

L. Schweiberer J. R. Izbicki (Hrsg.)

---

# Akademische Chirurgie

Aus-, Weiter- und Fortbildung  
Analysen und Perspektiven

---

Mit 50 Abbildungen

Springer-Verlag  
Berlin Heidelberg New York  
London Paris Tokyo  
Hong Kong Barcelona  
Budapest

(1992)

# Inhaltsverzeichnis

Festansprache: Bleibende und ephemere Chirurgie F. STELZNER .....	1
<b>Teil A. Ziele der chirurgischen Universitätsklinik</b>	
Die Sonderstellung der Universitätsklinik – Ausbildungsziel „akademischer Chirurg“ L. SCHWEIBERER .....	13
<i>Schwerpunkt „Lehre“</i>	
Lernzieldefinition als Grundlage der Curriculum-Gestaltung U. BOLLAG .....	23
Vermittlung problemorientierter Inhalte des Fachgebietes Chirurgie H. RENSCHLER .....	28
The New Pathway Curriculum at Harvard Medical School M. B. RAMOS and M. J. LITCHARD .....	66
Krankenversorgung und chirurgische Schule M. TREDE und D. JENTSCHURA .....	75
Schwerpunkt „Interdisziplinäre Arbeit“ K. PETER, H.-J. DIETERICH und L. FREY .....	82
Schwerpunkt „Wissenschaft“ F. W. SCHILDBERG .....	92
<b>Teil B. Bestandsaufnahme: Wo steht die Universitätsklinik heute?</b>	
<i>Allgemeine Probleme</i>	
Elemente, Auftrag und Beurteilung: Schrittmacher oder Nachzügler? H. TROIDL .....	103
Die Ausbildungsmisere F. EITEL .....	123

Fortschritt in der Chirurgie durch spezialisierte Universitätschirurgie	
CH. E. BROELSCH .....	133
Fortschritt in der Chirurgie durch „Allgemeine Universitätschirurgie“	
J. R. SIEWERT .....	139
Die chirurgische Weiter- und Fortbildung aus der Sicht des nachgeordneten Arztes – Ergebnisse einer Umfrage	
J. R. IZBICKI, G. DORNSCHNEIDER, A. TRUPKA, S. MORAWEC, F. EITEL und L. SCHWEIBERER .....	143
<i>Beispiele für die interdisziplinäre Arbeit</i>	
Chirurgische Pathologie und Onkologie	
P. HERMANEK .....	155
Gastroenterologie	
J. R. SIEWERT .....	161
Endokrinologie	
H. D. RÖHER .....	166
Intensivmedizin	
A. ENCKE .....	171
<i>Wissenstransfer in die klinische Chirurgie</i>	
Experimentelle Chirurgie	
K. MESSMER und A. BAETHMANN .....	177
Marburger Modell – Theoretische Chirurgie	
W. LORENZ .....	182
Pathobiochemie und Chirurgie: Eine Symbiose für die Zukunft	
H. FRITZ und M. JOCHUM .....	193
Beeinflussen Forschungsergebnisse das chirurgische Handeln?	
H. G. BEGER und M. BÜCHLER .....	204
<b>Teil C. Weiterbildungssysteme</b>	
Beispiel Deutschland	
G. FEIFEL .....	213
Beispiel USA	
The Johns Hopkins Hospital	
G. BULKLEY .....	219
Surgical Residency Training at Massachusetts General Hospital	
A. L. WARSHAW .....	221

Beispiel Großbritannien	
General Surgical Training: Royal London Hospital in the United Kingdom	
R. EARLAM.....	224
Beispiel Frankreich	
L. F. HOLLENDER .....	229
<i>Praktische Ausbildung – Vermittlung der Schule</i>	
Wege zur problemorientierten studentischen Ausbildung und deren Evaluation	
F. EITEL.....	235
Trauma-Management-Trainer – Qualitätssicherung in der Notfallchirurgie	
K.-G. KANZ, S. DEILER und L. SCHWEIBERER.....	251
Gastroenterologischer Nahtkurs	
H. WALDNER, J. R. IZBICKI, M. SIEBECK, U. BRUNNER, A. TRUPKA und L. SCHWEIBERER .....	257
Evaluation of the Surgical Resident	
G. SLATER .....	264
Schlußwort	
L. SCHWEIBERER und J. R. IZBICKI.....	269

# **Pathobiochemie und Chirurgie: Eine Symbiose für die Zukunft**

H. Fritz und M. Jochum

Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie (Leiter: Prof. Dr. H. Fritz),  
Chirurgische Klinik und Chirurgische Poliklinik, Klinikum Innenstadt der LMU München,  
Nußbaumstraße 20, W-8000 München 2

## **Einleitung**

Das Aufgabengebiet der Klinischen Chemie hat in den letzten 2 Dekaden erhebliche Veränderungen erfahren. Nachdem lange Zeit methodisch-technische Aspekte im Vordergrund des Interesses standen, erwies sich immer mehr die Einbindung der Analytik in ärztliche Strategien zum Nutzen des Patienten als vordringlich. Der Kliniker erwartet heute von der klinisch-orientierten biochemischen Forschung v.a. die Identifizierung geeigneter klinisch-chemischer Kenngrößen und damit neue Impulse für Diagnose und Therapie des Krankheitsgeschehens. Im folgenden soll an speziellen Aspekten des akuten Entzündungsprozesses dargestellt werden, wie eine langjährige Zusammenarbeit unserer Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie mit der Chirurgie zur Entwicklung und Validierung von Nachweismethoden für neue Entzündungsmarker geführt hat, die zukünftig für die klinisch-chemische Routinediagnostik und zur Objektivierung therapeutischer Maßnahmen von entscheidender Bedeutung sein könnten. Darüber hinaus haben sich aus unseren Untersuchungen wesentliche Erkenntnisse im Hinblick auf neue Therapieansätze zur Verminderung von schweren Organversagen bei akuten Entzündungsreaktionen in der Chirurgie ergeben.

