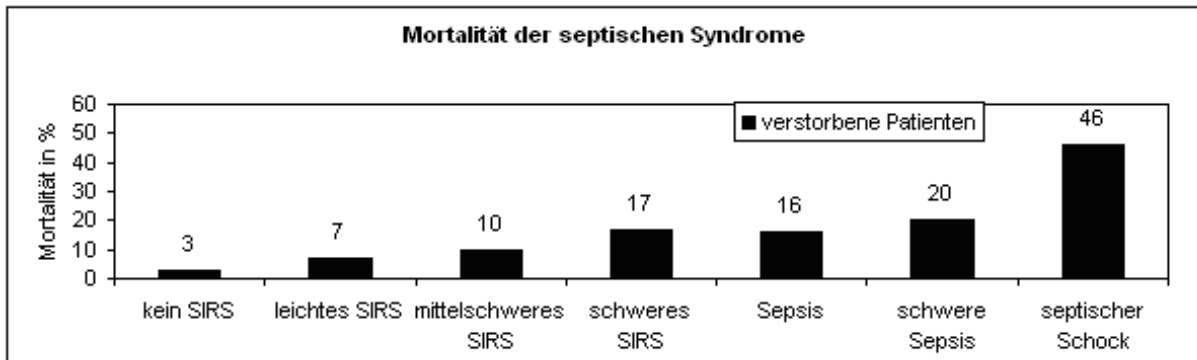


Diagramm 1.3: Mortalität der septischen Syndrome nach RANGEL-FRAUSTO et al. [115]

In einer weiteren Studie wurden 99 Intensivstationen ( $N = 1101$  Patienten) in Italien von SALVO et al. untersucht. Nach den Kriterien der ACCP / SCCM-Konferenz entwickelten 52% der Patienten ein SIRS, 4,5% eine Sepsis, 2,1% eine schwere Sepsis und 3,0% einen septischen Schock [127].

Eine Multicenterstudie von BRUN-BUISSON et al. rekrutierte  $N = 11828$  Patienten von 170 Intensivstationen aus Frankreich. Von diesen Patienten entwickelten  $N = 1065$  (9%) eine Sepsis und  $N = 745$  (6,3%) eine schwere Sepsis [15].

Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses von Alter und Geschlecht der Patienten zeigen divergente Ergebnisse. Nach WICHMANN et al. entwickelten von  $N = 4218$  Patienten einer chirurgischen Intensivstation 7,6% der weiblichen und 10,4% der männlichen Patienten eine schwere Sepsis oder einen septischen Schock. Die Inzidenz bzw. Mortalität der schweren Sepsis und des septischen Schocks reichen in dieser Studie von 4,1% bzw. 0% in der Gruppe der unter 20-jährigen und bis zu 10,2% bzw. 79,3% bei der Gruppe der über 80-jährigen. Signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich der Mortalität konnten hier nicht gezeigt werden [167]. Im Kontrast dazu weisen nach SCHRÖDER et al. männliche septische Patienten eine höhere Mortalität als weibliche septische Patienten (70% vs. 26%) auf [131].

In einer deutschen Prävalenzstudie wurden im Jahr 2003  $N = 3877$  Patienten auf 454 randomisiert ausgesuchten Intensivstationen untersucht. Von diesen Patienten hatten 12,2% eine Sepsis, weitere 10,7% eine schwere Sepsis bzw. einen septischen Schock (nach den ACCP / SCCM-Kriterien). Die 90-Tage-Sterblichkeit betrug bei Patienten mit schwerer Sepsis 54% [32].

Zusammenfassend sind keine exakten und vergleichbaren Daten dokumentiert. In allen Untersuchungen stellen die septischen Syndrome bei intensivpflichtigen Patienten die häufigste Todesursache dar. Die Mortalität nimmt mit dem Schweregrad des septischen Syndroms zu. Männliche Patienten haben wahrscheinlich eine schlechtere Prognose.

### 1.3 Interleukin-10

#### 1.3.1 Entdeckung und Erstbeschreibung von Interleukin-10

Bei Untersuchungen an TH<sub>2</sub>-Zellen von Mäusen identifizierten FIORENTINO et al. 1989 ein Molekül mit immunmodulatorischen Eigenschaften. Zuerst wurde die Eigenschaft beschrieben, die Aktivität und Zytokinproduktion von TH<sub>1</sub>-Zellen zu inhibieren (siehe Abbildung 1.4). Es handelte sich hier um ein zuvor noch nicht beschriebenes Zytokin, welches die Bezeichnung Cytokine Synthesis Inhibited Factor (CSIF) erhielt [46]. Bereits ein Jahr später wurde ein cDNA-Klon isoliert, der für CSIF kodiert [95]. Damit war die Möglichkeit für eine genauere physiologische und biochemische Charakterisierung des rekombinanten Zytokins gegeben. Dieses Zytokin zeigte an verschiedenen Orten unterschiedliche Effekte (Pleiotropie). Die Bezeichnung „Cytokine Synthesis Inhibited Factor“ wurde später durch Interleukin-10 (IL-10) abgelöst.

#### 1.3.2 Interleukin-10 produzierende Zellen

Ausgenommen den TH<sub>1</sub>-Zellen und den CD<sub>8</sub><sup>+</sup>-T-Zellen (Thymozyten, zytotoxische T-Zellen und natürlichen Killerzellen) sind T-Zellen, insbesondere TH<sub>2</sub>- und TH<sub>0</sub>-Zellen, die potentesten IL-10 Produzenten [46, 95, 96]. Auch Monozyten, Makrophagen, B-Zellen, Keratinozyten und dendritische Zellen sezernieren IL-10 [30, 39, 110, 120].

### 1.3.3 Zielzellen und Effekte des Interleukin-10

IL-10 ist in der Lage, über seine inhibierenden Effekte (Downregulation) auf antigenpräsentierende Zellen (APC), wie Makrophagen und dendritische Zellen, die Zytokinproduktion (IL-2, IL-5, TNF, IFN- $\gamma$ ) und die Proliferation von CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-T-Zellen (insbesondere TH<sub>1</sub>-Zellen) zu inhibieren [30, 47]. Die Hauptaufgaben der CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-T-Zellen bestehen in der zellulären Immunantwort und in der Produktion proinflammatorischer Zytokine, um die Kette der Immunantwort zu beschleunigen.

Auf direktem Weg wird durch IL-10 die Interleukin-2-Produktion (IL-2, auch T-Cell Growth Factor genannt) gehemmt [46, 145]. Auch daraus resultiert wiederum eine Hemmung der T-Zellproliferation [35].

Im Gegensatz zu dem hemmenden Einfluss auf die CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-T-Zellen stellt IL-10 einen Proliferations- und Stimulationsfaktor für CD<sub>8</sub><sup>+</sup>-T-Zellen (z.B. natürliche Killerzellen) dar [24, 87]. Die natürlichen Killerzellen sind in der Lage, Pathogene direkt durch Phagozytose zu bekämpfen und haben über ihre Zytokinsynthese regulatorische Funktion. Bei natürlichen Killerzellen wird jedoch durch IL-10 eine Inhibition der Zytokinsynthese beobachtet, sodass trotz gesteigerter Proliferation die weitere Induktion der Immunantwort gehemmt wird [63].

Erkenntnisse über den Einfluss von IL-10 auf die Differenzierung der T-Zellen sind widersprüchlich. HSIEH et al. beschreiben IL-10 als Induktor für die Entwicklung von TH<sub>2</sub>-Zellen, während SEDER et al. nur geringen bzw. keinen Einfluss auf die Differenzierung der Subpopulationen sehen [62, 134].

IL-10 erhöht die Überlebenswahrscheinlichkeit der humanen B-Zellen (siehe Abbildung 1.4). Der Grund hierfür wird u.a. in der erhöhten Expression des Antiapoptoseproteins bcl-2 gesucht [64, 79]. Weiterhin fungiert IL-10 als Kofaktor für die B-Zellproliferation, indem es auf den B-Zellen den IL-2-Rezeptor induziert [50]. Die Produktion der Immunglobuline IgG, IgA und IgM und der Isotype-Klassenswitch (Wechsel der Immunglobulinklasse des Antigenrezeptors an der Zelloberfläche bzw. der sezernierten Antikörper) werden durch IL-10 stimuliert.

Zusammenfassend kommt der antiinflammatorische Effekt des IL-10 vorwiegend durch die hemmenden Einflüsse auf den Ablauf der zellulären Immunantwort zu Stande (siehe Abbildung 1.4).

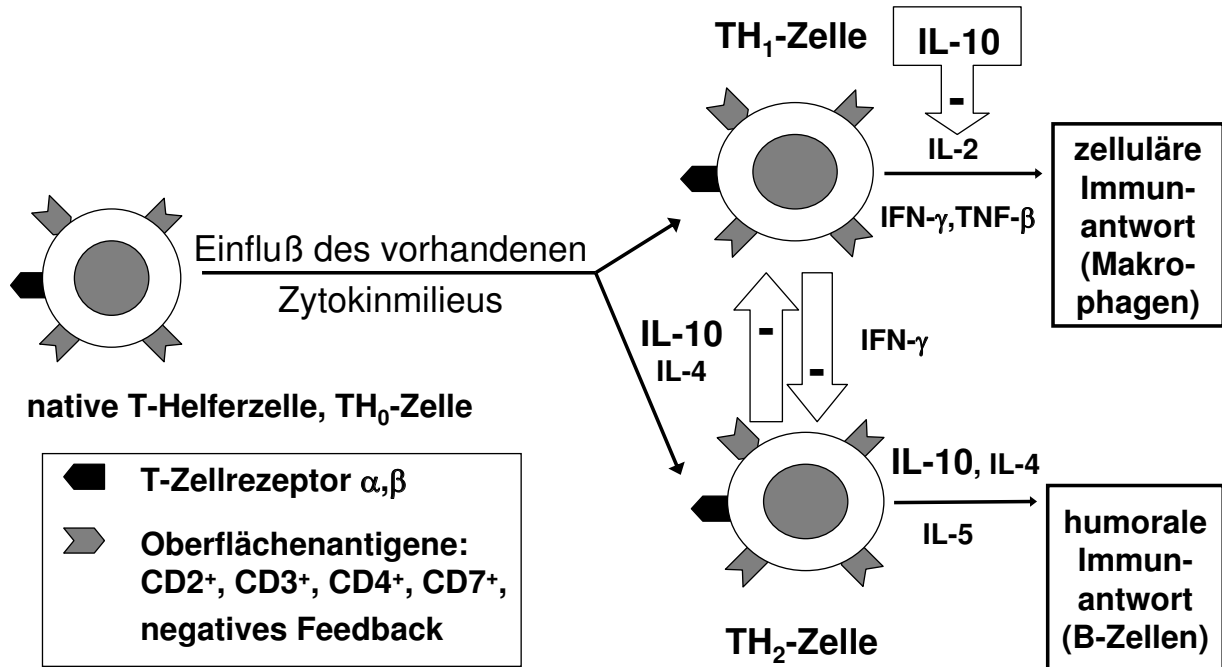


Abbildung 1.4: Differenzierung der T-Zellen unter dem Einfluss von IL-10 und anderen Zytokinen

Nahezu die gesamte Chemo- sowie Zytokinsynthese und -sekretion (z.B.: IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, TNF, PAF) der Makrophagen wird durch IL-10 gehemmt [30, 47, 72, 89, 125]. Hinzu kommt die Eigenschaft von IL-10, die Synthese von Antagonisten der o.g. Zytokine (z.B. IL-1-Rezeptorantagonist oder löslicher TNF-Rezeptor p55 und p75) zu induzieren bzw. die Expression von den entsprechenden Rezeptoren zu inhibieren [34, 57, 65, 80]. IL-10 verhindert die Reifung von MHC-Klasse-II-Molekülen und deren Einbau in die Zellmembran [71]. Die Prostaglandinsynthese in Makrophagen wird durch Hemmung der Cyclooxygenase ausgeschaltet [106]. Dadurch greift IL-10 hemmend in den Stoffwechsel der extrazellulären Matrix ein, indem die Sekretion von Gelatinasen, Kollagenasen und Metalloproteasen downreguliert wird [91].

Durch Induktion der Oberflächenantigene CD16 und CD64 sind Makrophagen in der Lage, opsonierte (präsentierte) Antigene vermehrt zu phagozytieren, obwohl wiederum

deren Digestion durch Hemmung des katabolen Stoffwechsels ( $O_2$ - und NO-Produktion) nicht möglich ist [18, 28, 105, 150].

Unter dem Einfluss von IL-10 sind die Dendritischen Zellen (DC) auf Grund der Inhibition von kostimulatorischen Molekülen und IL-12 nicht mehr in der Lage, eine T-Zellantwort zu generieren [16, 21, 86].

Bei den neutrophilen Granulozyten zeigt IL-10 ebenfalls inhibitorische Effekte. Die Synthese und Sekretion verschiedener Zytokine (TNF, IL-1, IL-8, IL-12, PAF) wird vermindert [17, 19, 20, 67].

### **1.3.4 Biochemische, molekulare und molekularbiologische Eigenschaften des Interleukin-10**

Das IL-10-Molekül besteht aus ca. 178 Aminosäuren, die als Alphahelix gewunden und durch zwei Disulfidbrücken stabilisiert sind [138]. Rekombinantes, humanes IL-10 hat ein Molekulargewicht von 17-18 kDa. Es ist am Stickstoff nicht glykosyliert [95, 96]. Die Tertiärstruktur des IL-10 ist ein v-förmiges Homodimer aus zwei ineinander verwundenen, nichtkovalent gebundenen Polypeptidketten [160, 170, 171].

Das Gen des IL-10 ist auf dem langen Arm des Chromosoms 1 lokalisiert (1q31-32) und hat eine Größe von ca. 5,2 Kilobasen mit 5 DNA-Abschnitten, die in Messenger-RNA (mRNA) transkribiert werden (Exons) [31, 69]. Die transkribierte mRNA hat eine Länge von ca. 2 Kilobasen [157]. Die Transkriptionsregulation unterliegt den Transkriptionsfaktoren Sp1 und Sp3, die wiederum von verschiedenen Zelllinien produziert werden [13, 152]. Die entscheidende Regulation der transkribierten mRNA erfolgt auf posttranskriptionaler Ebene durch Veränderung bzw. Abbau der mRNA. Der Vorteil der posttranskriptionalen Regulation besteht in einer höheren Geschwindigkeit im Vergleich zur Regulation über die Aktivierung der Transkription [78, 113].

### **1.3.5 Der Interleukin-10 Rezeptor**

Der Interleukin-10 Rezeptor (IL-10R) weist Homologien zu der Interferonrezeptorfamilie auf. Er besteht aus 2 Untereinheiten, der ligandenbindenden Einheit (IL-10R1 oder IL-10R $\alpha$ ) und dem akzessorischen Rezeptorprotein (IL-10R2 oder IL-10R $\beta$ ). Nur das



Vorhandensein und die intakte Interaktion beider Untereinheiten ermöglichen eine suffiziente Signalübertragung.

Der aus 578 Aminosäuren bestehende Rezeptor bindet mit hoher Affinität den Ligan- den IL-10. Er hat ein Molekulargewicht von 90-120 kDa [58, 82, 83, 148]. Das Gen des IL-10R1 ist auf dem langen Arm des Chromosom 11 lokalisiert (11q23.3) [83, 149]. Ob- wohl eine lösliche Form des IL-10R1 (sIL-10R1) rekombinant exprimiert werden konnte, gibt es keinen Anhalt für deren Existenz in vivo [82, 109, 147].

Der IL-10R1 ist absolut essentiell für die Signalübertragung, denn eine selektive Blo- ckierung des IL-10R1 durch monoklonale Antikörper löscht sämtliche bekannte Effekte des IL-10 aus [58, 82, 109]. IL-10R1 wird von den meisten Zellen der hämatopoetischen Linie in einer Anzahl von mehreren Hundert Molekülen pro Zelle exprimiert. Die Regu- lation erfolgt auf posttranskriptionaler Ebene (Veränderung der mRNA) und auf Protein- Ebene (Veränderung des fertigen Proteins) [58, 82, 83, 148].

Die Funktion des akzessorischen IL-10R2 ist in einer Signalverstärkung und Beschleu- nigung der Signalübertragung durch Erhöhung der IL-10 Bindungsaffinität begrün- det [73]. Zudem wird durch den akzessorischen Rezeptor die Jak-Kinase Typ2 in den signalgebenden Komplex rekrutiert [73, 137].

### 1.3.6 Signaltransduktion

Die Tyrosinkinase Jak1 und Jak2 sind an IL-10R1 und IL-10R2 gebunden. Diese wer- den durch die Interaktion von IL-10 mit seinem Rezeptor IL-10R1 und durch das ak- zessorische Rezeptorprotein (IL-10R2) aktiviert [45, 59, 73]. Die Tyrosinkinase über- führen durch Phosphorylierung von 2 Thyrosinresten in der zytoplasmatischen Domä- ne des IL-10R1 die Transkriptionsfaktoren stat1, stat3 und stat5 in einen aktiven Zu- stand [45, 76, 164, 163]. Es genügt die Phosphorylierung von einem der beiden Thyro- sinreste, um stat3 zu rekrutieren [163].

Jak1, Jak2 und stat3 besitzen eine Schlüsselfunktion. Bei Untersuchungen an Jak1 homozygot negativen Mutanten (Jak1  $-/-$ ) erfolgte keine Antwort auf IL-10 [123]. Un- tersuchungen von LIU, MOORE und MALEFYT widersprechen der unter 1.3.5 aufge- führten These, dass der Rezeptor IL-10R2 und die durch ihn hervorgerufene Aktivierung

der Jak2-Kinase lediglich für eine Beschleunigung der Signalübertragung verantwortlich seien. In dieser Untersuchung sei nach Blockierung des IL-10R2 durch selektive Antikörper keine Antwort auf IL-10 erfolgt. Experimente bei *stat3*<sup>-/-</sup> Mutanten zeigten eine abgeschwächte IL-10 vermittelte Hemmung der Makrophagenproliferation [109]. Im Gegensatz dazu wird die eigentliche, antiinflammatorische Aktivität des IL-10, nämlich die Hemmung der Zytokinproduktion bzw. Monokinproduktion, durch Fehlen von *stat3* nicht beeinträchtigt. Diese Untersuchung liefert die Schlussfolgerung, dass es mindestens 2 unterschiedliche Wege der Signaltransduktion geben muss, wovon einer *stat3* benötigt [109].

### 1.4 Die Polymorphismen -1087, -824 und -597 des Interleukin-10 Gens

#### 1.4.1 Variabilität im humanen Genom

Die DNA-Sequenz ist durch eine hohe individuelle Variabilität gekennzeichnet. Sie ist polymorph (vielgestaltig, d.h. verschiedene Ausprägungen eines Gens an einen Genort, wobei das Selteneren dieser sog. Allele mit einer Frequenz von mindestens einem Prozent auftreten muss). Das humane Genom besteht aus ca. 3 Billionen Basenpaaren. Geschätzt wird, dass zwischen zwei Individuen bis zu ca. 3.000.000 Sequenzunterschiede bestehen können [126]. Die meisten bleiben ohne phänotypische Konsequenz, können jedoch bei Krankheitsdispositionen relevant werden. Für die genetische Forschung sind vier Typen der genetischen Variabilität von Bedeutung, die in zwei Klassen eingeteilt werden können (siehe Abbildung 1.5) [25]:

- Minisatelliten (auch VNTRs, *variable number of tandem repeats*) und Mikrosatelliten (auch STR, *short tandem repeats*) sind repetitive Sequenzen, die in der Regel in nicht kodierenden DNA-Abschnitten liegen.
- Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLPs) und SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) liegen sowohl in kodierenden und nicht kodierenden Sequenzen

und stellen eine Mutation eines einzelnen Basenpaares dar. Mit ca. 2.000.000 bekannten SNPs machen diese Polymorphismen den weitaus größten Teil der Variabilität des menschlichen Genoms aus.

Abbildung 1.5 stellt diese Polymorphismen schematisch dar.

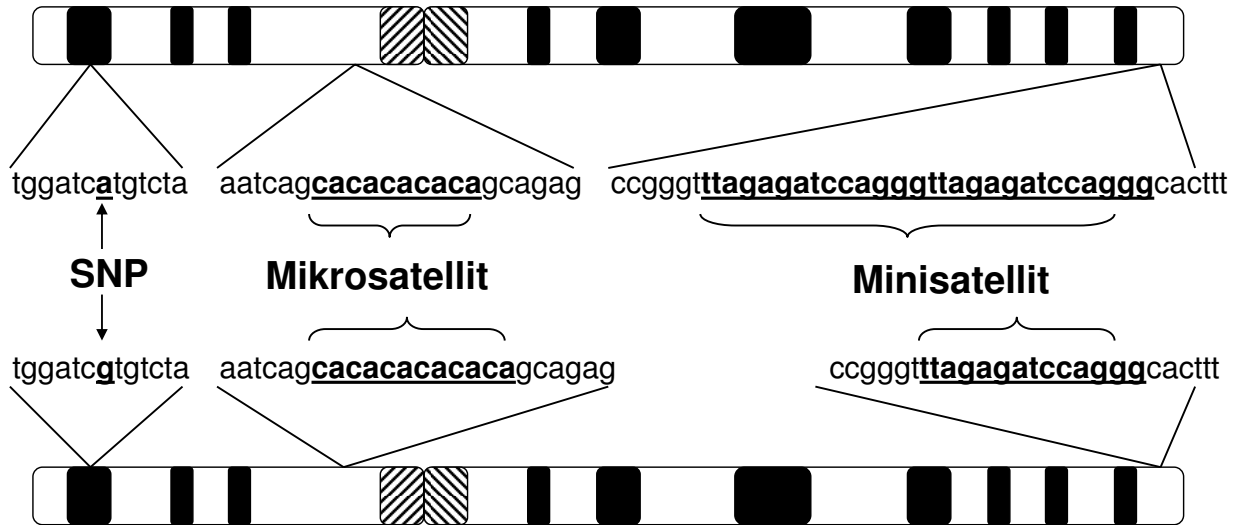


Abbildung 1.5: Polymorphismen im Vergleich zweier Chromosomen nach CICHON et al. [25]

#### 1.4.2 Charakterisierung und phänotypische Relevanz der Polymorphismen -1087, -824 und -597 des Interleukin-10 Gens

In der Promotorregion des IL-10 Gens sind mehrere SNPs lokalisiert [29, 43]. Für die vorliegende Untersuchung sind die SNPs an den Positionen -1087 (Substitution von Guanin [G] durch Adenin [A]), -824 (Substitution von Cytosin [C] durch Thymin [T]) und -597 (Substitution von Cytosin [C] durch Adenin [A]) von Bedeutung.

In der kaukasischen Bevölkerung sind für die o.g. drei Polymorphismen bisher nur drei Komplexe gekoppelter Allele (Haplotypen) von acht möglichen beschrieben worden: GCC (G an Position -1087, C an Position -824 und C an Position -597), ACC und ATA [155]. Die Vererbung dieser Allele ist eng gekoppelt. Träger des Allels C an -597 tragen auch das Allel C an -824. Das Allel A an -597 ist mit dem Vorhandensein des Allels T an -824 verbunden. Dieses Phänomen wird als „strong linkage“ der Allele bezeichnet.

Aus diesem Grund konnte in der vorliegenden Untersuchung auf die Bestimmung des Allels an -824 verzichtet werden, da es durch das Allel an -597 determiniert ist.

Auf Grund der Lage der Polymorphismen in der Promotorregion haben diese genregulatorische Effekte auf transkriptionaler Ebene. Das IL-10 als Molekül bleibt in seinen Eigenschaften (Aminosäuresequenz, Sekundär- / Tertiärstruktur etc.) unberührt. Durch Aktivierung bzw. Hemmung der Transkription sind die Alleltypen und Haplotypen mit einer unterschiedlichen IL-10 Sekretion assoziiert. Individuen mit dem Haplotyp GCC sezernieren mehr IL-10 als die Haplotypen ACC bzw. ATA. Homozygote (gleiche Allele eines Genpaares) Individuen (GCC / GCC) sind somit die potentesten IL-10 Produzenten [27, 37].

### **1.4.3 Assoziationen der Polymorphismen -1087, -824 und -597 zu ausgewählten Erkrankungen**

Assoziationen der SNPs zu den verschiedensten Outcomeparametern sind zahlreich untersucht. Insbesondere Erkrankungen mit entzündlicher, infektiöser und autoimmuner Pathogenese stehen im Mittelpunkt. In Tabelle 1.2 sind ausgewählte Arbeiten chronologisch nach Erscheinungsjahr aufgelistet, die entweder hinsichtlich des Outcomereignisses oder des untersuchten Patientenkollektivs Ähnlichkeiten mit der vorliegenden Studie aufweisen.

Quelle	Jahr	Patienten	Outcome	Signifikante Ergebnisse
LIO et al. [81]	2002	$N = 190$	Alterungsprozesse	Der Genotyp -1087GG war bei über Hundertjährigen Männern signifikant gehäuft
REID et al. [117]	2002	$N = 88$	MODS bei ITS-Patienten(*)	Haplotyp GCC/GCC war bei Patienten mit MODS signifikant unterrepräsentiert
LOWE et al. [85]	2003	$N = 67$	Sepsis bei ITS-Patienten(*)	Träger des Allel -597A hatten eine signifikant höhere Mortalität
GALLAGHER et al. [51]	2003	$N = 93$	ambulant erworbene Pneumonie	Allel -1087G zeigt mit zunehmenden SIRS-Grad signifikant höhere Frequenzen, an Pneumonie verstorbene Patienten zeigten höhere Frequenzen des Genotyps -1087GG.
SCHAAF et al. [128]	2003	$N = 69$	Septischer Schock bei Pneumokokkeninfektion	Träger des Genotyp -1087GG hatten ein signifikant höheres Risiko, einen septischen Schock zu entwickeln
SCHROEDER et al. [132]	2004	$N = 119$	MODS nach Trauma	Der Genotyp -597AC zeigte eine signifikant höhere Frequenz bei Patienten mit MODS
GONG et al. [55]	2006	$N = 211$	ARDS(+)	Patienten mit dem Genotyp -1087GG hatten eine signifikant geringere Ausprägung des ARDS als Patienten mit den Genotypen GA und AA
STANILOVA et al [139]	2006	$N = 33$	Sepsis	Der Genotyp -1087AA zeigte niedrigere IL-10 Produktion. Patienten mit schwerer Sepsis hatten eine signifikante Häufung des Allel -1087A
SCHROEDER et al. [133]	2008	$N = 100$	ARDS(+) nach Trauma	Der Genotyp -1087GG war in der univariaten und multivariaten Analyse Marker für ein erhöhtes Risiko, ein posttraumatisches ARDS zu entwickeln
SKRIKANTH BABU et al. [6]	2012	$N = 651$	Akutes Coronarsyndrom	Die „High-“ und „Low“-Producer (-1087GG u. -1087AA) hatten jeweils ein erhöhtes Risiko an einem akuten Coronarsyndrom zu erkranken
* ITS-Patienten = intensivpflichtige Patienten + ARDS = Adult Respiratory Distress Syndrome				

Tabelle 1.2: Ausgewählte Arbeiten zu den Promotorpolymorphismen -1087 und -597

## 2 Fragestellung und Zielsetzung

Nach Untersuchungen von ERTEL et al. sind die Entwicklung eines SIRS und dessen Schweregrad entscheidend für den weiteren Verlauf und die Entwicklung von zusätzlichen Komplikationen bei polytraumatisierten Patienten [9, 40].

Die Entstehung einer Sepsis bzw. eines MODS aus einem SIRS ist ein kontinuierlicher Prozess [14, 136]. Bekannt ist, dass die Entwicklung eines SIRS bzw. eines septischen Geschehens stark durch das vorhandene Zytokinmilieu (sowohl pro- als auch antiinflammatorischer Zytokine) beeinflusst wird [49, 108]. Von den bekannten Zytokinen ist IL-10 einer der wichtigsten Vertreter der antiinflammatorischen Zytokine. Durch Untersuchungen von SHERRY et al. und NEIDHARDT et al. wurde belegt, dass IL-10-Plasma-Konzentrationen Einfluss auf die Entwicklung von Komplikationen nach schwerem Trauma haben [103, 135]. Die IL-10-Plasmakonzentrationen zeigen eine erhebliche interindividuelle Variation. Die genetische Komponente dieser individuell unterschiedlichen IL-10 Sekretion wird auf ca. 70% geschätzt [42, 165]. Entwicklung, Verlauf und Komplikation einer Sepsis werden nicht nur primär durch den ursächlichen Insult (in diesem Fall das Trauma) oder die auslösenden Noxen bestimmt, sondern zusätzlich durch die individuelle Reaktion des betroffenen Organismus auf diese Faktoren [153, 156].

Auf Grund dieser Erkenntnisse war es Ziel der vorliegenden prospektiven Studie, an einem Patientenkollektiv von  $N = 119$  schwerverletzten Patienten, die Polymorphismen -1087 und -597 der Promotorregion des IL-10 Gens auf ihre Fähigkeit als genetischer Marker für das Auftreten einer Sepsis nach einer Mehrfachverletzung zu untersuchen.

