

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. N. Roewer

**Ergebnisse der Hochfrequenzoszillation auf die pulmonale  
Entzündungsreaktion beim Lavage induzierten akuten Lungenversagen  
im Langzeit Großtiermodell**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Bernd Zollhöfer  
aus Dinkelsbühl

Würzburg, Dezember 2009

Referent: Priv.-Doz. Dr. J. Brederlau  
Koreferent: Prof. Dr. H. Hebestreit  
Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 31.03.2010

Der Promovend ist Arzt.

Meiner Frau Sabine und unserem Sohn Max gilt ein besonderer Dank, einerseits für die Unterstützung während der Versuche und des Niederschreibens der Arbeit und andererseits für die jederzeit gerne willkommene Abwechslung und Ablenkung von medizinischen Problemen.

Ihnen ist diese Arbeit gewidmet.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	ARDS: Definition und Symptome	1
1.2	Pathophysiologie	2
1.3	Entzündungsmediatoren	3
1.4	Therapieansätze und der beatmungsinduzierte Lungenschaden	7
1.5	Hypothese	17
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>18</b>
2.1	Versuchstiere	18
2.2	Versuchstierpräparation	18
2.3	Beatmung und Induktion des Lungenversagens	19
2.4	Experimentelles Protokoll	20
2.5	Versuchsende	21
2.6	Mikroskopische Auswertung der bronchoalveolären Lavage (BAL)	21
2.7	Quantifizierung der Zytokinproduktion mittels enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) aus der BAL und dem Serum	22
2.8	Messung der Aktivierung der Proteinbiosynthese mittels mRNA-Expression aus dem Lungenparenchym	23
2.9	Statistik	29

<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>30</b>
3.1	Gasaustausch und Beatmungsparameter	30
3.2	Entzündungszellen und inflammatorische Zytokinfreisetzung in der BAL	33
3.3	Entzündungszellen und inflammatorische Zytokinfreisetzung im Serum	34
3.4	Semiquantitative PCR	34
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>37</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>44</b>
<b>6.</b>	<b>Ausblick</b>	<b>46</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>47</b>
<b>8.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>56</b>

**Danksagung**

## 1. Einleitung

### 1.1 ARDS: Definition und Symptome

Das akute Lungenversagen wurde erstmalig von Ashbaugh et al. 1967 [1] beschrieben. Die frühere Bezeichnung „Adult Respiratory Distress Syndrome“ wurde später zugunsten des heute noch gültigen Terms „Acute Respiratory Distress Syndrome“ (ARDS) verlassen. Es handelt sich um ein akutes Krankheitsbild, welches durch ein nicht-kardial bedingtes Lungenödem, Atelektasen mit Rechts-Links-Shunt, sauerstoffrefraktäre Hypoxämie, pulmonale Hypertonie und Schädigung der alveolären Basalmembran gekennzeichnet ist.

Später, wie von Bernard et al. [2] beschrieben, wurden bei der Amerikanisch-Europäischen Konsensus Konferenz 1994 folgende Kriterien festgelegt, wobei eine Unterscheidung in die akute Lungenschädigung („acute lung injury“, ALI) sowie das ARDS erfolgte.

Kriterien	ALI	ARDS
Beginn	akut	akut
Oxygenierung $P_{aO_2}/FiO_2$	$\leq 300$ mmHg	$\leq 200$ mmHg
Röntgen-Thorax	bilaterale Infiltrate	bilaterale Infiltrate
pulmonal-arterieller Wedgedruck	$\leq 18$ mmHg bzw. kein Hinweis auf Linksherzbelastung	$\leq 18$ mmHg bzw. kein Hinweis auf Linksherzbelastung

Der Entstehung eines ARDS liegen verschiedene Pathomechanismen zugrunde. Dabei wird eine direkte von einer indirekten Lungenschädigung unterschieden. Aspiration, Pneumonie, Lungenkontusion, Beinaheertrinken und toxische Gasinhalation zählen zu den direkten Faktoren. Diesen gegenüber stehen die indirekten, wie Sepsis, Verbrennung, Polytrauma, Massivtransfusion,

disseminierte intravasale Koagulopathie, akute Pankreatitis, Eklampsie, sowie Luft- und Fruchtwasserembolie [3-7]. Klinische Symptome der Patienten sind schwere Dyspnoe, Tachypnoe und Zyanose. Durch die oben beschriebene sauerstoffresistente Hypoxämie kann es zum Organversagen kommen. Eine Rechtsherzbelastung aufgrund der pulmonalen Hypertonie wird ebenfalls beobachtet. Die Erkrankungsdauer kann zwischen wenigen Tagen bis hin zu mehreren Wochen variieren [2].

## 1.2 Pathophysiologie

Dem akuten Lungenversagen liegt eine Schädigung der Alveolarzellen und der Lungenkapillaren zugrunde. Einer der häufigsten Auslöser ist eine Sepsis, sie führt bei über 40 % der Patienten zum Lungenversagen [8].

In der frühen exsudativen Phase des ARDS ist der komplette Gasaustauschapparat durch die massive Entzündungsreaktion kompromittiert. Diese Phase wird durch vier Effekte charakterisiert:

1. Ein Anstieg der Membranpermeabilität von Gefäß- und/oder Alveolarendothelzellen, wodurch
2. ein Einstrom von Plasmaproteinen mit anschließender Entstehung eines interstitiellen und später intraalveolären Ödems bedingt wird.
3. Eine Vasokonstriktion mit Mikroembolien oder Mikrothromben, wodurch der pulmonale Gefäßwiderstand ansteigt und eine Umverteilung der Lungenperfusion stattfindet.
4. Die alveoläre Oberflächenspannung steigt durch Surfactantdepletion, die Alveolen werden destabilisiert und Atelektasen begünstigt.

Bedingt durch eine intrapulmonale Shuntbildung kommt es zu einem ausgeprägten Ventilations-Perfusions-Missverhältnis mit kompromittiertem pulmonalen Gasaustausch. Während dieser Phase von etwa einer Woche

Dauer kann eine vollständige Erholung ohne dauerhafte Lungenschädigung erreicht werden [9].

Erneute entzündliche Prozesse wie Sepsis oder Pneumonie können die Lungenfunktion dauerhaft beeinträchtigen und proliferative Prozesse begünstigen. Außerdem kann durch die Anwendung der prinzipiell notwendigen, weil lebensrettenden Beatmungstherapie eine weitere pulmonale Schädigung erfolgen. Diesen Vorgang bezeichnet man als beatmungsinduzierte Lungenschädigung („ventilator-induced lung injury“, VILI). Dadurch bedingt kann es zu einer mesenchymalen Zellaktivierung kommen [10]. Diese führt an Tag fünf bis sieben nach Beginn des Lungenversagens zu fibroproliferativen Prozessen mit vermehrter Kollagenproduktion sowie Gefäßneubildungen. Irreversible restriktive Lungenfunktionseinschränkungen können entstehen. Eine Zunahme der pulmonalen Fibrose, sowie die Ablagerung von extrazellulärem Kollagen im Alveolarraum, so genannten „hyalinen Membranen“, ist die Folge [11, 12]. Diese Veränderungen korrelieren mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko [13, 14] und führen innerhalb weniger Wochen zu einer Erweiterung der Fibrose und einer so genannten „Wabenbildung“ der Lungen.

Des Weiteren spielt die proteolytische Aktivität von Entzündungsmediatoren im Alveolarraum eine entscheidende Rolle bei der Schädigung des Surfactants. Sie werden aus aktivierten neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, Lungenepithelzellen und Fibroblasten lokal freigesetzt [15].