## **Pathomechanismen des akuten Entzündungsprozesses**

Im Rahmen biochemischer Untersuchungen bei schweren Entzündungsprozessen wie der Sepsis und/oder dem multiplen Organversagen nach polytraumatischen Ereignissen und großen operativen Eingriffen haben sich 2 pathomechanistische Reaktionswege als besonders relevant herausgestellt, nämlich:

1. die systematische Aktivierung der Gerinnung mit der Bildung von potenten Aktivatoren (Plasmaproteasen, Faktor XIIa, Thrombin etc.) der Entzündungszellen (PMN-Granulozyten, Monozyten/Makrophagen, Endothelzellen) sowie von gefäßpermeabilitätssteigernden Peptiden (Kinine, Fibrinmonomere, Fibrinopeptide);
2. die direkt im Alveolarraum nachweisbare Freisetzung von proteolytisch und oxidativ destruktiv wirksamen Phagozytenfaktoren (PMN-Elastase, Cathepsin B aus Makrophagen, reaktive Sauerstoffmetabolite) und die damit verbundene Be-

einträchtigung des lokalen Schutzmechanismus (Verbrauch von Proteinaseinhibitoren und Antioxidanzien, Störungen des Surfactant etc.).

Die übermäßige Aktivierung humoraler proteolytischer Kaskadensysteme (Gerinnung, Fibrinolyse, Komplement) einerseits sowie die massive Freisetzung aktiver lysosomaler Proteinasen andererseits tragen entscheidend zum Verbrauch und zur Zerstörung regulativer Proteinaseinhibitoren (Antithrombin III,  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor u.a.) bei, wodurch die proteolytische Inaktivierung zahlreicher weiterer löslicher bzw. strukturgebundener Funktionsproteine ermöglicht wird. Unkontrollierte proteolytische Prozesse dieser Art werden derzeit als wesentlicher Pathomechanismus für die Manifestation nachhaltiger Organschädigungen im Verlaufe von schweren Entzündungsprozessen angesehen (ausführlich dargestellt in Jochum 1988; Jochum u. Fritz 1989; Jochum et al. 1990a).

## Methodische Aspekte

Für die Bestimmung der humanen lysosomalen Serinproteinase Elastase etablierten wir in Zusammenarbeit mit der Biochemischen Forschung der Fa. E. Merck, Darmstadt, einen spezifischen Enzymimmunoassay nach dem Sandwichprinzip. Da Elastase im Plasma ausschließlich und in den meisten anderen Körperflüssigkeiten überwiegend in Form des inaktiven Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes ( $E\alpha_1PI$ ) vorliegt, wurde zur Quantifizierung dieses Proteins die „two-site“-ELISA-Methodik gewählt. Zur Berechnung der Elastasekonzentration wird jedoch nur der Enzymanteil berücksichtigt (Jochum et al. 1990b).

Zum Nachweis der Cysteinproteinase Cathepsin B in Plasma und lokalen Körperflüssigkeiten von chirurgischen Intensivpatienten entwickelten Assfalg-Machleidt und Machleidt (Institut für Physiologische Chemie) eine Aktivitätsbestimmungsmethode unter Verwendung eines spezifischen fluorogenen Substrates (Assfalg-Machleidt et al. 1990).

Für die Aktivitätsmessungen von Gerinnungs- und Fibrinolysefaktoren sowie von  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor adaptierten wir kommerzielle Testsysteme an unsere Laborgegebenheiten (Jochum 1988).

Die immunologische Bestimmung der Plasmaproteine C-reaktives Protein, Fibronektin, Komplementfaktor C3, Immunglobulin G und der Proteinaseinhibitoren Antithrombin III und  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor erfolgte mit immunologischen Methoden (radiale Immundiffusion, zweidimensionale Gelelektrophorese) (Jochum 1988).

In der Literatur beschriebene Chemilumineszenzmessungen wurden für den Nachweis der Freisetzung reaktiver Sauerstoffprodukte aus stimulierten PMN-Granulozyten bzw. für die Erfassung der Opsonierungskapazität von Plasma und Peritonitsexsudaten an unsere Versuchserfordernisse adaptiert (Billing et al. 1988; Inthorn u. Jochum 1988).

Ein spezifisches Elastase-induziertes Spaltprodukt der  $\alpha\alpha$ -Kette des Fibrinogens wurde mittels eines kürzlich in unserem Labor entwickelten kompetitiven Zweistufen-ELISA nachgewiesen (Gippner-Steppert 1991; Jochum et al. 1991b).