Daraus ergaben sich folgende Fragestellungen und Zielsetzungen:

1. Wie häufig trat eine Sepsis nach einem schweren Trauma auf?
2. Ist das vorliegende Patientenkollektiv hinsichtlich der Genotypenverteilung der untersuchten Polymorphismen homogen?
3. Gibt es signifikante Verteilungen der Geno- und Alleltypen?
4. Wenn ja, soll für die betreffenden Allel- und Genotypen das Risiko, eine Sepsis zu entwickeln, quantifiziert werden.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Aufbau der Studie

Die Untersuchung wurde an  $N = 119$  polytraumatisierten Patienten des Unfallkrankenhauses Berlin (UKB, Grad I Traumazentrum) mit integrierter Berufsgenossenschaftlicher Unfallklinik e.V. durchgeführt. Alle Patienten waren kaukasischer Herkunft. Die Studie war als eine prospektive, monozentrische und nicht-interventionelle Kohortenstudie konzipiert. In der vorliegenden Auswertung wurden von Mai 1999 bis August 2001 konsekutiv eingelieferte polytraumatisierte Patienten erfasst. Die Behandlung der Studienpatienten entsprach dem hausüblichen bzw. internationalen Standard und unterschied sich nicht von der anderer Patienten.

Vor ihrem Beginn wurde die Studie durch die zuständige Ethikkommission legitimiert. Die eingeschlossenen Patienten bzw. Betreuer gaben ihr schriftliches Einverständnis auf einem separaten Formblatt.

Bei Ankunft im Schockraum wurden alle Patienten von einem erfahrenen Trauma-Team behandelt. Dieses setzte sich primär aus Unfallchirurgen, Anästhesiologen und dem entsprechenden Pflegepersonal zusammen. Im weiteren Verlauf und bei Bedarf wurde die interdisziplinäre Zusammenarbeit durch Radiologen, Neurologen, Neurochirurgen, Mund-Kiefer-Gesichtschirurgen, Urologen, Hals-Nasen-Ohren- und Augenärzte ergänzt.

Bei allen Patienten beinhaltete die Diagnosestellung eine initiale helikale Körperstamm-Computertomografie (Spiral-CT) mit kompletter digitaler Datenverarbeitung.



Einschlusskriterien:

- Das Verletzungsmuster der Patienten musste die Definition eines Polytraumas nach ERTEL und TRENTZ [41] hinsichtlich mindestens einer unmittelbar lebensbedrohlichen Verletzung und einer weiteren schwersten Verletzung in einer anderen Körperregion erfüllen
- Injury Severity Score (ISS)  $\geq 16$

Ausschlusskriterien:

- Alter unter 16 Jahren
- Konstitutive oder akquirierte Immundefizienz
- Organversagen als unmittelbare Ursache des Unfallereignisses
- Gravidität
- Maligne Vorerkrankungen
- Teilnahme an einer anderen klinischen Studie
- Einverständnisverweigerung zur Teilnahme

## 3.2 Datenerhebung und Dokumentation

Der Beobachtungszeitraum reichte vom Aufnahmezeitpunkt (Eintreffen im Schockraum) bis zur Verlegung auf eine periphere Station oder der Entfernung aller arteriellen bzw. zentralen Zugänge oder dem 40. posttraumatischen Tag. Die studienbezogenen Daten der Patienten wurden auf Studien-Dokumentationsbögen unabhängig von der klinikeigenen Patientenakte dokumentiert.

Während der Initialphase wurden die Daten zu folgendenden Zeitpunkten bestimmt: innerhalb von 30 min nach Eintreffen im Schockraum, intraoperativ bei Notwendigkeit einer primären operativen Versorgung, 6h, 12h und 18h nach der Aufnahme auf der Intensivstation (ITS). Ab dem zweiten Tag wurde einmal täglich dokumentiert. Die Daten wurden prinzipiell binnen 24h nach ihrem Eintritt und ausschließlich durch die Studienmitglieder dokumentiert.

Die Dokumentation erfolgte unter Einhaltung der ärztlichen Schweigepflicht und datenschutzrechtlicher Bestimmungen völlig anonym. Der Bogen enthielt nicht den Namen des Patienten. Jeder Patient konnte durch den Studienleiter über eine anonyme Kennziffer identifiziert werden. Die zu dokumentierenden Variablen waren konkret vorgegeben. Die klinischen und paraklinischen Daten wurden prospektiv am Patientenbett erhoben und dokumentiert.

Außerdem erfolgte auch die Dokumentation der Unfallursache, Unfallzeit, Zeit bis zur Erstversorgung, Transportzeit und der präklinischen Versorgung mit Hilfe der Notarztprotokolle und ggf. im Gespräch mit dem verantwortlichen Notarzt. Zusätzlich beinhaltete der Dokumentationsbogen Angaben demographischer Daten wie Alter, Größe, Gewicht und Geschlecht. Nach Erhebung der Eigen- bzw. Fremdanamnese erfolgte die Dokumentation der Vorerkrankungen ebenfalls auf dem studieneigenen Dokumentationsbogen.

### **3.3 Definition der klinischen Zielgrößen**

Primäre klinische Zielgröße war die Entwicklung einer Sepsis nach dem Trauma. Auf Grund des angewendeten KAPLAN-MEIER-Verfahrens (siehe 3.9.6) brauchte für den Zeitpunkt des Auftretens der Sepsis kein bestimmtes Zeitfenster festgelegt werden. Die genauen Definitionen der untersuchten klinischen Zielgrößen erfolgten vor Beginn der Studie. In der vorliegenden Studie wurde die Sepsis nach den bereits aufgeführten Richtlinien der ACCP / SCCM Konsensuskonferenz definiert. Patienten mit mindestens zwei SIRS-Kriterien und zusätzlichem mikrobiologischen Keimnachweis erfüllten die Kriterien, an einer Sepsis erkrankt zu sein.

### **3.4 Bestimmung der laborchemischen und klinischen Parameter**

Nachfolgend werden alle klinischen und paraklinischen Parameter aufgeführt, welche zur Diagnosestellung Sepsis benötigt wurden und zur weiteren Evaluation des Patientenkollektivs mittels der noch im Folgenden detailliert aufgeführten Scores dienten.

Laborchemische Parameter des Routinelabors wurden im Labor des Unfallkrankenhauses Berlin (Berliner Betrieb für zentrale gesundheitliche Aufgaben) am Studienort nach Standardmethoden bestimmt. Die Blutgasanalysen (pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub> und Base Excess) erfolgten unmittelbar in der Rettungsstelle und anschließend auf der Intensivstation. Im Folgenden werden die Methodik, das benötigte Material und die Referenzwerte der einzelnen Parameter dargestellt.

#### 3.4.1 Parameter des Blutbilds

##### 3.4.1.1 Hämatokrit

Der Hämatokrit ist als das Verhältnis aller Erythrozytenvolumina zum Gesamtvolumen des Vollblutes definiert. Die Berechnung des Hämatokrits erfolgte aus dem Produkt der Erythrozytenzahl pro *l* und dem mittleren korpuskulären Zellvolumen in *fl* (MCV = mean corpuscular volume). Die Bestimmung erfolgte aus Ethylendiamintetraessigsäure-(EDTA)-Blut (irreversible Kalziumkomplexierung zur Gerinnungshemmung) mit dem SE-9000 der Firma SYSMEX®.

Referenzbereich: Männer: 40 – 54% ; Frauen: 35 – 47%.

##### 3.4.1.2 Hämoglobin

Die Bestimmung erfolgte aus EDTA-Blut mit dem Gerät SE 9000 der Firma SYSMEX®. Dieses Gerät arbeitet nach dem Prinzip der Natriumlaurylsulfat-Hämoglobin-Methode (SLS-Methode). Nach Probenverdünnung und Erythrozytenhämolyse wandelte das Reagenz Sulfolyser das aus den Erythrozyten freigesetzte Hämoglobin in SLS-Hämoglobin um. Dieser Komplex absorbiert Licht mit einer Wellenlänge von 555 nm. Die nicht-absorbierte Lichtmenge war umgekehrt proportional zu der Hämoglobin-Konzentration. Ein Fotodetektor wandelte das Lichtsignal in ein elektrisches Signal um. Bei jeder Messung wurden Leerwert (Lichtabsorbierung bevor die Probe eingeleitet wurde) und Probenwert gemessen und nachfolgend voneinander subtrahiert. Die Differenz ergab die Hämoglobin-Konzentration.

Referenzbereiche: Männer: 8,60 – 11,1 *mmol/l* ; Frauen: 7,40 – 9,90 *mmol/l*.

#### 3.4.1.3 Leukozyten

Die Bestimmung erfolgte aus EDTA-Blut nach dem Impedanz-Prinzip mit dem Analyser SYSMEX® SE-9000. Die Probe wurde mit einer leitenden Flüssigkeit in einem festgelegten Verhältnis verdünnt. Die Leukozyten zeigen eine Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit und somit den elektrischen Widerstand gegenüber der Verdünnungslösung. Die Apparatur ist so angeordnet, dass die Leukozyten durch eine kleine Öffnung in eine Messkammer übertreten und dabei eine, ihrem Volumen entsprechende Menge Verdünnungslösung verdrängen. Das Volumen der gemessenen Zelle ist der von ihr erzeugten Spannungsänderung proportional.

Referenzbereich:  $3,80 - 9,80 \times 10^3 / \mu l$ .

#### 3.4.2 Parameter der Blutgasanalyse

Die nachfolgenden Parameter wurden direkt in der Rettungsstelle bzw. auf der Intensivstation aus heparinisiertem arteriellem Vollblut mittels einer Blutgasanalyse mit dem Gerät IL 35 Synthesis der Firma Instrumentation Laboratory® ermittelt.

##### 3.4.2.1 pH-Wert

Der pH-Wert ist als der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration definiert ( $pH = -\log[H^+]$ ). Er wurde nach dem Prinzip der Potentiometrie bestimmt. Die Außenseite einer für Wasserstoffionen sensitiven Glasmembran kommt mit dem Blut in Kontakt. An ihrer Innenseite befindet sich eine Lösung mit konstanter Wasserstoffionenkonzentration. Hier taucht die Ableitelektrode ein. Über die zur Referenzelektrode gemessene Potentialdifferenz kann die Wasserstoffionenkonzentration im Blut ermittelt werden.

Referenzbereich:  $7,35 - 7,45$ .

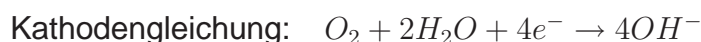
#### 3.4.2.2 Base Excess

Der BE ist definiert als Abweichung der normalen Basenkonzentration (48 mmol/l) der Extrazellulärflüssigkeit. Diese wird durch Titration mit starker Säure oder Base bis zum Endpunkt  $\text{pH} = 7,4$  unter Standardbedingungen ( $\text{pCO}_2 = 40 \text{ mmHg}$  bzw.  $5,33 \text{ kPa}$  und  $37^\circ\text{C}$ ) bestimmt.

Referenzbereich:  $-2,00$  bis  $+3,00 \text{ mmol/l}$ .

#### 3.4.2.3 arterieller Sauerstoffpartialdruck

Die Bestimmung basiert auf der amperometrischen Messung mit der Sauerstoffelektrode nach CLARK. Die Sauerstoffelektrode besteht aus einer Platinkathode und Silber- / Silberchlorid-Anode. Die Elektrode ist mit einer für Sauerstoffmoleküle durchlässigen Membran überzogen. Der durch diese Membran diffundierte Sauerstoff wird durch eine angelegte Reduktionsspannung reduziert:



Jedes Sauerstoffmolekül bindet vier Elektronen. Durch diesen Ladungsstromtransport zur Anode wird ein Stromfluss generiert, dessen Größe proportional zum Sauerstoffpartialdruck ist.

Referenzbereich:  $71 - 104 \text{ mmHg}$  bzw.  $9,5 - 13,9 \text{ kPa}$

#### 3.4.3 Stoffwechselfparameter und Elektrolyte

##### 3.4.3.1 Kreatinin

Die Bestimmung von Kreatinin aus Serum erfolgte durch die kinetische Methode nach JAFFÉ ohne Deproteinierung mit dem Gerät Hitachi 912. Die Absorptionsänderung durch Bildung eines Farbkomplexes von Kreatinin mit Pikrinsäure in alkalischer Lösung wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von  $570 \text{ nm}$  und einer Referenz-Wellenlänge von

505 nm gemessen. Zur Durchführung wurde ein kommerzielles Analyse System (SYS 1 Boehringer Mannheim) verwendet.

Referenzbereiche: Männer unter 30 Jahre: < 1,3 mg/dl bzw. < 115 mmol/l.  
Männer über 30 Jahre: < 1,4 mg/dl bzw. < 124 mmol/l.  
Frauen: < 1,1 mg/dl bzw. < 97 mmol/l.

#### 3.4.3.2 Kalium

Die Bestimmung erfolgte aus Serum mit dem Gerät BM Hitachi 912 nach der Methode der Kalium-selektiven Elektrode, welche auf folgendem Prinzip beruht: Das Potential einer Lösung wird durch eine Mess- und eine Referenzelektrode gemessen, die über eine leitende Brücke miteinander in Verbindung stehen. Während die Einstellung der Messelektrode so gewählt wird, dass sie proportional auf die Ionenaktivität des Kaliums anspricht, hält die Referenzelektrode immer eine konstante Spannung. Die Spitze der Messelektrode besteht aus einer für Kalium hochselektiven Valinomycinmembran (z.B. Kalium gegenüber Natrium 5000:1), durch welche bei Kontakt mit einer Kaliumlösung die  $K^+$ -Ionen wandern und das Potential verändern. Die Differenz zwischen dem neuen Oberflächenpotential der Messelektrode und dem konstanten Potential der Referenzelektrode ergibt die Spannungsänderung. Diese steht mit der Kaliumionenaktivität in einer logarithmischen Beziehung. In Abhängigkeit von einem Aktivitätskoeffizienten wird die Konzentration der Kaliumionen berechnet.

Referenzbereich: 3,5 – 5,0 mmol/l.

#### 3.4.3.3 Natrium

Die Bestimmung erfolgte aus dem Serum mit dem Gerät BM Hitachi 912 nach der Methode der Natrium-selektiven Elektrode (Prinzip der Methode siehe 3.4.3.2). Die Messelektrode besteht aus Lithium-Aluminiumsilikat und hat eine Selektivität für Natrium zu Kalium von 300:1.

Referenzbereich: 135 – 145 mmol/l.

### 3.4.4 Klinische Parameter

#### 3.4.4.1 Temperatur

Die Körpertemperatur wurde mit einer transurethralen Sonde (Modell Curity Thermistor YSI 400 der Firma Kendall) nach dem Widerstandsmessprinzip mit dem Gerät Siemens SC 9000 ermittelt. Es wurden für den jeweiligen Tag die minimale und maximale Temperatur dokumentiert.

#### 3.4.4.2 Kreislaufparameter

Die Parameter Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und zentralvenöser Druck (ZVD) wurden zu den entsprechenden Zeitpunkten gemäß internationalen Standards bestimmt. Ab dem zweiten Tag wurden aus den intensivmedizinischen Dokumentationen Minimum und Maximum der Herzfrequenz verwendet. Für den Blutdruck und ZVD wurde jeweils der niedrigste Wert dokumentiert. Der systolische Blutdruck wurde mit einer vollautomatischen Blutdruckmanschette oder intraarteriell mit einem Katheter gemessen. Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wurde über folgende Formel bestimmt:

$$MAP = \text{diastolischer Blutdruck} + \frac{1}{3} \text{ der Blutdruckamplitude}$$

Der ZVD wurde über einen Zentralen Venenkatheter (ZVK), der am Eingang des rechten Herzvorhofs lag, mit einer Drucksonde gemessen. Das Gerät Siemens SC 9000 wandelte den gemessenen Druck in ein elektrisches Signal um.

#### 3.4.4.3 Beatmungsparameter

Zu den angegebenen Zeitpunkten wurden die Atemfrequenz, der endexpiratorische Druck (PEEP), die Sauerstofffraktion ( $F_iO_2$ , prozentualer Sauerstoffanteil in der inspiratorischen Luft) direkt von den Digitalanzeigen der Beatmungsgeräte dokumentiert. Ab dem zweiten Tag wurde für die Atemfrequenz jeweils der schlechteste (höchste) Wert des Tages den Berechnungen zugrunde gelegt. Der PEEP wurde im Expirationszweig des Beatmungsgerätes Siemens SC 9000 manometrisch bestimmt.

#### 3.4.4.4 Glasgow-Coma-Scale

Die Glasgow-Coma-Scale (GCS) wurde 1974 von TAESDALE und JENNETT vorgeschlagen [144]. Seitdem ist sie der, in der klinischen Anwendung gebräuchlichste, Score zur Beurteilung von Bewusstseinslage und Vigilanzstörungen. Die Reaktionen von drei Kategorien werden in einer Punkteskala festgehalten, deren Summe als schlechtesten Wert 3 und als besten Wert 15 annehmen kann (siehe Tabelle 3.1). Der GCS-Wert geht in die Berechnung des APACHE II-Scores ein. Ab einem Wert < 9 besteht nach internationalen ACLS-Richtlinien die Notwendigkeit der Intubation.

WERT	AUGEN ÖFFNEN	MOTORISCHE REAKTION	VERBALE REAKTION
6	-	kommt Aufforderungen nach	-
5	-	gezielte Abwehr (Schmerzreiz)	orientiert
4	spontan	ungezielte Abwehr (Schmerzreiz)	teilweise orientiert
3	auf Ansprache	Beugesynergismen (Schmerzreiz)	inadäquate Antwort
2	auf Schmerzreiz	Strecksynergismen (Schmerzreiz)	unverständliche Laute
1	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion

Tabelle 3.1: Glasgow-Coma-Scale nach TAESDALE und JENNETT [144]

### 3.5 Gewinnung der Vollblut- und Plasmaproben

Den Patienten wurde initial im Schockraum vor einer eventuellen Transfusion von Fremdblutbestandteilen 1 ml Vollblut entnommen. Das Vollblut wurde zur späteren Analyse bei -80° C eingefroren.

Danach wurde innerhalb von 30 Minuten nach Eintreffen in den Schockraum, gegebenenfalls intraoperativ, 6 Stunden, 12 Stunden und 18 Stunden nach der primären operativen Versorgung bzw. Aufnahme auf die Intensivstation sowie an den darauffolgenden Tagen einmal täglich EDTA-Blut abgenommen. Unmittelbar nach der Entnahme wurde das Blut im Zentrallabor bei 4° C und 2500 G zentrifugiert. Die korpuskulären Bestandteile wurden verworfen. Das Plasma wurde ebenfalls bei -80° C eingefroren und für weitere Analysen gelagert.



## 3.6 Verwendete Scoresysteme

Drei verschiedene international gültige Scoringsysteme wurden zur weiteren Klassifikation der Verletzungsschwere der Patienten verwendet. Zur Einschätzung der anatomischen Verletzungsschwere dienen die Abbreviated Injury Scale (AIS) und der Injury Severity Score (ISS). Zur Beurteilung der initialen physiologischen Traumabelastungen wurde der Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE II) verwendet.

### 3.6.1 Abbreviated Injury Scale und Injury Severity Score

Die „Abbreviated Injury Scale“ (AIS) wurde 1971 als ein anatomisches Klassifikationssystem von Verletzungen durch das „Committee on Medical Aspects of Automotive Safety“ entwickelt [68]. 1990 und 1998 erfolgten Revisionen [2, 74]. Die einzelnen Verletzungen werden neun Körperregionen zugeordnet. Die Einteilung der Verletzungsschwere erfolgt in die Schweregrade 1 (leichte Verletzung) bis 6 (nicht mit dem Leben vereinbare Verletzung), welche entsprechenden Tabellen zu entnehmen sind. Diese neun Regionen sind im Folgenden aufgelistet:

- Verletzungen des Kopfes
- Verletzungen des Gesichtes
- Verletzungen des Halses
- Verletzungen des Thorax
- Verletzungen des Abdomens
- Verletzungen der Wirbelsäule
- Verletzungen der oberen Extremität
- Verletzungen der unteren Extremität
- Unspezifizierte Verletzungen

Der „Injury Severity Score“ (ISS) wurde 1974 von BAKER et al. publiziert [8]. Er stellt die international anerkannteste Einteilung von Verletzungsschweregraden dar. Beim ISS

werden die Verletzungen 6 Körperregionen zugeordnet, die nicht mit den in der AIS definierten Körperregionen übereinstimmen:

- Kopf und Hals
- Gesicht
- Thorax (knöcherner Brustkorb mit Organen)
- Abdomen (Bauchorgane)
- Extremitäten (mit Becken- und Schultergürtel)
- äußere Verletzungen

Die Wirbelsäulenverletzungen werden jeweils den entsprechenden Regionen zugeteilt. Zur Berechnung des ISS werden jeweils der höchste AIS-Schweregrad jeder Region ermittelt und die Quadrate der drei größten AIS-Werte addiert.

$$ISS = AIS_{Region1}^2 + AIS_{Region2}^2 + AIS_{Region3}^2$$

Wenn eine Verletzung in einer Region dem AIS-Schweregrad 6 entspricht, nimmt der ISS definitionsgemäß den Höchstwert 75 an, da die Schwere einer solchen Verletzung nach der AIS-Definition nicht mit dem Leben vereinbar ist. Durch den ISS soll eine Abschätzung der Mortalität auf Grund des anatomischen Verletzungsgrades des schwerverletzten Patienten ermöglicht werden.

Grundlage für die Beurteilung der Verletzungen des Patientenkollektivs waren die klinischen und radiologischen Befunde (CT, Sonographie und konventionelle Röntgenuntersuchungen), die initial im Schockraum oder im weiteren Verlauf erhoben wurden.

#### **3.6.2 Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II**

Der Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE-II-Score) wurde von KNAUS et al. 1985 publiziert [70]. Er dient zur Beurteilung der physiologischen Krankheitsschwere von Intensivpatienten ungeachtet der Genese für die Notwendigkeit der Intensivtherapie. In die Bewertung gehen Punkte aus 3 Bereichen ein: 12 physiologische Parameter (Acute Physiology Score), Altersparameter (Altersscore) sowie chronische Vorerkrankungen (Chronic Health Score). Der physiologische Score besteht aus

Parameter	Punkte nach oben abweichend					Punkte nach unten abweichend			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temp. in °C	≥41	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	≤29,9
MAD <sub>mmHg</sub>	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
HF <sub>min</sub>	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
AF <sub>min</sub>	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
AaDO <sub>2</sub> (mmHg) (F <sub>i</sub> O <sub>2</sub> ≥ 0.5) P <sub>a</sub> O <sub>2</sub> (mmHg) (F <sub>i</sub> O <sub>2</sub> < 0.5)	≥500	350-499	200-349		<200 >70	61-70		55-60	<55
arterieller pH	≥7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	<7,15
Serum-Natrium <sub>mmol/l</sub>	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
Serum-Kalium <sub>mmol/l</sub>	≥7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		<2,5
Serum-Kreatinin <sub>mg/dl</sub>	≥3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
Hämatokrit %	≥60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		<20
Leukozyten 1000/mm <sup>3</sup>	≥40		20-39,9	15,0-19,9	3-14,9		1-2,9		<1
GCS als Punktwert	Differenz aus 15 und dem aktuellen GCS-Wert								

Tabelle 3.2: physiologische Parameter des APACHE II Score

12 Kategorien, die in Tabelle 3.2 dargestellt sind. Die Punkte für den Kreatininspiegel werden bei erworbenen akuten Nierenversagen verdoppelt.

Punkte für das Alter berechnen sich wie in Tabelle 3.3 dargestellt.

In die Bewertung des Chronic Health Scores gehen der operative Status und ggf. vor der Krankenhausbehandlung bekannte chronische Vorerkrankungen sowie das Vorhandensein einer Immunschwäche bzw. Immunsuppression ein (siehe Tabelle 3.4). Als schwere Organinsuffizienz der Leber werden eine gesicherte Leberzirrhose, ein porta-

Alter in Jahren	≤ 44	45-54	55-64	65-74	≥ 75
Punkte	0	2	3	5	6

Tabelle 3.3: Altersparameter des APACHE II Score

<b>Operativer Status</b>	<b>Gesundheitsstatus</b>	<b>Punkte</b>
nicht operiert	Schwere Organinsuffizienz oder Immunschwäche	+5
	Keine Vorerkrankung	0
nach Notfalloperation	Schwere Organinsuffizienz oder Immunschwäche	+5
	Keine Vorerkrankung	0
nach Elektiveingriff	Schwere Organinsuffizienz oder Immunschwäche	+2
	Keine Vorerkrankung	0

Tabelle 3.4: Chronic Health Score des APACHE II Score

ler Hypertonus oder ein hepatisches Koma gewertet. Für das Herz-Kreislauf-System gilt eine Herzinsuffizienz im Stadium IV nach NYHA und für das respiratorische System eine schwere chronisch-obstruktive Atemwegserkrankung oder eine schwere pulmonale Hypertension als schwere Organinsuffizienz. Eine dialysepflichtige chronische Niereninsuffizienz wird als schwere Organinsuffizienz des renalen Systems betrachtet.

Die Punkte der 3 Kategorien werden zusammengezählt und ergeben den APACHE II Score. Je höher der Punktwert des APACHE II Score ist, desto schwerer sind die Organdysfunktionen (Range 0 - 71).

In der vorliegenden Studie wurden die bei Aufnahme im Schockraum erhobenen Werte für die Berechnung verwendet.

### 3.7 Definition der prätraumatischen Vorerkrankungen

Die Patienten wurden bei Erlangung des Bewusstseins und Erinnerungsvermögens in Form einer Kurzanamnese systematisch und gezielt nach renalen, hepatischen, pulmonalen, kardiovaskulären, cerebralen, metabolischen und muskuloskelettalen Vorerkrankungen exploriert. Zusätzlich wurden die Patienten nach Infektions- und Suchterkrankungen (Nikotin-, Alkohol- und Drogenabusus) und einer prätraumatisch bestehenden Medikation befragt. Alle Vorerkrankungen wurden nach dem internationalen Standard der World Health Organisation (WHO) definiert. Wenn die Erhebung einer Eigenanamnese unmöglich war, wurden der behandelnde Hausarzt bzw. die Angehörigen befragt.

Die Vorerkrankungen wurden ohne Verwendung des Patientennamens auf einem separaten Dokumentationsbogen erfasst. Die Zuordnung erfolgte wiederum über eine anonyme Kennziffer.

## 3.8 Bestimmung der Promotorpolymorphismen -597 und -1087

Die DNA wurde aus Vollblut gewonnen. Nach der Isolierung wurde die gewonnene DNA mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion exponentiell vermehrt (amplifiziert). Anschließend wurden die Nukleinsäuren dieser sogenannten Amplimere mit Restriktionsendonukleasen, die spezifische Sequenzen in Nukleinsäuren erkennen, an definierten Stellen gespalten. Durch Polymorphismen in den Nukleinsäuresträngen sind diese spezifischen Sequenzen jedoch so verändert, dass sie unterschiedlich gespalten werden, deshalb entstehen Fragmente unterschiedlicher Länge. Dies wird als Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) bezeichnet. Die Restriktionsfragmente wurden in einer Agarosegel-Elektrophorese aufgetrennt und angefärbt. Die Größe der Fragmente erlaubt dann Rückschlüsse über den jeweiligen Genotyp.

### 3.8.1 Isolierung der DNA

Die DNA wurde aus arteriellem oder zentralvenösem EDTA-Vollblut mit Hilfe eines kommerziellen Kits (QIAamp DNA Blood Mini Kit, QIAGEN, Hilden, Germany) wie folgt isoliert:

- 200  $\mu\text{l}$  des bei  $-80^{\circ}\text{C}$  tiefgefrorenen EDTA-Blutes wurden bei  $22^{\circ}\text{C}$  (Zimmertemperatur) aufgetaut und die darin enthaltenden Zellen durch Versetzung mit 200  $\mu\text{l}$  Lysispuffer lysiert.
- Da Nukleinsäuren immer als Komplexe mit Proteinen vorliegen, wurden zusätzlich 20  $\mu\text{l}$  Qiagen Protease zupipettiert.
- 10 minütige Inkubation im Wasserbad bei  $56^{\circ}\text{C}$  und anschließende Zugabe von 200  $\mu\text{l}$  100% igem Ethanol zur Ausfällung der Proteine.
- Durchmischen der Lösung und Übertragen auf die QIAamp Spin Column.

- 1 Minute Zentrifugation bei 8000 Rpm.
- 1. Waschschrift: Zugabe von 500  $\mu\text{l}$  Puffer AW1 und erneut 1 Minute Zentrifugation bei 8000 Rpm
- 2. Waschschrift: Zugabe von 500  $\mu\text{l}$  Puffer AW2 und 3 Minuten Zentrifugation bei 14000 Rpm
- Eluierung der doppelsträngigen DNA aus der Säule durch einminütige Zentrifugation bei 8000 Rpm nach Hinzufügen von 200  $\mu\text{l}$  Puffer AE und einminütiger Inkubation.