### 1.3 Entzündungsmediatoren

#### *Interleukin-1-beta*

Interleukin-1-beta wird aus Monozyten freigesetzt und zählt zu den pyrogenen und proinflammatorischen Zytokinen. Über Toll-like Rezeptoren (TLR) wird die Synthese, beispielsweise durch Lipopolysaccharide (LPS), induziert. Bildung und Freisetzung sind eng verbunden, wodurch die Sekretion streng kontrolliert wird. Bei gesunden Probanden gibt es keinen Hinweis für eine Rolle des IL-1-



beta beim Erhalt der Homöostase. Bei kritisch Kranken hingegen induziert es eine Vielzahl von Genen. Hierzu zählen beispielsweise die Cyclooxygenase 2, wie auch die induzierbare NO-Synthase. Es fördert die Expression von Chemokinen, Adhäsionsmolekülen und einer Vielzahl von Zytokinen, wie Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF-alpha) oder IL-6. Außerdem stimuliert IL-1-beta die Produktion von myeloiden Vorläuferzellen und die Freisetzung von neutrophilen Granulozyten im Knochenmark. Somit spielt IL-1-beta eine Rolle bei systemischen und pulmonalen Entzündungsreaktionen.

Die Normwerte der Serumspiegel von IL-1-beta liegen, mittels „enzyme linked immunosorbent assay“ (ELISA) gemessen, unter 5 pg/ml. Während einer systemischen Entzündung können die Werte den Nanogrammbereich erreichen. Dennoch sollte der Beitrag von IL-1-beta an einer Erkrankung nicht am Serumspiegel, sondern an der klinischen oder biochemischen Antwort festgemacht werden [16].

#### *Interleukin-6 (IL-6)*

Interleukin-6 zählt zu den proinflammatorischen Zytokinen und wird unter anderem in Monozyten und Fibroblasten produziert. Es spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation der Immunantwort, der Akut-Phase-Antwort, der Entzündungsreaktion, der Onkogenese und der Hämatopoese.

In Gesundheit stimuliert es die Synthese des adrenokortikotropen Hormons in der Hypophyse, sowie des neuronalen Wachstumsfaktors. Einflüsse auf Wachstum und Entwicklung hämatopoetischer Zellen und embryonaler Stammzellen werden vermutet. Der Serumspiegel von IL-6 liegt bei gesunden Erwachsenen bei <10 pg/ml.

Bei kritisch kranken Patienten spielt IL-6 eine Rolle sowohl als Mediator wie auch als Marker. Die Produktion wird bei akuten Entzündungsreaktionen in Zusammenhang mit ARDS, Trauma, Sepsis, Stress, Infektion oder Hirntod rasch induziert. Experimentell wurden Serumspitzenwerte nach zwei Stunden ermittelt [17]. Die Freisetzung von IL-6 wird von Tumornekrosefaktor (TNF), IL-1-beta, IL-2, Interferon- $\beta$  und „platelet-derived growth factor“ stimuliert. Jedoch persistiert IL-6 deutlich länger im Serum. Hierdurch kann IL-6 als Marker für die

Aktivierung proinflammatorischer Zytokine verwendet werden [18]. Gehemmt wird seine Bildung durch IL-4 und IL-3.

Zahlreiche Studien zeigten eine Verbindung zwischen mittlerer IL-6-Serumkonzentration und der Mortalitätsrate [19]. Eine dauerhafte Erhöhung spielt hierbei eine größere Rolle als der initiale Spitzenwert [20-22].

### *Interleukin-10*

Das anti-inflammatorische Interleukin-10 (IL-10) wird von T-Helferzellen Typ 2, Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen und Epithelzellen produziert [23]. Es wirkt auf eine Vielzahl von Zellen. Hierzu zählen unter anderem B-Zellen, zytotoxische Lymphozyten, T-Helfer-Zellen, Mastzellen, Granulozyten, dendritische Zellen, Kreatinozyten und Endothelzellen [24, 25]. IL-10 bewirkt eine Inhibition der Produktion von T-Helfer 1-Zytokinen, wie Interferon- $\gamma$  und IL-12. Auch die Synthese der proinflammatorischen Moleküle TNF-alpha, IL-1-beta, IL-8 und NO durch Monozyten und Makrophagen wird gehemmt [23].

Die Hauptstimuli für die IL-10-Synthese sind eine Entzündungsreaktion, IL-1 und TNF-alpha. Ein negativer Feedbackmechanismus, bei welchem sich ein inflammatorischer Prozess durch die endogene IL-10-Produktion selbst limitiert, wird vermutet [26]. IL-10 wird endogen in kritisch kranken Patienten produziert. Seine Konzentration reflektiert oft das Ausmaß der Entzündungsreaktion. Die Serumkonzentration von IL-10 weist Schwankungen zwischen 12-2.400 pg/ml auf. Eine Erhöhung bis auf 20.000 pg/ml ist möglich. Die IL-10-Konzentration korreliert stark mit der von TNF-alpha [27-29]. Friedman et al. berichteten, dass mittels IL-10-Serumspiegel eine Vorhersage über das Auftreten und die Schwere eines Multiorganversagens getroffen werden kann [30].

### *Tumornekrosefaktor $\alpha$*

Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF-alpha) zählt zu den proinflammatorischen Zytokinen. Freigesetzt wird er aus Makrophagen und einer Vielzahl weiterer Zellen, wie neutrophilen Granulozyten, CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen, Endothelzellen, Astrozyten und weiteren

Zellen der hämatopoetischen und nicht-hämatopoetischen Zellreihe [31, 32]. Seine Wirkungen vermittelt TNF-alpha über die beiden Membranrezeptoren TNF-RI und TNF-RII [33]. Durch die Stimulation der Produktion weiterer Zytokine, Akute-Phase-Proteine und Prostaglandin E2 werden Entzündungsreaktionen aufrechterhalten. Phagozyten werden zur Phagozytose sowie zur Freisetzung lysosomaler Enzyme und Sauerstoffradikale angeregt. TNF-alpha greift ebenfalls aktiv in Wachstums- und Differenzierungsvorgänge verschiedener Zelltypen ein. Hierdurch werden Effektorzellen mobilisiert und aktiviert. In mehreren Studien konnte eine Erhöhung des TNF-alpha-Spiegels in der bronchoalveolären Lavage (BAL) von ARDS-Patienten nachgewiesen werden [34]. TNF-alpha gilt als essentieller Mediator bei Infektions-, Autoimmun- und Entzündungserkrankungen [35]. Bei letzteren vor allem als Trigger des systemischen inflammatorischen Response-Syndroms (SIRS). Hierunter versteht man eine unspezifische Entzündungsantwort des Körpers mit Hyper- oder Hypothermie, Tachykardie, Tachypnoe oder Leukozytose beziehungsweise Leukopenie. Das SIRS kann unter anderem durch ein ARDS induziert werden [36].

