

Aus der
Universitätsklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie Tübingen

**Evaluierung des proinflammatorischen und koagulativen
Aktivierungspotentials von Bauchtüchern in der Herz- und
Gefäßchirurgie unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Herrmann, Lisa Maria

2022

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. P. Wendel
2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. F. Konrad

Tag der Disputation: 13.09.2022

**Meinen Eltern
- Karin & Erich -
Ich danke euch für alles!**

Inhaltsverzeichnis

I. Tabellenverzeichnis	VI
II. Abbildungsverzeichnis	VII
III. Abkürzungsverzeichnis	VIII
1. Einleitung	1
1.1 Einführung	1
1.2 Bauchtücher	2
1.3 Durchführung herzchirurgischer Operationen unter Verwendung der HLM	3
1.4. Postoperative Komplikationen	6
1.4.1 Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom	7
1.4.2 Thromboembolie	9
1.5 Wissenschaftliche Grundlagen	11
1.6. Ziel der Arbeit	12
2. Methodik	14
2.1 Studiendesign	14
2.2. Patientenkollektiv	14
2.3. Probenvorbereitung	16
2.4. Probenentnahme	17
2.5. Erstverarbeitung	18
2.6. Immunoassays	19
2.6.1. SC5b-9	19
2.6.2. β -TG	21
2.6.3. TAT-Komplex	22
2.6.4. PMN-Elastase	23
2.7. Bioplex	25
2.8. Erfassung erweiterter Patientendaten	25
2.9. Statistik	26
3. Ergebnisse	27
3.1. Patientenkollektiv	27

3.2. Zellzahlen	29
3.3. Aktivierung der neutrophilen Granulozyten	32
3.4. Proinflammatorische Marker	33
3.5. Aktivierung des Komplementsystems	36
3.6. Thrombozytenaktivierung	37
3.7. Gerinnungsaktivierung	38
3.8. Chemokine	39
4. Diskussion	41
4.1. Wissenschaftliche Einordnung der Studie	41
4.2. Zellzahlen	43
4.3. Proinflammatorisches Potential	45
4.4. Gerinnungsaktivierung	47
4.5. Einordnung der Resultate	47
4.6. Klinische Handhabbarkeit	53
4.7. Fazit	54
5. Zusammenfassung	56
6. Literaturverzeichnis	58
7. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	68
8. Liste der Veröffentlichungen	69
Danksagung	70
Lebenslauf	71

I. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Todesursachen in Deutschland 2019 (Bundesamt 2019).....	2
Tabelle 2: SOFA-Score (Singer, Deutschman et al. 2016)	8
Tabelle 3: Erstverarbeitung der Probandenproben	19
Tabelle 4: Merkmale aller Probanden als Mittelwert \pm SD.	27
Tabelle 5: Merkmale aller Probanden getrennt nach Gruppe; Mittelwert \pm SD.....	28

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau einer Herz-Lungen-Maschine.	5
Abbildung 2: In der Studie verwendete Bauchtücher.....	15
Abbildung 3: Zellzahlen	31
Abbildung 4: Aktivierung der neutrophilen Granulozyten	32
Abbildung 5: Proinflammatorische Marker.....	35
Abbildung 6: Aktivierung des Komplementsystems	36
Abbildung 7: Thrombozytenaktivierung.....	37
Abbildung 8: Gerinnungsaktivierung.....	38
Abbildung 9: Chemokine	40

III. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACT	Activated clotting time
BMI	Body-Mass-Index
C	Celsius
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
CTAD	Citrat, Theophyllin, Adenosin, Dipyridamol
CXCR	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor
dl	Deziliter
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FiO ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
g	Erdbeschleunigung
Hb	Hämoglobin
Hct	Hämatokrit
ID	Identifikationsnummer
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
kg	Kilogramm
m ²	Quadratmeter
männl.	männlich
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
NF- κ B	nuclear factor "kappa-light-chain-enhancer" of activated B-cells
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
paO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PMN-Elastase	Polymorphonuklear-Elastase
POD	Peroxidase
qm	Quadratmeter
qSOFA-Scores	quick SOFA-Score
rpm	revolutions per minute
rt-PCR	Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
SC5b9	Terminaler Komplementkomplex
SD	Standardabweichung
SDF-1 α	stromal cell-derived factor 1
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
Tab.	Tabelle

TAT-Komplex Thrombin-Antithrombin-III-Komplex
TMB 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin
TNF- α Tumornekrosefaktor- α
weibl. weiblich
 β -TG β -Thromboglobulin
 μ g Mikrogramm
 μ l Mikroliter

1. Einleitung

1.1 Einführung

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems waren im Jahr 2019 für 35,3 % aller Sterbefälle in Deutschland ursächlich (Bundesamt 2019). Als häufigste Todesursache deutschlandweit konnte die koronare Herzkrankheit identifiziert werden, gefolgt von dem akuten Myokardinfarkt auf Rang vier, sowie der Herzinsuffizienz auf Rang fünf (Bundesamt 2019). Als Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen sind verschiedene Ursachen bekannt. Hierbei handelt es sich unter anderem um arterielle Hypertonie, Adipositas, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie, Nikotinkonsum, sowie körperliche Inaktivität und ungesunde Ernährung (Robert-Koch-Institut). Pathophysiologisch kommt es hierbei zu einer Schädigung des Endothels durch oxidativen und mechanischen Stress und daraufhin zur Inflammation. In das Endothel eingewanderte Makrophagen werden durch Aufnahme abgelagerter Lipidtropfen zu Schaumzellen. Die Ablagerung von Lipiden und Matrixbestandteilen, sowie Gefäßmuskelproliferation durch anhaltende Inflammation, führt zu der Entwicklung von arteriosklerotischen Plaques (Dzau, Antman et al. 2006). Diese Plaques können das Gefäßlumen zunehmend einengen und zur Unterversorgung nachfolgenden Gewebes führen. Eine Plaqueruptur kann jedoch auch zu einem akuten Verschluss eines Gefäßes führen. Mittels medikamentöser Optimierung der kardiovaskulären Risikofaktoren, sowie durch Lebensstiländerung, kann der Progress kardiovaskulärer Erkrankungen verlangsamt werden. In Tabelle 1 sind die kardiovaskulären Ursachen der zehn häufigsten Todesursachen in Deutschland im Jahr 2019 dargestellt. Trotz medikamentöser Behandlungsmöglichkeiten ist eine chirurgische Intervention bei fortgeschrittener Erkrankung häufig notwendig. Im Jahr 2019 wurden deutschlandweit 99.612 herzchirurgische Eingriffe durchgeführt. Von diesen Eingriffen erfolgte bei 71.759 (72,04 %) die Zuhilfenahme einer extrakorporalen

Zirkulation. Die Anzahl der HLM-unterstützten Operationen nimmt stetig ab (Beckmann, Meyer et al. 2020). Gleichzeitig lässt sich ein Anstieg minimalinvasiver Verfahren, beispielsweise bei koronararteriellen Bypassen oder Eingriffen an der Mitralklappe, verzeichnen (DGTHG-Leistungsstatistik 2020). Dennoch ist die HLM weiterhin ein unverzichtbares Element in der klinischen Versorgung herzchirurgischer Patienten (Beckmann, Meyer et al. 2020).

Tabelle 1: Todesursachen in Deutschland 2019 (Bundesamt 2019)

Todesursache	Rang	Anzahl Verstorbene
Chronisch ischämische Herzkrankheit	1	73.459
	...	
Akuter Myokardinfarkt	4	44.282
Herzinsuffizienz	5	35.297
	...	
Hypertensive Herzkrankheit	8	21.937
Vorhofflattern/ -flimmern	9	20.715

1.2 Bauchtücher

Im klinischen Alltag werden Bauchtücher regelhaft bei chirurgischen Eingriffen eingesetzt. Hierbei erfüllen sie folgende Aufgaben:

- Aufsaugen von Blut und anderen Körperflüssigkeiten aus dem Operationsgebiet
- Lokalisation von Blutungen
- Zurückhalten von Organen

Gemäß der Medizinprodukteverordnung 93/42/ECC der europäischen Union werden Bauchtücher als Medizinprodukte Klasse IIa klassifiziert. Bauchtücher

werden während chirurgischer Eingriffe in den Situs eingebracht und kommen hier in Kontakt mit Organen, Gefäßen und ähnlichem. Die Anwendungsdauer beschränkt sich auf weniger als 24 Stunden und wird somit als Kontaktdauer A eingestuft (DIN 2018-08; Biological evaluation of medical devices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process). Die Herstellung von Bauchtüchern erfolgt zumeist aus Baumwolle. Dieser Rohstoff eignet sich aufgrund seiner Saugfähigkeit gut für den Einsatz in Operationsgebieten. Da es sich bei Baumwolle um ein Naturprodukt handelt, unterliegt die Qualität des Rohmaterials verschiedenen Umwelteinflüssen wie beispielsweise klimatischen Schwankungen (Reddy, Davidonis et al. 1999). Diese können sowohl die Eigenschaften als auch die Qualität des Rohmaterials beeinflussen. Auch der Verarbeitungsprozess kann Einfluss auf die Eigenschaften und die Hämokompatibilität des Bauchtuchs nehmen (Krajewski, Hierlemann et al. 2016). Bauchtücher unterscheiden sich, neben dem Material, unter anderem auch in Farbe, Fadenanzahl und Vorbehandlung. Zumeist ist ein Röntgenkontrastfaden eingearbeitet, welcher die Lokalisation der Bauchtücher in der Körperhöhle mittels Röntgen erlaubt. In der Herzchirurgie erfolgt in der Blutstillungsphase ausschließlich der Einsatz weißer Bauchtücher. So können verbliebene Blutungsquellen lokalisiert werden.

1.3 Durchführung herzchirurgischer Operationen unter Verwendung der HLM

Lebenswichtige Operationen, wie beispielsweise koronararterielle Bypässe, Korrekturen von Herzfehlern, sowie der Ersatz von Herzklappen, sind ohne die Etablierung eines extrakorporalen Kreislaufs nicht möglich. Die Durchführung der ersten erfolgreichen Herzoperation unter Verwendung der HLM erfolgte im Jahr 1954 durch Dr. John Gibbon (Gibbon 1954).

Mittels HLM können sowohl die Zirkulation als auch die Oxygenierung aufrechterhalten werden, während die Pumpfunktion des Herzens unterdrückt

wird. Dies hilft dabei optimale Operationsbedingungen zu schaffen. Die HLM übernimmt vier wichtige Aufgaben. Neben der Übernahme der kardialen Pumpfunktion und der Oxygenierung müssen auch die Elimination des Kohlenstoffdioxids sowie die Thermoregulation durch die Maschine erfolgen (Sarkar and Prabhu 2017).

Die Entnahme des venösen Bluts erfolgt durch Kanülierung des rechten Atriums oder wahlweise der Venae cavae superior et inferior. Die Zwischenspeicherung erfolgt in dem venösen Reservoir der HLM. Von hier aus fließt das Blut durch den Oxygenator, welcher für Oxygenierung und Decarboxylierung des Bluts verantwortlich ist. Das mit Sauerstoff angereicherte Blut wird anschließend über eine Kanüle in den Körperkreislauf zurückgegeben (Baehner, Boehm et al. 2012). Mögliche Lokalisationen sind hierbei die Aorta ascendens, die Arteria subclavia und die Arteria femoralis. Die Vena subclavia oder Vena femoralis werden bei der venösen Rückgabe oxygenierten Blutes bei isoliertem Lungenversagen verwendet (Sarkar and Prabhu 2017). Dieser Grundaufbau kann nach Bedarf durch zusätzliche Geräte ergänzt werden. Auf seinem Weg durch die HLM kommt das Blut in Kontakt mit vielen körperfremden Oberflächen. Um eine Aktivierung des Gerinnungssystems und somit Komplikationen wie beispielsweise thrombotische Embolien zu verhindern, erfolgt die Antikoagulation des Blutes mit Heparin. Hierbei wird eine ACT von > 300 – 480 Sekunden angestrebt (Lander, Zammert et al. 2016). Die Pumpfunktion des Herzens wird mittels Zugabe einer Kardioplegielösung supprimiert. Hierbei erfolgt zumeist die Verwendung von hyperkaliämer Lösung, wodurch ein reversibler diastolischer Herzstillstand verursacht wird (Melrose, Dreyer et al. 1955).

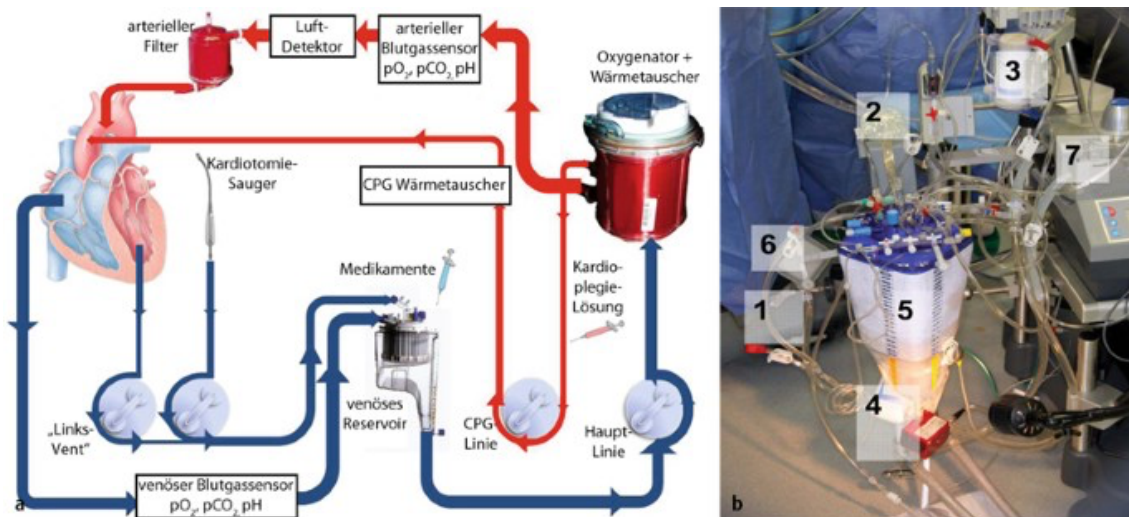


Abbildung 1: Aufbau einer Herz-Lungen-Maschine.

a Schemazeichnung **b** Beispielaufbau: 1 arterieller Schenkel, 2 venöser Schenkel, 3 Hämofilter (optional), 4 Oxygenator inklusive Wärmetauscher, 5 venöses Reservoir, 6 arterieller Filter, 7 Rollerpumpe (Baehner, Boehm et al. 2012), Rechte bereitgestellt von Springer Nature.

Bei Operationen mit hohem Blutverlust ist es gängige Praxis, das Blut mit einem speziellen Sauger aus dem Operationsgebiet abzusaugen und es an den Patienten zurückzuleiten. Diese Technik wird als maschinelle Autotransfusion bezeichnet. Dies erfolgt, um die Gabe allogener, also körperfremder, Blutprodukte zu vermeiden (Zhao, Ma et al. 2017). Die Gabe allogener Blutprodukte ist mit einer erhöhten Komplikationsrate sowie einer höheren Mortalität assoziiert (Michalopoulos, Stavridis et al. 2003), (Engoren, Habib et al. 2002). Zusätzlich werden bei herzchirurgischen Operationen vollgesogene Bauchtücher über einer Schale ausgewrungen und ebenfalls über einen Sauger in das Kardiotomiereservoir der HLM zurückgeleitet. Durch den Kontakt von Blut mit der körperfremden Oberfläche der HLM kommt es zu einer Aktivierung des Gerinnungs- und des inflammatorischen Systems mit der Ausschüttung proinflammatorischer und -koagulativer Mediatoren (Edmunds 1993), (Hakim 1993). Auch die Nutzung des Saugers führt, unter anderem durch einwirkende Scherkräfte, zu der Zerstörung von Zellen (Gregoretti 1996). Durch Scherkräfte

aufgrund der Nutzung der HLM und des Saugers erfolgt ebenfalls eine Aktivierung der Inflammation und Gerinnung (Tu, Hsieh et al. 2021), (Edmunds, Colman et al. 1991). Im Rahmen dieser maschinellen Autotransfusion von patienteneigenem Blut erfolgt zumeist die Aufbereitung durch einen Cell Saver. Auf diese Weise können Zellfragmente, Gerinnungsfaktoren, Gewebereste, freies Hämoglobin und ähnliches aus dem Blut herausgefiltert werden. Anschließend kann das Blut an den Patienten zurückgeleitet werden. Hierdurch wird das Risiko von Komplikationen gesenkt (Gunaydin, Robertson et al. 2018), (Damgaard, Nielsen et al. 2010). Abhängig von der Indikation kann die Aufbereitung von Erythrozyten- oder Vollblutkonzentraten erfolgen. Im Falle chirurgischer Interventionen unter Verwendung der HLM wird durch die hohe Antikoagulation davon ausgegangen, dass das Blut auch ohne vorangegangene Verarbeitung durch den Cell Saver an den Patienten zurückgegeben werden kann, ohne das Risiko für thromboembolische Ereignisse zu erhöhen. Potenziell aktivierte Zellen, sowie ausgeschüttete Gerinnungs- und Entzündungsmediatoren können auf diese Weise zurück in den Körperkreislauf gelangen.

1.4. Postoperative Komplikationen

Ein weiteres Risiko herzchirurgischer Eingriffe ist das Auftreten potenziell lebensbedrohlicher postoperativer Komplikationen. Die „Society of Thoracic Surgeons“ identifizierte in einer umfangreichen Studie vier postoperative Komplikationen mit der höchsten „Failure to Rescue“ Rate. „Failure to Rescue“ ist hierbei definiert als die Unfähigkeit den Exitus nach dem Auftreten einer postoperativen Komplikation zu verhindern (Hall, Lim et al. 2020). Laut der „Society of Thoracic Surgeons“ handelt es sich im Rahmen herzchirurgischer Komplikationen hierbei um Schlaganfälle, Nierenversagen, eine prolongierte Intubationsdauer sowie Reoperationen (Edwards, Ferraris et al. 2016). Postoperative Komplikationen sind assoziiert mit einer höheren Mortalität,

längeren Krankenhausaufenthalten und einer erhöhten Morbidität (Crawford, Magruder et al. 2017).

1.4.1 Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom

Eine gefährliche und potenziell letale postoperative Komplikation ist das SIRS. Ein SIRS kann durch unterschiedliche Faktoren wie beispielsweise Ischämie, Infektionen, Traumata, schwere Operationen oder Verbrennungen ausgelöst werden. Als Folge dieser Ursachen kommt es zu einer überschießenden systemischen Inflammation. Die Zytokine TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 sowie das Komplementsystem spielen hierbei eine wichtige Rolle. Anschließend erfolgt die Aktivierung von Mastzellen, neutrophilen Granulozyten, Thrombozyten, Makrophagen und Endothelzellen (Bone, Grodzin et al. 1997). Im Verlauf kann es durch Aktivierungskaskaden zu einem Zytokinsturm kommen, welcher zu Endorganschäden und Organversagen führen kann (Sagy, Al-Qaqaa et al. 2013). Laut der ersten Sepsisdefinition von 1992 mussten für die Diagnose eines SIRS zwei der folgenden SIRS-Kriterien erfüllt sein:

- Körpertemperatur > 38°C oder < 36°C
- Herzfrequenz > 90/min
- Atemfrequenz > 20/min und $\text{paCO}_2 \geq 33$ mmHg oder Oxygenierungsindex < 200
- Leukozytenzahl < 4.000/mm³, > 12.000/mm³ oder > 10 % unreife Leukozyten

(Bone, Balk et al. 1992)

Die SIRS-Kriterien sind, auch aufgrund ihrer geringen Spezifität (Churpek, Snyder et al. 2017), seit 2016 nicht mehr Bestandteil der aktuellen Sepsisdefinition (Singer, Deutschman et al. 2016). Sie werden zunehmend durch

den SOFA-Score (siehe Tab. 2) abgelöst, zur Früherkennung einer Infektion sind sie dennoch ein nützliches Hilfsmittel. Anhand des SOFA-Scores kann die Funktion der Organsysteme evaluiert werden und eine Abschätzung des Mortalitätsrisikos erfolgen. Die Bestimmung des SOFA-Scores erfolgt im intensivmedizinischen Bereich alle 24 Stunden. Hierbei werden die schlechtesten Werte dieses Zeitraums bestimmt. Ein Anstieg von ≥ 2 Punkten dient der Diagnosestellung einer akuten Organdysfunktion und geht mit einer Mortalität von mehr als 10 % einher (Singer, Deutschman et al. 2016).