Die Extinktion dieses gewonnenen Eluats wurde photometrisch bei 260 nm gemessen und anhand folgender Formel konnte die DNA-Konzentration bestimmt werden:

$$\text{DNA - Konzentration} = \frac{OD_{260} \times 50 \times \text{Verduennung}}{100}$$

#### 3.8.2 Amplifizierung der DNA - Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaktion, PCR) ist eine in mehreren Zyklen ablaufende Methode zur exponentiellen Amplifizierung von Nukleinsäure-Fragmenten um den Faktor bis zu  $10^6$ . Die Vermehrung der isolierten DNA ist notwendig, weil der ursprüngliche Gehalt für eine molekularbiologische Diagnostik nicht ausreichend ist. Dieses Verfahren wurde 1987 von MULLIS und FALOONA veröffentlicht und ist heute die in klinischen Laboratorien verbreitetste Amplifikationstechnik [97]. Der gesamte Ablauf beinhaltet einen Denaturierungsschritt, die Anlagerung (Hybridisierung) der Primer (Annealing) und die Verlängerung des Primers (Extension). Die genaue Methodik war folgende:

- Jeder Reaktionsansatz enthält (siehe auch Tabelle 3.6 und 3.7) die zu amplifizierende DNA, Oligonukleotide (Primer), Dinukleotide und thermostabile DNA-Polymerase (Taq-Polymerase, aus dem thermophilen Mikroorganismus *Thermus aquaticus*).

SNP		Sequenz	Fragmentgröße	Gendatenbank Nr.	Bindungsstellen
-597	vorwärts	5' GGT GAG CAC TAC CTG ACT AGC 3'	412bp	gi14625939 Position 8700	(8524- 8544)
	rückwärts	5' CCT AGG TCA CAG TGA CGT GG 3'			(8935- 8916)
-1087	vorwärts	5' CTC GCC GCA ACC CAA CTG GC 3'	326bp	gi14635939 Position 8211	(8099- 8118)
	rückwärts	5' GCT TCT GTG GCT GGA GTC 3'			(8342- 8325)

Tabelle 3.5: Sequenzen der Primer, Fragmentgröße, Gendatenbank-Nr. und Bindungsstellen

- Denaturierung: Die DNA-Doppelstränge wurden initial denaturiert, d.h. durch thermische Energie (Erhitzen auf 94°C für 5 Minuten) reversibel in ihre Einzelstränge zerlegt.
- Annealing: Durch eine Abkühlung auf 55°C für 30 Sekunden konnten die, aus 21 bzw. 20 und 20 bzw. 18 Basen bestehenden Primer (siehe Tabelle 3.5), schneller hybridisiert werden, als die DNA-Einzelstränge wieder renaturieren. Die Primer sind der Sequenz am 5' Ende komplementär.
- Extension: Durch Erwärmung auf 72°C für 1,5 Minuten wurden, durch Katalyse der Taq-Polymerase, die Einzelstränge mittels Veresterung der freien Dinukleotide zu Doppelsträngen komplementiert.
- Dieser Vorgang wurde 36 mal wiederholt. Da die neusynthetisierten Stücke bei jedem folgenden Zyklus als zusätzliches Ausgangsmaterial dienen, ist der theoretische Amplifikationsfaktor  $2^{36}$ . Die wiederholten Denaturierungen erfolgten hierbei jedoch nur bei 94°C und nur für 30 Sekunden.
- Nach dem letzten Zyklus Inkubation für 10 Minuten bei 72°C.

Für die Polymerasekettenreaktion wurde ein Gerät der Firma BIOMETRA, Göttingen, vom Typ Thermocycler Whatman Biometra T Gradient genutzt, welches das oben genannte Verfahren automatisiert anwendet. Dieses Gerät ist in der Lage, 96 Reaktionsansätze einer Mikrotiterplatte (Whatman Biometra, Göttingen) nach oben erklärtem

Bestandteil	Hersteller bzw. Konzentration	Menge
Taq-Master-Mix	(QIAGEN, Hilden)	4,5 $\mu$ l
Wasser, PCR-grade	(QIAGEN, Hilden)	1,5 $\mu$ l
DNA	50 ng/ $\mu$ l	2,0 $\mu$ l
Vorwärts- und Rückwärtsprimer	10 pmol/ $\mu$ l	1,0 $\mu$ l
Summe		9,0 $\mu$ l

Tabelle 3.6: Reaktionsansatz für die PCR des IL-10-597

Bestandteil	Hersteller bzw. Konzentration	Menge
Taq-Master-Mix	(QIAGEN, Hilden)	4,0 $\mu$ l
Wasser, PCR-grade	(QIAGEN, Hilden)	1,5 $\mu$ l
DNA	50 ng/ $\mu$ l	2,5 $\mu$ l
Vorwärts- und Rückwärtsprimer	10 pmol/ $\mu$ l	1,5 $\mu$ l
Summe		8,0 $\mu$ l

Tabelle 3.7: Reaktionsansatz für die PCR des IL-10-1087

Prinzip zu amplifizieren. Diese Mikrotiterplatte wurde mit einer Silikonabdeckung (Nr. 050-237, Whatman Biometra, Göttingen) versiegelt. Um eine Kontamination der Proben mit Fremd-DNA zu vermeiden, wurden autoklavierte Materialien benutzt sowie die Vorbereitung der Proben und die PCR in verschiedenen Räumen durchgeführt. Als Kontaminationskontrolle wurden bei jedem PCR-Ansatz als Leerwerte Ansätze ohne DNA mitgeführt. Die verwendeten Reagenzien sind in den Tabellen 3.6 und 3.7 beschrieben.

### 3.8.3 Restriktionsverdau der Amplimere

Die durch die PCR erzeugten Amplimere enthalten die nachzuweisenden Polymorphismen (-597: C  $\rightarrow$  A und -1087: G  $\rightarrow$  A). Je nach vorhandenem Allel sind Sequenzen vorhanden, die von Restriktionsendonukleasen identifiziert und in sogenannte Restriktionsfragmente gespalten worden sind oder nicht. Zusätzlich zu jedem Restriktionsverdau wurden Kontrollen durchgeführt.

#### 3.8.3.1 Verdau mit RSA I (Polymorphismus -597)

Der Reaktionsansatz bestand aus den Amplimeren, dem Restriktionsenzym RSA I, dem Puffer Y+ und nukleasefreiem Wasser (sämtliche Reagenzien Firma Fermentas, Deutsch-



land). Für den Verdau wurde der Reaktionsansatz, in einer mit einer Silikonabdeckung (Nr. 050-237, Fa. Whatman Biometra, Göttingen) versehenen Mikrotiterplatte mit 96 Wells (Whatman Biometra, Göttingen) über 24 Stunden bei 37°C in einem Memmert-Brutschrank inkubiert. Wenn das Allel A an -597 vorhanden war, wurde diese Sequenz von RSA I erkannt und die 412 Basenpaare langen Amplimere in zwei Fragmente von 176 und 236 Basen gespalten.

#### **3.8.3.2 Verdau durch Mnl I (Polymorphismus -1087)**

Der Reaktionsansatz ist bis auf die Verwendung des Puffers G+ (Firma Fermentas, Deutschland) analog zu den o.g. Ausführungen für den Polymorphismus -597. Wenn das 326 Basenpaare lange Fragment das Allel G an -1087 enthielt, wurde diese Sequenz von Mnl I identifiziert und in zwei Fragmente gespalten.

#### **3.8.4 Auftrennung der Restriktionsfragmente / Agarosegel-Elektrophorese**

Die Größe der Restriktionsfragmente gibt Auskunft über die Alleltypen. Um die Größe (Anzahl der Basenpaare) der Fragmente zu bestimmen, wurden diese entsprechend ihrer Größe elektrophoretisch aufgetrennt. Als Trägermaterial wurde Agarosegel, ein pflanzliches Polysaccharid mit netzähnlichen Strukturen, verwendet. Die Restriktionsfragmente wurden in die Taschen an der Kathode pipettiert. Die DNA-Moleküle wanderten dann entsprechend ihrer Größe in Richtung der Anode. Je niedriger ihr Molekulargewicht war, desto schneller näherten sie sich der Anode. Um die so entstehenden DNA-Banden sichtbar zu machen, wurden sie mit Ethidiumbromid (1 µg/ml), einem Farbstoff der unter UV-Licht fluoresziert, angefärbt. Pro Spur entstanden drei Banden, wenn die Proben einen heterozygoten Genotyp hatten, und entsprechend nur eine oder zwei Banden bei einem homozygoten Genotyp. Die Elektrophorese erfolgte mit einem Gel-elektrophoresegerät, dessen Daten in der Tabelle 3.8 aufgeführt sind.

	<b>Bezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>
Stromquelle	Power Pack 300	(Fa. Bio-Rad, USA)
Pufferkammer	Sub-Cell-GT Wide Mini	(Fa. Bio-Rad, USA)
Gelwanne	Sub-Cell-GT Wide Mini	(Fa. Bio-Rad, USA)
Kamm	Sub-Cell-GT Wide Mini, 20 Zähne	(Fa. Bio-Rad, USA)

Tabelle 3.8: Daten des Elektrophoresegeräts

### 3.8.4.1 Photodokumentation

Die Darstellung der Banden auf dem Agarosegel erfolgte unter UV-Licht (Gerät: Cross-linker Typ CL 1, Fa. Biometra, Göttingen) mit einem MP4+ Instant Camera System (Fa. Bacher, Reutlingen). Die Blendeneinstellung betrug 4,5 und die Belichtungszeit eine Sekunde. Als Film wurde ein Polaroid Instant Pack Film 8,5 x 10,8 cm T 667 (Fa. Polaroid U.K. Ltd., Wheathampstead, England) benutzt.

## 3.9 Statistische Analyse

Die Berechnungen der statistischen Analyse wurde mit dem Programm SPSS für Windows Version 10.0<sup>®</sup> (SPSS, München, Deutschland) durchgeführt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant angenommen. Im Folgenden werden die verwendeten statistischen Verfahren und ihre Besonderheiten kurz erläutert.

### 3.9.1 Häufigkeitsanalyse

Ein Merkmal  $A$  hat verschiedene Ausprägungen  $(A_1, \dots, A_k)$ . Die absolute Häufigkeit einer Ausprägung  $A_i$  wird als  $n_i$  bezeichnet. Die absolute Häufigkeit  $n_i$  ist also die tatsächliche Häufigkeit, mit der ein Merkmal beobachtet wurde. Die Summe aller absoluten Häufigkeiten entspricht dem Stichprobenumfang  $n$ . Unter der relativen Häufigkeit  $h_i$  einer Merkmalsausprägung  $A_i$  versteht man den Quotienten aus der absoluten Häufigkeit  $n_i$  und dem Stichprobenumfang  $n$ .

$$h_i = \frac{n_i}{n}$$

Die Summe der relativen Häufigkeiten ist 1.

### 3.9.2 Berechnung des Mittelwertes (arithmetisches Mittel)

Der Mittelwert (arithmetisches Mittel, Durchschnitt) wird mit  $\bar{x}$  bezeichnet. Zu seiner Berechnung werden alle Stichprobenwerte addiert und deren Summe durch den Stichprobenumfang  $n$  dividiert.

### 3.9.3 Berechnung der Standardabweichung (standard deviation)

Zunächst wird die Varianz der Stichprobe berechnet, indem man die Summe der Abstandsquadrate vom Mittelwert durch den um 1 verminderten Stichprobenumfang  $n$  dividiert. Die Stichprobenvarianz spiegelt aber noch nicht die Varianz der Grundgesamtheit wieder, deshalb verwendet man eine empirische Formel:

$$Var = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n\bar{x}^2}{n - 1}$$

Die Wurzel aus der Varianz ergibt die Standardabweichung ( $\sigma$ , SD). Die Standardabweichung kann nur bei quantitativen Merkmalen berechnet werden. Sie ist ein Maß für die Heterogenität bzw. Homogenität der Gruppe. Je kleiner ihr Wert, desto homogener ist die Gruppe. Sie erlaubt folgende Interpretationen:

- ca. 68,26% aller Werte liegen zwischen  $\bar{x} - 1\sigma$  und  $\bar{x} + 1\sigma$
- ca. 95% aller Werte liegen zwischen  $\bar{x} - 2\sigma$  und  $\bar{x} + 2\sigma$

### 3.9.4 Chi<sup>2</sup>-Test ( $\chi^2$ -Test) und FISHERs exakter Test

Tests auf signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen  $A$  und  $\bar{A}$  mit zwei nominal skalierten Alternativmerkmalen  $B$  und  $\bar{B}$  wurden mit dem  $Chi^2$ -Test bzw. im Falle einer erwarteten Häufigkeit von weniger als fünf mit dem exakten Test nach FISHER bestimmt. Die Kombinationsmöglichkeiten der Ausprägungen mit den Häufigkeiten  $a$ ,  $b$ ,  $c$  und  $d$  lassen sich in einer Vierfeldertafel darstellen:

	<b>A</b>	<b><math>\bar{A}</math></b>	<b>Randsummen</b>
<b>B</b>	$a$	$b$	$n_1 = a + b$
<b><math>\bar{B}</math></b>	$c$	$d$	$n_2 = c + d$
<b>Randsummen</b>	$a + c$	$b + d$	$n = a + b + c + d$

Tabelle 3.9: Vierfeldertafel für den  $\chi^2$ -Test

Unter der Nullhypothese  $H_0$  sind die relevanten Ereignisse der Prüfgrößen ohne Zusammenhang und unabhängig voneinander. Die Wahrscheinlichkeit ihres Zutreffens wird aus den relativen Häufigkeiten geschätzt. Es gilt annähernd die folgende Gleichung, die nach Umstellung für die erwartete Häufigkeit für das Ereignis  $a$  unter Annahme der Nullhypothese wie folgt aussieht:

$$\frac{a}{a+b} = \frac{a+c}{n} \quad \text{Umstellung nach a:} \quad a = \frac{(a+b)(a+c)}{n}$$

Analog lassen sich mit Hilfe der Randsummen auch die Wahrscheinlichkeiten für die unter  $H_0$  erwarteten Häufigkeiten für  $b$ ,  $c$  und  $d$  berechnen. Der Chi<sup>2</sup>-Test vergleicht nun die beobachteten Häufigkeiten ( $B$ )  $a$ ,  $b$ ,  $c$  und  $d$  mit den Häufigkeiten, die unter der Nullhypothese zu erwarten sind ( $E$ ). Man erhält also für jedes der vier Ereignisse einen Quotienten. Aus der Summe dieser vier Quotienten wird die Prüfgröße  $\chi^2$  gebildet. Sie ist umso größer, je mehr die beobachteten Häufigkeiten von den erwarteten Häufigkeiten abweichen. Die Prüfgröße  $\chi^2$  wird jetzt mit dem Wert, einer nach Signifikanzniveau und Stichprobenumfang adjustierten, Testprüfgröße verglichen. Wenn  $\chi^2$  größer ist als die Testprüfgröße, wird die Nullhypothese abgelehnt.

Fishers exakter Test stellt eine Alternative für den  $\chi^2$ -Test dar, wenn eine erwartete Häufigkeit kleiner als fünf ist. Die Vierfeldertafel wird dann so angeordnet, dass die kleinste erwartete Häufigkeit oben links steht. Sie ist dann die Häufigkeit  $a$ . Die Wahrscheinlichkeit für diese Situation berechnet sich dann wie folgt:

$$P_i = \frac{(a+d)! (c+d)! (a+c)! (c+d)!}{n! a! b! c! d!}$$

Wenn diese Wahrscheinlichkeit größer ist als  $\alpha$ , wird der Test beendet und die Nullhypothese beibehalten.

#### 3.9.5 Kruskal-Wallis-Test

Bei unverbundenen Stichproben mit mehr als zwei metrisch skalierten Merkmalen wurde für deren Vergleich der Kruskal-Wallis-Test verwendet.

#### 3.9.6 KAPLAN-MEIER-Überlebensschätzer

Die Methode wurde 1958 von E.M. KAPLAN und P. MEIER vorgeschlagen [66]. Sie ist der gebräuchlichste Schätzer für Überlebenszeiten. Ihre Anwendung ist jedoch nicht auf Berechnungen von Überlebenszeiten begrenzt. Prinzipiell kann diese Methode immer dann angewendet werden, wenn das kritische Endereignis auf Grund eines anderen, völlig unabhängigen Ereignisses nicht exakt ermittelt werden kann. Die Ursachen dafür können vielfältig sein, sei es das vorzeitige Ausscheiden aus einer Studie auf Grund der Verweigerung der weiteren Teilnahme oder aber das *Versterben vor dem erwarteten Ereignis*. Für diese Fälle lässt sich für die Überlebenszeit nur eine untere Schranke angeben, die mindestens überlebt bzw. erreicht wurde. Man spricht dann von *zensierten Daten*. In der vorliegenden Untersuchung wurde als kritisches Ereignis das Auftreten einer Sepsis definiert. Zensiert wurden jene Patienten, die ohne die Entwicklung einer Sepsis verstarben. Am 40. Tag wurde für die statistische Auswertung der Beobachtungszeitraum beendet. Daher wurden zu diesem Zeitpunkt zusätzlich zu den bereits ohne septisches Krankheitsbild Verstorbenen auch all jene Patienten zensiert, die kein kritisches Endereignis aufwiesen. Zensierte Daten sind bei der Auswertung problematisch, weil man nicht beurteilen kann, ob das Endereignis bei weiterer Beobachtung eingetreten wäre. Ziel der KAPLAN-MEIER-Methode ist es, diese zensierten Daten nicht vollständig aus der Analyse zu eliminieren, da dies zu verzerrten Ergebnissen führen könnte und den Stichprobenumfang stark reduzieren würde. Unter Berücksichtigung des Aspektes, dass schwerstverletzte Patienten hochgefährdet sind, aus anderen Gründen als denen einer Sepsis zu versterben, konnten in die vorliegende Arbeit mit Hilfe dieses Rechen-

verfahrens auch die Patienten einbezogen werden, die verstarben, bevor sie womöglich eine Sepsis entwickelt hätten. Eine KAPLAN-MEIER-Kurve wird wie folgt aufgestellt:

- Für alle kritischen Endereignisse werden die Zeitpunkte  $t_x$  bestimmt, an denen sie eingetreten sind. Sie werden nach aufsteigender Reihenfolge sortiert.
- Für die zensierten Beobachtungen  $z$  müssen ebenfalls die Zeitpunkte bekannt sein, an denen sie aus der Untersuchung ausgeschieden sind. Sie werden später in der graphischen Darstellung mit einem „+“-Zeichen gekennzeichnet.
- Anschließend werden diese Werte in eine Tabelle nach folgendem Muster übertragen (siehe Tabelle 3.10, Zahlenwerte der Tabelle sind fiktiv)
- Die Berechnung startet zu dem Zeitpunkt  $t_0$ . Beim Start der Berechnung werden  $n$  Patienten berücksichtigt.
- Bei den nächstfolgenden Zeitpunkten  $t_x$  können nur noch die Patienten  $n(t_x)$  in die Berechnung eingehen, welche nicht zensiert wurden und noch kein kritisches Endereignis aufwiesen. Deshalb werden vom Patientenstamm des vorherigen Zeitpunktes die zu diesem Zeitpunkt zensierten und eingetretenen Ereignisse subtrahiert.
- Die Wahrscheinlichkeit  $Q(t_x)$  ist jene Wahrscheinlichkeit, für einen Patienten einen Zeitpunkt  $t_x$  zu erleben, wenn der vorherige Zeitpunkt  $t_{x-1}$  bereits erlebt wurde.
- $P(t_x)$  ist die kumulative Wahrscheinlichkeit für einen Patienten, von Beobachtungsbeginn an berechnet, einen Zeitpunkt  $t_x$  zu erleben. Sie errechnet sich aus dem Produkt der bisher ermittelten Wahrscheinlichkeiten  $Q(t_x)$ .
- Für die graphische Darstellung werden die Überlebenszeit in absteigender Sortierung auf der Abszisse (x-Achse) und die Wahrscheinlichkeit  $P(t_x)$  auf der Ordinate (y-Achse) aufgetragen. Bei den graphischen Darstellungen dieser Studie wurde  $1 - P(t_x)$  auf der Ordinate aufgetragen, da die mit der Zeit zunehmende Wahrscheinlichkeit des Eintretens des kritischen Ereignisses Sepsis demonstriert werden soll, und nicht die abnehmende Wahrscheinlichkeit für das nicht Eintreten

$t_x$ (in Tagen)	$z$	$b$	$n(t_x) = n(t_{x-1}) - b(t_{x-1}) - z(t_{x-1})$	$Q(t_x) = 1 - \frac{b}{n}$	$P(t_x) = Q(t_x) \cdot Q(t_{x_1}) \cdot \dots \cdot Q(t_1)$ oder $P(t_x) = Q(t_x) \cdot P(t-1)$
0	0	0	119	1	1
1	2	0	119	1	1
2	3	1	117	0,9915	0,9915
3	1	3	113	0,9735	0,9651
4	1	4	109	0,9633	0,9297
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.

Tabelle 3.10: Mustertabelle zur Erstellung einer KAPLAN-MEIER-Berechnung

(Überleben ohne Sepsis). Auf den so entstandenen Linien zeigen „+“-Zeichen die Beobachtungen mit den zensierten Ereignissen an, die den eigentlichen Kurvenverlauf nicht beeinflussen.

### 3.9.7 Log-Rank-Test

Für den Vergleich der KAPLAN-MEIER-Analyse zweier Gruppen nutzt man den Log-Rank-Test nach PETO und PETO [111]. Der komplexe mathematische Hintergrund dieses Verfahrens ist in der angegebenen Literaturquelle beschrieben. Letztendlich werden bei beiden Gruppen für die beobachteten Ereignissen durch aufwendige Berechnungen die Erwartungswerte  $E$  für die Zielereignisse zu jedem Zeitpunkt  $t_x$  bestimmt. So erhält man auch bei dem Log-Rank-Test zwei  $\chi^2$ -Werte. Für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  beträgt der kritische Wert analog zum  $\chi^2$ -Test 3,481. Bei dessen Überschreitung kann die Nullhypothese verworfen werden.

### 3.9.8 Multiple Regressionsanalyse - COX-Regressionsanalyse und Bonferroni-Korrektur

Die im Vordergrund stehenden Variablen bei der KAPLAN-MEIER-Analyse in Bezug zum Eintreten des kritischen Ereignisses Sepsis waren die Allel- bzw. Genotypen. Vermutlich existieren aber auch andere, unabhängige Variablen (Kovariaten), die aller Wahrscheinlichkeit nach Einfluss auf das Auftreten einer Sepsis haben. Der Einfluss dieser Kovaria-

ten wurde mit der COX-Regressionsanalyse untersucht [26]. Nachdem die in Frage kommenden Variablen in einer univariaten Analyse sich als signifikante Faktoren erwiesen, wurden in der COX-Regressionsanalyse nun Schritt für Schritt die Variablen eliminiert, die keine prognostische Bedeutung haben.

Die Bonferroni-Korrektur ist eine Methode zur Verhinderung einer Kumulierung des  $\alpha$ -Fehlers. Das globale  $\alpha$ -Niveau der multiplen Testung wird zu gleichen Teilen auf die Einzeltests verteilt, d.h. das Signifikanzniveau der Einzeltests wird entsprechend angepasst.



## 4 Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

#### 4.1.1 Basisdaten

Das Patientenkollektiv ( $N = 119$ ) der vorliegenden Studie weist einen Altersdurchschnitt von  $34,3 \pm 17,4$  Jahren auf und repräsentiert demzufolge ein junges Kollektiv mit geringer Komorbidität.  $N = 92$  Patienten (77%) waren männlich,  $N = 27$  (23%) weiblich.  $N = 97$  Patienten (82%) wurden bei Unfällen im Straßenverkehr verletzt (siehe Diagramm 4.1).

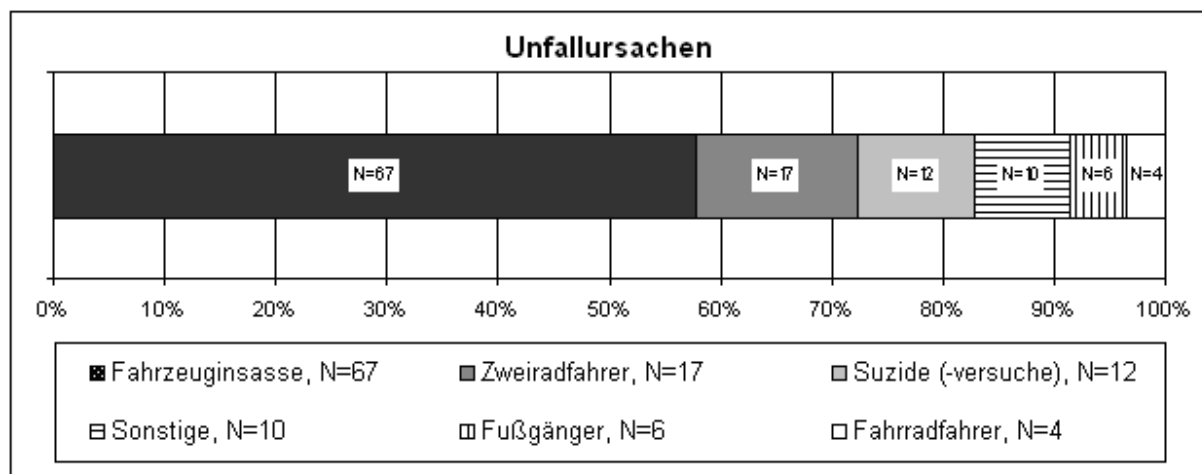


Diagramm 4.1: Unfallursachen bei Patienten der vorliegenden Studie

Die Verweildauer auf der Intensivstation betrug im Mittel  $13,5 \pm 11,2$  Tage, wobei die Patienten davon durchschnittlich  $7,8 \pm 7,1$  Tage intubiert und beatmungspflichtig waren.  $N = 37$  Patienten (31%) entwickelten eine Sepsis. Diese Patienten benötigten höchst signifikant eine längere Zeit intensivmedizinische Betreuung ( $24,2 \pm 1,9$  Tage vs.  $11,1 \pm 1,0$  Tage,  $p < 0,001$ ) und wiesen eine höchst signifikant längere Krankenhaus-

verweildauer ( $91,7 \pm 17,4$  Tage vs.  $35,3 \pm 3,3$  Tage,  $p < 0,001$ ) als die Patienten ohne Sepsis auf.

Einzelheiten zu demographischen Daten, Unfallursachen und relevanten Vorerkrankungen siehe Diagramm 4.1 und Tabelle 4.1.

<b>Charakteristika</b>	<b><i>N (%) bzw. <math>N \pm SD</math></i></b>
Vorerkrankungen	
Alkoholmissbrauch	12 (10,5)
Nikotinabusus	40 (35,1)
Herzinsuffizienz (>NYHA 1)	3 (2,6)
Koronare Herzerkrankung	3 (2,6)
Chronisch obstruktive Lungenerkrankung	4 (3,5)
Chronische Lebererkrankungen	2 (1,8)
Onkologische Vorerkrankungen	0 (0)
Neurologische Vorerkrankungen	5 (4,4)
Nierenversagen	0 (0)
Anzahl der Operationen	$3,5 \pm 3,2$ (Range 0-14)
Tage auf der Intensivstation	$13,5 \pm 11,2$ (Range 1-46)
Intubationstage mit mechanischer Beatmung	$7,8 \pm 7,1$
Tage bis zur Entlassung	$46,2 \pm 41,2$

Tabelle 4.1: Basisdaten zur Charakterisierung des Patientenkollektivs

In Tabelle 4.2 werden klinische und paraklinische Parameter zur Beurteilung der Herz-Kreislauf-Stabilität sowie zur anatomischen und physiologischen Verletzungsschwere bei Aufnahme im Schockraum dargestellt. Der mittlere Schockindex hatte einen Wert von  $0,89 \pm 0,30$ .

Der Mittelwert des Injury Severity Score (ISS) betrug  $38,0 \pm 13,2$  Punkte.  $N = 36$  Patienten (30%) hatten einen ISS von 15-29 Punkten,  $N = 31$  Patienten (26%) von 30-39 Punkten,  $N = 24$  Patienten (20%) von 40-49 Punkten und  $N = 28$  Patienten (23%) von 50-75 Punkten (siehe Diagramm 4.2).

Zur Beurteilung der physiologischen Verletzungsschwere wurde der Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE II) herangezogen. Der Mittelwert betrug  $20,8 \pm 5,4$  Punkte.