### *Neutrophile Granulozyten*

Neutrophile Granulozyten sind Effektorzellen der initialen Abwehrreaktion auf Entzündungen und Verletzungen. Sie entstehen aus Vorläuferzellen im Knochenmark. Nachdem sie in den Kreislauf freigesetzt werden, aktivieren sie den programmierten Zelltod. Ihre Halbwertszeit beträgt 6-10 Stunden. Diese kann jedoch durch ein breites Spektrum an Entzündungsmediatoren (körpereigene und/oder mikrobielle) verlängert werden [37]. Anschließend erfolgt ihre Phagozytose in der Leber oder in anderen retikuloendothelialen Systemen [38]. Der tägliche Umsatz an neutrophilen Granulozyten beträgt etwa  $10^{10}$  Zellen. Durch diesen dynamischen Prozess entsteht ein Pool an Zellen. Um eine Infektion abzuwenden kann dieser schnell erweitert und mobilisiert werden. Bezüglich ihrer antimikrobiellen Aktivität sind neutrophile Granulozyten sehr potent, jedoch auch sehr unspezifisch, wodurch teilweise ausgeprägte Kollateralschäden im Gewebe entstehen. Diese Gewebsschädigung tritt vor

allem im Rahmen einer Sepsis auf. Hierbei werden unter anderem Lunge (ARDS), Leber, Nieren und Gastrointestinaltrakt in Mitleidenschaft gezogen [39, 40]. Zellen, die aus den Lungen von Patienten mit sepsisinduzierten Lungenschäden entnommen wurden, zeigten eine verminderte Apoptoserate. Der Grad dieser Hemmung korrelierte mit der Schwere der Sepsis [41, 42].

Bei neutrophilen Granulozyten handelt es sich um sehr mobile Zellen. Sie zirkulieren im Blutstrom und emigrieren, chemotaxischen Signalen aus Entzündungsherden und Gewebsverletzungen folgend, ins Interstitium [43]. Die Erkennung von Mikroorganismen oder verletzten Zellen erfolgt ebenfalls über Toll-like Rezeptoren [44]. Nach Fc-Rezeptor vermitteltem Erkennen der Zielzellen erfolgt deren Phagozytose und Zerstörung. Dies entfernt nicht nur die neutrophilen Granulozyten, sondern aktiviert auch anti-inflammatorische Mediatoren, wie IL-10, TGF- $\beta$  und „vascular endothelial growth factor“ [45].

#### 1.4 Therapieansätze und der beatmungsinduzierte Lungenschaden

##### *Therapieziele*

Eine spezifische und kausale Therapie des ARDS und ALI ist bislang nicht möglich. Aus diesem Grund steht die symptomatische Therapie im Vordergrund [46], die mit Hilfe einer geeigneten Beatmungsstrategie erreicht werden soll. Hauptziele sind die Verbesserung der Oxygenierung, die Sicherstellung der CO<sub>2</sub>-Abatmung und eine Verminderung der Lungenschädigung. Durch die Beeinträchtigung des endogenen Surfactantsystems folgt die Bildung von Atelektasen, eine Vergrößerung des Rechts-Links-Shunts, die Ausbildung eines pulmonalen Ödems und schließlich eine Hypoxämie [47]. Ursächlich hierfür ist die Erhöhung der alveolären Oberflächenspannung. Die alleinige Erhöhung der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration (FiO<sub>2</sub>) ist nicht ausreichend um eine adäquate Oxygenierung sicherzustellen. Eine geeignete Beatmungsstrategie hält die Lungenfunktion aufrecht, beziehungsweise verbessert sie, eröffnet Atelektasen und stabilisiert den Gasaustausch. Mittels maschineller Beatmung kann bei diesen Patienten die Atemarbeit, die Hypoxämie und die respiratorische Azidose reduziert werden [48].

### *Konventionelle Beatmung und der beatmungsinduzierte Lungenschaden*

Im Verlauf eines ARDS besteht pathophysiologisch ein Nebeneinander von atelektatischen, überblähten und gesunden Lungenarealen. Durch die sehr niedrige Compliance des Lungengewebes, kombiniert mit alveolärem Infiltrat, entsteht zusätzlich eine hohe Steifheit der Lunge. Um diesem Effekt entgegen zu wirken wurden Patienten bis vor wenigen Jahren mit sehr hohen Tidalvolumina ( $V_t$ ) von 10-15 ml/kg KG und sehr niedrigen positiv endexpiratorischen Drücken (PEEP) von 0-5 cmH<sub>2</sub>O beatmet. Hohe Beatmungsdrücke wurden in Kauf genommen, um einen normalen Gasaustausch aufrecht zu erhalten. Der adäquate Gasaustausch war das Primärziel der bisherigen Beatmungsstrategien. Dreyfuss et al. untersuchten die Rolle von Tidalvolumen und inspiratorischem Spitzendruck (PIP) bei Lungenschädigungen. Hierbei wurde am Tiermodell gezeigt, dass ein hohes Tidalvolumen ein VILI aggraviert und zu einer gesteigerten pulmonalen Entzündungsreaktion führt. Außerdem erhöhte sich die Permeabilität der Alveolarmembranen [49].

Folgende pathophysiologische Ursachen liegen der beatmungsinduzierten Lungenschädigung zu Grunde:

- Barotrauma: Hohe Beatmungsdrücke unter Verwendung großer Tidalvolumina verursachen Strukturschäden und führen zum Entweichen von Luft nach extraalveolär [50].
- Volutrauma: Regionale Überdehnung der Lunge durch ungleichmäßige Entfaltung und Überblähung [51].
- Atelekttrauma: Wiederholtes Öffnen und Schließen der Alveolen führt zu Scherkräften. Diese verursachen Epithelschäden und den Verlust der Barrierefunktion des Alveolarepithels [52, 53].
- Biotrauma: Maschinelle Beatmung führt zu starker physikalischer Beanspruchung des Gewebes, wodurch Abwehrzellen und Entzündungsmediatoren aktiviert werden [54].

Mittels Computertomographie wurde bei Patienten der Anteil an gesundem Lungengewebe innerhalb einer ARDS-Lunge untersucht. Dieser entspricht etwa der Lunge eines 5- bis 6-jährigen Kindes und wird als „baby lung“ bezeichnet [55].

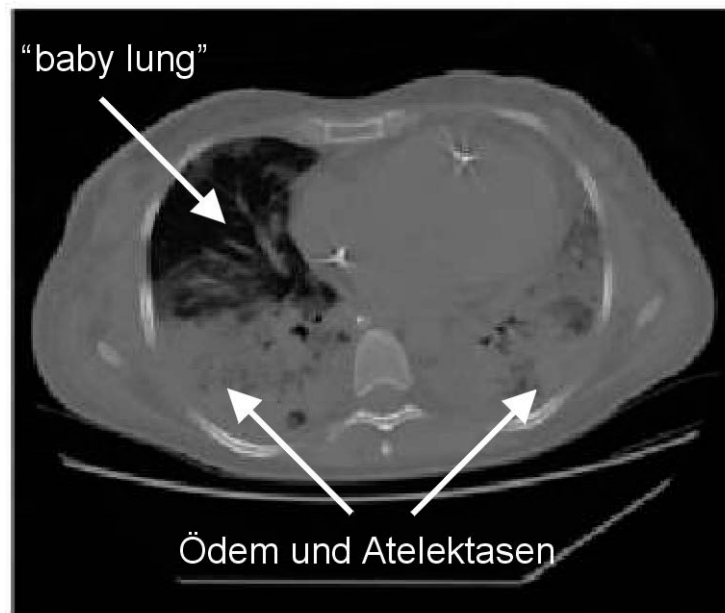


Abbildung 1.1: Auszug aus Gattinoni et al.: Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome [55].

Selbst bei geringen Tidalvolumina erfolgt eine bevorzugte Belüftung der gesunden Areale, neben einer Minderbelüftung der erkrankten. Hierdurch kommt es im Gebiet der „baby lung“ zu einer Überdehnung des Gewebes [52].