Tabelle 2: SOFA-Score (Singer, Deutschman et al. 2016)

	0	1	2	3	4
paO₂/ FiO₂ (mmHg)	≥ 400	< 400	< 300	< 200	< 100
Glasgow Koma Skala	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Mittlerer arterieller Druck (mmHg) oder Katecholamine ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)	≥ 70	< 70	Dopamin < 5 oder Dobutamin	Dopamin > 5 oder Adrenalin $\leq 0,1$ oder Noradrenalin $\leq 0,1$	Dopamin > 15 oder Adrenalin $> 0,1$ oder Noradrenalin $> 0,1$
Bilirubin (mg/dl)	$< 1,2$	1,2 – 1,9	2,0 – 5,9	6,0 – 11,9	$> 12,0$
Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$)	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Kreatinin (mg/dl)	$< 1,2$	1,2 – 1,9	2,0 – 3,4	3,5 – 4,9	> 5

Als Parameter der laborklinischen Beurteilung hat sich die Bestimmung von IL-6 etabliert (Song, Park et al. 2019). Aufgrund der hohen Komplexität des SOFA-Scores empfiehlt sich im normalen stationären Setting die Nutzung des qSOFA-

Scores. Dieser ist auch ohne intensivmedizinische Ausstattung einfach und wiederholt anwendbar:

- Atemfrequenz $\geq 22/\text{min}$
- Verändertes Bewusstsein, Glasgow-Koma-Skala < 15
- Systolischer Blutdruck $\leq 100 \text{ mmHg}$

(Singer, Deutschman et al. 2016)

In einer retrospektiven Studie an 502 herzchirurgischen Patienten erfüllten 28,3 % der Patienten die SIRS-Kriterien innerhalb von 24 Stunden. Bei diesen Patienten war eine höhere Rate an Komplikationen, Mortalität sowie postoperativer Morbidität zu beobachten (Squicciarro, Labriola et al. 2019). Auch der SOFA-Score zeigt eine deutliche Korrelation mit der Dauer des Krankenhausaufenthaltes, der Morbidität sowie der Mortalität herzchirurgischer Patienten (Pätilä, Kukkonen et al. 2006).

1.4.2 Thromboembolie

Große Operationen mit nachfolgender Immobilisierung stellen ein hohes Risiko für thromboembolische Komplikationen dar. Rudolf Virchow beschrieb im Jahr 1846 bereits drei Bedingungen, welche die Entstehung einer Thrombose begünstigen. Diese sind als Virchow-Trias bekannt:

- Veränderungen der Gefäßwand (z.B. Endothelschädigung, Entzündungen)
- Veränderungen der Strömungsgeschwindigkeit des Bluts (z.B. Varizen, Immobilität, Wärmeanwendung)

- Veränderungen der Viskosität des Blutes (z.B. Hyperkoagulabilität, Thrombophilie)

Aufgrund der postoperativen Risikoerhöhung aller Faktoren ist eine prophylaktische Antikoagulation mindestens bis zum Wiedererlangen der vollständigen Mobilität, je nach Indikation auch darüber hinaus, notwendig. Nach herzchirurgischen Interventionen besteht im Falle einer Antikoagulation jedoch ein erhöhtes Risiko für postoperative Blutungen und Perikardtamponaden. Nach Empfehlung der „European Association for Cardiothoracic Surgery“ soll bei Abwesenheit einer absoluten Kontraindikation wie beispielsweise einer Blutung eine zeitnahe Antikoagulation erfolgen (Sousa-Uva*, Head et al. 2018), dennoch bleibt dieses Thema kontrovers diskutiert. Tiefe Venenthrombosen und arterielle Lungenembolien stellen eine gefährliche postoperative Komplikation dar. In einer retrospektiven Studie erfolgte die Analyse von 3.193.748 Patienten. Hiervon entwickelten 1,62 % eine tiefe Venenthrombose, 0,32 % eine arterielle Lungenembolie. Bei 24,3 % der arteriellen Lungenembolien zeigte sich hierbei begleitend außerdem eine tiefe Venenthrombose. Diese Komplikationen präsentierten sich trotz der scheinbar geringen Prozentzahl als signifikant im Vergleich zu der gesamten Patientenzahl. Auch sind tiefe Venenthrombosen und Lungenembolien mit weiteren kardiovaskulären, renalen und respiratorischen Komplikationen, sowie einer erhöhten Mortalität assoziiert (Khoury, Lyons et al. 2020). Verschiedene Studien legen jedoch nahe, dass sich das eigentliche Auftreten von thromboembolischen Komplikationen von den diagnostizierten Fällen unterscheidet (Ambrosetti, Salerno et al. 2004), (Mirhosseini, Forouzannia et al. 2013), (Goldhaber, Hirsch et al. 1995). Das Screening von 100 asymptomatischen Patienten zeigte ein Auftreten von tiefen Venenthrombosen bei 4 %, von Lungenembolien bei 13 % und einer Kombination beider Thrombosen bei 8 % der Patienten (Viana, Melo et al. 2017). Da sich keiner der Patienten klinisch auffällig präsentierte, wären diese Fälle aller Wahrscheinlichkeit nach nicht diagnostiziert worden. Die Dunkelziffer liegt vermutlich also höher als bekannt.

1.5 Wissenschaftliche Grundlagen

Die gerinnungsfördernde Eigenschaft von Baumwollbauchtüchern ist bei vielen chirurgischen Interventionen ausdrücklich erwünscht. Dennoch darf hierdurch keine potenzielle Gefahr für den Patienten entstehen. Mithilfe eines einfachen Gerinnungstests können Bauchtücher mit hyperkoagulativen Eigenschaften in vitro detektiert werden. Es zeigte sich, dass trotz einer erfolgten Antikoagulation mit Heparin eine Bildung von Thromben nicht in allen Fällen verhindert wird (Krajewski, Nathan et al. 2015). Während dieser Test eine Grundlage bietet hyperkoagulative Baumwolltücher zu detektieren, so zeigt er zeitgleich auch, dass durch Baumwollbauchtücher eine Gerinnungsaktivierung erfolgt. Im Falle einer autologen Transfusion ohne Cell Saver besteht demnach ein erhöhtes Risiko für thromboembolische Komplikationen. Weiterführende in vitro Untersuchungen zeigten außerdem eine verringerte ACT sowie eine reduzierte Konzentration von freiem Heparin im Blut (Krajewski, Hierlemann et al. 2016). Dies könnte eine Relevanz für die notwendige intraoperative Antikoagulation mit Heparin während der HLM haben. Dass die Nutzung der HLM zu einer inflammatorischen Aktivierung führt ist bekannt und weiterhin Gegenstand aktueller Forschung. Das proinflammatorische Potential von Baumwollbauchtüchern in der Medizin ist im Gegensatz hierzu bis dato unzureichend erforscht. Trunk et al. beschrieben 2019 erstmals eine inflammatorische Aktivierung durch Baumwollbauchtücher in vitro. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg der sC5b-9-Konzentration nach Inkubation von heparinisiertem Vollblut mit den zu untersuchenden Baumwolltüchern. Dies lässt auf eine Aktivierung des Komplementsystems schließen. Des Weiteren deutete ein PMN-Elastase Anstieg auf die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten mit anschließender Ausschüttung von Entzündungsmediatoren aus den α -Granula hin. Auch eine signifikant erhöhte Konzentration von IL-1 β , einem proinflammatorischen Zytokin, welches eine wichtige Rolle in der Inflammation spielt, dient als weiterer Hinweis für das proinflammatorische Potential von Baumwollbauchtüchern. Die Erhöhung dieser Parameter lässt außerdem darauf schließen, dass es nicht zu einer ausschließlichen Aktivierung von Leukozyten

kommt. Vielmehr führt es zu der Vermutung, dass eine Kommunikation unterschiedlicher Zellen sowie anderer Blutbestandteile an diesem inflammatorischen Prozess beteiligt ist. Im Rahmen der Studie erfolgte außerdem die Testung verschiedener Methoden zur Evaluierung des inflammatorischen Potentials nach Sterilisation. Weder trockene Hitze von 200 °C, Sterilisation durch Ethylenoxid, γ -Strahlung noch der Autoklavierprozess hatten einen Einfluss auf die Aktivierung von Vollblut. Die materialinduzierte Aktivierung konnte durch gängige Sterilisationsmethoden demnach nicht beeinflusst werden (Trunk, Mullerbader et al. 2019).

1.6. Ziel der Arbeit

Aufgrund der praktizierten maschinellen Autotransfusion ohne vorangegangene Aufbereitung des Bluts in einem Cell Saver nimmt die Herzchirurgie mit Nutzung der HLM eine Sonderstellung ein. Hier stellt sich die Frage, welches proinflammatorische und koagulative Potential in den Körperkreislauf zurückgeleitete Blutbestandteile wie aktivierte Zellen, ausgeschüttete Mediatoren, aber auch Zellfragmente auf die postoperative Inflammation und Gerinnung haben. Des Weiteren schließt sich die Frage an, welche Relevanz dies für den postoperativen sowie den Langzeitverlauf hat.

Seit einiger Zeit sind neben herkömmlichen Baumwollbauchtüchern auch synthetische Bauchtücher verfügbar. Diese bestehen beispielsweise aus Polyester oder Viskose. Ein Großteil der Produktionsschritte zur Herstellung der synthetischen Fasern kann exakt kontrolliert werden. Das Material und der Herstellungsprozess unterliegen somit weniger externen Faktoren. Nicht beeinflussbare Qualitätsschwankungen des Endprodukts durch bereits erwähnte äußere Einflüsse entfallen demnach. Die Produktqualität und -eigenschaften können genauer beeinflusst und bestimmt werden.

Basierend auf den vorangegangenen Erkenntnissen stellten sich uns folgende Fragen:

- 1) Besitzen Baumwollbauchtücher ein proinflammatorisches und koagulatives Potential?
- 2) Besitzen Synthetikbauchtücher eine höhere Hämokompatibilität und kann die Nutzung dieser zu einer Reduktion der Inflammation und der Gerinnungsaktivierung führen?

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen erfolgten die Planung und Durchführung der hier beschriebenen klinischen Studie.

2. Methodik

2.1 Studiendesign

In der vorliegenden prospektiven klinischen Studie erfolgte die Einteilung der Probanden in zwei Versuchsgruppen. Während die Operation in der Kontrollgruppe wie gewohnt mit regulären Baumwollbauchtüchern durchgeführt wurde, erfolgte bei der Experimentalgruppe die Verwendung der zu testenden Synthetikbauchtücher. Die Probensammlung erfolgte in beiden Gruppen intraoperativ zu jeweils genau definierten Zeitpunkten und widmete sich somit dem intraoperativen Vergleich der Entzündungs- und Gerinnungsparameter. Es erfolgte eine Überprüfung und Genehmigung der Studie durch die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität Tübingen (301 / 2018BO2; 08.08.2018).

2.2. Patientenkollektiv

Es erfolgte der Einschluss von 20 Probanden in die Studie. Hierbei handelte es sich um herzchirurgische Patienten, welche sich im Rahmen eines elektiven Eingriffs im stationären Umfeld der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Tübingen befanden. Eingeschlossen wurden Patienten mit geplantem Aortenklappen- oder Mitralklappenersatz, Aorta-ascendens-Ersatz, Mitralklappen- oder Trikuspidalklappenrekonstruktion, sowie koronarem Bypass und in variabler Kombination der genannten Operationsverfahren. Bei den geplanten Operationen handelte es sich ausschließlich um Eingriffe mit partieller oder vollständiger Sternotomie und Einsatz einer HLM. Die Auswahl der Probanden erfolgte am Vortag der Operation in Absprache mit dem zuständigen Operateur. Ebenfalls am Vortag der Operation wurde die Aufklärung der Probanden vorgenommen, sowie deren Einverständnis zur Studienteilnahme

eingeholt. Die Probanden wurden in zwei Gruppen mit jeweils 10 Patienten aufgeteilt. In der Kontrollgruppe erfolgte die Operation wie oben beschrieben mit standardmäßig verwendeten Baumwollbauchtüchern (Telasorb, cotton-based, 20 x 30 cm, Paul Hartmann AG, Heidenheim, Germany). Bei den Operationen der Experimentalgruppe kamen ausschließlich synthetische Bauchtücher zum Einsatz (BARRIER special non-woven abdominal swabs white, synthetic, 40 x 40 cm, Mölnlycke Health Care AG, Göteborg, Schweden). Die Nutzung von Baumwolltupfern erfolgte bei beiden Gruppen. Im Rahmen einer Implantatentnahme an den Extremitäten oder zur Unterlage des Herzens wurden Baumwollstreifen eingesetzt. Im Falle der synthetischen Gruppe wurde das Blut aus den dennoch verwendeten Baumwollstreifen nicht wie üblich in die Herz-Lungen-Maschine zurückgeführt, sondern verworfen. So wurde sichergestellt, dass durch Baumwolle aktiviertes Blut hier nicht im Körperkreislauf zirkulierte.



Abbildung 2: In der Studie verwendete Bauchtücher.

Links: Telasorb, cotton-based, 20 x 30 cm, Paul Hartmann AG, Heidenheim, Germany (Abbildung: Rechte bereitgestellt durch die Hartmann-Gruppe)

Rechts: BARRIER special non-woven abdominal swabs white, synthetic, 40 x 40 cm, Mölnlycke Health Care AG, Göteborg, Schweden.

2.3. Probenvorbereitung

Wie im Studienprotokoll vermerkt, erfolgte die Probenentnahme bei allen Probanden zu drei verschiedenen Zeitpunkten. Es wurden jeweils ein CTAD-Vacutainer 2,7 ml (BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland), eine Citrat-Monovette 3 ml (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) und eine EDTA-Monovette 2,6 ml (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) befüllt. Insgesamt benötigte man somit pro Proband drei CTAD-Vacutainer, drei EDTA-Monovetten und drei Citrat-Monovetten. Alle Probenröhrchen wurden im Voraus mit der jeweiligen Probanden-ID und dem Zeitpunkt der Probenentnahme beschriftet. Die Patienten-ID wurde chronologisch von der Zahl 1 aufsteigend vergeben. Getrennt durch „/“ erfolgte dann die Zuordnung zum Entnahmezeitpunkt. Hierfür wurden folgende Zahlen vergeben:

- 0: unmittelbar nach Angang an die Herz-Lungen-Maschine (HLM-Start)
- 1: kurz vor Abgang von der Herz-Lungen-Maschine (HLM-Ende)
- 2: in der Blutstillungsphase aus dem Bauchtuch (Bauchtuch)

Hieraus ergibt sich beispielsweise folgende Kombination: Die Proben des sechsten Probanden zum Zeitpunkt der Abnahme aus dem Bauchtuch erhielten die Beschriftung „06/2“. Nach der Beschriftung wurden die Monovetten leicht geöffnet. Der Stempel wurde bis zum Anschlag heruntergezogen und abgebrochen. Anschließend erfolgte der sorgfältige Verschluss der Monovetten. So konnte gewährleistet werden, dass der Stempel sich aufgrund des herrschenden Unterdrucks in der Monovette nicht wieder zurückzog. Der CTAD-Vacutainer wurde direkt nach der Entnahme aus dem Kühlschrank auf Eis gelegt und somit gekühlt zur Probenentnahme transportiert. Der Transport der Citrat- und der EDTA-Monovetten erfolgte bei Raumtemperatur.

2.4. Probenentnahme

Die erste Probenentnahme erfolgte aus dem arteriellen Schenkel der Herz-Lungen-Maschine wie beschrieben unmittelbar nach dem Angang an den Bypass. Hierfür zog der Kardiotechniker 10 ml Blut in eine unbeschichtete 10 ml Spritze auf. Anschließend erfolgte die unmittelbare Füllung der Probenröhrchen. Hierfür wurde der Deckel des Vacutainers beziehungsweise der Monovetten geöffnet, gefolgt von der Befüllung der Probenröhrchen bis zum jeweiligen vorgegebenen Maximum. Die Proben des ersten Entnahmezeitpunkts wurden unmittelbar nach Gewinnung der Blutproben zur Erstverarbeitung in das Labor gebracht, um die erlaubte Lagerungsdauer von 60 Minuten nicht zu überschreiten. Die Entnahme der zweiten Probe erfolgte kurz vor Abgang von der HLM, nach dem Vorbild des ersten Entnahmezeitpunkts. Die dritte Probe wurde während der Blutstillungsphase nach Gabe des Protamins gewonnen. Die Probengewinnung erfolgte hierfür direkt aus dem Bauchtuch, welches zum Zwecke der Blutstillung in das Operationsgebiet eingebracht wurde. Hierfür wrang der Operateur oder eine sterile Assistenz das Bauchtuch aus dem Operationsgebiet über einer Schale aus. Das Blut wurde dann aus dieser Schale in eine unbeschichtete 10 ml Spritze aufgezogen. Die Probe wurde unmittelbar in jeweils einen CTAD-Vacutainer, eine EDTA-Monovette und eine Citrat-Monovette umgefüllt. Hierbei musste darauf geachtet werden, dass möglichst wenig Thromben in die Probenröhrchen gelangten. Zeitweise war das Blut zum Zeitpunkt der Entnahme aus dem Bauchtuch bereits stark koaguliert. War es nicht möglich die erforderlichen drei Probenröhrchen ohne größere Thromben zu befüllen, so empfahl es sich noch Blut aus einem weiteren Bauchtuch zu entnehmen. Die Proben der Entnahmezeitpunkte 1 und 2 wurden anschließend gemeinsam in das Labor zur Verarbeitung gebracht. Auch hier erfolgte die Erstverarbeitung des Probenmaterials maximal 60 Minuten nach dem Befüllen der Proberöhrchen.

2.5. Erstverarbeitung

Für die anschließende Verarbeitung der Proben wurden 1,5 ml Eppendorf Safe-Lock Reaktionsgefäße mit der jeweiligen ID des Probenröhrchens beschriftet. Zusätzlich erfolgte die Beschriftung mit der Menge des abzufüllenden Probenmaterials. Für CTAD erfolgte pro Probe die Beschriftung von drei Eppendorf Reaktionsgefäßen mit der Probanden-ID und der Mengenangabe von 70 µl. Im Falle von EDTA erfolgte die Beschriftung von vier Reaktionsgefäßen mit 100 µl und einem Reaktionsgefäß mit 300 µl pro Probe und für Citrat benötigte man fünf Reaktionsgefäße mit 100 µl und zwei Aliquote mit jeweils 300 µl.

Die CTAD-Monovetten wurden bei 2500 x g für 20 Minuten bei 4 °C zentrifugiert (Zentrifuge: Rotanta 460 R, Hettich). Außerdem wurde eine Neutralmonovette 4,5 ml (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pro CTAD-Vacutainer vorbereitet. Dies erfolgte nach dem Vorbild der anderen Monovetten. Nach dem Zentrifugieren wurde die vorbereitete Serum-Monovette mit 700 µl aus der Mitte des CTAD-Überstandes befüllt. Es erfolgte die abermalige Zentrifugation bei 2500 x g für 20 Minuten bei 4 °C. Aus der Mitte des Zentrifugats wurden nun wiederum jeweils 70 µl in drei vorbereitete Eppendorf Reaktionsgefäße pipettiert. Abschließend wurden die Proben in flüssigem Stickstoff konserviert. Die Lagerung erfolgte bis zur Weiterverarbeitung bei -20 °C. Vor der Zentrifugation der EDTA-Monovetten wurde die Bestimmung des Blutbilds mittels ABX-Zellzählgerät (ABX Micros 60, Horiba Medical, Kyoto, Japan) vorgenommen. Es schloss sich die initiale Verarbeitung in der Zentrifuge bei 2500 x g für 20 Minuten bei 4 °C an. Aus dem so entstandenen EDTA-Überstand wurden 4 x 100 µl und 1 x 300 µl in die vorbereiteten Eppendorf Reaktionsgefäße abgefüllt. Die Proben wurden ebenfalls in flüssigem Stickstoff konserviert und bei -80 °C bis zu Ihrer Weiterverarbeitung gelagert.

Der Inhalt der Citrat-Monovetten wurde bei 1800 x g für 18 Minuten bei 22 °C zentrifugiert. Aus dem hieraus entstandenen Überstand erfolgte das Abpipettieren von 5 x 100 µl und 2 x 300 µl in die vorbereiteten Eppendorf

Reaktionsgefäße. Auch hier erfolgte die anschließende Konservierung in flüssigem Stickstoff mit nachfolgender Lagerung bei -20 °C.

Tabelle 3: Erstverarbeitung der Probandenproben

Probenmaterial	Zentrifugation	Aliquote	Lagerung
CTAD	1. 2500 x g, 20 Minuten, 4°C 2. 2500 x g, 20 Minuten, 4°C	3 x 70 µl	- 20 °C
EDTA	2500 x g, 20 Minuten, 4°C	4 x 100 µl 1 x 300 µl	- 80°C
Citrat	1800 x g, 18 Minuten, 22°C	5 x 100 µl 2 x 300 µl	- 20°C

2.6. Immunoassays

Die quantitative Bestimmung der Parameter PMN-Elastase, β -TG, TAT-Komplex und SC5b-9 erfolgte mittels ELISA-Immunoassay aus den tiefgefrorenen Proben.