Parameter	Mittelwert $\pm$ SD
<b>Klinische Parameter</b>	
Mittlerer arterieller Blutdruck	82,9 $\pm$ 19,2
Schock-Index	0,89 $\pm$ 0,30
<b>Anatomische Verletzungsschwere</b>	
Injury Severity Score	38,0 $\pm$ 13,2
AIS Kopf	3,0 $\pm$ 1,9
AIS Gesicht	1,2 $\pm$ 1,2
AIS Thorax	3,3 $\pm$ 1,3
AIS Abdomen	1,9 $\pm$ 1,7
AIS Extremitäten	2,2 $\pm$ 1,1
<b>Physiologische Verletzungsschwere</b>	
APACHE II	20,8 $\pm$ 5,4
pH-Wert	7,32 $\pm$ 0,11
BE in mmol/l	-3,9 $\pm$ 5,4
Hämoglobin in mmol/l	5,9 $\pm$ 1,5
Volumen Erythrozytenkonzentrate in l in den ersten 24h	4,1 $\pm$ 4,5
Gesamtvolumensubstitution nach 24h in l (ab Aufnahme)	16,1 $\pm$ 14,0

Tabelle 4.2: klinische und paraklinische Parameter zur anatomischen und physiologischen Verletzungsschwere bei Aufnahme im Schockraum

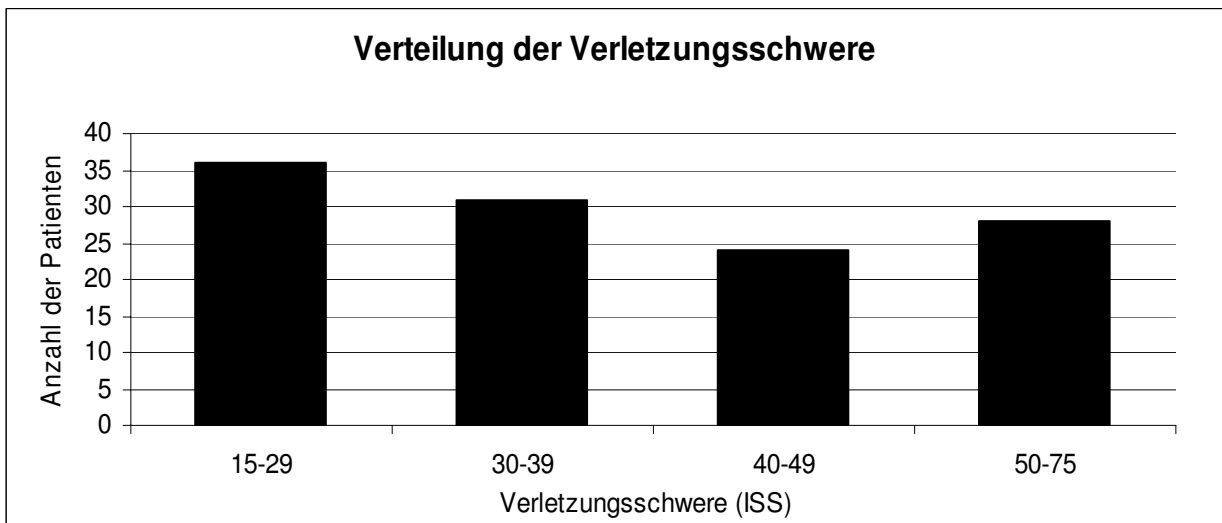


Diagramm 4.2: Verteilung der Verletzungsschwere im Patientenkollektiv

## 4.2 Assoziation des Polymorphismus -1087 zum Auftreten einer Sepsis nach schwerem Trauma

### 4.2.1 Univariate Analyse - Häufigkeitsanalyse

Abbildung 4.1 stellt die absoluten und relativen Häufigkeiten der drei Genotypen (AA, AG und GG) des Polymorphismus -1087 tabellarisch und graphisch dar. Auf den Genotyp AG verteilen sich mit einer Häufigkeit von  $N = 61$  (51%) mehr Patienten als auf die beiden verbleibenden Genotypen AA ( $N = 34$  /29%) und GG ( $N = 24$  /20%) zusammen.

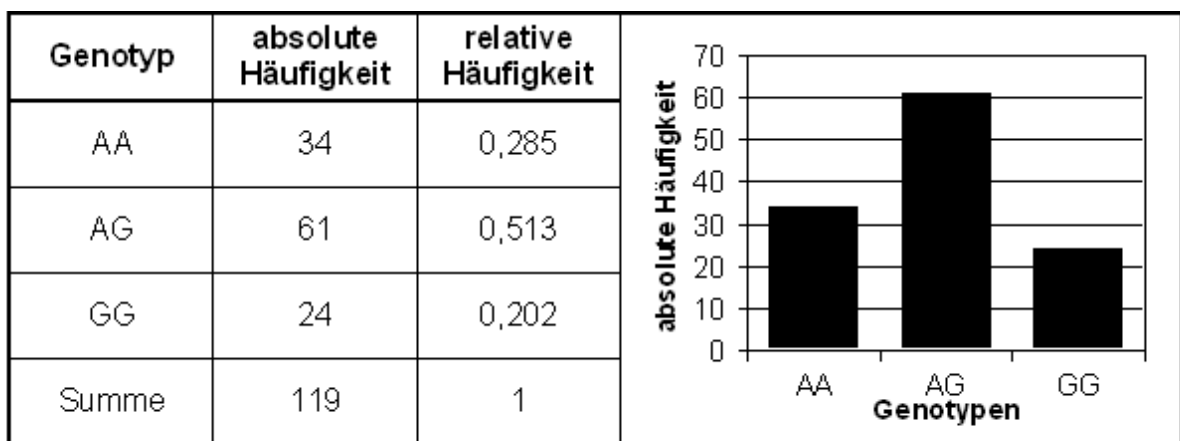


Abbildung 4.1: Häufigkeiten der Genotypen des IL-10 Promotorpolymorphismus -1087

### 4.2.2 Homogenitätsnachweis für den Polymorphismus -1087

Tabelle 4.3 zeigt den Homogenitätsnachweis für den Polymorphismus -1087. Für die 3 Genotypen (AA, AG und GG) bestehen bei dem betrachteten Patientenkollektiv hinsichtlich der Alters- und Geschlechterverteilung, der anatomischen (ISS, AIS, siehe 3.6.1) und physiologischen Verletzungsschwere (APACHE II, siehe 3.6.2) sowie ausgewählter klinischer und paraklinischer Faktoren keine signifikanten Unterschiede. Der Test auf signifikante Unterschiede wurde im Falle metrischer Parameter mit dem Kruskal-Wallis-Test und im Falle proportionaler Parameter mit dem  $\chi^2$ -Test bzw. mit dem exakten Test nach Fisher bestimmt (siehe 3.9).

Parameter	Genotypen			p
	AA N = 34	AG N = 61	GG N = 24	
Basisdaten				
Alter $\geq$ / < 50 Jahre	10 / 24	10 / 51	2 / 22	0,105
Männliche / weibliche Pat.	27 / 7	49 / 12	16 / 8	0,377
Anatomische Verletzungsschwere				
ISS	35,6 $\pm$ 12,7	40,2 $\pm$ 14,6	35,6 $\pm$ 9,3	0,325
AIS Kopf	2,5 $\pm$ 2,0	3,3 $\pm$ 1,9	2,7 $\pm$ 1,9	0,148
AIS Gesicht	1,0 $\pm$ 1,0	1,3 $\pm$ 1,3	1,2 $\pm$ 1,3	0,545
AIS Thorax	3,4 $\pm$ 1,3	3,3 $\pm$ 1,3	3,3 $\pm$ 1,4	0,857
AIS Abdomen	1,9 $\pm$ 1,7	2,0 $\pm$ 1,8	1,7 $\pm$ 1,6	0,683
AIS Extremitäten	2,2 $\pm$ 1,2	2,1 $\pm$ 1,1	2,6 $\pm$ 0,9	0,120
Physiologische Verletzungsschwere				
APACHE II	20,7 $\pm$ 5,9	20,9 $\pm$ 5,4	20,9 $\pm$ 5,0	0,986
Arterieller pH-Wert	7,31 $\pm$ 0,10	7,31 $\pm$ 0,11	7,32 $\pm$ 0,12	0,768
Schockindex	0,90 $\pm$ 0,29	0,90 $\pm$ 0,30	0,88 $\pm$ 0,33	0,774
Erythrozytenkonzentrate in ersten 24 Stunden (in Liter)	3,8 $\pm$ 3,5	4,7 $\pm$ 5,2	3,1 $\pm$ 3,3	0,432
Hämoglobin (mmol/l)	5,7 $\pm$ 1,4	6,0 $\pm$ 1,6	5,8 $\pm$ 1,5	0,419

Tabelle 4.3: Homogenitätsnachweis der Genotypen für den Polymorphismus -1087

#### 4.2.3 Genotypenanalyse des Polymorphismus -1087

Der Genotyp AA für den Polymorphismus -1087 war bei  $N = 34$  (29%) der  $N = 119$  Patienten vertreten. Bei den Patienten mit Sepsis ( $N = 37$ ) hatten  $N = 7$  den Genotyp AA. Dementsprechend hatten  $N = 27$  Patienten in der Gruppe der nichtseptischen Patienten diesen Genotyp. Das entspricht Frequenzen von 0,189 bzw. 0,329. Träger des Genotyps AA hatten in der Gruppe der septischen Patienten damit eine signifikant niedrigere Frequenz als „Nichtträger“ (Log-Rank-Test  $p = 0,032$ ). Abbildung 4.2 zeigt die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten (Frequenzen) für den Genotyp AA.

Der Genotyp AG trat bei  $N = 61$  (51%) der  $N = 119$  Patienten auf.  $N = 22$  (60%) der  $N = 37$  Patienten, die eine Sepsis entwickelten hatten den Genotyp AG,  $N = 15$  waren „Nichtträger“ des Genotyp AG. Bei den  $N = 82$  Patienten, die keine Sepsis entwickelten, hatten  $N = 39$  (48%) den Genotyp AG. Diese Verteilungsmuster erlangen jedoch keine Signifikanz (Log-Rank-Test  $p = 0,11$ ). Abbildung 4.3 zeigt die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten (Frequenzen) für den Genotyp AG.

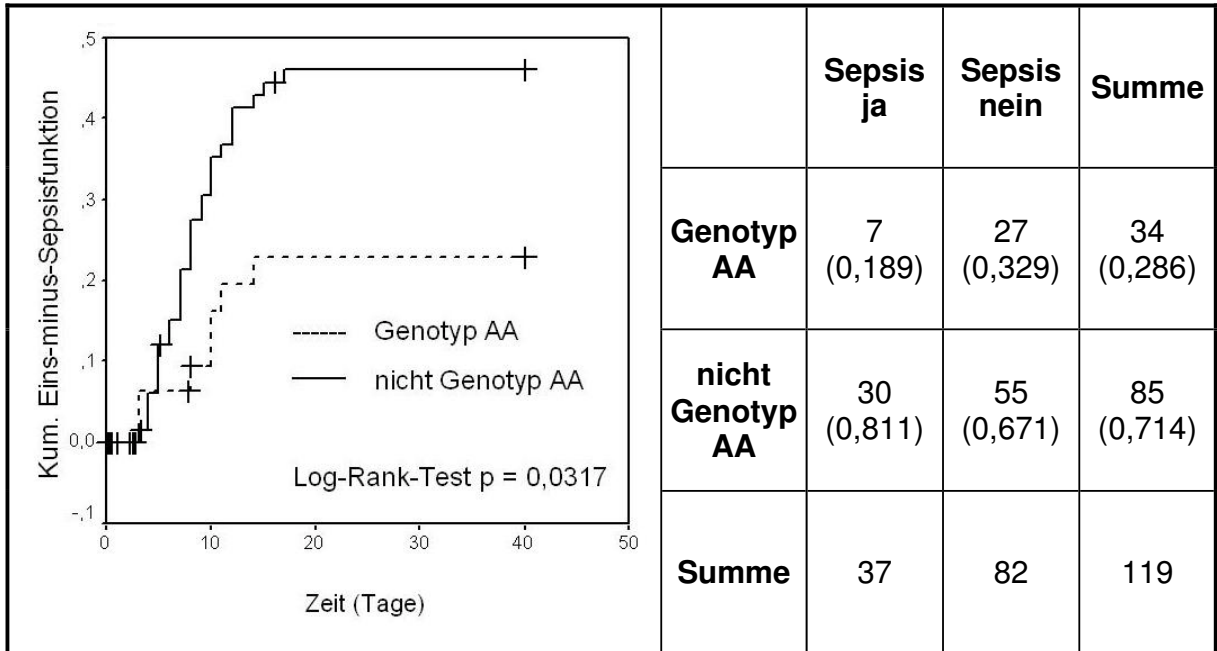


Abbildung 4.2: Analyse für den Genotyp -1087AA

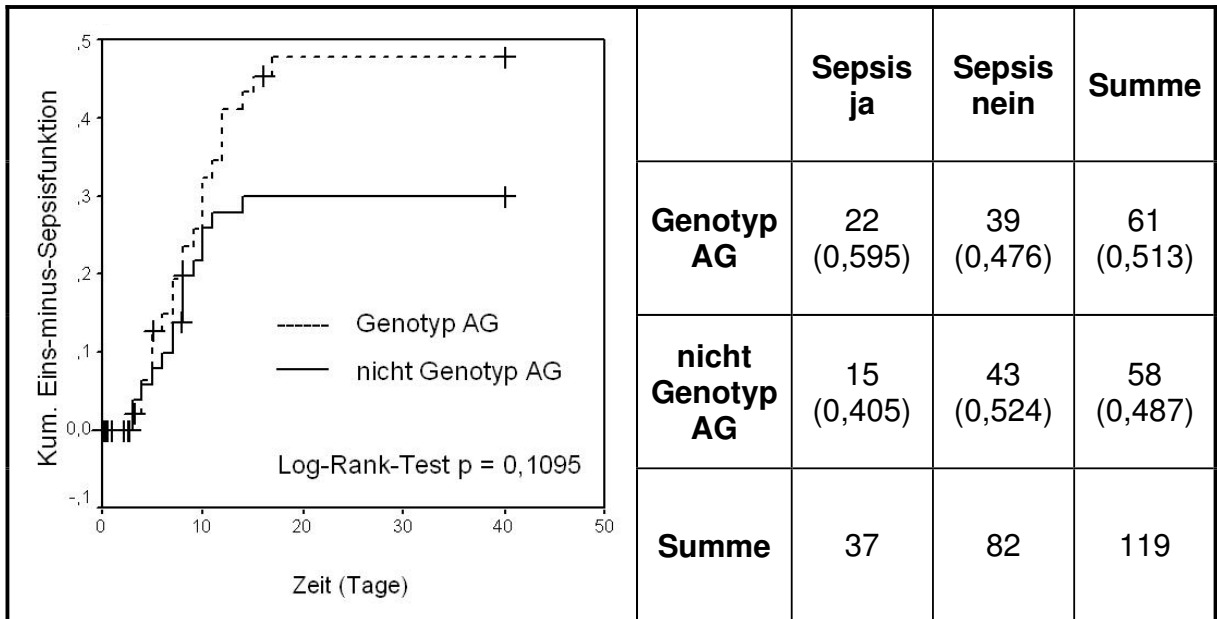


Abbildung 4.3: Analyse für den Genotyp -1087AG

Der Genotyp GG trat bei  $N = 24$  Patienten auf. Er war mit  $N = 8$  Ausprägungen bei den septischen Patienten ( $N = 37$ ) vertreten. Bei den nichtseptischen Patienten ( $N = 82$ ) wurde er bei  $N = 16$  Patienten beobachtet. Das entspricht Frequenzen von 0,216 bzw. 0,195. Dieser Unterschied erwies sich als nicht signifikant (Log-Rank-Test  $p = 0,55$ ). Ab-

Abbildung 4.4 zeigt die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten (Frequenzen) für den Genotyp GG.

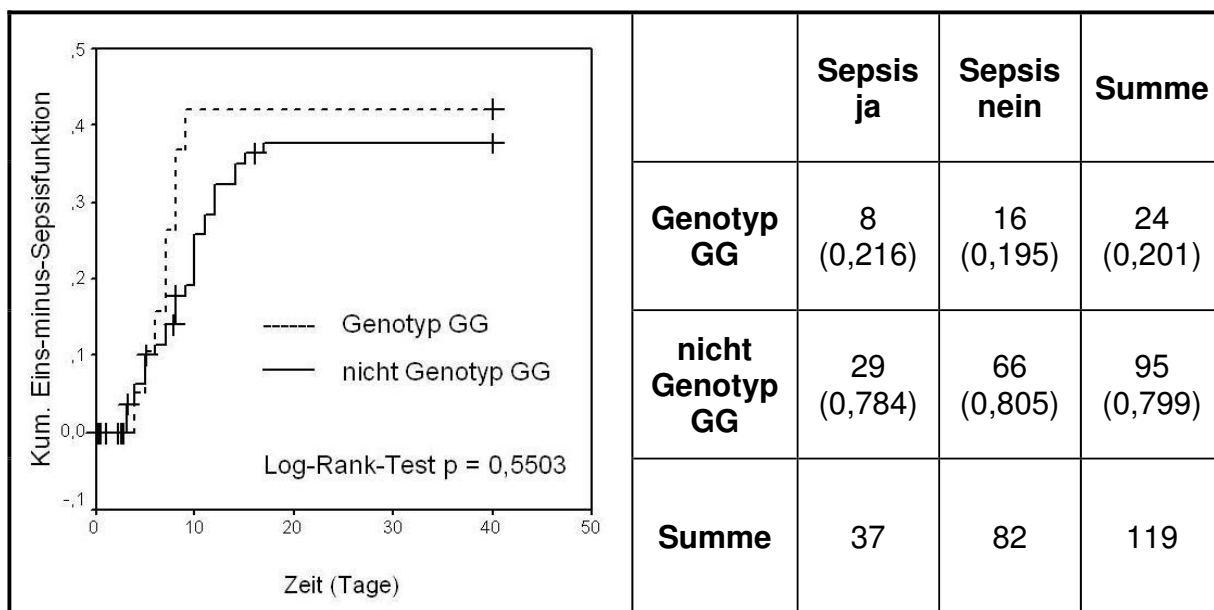


Abbildung 4.4: Analyse für den Genotyp -1087GG

#### 4.2.4 Alleltypenanalyse des Polymorphismus -1087

Die Ergebnisse können aus den bereits dargestellten Verteilungen für die Genotypen abgeleitet werden. Die Verteilung für den Genotyp GG (gleichbedeutend mit dem Nichtvorhandensein des Allels A) war nicht signifikant. Die Anzahl der Träger des Allels A ergibt sich aus der Summe der Patienten mit den Genotypen AG ( $N = 61$ ) und AA ( $N = 34$ ). Demnach waren  $N = 95$  der  $N = 119$  Patienten Träger dieses Allels. Das Vorhandensein gegenüber dem Nichtvorhandensein des Allels A bot in beiden Gruppen keine signifikante Häufigkeitsverteilung (Log-Rank-Test  $p = 0,55$ ).  $N = 29$  Patienten in der Gruppe der septischen Patienten und  $N = 66$  Patienten in der Gruppe der nichtseptischen Patienten waren Träger des Allels A. Das entspricht Frequenzen von 0,784 bzw. 0,805.

Analog zu den Ausführungen bezüglich des Allels A ergeben sich die Schlussfolgerungen für das Allel G. Der Genotyp AA war in der Gruppe der septischen Patienten mit einer Häufigkeit von  $N = 7$  signifikant geringer repräsentiert als die Genotypen AG und GG. In der Gruppe der septischen Patienten waren mit  $N = 30$  signifikant mehr Patienten

ten Träger des Allels G als „Nichtträger“ (Log-Rank-Test  $p = 0,032$ ). In der Gruppe der septischen Patienten entspricht das einer Frequenz von 0,811 für Träger des Allels G gegenüber 0,189 für „Nichtträger“.

Die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten (Frequenzen) der Allele A und G des Polymorphismus -1087 sind in den Abbildungen 4.5 und 4.6 dargestellt.

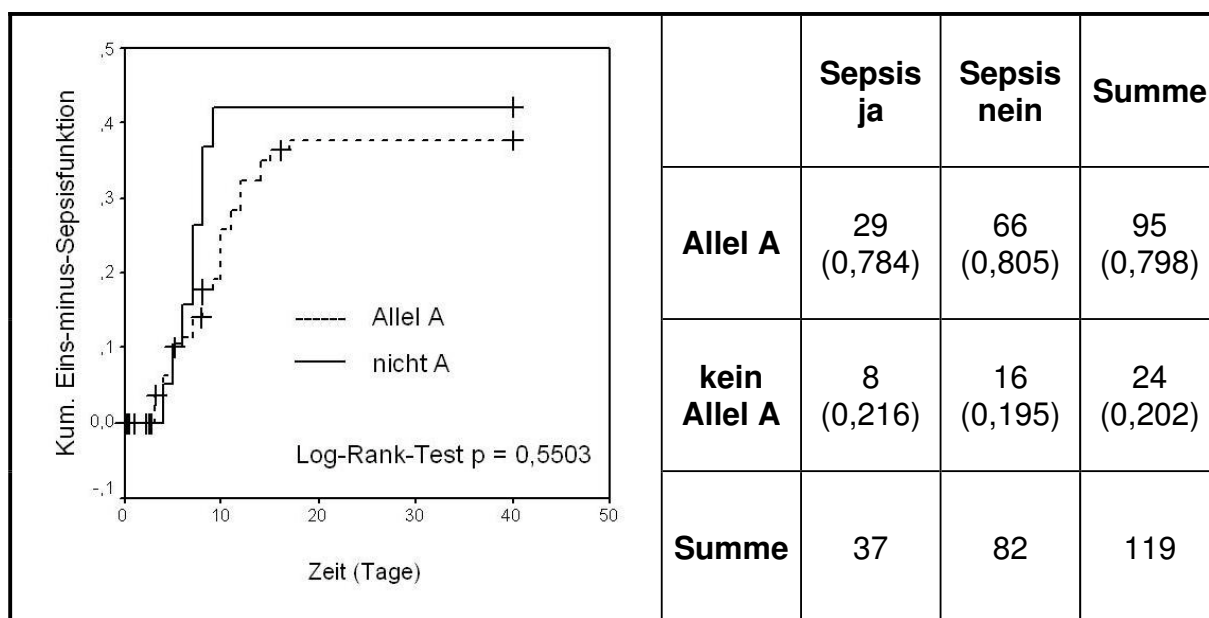


Abbildung 4.5: Analyse für das Allel -1087A

### 4.3 Assoziation des Polymorphismus -597 zum Auftreten einer Sepsis nach schwerem Trauma

#### 4.3.1 Univariate Analyse - Häufigkeitsanalyse

Abbildung 4.7 stellt die absoluten und relativen Häufigkeiten der drei Genotypen (CC, AC und AA) des Polymorphismus -597 tabellarisch und graphisch dar. Der Genotyp CC war der am Häufigsten vertretene Genotyp für den Polymorphismus -597. Er trat bei  $N = 77$  Patienten auf. Das heißt, annähernd  $2/3$  der Patienten (65%) waren homozygote Träger des Allels C.  $N = 38$  Patienten (32%) wiesen den Genotyp AC auf. Der Genotyp AA war mit nur  $N = 4$  Patienten (3%) sehr gering repräsentiert.



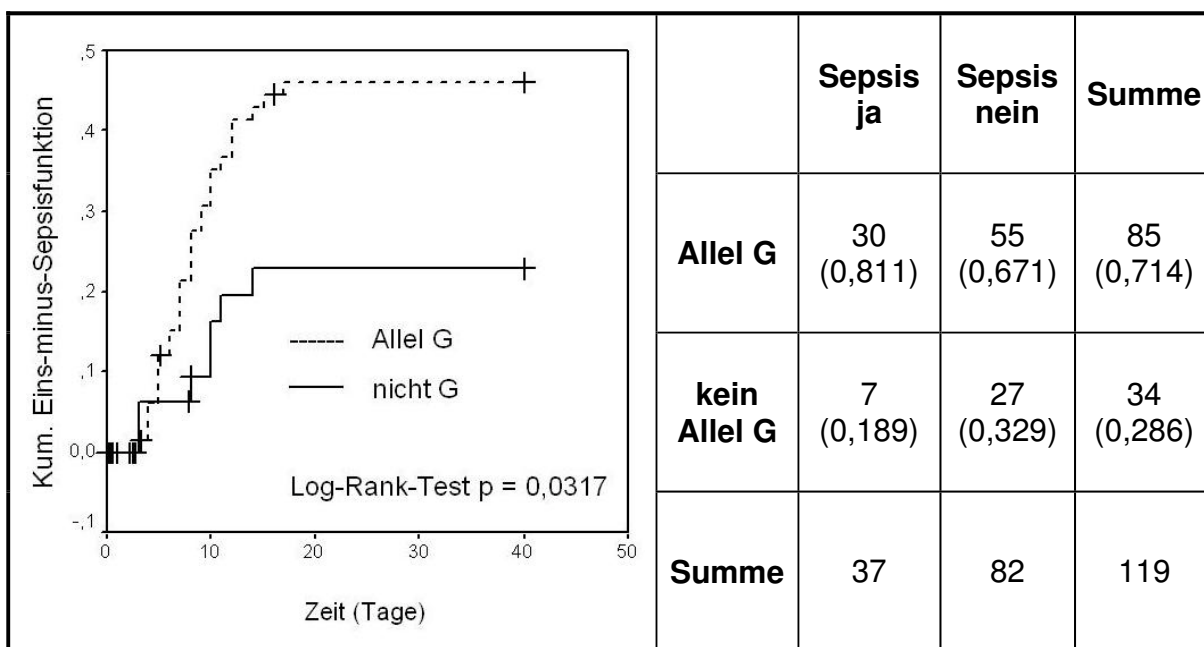


Abbildung 4.6: Analyse für das Allel -1087G

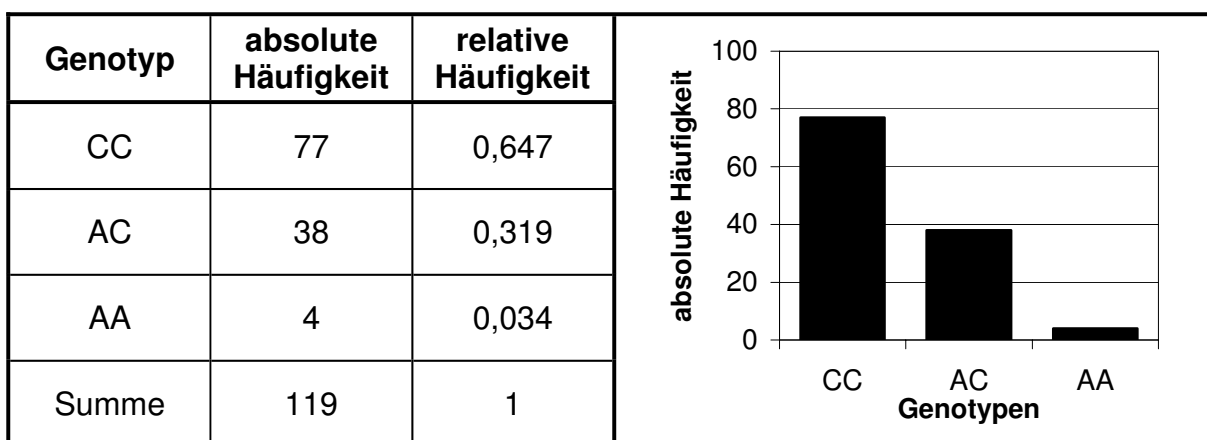


Abbildung 4.7: Häufigkeiten der Genotypen des IL-10 Promotorpolymorphismus -597

### 4.3.2 Homogenitätsnachweis Polymorphismus -597

In Tabelle 4.4 wird die homogene Verteilung des Patientenkollektivs für die 3 Genotypen (CC, AC und AA) des Polymorphismus -597 nachgewiesen. Es bestehen hinsichtlich der Alters- und Geschlechterverteilung, der anatomischen (ISS, AIS, siehe 3.6.1) und physiologischen Verletzungsschwere (APACHE II, siehe 3.6.2) sowie ausgewählter klinischer und paraklinischer Faktoren keine signifikanten Unterschiede. Der Test auf signifikante Unterschiede wurde im Falle metrischer Parameter mit dem Kruskal-Wallis-Test

und im Falle proportionaler Parameter mit dem  $\chi^2$  - Test bzw. mit dem exakten Test nach Fisher bestimmt (siehe 3.9).

Parameter	Genotypen			p
	CC N = 77	AC N = 38	AA N = 4	
Basisdaten				
Alter $\geq$ / < 50 Jahre	12 / 65	9 / 29	1 / 3	0,374
Männliche / weibliche Pat.	58 / 19	31 / 7	3 / 1	0,717
Anatomische Verletzungsschwere				
ISS	37,7 ± 14,3	39,0 ± 11,3	32,0 ± 12,0	0,349
AIS Kopf	2,9 ± 1,9	3,1 ± 2,0	2,0 ± 2,2	0,468
AIS Gesicht	1,1 ± 1,2	1,4 ± 1,3	0,8 ± 1,0	0,381
AIS Thorax	3,4 ± 1,4	3,3 ± 1,3	3,8 ± 0,5	0,800
AIS Abdomen	1,7 ± 1,7	2,3 ± 1,7	2,3 ± 1,5	0,252
AIS Extremitäten	2,4 ± 1,0	2,0 ± 1,1	1,5 ± 1,7	0,089
Physiologische Verletzungsschwere				
APACHE II	20,8 ± 5,2	20,9 ± 4,8	20,5 ± 13,4	0,875
Arterieller pH-Wert	7,32 ± 0,12	7,30 ± 0,09	7,25 ± 0,14	0,358
Schockindex	0,90 ± 0,33	0,91 ± 0,26	0,77 ± 0,25	0,506
Erythrozytenkonzentrate in ersten 24 Stunden (in Liter)	3,7 ± 3,9	4,9 ± 5,4	2,9 ± 2,2	0,681
Hämoglobin (mmol/l)	6,0 ± 1,7	5,9 ± 1,2	5,0 ± 0,7	0,343

Tabelle 4.4: Homogenitätsnachweis der Genotypen für den Polymorphismus -597

### 4.3.3 Genotypenanalyse des Polymorphismus -597

Für keinen Geno- bzw. Alleltyp des Polymorphismus an Stelle -597 konnte ein signifikantes Verteilungsmuster nachgewiesen werden.