### *PEEP*

Bereits im Jahre 1974 konnten Webb et al., ebenfalls im Tiermodell, die entscheidende Rolle des PEEP in der Therapie des akuten Lungenschadens belegen. Der protektive Einfluss von PEEP auf die Entstehung von Atelektasen, Lungenödem und hyalinen Membranen wurde erkannt. Durch eine PEEP-Applikation können die Alveolen in der endexpiratorischen Phase stabilisiert werden. Hierdurch treten weniger Scherkräfte auf und die Surfactantfunktion wird weniger beeinträchtigt [56]. Zusätzlich wird die Oxygenierung verbessert. Zum Einfluss des PEEP auf Surfactant gibt es zwei Theorien. Erstens wird durch eine Änderung des Surfactantfilms aufgrund von

Oberflächenveränderungen aktives in inaktives Surfactant umgewandelt. Mit einer Erhöhung des PEEP ( $>10 \text{ cmH}_2\text{O}$ ) erreicht man eine signifikant geringere Umwandlungsrate [57]. Zweitens wird durch eine PEEP-Applikation der Verlust von Surfactant aus den Alveolen in die Atemwege vermindert [58]. Hierdurch erklärt sich die enorm wichtige Rolle von PEEP bei der Therapie des akuten Lungenversagens.

### *Lungenprotektive Beatmung*

Um die positiven Effekte einer PEEP-Applikation zu unterstützen und um ein Fortschreiten des Lungentraumas unter Beatmungstherapie zu minimieren hat man neuere Beatmungsstrategien entwickelt. Diese so genannte „lungenprotektive Beatmung“ verwendet niedrige Tidalvolumina von 4-6 ml/kg KG, um den endinspiratorischen Druck zu limitieren und eine alveoläre Überblähung zu verhindern. Zusätzlich wird ein erhöhter PEEP verwendet, um einen Alveolarkollaps zu verhindern und Scherkräfte zu reduzieren. Hierbei haben sich PEEP-Werte zwischen dem oberen und unteren Inflektionspunkt auf der Druck-Volumen-Kurve als vorteilhaft erwiesen. Drücke unterhalb des unteren Inflektionspunktes haben vermehrt Atelektasen zur Folge, Drücke oberhalb des oberen Inflektionspunktes führen zu Überdehnung der Lunge [59, 60].

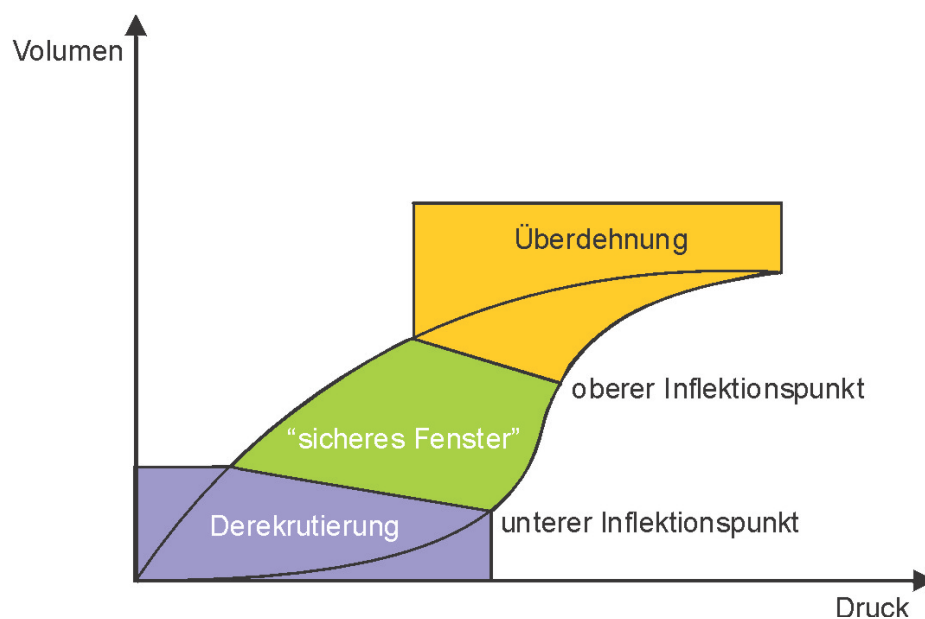


Abbildung 1.2: schematische Druck-Volumen-Beziehung der Lunge

Drücke, welche ein Tidalvolumen zwischen dem oberen und unteren Inflektionspunkt bedingen, werden als lungenprotektiv und optimal für die Oxygenierung angesehen [61, 62].

Erhöhte  $P_a\text{CO}_2$ -Werte (>45 bis 70 mmHg) und ein pH-Wert bis 7,2 werden akzeptiert [63]. Dies wird als permissive Hyperkapnie bezeichnet. Experimentell konnten diverse positive Effekte auf die Pathogenese eines ALI/ARDS gezeigt werden. Zu ihnen zählen eine verminderte Permeabilität der Lunge [64], sowie ein direkter Schutz gegen endotoxininduzierte Lungenschädigung [65]. Negative Einflüsse auf Oxygenierung, Lungenmechanik und Lungenpermeabilität, als Kriterien eines ALI, wurden ebenfalls abgemildert [66]. Weiterhin werden wichtige Komponenten der Entzündungsreaktion während eines ARDS beeinflusst. Unter permissiver Hyperkapnie kommt es in vitro zu einer Reduktion der Zytokinfreisetzung, wie beispielsweise TNF-alpha und IL-1 [67]. Durch den Einfluss auf die Chemotaxis konnte in vivo eine verminderte Rekrutierung von Neutrophilen Granulozyten beobachtet werden [68]. Freie Radikale und der durch sie induzierte Gewebeschaden werden vermindert [69].

Einschränkungen bei der Anwendung einer permissiven Hyperkapnie bestehen bei Patienten mit erhöhtem Hirndruck und erhöhtem pulmonalem Gefäßwiderstand.

Um die kollabierten Alveolen zu eröffnen, zeigten repetitive Rekrutierungsmanöver (RM) mittels eines Blähmanövers ebenfalls einen positiven Effekt [70-72]. Ein weiterer Vorteil dieser lungenprotektiven Beatmung ist die Reduktion der Freisetzung von Entzündungsmediatoren und damit einhergehend weniger Fälle von Multiorganversagen bei ARDS-Patienten [73, 74]. Außerdem führte dieses Beatmungsregime zu einer signifikanten Reduktion der Mortalität [63].

### *HFOV*

Die Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation (high frequency oscillatory ventilation, HFOV), wurde erstmals 1977 in der Neonatologie zur Therapie des „neonatal respiratory distress syndrome“ angewandt [75]. Hierbei wurden Tidalvolumina kleiner als der anatomische Totraum und Frequenzen zwischen 10 und 15 Hz



verwendet. In den letzten 10 Jahren wurde die HFO-Ventilation zunehmend beim ARDS untersucht und angewandt.

Die Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation generiert über einen hohen (bis zu 60 l/min) kontinuierlichen Gasfluss (Biasflow) einen kontinuierlichen positiven Atemwegsdruck (continuous positive airway pressure, CPAP). Dieser wird als „Super-CPAP“ bezeichnet. Der Biasflow reguliert das Lungenvolumen, indem ein kontinuierlicher Distensionsdruck (continuous distending pressure, CDP) erzeugt wird.