# Diagnostische und prognostische Wertigkeit von PMN-Elastase, Cathepsin B und anderen Entzündungsparametern bei chirurgischen Intensivpatienten

## Polytrauma

Durch zeitlich engmaschige, konsekutive Messungen der Elastasekonzentration im Plasma von polytraumatisierten Patienten konnte eine rasche, in ihrem Ausmaß vom Schweregrad der Verletzung abhängige Ausschüttung dieses lysosomalen Granulozytenfaktors nachgewiesen werden. Die komplexierte Elastase stellt somit als eine exakt erfassbare, biochemische Meßgröße eine wertvolle Ergänzung zu den bisher verwendeten, auf individueller Einschätzung beruhenden klinischen Bewertungsmaßstäben für Unfalltraumen dar (Dittmer et al. 1986; Jochum 1988). Die innerhalb von 24 h nach dem Unfallgeschehen meßbaren Elastasekonzentrationen (mit Maximalwerten zwischen dem 5- und 30fachen der Norm) erlaubten eine frühzeitige Aussage über das Entstehen eines posttraumatischen Organversagens (Nast-Kolb et al. 1991). Ein erneuter Anstieg des Granulozytenenzym nach einer mehrtägigen Normalisierungsphase muß zudem als wichtiges Indiz für zusätzlich auftretende infektiöse Komplikationen angesehen werden (Waydhas et al. 1992). Diese spiegelten sich auch in der Zunahme von C-reaktivem Protein (Akutphaseprotein) bzw. der Abnahme von Fibronectin (unspezifisches Opsonin) im Plasma wider.

Die pathogenetische Rolle einer früh einsetzenden und länger andauernden Entgleisung des Hämostasesystems im Hinblick auf eine spätere manifeste Schädigung lebenswichtiger Organe konnte mittels des PFI-Indexes verdeutlicht werden. Hierbei werden die prozentualen Abweichungen der funktionellen Kapazitäten von Prothrombin, Antithrombin III, Plasminogen,  $\alpha_2$ -Plasmininhibitor, Prokallikrein und C1-Inaktivator von der Norm für jeden Meßzeitpunkt zu einem einzigen Parameter zusammengefaßt. Dieser erlaubt eine raschere Identifizierung von Risikopatienten und frühzeitigere Prognose als die jeweiligen Einzelfaktoren (Jochum 1988; Nast-Kolb et al. 1991).

Ähnlich wie für PMN-Elastase konnten wir auch für Cathepsin B aus Monozyten/Makrophagen eine klare Korrelation der extrazellulär meßbaren Proteinasekonzentrationen in der Zirkulation oder im lokalen Milieu (bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit) zum Schweregrad eines polytraumatisch und/oder operativ induzierten (Multi-)Organversagens mehrfach belegen (Jochum et al. 1990a; Assfalg-Machleidt et al. 1990; Jochum 1991). Darüber hinaus erwiesen sich beide Phagozytenfaktoren in einer prospektiven Polytraumastudie (Jochum et al. 1990a; Nast-Kolb et al. 1991) nicht nur als frühe Indikatoren eines im späteren posttraumatischen Verlauf auftretenden Multiorganversagens, sondern auch als relevante Parameter zur Prognoseabschätzung des Schwerverletzten.

Eine ähnlich gute diagnostische und prognostische Aussagekraft zeigte der physiologisch wichtigste Gerinnungsinhibitor, Antithrombin III, so daß diesem Hemmstoff eine besondere Bedeutung für die Entwicklung posttraumatischer Organschäden zugesprochen werden muß (Nast-Kolb et al. 1991; Schramm u.

Spannagl 1991). Auffälligerweise sind insbesondere bei schwerverletzten Patienten, die im späteren posttraumatischen Verlauf ein letales Multiorganversagen erleiden, bereits 1–2 h nach dem Unfallgeschehen die AT III-Plasmakonzentrationen bis auf unter 50% der Norm erniedrigt. Trotz massiver Blut- und Fresh-frozen-Plasma-Substitutionen ist bei diesen Patienten meist nur ein geringfügiger Anstieg der AT III-Plasmawerte zu erreichen. Aufgrund der anhaltend niedrigen AT III-Konzentrationen (unter 70% der Norm) in den ersten Tagen nach schweren Polytraumen ist daher kaum noch eine ausreichende Inhibierung der Entzündungs-potenzierenden Effekte von Thrombin, wie etwa der Bildung von Mikrothromben und zellaktivierenden Faktoren (PAF etc.), möglich (Lo et al. 1988).

Ein lokal nicht ausreichend hemmaktives Elastaseinhibitorpotential ( $\alpha_1$ PI) bei gleichzeitiger massiver Aktivierung von alveolären PMN-Granulozyten und Makrophagen konnten wir durch das wiederholte Auftreten freier Elastaseaktivitäten in sequentiellen bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten (BALF) von Patienten nach Polytrauma insbesondere in den ersten 10 posttraumatischen Tagen nachweisen (Jochum 1991). Überraschenderweise war selbst ein bis zu 40facher, immunologisch meßbarer Überschuß an  $\alpha_1$ PI über die insgesamt freigesetzte Elastase nicht in der Lage, diese vollständig zu hemmen. Bei Normalprobanden betrug der Inhibitorüberschuß das ca. 120fache der hier extrazellulär ausschließlich in komplexierter Form meßbaren Elastase. Für die reduzierte Inhibitorkapazität bei Polytraumapatienten muß neben der oxidativen Inaktivierung des  $\alpha_1$ PI die proteolytische Degradierung dieses Elastasehemmstoffes durch Metallo- und Cysteinproteinasen aus Phagozyten als ursächlich angesehen werden (Desrochers u. Weiss 1988; Vissers et al. 1988; Johnson et al. 1986). Die systemische Verminderung des  $\alpha_1$ PI bis auf 50% der Plasmanorm am ersten posttraumatischen Tag und eine nur allmähliche Erholung auf Normalwerte in den nächsten beiden Tagen (Jochum 1991) scheint ebenfalls mitverantwortlich dafür zu sein, daß während der frühen posttraumatischen Phase im Vergleich zu Normalprobanden anteilmäßig (ca. 10% des Plasmagehalts) weniger Inhibitor in den Alveolarraum diffundiert, und somit zusätzlich das Gleichgewicht zwischen dem Hemmstoff und der freigesetzten Elastase zugunsten der Proteinase verschoben wird.