Der Genotyp AA wurde insgesamt bei  $N = 4$  Patienten vorgefunden. Bei den Patienten mit einer Sepsis konnte dieser Genotyp nicht beobachtet werden (Log-Rank-Test  $p = 0,215$ ). Abbildung 4.8 zeigt die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten für den Genotyp AA.

Der Genotyp AC war bei  $N = 11$  der  $N = 37$  Patienten mit einer Sepsis vorhanden. In der Gruppe der Patienten, die keine Sepsis entwickelten, hatten  $N = 27$  von  $N = 82$  Patienten diesen Genotyp. Die daraus resultierenden relativen Häufigkeiten von 0,297 bzw. 0,329 zeigen keinen signifikanten Unterschied zu den „Nichtträgern“ in den jeweili-

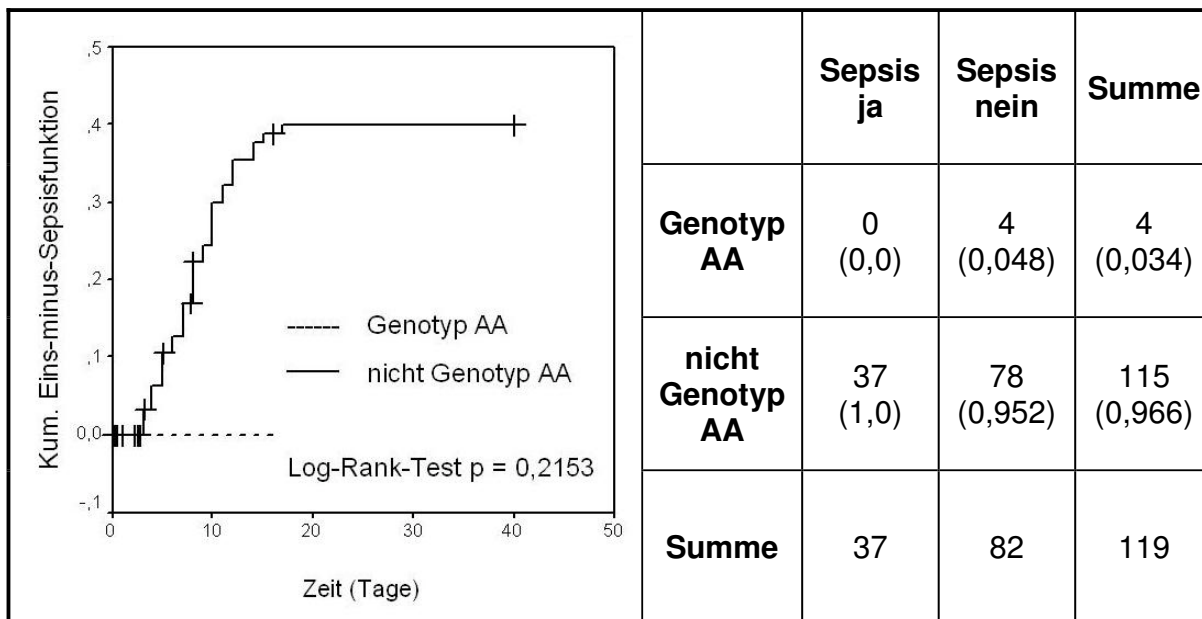


Abbildung 4.8: Analyse für den Genotyp -597AA

gen Gruppen (Log-Rank-Test  $p = 0,659$ ). Abbildung 4.9 zeigt die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten für den Genotyp AC.

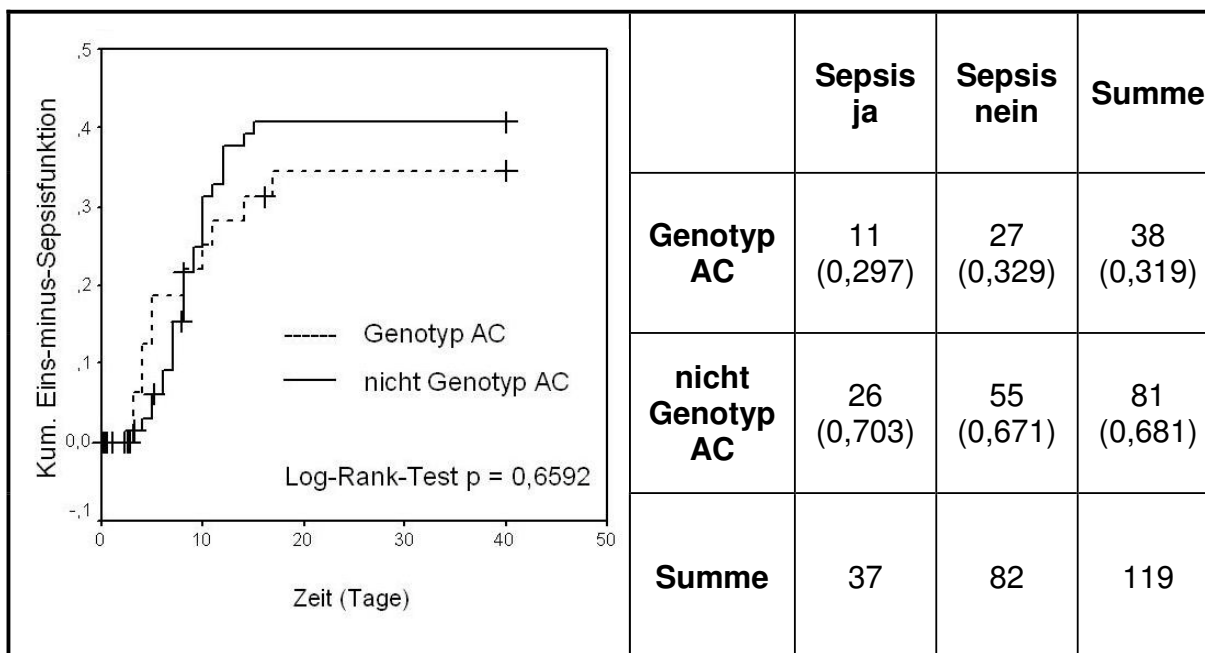


Abbildung 4.9: Analyse für den Genotyp -597AC

Da der Genotyp AA bei den Patienten mit einer Sepsis nicht vorhanden ist, muss die Verteilung des Genotyp CC in dieser Gruppe komplementär zu der des Genotyp

AC sein. Infolgedessen haben von den  $N = 37$  Patienten, die eine Sepsis entwickelten  $N = 26$  Patienten (70%) den Genotyp CC. In der Gruppe der Patienten, die keine Sepsis entwickelten, tragen  $N = 51$  (62%) von den  $N = 82$  Patienten dieser Gruppe den Genotyp CC. In der Gruppe der septischen Patienten unterscheidet sich die Anzahl der Träger des Genotyp CC nicht signifikant von der Anzahl der „Nichtträger“ (Log-Rank-Test  $p = 0,355$ ). Abbildung 4.10 zeigt die KAPLAN-MEIER-Kurve und die Häufigkeiten für den Genotyp CC.

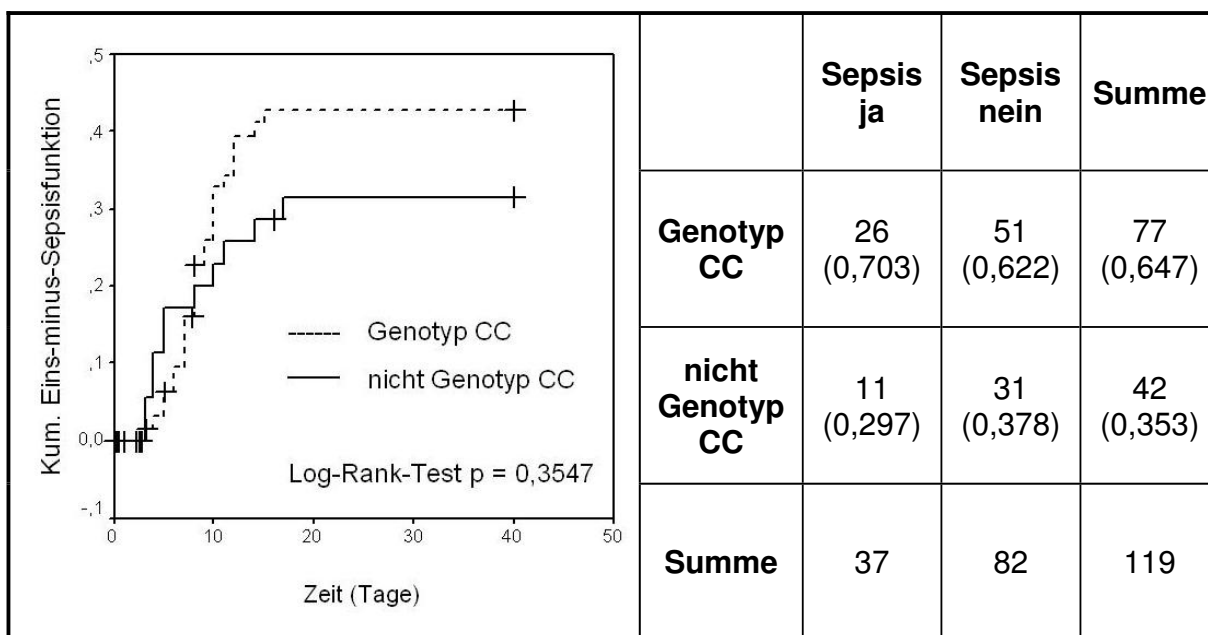


Abbildung 4.10: Analyse für den Genotyp -597CC

#### 4.3.4 Alleltypenanalyse des Polymorphismus -597

Die Häufigkeiten der Allele für den Polymorphismus -597 lassen sich aus den Genotypen ableiten. Das Allel A ist nur bei Trägern der Genotypen AA und AC vorhanden. Folglich haben  $N = 11$  Patienten (30%) von  $N = 37$  aus der Gruppe der Patienten mit Sepsis das Allel A. Bei den Patienten ohne Sepsis ist die Verteilung ähnlich, hier haben  $N = 31$  Patienten (38%) von  $N = 82$  Patienten das Allel A (Log-Rank-Test  $p = 0,355$ , siehe Abbildung 4.11).

Für das Allel C gilt, dass sich dessen Häufigkeit aus den Häufigkeiten für die Genotypen AC und CC errechnet. Da der Genotyp AA in der Gruppe der Patienten mit einer

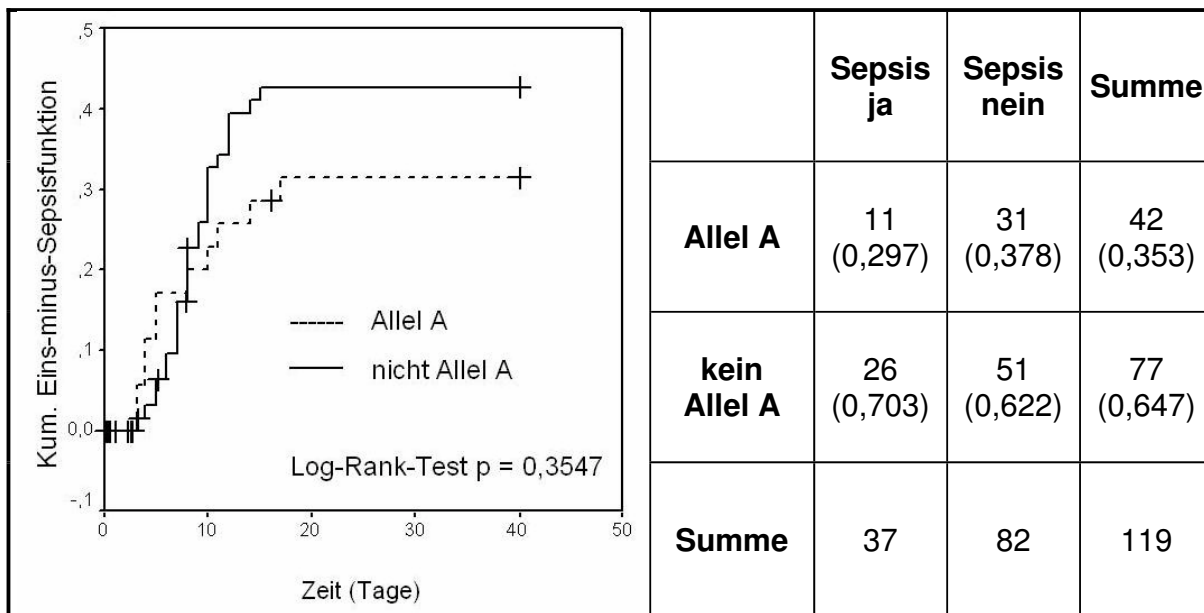


Abbildung 4.11: Analyse das Allel -597A

Sepsis nicht vorkommt, sind alle  $N = 37$  Patienten dieser Gruppe Träger des Allel C. In der Gruppe der Patienten ohne Sepsis ist das Allel C bei  $N = 78$  (95%) von  $N = 82$  Patienten vertreten (Log-Rank-Test  $p = 0,215$ , siehe Abbildung 4.12).

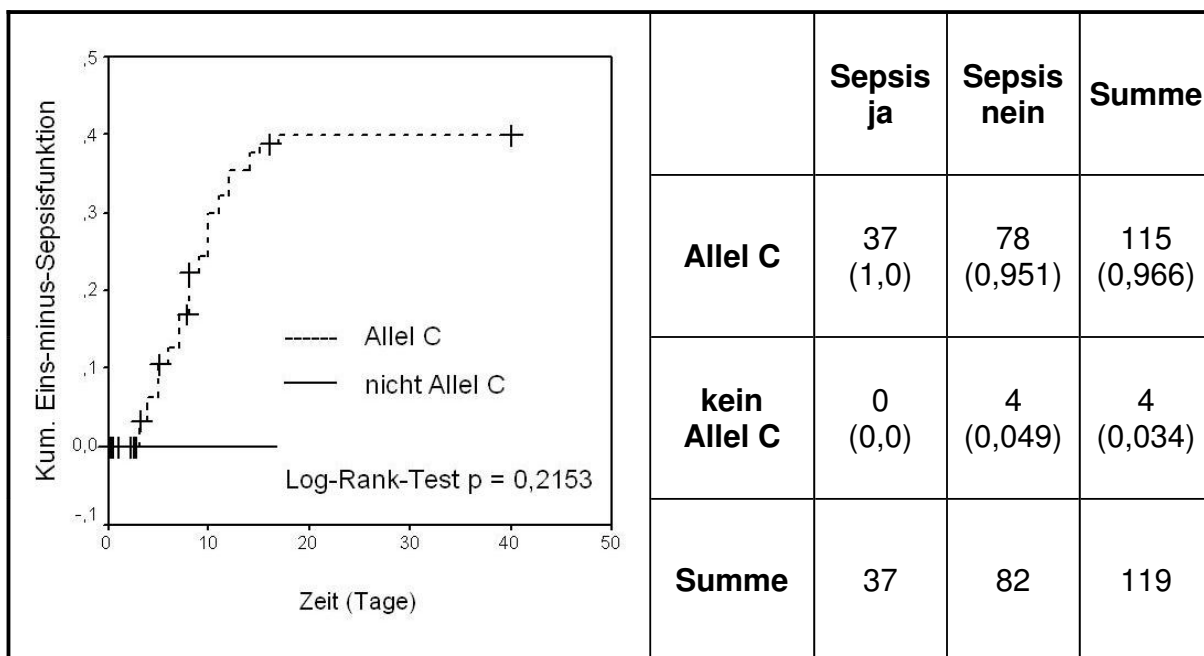


Abbildung 4.12: Analyse das Allel -597C

### 4.3.5 Multivariate Regressionsanalyse

In der univariaten Analyse wurden ausgewählte klinische und paraklinische Faktoren, die mit der Entwicklung einer Sepsis im Zusammenhang stehen könnten, untersucht. Signifikante Assoziationen in der univariaten Analyse ergaben sich für den IL-10 Genotyp -1087AA, den AIS für die Abdominalregion, den ISS, die Summe der Erythrozytenkonzentrate innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Trauma, die Summe aller Infusionen in den ersten 24 Stunden nach dem Trauma, den arteriellen pH-Wert bei Aufnahme, den APACHE II und den Schockindex. P - Werte für diese und andere Parameter veräußert Tabelle 4.5.

Parameter	Univariate Analyse p-Wert	Multivariate COX-HAZARD- Regressionsanalyse	
		Hazard-Ratio (95% CI)	p-Wert
Genotyp			
IL-10 -1087AA	<b>0,032</b>	0,301 (0,120-0,757)	<b>0,011</b>
Basisdaten			
Alter > 50 Jahre	0,259		
Männliche Patienten	0,747		
Raucher	0,138		0,305
anatomische Verletzungsschwere			
ISS	<b>0,012</b>	1,049 (1,020-1,078)	<b>0,001</b>
AIS Kopf	0,382		
AIS Thorax	0,080		0,562
AIS Abdomen	<b>0,015</b>		0,112
AIS Extremitäten	0,961		
physiologische Verletzungsschwere			
APACHE II	<b>&lt;0,0001</b>		0,318
Schockindex	<b>&lt;0,0001</b>	24,579 (8,160-74,036)	<b>&lt;0,0001</b>
Arterieller pH-Wert bei Aufnahme	<b>0,002</b>		0,521
Erythrozytenkonzentrate in ersten 24 Stunden	<b>0,005</b>		0,069
Infusionen in ersten 24 Stunden	<b>0,005</b>		0,598

Tabelle 4.5: Zeitabhängige uni- und multivariate Analyse

Alle Parameter, die in der univariaten Analyse  $p$  - Werte  $< 0,2$  lieferten wurden der multivariaten Analyse unterzogen. Der Schockindex ( $p < 0,0001$ ), der ISS ( $p = 0,001$ ) und der Genotyp -1087AA ( $p = 0,011$ ) lieferten in der multivariaten Analyse signifikante Ergebnisse.

## 4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurde an einem Kollektiv von  $N = 119$  Mehrfachverletzten (Mittelwert des ISS  $38,0 \pm 13,2$ ) mit einem Altersdurchschnitt von  $34,3 \pm 17,4$  Jahren die Bedeutung der Interleukin-10 Promotorpolymorphismen -1087 und -597 hinsichtlich der Entwicklung einer posttraumatischen Sepsis untersucht.  $N = 37$  Patienten (31%) entwickelten eine Sepsis.  $N = 28$  Patienten (24%) verstarben,  $N = 15$  (13%) innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Trauma.

Für die untersuchten Genotypen ist der Homogenitätsnachweis bezüglich der Alters- und Geschlechterverteilung, der Verletzungsschwere sowie ausgewählter klinischer und paraklinischer Parameter erfolgt (siehe Tabelle 4.3 und 4.4).

Für den Polymorphismus -1087 wurde der Genotyp AG bei  $N = 61$  Patienten am Häufigsten beobachtet, gefolgt von AA ( $N = 34$ ) und GG ( $N = 24$ ). Die Genotypenanalyse zeigte für den Polymorphismus -1087 eine signifikante geringere Häufigkeit des Genotyp AA in der Gruppe der Patienten, die eine posttraumatische Sepsis entwickelten (-1087AA Träger:  $N = 7$  vs. -1087AA „Nichtträger“:  $N = 30$ , Log-Rank-Test  $p = 0,032$ ). Für die Genotypen AG und GG konnten keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung beobachtet werden. Die Alleltypenanalyse zeigte, komplementär zu der Rarifizierung des Genotyps AA, mit  $N = 30$  eine signifikante Häufung der Träger des Allels G in der Patientengruppe, in der eine posttraumatische Sepsis beobachtet wurde ( $N = 37$ ,  $p = 0,032$ ).

Für den Polymorphismus -597 wurde der Genotyp CC mit  $N = 77$  am Häufigsten beobachtet, gefolgt von AC ( $N = 38$ ) und AA ( $N = 4$ ). Für die Verteilung der Geno- und Alleltypen des Polymorphismus -597 konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden. Der Genotyp AA war bei Patienten mit einer Sepsis nicht vorhanden und bei den Patienten ohne Sepsis mit einem Vorkommen bei  $N = 4$  Patienten sehr gering repräsentiert. Bei den Patienten mit Sepsis wurde der Genotyp CC bei  $N = 26$  Patienten und der Genotyp AC bei  $N = 11$  Patienten beobachtet. Das Vorkommen des Allels A bei den Patienten mit Sepsis entspricht auf Grund des Fehlens des Genotyps AA mit  $N = 11$  Trägern der Beobachtung für den Genotyp AC. Daher sind alle septischen Pati-



enten Träger des Allels C. Bei den Patienten ohne Sepsis ( $N = 82$ ) war das Allel A bei  $N = 31$  Patienten und das Allel C bei  $N = 78$  Patienten nachgewiesen worden.

Die univariate Geno- und Alleltypenanalyse ist in Tabelle 4.6 zusammengefasst.

In der multivariaten COX-HAZARD-Regressionsanalyse lieferte neben dem Schock-index ( $p < 0,0001$ ) und dem ISS ( $p = 0,001$ ) auch die, sich in der univariaten Analyse bereits als signifikant darstellende, Rarifizierung der Träger des Genotyps -1087AA bei den septischen Patienten signifikante Ergebnisse ( $p = 0,011$ ).

Geno-/ Alleltyp	Vorkommen im			p- Wert <sup>+</sup>
	Gesamt- kollektiv* ( $N = 119$ )	septischen Kollektiv* ( $N = 37$ )	nichtsepti- schen Kollektiv* ( $N = 82$ )	
Genotypen				
-1087AA	34 (0,285)	7 (0,189)	27 (0,329)	<b>0,032</b>
-1087AG	61 (0,513)	22 (0,595)	39 (0,476)	0,11
-1087GG	24 (0,202)	8 (0,216)	16 (0,195)	0,55
-597CC	77 (0,647)	26 (0,703)	51 (0,622)	0,355
-597AC	38 (0,319)	11 (0,297)	27 (0,329)	0,659
-597AA	4 (0,034)	0 (0)	4 (0,048)	0,215
Alleltypen				
-1087A	95 (0,798)	29 (0,784)	66 (0,805)	0,55
-1087G	85 (0,714)	30 (0,811)	55 (0,671)	<b>0,032</b>
-597A	42 (0,353)	11 (0,297)	31 (0,378)	0,355
-597C	115 (0,966)	37 (1,0)	78 (0,951)	0,215
* die erste Zahl zeigt die absolute Häufigkeit, die Zahl in Klammern zeigt die Frequenz + der p-Wert bezieht sich auf das Vorhandensein des entsprechenden Geno-/Alleltyps im septischen Kollektiv gegenüber dem Nichtvorhandensein dieses Geno-/Alleltyps im septischen Kollektiv (Log-Rank-Test)				

Tabelle 4.6: Zusammenfassung der univariaten Geno- und Alleltypenanalyse

## 5 Diskussion

### 5.1 Allgemeines

Das Ziel dieser Studie war es, die Polymorphismen -1087 und -597 des antiinflammatorischen Zytokins Interleukin-10 an einem Kollektiv von  $N = 119$  Patienten auf Assoziationen bezüglich der Inzidenz einer Sepsis nach schwerem Trauma zu untersuchen. Wenn ein Polymorphismus ein signifikantes Risiko für die Entwicklung einer posttraumatischen Sepsis bedeutet, soll dies quantifiziert werden.

#### 5.1.1 Können Polymorphismen den klinischen Verlauf nach einem Trauma beeinflussen?

Nach Untersuchungen von OBERHOLZER et al. sind die Verletzungsschwere (ISS) und ein männliches Geschlecht signifikant determinierende Faktoren für die Entwicklung einer Sepsis nach schwerem Trauma [107]. Untersuchungen an tierexperimentellen Modellen zeigten, dass die Entwicklung des komplexen inflammatorischen Prozesses einer Sepsis nicht nur durch das Ausmaß des auslösenden Insults (Verletzungsschwere) determiniert wird. Vielmehr muss die Frage gestellt werden, welche zusätzlichen Faktoren eine prädisponierende Bedeutung haben [153]. Unter Berücksichtigung, dass Beobachtungen bei Tierexperimenten nicht unmittelbar auf den menschlichen Organismus übertragen werden können, kann dennoch angenommen werden, dass auch beim Mehrfachverletzten neben dem ursächlichen Insult noch andere Faktoren entscheidenden Einfluss auf den posttraumatischen Verlauf haben. Neben Alter, Geschlecht, Verletzungsschwere besteht u.a. eine genetische Komponente, welche Einfluss auf die individuelle Immunantwort hat.

Die Frage nach dem Einfluss genetischer Faktoren, insbesondere Polymorphismen in Genen von Interleukinen, ist Gegenstand zahlreicher Studien. Assoziation zu den verschiedensten Outcomeereignissen, u.a. Sepsis und Mortalität an Kollektiven intensivpflichtiger Patienten, wurden bereits belegt [85, 169]. In der vorliegenden Studie wurde die Bedeutung der Polymorphismen -1087 und -597 des IL-10 Gens für das Risiko der Entwicklung einer posttraumatischen Sepsis beim Mehrfachverletzten untersucht. Im Rahmen der komplexen immunologischen Kaskade nach einem schweren Trauma stellen diese Polymorphismen, als Bestandteil der sogenannten „genetic factors“, einen kleinen Bruchteil der interindividuellen Variabilität der Immunantwort dar.

## 5.2 Diskussion der Methodik

### 5.2.1 Vorteile dieser Studie

Die vorliegende Studie ist eine prospektive und nichtinterventionelle Kohortenstudie. Das Patientenkollektiv dieser Studie ist kein „Mischkollektiv“ (internistische, allgemein-chirurgische, visceralchirurgische Patienten u.a.). Es setzt sich ausschließlich aus Mehrfachverletzten zusammen. Der Altersdurchschnitt von  $34,3 \pm 17,4$  Jahren ist gering und weist eine geringe Standardabweichung (Streuung) auf. Es wurden nur Patienten kaukasischer Herkunft eingeschlossen. Störfaktoren, durch unterschiedliche auslösende Insulte bzw. Grunderkrankungen und ethnische Einflüsse können daher nahezu ausgeschlossen werden.

### 5.2.2 Patientenkollektiv - ist die Stichprobe repräsentativ?

In Tabelle 5.1 sind Veröffentlichungen aufgeführt, deren Patientenkollektive sich ebenfalls nur aus Traumapatienten zusammensetzen. Die  $N = 119$  Traumapatienten der vorliegenden Studie hatten einen geringfügig niedrigeren Altersdurchschnitt ( $34,3 \pm 17,4$  Jahre) und geringfügig höhere Werte für die Scores zur Beurteilung der anatomischen (ISS) und physiologischen (APACHE II) Verletzungsschwere. Die Patientenkollektive können als vergleichbar angenommen werden.

<b>Autor und Durchführungszeitraum</b>	<b>ISS<sup>1</sup></b>	<b>APACHE II<sup>1</sup></b>	<b>N =</b>	<b>Männlich<sup>1</sup></b>	<b>Alter<sup>1</sup></b>
NAST-KOLB et al. [100], 1975 - 1980	29 ± 1	<sup>3</sup>	317	228(72%)	33 ± 1
1981 - 1985	28 ± 1	<sup>3</sup>	308	222(72%)	35 ± 1
1986 - 1990	28 ± 1	<sup>3</sup>	246	167(68%)	40 ± 1
1991 - 1997	27 ± 1	<sup>3</sup>	368	254(69%)	38 ± 1
1998 - 1999	31 ± 1	<sup>3</sup>	122	98(80%)	40 ± 2
NEIDHARDT et al. [103], 1994-1996	22,7 ± 0,6	13,2 ± 0,4	417	312(74,8%)	40,0 ± 0,9
ERTEL et al. [40], 1998	19,4 ± 10,1	12,3 ± 7,8	1278	915(71,6%)	40,8 ± 18,5
RIXEN et al. [121], 1993-1997	22,0 ± 13,0	<sup>3</sup>	2069 <sup>2</sup>	1448(70%)	39 ± 19
STASSEN et al. [140]	31,5	<sup>3</sup>	69	54(78,3%)	45,5
Vorliegende Studie: Polytraumastudie im UKB (1999-2001)	38,0 ± 13,2	20,8 ± 5,4	119	92(77,3%)	34,3 ± 17,4
<sup>1</sup> Mittelwerte und wenn aus der Veröffentlichung verfügbar deren Standardabweichung					
<sup>2</sup> Multicenterstudie aus 20 Kliniken, Erhebungszeitraum über 5 Jahre					
<sup>3</sup> diese Kriterien konnten den Veröffentlichungen nicht entnommen werden					

Tabelle 5.1: Vergleich des Patientenkollektives der vorliegenden Studie mit Kollektiven anderer Studien

Die Allel- und Genotypenfrequenzen des untersuchten Kollektivs waren bereits veröffentlichten Ergebnissen der Allel- und Genotypenverteilung anderer Studien ähnlich [37, 81, 155]. Wie bereits bei den Ergebnissen unter 4.2.2 und 4.3.2 gezeigt, bestanden zwischen den Patientengruppen mit unterschiedlichen Genotypen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Basisdaten (Alter, Geschlecht, Verletzungsschwere). Störende Einflüsse durch ein inhomogenes Patientenkollektiv können somit ausgeschlossen werden. Auf zusätzliche Untersuchungen der Genotypenverteilung nach Stratifizierung und (Sub-) Gruppierung des Kollektivs (z.B. hinsichtlich des Geschlechts, Alters, Verletzungsschwere etc.) wurde auf Grund des relativ geringen Stichprobenumfangs verzichtet.