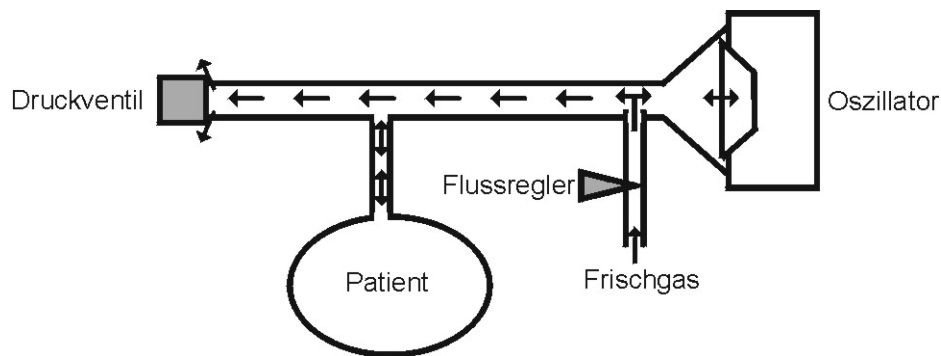


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung des Aufbaus und der Funktionsweise des Hochfrequenzoszillators (HFOV 3100 B, Viasys Healthcare, Höchberg, Deutschland).

Der Gasstrom wird mit Hilfe eines Oszillators in hochfrequente Schwingungen versetzt. Der Gasaustausch erfolgt in den zentralen Atemwegen und Lungenbereichen vorwiegend durch Konvektion. In den peripheren Lungenbereichen geschieht dies überwiegend durch molekulare Diffusion, kollaterale Ventilation und Pendelluftphänomene. Die eingestellte Druckamplitude entspricht dabei nicht den intrapulmonalen Drücken. Hierdurch können höhere Mitteldrücke bei gleichzeitig geringeren Spitzendrücken appliziert werden. Dies beruht auf der Dämpfung der Oszillationsamplitude, abhängig von der Lokalisation des Lungenbereichs, dessen Belüftungszustand und den vorherrschenden Strömungsverhältnissen [76].

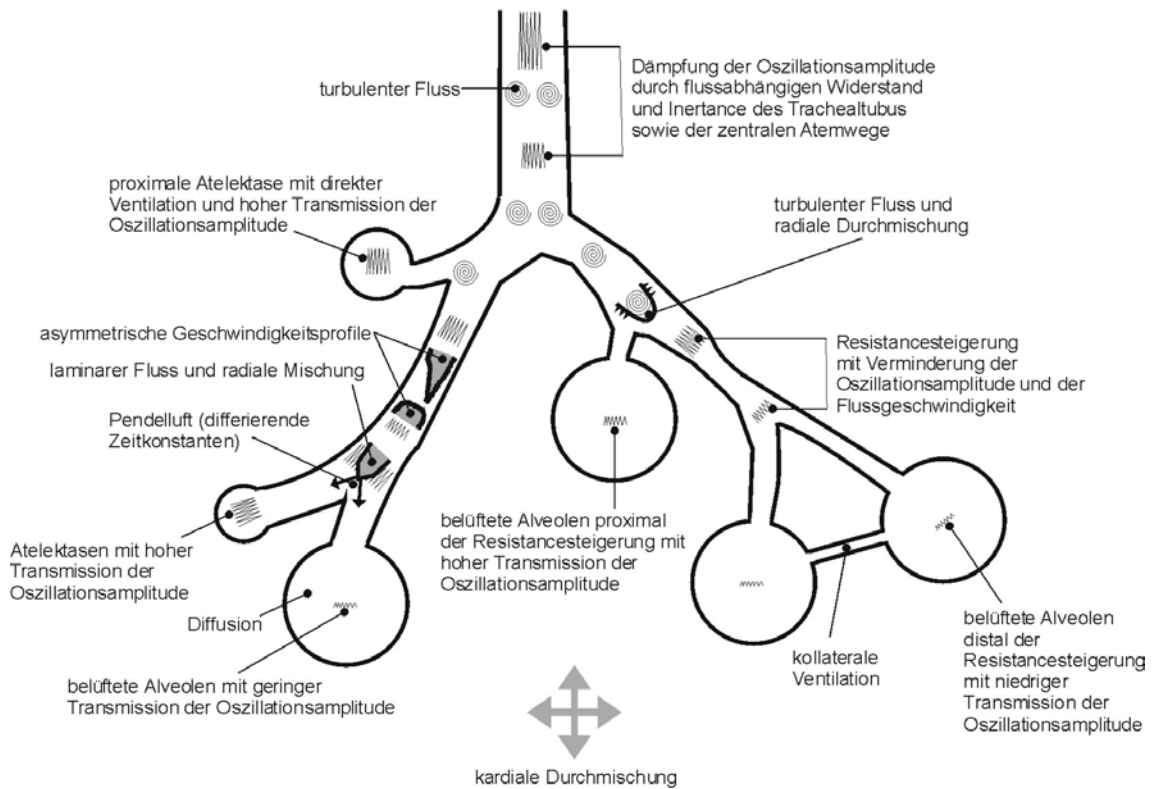


Abbildung 1.4: Derzeitige Arbeitshypothese der Gasaustauschmechanismen und Dämpfung der Oszillationsamplitude während der Hochfrequenz-Oszillationsventilation nach Slutsky et al. [76] und Chang [77].

Durch die Kolbenbewegungen des Oszillators wird eine aktive In- und Expiration generiert. Die aktive Expiration kann unter Umständen eine Überblähung vermindern. Das Ausmaß der Oszillationsbewegung entspricht der Druckamplitude ( $\Delta P$ ). Oszillation und CDP bestimmen den Atemwegsdruck ( $P_{aw}$ ). Durch diesen kontinuierlich applizierten Atemwegsdruck wird das Lungenvolumen ohne relevante Volumenexkursionen auf einem festgelegten Wert stabil gehalten [78, 79].

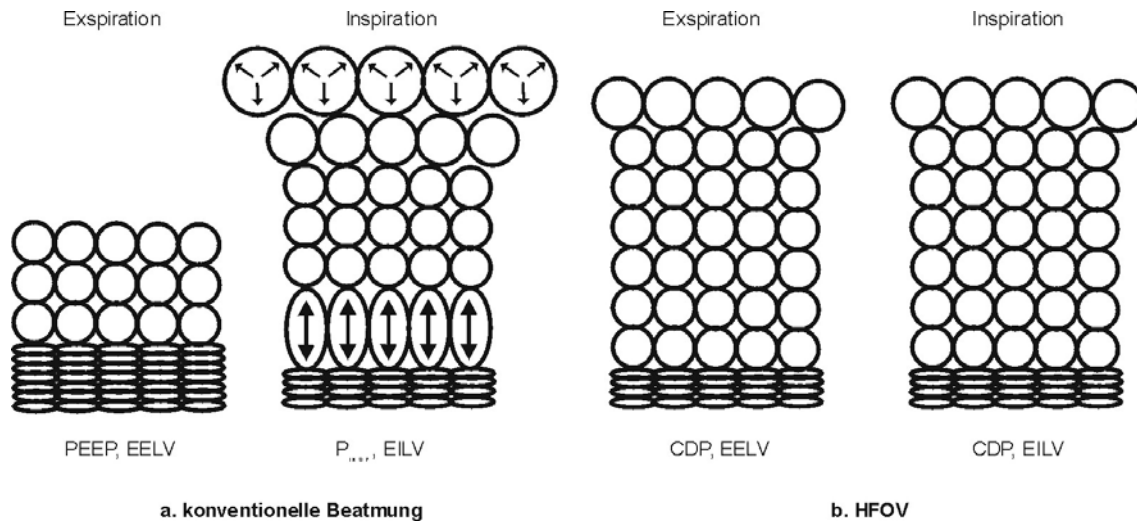


Abbildung 1.5: a.) Bei konventioneller Beatmung können durch die Druckdifferenz ( $P_{insp}$ -PEEP) und der Volumendifferenz (EILV-EELV) Barotrauma, Volutrauma und Atelektrauma entstehen. b.) Bei HFOV wird eine annähernd konstante Distension der Lunge erreicht (idealerweise EILV = EELV); CDP: „continuous distending pressure“; EELV: endexpiratorisches Lungenvolumen; EILV: endinspiratorisches Lungenvolumen [79].