2.6.1. SC5b-9

Die Bestimmung des terminalen Komplementkomplexes SC5b-9 erfolgte aus EDTA-Plasma mittels Immunoassay (MicroVue™ Complement, Quidel, Osteomedical GmbH, Sissach, Switzerland) wie in den Herstellerangaben beschrieben.

Die Verarbeitung aller Reagenzien erfolgte bei einer Temperatur zwischen 15 °C und 30 °C. Die tiefgefrorenen Probandenproben wurden bei 37 °C aufgetaut. Die Proben wurden mit Probenpuffer 1:10 verdünnt. Teilweise war bei stark aktivierten Proben eine höhere Verdünnung erforderlich. Des Weiteren wurden 50 ml Waschlösungskonzentrat durch Zugabe von 950 ml Ampuwa verdünnt. Zur Vorbereitung der Testplatte erfolgte die Zugabe von jeweils 300 µl Waschlösung in die Vertiefungen. Nach einer Inkubationszeit von zwei Minuten bei 15 – 30 °C wurden die Vertiefungen mittels Wasserstrahlpumpe ausgewaschen. Danach folgte die Zugabe von jeweils 100 µl Probenpuffer, Standardlösungen A – E, Kontrollen H (hohe Kontrolle) und L (niedrige Kontrolle) sowie von verdünnten Probandenproben in Doppelbestimmung. Im Anschluss an eine 60-minütige Inkubationsperiode bei 15 – 30 °C wurden alle Flüssigkeiten mittels Wasserstrahlpumpe aus den Vertiefungen abgesaugt. Nach der Zugabe von jeweils 300 µl Waschpuffer und einer Inkubation von einer Minute wurde die Flüssigkeit ausgekippt. Dieser Waschvorgang wurde weitere viermal wiederholt. Nachdem die Platte auf einem Zellstofftuch ausgeklopft wurde, folgte die Zugabe von jeweils 50 µl SC5b-9-Konjugat. Die anschließende Inkubation für eine Dauer von 30 Minuten fand bei 15 – 30 °C statt. Nach einer erneuten Waschung erfolgte die Zugabe von jeweils 100 µl TMB-Substratlösung. An eine Inkubationsperiode von 15 Minuten im Dunkeln schloss sich die Zugabe von jeweils 100 µl Stopplösung zur Unterbrechung der enzymatischen Reaktion an. Diese Zugabe erfolgte in derselben Reihenfolge und Geschwindigkeit wie die vorherige Zugabe der TMB-Substratlösung. Die anschließende Messung der Extinktion wurde innerhalb von 30 Minuten bei einer Wellenlänge von 450 nm gegen den Leerwert durchgeführt.

2.6.2. β -TG

Die quantitative Bestimmung des β -TGs erfolgte mittels Immunoassay (Asserachrom® β -TG, Diagnostica Stago, Parsippany, USA) nach Herstellerangaben aus CTAD-Plasma.

Auch hier wurden die Proben in einem Wasserbad bei 37 °C aufgetaut, gefolgt von der anschließenden Verdünnung mit Phosphatpuffer um den Faktor 1:21. Hierfür wurden 50 μ l Plasma mit 1 ml Phosphatpuffer vermischt. Die restlichen Reagenzien wurden auf eine Temperatur zwischen 18 °C und 25 °C erwärmt. Zur Vorbereitung des Waschpuffers wurden 50 ml mit 950 ml Ampuwa verdünnt. Die lyophilisierten, mit Peroxidase gekoppelten β -TG-Antikörper wurden pro Fläschchen mit 8 ml Phosphatpuffer gemischt, gefolgt von einer anschließenden Ruhephase von 30 Minuten bei 18 – 25 °C. Unmittelbar vor dem Gebrauch wurde das Gemisch gevortext. Der β -TG-Standard diente zum Erstellen einer Standardkurve mit 1:2-Verdünnung. Eine Verdünnung der Standardlösung mit Phosphatpuffer im Verhältnis 1:21 stellte den höchsten Wert der Standardkurve dar. Ausgehend hiervon wurden weitere Verdünnungen mittels Phosphatpuffer im Verhältnis 1:2 angefertigt, sodass sich daraus eine Standardkurve, ebenfalls im Verhältnis 1:2 ergab. Originalstandard sowie -kontrolle wurden außerdem jeweils mit 0,5 ml Ampuwa versetzt und nach einer Wartezeit von 30 Minuten mit einem Vortex-Schüttler vermischt. Außerdem wurde jeweils eine 1:21 sowie eine 1:42-Verdünnung der Kontrolllösung mit Phosphatpuffer angesetzt. Zu Beginn der quantitativen Bestimmung wurden anschließend jeweils 200 μ l verdünnte Kontrollen, Phosphatpuffer (Blank), verdünnte Probandenproben sowie Standards in die Vertiefungen pipettiert. Die Bestimmung erfolgte bei allen Proben als Doppelbestimmung. Nach dem Abkleben der Testplatte mittels selbstklebender Folie folgte die Inkubation für 60 Minuten bei Raumtemperatur (18 – 25 °C). Daran schloss sich das Absaugen der Flüssigkeit mittels Wasserstrahlpumpe sowie eine fünfmalige Waschung mit jeweils 300 μ l Waschpuffer pro Vertiefung an. Nach der letzten Waschung wurde die Testplatte auf einem Zellstofftuch ausgeklopft. Unmittelbar darauf folgte das Pipettieren von

200 µl β-TG-Antikörper-Peroxidase-Konjugat in jede Vertiefung, gefolgt vom erneuten Abkleben der Platte und einer 60-minütigen Inkubationsperiode bei Raumtemperatur. Ein zweiter Waschvorgang wurde nach Ablauf der Inkubationszeit nach bekanntem Vorbild durchgeführt. Nach der Zugabe von je 200 µl TMB-Lösung schloss sich eine dritte Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln mit einer Dauer von fünf Minuten an. Nach exakt fünf Minuten wurden anschließend je 50 µl Schwefelsäure (1M) zu dem Gemisch pipettiert, um die Reaktion zu stoppen. Zwischen 15 bis 60 Minuten nach Zugabe der Stopplösung erfolgte die Bestimmung der Extinktion der Proben in einem Photometer bei 450 nm. Die Werte wurden hierbei gegen den Leerwert (Blank) abgelesen.

2.6.3. TAT-Komplex

Die Bestimmung des TAT-Komplexes wurde mittels Enzymimmunoassay (Enzygnost® TAT Micro, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) nach Herstellerangaben aus Citrat-Plasma durchgeführt.

Vorbereitend wurden 15 ml Waschlösung mit 285 ml destilliertem Wasser verdünnt. 200 µl Anti-Human-AT-III/POD-Konjugat wurden mit 11 ml Konjugat-Puffer gemischt. Ebenfalls wurden die Standard-Plasmen S1 bis S4 in jeweils 1 ml destilliertem Wasser gelöst. Diese dienten anschließend als Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen: S1 (2 µg/L TAT), S2 (6 µg/L TAT), S3 (20 µg/L TAT) und S4 (60 µg/L). Als Kontrolle diente das TAT-Kontroll-Plasma mit der auf dem Etikett angegebenen Konzentration.

Die Bestimmung von Standards, Kontrolle sowie Patientenproben erfolgte auch hier regulär als Doppelbestimmung auf einer Platte. Vor Beginn wurde sichergestellt, dass alle verwendeten Reagenzien eine Temperatur zwischen 15 °C und 25 °C aufwiesen.

In die verwendeten Vertiefungen wurden nun jeweils 50 µl TAT-Probenpuffer pipettiert. Zusätzlich erfolgte die Zugabe von jeweils 50 µl Standard, Kontrolle oder Patientenplasmen. Die Patientenplasmen mussten je nach Aktivierung

verdünnt werden. Durch ein kurzes Schütteln der Platte wurde die Vermischung der beiden Reagenzien gewährleistet. Auf das Abdecken der Platte mit selbstklebender Folie folgte eine 15-minütige Inkubationsperiode bei 37 °C. Anschließend wurden die Vertiefungen mittels Absaugens von dem Überstand befreit. Auf das Waschen mit 0,3 ml der vorbereiteten Waschlösung folgte ein erneutes Absaugen. Dieser Waschvorgang wurde zweimalig wiederholt, mit anschließendem Ausklopfen der Platte auf einem Zellstofftuch. Nach der Zugabe von jeweils 100 µl Konjugat-Puffer in jede Vertiefung folgte das Abkleben der Platte mit Folie sowie eine erneute Inkubationsperiode von 15 Minuten bei 37 °C. Während dieser Zeit wurde eine Chromogen-Lösung für den späteren Gebrauch durch Vermischen von 10 ml Puffer/Substratlösung und o-Phenylendiamin-dihydrochlorid hergestellt. Anschließend wurde die Platte abgesaugt und dreimal gewaschen. Danach wurden jeweils 100 µl der Chromogen-Puffer/Substrat-Lösung in jede Vertiefung pipettiert. Eine letzte Inkubationsperiode erfolgte anschließend nach erneutem Abkleben der Platte mit Folie für 30 Minuten bei 15 °C bis 25 °C in einer lichtgeschützten Umgebung. Durch die Zugabe der schwefelsäurehaltigen Stopp-Lösung wurde die Reaktion unterbrochen. Die Quantifizierung wurde abschließend innerhalb einer Stunde bei einer Wellenlänge von 492 nm durchgeführt.

2.6.4. PMN-Elastase

Mithilfe eines Festphasen-Immunoassays erfolgte die Bestimmung des PMN-Elastase- α 1-Proteinase-Inhibitor-Komplexes (PMN-Elastase ELISA, Demeditec, Kiel, Germany) nach Herstellerangaben aus Citrat-Plasma.

Zu Beginn wurden 30 Minuten vor der Durchführung des ELISAs 2 µl lyophilisierter PMN-Elastase-Standard mit 2 ml Standard-/Probenverdünnungspuffer vermischt. Hieraus erfolgte das Ansetzen einer 1:2 Verdünnungsreihe. Jeweils 0,5 ml des Standard-/Probenverdünnungspuffers wurden in sechs vorab beschriftete Röhrchen pipettiert. Die Beschriftungen

lauteten wie folgt: G (500 ng/ml), F (250 ng/ml), E (125 ng/ml), D (62,5 ng/ml), C (31,3 ng/ml) und B (15,6 ng/ml). In das Röhrchen G folgte anschließend die Zugabe von 0,5 ml des reaktivierten PMN-Elastase-Standards sowie die Durchmischung der beiden Reagenzien. Im folgenden Schritt wurden 0,5 ml aus dem Röhrchen G in das Röhrchen F pipettiert und ebenfalls durchmischt. Diese Schritte wurden bis zur Vollendung der Verdünnungsreihe wiederholt. Als Nullstandard diente der Standard-/Probenverdünnungspuffer in einem mit A beschrifteten Röhrchen (0 ng/ml). Als höchster Standard wurde der reine PMN-Elastase Standard, mit H beschriftet, verwendet (1000 ng/ml).

Die PMN-Elastase-Kontrollen wurden ebenfalls 30 Minuten vor Testbeginn in 1 ml Standard-/Probenverdünnungspuffer aufgelöst. Außerdem wurden 50 ml Waschlösung mit 450 ml destilliertem Wasser aufgefüllt. Des Weiteren erfolgt die Verdünnung der zu testenden Aliquote auf 1:100 mittels Standard-/Probenverdünnungspuffer. Zu 10 µl Patientenprobe wurden 990 µl des Puffers hinzu pipettiert. Anschließend folgte das Pipettieren von jeweils 100 µl der Standards, der Kontrollen und der vorverdünnten Patientenlösungen in die vorab vorbereiteten Vertiefungen der Messplatte. Zu jeder Probe erfolgte eine Doppelbestimmung auf derselben Platte. Nach 60-minütiger Inkubationszeit bei Raumtemperatur (18 - 28 °C) auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler (PST-60 HL, BioSan) bei 350-400 rpm erfolgte das vorsichtige Abgießen des Überstands von der Platte. Die anschließende Waschung mittels Waschpuffer wurde viermal mit jeweils 300 µl vorgenommen. Anknüpfend erfolgte die Zugabe von 150 µl Enzymkonjugat in jede Vertiefung. Dieses besteht aus mit Meerrettichperoxidase markierten Anti- α 1-Proteinase-Inhibitor-Antikörpern. Nach einer erneuten 60-minütigen Inkubationsperiode bei Raumtemperatur auf einem Schüttler wurde der Überstand abgegossen. Die anschließende viermalige Waschung mit jeweils 300 µl Waschpuffer wurde nach bekanntem Vorbild vorgenommen. Im Folgenden wurden in jede Vertiefung 200 µl TMB-Substratlösung pipettiert. Nach Ablauf der anschließenden 20-minütigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur im Dunkeln wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 µl der salzsäurehaltigen Stopp-Lösung, und deren Durchmischung mit der TMB-Lösung, unterbrochen.

Die abschließende Messung der optischen Dichte bei 450 nm erfolgte maximal 15 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung.

2.7. Bioplex

Die quantitative Bestimmung der Zytokine und Chemokine IL-1 β , IL-6, SDF-1 α , MCP-1 und TNF- α erfolgte extern durch das deutsche Zentrum für Diabetesforschung (DZD e.V.) und metabolische Erkrankungen des Helmholtz-Zentrums München an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, sowie durch die Abteilung für Innere Medizin IV für Endokrinologie, Diabetologie und Nephrologie des Universitätsklinikums Tübingen mittels Multiplex Immunoassay (Human High Sensitivity Cytokine Luminex Performance Assay; R&D Systems, Germany) aus EDTA-Plasma.

2.8. Erfassung erweiterter Patientendaten

Zusätzlich zu den im Verlauf der Studie erhobenen Daten wurden erweiterte Patienteninformationen aus der digitalen Patientenakte gewonnen. Hierbei handelte es sich um demografische Daten der Probanden, wie Alter und Geschlecht, sowie personenbezogene Daten über Gewicht, Größe, BMI, Körperoberfläche und Komorbiditäten. In Bezug auf operationsspezifische Daten wurden Operationsdauer, Bypasszeit, Aortenklemmzeit, Dauer der postoperativen Intensivbehandlung sowie Gesamtdauer der Hospitalisierung erfasst. Zur Ergänzung der während der Studie erhobenen Blutbilder erfolgte die Auswertung der Laborparameter der Probanden. Hierbei wurden Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, Hb sowie Hct zum Zeitpunkt der Aufnahme, am ersten postoperativen Tag und zur Entlassung erhoben.

2.9. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mittels IBM SPSS Statistics 26. Um einen Überblick über den Datensatz zu erlangen, begann die Auswertung mit der Sichtung der deskriptiven Statistik. Speziell betrachtet wurden Mittelwert und Standardabweichung. Alle Daten wurden mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung und mithilfe des Levene-Tests auf Varianzhomogenität getestet. Der anschließende Vergleich der Entnahmezeitpunkte eines Testparameters untereinander und getrennt nach Gruppen Baumwolle/Synthetik erfolgte bei den Zellzahlen (Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten) bei normalverteilten Daten mittels Oneway-ANOVA mit Bonferroni post-hoc Testung. Im Falle nicht normalverteilter Daten wurde ein Friedmann-Test mit anschließender Post-hoc-Testung durchgeführt. Bei bestehender Normalverteilung jedoch fehlender Varianzhomogenität wurde eine Welch-ANOVA mit anschließender Games-Howell post-hoc Testung durchgeführt. Im Falle der restlichen Parameter erfolgte der Vergleich der Zeitpunkte innerhalb einer Gruppe mittels t-Test für abhängige Variablen. Bei nicht parametrischen Werten erfolgte die Durchführung des Wilcoxon-Tests.

Der Vergleich der Rohdaten der einzelnen Entnahmezeitpunkte zwischen den Gruppen Synthetik und Baumwolle wurde mittels t-Test für unabhängige Variablen bei normalverteilten Daten durchgeführt. Im Falle einer Verletzung der Normalverteilung wurde der Vergleich mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, bei Verletzung der Varianzhomogenität aber gegebener Normalverteilung, mittels Welch-Test. Die Erstellung der Abbildungen erfolgte mittels Prism Graph Pad 6.

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv beider Versuchsgruppen wies keine signifikanten Unterschiede in Alter, Geschlecht, Größe und BMI auf. Auch in der Operationsdauer, Bypasszeit, Dauer der Intensivbehandlung, Hospitalisierungsdauer sowie Komorbiditäten ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen feststellen (siehe Tab. 4 + 5). Es trat ein Todesfall in der Experimentalgruppe am fünften postoperativen Tag auf. Es waren keine signifikanten Unterschiede in den demografischen, patientenbezogenen und operativen Daten der Probanden zu erkennen.

Tabelle 4: Merkmale aller Probanden als Mittelwert \pm SD.

n =	20 (1 Tod, Tag 5 postoperativ)
Geschlecht (männl. /weibl.)	13/7
Alter (Jahre)	67,80 \pm 7,52
Größe (cm)	169,75 \pm 9,67
Gewicht (kg)	78,80 \pm 18,16
Körperoberfläche (m ²)	1,89 \pm 0,25
BMI (kg/m ²)	27,31 \pm 5,21
OP-Dauer (Minuten)	237,35 \pm 50,80
Bypasszeit (Minuten)	118,65 \pm 45,71
Aortenklemmzeit (Minuten)	88,85 \pm 37,26
Intensivbehandlung postoperativ (Tage)	1,70 \pm 1,78
Gesamtdauer Hospitalisierung (Tage)	12,20 \pm 5,02

Tabelle 5: Merkmale aller Probanden getrennt nach Gruppe; Mittelwert \pm SD.

Kein signifikanter Unterschied bezüglich Geschlechtes, Alter, Größe, Gewicht, Körperoberfläche, BMI, OP-Dauer, Bypasszeit, Aortenklemmzeit, Intensivbehandlung postoperativ und Gesamtdauer Hospitalisierung. Ermittlung der Signifikanzen mittels t-test bei unabhängigen Stichproben; Mann-Whitney-U-Test; Chi-Quadrat-Test.

Merkmale	Kontrollgruppe (Baumwolle)	Experimentalgruppe (Synthetik)
n =	10	10 (1 Tod Tag 5 postoperativ)
Geschlecht (männl. /weibl.)	7/3	6/4
Alter (Jahre)	66,70 \pm 7,39	68,90 \pm 7,87
Größe (cm)	170,20 \pm 10,63	169,30 \pm 9,15
Gewicht (kg)	82,56 \pm 14,96	75,50 \pm 21,17
Körperoberfläche (qm)	1,93 \pm 0,21	1,85 \pm 0,29
BMI (kg/m ²)	28,69 \pm 4,94	25,93 \pm 5,35
Operationsdauer (Minuten)	245,70 \pm 49,57	229,00 \pm 53,26
Bypasszeit (Minuten)	133,70 \pm 48,22	103,60 \pm 39,78
Aortenklemmzeit (Minuten)	101,40 \pm 38,05	76,30 \pm 33,66
Intensivbehandlung postoperativ (Tage)	2,00 \pm 2,21	1,40 \pm 1,27
Gesamtdauer Hospitalisierung (Tage)	13,40 \pm 6,00	11,00 \pm 3,74
Komorbiditäten		
Adipositas BMI (kg/m ²) \geq 25 -<30	50 %	50 %
BMI (kg/m ²) \geq 30-<35	20 %	20 %
BMI (kg/m ²) \geq 35-<40	10 %	
BMI (kg/m ²) \geq 40		

Diabetes mellitus	20 %	50 %
Arterielle Hypertonie	60 %	70 %

3.2. Zellzahlen

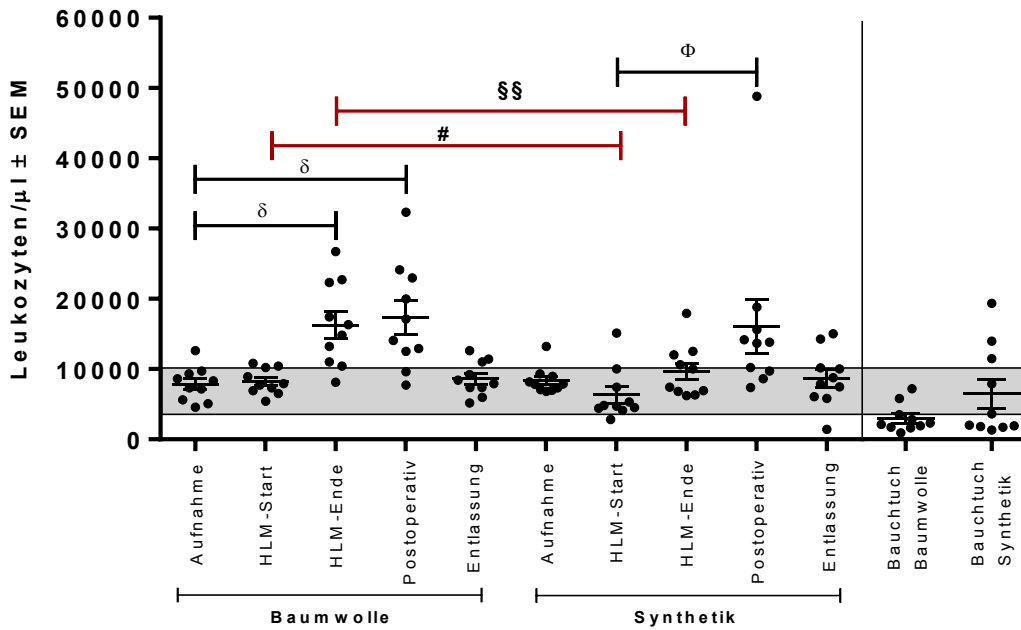
Die Leukozytenwerte der Kontrollgruppe ließen einen signifikanten Anstieg der Zellzahl der Zeitpunkte HLM-Ende und Postoperativ verglichen mit dem Aufnahmezeitpunkt erkennen (Abb. 3a). Im Gegensatz hierzu zeigte sich in der Experimentalgruppe ein signifikanter Anstieg zwischen HLM-Start und postoperativer Entnahme. Während die Leukozytenzahlen in der Kontrollgruppe zum Ende der HLM deutlich über dem physiologischen Bereich lagen, zeigten sie sich in der Experimentalgruppe innerhalb des Referenzbereichs. Beim direkten Vergleich der Leukozytenwerte zwischen beiden Gruppen ließ sich sowohl bei HLM-Start ($p < 0,05$) als auch bei HLM-Ende ($p < 0,01$) eine signifikant höhere Leukozytenzahl der Kontrollgruppe beobachten. Bei der Betrachtung der Leukozytenzahlen der aus den Bauchtüchern entnommenen Proben war kein Unterschied beider Gruppen erkennbar.