### 5.2.3 KAPLAN-MEIER-Überlebensschätzer als Methode der Wahl?

Wie bereits unter 3.9.6 ausführlich vorgestellt, ist diese Methode nicht auf die Berechnung von Überlebenszeiten beschränkt. Sie ist durchaus geeignet, vergleichend für zwei Gruppen, die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten einer Sepsis zu berechnen. Zudem bietet sie den wertvollen Vorteil, die Patienten in die statistische Berechnung einzubeziehen, die früh und somit ohne die Entwicklung einer Sepsis verstarben. Diese Eigenschaft ist gerade bei einem Kollektiv von Traumapatienten zweckdienlich, da der Stichprobenumfang einer Unicenterstudie über einen Erhebungszeitraum von zwei Jahren von vornherein limitiert ist. Aus der eigenen Arbeitsgruppe konnten bereits Ergebnisse bezüglich des Outcomeparameters „MODS“ nach schwerem Trauma mit Hilfe dieses statistischen Verfahrens berechnet und veröffentlicht werden [133].

## 5.3 Diskussion der Ergebnisse

### 5.3.1 Wissenstand über die IL-10 Polymorphismen und die IL-10 Plasmakonzentration bei intensivpflichtigen Patienten

Die Polymorphismen -1087 und -597 des IL-10 Gens werden seit einigen Jahren hinreichend auf Assoziationen zu verschiedenen Erkrankungen untersucht. Experimentelle Studien schätzen den Einfluss der genetischen Komponente auf die IL-10 Produktion mit 50-75% ein [119, 165]. Studien an Kollektiven intensivpflichtiger bzw. mehrfachverletzter Patienten werden nachfolgend genauer betrachtet (siehe auch Tabelle 1.2).

LOWE et al. untersuchten die o.g. Promotorpolymorphismen und die zirkulierende IL-10 Plasmakonzentration auf Assoziationen zur Entwicklung einer Sepsis an  $N = 67$  intensivpflichtigen Patienten. Die intensivpflichtigen Patienten hatten signifikant niedrigere IL-10 Plasmakonzentrationen als die Kontrollen. Patienten, die eine Sepsis entwickelten, hatten bei Aufnahme auf die Intensivstation ebenfalls signifikant niedrigere IL-10 Plasmakonzentrationen als jene Patienten, die keine Sepsis entwickelten. Das Allel -597A war bei diesem Kollektiv intensivpflichtiger Patienten mit einer signifikant höheren Mortalität assoziiert, wenn die Ursache des Todes außer Betracht gelassen wurde. Für die

Entwicklung einer Sepsis konnten keine signifikanten Häufigkeitsverteilungen der Allele beobachtet werden [85].

REID et al. führten eine prospektive Analyse an  $N = 88$  intensivpflichtigen Patienten mit einem Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS) durch. Alle Patienten hatten ein MOD-Score  $> 15$ , ein schweres SIRS oder eine Sepsis. Zwischen diesen Patienten und den Kontrollen waren die Genotypen der IL-10 Polymorphismen signifikant unterschiedlich verteilt. Der Haplotyp GCC / GCC war bei den intensivpflichtigen Patienten ( $N = 88$ ), die ein MODS entwickelten, gegenüber einer Kontrollgruppe ( $N = 303$ ) signifikant rarifiziert ( $p < 0,001$ ). Für keinen IL-10 Genotyp konnte ein signifikanter Bezug hinsichtlich der Mortalität erfasst werden. Eine signifikante Assoziation zwischen IL-10 Genotypen und zirkulierenden IL-10 Plasmakonzentrationen konnte nicht nachgewiesen werden [117].

Bezüglich dieser beiden Studien ist zu berücksichtigen, dass es sich um „Mischkollektive“ handelt. Sie bestehen aus internistischen, allgemeinchirurgischen und traumatologischen Patienten. Das bedeutet, dass diese Kollektive Patienten verschiedener Altersgruppen mit unterschiedlichen Grunderkrankungen bzw. auslösenden Insulten bezüglich des Outcomeereignisses einer Sepsis bzw. eines MODS beinhalten. Das Patientenkollektiv von REID et al. setzte sich aus Patienten verschiedener ethnischer Herkunft zusammen. Weiterhin waren die Outcomeparameter (u.a. Mortalität, MODS) nicht auf den Parameter Sepsis fokussiert bzw. konnten konkret für den Parameter Sepsis keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden.

SCHAAF et al. führten eine klinisch prospektive Studie an einem Kollektiv von  $N = 69$  Patienten durch. Alle Patienten erfüllten die ACCP / SCCM Kriterien für die Diagnose einer Sepsis und hatten eine kulturell nachgewiesene (in Sputum, Blut oder Liquor) Streptococcus pneumoniae Infektion. Träger des Genotyps -1087GG hatten ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines septischen Schocks (Odds Ratio 6,1) [128].

Bei Untersuchungen von SCHRÖDER et al. an einer Kohorte von  $N = 119$  Mehrfachverletzten wurden bezüglich der Ausprägung eines MODS bei Trägern des Genotyps -597AC signifikant höhere MOD-Scores beobachtet. Diese Signifikanz hielt auch einer multivariaten Analyse stand [132].

Im Kontrast zu den Beobachtungen von LOWE et al. wurden bei Untersuchungen von NEIDHARDT et al. bei  $N = 417$  intensivpflichtigen Traumapatienten im Vergleich zu  $N = 137$  Kontrollen über einen Beobachtungszeitraum von 21 Tagen signifikant höhere IL-10 Plasmakonzentrationen gemessen. Die Traumapatienten zeigten am Tag ihrer Aufnahme die höchsten IL-10 Plasmakonzentrationen. Innerhalb der ersten 14 Tage waren die IL-10 Plasmakonzentrationen signifikant mit der Verletzungsschwere assoziiert. Schwer verletzte Patienten (ISS > 25 Punkte) hatten signifikant höhere IL-10 Plasmakonzentrationen als weniger schwer verletzte Patienten (ISS < 25 Punkte). Im Vergleich zu den Kontrollen zeigten auch die Patienten mit einem ISS unter 25 Punkten signifikant höhere IL-10 Plasmakonzentrationen. Verstorbene Patienten zeigten innerhalb der ersten drei Tage gegenüber den überlebenden Patienten einen signifikanten Anstieg der IL-10 Plasmakonzentration. Patienten, die eine Sepsis entwickelten, wiesen ebenfalls signifikant höhere IL-10 Plasmakonzentrationen an unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Trauma vor [103].

Zusammenfassend sind demnach unterschiedliche, zum Teil gegensätzliche Ergebnisse (insbesondere bezüglich der IL-10 Plasmakonzentrationen) erzielt worden [77, 124]. Eine Untersuchung der IL-10 Polymorphismen -1087 und -597 an einem Kollektiv, ausschließlich auf Grund einer Mehrfachverletzung intensivpflichtig gewordener Patienten, ist nach ausführlicher Literaturrecherche bisher nicht vorzuweisen [61].

### 5.3.2 Die Frage der klinischen Relevanz der Interleukin-10 Plasmakonzentration

Ein Zusammenhang zwischen verschiedenen Geno- bzw. Haplotypen und den damit assoziierten Plasmakonzentrationen verschiedener Zytokine *in vitro* ist bestätigt. Im Rahmen einer Diskussion bzw. Interpretation in Bezug auf das Outcome verschiedener Erkrankungen bzw. das Eintreten von Komplikationen wie SIRS, Sepsis, MODS etc. findet die Beachtung der Plasmakonzentration eines Zytokins bis zum heutigen Tage keine breite Akzeptanz. Die Plasmakonzentration spiegelt lediglich das zirkulierende Zytokin wider. Sie allein gibt keine Auskunft, ob die Zytokine frei oder gebunden an Trägermoleküle zirkulieren. Eine Ratio aus freiem und gebundenem Zytokin ist aussagekräftiger, jedoch wird der pathophysiologischen Rolle der zirkulierenden Zytokine insgesamt wenig

Bedeutung beigemessen, da die entscheidenden biologischen Effekte der Zytokine auf zellulärer und parenchymatöser Ebene auf dem auto- und parakrinem Wege ausgeübt werden [22, 151]. Die Konzentration von Zytokinen im Plasma sagt wenig über deren biologische Aktivität aus. Das komplexe Netzwerk aus Zytokinen sowie ihren Agonisten und Antagonisten findet bei der quantitativen Bestimmung eines Zytokins keine Berücksichtigung. Auch hier bedienen sich einige Autoren des Hilfsmittels von Ratios aus pro- und antiinflammatorischen Zytokinen (z.B. TNF-alpha / IL-10), welche eine grobe Orientierung bezüglich des zum Bestimmungszeitpunkt bestehenden inflammatorischen Status erlauben [93].

Ein Erklärungsmodell der Ursache für die verschiedenen, ja zum Teil sogar gegensätzlichen, Ergebnisse bezüglich der Interleukin-10 Plasmakonzentrationen verschiedener Autoren bietet die Modifikation der „two-hit“-Theorie von MOORE et al. entsprechend der Ausführungen nach MONNERET et al. (siehe Abbildung 5.1). In diesem Modell erfahren der zeitliche Verlauf des SIRS und CARS bzw. deren Intensität in Abhängigkeit von der Zeit eine bessere Beachtung. Der Übergang vom SIRS zum CARS ist fließend und zeitlich variabel (angedeutet durch die Unterbrechung der Zeitachse). Zudem verdeutlicht es, dass der inflammatorische Status (durchgezeichnete Kurve) stets die Summe aus parallel ablaufenden pro- und antiinflammatorischen Prozessen (gestrichelte Kurven) ist [93]. Demnach ist zu erwarten, dass man zu unterschiedlichen Zeitpunkten auch unterschiedliche Plasmakonzentrationen verschiedener Zytokine messen wird, aber keine bzw. nur geringe Auskunft über die resultierende inflammatorische Aktivität erhält.

Die Zuordnung von sogenannten „High-Producern“ und „Low-Producern“ zu verschiedenen Genotypen beruht auf experimentellen Untersuchungen *in vitro*. Ein geeignetes Messinstrument zur exakten Bestimmung der qualitativen Auswirkungen auf den inflammatorischen Status für die entsprechenden IL-10 Geno- bzw. Phänotypen *in vivo* ist nicht vorhanden. Der postulierte Einfluss der Genotypen auf die inflammatorische „Kapazität“ des Individuums kann also nur ansatzweise, aber nicht allein über die „Brücke“ der Plasmakonzentrationen erklärt bzw. bewiesen werden.

Zudem ist der Einfluss einer weiteren Komponente, nämlich der molekularen Mechanismen der Signalübertragung für die verschiedenen Effektorfunktionen des Inter-



leukin-10 zur Zeit noch unklar. Bekannt ist, dass die unterschiedlichen Mechanismen der Signaltransduktion verschiedene, zum Teil sogar gegensätzliche Effektorfunktionen des Interleukin-10 vermitteln (siehe 1.3.6) [109]. Inwieweit bestimmte Arten und Wege der Signalübertragung durch die in dieser Studie betrachteten Polymorphismen und die damit assoziierte quantitative Interleukin-10 Produktion beeinflusst werden, bleibt offen.

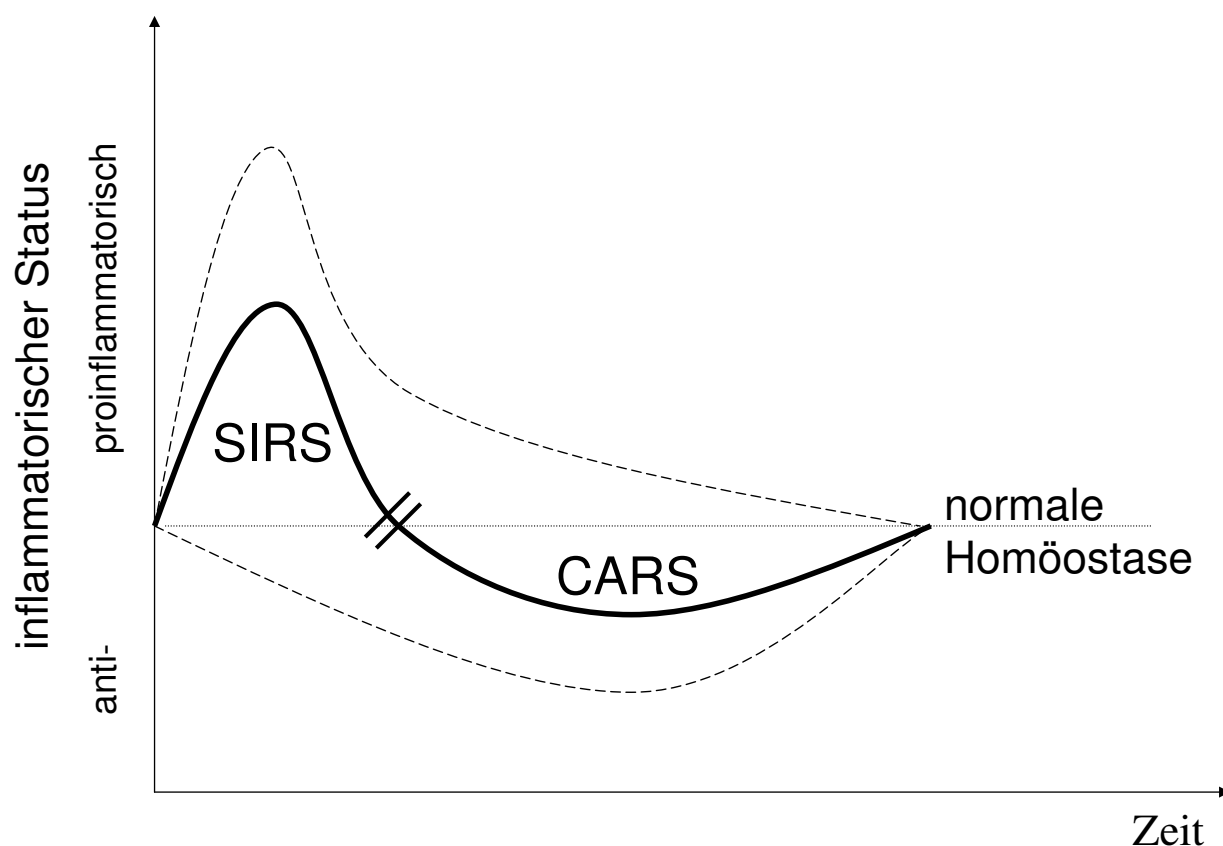


Abbildung 5.1: Aus pro- und antiinflammatorischer Aktivität resultierender inflammatorischer Status [93]

### 5.3.3 Keine signifikanten Assoziationen für den Polymorphismus -597

Für den Polymorphismus -597 konnten keine signifikanten Verteilungen der Allel- und Genotypen für den Outcomeparameter Sepsis beobachtet werden. Für den Genotyp -597AA wurde bei den Patienten mit einer Sepsis kein Vorkommen verzeichnet. Der Alleltyp -597A (demnach der Genotyp -597AC) kam hingegen bei  $N = 11$  von  $N = 37$  Patienten mit einer Sepsis und bei  $N = 27$  von  $N = 82$  Patienten ohne Sepsis vor. Die

daraus resultierenden Frequenzen von 0,297 bzw 0,329 zeigen eine ähnliche Häufigkeitsverteilung ( $p = 0,659$ ).

Die bereits oben erwähnten Untersuchungen von LOWE et al. an einem Patientenkollektiv von  $N = 67$  intensivpflichtigen Patienten bestätigen die Häufigkeitsbeobachtungen dieser Studie. Bei der Gruppe der Patienten mit Sepsis ( $N = 31$ ) konnte der Genotyp -597AA nur bei einem Patienten beobachtet werden.  $N = 10$  Patienten hatten den Genotyp -597AC. Das entspricht Frequenzen von 0,027 bzw. 0,322. Signifikante Assoziationen zur Entwicklung einer Sepsis konnten auch hier nicht beobachtet werden [85].

Assoziationen der Polymorphismen bezüglich der Outcomereignisse des „Überlebens“ bzw. „Versterbens“ wie in o.g. Studie von LOWE et al. (Träger des Allels A hatten, ohne Betrachtung der Ursache des Versterbens, eine signifikant höhere Mortalität) wurden in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Ein Zusammenhang zwischen dem Genotyp und dem Outcome kann nur konstruiert werden, wenn eine Untersuchung hinsichtlich des postulierten Einflusses der Polymorphismen erfolgt. Die Berücksichtigung der entstandenen Komplikationen, welche die häufigste Ursache für das Versterben nach einem schweren Trauma (Entwicklung von Komplikationen wie Sepsis, septischer Schock, MODS) darstellen, ist für eine aussagekräftige Berechnung notwendig. Um die Outcomeparameter „septischer Schock“, „Mortalität“ und „MODS“ am vorliegenden Patientenkollektiv zu untersuchen, wäre eine zusätzliche Stratifizierung der  $N = 37$  septischen Patienten notwendig. Hierauf wurde auf Grund des relativ geringen Stichprobenumfanges verzichtet.

### 5.3.4 Signifikante Assoziationen für den Polymorphismus -1087

Das Auftreten des Genotyps -1087AA ( $N = 7$  von  $N = 37$ ) hatte in der Gruppe der septischen Patienten eine signifikant niedrigere Frequenz als die Genotypen -1087AG und -1087GG. Der Umkehrschluss bedeutet, das Allel G trat bei insgesamt  $N = 30$  Patienten mit Sepsis signifikant häufiger auf, als das Allel A ( $p = 0,032$ ). Das entspricht einer Frequenz von 0,811 für das Allel -1087G bei den septischen Patienten.

Für den Genotyp -1087AA kommen nur die Haplotypen ATA/ATA, ATA/ACC, ACC/ACC in Betracht, wobei angemerkt sei, dass der Haplotyp ATA/ATA in der Gruppe der sep-

tischen Patienten nicht vorkam (siehe 4.3.3). Das Allel -1087G ermöglicht die Genotypen GCC/GCC, GCC/ACC, GCC/ATA. Das bedeutet, dass Träger des Allels -1087G zumindest heterozygot für den Haplotyp GCC sind, welcher nachweislich mit einer höheren Interleukin-10 Produktion *in vitro* einhergeht („high producer“, siehe 1.4.2). Im Umkehrschluß sind Träger des Genotyps -1087AA „low producer“.

Die signifikante Rarifizierung des Genotyps -1087AA in der Gruppe der septischen Patienten könnte ein Hinweis auf eine schützende Funktion dieses Genotypen sein. Die signifikante Häufung des Allel -1087G in der Gruppe der septischen Patienten, könnte auf eine prädisponierende Funktion dieses Allels, eine Sepsis zu entwickeln, hinweisen.

SCHRÖDER et al. und SCHAAF et al. konnten ähnliche Beobachtungen veröffentlichen. SCHROEDER et al. untersuchten an einem Patientenkollektiv ( $N = 119$  Schwerstverletzte) den Outcomeparameter „posttraumatisches ARDS“. Hier hatten Patienten mit dem Genotyp -1087GG ein signifikant höheres Risiko, ein posttraumatisches ARDS zu entwickeln [133]. In Untersuchungen von SCHAAF et al. an einem Kollektiv von  $N = 69$  septischen Patienten mit kulturellem Nachweis von *Streptococcus pneumoniae* hatten Patienten mit dem Genotyp -1087GG ein signifikant höheres Risiko, einen septischen Schock zu entwickeln [128]. Konträre Ergebnisse liefert eine Untersuchung von REID et al. an  $N = 88$  intensivpflichtigen Patienten, bei der der Haplotyp IL-10 GCC/GCC bei Patienten, die ein MODS entwickelten signifikant ( $p < 0,001$ ) geringer repräsentiert war, als in der gesunden Kontrollgruppe ( $N = 303$ ).

Ein pathophysiologisches Erklärungsmodell für die Ergebnisse von SCHROEDER et al. und SCHAAF et al. und die Ergebnisse der vorliegenden Studie bietet die bereits erläuterte „two-hit“-Theorie mit der Modifikation dieses Modells nach MENNERET et al. (siehe 5.3.2 und Abbildung 5.1). Das Allel -1087G ist, wie bereits erwähnt, mit einer höheren IL-10 Produktion *in vitro* vergesellschaftet als das Allel -1087A [27, 37]. Träger des Allels -1087G scheinen in der Lage zu sein, eine ausgeprägtere antiinflammatorische Antwort und somit ein ausgeprägteres CARS (Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome, siehe 1.2.2) zu entwickeln. Somit wäre für diese Genotypen eine größere Wahrscheinlichkeit gegeben, auf dem Boden dieser relativen Immunsuppression im Rahmen eines ausgeprägteren CARS eine Sepsis zu bekommen.

Letztlich ergibt sich die Frage, warum Untersuchungen an intensivpflichtigen Patienten so verschiedene, teilweise sogar gegensätzliche Ergebnisse zeigen.

Eine Erklärung bieten einerseits die unterschiedlich zusammengesetzten Patientenkollektive und andererseits das Fehlen einheitlich definierter Outcomeparameter. Viele Patientenkollektive setzen sich aus internistischen, visceralchirurgischen und traumatologischen Patienten zusammen. Sie sind auf Grund ihrer Heterogenität bezüglich des auslösenden Insults und ihrer demographischen Daten nicht mit dem Kollektiv der vorliegenden Studie vergleichbar. Es ist davon auszugehen, dass das Auftreten einer Sepsis nach einer Mehrfachverletzung einem anderen zeitlichen Verlauf folgt als die Entwicklung einer Sepsis bei internistischen Patienten. Demzufolge sind auch die Dynamik und Intensität der pro- und antiinflammatorischen Phasen verschieden. Leider fehlen vergleichbare Studien mit homogenen Kollektiven, insbesondere Kollektiven, die nur aus Schwerstverletzten bestehen und zudem den zeitlichen Verlauf des kontinuierlichen Entwicklungsprozesses SIRS → Sepsis → septischer Schock sowie des infektiösen und nichtinfektiösen Multiorganversagens berücksichtigen.

Experimentelle Untersuchungen von LATIFI et al. haben gezeigt, dass Interleukin-10 den zeitlichen Verlauf einer Sepsis beeinflusst. In einem tierexperimentellen Modell wurde bei IL-10<sup>-/-</sup> Mäusen und entsprechenden Wildtypen (IL-10<sup>+/+</sup>) durch Ligatur der zuführenden Gefäße eine ischämische Nekrose des Dickdarms (Blinddarm, Caecum) induziert und distal der Ligatur eine Perforation gesetzt. Die IL-10 defizitären Mäuse verstarben durchschnittlich nach 10 Stunden, die IL-10<sup>+/+</sup> Mäuse erst nach 30 Stunden. Auf die ersten 30 Stunden betrachtet, hatten die IL-10 defizitären Mäuse zudem eine um 67% signifikant höhere Mortalität ( $p < 0,001$ ). Wenn der Zeitfaktor außer Acht gelassen wird, besteht zwischen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied in der Gesamtmortalität nach über 120 Stunden. IL-10 hat in dieser Untersuchung in den ersten Stunden einen protektiven Effekt, darüberhinaus aber keinen signifikanten Einfluss auf die Gesamtsterblichkeit. Die Behandlung der Mäuse, 5 Stunden nachdem Läsionen gesetzt wurden, mit rekombinanten IL-10 (rhIL-10) verzögerte ebenfalls den Zeitpunkt der Mortalität und verringerte die Rate der Gesamtmortalität. Interleukin-10 scheint den

Zeitpunkt des Überganges von der Sepsis in den (irreversiblen) septischen Schock zu modulieren [77].

Bei der anfangs aus Summation von pro- und antiinflammatorischen Komponenten resultierenden Hyperinflammation scheint IL-10 als antiinflammatorischer Gegenspieler notwendig und protektiv in Bezug auf das Überleben der ersten Stunden. Im Falle eines schweren Traumas haben Patienten eine, mit der Verletzungsschwere korrelierende, erhöhte IL-10 Plasmakonzentration mit einem punctum maximum am ersten Tag [103]. Obwohl das Interleukin-10 in der frühen Phase eine nachweislich schützenden Funktion hat, kann das Allel -1087G anhand der vorliegenden Untersuchung trotzdem als genetischer Marker für ein erhöhtes Risiko, im zeitlichen Verlauf nach einem schweren Trauma eine Sepsis zu entwickeln, betrachtet werden.

## 5.4 Schlussfolgerung

Das vorliegende Patientenkollektiv von  $N = 119$  Schwerstverletzten ist hinsichtlich pathophysiologischer und demographischer Daten mit anderen Studien vergleichbar. Mit Hilfe des statistischen Verfahrens nach KAPLAN und MEIER konnte eine signifikante Häufung von Trägern des Allels -1087G im Vergleich zu den Nicht-Trägern dieses Allels (Genotyp -1087AA) in der Gruppe der septischen Patienten nachgewiesen werden (log-rank-Test  $p = 0,032$ , multivariate COX-HAZARD-Regressionsanalyse  $p = 0,011$ ).

Ein Erklärungsmodell hierfür bietet die Vorstellung, dass Träger des Allels -1087G eine ausgeprägtere antiinflammatorische Reaktion (CARS, „two-hit“-Theorie nach MOORE et al., modifiziert nach MENNERET et al.) entwickeln. Für den klinischen Verlauf nach einem schweren Trauma könnte diese erworbene Immunsuppression für die Entwicklung einer Sepsis prädisponieren.

Auf Grund des geringen Stichprobenumfanges dieser Untersuchung konnten keine Stratifizierungen des septischen Patientenkollektivs ( $N = 37$ ) vorgenommen werden, die eine Aufschlüsselung zwischen Patienten mit Sepsis und septischen Schock bzw. eine Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufes erlauben. Der derzeitigen Erkenntnislage zufolge, besteht die absolute Notwendigkeit der Betrachtung des immunologischen Status und der eintretenden Komplikationen in Abhängigkeit der der Zeit. Insbesondere die Untersuchungen von LATIFI et al. haben gezeigt, dass die o.g. Stratifizierung vor dem Hintergrund, dass Interleukin-10 einen entscheidenden Einfluss auf den Zeitpunkt des Eintretens eines septischen Schocks hat, dringend angeraten sind.

Zur weiteren Verifizierung des Einflusses der IL-10 Polymorphismen nach einem schwerem Trauma sind zusätzliche Studien notwendig, welche für die entsprechenden Genotypen die Outcomeparameter SIRS, Sepsis, septischer Schock sowie infektiöses und nichtinfektiöses MODS und deren Mortalität separat als Funktion der Zeit analysieren. Auf Grund der dazu notwendigen Stratifizierung scheint die Realisierung eines repräsentativen Patientenkollektivs nur im Rahmen einer Multicenterstudie möglich.

## 6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit sollte an einer Kohorte von  $N = 119$  schwerstverletzten Patienten (ISS  $\geq 16$  Punkte) die Polymorphismen IL-10-1087 und IL-10-597 in der Promotorregion des Interleukin-10 Gens hinsichtlich ihrer Fähigkeit als genetischer Marker für das Auftreten einer Sepsis nach schwerem Trauma untersuchen.

Die Basisdaten (demographische Verteilung, Verletzungsschwere) des vorliegenden Patientenkollektivs sind mit Kollektiven anderer Studien zu verschiedenen Outcomeparametern nach schwerem Trauma vergleichbar.  $N = 43$  der  $N = 119$  Patienten starben im Verlauf,  $N = 15$  Patienten in den ersten 24 Stunden nach dem Trauma.  $N = 37$  Patienten entwickelten posttraumatisch eine Sepsis.

Die univariate KAPLAN-MEIER-Analyse zeigte eine signifikant niedrigere Frequenz des Genotyps -1087AA bei den Patienten, die eine Sepsis entwickelten (0,189;  $p = 0,032$ ). Das Allel -1087G hatte bei den Patienten, die posttraumatisch eine Sepsis entwickelten, eine signifikant häufigere Frequenz (0,811;  $p = 0,032$ ). Für alle anderen Geno- und Alleltypen der beiden Polymorphismen fanden sich keine signifikanten Verteilungsmuster. Der Genotyp -597AA wurde im gesamten Kollektiv nur vier Mal beobachtet. Bei Patienten mit einer Sepsis wurde dieser Genotyp gar nicht nachgewiesen.

Ein Homogenitätsnachweis für die jeweiligen Kollektive aller Genotypen ist erfolgt.

Der Schockindex ( $p < 0,0001$ ), der ISS ( $p = 0,001$ ) und die Rarifizierung des Genotyps -1087AA (gleichbedeutend mit der Häufung des Allels -1087G) in der Gruppe der septischen Patienten ( $p = 0,011$ ) lieferten auch in der multivariaten Analyse signifikante Ergebnisse.

Die signifikante Rarifizierung des Genotyps -1087AA bzw. signifikante Häufung des Alleltyps -1087G in der Gruppe der septischen Patienten könnten ein Hinweis für eine schützende Funktion des Genotyp -1087AA bzw. eine prädisponierende Funktion des Allels -1087G, eine Sepsis zu entwickeln, sein.

Ein pathophysiologisches Erklärungsmodell für dieses beobachtete Phänomen liefert die „two-hit“-Theorie (nach MOORE et al., modifiziert nach MONNERET et al.). Unter Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufes nach einem schweren Trauma könnte durch die vermehrte antiinflammatorische Aktivität der Träger des Allels -1087G auf Grund eines dadurch ausgeprägteren CARS (Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome) eine Prädisposition bestehen, auf dem Boden einer relativen Immunsuppression eine Sepsis zu entwickeln.