### **Postoperative Sepsis**

Das Auftreten und Persistieren einer postoperativen Sepsis ist mit einer frühzeitig erhöhten und im weiteren Verlauf sich häufig wiederholenden Ausschüttung der granulozytären Elastase (mit Maximalwerten bis zum 30fachen der Norm) verbunden. Parallel dazu beobachteten wir einen entsprechenden Verbrauch proteolyse-sensitiver Plasmaproteine wie Antithrombin III, Faktor XIII und Fibronectin (Duswald et al. 1985; Jochum 1988). Die erhöhte Reaktionsbereitschaft der primären Abwehrzellen in der frühen Phase einer bakteriellen Entzündung zeigte sich auch in der guten Übereinstimmung von Zymosan-induzierbarer In-vitro-Stimulierbarkeit der zirkulierenden PMN-Granulozyten zur Chemilumineszenz und zur Freisetzung granulozytärer Inhaltsstoffe mit den bereits in vivo abgelaufenen Phagozy-



toseprozessen (Jochum 1988; Inthorn u. Jochum 1988). Schwerste Entzündungen führen zunächst zu einer Hyperreaktivität der Abwehrzellen mit massiver Freisetzung von proteolytisch und oxidativ wirkenden Faktoren und damit zu einer weiteren Intensivierung des Krankheitsgeschehens. Durch den ständigen Verbrauch von Granulozyten im Infektionsherd kommt es schließlich bei einer langdauernden Entzündung zur Nachlieferung von funktionsdefekten Zellen aus dem Knochenmark. Niedrige Konzentrationen der PMN-Elastase im Plasma und in den zirkulierenden neutrophilen Leukozyten in dieser Krankheitsphase zeigen somit eine gestörte Phagozytosefähigkeit an, die oft mit einer letalen Abwehrschwäche des Organismus verbunden ist. Letzteres war auch erkennbar an einer deutlichen Verminderung unspezifischer Opsonine, wie dem C-reaktiven Protein (CRP) und dem Fibronektin sowie in einem stark negativen PFI-Index als Ausdruck einer drastischen Entgleisung des Hämostasesystems. Demgegenüber ging die Verbesserung des kritischen Krankheitszustandes zwar auch mit einer Abnahme der Plasmakonzentration der lysosomalen Elastase und des CRP einher; Fibronektin und PFI-Index stiegen in einer solchen Phase jedoch wieder kontinuierlich an.

Obwohl die extrazellulär freigesetzte Elastase und das CRP sich weitgehend gleichartig im Verlaufe einer postoperativen Sepsis verhalten, war bei enggestufter Probennahme die Überlegenheit der lysosomalen Faktoren für die frühzeitige Diagnose einer bakteriellen Infektion evident: Da das CRP auf einen entzündlichen Stimulus hin erst in der Leber vermehrt synthetisiert wird, während die Elastase entsprechend dem Ausmaß der Aktivierung der Granulozyten sofort ausgeschüttet werden kann, wird das Einwirken einer entzündlichen Noxe durch CRP verzögert angezeigt. Analoges gilt für die Besserung des Entzündungsgeschehens, da das Akutphasenprotein wesentlich langsamer aus der Zirkulation eliminiert wird ( $t_{1/2}$  6–8 h) als komplexierte Elastase ( $t_{1/2}$  1 h).