Durch diese Mechanismen ist es unter HFOV möglich, Oxygenierung (CDP) und Ventilation (Delta P, Frequenz und I:E) weitgehend unabhängig voneinander zu regulieren.

Die bei der HFOV resultierende Rekrutierung des Lungengewebes, sowie die Reduktion des Tidalvolumens und der Scherkräfte könnten zu einer weiteren Lungenprotektion über das Maß der lungenprotektiven druckkontrollierten Beatmung hinaus führen.

Bislang konnte dies fast ausschließlich in der Neonatologie und im Kleintiermodell nachgewiesen werden. Hierbei wurde im Vergleich zur konventionellen Beatmung eine Reduktion des VILI, sowie der pulmonalen Entzündungsreaktion nachgewiesen [80-83]. Imai et al. konnten eine Überlegenheit der HFOV gegenüber der lungenprotektiven Beatmung im Kleintiermodell zeigen [81]. Dies beruht vermutlich auf der Tatsache, dass im Kleintiermodell unterschiedliche Oszillationsfrequenzen und Tubendurchmesser, sowie höhere Amplituden angewandt wurden [84-87].

Die Ergebnisse dieser Studien lassen eine erhöhte Lungenprotektion unter Anwendung der HFOV beim Erwachsenen erwarten, sind jedoch nicht direkt aus dem Kleintiermodell übertragbar. Die im Großtierversuch angewandten

geringeren Oszillationsfrequenzen (3-6 Hz) resultieren in Tidalvolumina die etwa denen der lungenprotektiven Beatmung entsprechen. Hierdurch werden die beschriebenen Vorteile der HFOV teilweise wieder aufgehoben [88]. In Anlehnung an Ergebnisse aus Kleintierstudien [89] könnte also das geringere Tidalvolumen bei höheren Oszillationsfrequenzen (~ 15 Hz) eine weitere VILI-Reduktion zur Folge haben. Beim Erwachsenen würde aufgrund der ungenügenden CO<sub>2</sub>-Elimination bei diesen Oszillationsfrequenzen jedoch eine schwere respiratorische Azidose resultieren [90]. Eine Kombination mit alternativen Therapieansätzen, wie der arteriovenösen extrakorporalen Lungenassistenz (av-ECLA), zum Zwecke der CO<sub>2</sub>-Elimination erscheint deshalb sinnvoll.

Trotz erhöhten Risikos für die Entwicklung eines Pneumothorax und der in der Literatur ungeklärten Auswirkungen auf die Hämodynamik [85, 91] gilt die Anwendung der HFOV als effektiv und sicher [92].

#### *Alternative Therapieansätze*

Eine weitere Alternative in der Therapie stellt die so genannte av-ECLA dar. Hierbei fungiert eine zwischen Femoralarterie und -vene angeschlossene heparinbeschichtete Membran als Ersatzlunge. Mit dieser Methode können im Tierexperiment 95 % des im Körper anfallenden CO<sub>2</sub> eliminiert werden [93, 94]. Jedoch erfolgt kaum eine arterielle Oxygenierung. Dies wird einerseits von der maximalen Flowrate des Systems, andererseits von der Sauerstoffbindungskapazität des arteriellen Blutes limitiert [95]. Somit erfolgt unter av-ECLA eine Entkopplung von Ventilation und Oxygenierung. Hierdurch können geringere Atemwegsmitteldrücke und Tidalvolumina appliziert werden. Reng et al. konnten dennoch bei aktuellen klinischen Beobachtungen einen Anstieg der Oxygenierung feststellen [96]. Auch konnten Brederlau et al. den positiven Effekt einer Kombination von av-ECLA und HFOV zeigen. Bei diesen Versuchen konnte, bei vergleichbaren PaO<sub>2</sub>-Werten unter alleiniger HFOV, mit einer verringerten Beatmungsdruckamplitude Normokapnie erreicht werden [97].

Die Kombination der HFOV mit der Bauchlage (prone position) des Patienten stellt eine weitere Therapieoption dar. In Bauchlage trat bei 70-80% der ARDS Patienten ein Anstieg des  $\text{PaO}_2$  ein [98, 99]. Wenn es gleichzeitig zu einer Senkung des  $\text{PaCO}_2$  kam, wurde eine signifikante Senkung der Mortalität verzeichnet [100]. In Bezug auf die Oxygenierung zeigen Bauchlage und PEEP-Beatmung einen additiven Effekt [101]. Brederlau et al. zeigten folgende Vorteile der Kombination aus Bauchlage und HFOV bei ARDS, verglichen mit Rückenlage: Anstieg der Oxygenierung und signifikante Reduktion des pulmonalen Shunts bei niedrigeren Mitteldrücken. Somit führt die Bauchlage zu einer Verbesserung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses [102].

#### *Woran sterben ARDS-Patienten?*

Die Mehrzahl der ARDS-Patienten verstirbt nicht an einer Hypoxämie, sondern am sich oft im weiteren Verlauf entwickelnden Multiorganversagen. Ursächlich hierfür ist die der Lungenschädigung folgende systemische Entzündungsreaktion [73, 103, 104]. Je nach Auslöser beschränkt sich die Entzündungsreaktion zunächst auf das Kompartiment der Lunge. Sie kann sich jedoch durch das entstehende kapilläre Leck systemisch ausbreiten. Die in der Therapie angewandte maschinelle Beatmung kann sowohl die pulmonale Entzündungsreaktion aggravieren, wie auch durch die beschriebenen mechanischen Einflüsse auf das Lungengewebe das kapilläre Leck vergrößern (VILI). Es kommt zu erhöhten Interleukinspiegeln im Serum und in der BAL. Hierfür scheint eine Vorschädigung der Lunge obligat [105]. Die Höhe der Spiegel an pulmonalen Entzündungsmediatoren korreliert mit der Mortalität der Patienten [106]. Zusätzlich zeigten Headly et al. einen Zusammenhang zwischen der Höhe und der Dauer der Entzündungsreaktion und dem Überleben eines ARDS, unabhängig von dessen Auslöser [107]. Um diese Effekte zu minimieren wird in der aktuellen Therapie eine lungenprotektive Beatmung appliziert. Hierunter konnten positive Effekte auf die Freisetzung von Entzündungsmediatoren gezeigt werden [108].

### 1.5 Hypothese

Mit der vorliegenden Studie sollte am Großtiermodell folgende Hypothese untersucht werden:

Die Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation (HFOV) reduziert, im Gegensatz zur druckkontrollierten Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina (6 ml/kg KG), die beatmungsinduzierte Lungenschädigung sowie das Lungenbiotrauma in einem Langzeitmodell des akuten Lungenversagens (ARDS) an adulten Schweinen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Bei dem hier beschriebenen Versuch wurden 16 weibliche adulte Schweine mit einem Gewicht von  $55,3 \pm 3,9$  kg (MW  $\pm$  SD) behandelt. Der Antrag für diesen Tierversuch wurde nach § 8 Abs.1 des Tierschutzgesetzes von der Regierung Unterfrankens vorab genehmigt.