Die Betrachtung der Erythrozyten zeigt auf den ersten Blick in beiden Gruppen ab dem Start der HLM einen Abfall der roten Blutkörperchen unter den Referenzbereich, welcher sich bis zum Zeitpunkt der Entlassung nicht erholt (Abb. 3b). Signifikanzen erreicht dieser Abfall in der Experimentalgruppe zu jedem Zeitpunkt verglichen mit der Aufnahme. In der Kontrollgruppe wird lediglich zwischen Aufnahme und postoperativer Entnahme kein signifikanter Unterschied der Erythrozytenkonzentrationen erreicht. Der Vergleich zwischen beiden Gruppen zeigte weder aus den Bauchtüchern noch zu anderen Zeitpunkten einen signifikanten Unterschied.

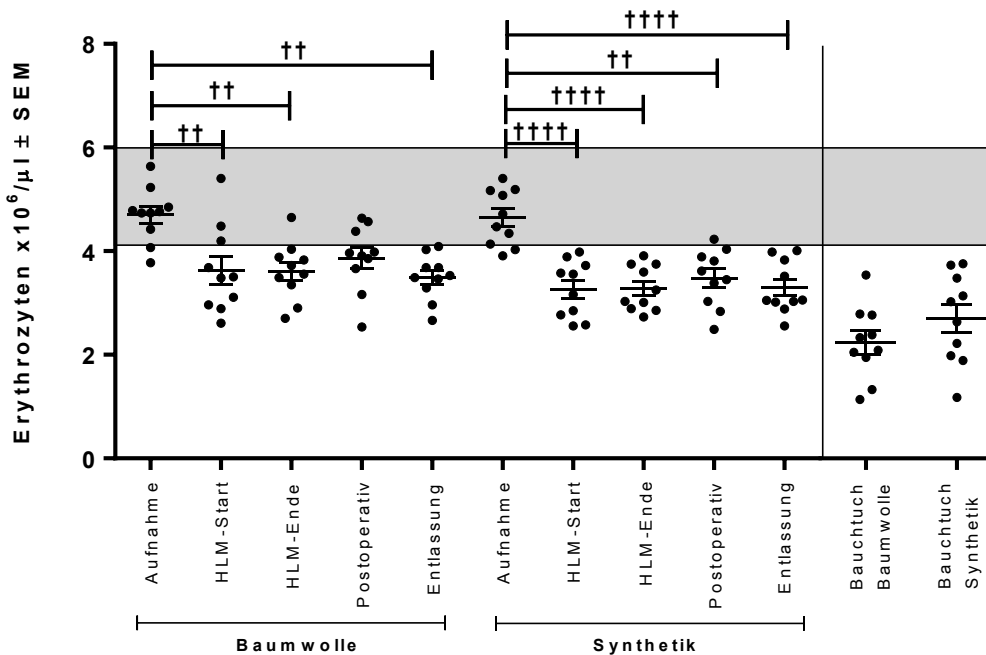
Die Thrombozytenzahlen der Kontrollgruppe fielen im Vergleich zum Wert bei der Aufnahme an den Zeitpunkten HLM-Ende und Postoperativ signifikant ab (Abb. 3c). Zum Zeitpunkt der Entlassung waren die Thrombozytenzahlen gegenüber der postoperativen Entnahme wieder signifikant angestiegen und

lagen im Referenzbereich. Dahingegen konnte in der Experimentalgruppe keine signifikante Dynamik der Thrombozytenwerte beobachtet werden. Der direkte Vergleich beider Gruppen ließ weder zwischen den Entnahmen aus den Bauchtüchern noch zwischen den anderen Zeitpunkten einen signifikanten Unterscheid erkennen.

a)



b)



c)

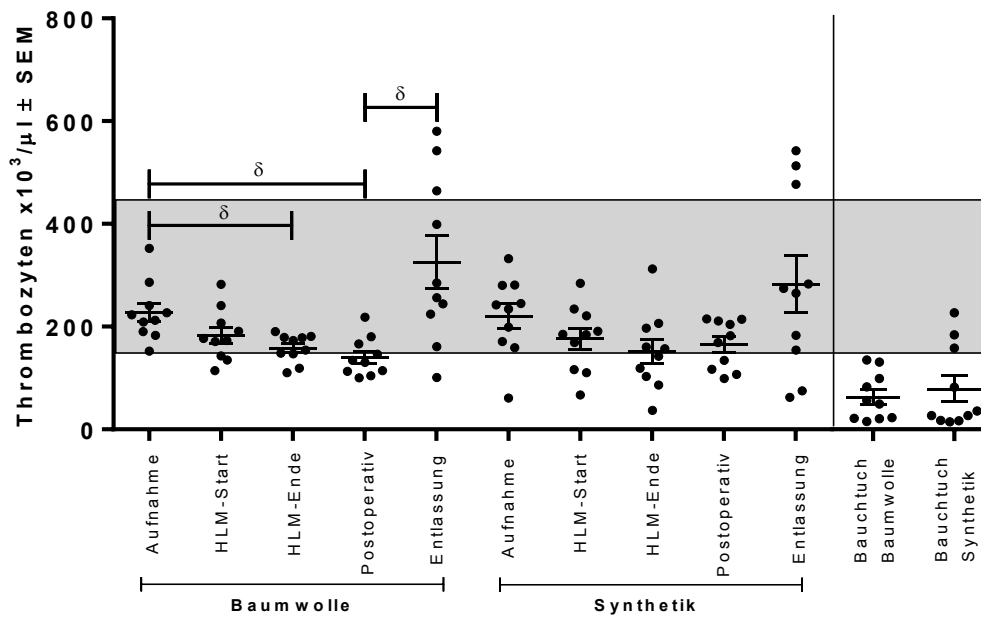


Abbildung 3: Ein Anstieg der Zellzahlen der Leukozyten (3a) lässt auf eine Aktivierung durch die Baumwollbauchtücher schließen.

Darstellung der Zellzahlen der Kontrollgruppe (Baumwolle) und der Experimentalgruppe (Synthetik) als Mittelwerte \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte Aufnahme, HLM-Start, HLM-Ende, Bauchtuch, Postoperativ und Entlassung. **a)** Leukozyten, **b)** Erythrozyten, **c)** Thrombozyten. Physiologische Bereiche der Zellzahlen sind als graue Bereiche hinterlegt. Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels Oneway ANOVA mit Bonferroni Post-hoc-Testung; $\dagger\dagger$ $p < 0,01$, $\dagger\dagger\dagger$ $p < 0,0001$; Welch-ANOVA mit Games-Howell Post-hoc-Testung; δ $p < 0,05$; und Friedmann-Test ϕ $p < 0,05$. Signifikanzen zwischen beiden Gruppen berechnet mittels t-Test für unabhängige Variablen; $\S\S$ $p < 0,01$; und Mann-Whitney-U-Test; $\#$ $p < 0,05$.

3.3. Aktivierung der neutrophilen Granulozyten

Zur Evaluierung der Aktivierung der neutrophilen Granulozyten erfolgte die Bestimmung der PMN-Elastase. Sowohl in der Kontroll-, als auch in der Experimentalgruppe, zeigte sich ein jeweils signifikanter Anstieg der PMN-Elastasekonzentrationen zwischen HLM-Start und HLM-Ende (Abb. 4). Zu den Zeitpunkten während der Nutzung der HLM ließ sich kein Unterschied zwischen beiden Gruppen beobachten. Im Gegensatz hierzu war die Aktivierung der neutrophilen Granulozyten gemessen direkt aus den Bauchtuchproben in der Kontrollgruppe mit einer Signifikanz von $p < 0,01$ höher als in der Experimentalgruppe.

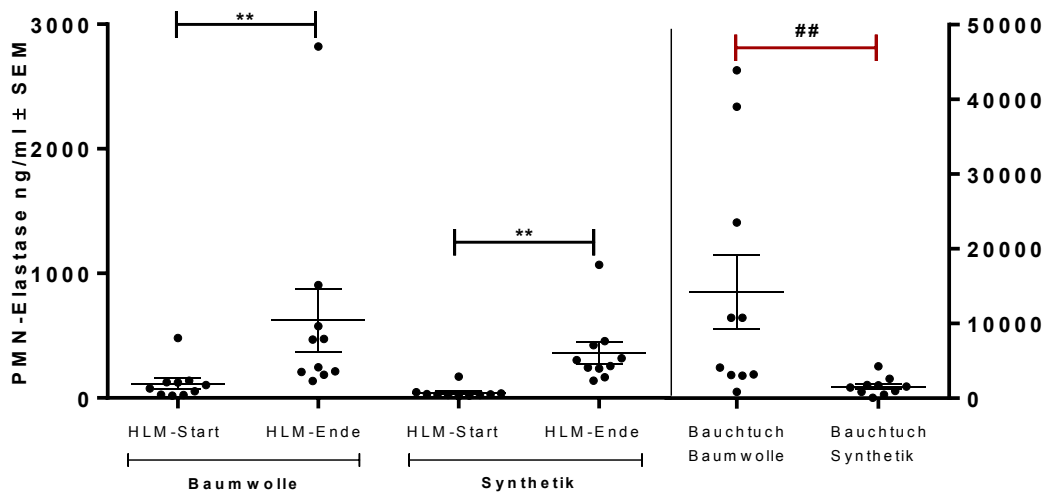


Abbildung 4: Signifikant erhöhte PMN-Elastase-Konzentrationen der Kontrollgruppe lassen auf eine verstärkte Aktivierung der neutrophilen Granulozyten schließen.

Dargestellt als Mittelwert \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte HLM-Start, HLM-Ende und Bauchtuch. Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels Wilcoxon-Test; ** $p < 0,01$. Zwischen beiden Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Test; ## $p < 0,01$.

3.4. Proinflammatorische Marker

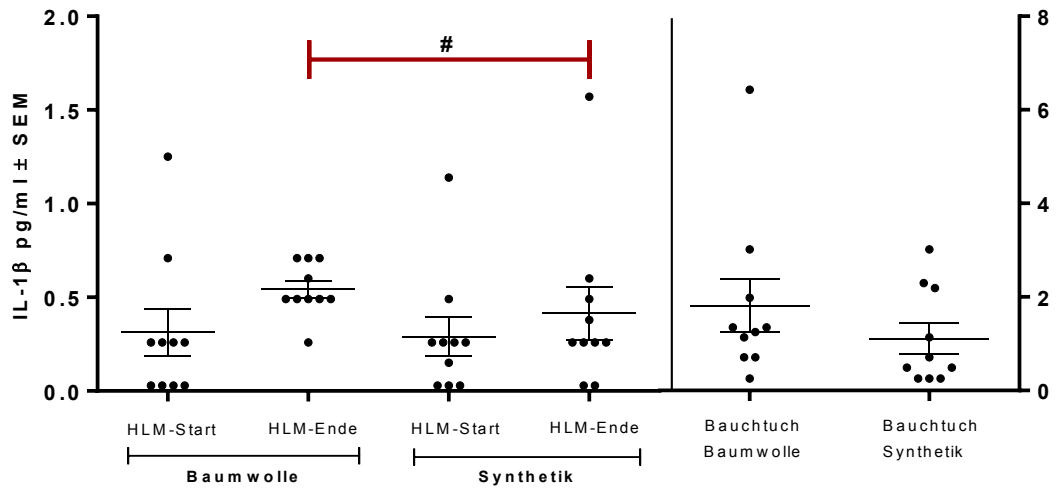
Als Marker einer proinflammatorischen Aktivierung durch die Bauchtuchmaterialien erfolgte die Bestimmung der proinflammatorischen Interleukine IL-1 β , IL-6 sowie des Zytokins TNF- α .

Innerhalb der Versuchsgruppen Baumwolle und Synthetik ließen sich keine signifikanten Unterschiede der IL-1 β -Konzentration zwischen den Zeitpunkten HLM-Start und HLM-Ende beobachten (Abb. 5a). Im Gegensatz hierzu präsentierte sich im Gruppenvergleich jedoch eine signifikant erhöhte IL-1 β -Konzentration ($p < 0,05$) der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Probenentnahme HLM-Ende.

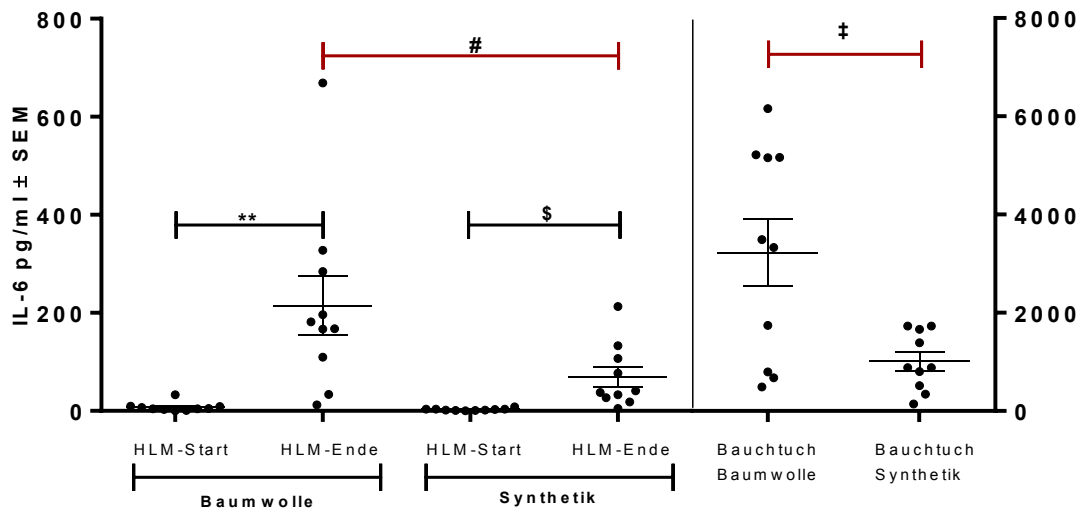
Eine signifikante Dynamik zwischen den Zeitpunkten HLM-Start und HLM-Ende, welche bei IL-1 β nicht zu beobachten war, zeigte sich hingegen bei der Bestimmung der IL-6-Konzentration (Abb. 5b). In beiden Gruppen war ein Anstieg zwischen Start und Ende der HLM zu verzeichnen. Dieser Anstieg präsentierte sich in der Kontrollgruppe ($p < 0,01$) stärker als in der Experimentalgruppe ($p < 0,05$). Wie schon bei der IL-1 β -Konzentration, wies die Kontrollgruppe zum Zeitpunkt HLM-Ende eine signifikant höhere IL-6-Konzentrationen auf als die Experimentalgruppe. Darüber hinaus war auch der gemessene IL-6-Wert aus dem Baumwollbauchtuch signifikant höher ($p < 0,05$) als aus dem Synthetikbauchtuch.

Ein Anstieg der Zytokinkonzentrationen während der Nutzung der HLM war auch bei TNF- α in beiden Gruppen signifikant zu erkennen (Abb. 5c). Es zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterscheid zwischen beiden Versuchsgruppen, auch nicht zum Zeitpunkt der Entnahme aus dem Bauchtuch.

a)



b)



c)

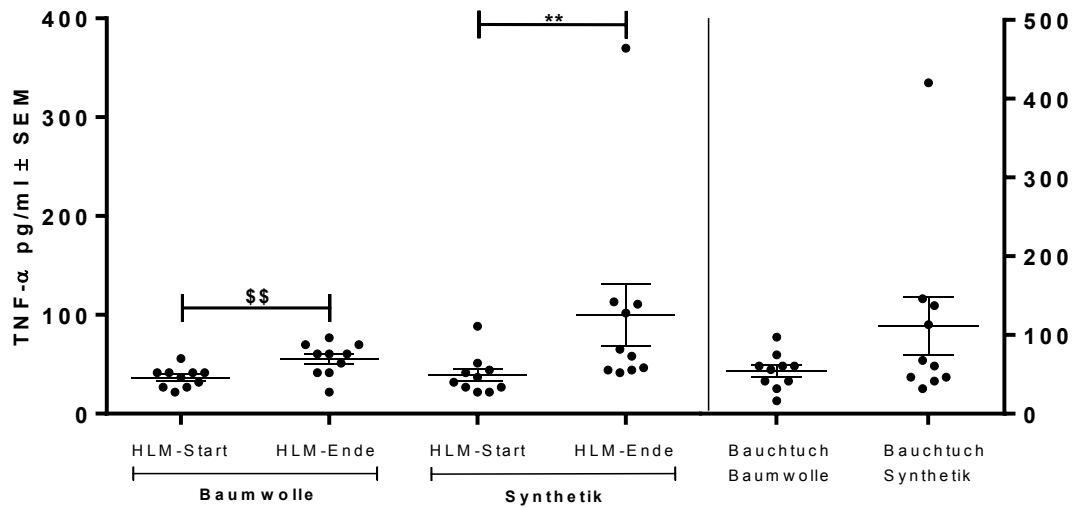


Abbildung 5: Die proinflammatorischen Marker IL-1 β und IL-6 zeigten signifikant erhöhte Konzentrationen der Kontrollgruppe.

Dargestellt als Mittelwert \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte HLM-Start, HLM-Ende und Bauchtuch. **a)** IL-1 β , **b)** IL-6, **c)** TNF- α . Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels t-test für paarige Variablen; \$ $p < 0,05$, \$\$ $p < 0,01$; und Wilcoxon-Test; ** $p < 0,01$. Zwischen beiden Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Test; # $p < 0,05$; und Welch-Test; ‡ $p < 0,05$.

3.5. Aktivierung des Komplementsystems

Die Bestimmung des terminalen Komplement Komplexes SC5b-9 diente zur Quantifizierung der Aktivierung des Komplementsystems.

Ähnlich zur Dynamik der proinflammatorischen Marker sowie der Aktivierung der neutrophilen Granulozyten ließ sich auch bei der Aktivierung des Komplementsystems ein signifikanter Anstieg des terminalen Komplementkomplexes während der Nutzung der HLM beobachten (Abb. 6). Dies gilt für beide Versuchsgruppen. Während der Entnahmen aus dem Bauchtuch sowie zwischen den jeweiligen Zeitpunkten der HLM war kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen zu erkennen.