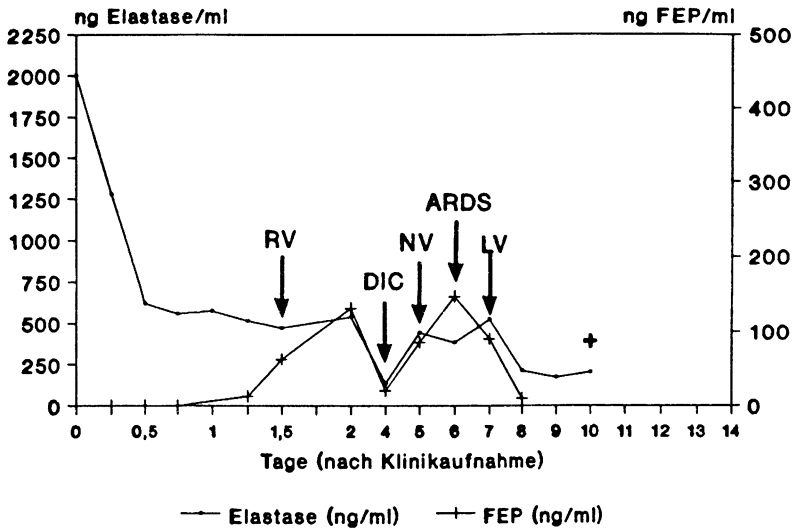
Mittels eines modifizierten Chemilumineszenzassays konnten wir erstmals eine ausgeprägte Störung der humoralen Fremdkörperopsonierung in Peritonitisexsudaten als wesentliche Ursache für einen persistierenden lokalen Entzündungsprozeß aufzeigen (Billing et al. 1988; Jochum 1988). Trotz hoher immunologisch meßbarer Konzentrationen der wichtigsten Opsonine, dem Komplementfaktor C3 und Immunglobulin IgG, ist die Opsonierungskapazität eitriger Exsudate extrem vermindert. In der zweidimensionalen Immunelektrophorese ist hier eine weitgehende Spaltung der hochmolekularen C3- und IgG-Komponenten in offenbar funktionslose Fragmente mit niedrigeren Molekulargewichten erkennbar. Die insbesondere in eitrigen Exsudaten meßbaren, extrem hohen Konzentrationen an komplexierter Elastase und freiem Cathepsin B (Erhöhung in Einzelfällen auf das 3000- bis 4000fache der Plasmanormwerte) korrelierten dabei gut mit dem massiven Opsonierungsdefizit der lokalen Körperflüssigkeit. Obwohl immunologisch gemessen ausreichende Mengen an  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor ( $\alpha_1$ PI) vorlagen, konnte in einer Vielzahl der Proben auch enzymatisch aktive Elastase nachgewiesen werden. Somit wäre neben einer vermutlich oxidativen Inaktivierung der Elastasehemmfähigkeit des  $\alpha_1$ PI die proteolytische Spaltung der Opsoninmoleküle zumindest teilweise durch die Wirkung der PMN-Elastase und der Makrophagenproteinase Cathepsin B (Assfalg-Machleidt et al. 1990; Billing et al. 1991) möglich.

Die postulierte pathogenetische Rolle extrazellulär freigesetzter Phagozytenfaktoren für die Ausbildung eines lokalen Abwehrdefektes hat durch unsere Studien eine wesentliche Bestätigung erfahren.

## Direkter Nachweis des PMN-Elastase-induzierten Pathomechanismus bei chirurgischen Intensivpatienten

Mit Hilfe eines dem natürlichen Elastase-induzierten Spaltproduktes  $\alpha$  1-21 der  $\alpha$ -Kette des Fibrinogens (Weitz et al. 1986) adäquaten synthetischen Peptides – bezeichnet als Fibrinoelastasepeptid (FEP) – haben wir kürzlich ein spezifisches Testsystem etabliert, das es uns erlaubt, die proteolytische Destruktionswirkung von extrazellulär freigesetzter PMN-Elastase auf humorale Proteine direkt in Plasma und lokalen Körperflüssigkeiten chirurgischer Intensivpatienten nachzuweisen (Gippner-Steppert 1991; Jochum et al. 1991b). Wie in Abb. 1 exemplarisch dargestellt, korrelierte das Auftreten dieses Fibrinogenspaltproduktes im Plasma eines schwerverletzten Patienten auffällig gut mit der wiederholten Freisetzung der Elastase während der Entwicklung und Manifestation eines letalen multiplen Organversagens nach Polytrauma.

Ähnlich gute Übereinstimmungen zwischen der extrazellulär meßbaren Elastase und des durch sie spezifisch hervorgerufenen Fibrinogenspaltproduktes fanden wir auch in sequentiell gewonnenen bronchoalveolären Lavageflüssigkeiten von Poly-



**Abb. 1.** Vergleich von Elastase- und  $\alpha$  1-21-Konzentrationen (ausgedrückt in ng FEP/ml) in seriell gewonnenen Plasmaproben eines Polytraumapatienten mit letalem Multiorganversagen (RV Respiratorisches Versagen; DIC Disseminated intravascular coagulation [disseminierte intravasale Gerinnung]; NV Nierenversagen; ARDS Acute/adult respiratory distress syndrome [Schocklunge]; LV Leberversagen)

traumapatienten mit Mehrorganversagen sowie im Plasma und in Peritonitisexsudaten von Sepsis-/Peritonitispatienten (Gippner-Steppert 1991; Jochum et al. 1991b). Somit ist es uns zum ersten Mal gelungen, den durch PMN-Elastase induzierten postulierten Pathomechanismus bei schweren Entzündungsprozessen mit Hilfe geeigneter biochemischer Nachweismethoden eindeutig zu verifizieren und dadurch die Notwendigkeit für neue Therapieansätze in Form der Proteinaseinhibition auch klinisch zu belegen.

## **Proteinaseinhibition als erfolgversprechender therapeutischer Ansatz bei akuten Entzündungsprozessen in der Chirurgie**

### **Tierexperimentelle Studien**

Als wesentlicher Hinweis auf die eminent wichtige Schutzfunktion eines ausreichend hohen, deutlich über der Norm liegenden Inhibitorpotentials zur Verhinderung schwerer Entzündungsprozesse können erste Untersuchungen über die Wirksamkeit einer therapeutischen Applikation von Elastase- und/oder Thrombininhibitoren bei tierexperimenteller Sepsis gewertet werden.