Der Einfluss der Polymorphismen auf molekulare Mechanismen der Signalübertragung für unterschiedliche Effektorfunktionen des Interleukin-10 ist zur Zeit noch unklar. Verschiedene Mechanismen der Signaltransduktion vermitteln unterschiedliche, zum Teil sogar gegensätzliche Effektorfunktionen des Interleukin-10.

Zur weiteren Verifizierung des Einflusses der IL-10 Polymorphismen nach einem schwerem Trauma sind zusätzliche Studien notwendig, welche für die entsprechenden Genotypen die Outcomeparameter SIRS, Sepsis, septischer Schock sowie infektiöses und nichtinfektiöses MODS und deren Mortalität als Funktion der Zeit analysieren. Auf Grund der dazu notwendigen Stratifizierung scheint die Realisierung eines repräsentativen Patientenkollektivs nur im Rahmen einer Multicenterstudie möglich.



## 7 Literaturverzeichnis

- [1] ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE COMMITTEE: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. In: *Crit Care Med* 20 (1992), S. 864–874
- [2] ADAMS, V.I. ; CARRUBBA, C.: The abbreviated injury scale: Application to autopsy data. In: *Am J Forensic Med Pathol* 19 (1998), Nr. 3, S. 246–251
- [3] ANGUS, D. ; WAX, R.S.: Epidemiology of sepsis: An update. In: *Crit Care Med* 29 (2001), Nr. 7 (Suppl.), S. 109–116
- [4] ANGUS, D.C. ; BURGNER, D. ; WUNDERINK, R.G.: The PIRO concept: P is for predisposition. In: *Crit Care* 7 (2003), S. 248–251
- [5] ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF AUTOMOTIVE MEDICINE: The abbreviated injury scale, 1990 revision. In: *Association for the Advancement of Automotive Medicine, Des Plaines, Illinois* (1990)
- [6] BABU, B.M. S. ; REDDY, B. P. ; PRIYA, V.H. ; MUNSHI, A. ; RANI, H. S. ; LATHA, G. S. ; RAO, V.D. ; JYOTHY, A.: Cytokine Gene Polymorphisms in the Susceptibility to Acute Coronary Syndrome. In: *Genet Test Mol Biomarkers* (28. Feb 2012, elektronisch veröffentlicht)
- [7] BAKER, C.C. ; OPPENHEIMER, L. ; STEPHENS, B.: Epidemiology of trauma deaths. In: *Am J Surg* 140 (1980), S. 144
- [8] BAKER, S.P. ; O'NEILL, B. ; HADDON, W. ; LONG, W.B.: The injury severity score: A method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. In: *J Trauma* 14 (1974), S. 187–196

- [9] BARDENHEUER, M. ; OBERTACKE, U. ; WAYDHAS, C. ; NAST-KOLB, D. ; AG POLYTRAUMA DER DGU: Epidemiologie des Schwerverletzten. In: *Der Unfallchirurg* 103 (2000), S. 355–363
- [10] BAUER, M. ; BRUNKHORST, F. ; WELTE, T. ; GERLACH, H. ; REINHART, K.: Sepsis - Aktuelle Aspekte zu Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. In: *Der Anaesthesist* 55 (2006), S. 835–845
- [11] BONE, R.C.: Sir Isaac Newton, Sepsis, SIRS, and CARS. In: *Crit Care Med* 24 (1996), S. 1125–1128
- [12] BONE, R.C.: Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. In: *Crit Care Med* 24 (1996), S. 163–172
- [13] BRIGHTBILL, H.D. ; PLEVY, S.E. ; MODLIN, R.L. ; SMALE, S.T.: A prominent role for Sp1 during lipopolysaccharide-mediated induction of the IL- 10 promotor in macrophages. In: *J Immunol* 164 (2000), S. 1940–1951
- [14] BRUN-BUISSON, C.: The epidemiology of the systemic inflammatory response. In: *Intensive Care Med* 26 (2000), S. 64–74
- [15] BRUN-BUISSON, C. ; DOYON, F. ; CARLET, J.: Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults: A multicenter prospective study in intensive care units. In: *JAMA* 274 (1995), S. 968–974
- [16] BUELENS, C. ; WILLEMS, F. ; G., Pierard ; DELVAUX, A. ; VELU, T. ; GOLDMANN, M.: IL-10 inhibits the primary allogeneic T-cell response to human peripheral blood dendritic cells. In: *Adv Exp Med Biol* 378 (1995), S. 363–365
- [17] BUSSOLATI, B. ; MARIANO, F. ; MONTRUCCIO, G. ; PICCOLI, G. ; CAMUSSI, G.: Modulatory effect of interleukin- 10 on the production of platelet-activating factor and superanions by human leucocytes. In: *Immunology* 90 (1997), S. 440–444

- [18] CAPSONI, F. ; MINONZIO, F. ; ONGARI, A.M. ; CARBONELLI, V. ; GALLI, A. ; ZANUS-SI, C.: IL-10 up-regulates human monocyte phagocytosis in the presence of IL-4 and IFN-gamma. In: *J Leukoc Biol* 58 (1995), S. 351–358
- [19] CASSATELLA, M.A. ; MEDA, L. ; BONORA, S. ; CESKA, M. ; CONSTANTIN, G.: Interleukin-10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. In: *J Exp Med* 178 (1993), S. 2207–2211
- [20] CASSATELLA, M.A. ; MEDA, L. ; GASPERINI, S. ; CALZETTI, F. ; BONORA, S.: Interleukin-10 (IL-10) upregulates IL-1 receptor antagonist production from lipopolysaccharid-stimulated human polymorphonuclear leucocytes by delaying mRNA degradation. In: *J Exp Med* 179 (1994), S. 1695–1699
- [21] CAUX, C. ; MASSACRIER, C. ; VANBERVLIET, B. ; BARTHELEMY, C. ; LIU, Y.J. ; BANCHEREAU, J.: Interleukin-10 inhibits T-cell alloreaction induced by human dendritic cells. In: *Int Immunol* 6 (1994), S. 1177–1185
- [22] CAVAILLON, J.M. ; MUNOZ, C. ; FITTING, C.: Circulating cytokines: The tip of the iceberg? In: *Circ Shock* 38 (1992), S. 145–152
- [23] CENTER FOR DISEASE CONTROL: Increase in national hospital discharge survey rates for septicaemia: United States, 1979-1987. In: *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 39 (1990), S. 31–34
- [24] CHEN, W.F. ; ZLOTNIK, A.: Interleukin 10: A novel cytotoxic T-cell differentiation factor. In: *J Immunol* 147 (1991), S. 528–534
- [25] CICHON, S. ; FREUDENBERG, J. ; PROPPING, P. ; NOETHEN, M.M.: Variabilitaet im menschlichen Genom. In: *Dtsch Arztebl* 99 (2002), S. 3091–3101
- [26] COX, D.R.: Regression model and life tables. In: *JR Stat Soc* 34 (1972), S. 187–200 and 248–275

- [27] CRAWLEY, E. ; KAY, R. ; SILLIBOURNE, J. ; PATEL, P. ; HUTCHINSON, I. ; WOO, P.: Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin- 10 transkription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. In: *Arthritis & Rheumatism* 42 (1999), S. 1101–1108
- [28] CUNHA, F.Q. ; MONCADA, S. ; LIEW, F.Y.: Interleukin-10 (IL-10) inhibits the induction of nitric oxide synthase by interferon-gamma in murine macrophages. In: *Biochem Biophys Res Commun* 182 (1992), S. 1155–1159
- [29] D'ALFONSO, S. ; RAMPI, M. ; ROLANDO, V. ; GIORDANO, M. ; MOMIGLIANO-RICHIARDI, P.: New polymorphisms in the IL-10 promotor region. In: *Genes Immun* 1 (2000), S. 231–233
- [30] DE WAAL MALEFYT, R. ; ABRAMS, J. ; BENNET, B. ; FIGDOR, C.G. ; DE VRIES, J.E.: IL-10 inhibits cytokine synthesis by human monocytes: An autoregulatory role of IL- 10 produced by monocytes. In: *J Exp Med* 174 (1991), S. 1209–1220
- [31] DE WAAL MALEFYT, R. ; DE VRIES, J.E.: Interleukin-10, ed. B.Aggarwal, J. Gutterman, pp. 19-42. In: *Cambridge MA: Blackwell Sci.* (1996)
- [32] DEUTSCHE SEPSIS GESELLSCHAFT: Prävalenzstudie der deutschen Sepsis Gesellschaft. In: <http://www.sepsis-gesellschaft.de>
- [33] DHAINAUT, J.F. ; ANTONELLI, M. ; WRIGHT, P. ; DESACHY, A. ; REIGNIER, J. ; LAVOUE, S. ; CHARPENTIER, J. ; BELGER, M. ; COBAS-MEYER, M. ; MAIER, C. ; MIGNINI, M.A. ; JANES, J.: Extended drotrecogin alfa (activated) treatment in patients with prolonged septic shock. In: *Crit Care* 13 (2009), Nr. 3, S. 1185–1195
- [34] DICKENSHEETS, H.L. ; FREEMAN, S.L. ; SMITH, M.F. ; DONNELLY, R.P.: Interleukin-10 upregulates tumor necrosis factor receptor type-II (p75) gene expression in endotoxin-stimulated human monocytes. In: *Blood* 90 (1997), S. 4162–4171
- [35] DING, L. ; SHEVACH, E.M.: IL-10 inhibits mitogen-induced T-cell proliferation by selectively inhibiting macrophage costimulatory function. In: *J Immunol* 148 (1992), S. 3133–3139

- [36] DRESING, K. ; STÜRMER, K.M.: Leitlinien der DGU: <http://www.dgu-online.de/de/leitlinien/polytrauma.jsp>. (2002)
- [37] EDWARDS-SMITH, C.J. ; JONSSON, J.R. ; PURDIE, D.M. ; BANSAL, A. ; SHORTHOUSE, C. ; POWELL, E.E.: Interleukin-10 promotor polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis C to interferon alpha. In: *Hepatology* 30 (1999), S. 526–530
- [38] EKKERNKAMP, A. ; WICK, M. ; MUHR, G.: Verletzungsmuster und Verletzungshäufigkeiten in der Notfallmedizin. In: *Osteo Int* 3 (1996), S. 141
- [39] ENK, A.H. ; KATZ, S.I.: Identifikation and induction of keratinocyte-derived IL-10. In: *J Immunol* 149 (1992), S. 92–95
- [40] ERTEL, W. ; KEEL, M. ; MARTY, D. ; HOOP, R. ; SAFRET, A. ; STOCKER, R. ; TRENTZ, O.: Die Bedeutung der Ganzkoerperinflammation bei 1278 Traumapatienten. In: *Der Unfallchirurg* 101 (1998), S. 520–526
- [41] ERTEL, W. ; TRENTZ, O.: Polytrauma und Multiorgan-Dysfunktionssyndrom (MODS). Definition - Pathophysiologie - Therapie. In: *Zentralblatt fuer Chirurgie* 119 (1994), S. 159 – 167
- [42] ESKDALE, J. ; GALLAGHER, G. ; VERWEIJ, C.L. ; KEIJSERS, V. ; WESTERNDORP, R.G.J. ; HUIZINGA, T.W.: Interleukin-10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. In: *Proc Nat Acad Sci USA* 95 (1998), S. 9465–9470
- [43] ESKDALE, J. ; KUBE, D. ; TESCH, H. ; GALLAGHER, G.: Mapping of the human IL-10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence. In: *Immunogenetics* 46 (1997), S. 120–128
- [44] FEARON, D.T. ; LOCKSLEY, R.M.: The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. In: *Science* 272 (1996), S. 50–53
- [45] FINBLOOM, D.S. ; WINESTOCK, K.D.: IL-10 induces the tyrosine phosphorylation of tyk2 and Jak1 and the differential assembly of STAT1-alpha and STAT3 complexes in human T- cells and monocytes. In: *J Immunol* 155 (1995), S. 1079–1090

- [46] FIORENTINO, D.F. ; BOND, M.W. ; MOSMANN, T.R.: Two types of mouse helper T-cell. IV. Th2-clones secrete a factor, that inhibits cytokine production by Th1-clones. In: *J Exp Med* 170 (1989), S. 2081–2095
- [47] FIORENTINO, D.F. ; ZLOTNIK, A. ; VIEIRA, P. ; MOSMANN, T.R. ; HOWARD, M. ; MOORE, K.W. ; O’GARRA, A.: IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1-cells. In: *J Immunol* 146 (1991), S. 3444–3451
- [48] FISHER, C.J. ; DHAINAUT, J.F.A. ; OPAL, S.M.: Recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome. In: *JAMA* 271 (1994), S. 1836–1840
- [49] FLACH, R. ; MAJETSCHAK, M. ; HEUKAMP, T. ; JENNISSEN, V. ; FLOHÉ, S. ; BOERGERMANN, J. ; OBERTACKE, U. ; SCHADE, F.U.: Relation of ex vivo stimulated blood cytokine synthesis to post-traumatic sepsis. In: *Cytokine* 11 (1999), S. 173–178
- [50] FLUCKIGER, A.C. ; GARRONE, P. ; DURAND, I. ; J.P., Galizzi ; BANCHEREAU, J.: Interleukin-10 (IL-10) upregulates functional high affinity IL-2 receptors on normal and leukemic B lymphocytes. In: *J Exp Med* 178 (1993), S. 1473–1481
- [51] GALLAGHER, P. M. ; LOWE, G. ; FITZGERALD, T. ; BELLA, A. ; GREENE, C. M. ; MCELVANEY, N. G. ; O’NEILL, S. J.: Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. In: *Thorax* 58 (2003), S. 154–156
- [52] GERLACH, H. ; DHAINAUT, J. F. ; HARBARTH, S.: The PIRO concept: R is for response. In: *Crit Care* 7 (2003), S. 256–259
- [53] GERLACH, H. ; TOUSSAINT, S.: Warum Change-Management die Letalität der Sepsis senken kann. In: *Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* (2006), S. 614–623
- [54] GIANNOUDIS, P.V.: Current concepts of the inflammatory response after major trauma: An update. In: *Injury* 34 (2003), S. 397–404

- [55] GONG, M.N. ; THOMPSON, B.T. ; WILLIAMS, P.L. ; ZHOU, W. ; WANG, M.Z. ; POTHIER, L. ; CHRISTIANI, D.C.: Interleukin-10 polymorphisms in position -1082 and acute respiratory distress syndrome. In: *Eur Respir J* 27 (2006), S. 674–681
- [56] GORIS, J.A. ; BOEKKORST, T.P.A. ; NUYTINCK, J.K.S. ; GIMBRERE, J.S.F.: Multiple-organ failure: generalized autodestructive inflammation. In: *Archives of Surgery* 120 (1985), S. 1109–1115
- [57] HART, P.H. ; HUNT, E.K. ; BONDER, C.S. ; WATSON, C.J. ; FINLAY-JONES, J.J.: Regulation of surface and soluble TNF receptor expression on human monocytes and synovial fluid macrophages by IL- 4 and IL- 10. In: *J Immunol* 157 (1996), S. 3672–3680
- [58] HO, A.S-Y. ; LIU, Y. ; KHAN, T.A. ; HSU, D.H. ; BAZAN, J.F. ; MOORE, K.W.: A receptor for interleukin-10 is related to interferon receptors. In: *Proc Nat Acad Sci USA* 90 (1993), S. 11267–11271
- [59] HO, A.S-Y. ; WEI, S.H-Y. ; MUI, A.L-F. ; MIYAJIMA, A. ; MOORE, K.W.: Functional regions of the mouse IL-10 receptor cytoplasmatic domain. In: *Mol Cell Biol* 15 (1995), S. 5043–5053
- [60] HODDER, R.V. ; HALL, R. ; RUSSELL, J.A. ; FISHER, H.N. ; LEE, B.: Early drotrecogin alpha (activated) administration in severe sepsis is associated with lower mortality: a retrospective analysis of the Canadian ENHANCE cohort. In: *Crit Care* 13(3) (2009), S. R78
- [61] HOLMES, C.L. ; RUSSEL, J.A. ; WALLEY, K.R.: Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock. In: *Chest* 124 (2003), Nr. 3, S. 1103115
- [62] HSIEH, C.S. ; HEIMBERGER, A.B. ; GOLD, J.S. ; O’GARRA, A. ; MURPHY, K.M.: Differential regulation of T-helper phenotype development by interleukins-4 and - 10 in an alpha beta T-cell-receptor transgenic system. In: *Proc Nat Acad Sci* 89 (1992), S. 6065–6069

- [63] HSU, D.H. ; MOORE, K.W. ; SPITS, H.: Differential effects of interleukin-4 and -10 on interleukin-2-induced interferon-gamma synthesis and lymphokine-activated killer activity. In: *Int Immunol* 4 (1992), S. 563–569
- [64] ITOH, K. ; HIROHATA, S.: The role of IL-10 in human B- cell activation, proliferation, and differentiation. In: *J Immunol* 154 (1995), S. 4341–4351
- [65] JOYCE, D.A. ; STEER, J.H.: IL-4, IL-10 and IFN-gamma have distinct, but interacting, effects on differentiation-induced changes in TNF-alpha and TNF receptor release by cultured human monocytes. In: *Cytokine* 8 (1996), S. 49–57
- [66] KAPLAN, E.L. ; MEIER, P.: Nonparametric estimation from incomplete observations. In: *J Am Stat Assoc* 53 (1958), S. 457–481
- [67] KASAMA, T. ; STRIETER, R.M. ; LUKACS, N.W. ; BURDICK, M.D. ; KUNKEL, S.L.: Regulation of neutrophil-derived chemokine expression by IL-10. In: *J Immunol* 152 (1994), S. 3559–3569
- [68] KELLER, W. K.: Rating the severity of tissue damage. I. The abbreviated injury scale. In: *JAMA* 215 (1971), Nr. 2, S. 277–280
- [69] KIM, J.M. ; BRANNAN, C.I. ; COPELAND, N.G. ; JENKINS, N.A. ; KHAN, T.A. ; MOORE, K.W.: Structure of the mouse interleukin-10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes. In: *J Immunol* 148 (1992), S. 3618–3623
- [70] KNAUS, W.A. ; DRAPER, E.A. ; WAGNER, D.P. ; ZIMMERMAN, J.E.: APACHE II: A severity of disease classification system. In: *Crit Care Med* 13 (1985), S. 818 – 829
- [71] KOPPELMANN, B. ; NEEFJES, J.J. ; DE VRIES, J.E. ; DE WAAL MALEFYT, R.: Interleukin-10 downregulates MHC Class II peptide complexes at the plasma membrane of monocytes by affecting arrival and recycling. In: *Immunity* 7 (1997), S. 861–871
- [72] KOPYDLOWSKI, K.M. ; SALKOWSKI, C.A. ; CODY, M.J. ; VAN ROOIJEN, N. ; MAJOR, J. ; HAMILTON, T.A. ; VOGEL, S.N.: Regulation of macrophage chemokine



- expression by lipopolysaccharide in vitro and in vivo. In: *J Immunol* 163 (1999), S. 1537–1544
- [73] KOTENKO, S.V. ; KRAUSE, C.D. ; IZOTOVA, L.S. ; POLLACK, B.P. ; WU, W. ; PESTKA, S.: Identification and functional characterization of a second chain of the interleukin-10 receptor complex. In: *EMBO J* 16 (1997), S. 5894–5903
- [74] KRAMER, C.F. ; BARANCIK, J.I. ; THODE, H.C.: Improving the sensitivity and specificity of the abbreviated injury scale coding system. In: *Public Health Rep* 105 (1990), Nr. 4, S. 334–340
- [75] KSONTINI, R. ; MACKAY, S.L. ; MOLDAWER, L.L.: Revisiting the role of tumor necrosis factor alpha and the response to surgical injury and inflammation. In: *Archives of Surgery* 133 (1998), S. 558–567
- [76] LAI, C-F. ; RIPPERGER, J. ; MORELLA, K.K. ; JURLANDER, J. ; HAWLEY, T.S. ; CARSON, W.E. ; KORDULA, T. ; CALIGIURI, M.A. ; HAWLEY, R.G. ; FEY, G.H. ; BAUMANN, H.: Receptors for interleukin (IL)-10 and IL-6-type cytokines use similar signaling mechanisms for inducing transcription through IL- 6 response elements. In: *J Biol Chem* 271 (1996), S. 13968–13975
- [77] LATIFI, S.Q. ; O'RIORDAN, M.A. ; LEVINE, A.D.: Interleukin-10 controls the onset of irreversible septic shock. In: *Infect Immun* 70 (2002), S. 4441–4446
- [78] LE MOINE, O. ; MARCHANT, A. ; DURAND, F. ; ICKX, B. ; PRADIER, O. ; BELGHITI, J. ; ABRAMOWICZ, D. ; GELIN, M. ; GOLDMAN, M. ; DEVIERE, J.: Systemic release of interleukin-10 during orthotopic liver transplantation. In: *Hepatology* 20 (1994), S. 889–892
- [79] LEVY, Y. ; BROUET, J.C.: Interleukin-10 prevents spontaneous death of germinal center B-cells by induction of the bcl-2 protein. In: *J Clin Invest* 93 (1994), S. 424–428
- [80] LINDERHOLM, M. ; AHLM, C. ; SETTERGREN, B. ; WAAGE, A. ; TARNVIK, A.: Elevated plasma levels of tumor necrosis factor (TNF)-alpha, soluble TNF receptors,

interleukin (IL)-6, and IL-10 in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. In: *J Infect Dis* 173 (1996), S. 38–43

- [81] LIO, D. ; SCOLA, L. ; CRIVELLO, A. ; COLONNA-ROMANO, G. ; CANDORE, G. ; BONAFÈ, M. ; CAVALLONE, L. ; FRANCESCHI, C. ; CARUSO, C.: Gender-specific association between -1082 IL-10 promotor polymorphism and longevity. In: *Genes and Immunity* 3 (2002), S. 30–33
- [82] LIU, Y. ; DE WAAL MALEFYT, R. ; BRIERE, F. ; PARHAM, C. ; BRIDON, J-M. ; BANCHEREAU, J. ; MOORE, K.W. ; XU, J.: The Epstein-Barr virus interleukin-10 (IL-10) homolog is a selective agonist with impaired binding to the IL-10 receptor. In: *J Immunol* 158 (1997), S. 604–613
- [83] LIU, Y. ; WEI, S.H-Y. ; HO, A.S-Y. ; DE WAAL MALEFYT, R. ; MOORE, K.W.: Expression cloning and characterization of a human interleukin-10 receptor. In: *J Immunol* 152 (1994), S. 1821–1829
- [84] LIVINGSTON, D.H. ; MOSENTHAL, A.C. ; DEITCH, E.A.: Sepsis and multiple organ dysfunction syndrome: A clinical-mechanistic overview. In: *New Horizons* 3 (1995), S. 257
- [85] LOWE, P.R. ; GALLEY, H.F. ; ABDEL-FATTAH, A. ; WEBSTER, N.R.: Influence of interleukin- 10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients. In: *Crit Care Med* 31 (2003), Nr. 1, S. 34–38
- [86] MACATONIA, S.E. ; DOHERTY, T.M. ; KNIGHT, S.C. ; O’GARRA, A.: Differential effect of interleukin-10 on dendritic cell-induced T-cell proliferation and IFN-gamma production. In: *J Immunol* 150 (1993), S. 3755–3765
- [87] MACNEIL, I.A. ; SUDA, T. ; MOORE, K.W. ; MOSMANN, T.R. ; ZLOTNIK, A.: IL-10 a novel cytokine growth cofactor for mature and immature T-cells. In: *J Immunol* 145 (1990), S. 4167–4173

- [88] MAJETSCHAK, M. ; OBERTACKE, U. ; WAYDHAS, C. ; NAST-KOLB, D. ; SCHADE, F.U.: Mediationenmodulation bei Sepsis und Multiorganversagen. In: *Der Unfallchirurg* 103 (2000), S. 903–907
- [89] MARFAING-KOKA, A. ; MARAVIC, M. ; HUMBERT, M. ; GALANAUD, P. ; EMILIE, D.: Contrasting effects of IL-4, IL-10, and corticosteroids on RANTES production by human monocytes. In: *Int Immunol* 8 (1996), S. 1587–1597
- [90] MARSHALL, J.C.: Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. In: *Crit Care Med* 29 (2001), Nr. 7, S. 99–106
- [91] MERTZ, P.M. ; DEWITT, D.L. ; STETLER-STEVENSON, W.G. ; WAHL, L.M.: Interleukin-10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. In: *J Biol Chem* 269 (1994), S. 21322–21329
- [92] MITCHELL, M. L. ; MITCHELL, P. F. ; MARSHALL, J. C. ; ABRAHAM, E. ; ANGUS, D. ; COOK, D. J. ; COHEN, J. ; OPAL, S. M. ; VINCENT, J. L. ; RAMSAY, G.: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Definitions Conference. In: *Crit Care Med* 31 (2003), Nr. 4, S. 1250–1255
- [93] MONNERET, G. ; VENET, F. ; PACHOT, A. ; LEPAPE, A.: Monitoring immune dysfunction in the septic patient: A new skin for the old ceremony. In: *Mol Med* 14 (2008), S. 64–78
- [94] MOORE, F.A. ; SAUAI, A. ; MOORE, E.E. ; HAENEL, J.B. ; BURCH, J.M. ; LEZOTTE, D.C.: Postinjury multiple organ failure: A bimodal phenomenon. In: *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 40 (1996), S. 501–512
- [95] MOORE, K.W. ; VIEIRA, P. ; FIORENTINO, D.F. ; TROUNSTINE, M.L. ; KHAN, T.A. ; MOSMANN, T.R.: Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to the Epstein Barr virus gene BCRF1. In: *Science* 248 (1990), S. 1230–1234
- [96] MOSMANN, T.R. ; SCHUMACHER, J.H. ; FIORENTINO, D.F. ; LEVERAH, J. ; MOORE, K.W. ; BOND, M.W.: Isolation of monoclonal antibodies specific for IL-4, IL-5, IL-6,

and a new Th2-specific cytokine (IL-10), cytokine synthesis inhibitory factor, by using a solid phase radioimmunoassay. In: *J Immunol* 145 (1990), S. 2938–2945

- [97] MULLIS, K.B. ; FALOONA, F.A.: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. In: *Methods Enzymol* 155 (1987), S. 335–350
- [98] MURRAY, C.J.L. ; MATHERS, C.D. ; STEIN, C.: The global burden of disease 2000 in aging populations (online). In: [www.hsph.harvard.edu/burdenofdisease/publications/papers/gbd2000.pdf](http://www.hsph.harvard.edu/burdenofdisease/publications/papers/gbd2000.pdf)
- [99] MUTSCHLER, W. ; MARZI, I.: Polytraumamanagement. In: *Zentralbibl Chir* 121 (1996), S. 895
- [100] NAST-KOLB, D. ; AUFMKOLK, M. ; RUCHOLTZ, S. ; OBERTACKE, U. ; WAYDHAS, C.: Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma. In: *J Trauma* 51 (2001), Nr. 5, S. 835 – 842
- [101] NAST-KOLB, D. ; WAYDHAS, C. ; STEPERT, C. G. ; SCHNEIDER, I. ; TRUPKA, A. ; RUCHHOLTZ, S. ; ZETTL, R. ; SCHWEIBERER, L. ; JOCHUM, M.: Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries. In: *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 42 (1997), S. 446–455
- [102] NATHENS, A.B. ; MARSHALL, J.C.: Sepsis, SIRS, and MODS: What's in a name? In: *World Journal of Surgery* 20 (1996), S. 386–391
- [103] NEIDHARDT, R. ; KEEL, M. ; STECKHOLZER, U. ; SAFRET, A. ; UNGETHUEM, U. ; TRENTZ, O. ; ERTEL, W.: Relationship of interleukin-10 plasma levels to severity of injury and clinical outcome in injured patients. In: *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 42 (1997), Nr. 5, S. 863–871

- [104] NIEDERMAN, M.S. ; A.M., Fein: Sepsis syndrome, the adult respiratory distress syndrome, and nosocomial pneumonia: A common clinical sequence. In: *Clin Chest Med* 11 (1990), S. 633–656
- [105] NIRO, H. ; OTSUKA, T. ; ABE, M. ; SATOH, H. ; OGO, T. ; NAKANO, T. ; FURUKAWA, Y. ; NIHO, Y.: Epstein-Barr virus BCRF1 gene product (viral interleukin-10) inhibits superoxide anion production by human monocytes. In: *Lymphokine Cytokine Res* 11 (1992), S. 209–214
- [106] NIRO, H. ; OTSUKA, T. ; KUGA, S. ; NEMETO, Y. ; ABE, M. ; HARA, N. ; NAKANO, T. ; OGO, T. ; NIHO, Y.: IL-10 inhibits prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-stimulated monocytes. In: *Int Immunol* 6 (1994), S. 661–664
- [107] OBERHOLZER, A. ; KEEL, M. ; ZELLWEGER, R. ; STECKHOLZER, U. ; TRENTZ, O. ; ERTEL, W.: Incidence of septic complications and multiple organ failure in severely injured patients is sex specific. In: *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 48 (2000), Nr. 5, S. 932–937
- [108] OBERHOLZER, A. ; OBERHOLZER, C. ; MOLDAWER, L.L.: Sepsis syndromes: Understanding the role of innate and acquired immunity. In: *Shock* 16 (2001), S. 83–96
- [109] O'FARREL, A-M. ; LIU, Y. ; MOORE, K.W. ; MUI, A.L-F.: IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signalling mechanisms: evidence for stat3-dependent and -independent pathways. In: *EMBO J* 17 (1998), S. 1006–1018
- [110] O'GARRA, A. ; STAPLETON, G. ; DHAR, V. ; PEARCE, M. ; SCHUMACHER, J. ; RUGO, H. ; BARBIS, D. ; STALL, A. ; CUPP, J. ; MOORE, K. ; VIEIRA, P. ; MOSMANN, T.R. ; WHITMORE, A. ; ARNOLD, L. ; HAUGHTON, G. ; HOWARD, M.: In: *Int Immunol* 2 (1990), S. 821–832
- [111] PETO, R. ; PETO, J.: Asymptotically efficient rank invariant test procedures. In: *JR Stat Soc Assoc* 135 (1972), S. 185–206