### 2.2 Versuchstierpräparation

Zur Prämedikation wurde den Tieren 1 mg/kg KG Stressnil, 1-2 mg/kg KG Ketamin (Ketanest<sup>®</sup>S) und 25 µg/kg KG Atropin intramuskulär injiziert. Nach Anlage einer peripheren 22 G Verweilkanüle (Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden) in eine Ohrvene wurde die Narkose mit 5-10 mg/kg KG Thiopental (Trapanal<sup>®</sup>) sowie 5 µg/kg KG Fentanyl induziert. Danach wurden die Tiere mit einem 8,5 mm Tubus (Rüsch AG, Kernen, Deutschland) orotracheal intubiert. Die Narkose wurde durch kontinuierliche Infusion von 5-10 mg/kg KG/h Thiopental (Trapanal<sup>®</sup>), 0,01 mg/kg KG/h Fentanyl und 0,1 mg/kg/h Pancuronium zur Muskelrelaxation mittels Perfusor (Injectomat c-IS Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) aufrecht erhalten. Des Weiteren wurden 4-5 ml/kg KG/h Sterofundin zur Flüssigkeitssubstitution und 25000 IE Heparin über 24h zur Thromboseprophylaxe appliziert.

Es wurde eine druckkontrollierte Beatmung (PCV) mittels Respirator (Servo 900 C Siemens Elema, Solna, Schweden) mit folgenden Parametern durchgeführt:

F <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	1,0
Verhältnis Inspirations-Expirations-Dauer (I:E)	1:1
PEEP	5 cmH <sub>2</sub> O
Atemfrequenz (AF)	30/min
PIP entsprechend dem Atemzugvolumen (AZV = 6 ml/kg KG)	

Allen Tieren wurden 2g Basocef als Antibiotikaprophylaxe im 8 stündlichen Rhythmus intravenös verabreicht.

Vor Beginn der Lungenschädigung wurden die Ausgangswerte (Baseline) für Blutgase, Kreislauf- und Beatmungsparameter erhoben.

### 2.3 Beatmung und Induktion des Lungenversagens

Das Lungenversagen wurde durch wiederholte bronchoalveoläre Lavage [109] mit 0,9 %iger, 37 °C warmer Kochsalzlösung induziert. Hierdurch wurde das Surfactant ausgewaschen und eine Reduktion des Gasaustausches herbeigeführt. Es wurden 30 ml/kg KG isotonische Kochsalzlösung intrapulmonal über den Tubus infundiert, für 30 Sekunden belassen und anschließend abgeleitet. Anschließend wurde der Tubus mit dem Respirator rekonnektiert. Zur Induktion des Lungenversagens wurden im Durchschnitt  $20 \pm 4$  Lavagen benötigt. Bei Induktion der Lungenschädigung wurden folgende Beatmungsparameter gewählt:  $F_iO_2$  1,0; PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O. Der durch die Lavage bedingte Surfactantverlust führte zu einer Verminderung der Lungendehnbarkeit (Compliance), so dass der Beatmungsspitzenruck permanent angepasst werden musste, um ein Atemzugvolumen (AZV) von 6 ml/kg zu gewährleisten. Die Frequenz wurde auf 30/min festgelegt und das Verhältnis von Inspiration zu Expiration (I:E) betrug 1:1.

Die bronchoalveoläre Lavage wurde bis zu einem für eine Stunde stabilen arteriellen Sauerstoffpartialdruck (PaO<sub>2</sub>) von kleiner 100 mmHg wiederholt. Dieser Zeitpunkt wurde als T<sub>ARDS</sub> bezeichnet. Anschließend erfolgte die Messung und Dokumentation der Blutgase, sowie der Beatmungs- und Kreislaufparameter.



## 2.4 Experimentelles Protokoll

Nach Induktion des Lungenversagens wurden die Tiere randomisiert und den folgenden Gruppen zugeteilt:

HFOV-Gruppe: Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation mittels Hochfrequenz Oszillationsbeatmungsgerät 3100 B (Viasys, Höchberg, Deutschland)

PCV-Gruppe: Druckkontrollierte Beatmung mittels Servo 900 C mit niedrigem Tidalvolumen (6 ml/kg KG).

Die Versuchsdauer betrug 24 Stunden. Die Hämodynamik- und Beatmungsparameter wurden stündlich erhoben. Zur übersichtlicheren Darstellung der Ergebnisse wurden die Messzeitpunkte Postrekrutment (PRM), 6, 12, 18 und 24 Stunden verwendet.

Nach Induktion des Lungenversagens wurde ein Rekrutierungsmanöver für beide Gruppen (HFOV/PCV) nach folgendem Prozedere durchgeführt:

Zu Beginn wurde unter HFOV der mittlere Beatmungsdruck (mPaw) auf 50 cmH<sub>2</sub>O angehoben und die Oszillation unterbrochen. Anschließend wurde ein 3 cmH<sub>2</sub>O höherer mPaw als bei Induktion des Lungenversagens gewählt. Es folgte eine schrittweise Erhöhung um 3 cmH<sub>2</sub>O alle 15 Minuten, bis ein konstanter PaO<sub>2</sub> erreicht wurde bzw. ein Abfallen zu verzeichnen war. Dies wurde als vollständige Eröffnung der Lunge bzw. Beginn einer Überblähung angesehen. Daraufhin wurde die FiO<sub>2</sub> auf 0,4 reduziert. Anschließend erfolgte eine stufenweise Senkung des mPaw um jeweils 3 cmH<sub>2</sub>O mit einer Stabilisierungsphase von 15 Minuten, bis der Zielwert von 90-110 mmHg für den PaO<sub>2</sub> erreicht wurde. Die Amplitudeneinstellung erfolgte nach einem PaCO<sub>2</sub>-Zielwert von 35-55 mmHg. Folgende weitere Parameter wurden verwendet: I:E = 1:1, ΔP 60 cm H<sub>2</sub>O und Frequenz (f) = 6 Hz.

Bei gleichen PaO<sub>2</sub>- und PaCO<sub>2</sub>-Zielwerten erfolgte die Rekrutierung der Lunge unter PCV durch einen PEEP von 50 cmH<sub>2</sub>O, welcher expiratorisch für 60 Sekunden gehalten wurde. Das Tidalvolumen (V<sub>t</sub>) wurde anschließend auf 6 ml/kg KG, das I:E-Verhältnis auf 1:1 eingestellt. Es folgte die schrittweise

Erhöhung des PEEP um 3 cmH<sub>2</sub>O, bis der PaO<sub>2</sub> konstant blieb bzw. abfiel. Nach dem Rekrutierungsmanöver wurde zunächst die FiO<sub>2</sub> auf 0,4 abgesenkt und dann der PEEP schrittweise reduziert.

## 2.5 Versuchsende

Nach Ablauf der 24 Stunden wurden die Tiere mittels intravenöser Gabe von T61 (Embutramid, Mebezonium und Tetracain) und einer zusätzlichen Überdosis Thiopental (Trapanal®) und Fentanyl getötet.

## 2.6 Mikroskopische Auswertung der bronchoalveolären Lavage (BAL)

Das BAL-Material wurde vor Induktion des Lungenschadens und am Versuchsende mit Hilfe eines BF 2 Type 3C20 Bronchoskop (Olympus, Hamburg, Deutschland) gewonnen. Hierzu wurde viermal mit jeweils 25 ml NaCl 0,9 % gespült und das abgesaugte Recovery bestimmt. Dieses wurde in Polypropylenröhrchen gesammelt und auf Eis gelagert.

### *Zellzählung*

Die Zellzählung erfolgte mittels Fuchs-Rosenthal-Kammer unter dem Leica Wilozyt Mikroskop (Leica, Solms, Deutschland), wobei die Gesamtzellzahl pro Milliliter ermittelt wurde.