Durch die Verabreichung des rekombinanten Elastasehemmstoffes Eglin und des spezifischen Thrombininhibitors Hirudin – beide Substanzen wurden ursprünglich aus dem Blutegel *Hirudo medicinalis* isoliert – gelang es uns, eine Reihe von Endotoxin-induzierten pathologischen Veränderungen (Hypotension, intravaskulärer Proteinverlust, Fibrinogenverbrauch, Fibrinmonomerbildung etc.) signifikant zu verhindern bzw. zu vermindern (Siebeck et al. 1989; Hoffmann et al. 1990).

Die Notwendigkeit eines hohen Thrombininhibitorspiegels (bis zum Dreifachen des Normalwertes) in der Zirkulation zur Verhinderung einer fulminanten E.-coli-Sepsis oder -Bakteriämie konnte etwa zeitgleich mit uns auch eine amerikanische Arbeitsgruppe (Emerson et al. 1989) in verschiedenen Tierspezies (Ratte, Schaf, Affe) durch die therapeutische Infusion eines humanen Antithrombin-III-Präparates belegen.

Darüber hinaus gelang es diesen Untersuchern auch zu zeigen, daß die prophylaktische, kombinierte Gabe von humanem Antithrombin III und  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor wesentlich effektiver die pulmonäre Dysfunktion während einer gramnegativen Endotoxinämie beim Schaf verminderte als die alleinige Applikation des Thrombin- bzw. Elastasehemmstoffes (Redens et al. 1988). Dieses Ergebnis beweist einmal mehr den postulierten Beitrag einer komplexen Interaktion lysosomaler Granulozytenenzyme und humoraler Blutkaskadenproteinasen zur Entstehung und Manifestation sepsisähnlicher Entzündungsvorgänge.

Der therapeutische Ansatz mit isolierten humanen Plasma-Proteinaseinhibitor-Präparaten ist insbesondere deshalb hervorzuheben, als er derzeit die einzige Möglichkeit einer direkten Umsetzung experimenteller Ergebnisse in die Klinik bietet.

## **Klinische Studien**

Erste klinische Untersuchungen (Vinazzer 1987; Seitz et al. 1989; Schwartz et al. 1989) haben die postulierten positiven Wirkungen einer AT-III-Substitution bei schweren Entzündungsprozessen (vornehmlich die Verhinderung einer DIC) bestätigt. Eine statistisch signifikante Reduktion der Letalität aufgrund eines multiplen Organversagens war jedoch nur in wenigen Studien nachzuweisen.

Im Gegensatz zur dabei üblichen klinischen Vorgehensweise, bei der mittels einer Substitution von AT-III-Konzentraten überwiegend nur das Erreichen von Plasmanormalwerten angestrebt wurde, dürften die systemische Aktivierung der Gerinnung und die dadurch bedingten Folgereaktionen möglicherweise aber erst durch ein kontinuierliches Anheben des AT-III-Spiegels auf mindestens 140% der Plasmanorm in der früheren septischen oder posttraumatischen Phase kontrollierbar sein. Hierfür sprechen neben den bereits erwähnten experimentellen Untersuchungen (Redens et al. 1988; Emerson et al. 1989) v.a. eigene Ergebnisse aus einer kontrollierten AT-III-Pilotstudie bei Sepsispatienten, wo es uns gelang, durch das Anheben der AT-III-Konzentrationen von ca. 60% auf etwa 140% in den ersten 5 Tagen der Sepsis die Langzeitletalität von 78 auf 58% zu senken (Jochum et al. 1991a). Adverse Reaktionen, wie etwa erhöhte Blutungsrisiken, waren nicht festzustellen.

Auch bei einer kürzlich veröffentlichten kontrollierten Studie an 25 Sepsispatienten traten unter einer hochdosierten 4tägigen AT-III-Applikation (mittlere Plasmaspiegel: 175% der Norm) keine vermehrten Blutungsneigungen oder andere nachteilige Nebenwirkungen auf (Fourrier et al. 1990). In dieser Studie konnte die Letalität von 68 auf 46% gesenkt werden.

Da im Gegensatz zu septischen Patienten bei polytraumatisierten Patienten insbesondere in der Primärphase (1.–4. Tag) des traumatisch-hämorrhagischen Schocks neben AT III auch  $\alpha_1$ PI nicht in ausreichender Menge zur Inhibition aktivierter humoraler bzw. aus Entzündungszellen freigesetzter Proteinasen zur Verfügung steht, erwarten wir uns künftig von einer hochdosierten Kombinationstherapie mit beiden Inhibitoren eine deutliche Reduktion der Häufigkeit von (multiplen) Organversagen nach Polytrauma, für deren Auftreten offensichtliche Proteolyse-induzierte Pathomechanismen verantwortlich sind. Nachdem erste positive synergistische Effekte einer solchen Kombinationstherapie – wie bereits erwähnt – in Tierexperimenten evaluiert werden konnten (Redens et al. 1988), haben wir inzwischen auch entsprechende klinische Untersuchungen in Angriff genommen.