- [112] PITTET, D. ; RANGEL-FRAUSTO, M.S. ; AL., N. L.: Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis, and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. In: *Intensive Care Med* 21 (1995), S. 302–309
- [113] POWELL, M.J. ; THOMPSON, S.A. ; TONE, Y. ; WALDMANN, H. ; TONE, M.: Post-transcriptional regulation of IL-10 gene expression through sequences in the 3'-untranslated region. In: *J Immunol* 165 (2000), S. 292–296
- [114] PRUITT, J.H. ; COPELAND, E.M. ; MOLDAWER, L.L.: Interleukin-1 and Interleukin-1 antagonism in sepsis systemic inflammatory response syndrome, and septic shock. In: *Shock* 3 (1995), S. 235
- [115] RANGEL-FRAUSTO, M.S. ; PITTET, D. ; COSTIGAN, M. ; HWANG, T. ; DAVIS, C.S. ; WENZEL, R.P.: The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). In: *JAMA* 273 (1995), S. 117–123
- [116] REGEL, G. ; LOBENHOFFER, P. ; LEHMANN, U. ; PAPE, H.C. ; POHLEMANN, T. ; TSCHERNE, H.: Ergebnisse in der Behandlung Polytraumatisierter - Eine vergleichende Analyse von 3406 Faellen zwischen 1972 und 1991. In: *Der Unfallchirurg* 96 (1993), Nr. 350
- [117] REID, C.L. ; PERREY, C. ; PRAVICA, V. ; HUTCHINSON, I.V. ; CAMPHELL, T.: Genetic variation in proinflammatory and antiinflammatory cytokine production in multiple organ dysfunction syndrome. In: *Crit Care Med* 30 (2002), Nr. 10, S. 2216–2221
- [118] REINHART, K. ; MENGES, T. ; GARDLUND, B. ; HARM-ZWAVELING, J. ; SMITHES, M. ; VINCENT, J.-L. ; TELLADO, J. M. ; SALGADO-REMIGIO, A. ; ZIMLICHMAN, R. ; WITHINGTON, S. ; TSCHAIKOWSKY, K. ; BRASE, R. ; DAMAS, P. ; KUPPER, H. ; KEMPENIAND, J. ; EISELSTEIN, J. ; KAUL, M.: Randomized, placebo-controlled trial of the anti-tumor necrosis factor antibody fragment afelimomab in hyperinflammatory response during severe sepsis: The RAMSES Study. In: *Crit Care Med* 29 (2002), Nr. 4, S. 765–769

- [119] REUSS, E. ; FIMMERS, R. ; KRUGER, A. ; BECKER, C. ; C.RITTNER ; HOHLER, T.: Differential regulation of interleukin-10 production by genetic and environmental factors: A twin study. In: *Genes Immun* (2002), Nr. 3, S. 407–413
- [120] RIVAS, J.M. ; ULLRICH, S.E.: Systemic suppression of delayed-type hypersensitivity by supernatants from UV-irradiated keratinocytes. An essential role for keratinocyte-derived IL- 10. In: *J Immunol* 149 (1992), Nr. 12, S. 3865–3871
- [121] RIXEN, D. ; RAUM, M. ; BOUILLON, B. ; SCHLOSSER, L.E. ; NEUGEBAUER, E.: Prognoseabschaetzung des Schwerverletzten - Eine Analyse von 2069 Patienten des Traumaregisters der DGU(Arbeitsgemeinschaft Polytrauma der Deutschen Gesellschaft fuer Unfallchirurgie). In: *Der Unfallchirurg* 104 (2001), S. 230 – 239
- [122] RIXEN, D. ; SIEGEL, J.H. ; FRIEDMAN, H.P.: Sepsis/SIRS: Physiologic classification, severity stratification, relation to cytokine elaboration and outcome prediction in posttrauma critical illness. In: *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 41 (1996), S. 581–598
- [123] RODIG, S.J. ; MERAZ, M.A. ; WHITE, J.M. ; LAMPE, P.A. ; RILEY, J.K. ; ARTHUR, C.D. ; KING, K.L. ; SHEEHAN, K.C. ; YIN, L. ; PENNICA, D. ; JOHNSON, E.M. J. ; SCHREIBER, R.D.: Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic response. In: *Cell* 93 (1998), S. 373–383
- [124] RODRIGUEZ-GASPAR, M. ; SANTOLARIA, F. ; JARQUE-LOPEZ, A. ; GONZALES-REIMERS, E. ; MILENA, A. ; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.J. de la Valga E. ; GOMEZ-SIVENT, J.L.: Prognostic value of cytokines in SIRS general medical patients. In: *Cytokine* 15 (2001), S. 232–236
- [125] ROSSI, D.L. ; VICARI, A.P. ; FRANZ-BACON, K. ; MCCLANAHAN, T.K. ; ZLOTNIK, A.: Identification through bioinformatics of two new macrophage proinflammatory human chemokines MIP-3a and MIP-3 $\beta$ . In: *J Immunol* 158 (1997), S. 1033–1036

- [126] SACHIDANANDAM, R. ; WEISSMANN, D. ; SCHMIDT, S.C. ; KAKOL, J.M. ; STEIN, L.D. ; MARTH, G. ; SHERRY, S. ; MULLIKIN, J.C. ; MORTIMORE, B.J. ; WILLEY, D.L. ; HUNT, S.E. ; COLE, C.G. ; COGGILL, P.C. ; RICE, C.M. ; NING, Z. ; ROGERS, J. ; BENTLEY, D.R. ; KWOK, P.Y. ; MARDIS, E.R. ; YEH, R.T. ; SCHULTZ, B. ; COOK, L. ; DAVENPORT, R. ; DANTE, M. ; FULTON, L. ; HILLIER, L. ; WATERSTON, R.H. ; MCPHERSON, J.D. ; GILMAN, B. ; SCHAFFNER, S. ; VAN ETTEN, W.J. ; REICH, D. ; HIGGINS, J. ; DALY, M.J. ; BLUMENSTIEL, B. ; BALDWIN, J. ; STANGE-THOMANN, N. ; ZODY, M.C. ; LINTON, L. ; LANDER, E.S. ; ATSHULER, D.: A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. In: *Nature* 409 (2001), S. 928–
- [127] SALVO, I. ; DE CIAN, W. ; MUSICCO, M. ; AL. et: The italien sepsis study: Preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. In: *Intensive Care Med* 21 (1995), S. 244–249
- [128] SCHAAF, B.M. ; BOEHMKE, F. ; ESNAASHARI, H. ; SEITZER, U. ; KOTHE, H. ; MAASS, M. ; ZABEL, P. ; DALHOFF, K.: Pneumococcal septic shock is associated with the interleukin-10-1082 gene promotor polymorphism. In: *Am J Respir Crit Med* 168 (2003), S. 476–480
- [129] SCHLAG, G. ; REDL, H.: Mediators of injury and inflammation. In: *World Journal of Surgery* 20 (1996), S. 406–410
- [130] SCHOTTMUELLER, H.: Wesen und Behandlung der Sepsis. In: *Verh Dtsch Ges Inn Med* 31 (1914), S. 257–280
- [131] SCHROEDER, J. ; KAHLKE, V. ; STAUBACH, K.H. ; ZABEL, P. ; STUEBER, F.: Gender differences in human sepsis. In: *Archives of Surgery* 133 (1998), S. 1200–1205
- [132] SCHROEDER, O. ; LAUN, R.A. ; HELD, B. ; EKKERNKAMP, A. ; SCHULTE, K-M.: Association of Interleukin-10 promotor polymorphism with the incidence of multiple organ dysfunction following major trauma: Results of a prospective pilot study. In: *Shock* 21 (2004), Nr. 4, S. 306–310



- [133] SCHROEDER, O. ; SCHULTE, K.M. ; SCHROEDER, J. ; EKKERNKAMP, A. ; LAUN, R.A.: The -1082 interleukin-10 polymorphism is associated with acute respiratory failure after major trauma: A prospective cohort study. In: *Surgery* 143 (2008), Nr. 2, S. 233–242
- [134] SEDER, R.A. ; PAUL, W.E. ; DAVIS, M.M. ; FAZEKAS DE ST. GROTH, B.: The presence of interleukin-4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4+ T-cells from T-cell receptor transgenic mice. In: *J Exp Med* 176 (1992), Nr. 4, S. 1091–1098
- [135] SHERRY, R.M. ; CUE, J.I. ; GODDARD, J.K. ; PARRAMORE, J.B. ; DIPIRO, J.T.: Interleukin-10 is associated with the development of sepsis in trauma patients. In: *J Trauma* 40 (1996), S. 613–617
- [136] SMAIL, N. ; MESSIAH, A. ; EDOUARD, A. ; DESCORPS-DECLERE, A. ; DURANTEAU, J. ; VIGNE, B. ; MIMOZ, O. ; SAMII, K.: Role of systemic inflammatory response syndrome and infection in the occurrence of early multiple organ dysfunction syndrome following severe trauma. In: *Intensive Care Med* 21 (1995), S. 813–816
- [137] SPENCER, S.D. ; DI MARCO, F. ; HOOLEY, J. ; PITTS-MEEK, S. ; BAUER, M. ; RYAN, A.M. ; SORDAT, B. ; GIBBS, V.C. ; AGUET, M.: The orphan receptor CRF2-4 is an essential subunit of the interleukin-10 receptor. In: *J Exp Med* 187 (1998), S. 571–578
- [138] SPRANG, S.R. ; BAZAN, J.F.: Cytokine structural taxonomy and mechanisms of receptor engagement. In: *Curr Opin Struct Biol* 3 (1993), S. 815–827
- [139] STANILOVA, S.A. ; MITEVA, L.D. ; KARAKOLEV, Z.T. ; STEFANOV, C.S.: Interleukin-10-1082 promoter polymorphism in association with cytokine production and sepsis susceptibility. In: *Intensive Care Med* 32 (2006), Nr. 2, S. 260–266
- [140] STASSEN, N.A. ; BREIT, C.M. ; NORFLEET, L.A. ; POLK, H.C.: IL-18 promoter polymorphisms correlate with the development of post-injury sepsis. In: *Surgery* 134 (2003), Nr. 2, S. 351–356

- [141] STATISTISCHES BUNDESAMT: In: *www.gbe-bund.de* (2001)
- [142] STATISTISCHES BUNDESAMT: In: *www.gbe-bund.de* (2006)
- [143] STATISTISCHES BUNDESAMT METZLER-POESCHEL STUTTGART: (1998)
- [144] TAESDALE, G. ; JENNETT, B.: Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. In: *Lancet* 13 (1974), Nr. 2, S. 81–84
- [145] TAGA, K. ; TOSATO, G.: IL- 10 inhibits human T-cell proliferation and Il-2 production. In: *J Immunol* 148 (1992), S. 1143–1148
- [146] TALMOR, M. ; HYDO, L. ; BARIE, P.S. ; FCCM: Relationship of systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction, length of stay, and mortality in critical surgical illness. In: *Archives of Surgery* 134 (1999), S. 81–87
- [147] TAN, J.C. ; BRAUN, S. ; RONG, H. ; DIGIACOMO, R. ; DOLPHIN, E. ; BALDWIN, S. ; NARULA, S.K. ; ZAVODNY, P.J. ; CHOU, C-C.: Characterization of recombinant extracellular domain of human interleukin-10 receptor. In: *J Biol Chem* 270 (1995), S. 12906–12911
- [148] TAN, J.C. ; INDELICATO, S. ; NARULA, S.K. ; ZAVODNY, P.J. ; CHOU, C-C.: Characterization of interleukin-10 receptors on human and mouse cells. In: *J Biol Chem* 268 (1993), S. 053–059
- [149] TANIYAMA, T. ; TAKAI, S. ; MIYAZAKI, E. ; FUKUMURA, R. ; SATO, J. ; KOBAYASHI, Y. ; HIRAKAWA, T. ; MOORE, K.W. ; YAMADA, K.: The human interleukin-10 receptor gene maps to chromosome 11q23.3. In: *Hum Genet* 95 (1995), S. 99–101
- [150] TE VELDE, A. ; DE WAAL MALEFYT, R. ; R.J., Huijbens ; DE VRIES, J.E. ; FIGDOR, C.G.: IL-10 stimulates monocytes Fc gamma R surface expression and cytotoxic activity. Distinct regulation of antibody-dependent cellular cytotoxicity by IFN-gamma, IL- 4, and IL- 10. In: *J Immunol* 149 (1992), S. 4048–4052

- [151] TETTA, C. ; BELLOMO, R. ; D'INTINI, V. ; DE NITTI, C. ; INGUAGGIATO, P. ; BREN-DOLAN, A. ; RONCO, C.: Do circulating cytokines really matter in sepsis. In: *Kidney International* 63 (2003), Nr. Suppl. 84, S. 69–71
- [152] TONE, M. ; POWELL, M.J. ; TONE, Y. ; THOMPSON, S.A. ; WALDMANN, H.: IL-10 gene expression is controlled by the transcription factors Sp1 and Sp3. In: *J Immunol* 165 (2000), S. 286–291
- [153] TRENTZSCH, H. ; STEWART, D. ; PAIDAS, C.N. ; DE MAIO, A.: The combination of polymicrobial sepsis and endotoxin results in an inflammatory process that could not be predicted from the independent insults. In: *Journal of Surgical Research* 111 (2002), S. 203–208
- [154] TSCHERNE, H.: Stress tolerance of patients with multiple injuries and its significance for operative care. In: *Langenbecks Arch Chir* 364 (1984), S. 71–77
- [155] TURNER, D.M. ; WILLIAMS, D.M. ; SANKARAN, D. ; LAZARUS, M. ; SINNOTT, P.J. ; HUTCHINSON, I.V.: An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene Promotor. In: *Eur J Immunogen* 24 (1997), S. 1–8
- [156] VAN DEVENTER, S.J.H. ; PAJKRT, D.: Neutrophil adhesion molecules and MOF. In: *Intensive Care Med* 23 (1997), S. 487–488
- [157] VIEIRA, P. ; DE WAAL MALEFYT, R. ; DANG, M.N. ; JOHNSON, K. ; KASTELEIN, R. ; FIORENTINO, D.F. ; DE VRIES, J.E. ; RONCAROLO, M.G. ; MOSMANN, T.R. ; MOORE, K.W.: Isolation and expression of human cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF/IL- 10) cDNA clones: homology to Epstein-Barr virus open reading frame BCRFI. In: *Proc Nat Acad Sci USA* 88 (1991), Nr. 1172-1176
- [158] VINCENT, J. L. ; OPAL, S. M. ; TORRES, A.: The PIRO concept: I is for infection. In: *Crit Care* 7 (2003), S. 252–255
- [159] VINCENT, J. L. ; WENDON, J. ; GROENEVELD, J.: The PIRO concept: O is for organ dysfunction. In: *Crit Care* 7 (2003), S. 260–264

- [160] WALTER, M.R. ; NAGABHUSHAN, T.L.: Crystal structure of interleukin-10 reveals an interferon-gamma-like fold. In: *Biochemistry* 34 (1995), S. 12118–12125
- [161] WARREN, H.S. ; SUFFREDINI, A.F. ; EICHACKER, P.Q. ; MUNFORD, R.S.: Risks and benefits of activated protein C treatment for severe sepsis. In: *N Engl J Med* 347 (2002), Nr. 13, S. 1027–1030
- [162] WAYDHAS, C. ; NAST-KOLB, D. ; TRUPKA, A. ; ZETTL, R. ; KICK, M. ; WIESHOLLER, J. ; SCHWEIBERER, L. ; JOCHUM, M.: Posttraumatic inflammatory response, secondary Operations, and late multiple organ failure. In: *The Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care* 40 (1996), S. 623–630
- [163] WEBER-NORDT, R.M. ; RILEY, J.K. ; GREENLUND, A.C. ; MOORE, K.W. ; DARNELL, J.E. ; SCHREIBER, R.D.: Stat3 recruitment by two distinct ligand-induced tyrosine phosphorylated docking sites in the IL- 10 receptor intracellular domain. In: *J Biol Chem* 271 (1996), S. 27954–27961
- [164] WEHINGER, J.W. ; GOUILLEUX, F. ; GRONER, B. ; FINKE, J. ; MERTELSMANN, R. ; WEBER-NORDT, R.M.: IL-10 induces DNA binding activity of three STAT proteins (Stat1, Stat3, Stat5) and their distinct combinatorial assembly in the promoters of selected genes. In: *FEBS Lett* 394 (1006), S. 365–370
- [165] WESTERNDORP, R.G.J. ; LANGERMANS, J.A.M. ; T.W.G., Huizinga. ; ELOUALI, A.H. ; VERWEIJ, C.L. ; VANDENBROUCKE, J.P.: Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. In: *Lancet* 349 (1997), S. 170–173
- [166] WHEELER, A.P. ; BERNARD, G.R.: Treating patients with severe sepsis. In: *New England Journal of Medicine* 340 (1999), S. 207–214
- [167] WICHMANN, M.W. ; INTHORN, D. ; ANDRESS, H.-J. ; SCHILDBERG, F.W.: Incidence and mortality of severe sepsis in surgical intensive care patients: the influence of patient gender on disease process and outcome. In: *Intensive Care Med* 26 (2000), S. 167–172

- [168] WICK, M. ; EKKERNKAMP, A. ; MUHR, G.: Epidemiologie des Polytraumas. In: *Chirurg* 68 (1997), S. 1053–1058
- [169] WUNDERINK, R.G. ; WATERER, G.W.: Genetics of sepsis and pneumonia. In: *Curr Opin Crit Care* 9 (2003), S. 384–389
- [170] ZDANOV, A. ; SCHALK-HIHI, C. ; GUSTCHINA, A. ; TSANG, M. ; WEATHERBEE, J. ; WLODAWER, A.: Crystal structure of interleukin-10 reveals the functional dimer with an unexpected topological similarity to interferon-gamma. In: *Structure* 3 (1995), S. 591–601
- [171] ZDANOV, A. ; SCHALK-HIHI, C. ; WLODAWER, A.: Crystal of human interleukin-10 at 1.6 Å resolution and a model of a complex with its soluble receptor. In: *Protein Sci* 5 (1996), S. 1955–1962
- [172] ZENI, F. ; FREEMAN, B. ; NATANSON, C.: Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: A reassessment. In: *Crit Care Med* 25 (1997), S. 1095–1100

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius, Maßeinheit
µg	Mikrogramm, Maßeinheit
µl	Mikroliter, Maßeinheit
µmol	Mikromol, Maßeinheit
µmol/l	Mikromol je Liter, Maßeinheit für Konzentrationen
A	Adenin, Purinbase
ACC	Haplotyp mit den Allelen -1087A, -824C und -597C
ACCP / SCCM	American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine
AF	Atemfrequenz
Ag	chemisches Symbol für Silber
AIS	Abbreviated Injury Score
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II
APC	antigenpräsentierende Zellen
ATA	Haplotyp mit den Allelen -1087A, -824T und -597A
bcl-2	Apoptosefaktor, Onkogen
BE	Base Excess
bp	Basenpaare, base pairs
B-Zellen	B-Lymphozyten
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin, Pyrimidinbase
CARS	Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome
CD4+	Cluster of Differentiation, Leukozytenoberflächenantigene
CD8+	Cluster of Differentiation, Leukozytenoberflächenantigene

CD16+	Cluster of Differentiation, Leukozytenoberflächenantigene
CD64+	Cluster of Differentiation, Leukozytenoberflächenantigene
cDNA	complementary DNA, komplementär zu mRNA
CRP	C-reaktives Protein, Akutphaseprotein
CSIF	Cytokine Synthesis Inhibiting Factor, im eigentlichen Sinne IL- 10
CT	Computertomographie
d.h.	das heißt
DC	Dendritic Cells, dendritische Zellen
DGU	Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie
dl	Deziliter, Maßeinheit
DNA	Desoxyribonukleinsäure
e <sup>-</sup>	Elektron
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, Athylendiamintetraessigsäure
et al.	et alei, und andere
FiO <sub>2</sub>	Sauerstofffraktion der Inspirationsluft
g	Formelzeichen für die Erdbeschleunigung
g	Gramm, Maßeinheit
G	Guanin, Purinbase
G	Gravitationskonstante G
GCC	Haplotyp mit den Allelen -1087G, -824C und -597C
GCS	Glasgow Coma Scale
G-CSF	Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor
ggf.	gegebenenfalls
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor
H <sub>2</sub> O	Wasser
HCl	Chlorwasserstoff(säure)
HF	Herzfrequenz
Hk	Hämatokrit

IFN-gamma	Interferon gamma, Zytokin
IgG, IgM, IgA	Immunglobuline
IL-1 bis 18	Interleukin-1 bis -18, Zytokine, von Leukozyten sezernierte Kommunikationsproteine
IL- 10R	Interleukin-10 Rezeptor
IL- 10R1	ligandenbindende Einheit des IL- 10R
IL- 10R2	akzessorisches Rezeptorprotein des IL- 10R
ISS	Injury Severity Score
ITS	Intensivstation
Jak1, Jak2	Januskinase 1 bzw. 2, Tyrosinkinase
kDa	Kilodalton, Maßeinheit
kPa	Kilopascal, Maßeinheit
l	Liter, Maßeinheit
Log	Logarithmus
MAD oder MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
M-CSF	Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor
MCV	Mean Corpuscular Volume, mittleres Erythrozyteneinzelvolumen
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter, Maßeinheit
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule, Maßeinheit
mmol/l	Millimol je Liter, Maßeinheit für Konzentrationen
MnI I	Restriktionsenzym
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome
MOD-Score	Multiple Organ Dysfunction Score
MOF	Multiple Organ Failure
mol	Maßeinheit
Mol	molekulare Einheit der Stoffmenge
mRNA	messenger RNA
nm	Nanometer, Maßeinheit



NO	Stickstoffoxid
NYHA	New York Heart Association
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OH	Hydroxygruppe
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PEEP	Positive Endexpiratory Pressure
pH	pondus Hydrogenii, Maß für die Wasserstoffionenkonzentration
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
Rpm	Rotationen pro Minute
RSA I	Restriktionsenzym
SD	standard deviation, Standardabweichung
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
sIL- 10R1	lösliche Form des IL- 10R
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
stat1,stat2,stat3	signal transducer and activator of transcription, Transkriptionsfaktoren
sog.	sogenannte
STR	Short Tandem Repeats, Mikrosatelliten
T	Thymin, Pyrimidinbase
TGF-beta	Transforming Growth Factor beta, Zytokin
TH <sub>0</sub> -Zellen	nicht determinierte T-Helferzelle
TH <sub>1</sub> -Zellen	Subpopulation der T-Zellen
TH <sub>2</sub> -Zellen	Subpopulation der T-Zellen

TNF	Tumornekrosefaktor, Zytokin
T-Zellen	T-Lymphozyten
u.a.	unter anderem
U/l	Unit / Liter, Maßeinheit für enzymatische Aktivität
UKB	Unfallkrankenhaus Berlin
UV-Licht	Ultraviolettlicht, Spektralbereich elektromagnetischer Wellen von 400-100nm
VNTR	Variable Number Of Tandem Repeats, Minisatelliten
vs.	versus
WHO	World Health Organisation
ZVD	zentraler Venendruck
ZVK	zentraler Venenkatheter

## Abbildungsverzeichnis

1.1	SIRS, CARS und MODS nach MOORE et al. . . . . .	14
1.2	SIRS, CARS und MODS nach OBERHOLZER et al. . . . . .	15
1.3	Synopsis SIRS, Infektion und Sepsis nach ACCP/SCCM Consensus Conference . . . . .	17
1.4	Differenzierung der T-Zellen unter dem Einfluss von IL-10 und anderen Zytokinen . . . . .	23
1.5	Polymorphismen im Vergleich zweier Chromosomen nach CICHON et al.	27
4.1	Häufigkeiten der Genotypen des IL-10 Promotorpolymorphismus -1087 .	60
4.2	Analyse für den Genotyp -1087AA . . . . .	62
4.3	Analyse für den Genotyp -1087AG . . . . .	62
4.4	Analyse für den Genotyp -1087GG . . . . .	63
4.5	Analyse für das Allel -1087A . . . . .	64
4.6	Analyse für das Allel -1087G . . . . .	65
4.7	Häufigkeiten der Genotypen des IL-10 Promotorpolymorphismus -597 . .	65
4.8	Analyse für den Genotyp -597AA . . . . .	67
4.9	Analyse für den Genotyp -597AC . . . . .	67
4.10	Analyse für den Genotyp -597CC . . . . .	68
4.11	Analyse das Allel -597A . . . . .	69
4.12	Analyse das Allel -597C . . . . .	69
5.1	Aus pro- und antiinflammatorischer Aktivität resultierender inflammatorischer Status . . . . .	81

## Tabellenverzeichnis

1.1	Definitionen der septischen Syndrome nach der ACCP/SCCM Consensus Conference . . . . .	11
1.2	Ausgewählte Arbeiten zu den Promotorpolymorphismen -1087 und -597 .	29
3.1	Glasgow-Coma-Scale nach TAESDALE und JENNETT . . . . .	40
3.2	physiologische Parameter des APACHE II Score . . . . .	43
3.3	Altersparameter des APACHE II Score . . . . .	43
3.4	Chronic Health Score des APACHE II Score . . . . .	44
3.5	Sequenzen der Primer, Fragmentgröße, Gendatenbank-Nr. und Bindungsstellen . . . . .	47
3.6	Reaktionsansatz für die PCR des IL-10-597 . . . . .	48
3.7	Reaktionsansatz für die PCR des IL-10-1087 . . . . .	48
3.8	Daten des Elektrophoresegeräts . . . . .	50
3.9	Vierfeldertafel für den $\chi^2$ -Test . . . . .	52
3.10	Mustertabelle zur Erstellung einer KAPLAN-MEIER-Berechnung . . . . .	55
4.1	Basisdaten zur Charakterisierung des Patientenkollektivs . . . . .	58
4.2	klinische und paraklinische Parameter zur anatomischen und physiologischen Verletzungsschwere bei Aufnahme im Schockraum . . . . .	59
4.3	Homogenitätsnachweis der Genotypen für den Polymorphismus -1087 . .	61
4.4	Homogenitätsnachweis der Genotypen für den Polymorphismus -597 . .	66
4.5	Zeitabhängige uni- und multivariate Analyse . . . . .	70
4.6	Zusammenfassung der univariaten Geno- und Alleltypenanalyse . . . . .	73

5.1 Vergleich des Patientenkollektives der vorliegenden Studie mit Kollektiven  
anderer Studien . . . . . 76

## Diagrammverzeichnis

1.1	Verletzte im Straßenverkehr 2001 . . . . .	10
1.2	Verstorbene im Straßenverkehr 2001 . . . . .	10
1.3	Mortalität der septischen Syndrome . . . . .	20
4.1	Unfallursachen bei Patienten der vorliegenden Studie . . . . .	57
4.2	Verteilung der Verletzungsschwere im Patientenkollektiv . . . . .	59

## Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Axel Ekkernkamp für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas und die stets gute Beratung bedanken.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Reinhold A. Laun danke ich für die Leitung der Studie sowie die wissenschaftliche Unterstützung und Betreuung im Unfallkrankenhaus Berlin.

Für die wissenschaftliche Beratung geht mein Dank an Herrn Prof. Dr. med. Klaus-Martin Schulte.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des Unfallkrankenhauses Berlin, welche die Arbeit des gesamten Teams der „Polytraumastudie“ unterstützten, insbesondere Herrn Dr. med. Ove Schröder. Er war mit seiner hervorragenden Betreuung und wissenschaftlichen Beratung des gesamten Teams im Unfallkrankenhaus Berlin eine wertvolle Unterstützung. Seine geduldige Beratung und Hilfestellung bei allen Fragen und Problemen im gesamten Studienablauf und bei der statistischen Auswertung waren unverzichtbar. Zudem danke ich Frau K. Alemazkour für die Unterstützung bei der Bestimmung der Polymorphismen.

Ich danke meiner Familie für die Geduld und Unterstützung.

Abschließend geht mein ganz besonderer Dank an alle Patienten und Angehörigen, die in diesem schwierigen Lebensabschnitt, durch ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie, die Arbeit des gesamten Teams ermöglichten.

Matthias Hesse