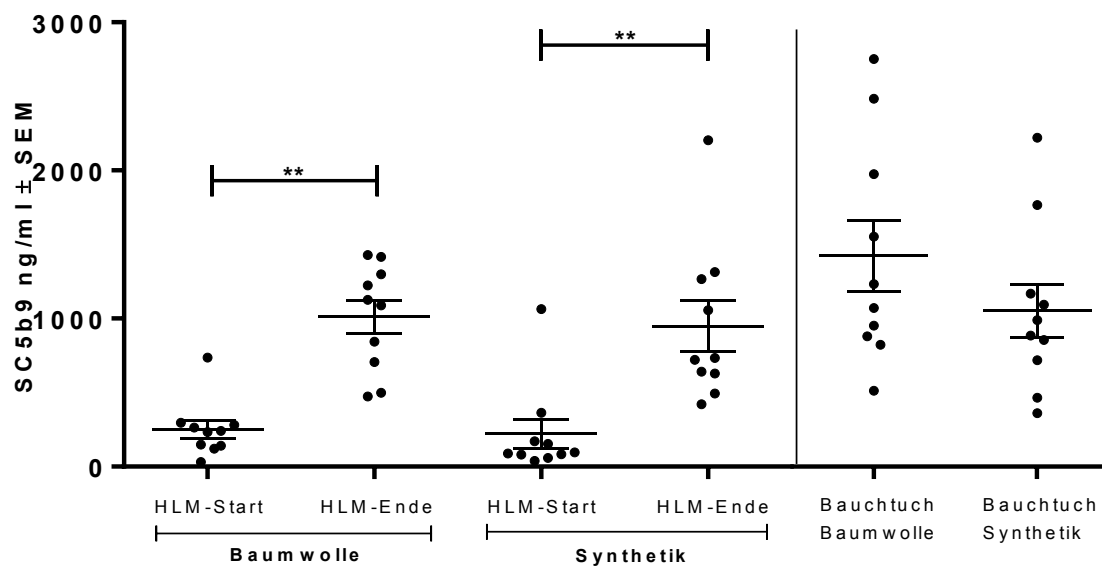


Abbildung 6: Aktivierung des Komplementsystems durch die Nutzung der HLM.

Dargestellt als Mittelwert \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte HLM-Start, HLM-Ende und Bauchtuch. Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels Wilcoxon-Test; ** p < 0,01.

3.6. Thrombozytenaktivierung

Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung wird β -Thromboglobulin freigesetzt, welches zur Quantifizierung ebendieser herangezogen werden kann.

In beiden Versuchsgruppen konnte im Zeitraum der HLM-Nutzung ein signifikanter Anstieg der β -TG-Konzentrationen beobachtet werden (Abb. 7). Diese Signifikanz präsentierte sich in der Kontrollgruppe mit $p < 0,01$ stärker als in der Experimentalgruppe ($p < 0,05$). Des Weiteren war eine signifikante Erhöhung der β -TG-Konzentration der Kontrollgruppe von $p < 0,05$ gegenüber der Experimentalgruppe während der Probenentnahme aus den Bauchtüchern zu beobachten.

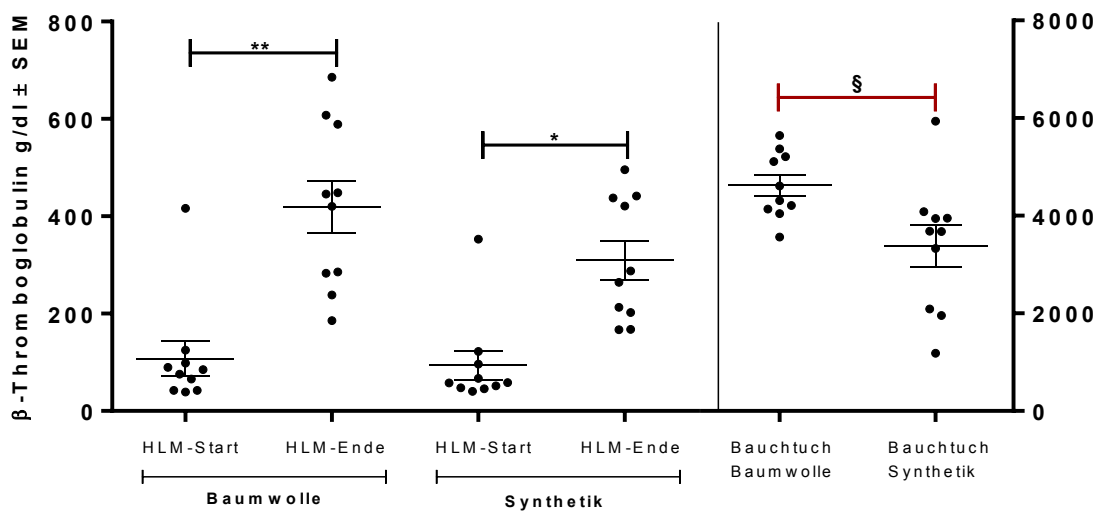


Abbildung 7: Signifikant erhöhte β -TG-Konzentrationen der Kontrollgruppe als Marker der Thrombozytenaktivierung.

Dargestellt als Mittelwert \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte HLM-Start, HLM-Ende und Bauchtuch. Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels Wilcoxon-Test; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. Zwischen beiden Gruppen mittels t-Test für unabhängige Variablen; § $p < 0,05$.

3.7. Gerinnungsaktivierung

Im Rahmen der Evaluation der Gerinnungsaktivierung kam außerdem die Bestimmung des Thrombin-Antithrombin-Komplexes zum Einsatz.

Analog zu dem beobachteten Anstieg von β -TG während der Nutzung der HLM ließ sich diese signifikante Erhöhung im zeitlichen Verlauf auch anhand des TAT-Komplexes darstellen (Abb. 8). Allerdings wies hier die Experimentalgruppe eine stärkere Signifikanz ($p < 0.001$) als die Kontrollgruppe ($p < 0.01$) auf. Der direkte Vergleich beider Gruppen zeigte mit einer Signifikanz von $p < 0,05$ eine höhere TAT-Konzentration der Kontrollgruppe zur Probenentnahme aus dem Bauchtuch. Dahingegen zeigten sich zu den jeweiligen Zeitpunkten HLM-Start und HLM-Ende keine Unterschiede zwischen Kontroll- und Experimentalgruppe.

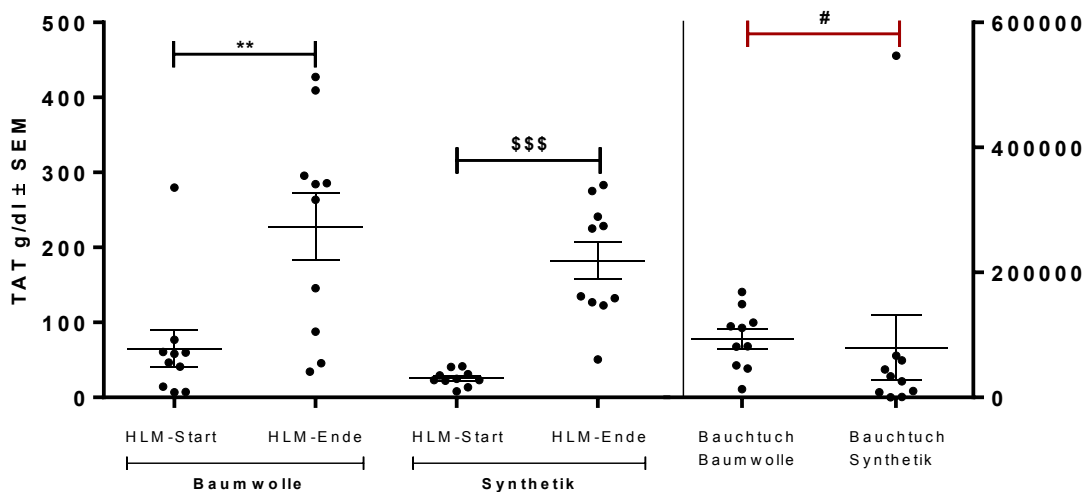


Abbildung 8: Signifikant erhöhte TAT-Konzentrationen der Kontrollgruppe als Marker der Gerinnungsaktivierung.

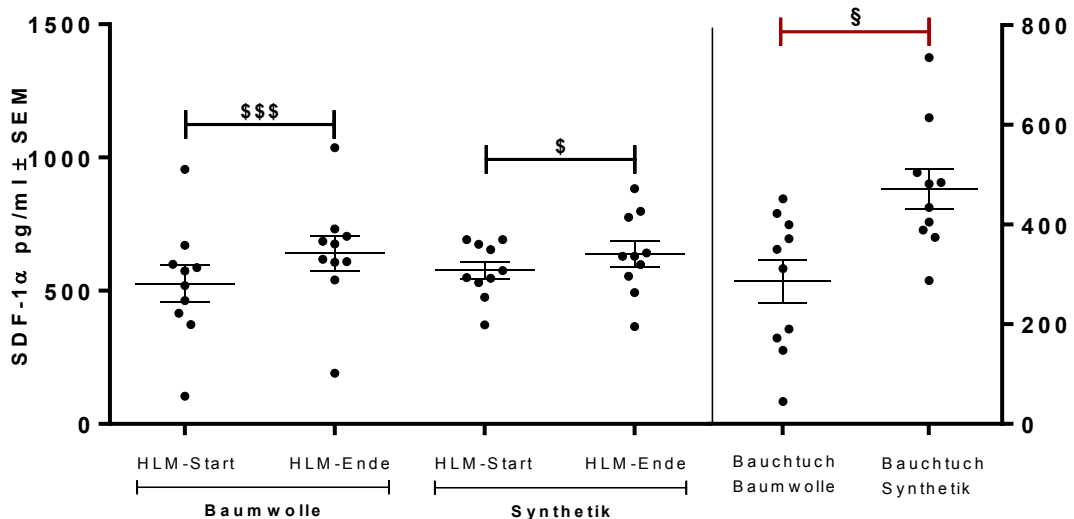
Dargestellt als Mittelwert \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte HLM-Start, HLM-Ende und Bauchtuch. Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels t-test für paarige Variablen; \$\$\$ $p < 0,001$; und Wilcoxon-Test; ** $p < 0,01$. Zwischen beiden Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Test; # $p < 0,05$.

3.8. Chemokine

Als Chemokine im inflammatorischen Prozess erfolgte die Bestimmung des stromal cell-derived factor 1 (SDF-1 α) (Abb. 9a), sowie des monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) (Abb. 9b).

Beide Chemokine ließen, analog zu den proinflammatorischen Markern, einen signifikanten Anstieg zwischen den Zeitpunkten HLM-Start und HLM Ende innerhalb der Versuchsgruppen erkennen, wobei der Anstieg von SDF-1 α in der Kontrollgruppe eine deutlich höhere Signifikanz aufwies ($p < 0.001$) als in der Experimentalgruppe ($p < 0.05$). Zwischen beiden Versuchsgruppen waren zu diesen Zeitpunkten weder bei SDF-1 α noch bei MCP-1 signifikante Unterschiede erkennbar. Ebenso bestand kein Unterschied zwischen den MCP-1-Konzentrationen beider Gruppen während der Entnahme aus dem Bauchtuch. Bei der Konzentration von SDF-1 α hingegen konnte eine signifikante Erhöhung von $p < 0,05$ in den Proben aus dem Bauchtuch der Experimentalgruppe gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet werden (Abb. 9a).

a)



b)

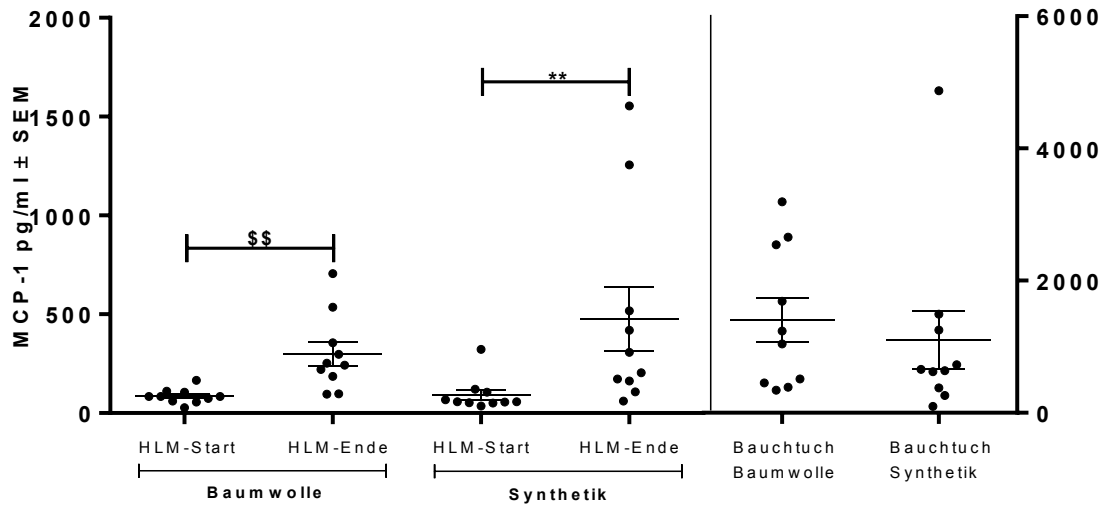


Abbildung 9: Erhöhung der Chemokine SDF-1 α und MCP-1 durch die Nutzung der HLM. SDF-1 α zeigt eine Erhöhung bei Nutzung des Baumwollmaterials.

a) SDF-1 α , b) MCP-1. Dargestellt als Mittelwert \pm SEM für die Entnahmezeitpunkte HLM-Start, HLM-Ende und Bauchtuch. Ermittlung der Signifikanzen innerhalb einer Gruppe mittels t-test für paarige Variablen; \$ p < 0,05, \$\$\$ p < 0,001; und Wilcoxon-Test; ** p < 0,01. Zwischen beiden Gruppen mittels t-Test für unabhängige Variablen; § p < 0,05.

4. Diskussion

4.1. Wissenschaftliche Einordnung der Studie

Wie eingangs dargelegt, kann es im Rahmen herzchirurgischer Operationen zu postoperativen Komplikationen wie Schlaganfall, Nierenversagen, Infektionen und Reoperationen kommen (Crawford, Magruder et al. 2017). Auch thromboembolische Ereignisse stellen ein Problem dar. Postoperative Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen stehen im Zusammenhang mit einer verzögerten Rekonvaleszenz, höherer Mortalität und einer Entlassung der Patienten in ein nicht-häusliches Umfeld. Als unabhängiger Risikofaktor konnte hierfür unter anderem eine verlängerte Bypasszeit identifiziert werden (Crawford, Magruder et al. 2017). Neben der Notwendigkeit des Einsatzes der HLM für die Durchführung bestimmter Operationen bestehen stetige Diskussionen, ob sogenannte Off-Pump-Eingriffe mit einem besseren Langzeitergebnis assoziiert sind. Unter Off-Pump versteht man herzchirurgische Interventionen, welche ohne Nutzung der HLM erfolgen. Eine Antwort auf diese Frage konnte bis dato noch nicht abschließend gefunden werden (Gaudino, Angelini et al. 2018). Während sich für Off-Pump-Operationen ein Vorteil im 30-Tage-Überleben abzeichnete, zeigte sich jedoch ein signifikanter Vorteil für Operationen mit HLM bezüglich des Langzeitüberlebens der Patienten (Kowalewski, Jasinski et al. 2020). Auch zeigten Shroyer et al. einen Vorteil der Offenheitsrate der Bypässe nach einem Jahr bei On-Pump-Verfahren (Shroyer, Grover et al. 2009). Demnach besteht aktuell kein Grund zu der Annahme, dass Off-Pump-Verfahren mit einem besseren Outcome assoziiert sind.

Bei der Verwendung der HLM kommt das Blut in Kontakt mit körperfremden Oberflächen. Hierbei erfolgt die Aktivierung des Komplementsystems, vorwiegend durch den alternativen Weg (Kirklin, Westaby et al. 1983). Durch die Protamin-Heparin-Komplexbildung in der Blutstillungsphase wird außerdem der klassische Weg des Komplementsystems aktiviert (Kirklin, Chenoweth et al. 1986), (Hakim 1993). Bruins et al. zeigten, dass die Komplementaktivierung nicht

nur während des kardiopulmonalen Bypasses, sondern auch postoperativ bis zum fünften Tag erfolgt. Diese Aktivierung wird unter anderem durch erhöhte CRP-Konzentrationen begünstigt (Bruins, te Velthuis et al. 1997). Neben der Komplementsystemaktivierung führt der Kontakt mit der Oberfläche der extrakorporalen Zirkulation außerdem zur Aktivierung von Leukozyten, inklusive neutrophiler Granulozyten, sowie von Thrombozyten (Sniecinski and Chandler 2011). Als Marker der inflammatorischen Aktivierung lässt sich außerdem die Freisetzung von IL-1 β (Roth-Isigkeit, Borstel et al. 1999) und IL-6 (Steinberg, Kapelanski et al. 1993) nachweisen. Die Liberation des proinflammatorischen Zytokins TNF- α wies eine Korrelation mit dem Auftreten des SIRS auf (Khabar, Elbarbary et al. 1997).

Dass nicht nur der Einsatz der HLM, sondern auch die Anwendung von Bauchtüchern proinflammatorische Prozesse fördert, konnten Trunk et al. aufzeigen (Trunk, Mullerbader et al. 2019). Durch die Aktivierung des Komplementsystems und von neutrophilen Granulozyten mit nachfolgender Ausschüttung von PMN-Elastase, sC5b-9 sowie des Zytokins IL-1 β erfolgt die Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren in vitro (Trunk, Mullerbader et al. 2019). Auch bei der Nutzung von Baumwolle als Verbandsmaterial konnte die Freisetzung von PMN-Elastase und sC5b-9 in vitro und demnach eine Aktivierung neutrophiler Granulozyten und des Komplementsystems nachgewiesen werden (Wiegand, Abel et al. 2019). Ebenfalls in vitro konnte ein Abfall der Leukozyten- und Thrombozytenkonzentration beobachtet werden. Der Thrombozytenabfall zeigte sich mit höherer Heparinantikoagulation geringer. Auch wenn bei Antikoagulation mit Heparindosen entsprechend der Antikoagulation während der HLM keine makroskopische Thrombusbildung beobachtet werden konnte, so zeigte sich der TAT-Komplex dennoch signifikant erhöht. Dies lässt auf eine Aktivierung des Gerinnungssystems schließen, auch wenn die Frage nach der Relevanz dieser Aktivierung hier unbeantwortet bleibt (Abraham 2018).

Gelangen diese durch Kontakt zwischen Blut und Baumwollmaterial ausgeschütteten Mediatoren intraoperativ durch die HLM zurück in den Patientenkreislauf, so kann dies ein höheres Risiko für das postoperative

Auftreten von SIRS oder anderen Komplikationen zur Folge haben. Da die HLM ein in vielen Fällen nicht zu ersetzendes Instrument in der herzchirurgischen Versorgung von Patienten ist, ist die Verwendung geringer proinflammatorisch wirksamer Materialien erstrebenswert. Eine Alternative stellen hierbei die in dieser Studie untersuchten Synthetikbauchtücher dar.

4.2. Zellzahlen

Als erster Indikator für Unterschiede der Hämokompatibilität der beiden untersuchten Materialien diente die Bestimmung der Zellzahlen der Proben. Zur Interpretation aller Resultate erfolgte die Betrachtung der Werte auf zwei Arten:

- 1) Unterschiede zwischen HLM-Start und HLM-Ende werden beeinflusst von der HLM, der chirurgischen Intervention und dem verwendeten Bauchtuchmaterial. Es kann angenommen werden, dass das Bauchtuchmaterial hier für Unterschiede zwischen beiden Gruppen verantwortlich ist, da kein Unterschied im Patientenkollektiv bestand.
- 2) Proben aus dem Bauchtuch werden beeinflusst von den Scherkräften beim Auswringen, sowie durch die Materialeigenschaften der verwendeten Bauchtücher

Wie bereits beschrieben, waren deutlich höhere Leukozytenwerte in der Kontrollgruppe, zum Teil auch im pathologischen Bereich, messbar. Werden nun die oben genannten Interpretationskriterien zugrunde gelegt, lässt sich der Anstieg der Leukozyten vom Zeitpunkt der Aufnahme bis zum Ende der HLM und Postoperativ in der Baumwollgruppe zum Teil auf den durchgeführten Eingriff zurückführen. Allerdings war der Anstieg der Leukozytenzahlen innerhalb der Synthetikgruppe weniger stark ausgeprägt, was darauf hinweist, dass das genutzte Material einen Einfluss hatte. Die Zählung der weißen Blutzellen direkt aus den Bauchtüchern zeigte allerdings keine signifikanten Unterschiede,

obgleich tendenziell niedrigere Werte im pathologischen Bereich bei der Kontrollgruppe zu sehen waren. Die pathologisch verminderte Leukozytenzahl aus den Baumwolltüchern ist ein Hinweis auf eine verstärkte Adhäsion der Leukozyten an dieses Material.