## **Resümee: Pathobiochemie und Chirurgie – eine Symbiose in der Vergangenheit, Gegenwart und für die Zukunft**

Die Chirurgische Universitätsklinik in der Nußbaumstraße hat sich schon in den 20er Jahren unseres Jahrhunderts als besonders geeigneter Ort für eine erfolgreiche Zusammenarbeit von Chirurgie und Pathobiochemie nicht nur im Interesse des wissenschaftlichen Erkenntnisgewinns, sondern v.a. auch im Hinblick auf die me-

medizinische Nutzenanwendung der gemeinsam erarbeiteten Untersuchungsergebnisse erwiesen. Ausgehend von der Entdeckung des Kallikrein-Kinin-Systems (ab 1925) und der Identifizierung des Kallikreininhibitors Aprotinin in Rinderorganen (1929) durch den Chirurgen E.K. Frey und die Chemiker H. Kraut und E. Werle konnte in den 50er Jahren das therapeutische Prinzip der Proteinaseinhibition bei der akuten Pankreatitis am Menschen erstmals auch klinisch erprobt werden. Dies hatte eine Intensivierung der Suche nach weiteren medizinisch relevanten Proteinaseinhibitoren im Werleschen Arbeitskreis und der aus ihm hervorgegangenen heutigen Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie zur Folge (ausführlich dargestellt in Fritz et al. 1989).

In den vergangenen 10 Jahren konnten durch die erneute intensive Zusammenarbeit der Chirurgie, die durch die Etablierung einer ausgefeilten Logistik umfangreiche klinische Untersuchungen an wohldefinierten Patientenkollektiven ermöglichte, mit der Pathobiochemie, die ihrerseits mit der Entwicklung geeigneter Meßmethoden neue Entzündungsparameter in diesem Patientengut identifizierte, wesentliche Fortschritte in der Aufklärung entzündungsbedingter Pathomechanismen erzielt werden. Hierbei hat sich wiederum die Proteinaseinhibition – inzwischen auf Proteinase aus Entzündungsquellen und aus weiteren Blutkaskadensystemen ausgeweitet – als entscheidende therapeutische Konsequenz herausgestellt. Während für die gegenwärtig durchgeführten Pilotuntersuchungen noch ausreichend Inhibitormaterial humanen Ursprungs (Antithrombin III,  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor) zur Verfügung steht, dürfte allerdings für den zukünftigen allgemeinen klinischen Einsatz von Proteinaseinhibitoren die Verwendung gentechnologisch hergestellter Substanzen unumgänglich sein (Fritz et al. 1991). Dies wiederum setzt eine weitere intensive Kooperation von Pathobiochemie und Chirurgie zur Entwicklung und Evaluierung neuer Therapiestrategien in experimentellen und klinischen Studien voraus.

## Literatur

- Assfalg-Machleidt I, Jochum M, Nast-Kolb D et al. (1990) Cathepsin B-indicator for the release of lysosomal cysteine proteinases in severe trauma and inflammation. *Biol Chem Hoppe-Seyler [Suppl]* 371:211–222
- Billing A, Fröhlich D, Jochum M, Kortmann H (1988) Impaired phagocytosis in peritonitis exudate secondary to complement consumption. *Surg Res Comm* 3:335–345
- Billing A, Kortmann H, Fröhlich D, Jochum M (1989) Breakdown of C3 complement and IgG in peritonitis exudate – pathophysiological aspects and therapeutical approach. In: Schlag G, Redl H (eds) *Progress in biological research*, vol 308: Second Vienna Shock Forum. Liss, New York, pp 527–533
- Billing A, Fröhlich D, Assfalg-Machleidt I, Machleidt W, Jochum M (1991) Proteolysis of defensive proteins in peritonitis exudate: pathobiochemic aspects and therapeutic approach. *Biomed Biochim Acta* 50:399–402
- Desrochers PE, Weiss SJ (1988) Proteolytic inactivation of alpha 1-proteinase inhibitor by a neutrophil metalloproteinase. *J Clin Invest* 81:1646–1650
- Dittmer H, Jochum M, Fritz H (1986) Freisetzung von granulozytärer Elastase und Plasma-proteinveränderungen nach traumatisch-hämorrhagischem Schock. *Unfallchirurg* 89: 160–169