Durch Kontakt mit körperfremden Material erfolgt eine Aktivierung von Leukozyten (Faymonville, Pincemail et al. 1991). Die pathologischen Leukozytenwerte der Baumwollgruppe am Ende der HLM bieten somit einen ersten Hinweis, dass die Synthetikbauchtücher eine höhere Hämokompatibilität besitzen und zu einer geringeren inflammatorischen Reaktion führen.

Im Gegensatz zu der Kinetik der Leukozytenkonzentration während der Verwendung der HLM kam es bei den Erythrozyten und Thrombozyten zu einem Abfall der Zellzahl. Dieser Rückgang lässt sich zum einen durch den intraoperativen Blutverlust, zum anderen durch Hämodilution des Bluts durch die Priming-Flüssigkeit der HLM erklären (Sarkar and Prabhu 2017). Des Weiteren erzeugt die Zirkulation durch die HLM Scherkräfte, welche zu Beschädigung oder Zerstörung der Erythrozyten führen können (Leverett, Hellums et al. 1972). Die bei herzchirurgischen Interventionen übliche Methode der Autotransfusion des Bluts in die HLM mittels eines speziellen Saugers verstärkt diesen Effekt. Eine höhere Saugstärke sowie das Vermischen von Blut und Luft während des Saugens korrelieren hierbei mit einer stärkeren Hämolyse (Gregoretti 1996). Weerasinghe, Taylor et al zeigten, dass der extrakorporale Kreislauf der Herz-Lungen-Maschine durch mechanische Kräfte sowie Thrombozytenadhäsion ebenfalls zu einer verminderten Thrombozytenzahl führt (Weerasinghe and Taylor 1998). Ähnlich der Zellzahl der Leukozyten in dem ausgewrungenen Blut der Bauchtücher, präsentierten sich auch hier eine deutlich verminderte Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentration im pathologischen Bereich. Als Ursache hierfür kommt ebenfalls eine Hämolyse aufgrund von Scherkräften in Betracht, doch auch eine mögliche Adhäsion der Erythrozyten an die Bauchtücher scheint von Bedeutung. Thrombozyten besitzen eine starke Adhäsion an körperfremde Materialien (Park, Mao et al. 1989), (Rao and Chandy 1999), was bei beiden Materialien deutlich zu erkennen ist. Ein Hinweis auf mögliche Unterschiede zwischen den Materialien ist bei den Thrombozyten nicht

ohne weiteres auszumachen. Zwar war der Verlust an Thrombozyten zum Ende der HLM und Postoperativ nur bei der Baumwollgruppe signifikant, aber auch in der Synthetikgruppe waren die gleichen abfallenden Tendenzen der Thrombozytenzahlen zu erkennen. Ein möglicher Grund für die fehlende Signifikanz ist die stärkere Inhomogenität innerhalb der Synthetikgruppe. So lässt sich weder aus den Erythrozyten- noch aus den Thrombozytenzahlen eine klare Aussage über die Hämokompatibilität der Materialien ableiten.

4.3. Proinflammatorisches Potential

Zur Evaluation des proinflammatorischen Potentials der Bauchtuchmaterialien erfolgte die Bestimmung der Interleukine IL-1 β und IL-6, des Zytokins TNF- α sowie der Chemokine SDF-1 α und MCP-1. Des Weiteren diente die Bestimmung des terminalen Komplementkomplexes sC5b-9 als Hinweis auf die Aktivierung des Komplementsystems. Die Bestimmung der von neutrophilen Granulozyten ausgeschütteten PMN-Elastase diente als Marker der Aktivierung eben jener. Ein Anstieg während der extrakorporalen Zirkulation aufgrund des Fremdmaterials ist bekannt (Butler, Parker et al. 1993) und lässt sich auch in dieser Studie in beiden Gruppen beobachten. Die Entnahme aus den Bauchtüchern zeigte signifikant erhöhte Konzentrationen der Baumwollgruppe. Dies deutet auf einen unabhängigen Einfluss des Bauchtuchmaterials auf die Degranulation der neutrophilen Granulozyten hin. Die Konzentration des proinflammatorischen Zytokins IL-6 zeigte während der HLM ebenfalls einen signifikanten Anstieg. Diese Dynamik wurde bereits von Steinberg, Kapelanski et al. beschrieben (Steinberg, Kapelanski et al. 1993). Des Weiteren präsentierten sich in der Kontrollgruppe sowohl IL-6 als auch IL-1 β während der Zeitpunkte HLM-Ende signifikant erhöht gegenüber der Experimentalgruppe. Zwar bildete sich die bekannte Ausschüttung von IL-1 β (Roth-Isigkeit, Borstel et al. 1999) bei herzchirurgischen Eingriffen unter Verwendung der HLM hier nicht signifikant ab, dennoch zeigt die signifikant erhöhte IL-1 β - und IL-6-Konzentration der

Kontrollgruppe gegenüber der Experimentalgruppe zum Ende der HLM, dass auch das verwendete Baumwollmaterial einen Einfluss auf die Interleukinausschüttung hat. Eine signifikant erhöhte IL-6-Konzentration der Kontrollgruppe gegenüber der Experimentalgruppe zum Entnahmezeitpunkt aus dem Bauchtuch unterstützt diese Beobachtung. Im Gegensatz zu den aufgeführten Ergebnissen, welche eine höhere Hämokompatibilität des Synthetikmaterials nahelegt, präsentierte sich die SDF-1 α -Konzentration aus den Bauchtuchproben in der Experimentalgruppe erhöht. SDF-1 α kann unter anderem aus dem Knochenmark, von Endothelzellen, sowie von Thrombozyten ausgeschüttet werden (Yun and Jo 2003), (Massberg, Konrad et al. 2006). Während der Nutzung der HLM zeigte sich ein signifikanter Anstieg der SDF-1 α -Konzentrationen der beiden Versuchsgruppen. Der Anstieg der Kontrollgruppe präsentierte sich hier mit einer stärkeren Signifikanz, was auf eine höhere Ausschüttung durch den Kontakt mit dem Baumwollmaterial hindeutet. Dennoch gab es im Vergleich beider Gruppen während der HLM-Dauer keinen signifikanten Unterschied beider Materialien. Während der HLM-Nutzung zirkuliert das Blut wiederholt zwischen HLM und Körperkreislauf des Patienten. Das im Verlauf der HLM-Nutzung freigesetzte SDF-1 α stammt also aller Wahrscheinlichkeit nach aus dem Knochenmark, den Endothelzellen sowie zu einem gewissen Teil aus Thrombozyten. Die exakte Herkunft lässt sich nicht bestimmen. Die Probenentnahme aus dem Bauchtuch zeigte im Gegensatz hierzu erhöhte SDF-1 α -Konzentrationen der Experimentalgruppe. Ein auf den ersten Blick bestehender Gegensatz lässt sich durch folgenden Sachverhalt erklären: Im Bauchtuch findet keine Zirkulation des Bluts im Körperkreislauf des Patienten statt. Die Ausschüttung von SDF-1 α aus dem Knochenmark und aus Endothelzellen kann hier demnach keine große Rolle spielen. Dies lässt auf eine Ausschüttung von SDF-1 α aus Thrombozyten bei Kontakt mit dem Bauchtuchmaterial schließen. SDF-1 α kann je nach Quelle der Ausschüttung unterschiedliche Effekte haben. Im Rahmen eines inflammatorischen Prozesses dient SDF-1 α beispielsweise unter anderem dem Anlocken von Lymphozyten (Adams and Rlloyd 1997). Weiterhin hat aus Thrombozyten ausgeschüttetes SDF-1 α einen verstärkenden Effekt auf die Thrombozytenaggregation, sowie

einen protektiven Effekt auf Thrombozyten und Monozyten (Abi-Younes, Sauty et al. 2000).

4.4. Gerinnungsaktivierung

Dass die Nutzung eines extrakorporalen Kreislaufs sowie die Autotransfusion patienteneigenen Bluts aus dem Operationsgebiets über die HLM in den Patienten eine Gerinnungsaktivierung bewirkt, ist bekannt. β -TG ist in α -Granula der Thrombozyten gespeichert und wird bei der Thrombozytenaktivierung ausgeschüttet. Es dient somit der Quantifizierung eben jener. TAT als Komplex aus Thrombin und Antithrombin III entsteht im Rahmen der Gerinnung und kommt als Marker der Gerinnungsaktivierung zum Einsatz (De Somer, Van Belleghem et al. 2002) De Somer, Van Belleghem et al. zeigten den Anstieg der β -TG-Konzentration sowie des TAT-Komplexes durch die Nutzung der HLM (De Somer, Van Belleghem et al. 2001). Auch in unserer Studie ließ sich diese Dynamik beobachten. Beide Parameter wiesen signifikant höhere Werte zum Zeitpunkt der Entnahme aus dem Bauchtuch in der Kontrollgruppe auf. Dies unterstützt die Schlussfolgerung, dass neben der Aktivierung der Thrombozyten durch die HLM auch das Material der Bauchtücher einen Effekt auf die Thrombozyten- sowie die Gerinnungsaktivierung hat. Auch in diesem Fall zeigte das Synthetikmaterial geringeres Potenzial für eine unerwünschte Aktivierung.

4.5. Einordnung der Resultate

Zusammengefasst konnte eine verstärkte Aktivierung von Leukozyten, sowie eine Erhöhung der Marker PMN-Elastase, IL-1 β , IL-6, sowie von TAT und β -TG in der Kontrollgruppe beobachtet werden. SDF-1 α hingegen zeigte eine erhöhte Konzentration in der Experimentalgruppe.

Trunk et al. beschrieben wie bereits dargelegt ebenfalls eine starke Aktivierung neutrophiler Granulozyten mit nachfolgender PMN-Elastaseausschüttung durch den Kontakt mit Baumwollbauchtüchern in vitro (Trunk, Mullerbader et al. 2019). Dies konnte ebenfalls bei der Nutzung von Baumwollgaze als Wundauflage beobachtet werden (Wiegand, Abel et al. 2019). PMN-Elastase führt wiederum zu einer erhöhten Ausschüttung von IL-1 β und TNF- α aus Makrophagen. Außerdem fördert es deren Adhäsion (Krotova, Khodayari et al. 2020). Die Leukozytenadhäsion stellt einen entscheidenden Schritt in der Leukozytenaktivierung und somit im inflammatorischen Prozess dar (Butcher 1991), (Langer and Chavakis 2009). Eine verstärkte Leukozytenadhäsion resultiert demnach in einer verstärkten Aktivierung von Leukozyten sowie einer erhöhten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, wie beispielsweise IL-1 β , TNF- α (Krotova, Khodayari et al. 2020) und IL-6 (Ballou and Lozanski 1992), (Turner, Nedjai et al. 2014).

Im Rahmen der systemischen Inflammation nimmt IL-1 β eine wichtige Rolle ein. Als proinflammatorisches Zytokin induziert es unter anderem die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten, die Produktion von Akute-Phase-Proteinen und Fieber (Dinarello 2005). Vuk-Pavlovic et al. zeigten, dass Gerbstoffe der Baumwollkapsel, welche einen großen Anteil von Baumwollstaub darstellen, eine Aktivierung der IL-1 β -Sekretion initiieren und zu einer Proliferation von Lymphozyten führen (Vuk-Pavlović and Rohrbach 1990). Das Rohmaterial Baumwolle induziert also eine Interleukinausschüttung. Trunk et al. beobachteten wiederum eine durch Baumwollbauchtücher erhöhte IL1- β -Sekretion (Trunk, Mullerbader et al. 2019). Dies zeigt, dass eine proinflammatorische Wirkung des Baumwollmaterials auch durch vorangehende Verarbeitung zu einem medizinischen Produkt nicht vollständig neutralisiert wird. Durch welchen Teil des Materials Baumwolle eine Induktion der inflammatorischen Antwort erfolgt, lässt sich durch diese Beobachtung nicht abschließend klären. Der Vergleich der Verträglichkeit von Baumwoll- und Nylonnähten im Zahnfleisch von Rhesusaffen zeigte eine starke inflammatorische Gewebereaktion um die Baumwollnähte herum (Castelli, Nasjleti et al. 1978). Im Gegensatz dazu konnte diese Reaktion in der Umgebung der Nylonnähte praktisch nicht beobachtet werden (Castelli,

Nasjleti et al. 1978). Eine verstärkte Leukozytenaktivierung beschrieben außerdem Hernández et al. bei Nutzung einer Dialysemembran aus Cellulose gegenüber der Nutzung von Synthetikmembranen (Hernandez, Galan et al. 2004). Dass IL-1 β die Proliferation und Differenzierung von Leukozyten induziert (Brugger, Möcklin et al. 1993) ist an den beobachteten erhöhten Leukozytenkonzentrationen zu Beginn und Ende der HLM der Kontrollgruppe sichtbar. Ein solch schneller Anstieg der weißen Blutzellen lässt sich durch Mobilisation und Reifung im Knochenmark erklären.

Eine Sekretion von IL-6 und TNF- α bei Exposition gegen Baumwollstaub konnte in der bronchoalveolären Lavage sowie im Serum von Mäusen nachgewiesen werden (Shvedova, Satoh et al. 1996). Erhöhte IL-6-Konzentrationen der Kontrollgruppe am Ende der HLM stammen aller Wahrscheinlichkeit nach aus der IL-1 β -vermittelten Sekretion aus Hepatozyten (Panesar, Tolman et al. 1999), Fibroblasten (Elias and Lentz 1990) und Endothelzellen (Sironi, Breviario et al. 1989), (Jirik, Podor et al. 1989). IL-1 β stimuliert jedoch auch die IL-6-Sekretion aus Zellen des peripheren Bluts (Tosato and Jones 1990). Es ist möglich, dass die primäre IL-1 β -Sekretion aus Monozyten zur Entnahme aus dem Bauchtuch zu gering war, um hier einen signifikanten Unterschied dieser IL-1 β -Sekretion zwischen beiden Versuchsgruppen erkennen zu lassen. Dennoch ist es möglich, dass die durch IL-1 β induzierte IL-6-Ausschüttung wiederum eine signifikante Erhöhung während der Probenentnahme aus den Baumwolltüchern erkennen lässt. Des Weiteren kann die Aktivierung der IL-6-Ausschüttung aus PBMC auch ohne vorherige Stimulation durch IL-1 β erfolgen (Flynn, Garbers et al. 2019).

Für das Chemokin SDF-1 α ließ sich im Gegensatz zu den bisher dargestellten Zytokinen und Chemokinen eine erhöhte Konzentration in der Experimentalgruppe beobachten. Im Rahmen eines inflammatorischen Prozesses dient es wie bereits beschrieben unter anderem dem Anlocken von Lymphozyten, deren Aktivierung durch Bindung an den CXCR4-Rezeptor vermittelt wird (Cherla and Ganju 2001). Über eine Bindung an die Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 verstärkt SDF-1 α außerdem die Thrombozytenaggregation (Chatterjee, Rath et al. 2015). Aus Thrombozyten ausgeschüttetes SDF-1 α hat über den CXCR7-Rezeptor einen protektiven und antiapoptotischen Effekt auf

Thrombozyten (Chatterjee, Seizer et al. 2014) und wirkt auf die Differenzierung von Monozyten und somit auf den inflammatorischen Prozess in Gegenwart akkumulierter Thrombozyten ein (Chatterjee, von Ungern-Sternberg et al. 2015). Die erhöhte SDF-1 α -Konzentration der Experimentalgruppe zum Zeitpunkt der Probenentnahme aus dem Bauchtuch wurde wie bereits dargestellt aufgrund der fehlenden Zirkulation am wahrscheinlichsten aus Thrombozyten freigesetzt. Dies weist aufgrund dieser Herkunft somit auf eine protektive Funktion von SDF-1 α auf Thrombozyten und Monozyten hin (Abi-Younes, Sauty et al. 2000).

Neben dem inflammatorischen Potential des Baumwollmaterials konnten wir auch dessen koagulatives Potential darstellen. Krajewski et al. zeigten, dass Baumwollbauchtücher auch bei heparinisiertem Blut in vitro zu einer Gerinnungsaktivierung mit Thrombusbildung und erhöhter TAT-Konzentration führen können (Krajewski, Hierlemann et al. 2016). Zusätzlich zu dieser Gerinnungsaktivierung besitzen Baumwollbauchtücher außerdem die Eigenschaft freies Heparin zu binden (Krajewski, Hierlemann et al. 2016). Eine systemisch relevante Wirkung während der Nutzung der HLM konnte klinisch jedoch nicht beobachtet werden. Die Antikoagulation des Bluts lässt sich intraoperativ durch die regelmäßige Bestimmung der ACT zuverlässig kontrollieren. Während Abraham et al. beobachteten, dass ein verstärkter Leukozyten- und Thrombozytenabfall bei zunehmender Heparinisierung nicht mehr nachweisbar war, zeigte sich auch hier ein Anstieg der TAT-Konzentration nach Inkubation mit Baumwolltüchern (Abraham 2018).

Inflammation und Gerinnung können jedoch nicht unabhängig voneinander betrachtet werden. In vivo besteht eine enge Verflochtenheit dieser Prozesse mit gegenseitiger Beeinflussung. Dass das Baumwollmaterial Einfluss auf die Gerinnungsaktivierung hat, ist an den erhöhten TAT- und β -TG-Konzentrationen aus dem Bauchtuch zu erkennen. Dennoch beeinflusst nicht nur das Bauchtuch selbst die Aktivierung von Thrombozyten. Auch andere Moleküle, welche eine Rolle in inflammatorischen Prozessen des Körpers spielen, wirken auf das Gerinnungssystem ein. Der terminale Membranangriffskomplex sC5b-9 des Komplementsystems führt durch Bindung an die Thrombozytenmembran zu einer Ausschüttung der Vesikel und somit zur Freisetzung von β -TG (Wiedmer

and Sims 1991). Die Nutzung eines extrakorporalen Kreislaufs während herzchirurgischer Interventionen führt zu einem Anstieg von sC5b-9 und somit zur Aktivierung des Komplementsystems (Fosse, Mollnes et al. 1987). Trunk et al. zeigten außerdem eine Aktivierung des Komplementsystems durch das Baumwollmaterial der herkömmlichen Bauchtücher (Trunk, Mullerbader et al. 2019). Während die von Fosse et al. beobachtete Kinetik auch in dieser Studie ersichtlich war, so ließ sich in der sC5b-9-Konzentration der Bauchtücher keine signifikante Differenz zwischen beiden Versuchsgruppen erkennen. Dass das Material Baumwolle zu einer Aktivierung des Komplementsystems führt, wurde ebenfalls von Kutz et al. und Olenchock et al. beschrieben, welche eine Aktivierung durch Baumwollstaub im Serum in vitro (Kutz, Olenchock et al. 1979) sowie in vivo (Olenchock, Mull et al. 1981) zeigten. Neben einer Aktivierung der neutrophilen Granulozyten konnten Abel et al. auch eine erhöhte sC5b-9-Konzentration bei der Nutzung von Wundauflagen aus Baumwolle beobachten (Wiegand, Abel et al. 2019). Wie bereits erwähnt lässt sich auch hier die genaue Quelle der Aktivierung nicht eruieren. Denkbar sind folgende Ursachen, oder eine Kombination dieser, für die Aktivierung des Komplementsystems:

- 1) Strukturen des Rohmaterials Baumwolle
- 2) Bei der Verarbeitung entstehende Produkte
- 3) Bei der Verarbeitung verwendeten Substanzen

Bei den von Kutz und Olenchock durchgeführten Versuchen lässt sich durch die Verwendung von Baumwollstaub ein Einfluss von bei der Verarbeitung entstehenden Produkten sowie von verwendeten Substanzen weitestgehend ausschließen. Die von Wiegand untersuchten Wundauflagen sowie die durch Trunk und in dieser Studie untersuchten Baumwollbauchtücher haben als medizinisches Produkt eine starke Verarbeitung erfahren. Da im Verlauf dieser Verarbeitung zum sterilen Medizinprodukt der Einfluss von potenziellen Triggern eliminiert werden sollte, scheint hier ein Einfluss der Baumwollstruktur oder des Verarbeitungsprozesses wahrscheinlich. Ein von Krajewski et al. festgestellter Einfluss des Färbemittels bei grünen Bauchtüchern (Krajewski, Hierlemann et al.

2016) kann in dieser Studie ausgeschlossen werden, da die Probenentnahme ausschließlich aus weißen Bauchtüchern erfolgte. Das Rohmaterial Baumwolle besteht aus β -Glucan-Untereinheiten. Diese Struktur induziert eine Immunantwort bei Säugetieren (Akramiene, Kondrotas et al. 2007). Über eine Induktion der Genexpression von Toll-like-Rezeptoren und NF- κ B konnte ein Effekt auf mononukleäre Zellen des peripheren Bluts beobachtet werden (Vogt, Boekschoten et al. 2015). In Kombination mit der beobachteten erhöhten IL-1 β -Sekretion bei Verwendung der Baumwolltücher lässt dies auf einen Effekt der Baumwollstruktur auf die Aktivierung von Leukozyten mit nachfolgender IL-1 β -Ausschüttung schließen. Eine signifikante Erhöhung der sC5b-9-Freisetzung nach Kontakt mit dem Baumwollmaterial der Bauchtücher ließ sich im Gegensatz zu den Ergebnissen von Trunk et al. in dieser Studie jedoch nicht abbilden.

IL-6 verstärkt die Aggregation von Thrombozyten und induziert ebenfalls eine Degranulation der α -Granula (Oleksowicz, Mrowiec et al. 1995). IL-6 führt außerdem zu einer vermehrten Expression des Gewebefaktors (van der Poll, Levi et al. 1994), welcher wiederum ein wichtiger Initiator der Gerinnungskaskade ist. Die signifikant erhöhten IL-6 Konzentrationen am Ende der HLM und zur Entnahme aus dem Bauchtuch in der Baumwollgruppe können demnach zu einer vermehrten Aktivierung der Gerinnung und somit zu einem höheren Risiko für thromboembolische Komplikationen führen. Thrombin, Faktor-Xa und Fibrin stimulieren im Gegenzug die Ausschüttung von IL-6 aus Endothel- und mononukleären Zellen des Bluts (Sower, Froelich et al. 1995).

Umgekehrt beeinflussen Thrombozyten ebenfalls proinflammatorische Prozesse. Thrombozyten besitzen mit CD40L einen TNF- α -ähnlichen Rezeptor auf Ihrer Oberfläche. Durch die Aktivierung und Adhäsion von Thrombozyten an Endothelzellen erfolgte die Bindung von CD40L, gefolgt von der Ausschüttung unterschiedlicher Chemokine aus den Endothelzellen, unter anderem von MCP-1 (Henn, Slupsky et al. 1998). MCP-1 dient als Chemokin neben anderen Funktionen dazu, Monozyten und andere Zellen des Immunsystems zu Orten der Inflammation zu leiten (Deshmane, Kremlev et al. 2009). Auch die Sekretion von MCP-1 kann durch die Verwendung der HLM induziert werden. In dieser Studie präsentierten sich die MCP-Konzentrationen am Ende der HLM in beiden

Gruppen erhöht gegenüber dem Zeitpunkt HLM-Start. Onorati et al. konnten zeigen, dass nach Operationen unter Verwendung der HLM signifikant höhere MCP-1-Konzentrationen messbar waren, als nach OBCAP-Verfahren (Onorati, Rubino et al. 2010). Hohe MCP-1-Konzentrationen zeigten sich in der von Zhu et al. durchgeführten Studie im Rahmen einer Sepsis mit einem negativen Outcome assoziiert (Zhu, Liao et al. 2017). In Bezug auf die MCP-1-Konzentration konnte in dieser Studie zwar die Ausschüttung von MCP-1 durch die Verwendung der HLM abgebildet werden, es ließ sich jedoch kein Unterschied der beiden Bauchtuchmaterialien beobachten.

Die Bindung aktivierter Thrombozyten an Leukozyten führt zu der Ausschüttung von IL-1 β sowie verschiedener weiterer Zytokine. Neben dieser Interleukinausschüttung konnten Neumann, Marx et al. außerdem eine erhöhte zelluläre MCP-1 Konzentration der Leukozyten feststellen. Die Ausschüttung des MCP-1 konnte jedoch nicht durch die alleinige Aktivierung der Leukozyten durch aktivierte Thrombozyten erfolgen. (Neumann, Marx et al. 1997). Die Stimulation der Genexpression von IL-1 β nach der Gerinnungsaktivierung konnte außerdem mittels rt-PCR nachgewiesen werden (Mileno, Margolis et al. 1995).

4.6. Klinische Handhabbarkeit

Unabhängig von der Voraussetzung der Hämokompatibilität aller verwendeten Medizinprodukte ist auch die Handhabbarkeit im klinischen Gebrauch von hoher Bedeutung. Bauchtücher müssen bestimmte Eigenschaften besitzen, sodass optimale chirurgische Ergebnisse erzielt werden können. Hierzu zählen unter anderem eine hohe Saugfähigkeit. Die Ausbreitung der Flüssigkeit auf dem Material sollte sich jedoch gering sein, um Blutungen möglichst exakt lokalisieren zu können. Auch müssen Bauchtücher eine gewisse Flexibilität besitzen, um sich den Umgebungsbedingungen im Operationsfeld anpassen zu können. Alle an der Studie teilhabenden Chirurgen waren sich einig, dass die synthetischen Bauchtücher den üblichen Baumwolltüchern in der klinischen Handhabbarkeit

unterlegen seien. Dass synthetisches Material herkömmlichen Baumwolltüchern in der Saugfähigkeit nicht unterlegen ist, zeigten Shimamoto et al. Neben der guten Saugfähigkeit unbenutzter Synthetiktücher blieb die Saugfähigkeit des synthetischen Materials auch nach mehrmaliger Nutzung und Reinigung durch Wasser unbeeinträchtigt. Klinisch kommt dem jedoch keine Bedeutung bei, da ausschließlich trockene Bauchtücher im Rahmen der Blutstillung zum Einsatz kommen. Die Ausbreitung eines Blutropfens auf dem synthetischen Material zeigte sich signifikant geringer als auf Baumwolle (Shimamoto 2011). Diese Eigenschaft könnte in der Lokalisation von Blutungsquellen von Vorteil sein. Bei der Flexibilität und Anpassungsfähigkeit der Synthetiktücher handelte es sich jedoch um einen großen Kritikpunkt der behandelnden Chirurgen. Auch wenn nicht ausgeschlossen werden kann, dass diese Wahrnehmung auf der Gewöhnung der Chirurgen an das Baumwollmaterial basiert, so müssen diese potenziell negativen Faktoren im klinischen Gebrauch ebenfalls Beachtung finden. Die Eigenschaften der beiden Bauchtücher müssen genauer evaluiert und verglichen werden. Außerdem muss eine Verbesserung der Materialeigenschaften der Synthetikbauchtücher vor der regulären klinischen Nutzung in Betracht gezogen werden.

4.7. Fazit

In dieser Studie konnte dargestellt werden, dass Baumwollbauchtücher zu einer Aktivierung des Immunsystems sowie des Gerinnungssystems führen. Diese Aktivierung erfolgt auch unabhängig von der HLM durch das Material selbst. Im Gegensatz hierzu präsentierten sich die Synthetiktücher mit einem geringeren proinflammatorischen und koagulativen Potential. Sie scheinen demnach eine höhere Hämokompatibilität als Baumwollbauchtücher aufzuweisen. Welche Ursache der stärkeren Aktivierung von Immun- und Gerinnungszellen durch das Baumwollmaterial zugrunde liegt lässt sich anhand dieser Studie nicht abschließend evaluieren. Ungeklärt bleibt außerdem die Frage nach der

Relevanz dieser Aktivierung durch das Baumwollmaterial auf postoperative Komplikationen, sowie den postoperativen Verlauf und das Langzeitüberleben. Dies erfordert die Durchführung einer Folgestudie mit höherer Fallzahl und der Beobachtung postoperativer Komplikationen nach Nutzung der beiden Materialien.

Baumwolle bietet durch hohe Saugfähigkeit und Flexibilität optimale Operationsbedingungen. Eine zusätzliche Aktivierung der Blutzellen durch das Material könnte das postoperative Outcome für ohnehin bereits kritisch kranke Patienten jedoch weiter verschlechtern. Idealerweise sollte dieses proinflammatorische und koagulative Potential weiter modifiziert werden, um eine geringere Aktivierung zu verursachen. Alternativ könnte auch die Handhabbarkeit der Synthetikbauchtücher weiter verbessert werden, um sich in den Eigenschaften an das bekannte Material Baumwolle anzugleichen. Die Nutzung der Autotransfusion von Blut aus dem Operationsgebiet in die HLM ohne vorherige Aufbereitung mittels Cell Saver sollte bei Nutzung der Baumwollbauchtücher überdacht werden. Das hier aufgezeigte inflammatorische und gerinnungsaktivierende Potential kann in noch unbekanntem Ausmaß zu postoperativen systemischen Entzündungsreaktionen sowie thromboembolischen Komplikationen beitragen. Neben der Nutzung von Cell Savern kann hier außerdem die Nutzung autologer Blutprodukte in Betracht gezogen werden.

5. Zusammenfassung

Die Nutzung von Baumwollbauchtüchern während chirurgischer Interventionen ist unter anderem aufgrund ihrer absorptiven und hämostatischen Eigenschaften gängige Praxis. Im Falle herzchirurgischer Eingriffe unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine wird patienteneigenes Blut aus dem Operationsgebiet ohne vorherige Nutzung eines Cell Savers in den Kreislauf der Herz-Lungen-Maschine retransfundiert, um den Blutverlust zu minimieren. Wie in vorangegangenen Studien gezeigt werden konnte, besitzen Baumwollbauchtücher in vitro gerinnungsaktivierende Eigenschaften. Auch eine Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine konnte bei Kontakt von peripheren Zellen des Bluts mit Baumwollbauchtüchern detektiert werden. Bei der gängigen Retransfusion des Bluts ohne vorangegangene Aufbereitung mittels Cell Saver können somit aktivierte Zellen sowie Entzündungs- und Gerinnungsmediatoren zurück in den Patientenkreislauf gelangen. Da neben Baumwollbauchtüchern außerdem Bauchtücher aus synthetischem Material für die medizinische Nutzung zugelassen sind, stellen diese eine Alternative im klinischen Gebrauch dar. Aufgrund einer geringeren Einwirkung des Rohmaterials sowie einer genaueren Möglichkeit der Kontrolle des Herstellungsprozesses gehen wir davon aus, dass Synthetikbauchtücher eine höhere Hämokompatibilität besitzen und dementsprechend eine geringere Entzündungs- und Gerinnungsaktivierung verursachen.

Die Durchführung der Studie erfolgte an 20 herzchirurgischen Patienten, welche unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine operiert wurden. Diese wurden zufällig in zwei Gruppen aufgeteilt. Bei den zehn Probanden der Kontrollgruppe erfolgte die Verwendung herkömmlicher Baumwollbauchtücher, während bei der Experimentalgruppe Synthetikbauchtücher verwendet wurden. Die Probenentnahme fand bei allen Probanden zu Beginn und Ende der Verwendung der Herz-Lungen-Maschine sowie in der Blutstillungsphase aus dem Bauchtuch statt. Die Testparameter wurden mittels ELISA und Bioplex-Testverfahren bestimmt.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass in der Kontrollgruppe sowohl eine stärkere Aktivierung von Leukozyten als auch von neutrophilen Granulozyten (PMN-Elastase) erfolgte. Unterstützt wurde diese Beobachtung durch die ebenfalls signifikant stärker erhöhten proinflammatorischen Marker IL-1 β und IL-6. Höhere SDF-1 α -Konzentrationen der Experimentalgruppe lassen in dem vorliegenden Kontext ebenfalls auf einen Vorteil der Synthetiktücher schließen. Auch im Rahmen der Thrombozyten- und Gerinnungsaktivierung zeigte sich durch höhere β -TG- und TAT-Komplex-Konzentrationen ein stärkerer Effekt der Baumwollbauchtücher gegenüber des Alternativmaterials Synthetik.

Die hier dargestellten Ergebnisse lassen erstmals auf eine verstärkte Aktivierung des Immun- und des Gerinnungssystems durch das Material Baumwolle und demnach eine höhere Hämokompatibilität der Synthetikbauchtücher schließen. Das Ausmaß, in welchem diese zusätzliche Aktivierung einen Einfluss auf postoperative Komplikationen und das Outcome dieser ohnehin vulnerablen Patientengruppe hat, lässt sich hier nicht abschließend klären. Die intraoperative Autotransfusion patienteneigenen Bluts aus dem Operationsgebiet ohne vorangegangene Aufbereitung durch einen Cell-Saver sollte jedoch kritisch überdacht werden.

6. Literaturverzeichnis

Abi-Younes, S., A. Sauty, F. Mach, G. K. Sukhova, P. Libby and A. D. Luster (2000). "The Stromal Cell-Derived Factor-1 Chemokine Is a Potent Platelet Agonist Highly Expressed in Atherosclerotic Plaques." Circulation Research **86**(2): 131-138.

Abraham, M. (2018). "Anticoagulation and Desired Hemostatic Properties of Abdominal Swabs during Surgical Interventions 3 Surg Res Pract, 2018; Volume 2, Issue 1 Before and after the SCT, the number of erythrocytes, leukocytes, platelets, as well as hemoglobin and hematocrit values were measured using a cell counter system (ABX Micros 60, Axon Lab AG, Switzerland)." Thrombin-antithrombin III complexes (TAT) were determined as a plasmatic marker for coagulation using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, Siemens Healthcare, Germany) according to the manufacturers instructions.

Adams, D. H. and A. Rlloyd (1997). "Chemokines: leucocyte recruitment and activation cytokines." The Lancet **349**(9050): 490-495.

Akramiene, D., A. Kondrotas, J. Didziapetriene and E. Kevelaitis (2007). "Effects of beta-glucans on the immune system." Medicina (Kaunas) **43**(8): 597-606.

Ambrosetti, M., M. Salerno, M. Zambelli, F. Mastropasqua, R. Tramarin and R. F. E. Pedretti (2004). "Deep Vein Thrombosis Among Patients Entering Cardiac Rehabilitation After Coronary Artery Bypass Surgery." Chest **125**(1): 191-196.

Baehner, T., O. Boehm, C. Probst, B. Poetzsch, A. Hoeft, G. Baumgarten and P. Knuefermann (2012). "[Cardiopulmonary bypass in cardiac surgery]." Anaesthesist **61**(10): 846-856.

Baehner, T., O. Boehm, C. Probst, B. Poetzsch, A. Hoeft, G. Baumgarten and P. Knuefermann (2012). "Kardiopulmonaler Bypass in der Herzchirurgie." Der Anaesthesist **61**(10): 846-856.

Ballou, S. P. and G. Lozanski (1992). "Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein." Cytokine **4**(5): 361-368.

Beckmann, A., R. Meyer, J. Lewandowski, A. Markewitz and J. Gummert (2020). "German Heart Surgery Report 2019: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery." Thorac Cardiovasc Surg **68**(4): 263-276.

Bone, R. C., R. A. Balk, F. B. Cerra, R. P. Dellinger, A. M. Fein, W. A. Knaus, R. M. Schein and W. J. Sibbald (1992). "Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine." Chest **101**(6): 1644-1655.

Bone, R. C., C. J. Grodzin and R. A. Balk (1997). "Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process." Chest **112**(1): 235-243.

Brugger, W., W. Möcklin, S. Heimfeld, R. J. Berenson, R. Mertelsmann and L. Kanz (1993). "Ex vivo expansion of enriched peripheral blood CD34+ progenitor cells by stem cell factor, interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, IL-3, interferon-gamma, and erythropoietin." Blood **81**(10): 2579-2584.

Bruins, P., H. te Velthuis, A. P. Yazdanbakhsh, P. G. Jansen, F. W. van Hardevelt, E. M. de Beaumont, C. R. Wildevuur, L. Eijssman, A. Trouwborst and C. E. Hack (1997). "Activation of the complement system during and after cardiopulmonary bypass surgery: postsurgery activation involves C-reactive protein and is associated with postoperative arrhythmia." Circulation **96**(10): 3542-3548.

Bundesamt, S. (2019). "Todesursachen." Retrieved 15.09.2021, from <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/todesfaelle.html>.

Bundesamt, S. (2019). "Todesursachen 2019." Retrieved 15.09.2021, from https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2021/02/PD21_N010_231.html.

Butcher, E. C. (1991). "Leukocyte-endothelial cell recognition: Three (or more) steps to specificity and diversity." Cell **67**(6): 1033-1036.

Butler, J., D. Parker, R. Pillai, S. Westaby, D. J. Shale and G. M. Rucker (1993). "Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor." J Thorac Cardiovasc Surg **105**(1): 25-30.

Castelli, W. A., C. F. Nasjleti, R. Diaz-Perez and R. G. Caffesse (1978). "Cheek mucosa response to silk, cotton, and nylon suture materials." Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology **45**(2): 186-189.

Chatterjee, M., D. Rath and M. Gawaz (2015). "Role of chemokine receptors CXCR4 and CXCR7 for platelet function." Biochem Soc Trans **43**(4): 720-726.

Chatterjee, M., P. Seizer, O. Borst, T. Schönberger, A. Mack, T. Geisler, H. F. Langer, A. E. May, S. Vogel, F. Lang and M. Gawaz (2014). "SDF-1 α induces differential trafficking of CXCR4-CXCR7 involving cyclophilin A, CXCR7 ubiquitination and promotes platelet survival." Faseb j **28**(7): 2864-2878.

Chatterjee, M., S. N. von Ungern-Sternberg, P. Seizer, F. Schlegel, M. Büttcher, N. A. Sindhu, S. Müller, A. Mack and M. Gawaz (2015). "Platelet-derived CXCL12 regulates monocyte function, survival, differentiation into macrophages and foam cells through differential involvement of CXCR4-CXCR7." Cell Death Dis **6**(11): e1989.

Cherla, R. P. and R. K. Ganju (2001). "Stromal cell-derived factor 1 alpha-induced chemotaxis in T cells is mediated by nitric oxide signaling pathways." J Immunol **166**(5): 3067-3074.

Churpek, M. M., A. Snyder, X. Han, S. Sokol, N. Pettit, M. D. Howell and D. P. Edelson (2017). "Quick Sepsis-related Organ Failure Assessment, Systemic Inflammatory Response Syndrome, and Early Warning Scores for Detecting Clinical Deterioration in Infected Patients outside the Intensive Care Unit." Am J Respir Crit Care Med **195**(7): 906-911.

Crawford, T. C., J. T. Magruder, J. C. Grimm, A. Suarez-Pierre, C. M. Sciortino, K. Mandal, K. J. Zehr, J. V. Conte, R. S. Higgins, D. E. Cameron and G. J. Whitman (2017). "Complications After Cardiac Operations: All Are Not Created Equal." Ann Thorac Surg **103**(1): 32-40.

Damgaard, S., C. H. Nielsen, L. W. Andersen, K. Bendtzen, M. Tvede and D. A. Steinbrüchel (2010). "Cell saver for on-pump coronary operations reduces systemic inflammatory markers: a randomized trial." The Annals of thoracic surgery **89**(5): 1511-1517.

De Somer, F., Y. Van Belleghem, F. Caes, K. Francois, H. Van Overbeke, J. Arnout, Y. Taeymans and G. Van Nooten (2001). "Tissue factor as the main activator of the coagulation system during cardiopulmonary bypass."

De Somer, F., Y. Van Belleghem, F. Caes, K. Francois, H. Van Overbeke, J. Arnout, Y. Taeymans and G. Van Nooten (2002). "Tissue factor as the main activator of the coagulation system during cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **123**(5): 951-958.

Deshmane, S. L., S. Kremlev, S. Amini and B. E. Sawaya (2009). "Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview." Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research **29**(6): 313-326.

DGTHG-Leistungsstatistik. (2020). "DGTHG-Leistungsstatistik 2019." Retrieved 15.12.2021, from https://www.dgthg.de/sites/default/files/GRAFIKEN-DGTHG-Leistungsstatistik%202019_free-access_1.pdf.

DIN, B. B. V. G. (2018-08; Biological evaluation of medical devices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process). "ISO 10993-1:2018-08".

Dinarello, C. A. (2005). "Blocking IL-1 in systemic inflammation." Journal of Experimental Medicine **201**(9): 1355-1359.

Dzau, V. J., E. M. Antman, H. R. Black, D. L. Hayes, J. E. Manson, J. Plutzky, J. J. Popma and W. Stevenson (2006). "The Cardiovascular Disease Continuum Validated: Clinical Evidence of Improved Patient Outcomes." Circulation **114**(25): 2850-2870.

Edmunds, L. H., R. Colman and S. Niewiarowski (1991). Blood-surface interactions during cardiopulmonary bypass. Blood use in cardiac surgery, Springer: 27-36.

Edmunds, L. H., Jr. (1993). "Blood-surface interactions during cardiopulmonary bypass." J Card Surg **8**(3): 404-410.

Edwards, F. H., V. A. Ferraris, P. A. Kurlansky, K. W. Lobdell, X. He, S. M. O'Brien, A. P. Furnary, J. S. Rankin, C. M. Vassileva and F. L. Fazzalari (2016). "Failure to rescue rates after coronary artery bypass grafting: an analysis from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database." The Annals of thoracic surgery **102**(2): 458-464.

Elias, J. A. and V. Lentz (1990). "IL-1 and tumor necrosis factor synergistically stimulate fibroblast IL-6 production and stabilize IL-6 messenger RNA." The Journal of Immunology **145**(1): 161-166.