- Duswald KH, Jochum M, Schramm W, Fritz H (1985) Released granulocytic elastase: An indicator of pathobiochemical alterations in septicemia after abdominal surgery. *Surgery* 98:892–899
- Emerson TE, Fournel MA, Redens TB, Taylor FB (1989) Efficacy of antithrombin III supplementation in animal models of fulminant *Escherichia coli* endotoxemia or bacteremia. *Am J Med [Suppl 3B]* 87:27–33
- Fourrier F, Her B, Lestavel Ph et al. (1990) Antithrombin III concentrates in septic shock with disseminated intravascular coagulation: preliminary study. *Intens Care Med [Suppl 1]* 16:21
- Fritz H, Schmidt I, Dietze G (eds) (1989) *The kallikrein-kinin system in health and disease*. Limbach, Braunschweig
- Fritz H, Collins J, Jochum M (1991) Proteinase inhibitor candidates for therapy of enzyme-inhibitor imbalances. In: Grassi C, Travis J, Casali L, Luisetti M (eds) *Current concepts in the biochemistry of pulmonary emphysema*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, in press
- Gipner-Steppert C (1991) Entwicklung eines spezifischen Testsystems für den Nachweis eines proteolytischen Spaltproduktes des Fibrinogens durch lysosomale PMN-Elastase sowie Untersuchungen am Miniplasminogen, einem Elastase-spezifischen Spaltprodukt des Plasminogens. Dissertation, Fakultät für Chemie, Biologie und Geowissenschaften der Technischen Universität München
- Hoffmann H, Siebeck M, Spannagl M, Weipert J, Geiger R, Jochum M, Fritz H (1990) Effect of recombinant hirudin, a specific inhibitor of thrombin, on endotoxin-induced intravascular coagulation and acute lung injury in pigs. *Am Rev Respir Dis* 142:782–788
- Inthorn D, Jochum M (1988) Auswirkungen chirurgischer Infektionen auf die Stimulierbarkeit von Granulozyten zur Chemilumineszenz und die Freisetzung granulozytärer Elastase. In: Häring R (Hrsg) *Risiko in der Chirurgie. Analyse und Kalkulation*. de Gruyter, Berlin, S 219–224
- Jochum M (1988) Lysosomale Faktoren aus polymorphkernigen Granulozyten: Pathobiochemische, diagnostische und therapeutische Aspekte. Habilitationsschrift, Medizinische Fakultät der Universität München
- Jochum M (1991) Specific proteins of inflammatory cells and  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor in alveolar epithelial lining fluid of polytraumatized patients: Do they indicate posttraumatic lung failure? In: Sturm JA (ed) *Posttraumatic acute respiratory distress syndrome*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 193–211
- Jochum M, Fritz H (1989) Pathobiochemical mechanisms in inflammation. In: Faist E, Ninnemann JL, Green DR (eds) *Immune consequences of trauma, shock and sepsis*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 165–172
- Jochum M, Assfalg-Machleidt I, Inthorn D, Nast-Kolb D, Waydhas Ch, Fritz H (1990a) Leukozytäre Proteinasen und Hämostasestörung bei Sepsis. In: Tilsner V, Matthias R (Hrsg) *XXXII. Hamburger Symposion über Blutgerinnung, 1989: Infektion, Entzündung und Blutgerinnung*. Editiones „Roche“, Basel, S 241–254
- Jochum M, Inthorn D, Nast-Kolb D, Fritz H (1990b) Komplikationen bei Intensivpflegepatienten: Granulozyten-Elastase als prognostischer Parameter. *Dtsch Ärztebl* 87 A: 1526–1533
- Jochum M, Inthorn D, Nast-Kolb D, Fritz H (1991a) AT III – ein neues therapeutisches Konzept bei der Behandlung der Sepsis und beim Organversagen? In: Henschel WF (Hrsg) *Blut, Blutkomponenten und Blutersatzstoffe in der Intensivmedizin. Bericht über das 10. Bremer Interdisziplinäre Intensivtherapie-Colloquium*. Zuckschwerdt, München, S 46–58
- Jochum M, Machleidt W, Fritz H (1991b) Proteolysis-induced pathomechanisms in acute inflammation and related therapeutic approaches. 42. Colloquium Mosbach 1991: *Molecular Aspects of Inflammation*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, S 73–92
- Johnson DA, Barrett AJ, Mason RW (1986) Cathepsin L inactivates  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor by cleavage in the reactive site region. *J Biol Chem* 261:14748–14752

- Lo SK, Lai L, Cooper JA, Malik AB (1988) Thrombin-induced generation of neutrophil activating factors in blood. *Am J Pathol* 130:22–32
- Nast-Kolb D, Jochum M, Waydhas Ch, Schweiberer L (1991) Die klinische Wertigkeit biochemischer Faktoren beim Polytrauma. *Hefte zur Unfallheilkunde* 215
- Redens TB, Leach WJ, Bogdanoff DA, Emerson TE (1988) Synergistic protection from lung damage by combining antithrombin III and  $\alpha_1$ -proteinases inhibitor in the E.coli endotoxemic sheep pulmonary dysfunction model. *Circ Shock* 26:15–26
- Schramm W, Spannagl M (1991) Differences in activation of coagulation and fibrinolysis after polytrauma with respect to the development of ARDS. In: Sturm JA (ed) *Posttraumatic acute respiratory distress syndrome*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo S 75–87
- Schwartz RS, Bauer KA, Rosenberg RD, Kavanaugh EJ, Davies DC, Bogdanoff DA (1989) Clinical experience with antithrombin III concentrate in treatment of congenital and acquired deficiency of antithrombin. *Am J Med* 87: [Suppl 3B] 535–605
- Seitz R, Wolf M, Egbring R, Havemann K (1989) The disturbance of hemostasis in septic shock: role of neutrophil elastase and thrombin, effects of antithrombin III and plasma substitution: *Eur J Haematol* 43:22–28
- Siebeck M, Hoffmann H, Jochum M, Fritz H (1989) Inhibition of proteinases with recombinant eglin c during experimental *Escherichia coli* septicemia in the pig. *Eur Surg Res* 21:11–17
- Vinazzer H (1987) Clinical use of antithrombin III concentrates. *Vox Sang* 53:193–198
- Vissers MC, George PM, Bathurst JC, Brennan SO, Winterbourn CC (1989) Cleavage and inactivation of alpha1-antitrypsin by metalloproteinases released from neutrophils. *J Clin Invest* 82:706–711
- Waydhas Ch, Nast-Kolb D, Jochum M et al. (1992) Inflammatory mediators, infection, sepsis, and multiorgan failure after severe trauma. *Arch Surg* 127:460–467
- Weitz JI, Landmann SL, Crowley KA, Birken S, Morgan FJ (1986) Development of an assay for in vivo human neutrophil elastase activity. *J Clin Invest* 78:155–162