Engoren, M. C., R. H. Habib, A. Zacharias, T. A. Schwann, C. J. Riordan and S. J. Durham (2002). "Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation." The Annals of Thoracic Surgery **74**(4): 1180-1186.

Faymonville, M. E., J. Pincemail, J. Duchateau, J. M. Paulus, A. Adam, G. Deby-Dupont, C. Deby, A. Albert, R. Larbuisson, R. Limet and et al. (1991). "Myeloperoxidase and elastase as markers of leukocyte activation during cardiopulmonary bypass in humans." J Thorac Cardiovasc Surg **102**(2): 309-317.

Flynn, C. M., Y. Garbers, J. Lokau, D. Wesch, D. M. Schulte, M. Laudes, W. Lieb, S. Aparicio-Siegmund and C. Garbers (2019). "Activation of Toll-like Receptor 2 (TLR2) induces Interleukin-6 trans-signaling." Scientific Reports **9**(1): 7306.

Fosse, E., T. E. Mollnes and B. Ingvaldsen (1987). "Complement activation during major operations with or without cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **93**(6): 860-866.

Gaudino, M., G. D. Angelini, C. Antoniades, F. Bakaeen, U. Benedetto, A. M. Calafiore, A. D. Franco, M. D. Mauro, S. E. Femes, L. N. Girardi, D. Glineur, J. Grau, G. W. He, C. Patrono, J. D. Puskas, M. Ruel, T. A. Schwann, D. Y. Tam, J. Tatoulis, R. Tranbaugh, M. Vallely, M. A. Zenati, M. Mack and D. P. Taggart (2018). "Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting: 30 Years of Debate." Journal of the American Heart Association **7**(16): e009934.

Gibbon, J. H., Jr. (1954). "Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery." Minn Med **37**(3): 171-185; passim.

Goldhaber, S. Z., D. R. Hirsch, R. C. MacDougall, J. F. Polak, M. A. Creager and L. H. Cohn (1995). "Prevention of venous thrombosis after coronary artery bypass surgery (a randomized trial comparing two mechanical prophylaxis strategies)." The American Journal of Cardiology **76**(14): 993-996.

Gregoretto, S. (1996). "Suction-induced hemolysis at various vacuum pressures: implications for intraoperative blood salvage." Transfusion **36**(1): 57-60.

Gunaydin, S., C. Robertson, A. B. Budak and T. Gourlay (2018). "Comparative evaluation of blood salvage techniques in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass." Perfusion **33**(2): 105-109.

Hakim, R. M. (1993). "Chapter 18 Complement activation by biomaterials." Cardiovascular Pathology **2**(3, Supplement): 187-197.

Hall, K. K., A. Lim and B. Gale (2020). "The Use of Rapid Response Teams to Reduce Failure to Rescue Events: A Systematic Review." Journal of patient safety **16**(3S Suppl 1): S3-S7.

Henn, V., J. R. Slupsky, M. Gräfe, I. Anagnostopoulos, R. Förster, G. Müller-Berghaus and R. A. Kroczeck (1998). "CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells." Nature **391**(6667): 591-594.

Hernandez, M. R., A. M. Galan, A. Cases, J. Lopez-Pedret, A. Pereira, R. Tonda, J. Bozzo, G. Escolar and A. Ordinas (2004). "Biocompatibility of cellulosic and synthetic membranes assessed by leukocyte activation." Am J Nephrol **24**(2): 235-241.

Jirik, F. R., T. J. Podor, T. Hirano, T. Kishimoto, D. J. Loskutoff, D. A. Carson and M. Lotz (1989). "Bacterial lipopolysaccharide and inflammatory mediators augment IL-6 secretion by human endothelial cells." The Journal of Immunology **142**(1): 144-147.

Khabar, K. S. A., M. A. Elbarbary, F. Khouqeer, E. Devol, S. Al-Gain and Z. Al-Halees (1997). "Circulating Endotoxin and Cytokines after Cardiopulmonary Bypass: Differential Correlation with Duration of Bypass and Systemic Inflammatory Response/Multiple Organ Dysfunction Syndromes." Clinical Immunology and Immunopathology **85**(1): 97-103.

Khoury, H., R. Lyons, Y. Sanaiha, S. Rudasill, R. J. Shemin and P. Benharash (2020). "Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism in Cardiac Surgical Patients." The Annals of Thoracic Surgery **109**(6): 1804-1810.

Kirklin, J. K., D. E. Chenoweth, D. C. Naftel, E. H. Blackstone, J. W. Kirklin, D. D. Bitran, J. G. Curd, J. G. Reves and P. N. Samuelson (1986). "Effects of protamine administration after cardiopulmonary bypass on complement, blood elements, and the hemodynamic state." Ann Thorac Surg **41**(2): 193-199.

Kirklin, J. K., S. Westaby, E. H. Blackstone, J. W. Kirklin, D. E. Chenoweth and A. D. Pacifico (1983). "Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **86**(6): 845-857.

Kowalewski, M., M. Jasinski, J. Staromlynski, M. Zembala, K. Widenka, M. Brykczynski, J. Skiba, M. Zembala, K. Bartus, T. Hirnle, I. Dziembowska, P. Knapik, Z. Tobota, B. Maruszewski, P. Suwalski and K. Investigators (2020). "On-

Pump vs Off-Pump coronary artery bypass surgery in atrial fibrillation. Analysis from the polish national registry of cardiac surgery procedures (KROK)." PLoS One **15**(4): e0231950.

Krajewski, S., T. Hierlemann, B. Neumann, T. Nathan, M. Abel, A. Koggel, C. Schlensak and H. P. Wendel (2016). "Hypercoagulant Abdominal Swabs in Cardiac Surgery: Potential Problems and Background." Thorac Cardiovasc Surg **64**(07): 589-595.

Krajewski, S., T. Nathan, B. Neumann, S. Hoffmann, M. Abel, A. Koggel, C. Schlensak and H. P. Wendel (2015). "Simple clotting test to detect procoagulant abdominal swabs." J Mater Sci Mater Med **26**(2): 106.

Krotova, K., N. Khodayari, R. Oshins, G. Aslanidi and M. L. Brantly (2020). "Neutrophil elastase promotes macrophage cell adhesion and cytokine production through the integrin-Src kinases pathway." Scientific Reports **10**(1): 15874.

Kutz, S. A., S. A. Olenchock, J. A. Elliott, D. J. Pearson and P. C. Major (1979). "Antibody-independent complement activation by cardroom cotton dust." Environmental Research **19**(2): 405-414.

Lander, H., M. Zammert and D. FitzGerald (2016). "Anticoagulation management during cross-clamping and bypass." Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology **30**(3): 359-370.

Langer, H. F. and T. Chavakis (2009). "Leukocyte-endothelial interactions in inflammation." J Cell Mol Med **13**(7): 1211-1220.

Leverett, L. B., J. D. Hellums, C. P. Alfrey and E. C. Lynch (1972). "Red blood cell damage by shear stress." Biophys J **12**(3): 257-273.

Massberg, S., I. Konrad, K. Schürzinger, M. Lorenz, S. Schneider, D. Zohlnhoefer, K. Hoppe, M. Schiemann, E. Kennerknecht, S. Sauer, C. Schulz, S. Kerstan, M. Rudelius, S. Seidl, F. Sorge, H. Langer, M. Peluso, P. Goyal, D. Vestweber, N. R. Emambokus, D. H. Busch, J. Frampton and M. Gawaz (2006). "Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo." J Exp Med **203**(5): 1221-1233.

Melrose, D. G., B. Dreyer, H. H. Bentall and J. B. E. Baker (1955). "ELECTIVE CARDIAC ARREST." The Lancet **266**(6879): 21-23.

Michalopoulos, A., G. Stavridis and S. Geroulanos (2003). "Severe Sepsis in Cardiac Surgical Patients." European Journal of Surgery **164**(3): 217-222.

Mileno, M. D., N. H. Margolis, B. D. Clark, C. A. Dinarello, J. F. Burke and J. A. Gelfand (1995). "Coagulation of whole blood stimulates interleukin-1 beta gene expression." J Infect Dis **172**(1): 308-311.

Mirhosseini, S. J., S. K. Forouzannia, S. M. Y. M. P. Manshadi, S. Ali-Hasan-Al-Saegh, N. Naderi and M. Sanatkar (2013). "Comparison of aspirin plus heparin with heparin alone on asymptomatic perioperative deep vein thrombosis in candidates for elective off-pump coronary artery bypass graft: a randomized clinical trial." Cardiology journal **20**(2): 139-143.

Neumann, F. J., N. Marx, M. Gawaz, K. Brand, I. Ott, C. Rokitta, C. Sticherling, C. Meinel, A. May and A. Schömig (1997). "Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets." Circulation **95**(10): 2387-2394.

Oleksowicz, L., Z. Mrowiec, R. Isaacs, J. P. Dutcher and E. Puszkin (1995). "Morphologic and ultrastructural evidence for interleukin-6 induced platelet activation." American journal of hematology **48**(2): 92-99.

Olenchock, S. A., J. C. Mull, B. A. Boehlecke and P. C. Major (1981). "Cotton Dust and Complement in Vivo." Chest **79**(4, Supplement): 53S-55S.

Onorati, F., A. S. Rubino, S. Nucera, D. Foti, V. Sica, F. Santini, E. Gulletta and A. Renzulli (2010). "Off-pump coronary artery bypass surgery versus standard linear or pulsatile cardiopulmonary bypass: endothelial activation and inflammatory response." European Journal of Cardio-Thoracic Surgery **37**(4): 897-904.

Panesar, N., K. Tolman and J. E. Mazuski (1999). "Endotoxin Stimulates Hepatocyte Interleukin-6 Production." Journal of Surgical Research **85**(2): 251-258.

Park, K., F. W. Mao and H. Park (1989). "Morphological characterization of surface-induced platelet activation."

Pätilä, T., S. Kukkonen, A. Vento, V. Pettilä and R. Suojaranta-Ylinen (2006). "Relation of the Sequential Organ Failure Assessment score to morbidity and mortality after cardiac surgery." Ann Thorac Surg **82**(6): 2072-2078.

Rao, G. H. R. and T. Chandy (1999). "Role of platelets in blood-biomaterial interactions." Bulletin of Materials Science **22**(3): 633-639.

Reddy, K. R., G. H. Davidonis, A. S. Johnson and B. T. Vinyard (1999). "Temperature regime and carbon dioxide enrichment alter cotton boll development and fiber properties." Agronomy Journal **91**(5): 851-858.

Robert-Koch-Institut. "Herz-Kreislauf-Erkrankungen." Retrieved 25.02.2022, from https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Themen/Chronische_Erkrankungen/HKK/HKK_node.html.

Roth-Isigkeit, A., T. V. Borstel, M. Seyfarth and P. Schmucker (1999). "Perioperative serum levels of tumour-necrosis-factor alpha (TNF-alpha), IL-1 beta, IL-6, IL-10 and soluble IL-2 receptor in patients undergoing cardiac surgery

with cardiopulmonary bypass without and with correction for haemodilution." Clin Exp Immunol **118**(2): 242-246.

Sagy, M., Y. Al-Qaqaa and P. Kim (2013). "Definitions and Pathophysiology of Sepsis." Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care **43**(10): 260-263.

Sarkar, M. and V. Prabhu (2017). "Basics of cardiopulmonary bypass." Indian journal of anaesthesia **61**(9): 760-767.

Shimamoto, T. (2011). "Polyurethane sheet: a potential substitute of surgical cotton gauze." J Cardiothorac Surg **6**: 26.

Shroyer, A. L., F. L. Grover, B. Hattler, J. F. Collins, G. O. McDonald, E. Kozora, J. C. Lucke, J. H. Baltz, D. Novitzky and G. Veterans Affairs Randomized On/Off Bypass Study (2009). "On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery." N Engl J Med **361**(19): 1827-1837.

Shvedova, A. A., T. Satoh, D. Tollerud, L. Guevarra and M. H. Karol (1996). "Elevated levels of IL-6, INF-gamma, and TNF-alpha in mice in response to cotton dust are modulated by anti-TNF-alpha antiserum." Exp Lung Res **22**(2): 149-161.

Singer, M., C. S. Deutschman, C. W. Seymour, M. Shankar-Hari, D. Annane, M. Bauer, R. Bellomo, G. R. Bernard, J. D. Chiche, C. M. Coopersmith, R. S. Hotchkiss, M. M. Levy, J. C. Marshall, G. S. Martin, S. M. Opal, G. D. Rubenfeld, T. van der Poll, J. L. Vincent and D. C. Angus (2016). "The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)." Jama **315**(8): 801-810.

Sironi, M., F. Breviario, P. Proserpio, A. Biondi, A. Vecchi, J. Van Damme, E. Dejana and A. Mantovani (1989). "IL-1 stimulates IL-6 production in endothelial cells." The Journal of Immunology **142**(2): 549-553.

Sniecinski, R. M. and W. L. Chandler (2011). "Activation of the Hemostatic System During Cardiopulmonary Bypass." Anesthesia & Analgesia **113**(6): 1319-1333.

Song, J., D. W. Park, S. Moon, H.-J. Cho, J. H. Park, H. Seok and W. S. Choi (2019). "Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions." BMC Infectious Diseases **19**(1): 968.

Sousa-Uva*, M., S. J. Head, M. Milojevic, J.-P. Collet, G. Landoni, M. Castella, J. Dunning, T. Gudbjartsson, N. J. Linker and E. Sandoval (2018). "2017 EACTS Guidelines on perioperative medication in adult cardiac surgery." European Journal of Cardio-Thoracic Surgery **53**(1): 5-33.

Sower, L. E., C. J. Froelich, D. H. Carney, J. W. Fenton, 2nd and G. R. Klimpel (1995). "Thrombin induces IL-6 production in fibroblasts and epithelial cells.

Evidence for the involvement of the seven-transmembrane domain (STD) receptor for alpha-thrombin." J Immunol **155**(2): 895-901.

Squicciarro, E., C. Labriola, P. G. Malvindi, V. Margari, P. Guida, G. Visicchio, G. Kounakis, A. Favale, P. Dambruoso, G. Mastrototaro, R. Lorusso and D. Paparella (2019). "Prevalence and Clinical Impact of Systemic Inflammatory Reaction After Cardiac Surgery." Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia **33**(6): 1682-1690.

Steinberg, J. B., D. P. Kapelanski, J. D. Olson and J. M. Weiler (1993). "Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass." The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery **106**(6): 1008-1016.

Tosato, G. and K. D. Jones (1990). "Interleukin-1 Induces Interleukin-6 Production in Peripheral Blood Monocytes." Blood **75**(6): 1305-1310.

Trunk, S., P. Mullerbader, U. Hennig, M. Abel, A. Koggel, K. Stang, Y. Altreuter, V. Steger, C. Schlensak, H. P. Wendel and S. Stoppelkamp (2019). "Inflammatory potential of cotton-based surgically invasive devices: Implications for cardiac surgery." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **107**(6): 1877-1888.

Tu, L. N., L. Hsieh, M. Kajimoto, K. Charette, N. Kibiryeve, A. Forero, S. Hampson, J. A. Marshall, J. O'Brien and M. Scatena (2021). "Shear stress associated with cardiopulmonary bypass induces expression of inflammatory cytokines and necroptosis in monocytes." JCI insight **6**(1).

Turner, M. D., B. Nedjai, T. Hurst and D. J. Pennington (2014). "Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research **1843**(11): 2563-2582.

van der Poll, T., M. Levi, C. E. Hack, H. ten Cate, S. J. van Deventer, A. J. Eerenberg, E. R. de Groot, J. Jansen, H. Gallati, H. R. Büller and et al. (1994). "Elimination of interleukin 6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees." J Exp Med **179**(4): 1253-1259.

Viana, V. B., E. R. Melo, M. Terra-Filho, L. A. Dallan, M. M. Gonzalez, L. A. Hajjar, F. B. Jatene, L. A. Cesar and C. B. Vianna (2017). "Frequency of Deep Vein Thrombosis and/or Pulmonary Embolism After Coronary Artery Bypass Grafting Investigation Regardless of Clinical Suspicion." The American Journal of Cardiology **119**(2): 237-242.

Vogt, L. M., M. V. Boekschoten, P. J. de Groot, M. M. Faas and P. de Vos (2015). "Cellulose alters the expression of nuclear factor kappa B-related genes and Toll-like receptor-related genes in human peripheral blood mononuclear cells." Journal of Functional Foods **18**: 520-531.

Vuk-Pavlović, Z. and M. S. Rohrbach (1990). "Induction of Interleukin-1-Beta Release from Human Monocytes by Cotton Bract Tannin." International Archives of Allergy and Immunology **91**(4): 394-397.

Weerasinghe, A. and K. M. Taylor (1998). "The platelet in cardiopulmonary bypass." Ann Thorac Surg **66**(6): 2145-2152.

Wiedmer, T. and P. J. Sims (1991). "Participation of Protein Kinases in Complement C5b-9–Induced Shedding of Platelet Plasma Membrane Vesicles." Blood **78**(11): 2880-2886.

Wiegand, C., M. Abel, U.-C. Hipler, P. Elsner, M. Zieger, J. Kurz, H. P. Wendel and S. Stoppelkamp (2019). "Hemostatic wound dressings: Predicting their effects by in vitro tests." Journal of biomaterials applications **33**(9): 1285-1297.

Yun, H. J. and D. Y. Jo (2003). "Production of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) and expression of CXCR4 in human bone marrow endothelial cells." J Korean Med Sci **18**(5): 679-685.

Zhao, H., H. Ma, L. Meng, Z. Zhao, X. Quan and Z. Cheng (2017). Application of Autologous Blood Cell Salvage in Off-Pump Coronary Artery Bypass Graft Operation. The heart surgery forum.

Zhu, T., X. Liao, T. Feng, Q. Wu, J. Zhang, X. Cao and H. Li (2017). "Plasma Monocyte Chemoattractant Protein 1 as a Predictive Marker for Sepsis Prognosis: A Prospective Cohort Study." The Tohoku Journal of Experimental Medicine **241**(2): 139-147.

7. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde im klinischen Forschungslabor der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. Hans-Peter Wendel und Dr. Christoph Salewski durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Dr. Sandra Stoppelkamp, Leiterin der Arbeitsgruppe „Pyrogene und Sicherheit von Medizinprodukten“.

Die Erstverarbeitung erfolgte nach Einarbeitung durch Katharina Große-Berkenbusch durch mich in Zusammenarbeit mit Katharina Große-Berkenbusch. Die Durchführung der ELISAs erfolgte durch Katharina Große-Berkenbusch. Die Multiplex Immunoassays wurden extern durch das deutsche Zentrum für Diabetesforschung (DZD e.V.) und metabolische Erkrankungen des Helmholtz-Zentrums München an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, sowie durch die Abteilung für Innere Medizin IV für Endokrinologie, Diabetologie und Nephrologie des Universitätsklinikums Tübingen durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, 09.03.2022

Lisa Maria Herrmann

8. Liste der Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits in folgender Publikation veröffentlicht:

Gerling, Katharina, Lisa M. Herrmann, Christoph Salewski, Melanie Wolf, Pia Müllerbader, Dorothea Siegel-Axel, Hans P. Wendel, Christian Schlensak, Meltem Avci-Adali, and Sandra Stoppelkamp. 2021. "Synthetic Material Abdominal Swabs Reduce Activation of Platelets and Leukocytes Compared to Cotton Materials" *Biomolecules* 11, no. 7: 1023. <https://doi.org/10.3390/biom11071023>

Danksagung

Ich danke allen Personen, die an der Konzeption und Ausführung dieser Studie beteiligt waren und die die Entstehung dieser Dissertation möglich gemacht haben.

Einen herzlichen Dank an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Wendel für die Annahme und Betreuung meiner Promotion.

Ebenso möchte ich Dr. Christoph Salewski für die großartige Betreuung meiner Promotion danken, der mir stets bei allen Fragen zur Seite stand.

Ich danke Katharina Große-Berkenbusch für Ihre Hilfe bei der Probenverarbeitung und die Durchführung der ELISAs.

Ein besonderer Dank gilt außerdem Katharina Große-Berkenbusch und Dr. Sandra Stoppelkamp, die mir sowohl bei der Verfassung der Publikation als auch bei der Erstellung dieser Dissertationsschrift stets zur Seite standen.

Meinen Eltern, die mir nicht nur dieses Studium und diese Dissertation, sondern auch bereits so viele andere wundervolle Dinge in meinem Leben ermöglicht haben, möchte ich den größten Dank aussprechen. Vielen Dank für eure Unterstützung jeglicher Art!

Ich danke außerdem dir, Erik, für die Unterstützung und das noch größere Verständnis bei der Anfertigung dieser Dissertation.