Zusätzlich wurde die Epithelzahl mittels des Quotienten aus 100 gezählten Zellen und den darin enthaltenen Epithelien in Prozent ermittelt.

### *Vitalitätsprüfung*

Eine Vitalitätsprüfung der Zellen wurde mittels Erythrosin B (0,4 %ig) durchgeführt.

### *Zytopräparate und Hematoxylin und Eosin (HE)- Färbung*

Vorbereitend wurde die BAL für 10 Minuten bei 3500 Umdrehungen pro Minute (U/min) mit der Hettich Universal 30 RF Zentrifuge (Hettich, Tuttlingen, Deutschland) bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde, bis auf 5 ml, abpipettiert und für die ELISA-Messungen bei -80 °C gelagert. Mit den verbleibenden 5 ml wurde das Zellpellet resuspendiert. Jeweils 100-150 µl dieser Lösung wurden mittels Cytospin in der Heraeus Christ Zentrifuge (Heraeus, Hanau, Deutschland) auf Objektträger überführt und getrocknet. Eine HE-Färbung (Hämalaun) wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

2-5 min	Hämalaunbad
20 min	Nachbläuen in verdünnten Hämalaun 1:10 mit Aqua destillatum, anschließend mit Aqua destillatum waschen
1 min	Eosinbad
5 min	Aqua destillatum-Bad Bad in aufsteigender alkoholische Reihe (50, 70, 90 und 100 %) Eindeckeln der Objektträger mit xylohaltigem Vitro-Clud® (Langenbrick, Deutschland)

Die Zelldifferenzierung erfolge durch Auszählung von mindestens 400 Zellen bei 100-facher Öl-Vergrößerung unter dem Leica Wilozyt Mikroskop. Es wurden Alveolarmakrophagen (AM), pigmentkernige neutrophile Granulozyten (PMN) und Lymphozyten (LY) als Absolutwerte in der BAL bestimmt.

### 2.7 Quantifizierung der Zytokinproduktion mittels enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) aus der BAL und dem Serum

Zur Bestimmung von IL-1-beta, IL-6, IL-10 sowie TNF-alpha in Zellüberständen nach Zentrifugation der bronchoalveolären Lavage, sowie aus dem Serum, wurden Quantikine®-porcine-ELISA-Kits (R&D Systems GmbH, Wiesbaden, Deutschland) nach Herstellervorschrift verwendet. Es wurden 96-Loch-Mikrotiterplatten benutzt. In jedes Well wurden 50 µl des Assay Diluent RD1-63 (Puffer) pipettiert. Anschließend wurden 50 µl Standard (Messbereich von 0 pg/ml bis 1500 pg/ml), Kontrolle bzw. Probe dazugegeben. Die Mikrotiterplatte wurde für eine Minute vorsichtig geschüttelt und darauf hin abgedeckt und für

zwei Stunden bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Nach der Inkubation wurde jedes Well durch Aspiration der Lösung und anschließendem Einfüllen von 400 µl Waschpuffer fünfmal gewaschen und auf Einmaltüchern trocken geklopft. Danach wurden 200 µl des jeweiligen Schweineantikörpers (IL-1-beta, IL-6, IL-10 sowie TNF-alpha) dazugegeben, die Mikrotiterplatte verschlossen und für zwei Stunden bei RT inkubiert. Es folgte eine Wiederholung des Waschvorgangs. 100 µl Substratlösung (Farbreagenz A und B im Verhältnis 1:1) wurden zugegeben und für 30 Minuten lichtgeschützt bei RT inkubiert. Im Anschluss wurde die Reaktion mit 100 µl Stopplösung beendet. Die Messung der Lösungen erfolgte im ASYS UVM 340 ELISA Reader (ASYS HITECH GmbH, Eugendorf, Österreich) bei einer Wellenlänge von 450 und 570 nm. Für die Auswertung wurden die Messergebnisse bei 570 nm von denen bei 450 nm abgezogen um Schwankungen der optischen Messung auszugleichen. Anhand der Standards konnte eine Eichkurve für die Ergebnisbestimmung erstellt werden.

## 2.8 Messung der Aktivierung der Proteinbiosynthese mittels mRNA-Expression aus dem Lungengewebe

### *Materialgewinnung*

Nach der Tötung wurde den Tieren unter sterilen Bedingungen mit einem Skalpell (10er Klinge) Lungengewebe aus dem linken basalen Unterlappen entnommen. Die Proben wurden in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80 °C in Kryoröhrchen aufbewahrt. Während der Entnahme der Lungenbiopsien wurde darauf geachtet, dass das Gewebe durch die notwendigen Instrumente nicht unnötig komprimiert oder beschädigt wurde.

### *Isolierung der mRNA aus dem Lungengewebe*

Die Isolierung der mRNA erfolgte mittels des Promega<sup>®</sup> SV Total RNA Isolation System Kits (Promega, Madison, USA) nach Herstellervorschrift.

Das bei -80 °C gelagerte Lungengewebe wurde mit Mörser und Pistill im Stickstoffbad pulverisiert. Anschließend erfolgte die Homogenisierung des entstandenen Pulvers mit 4 ml RNA Lysis Buffer mit Hilfe des Ultra Turrax IKA T18 Basic (IKA Works Inc., Wilmington, USA). Dieser Suspension wurden 2 ml RNA Dilution Buffer (RDA, blue) unter Mischen zugefügt. Die Probe wurde 10 Minuten bei RT mit 14000 U/min zentrifugiert. Es folgte die Überführung des Überstandes in ein steriles Eppendorf Reaktionsgefäß und die Vermischung mit 2 ml Ethanol 95 %. Die Lösung wurde mehrmals über eine Säule mit Glasfaserfilter („Spin Basket Assembly“) gegeben und jeweils für eine Minute bei 14000 U/min zentrifugiert. Zwischen den Durchläufen wurde die Lösung in den Sammelgefäßen unter den Säulen verworfen, bis die gesamten 8 ml Suspension über die Säulen gelaufen waren. Anschließend wurde die Säule mit 600 µl RNA Wash Solution (RWA) für eine Minute bei 14000 U/min gewaschen. Der DNA-Verdau mit DNase I wurde auf der Säule („on column“) durchgeführt. Hierfür wurden pro Probe 50 µl des Gemischs aus 40 µl Yellow Core Buffer, 5 µl MnCl<sup>2</sup> 0,09 M und 5 µl DNase I direkt auf die Säule pipettiert und für 15 Minuten bei 15-20 °C inkubiert. Anschließend wurden 200 µl DNase Stop Solution (DSA) zugefügt und bei 14000 U/min für eine Minute zentrifugiert. Es folgten zwei Waschschriffe unter Verwendung von 600 µl RWA für den ersten und 250 µl RWA für den zweiten. Beim ersten Waschschriff wurde für eine Minute und beim zweiten für zwei Minuten bei 14000 U/min zentrifugiert. Die Säulen wurden in ein steriles Eppendorf Reaktionsgefäß überführt und die Lösung verworfen. Die Elution der mRNA erfolgte mit 100 µl Nuclease-Free Water. Die mRNA-Lösung wurde bei -80 °C gelagert.

### *mRNA-Qualitätskontrolle*

Die Kontrolle der isolierten mRNA erfolgt mittels Gelelektrophorese. Gelplatte, Gelkammer und Kämme wurden für 12 Stunden in 1 % SDS (Natriumdodecylsulfat) eingelegt und anschließend mit Aqua destillatum

gewaschen. Für die Trennung der mRNA wurde ein 1 %iges Agarosegel verwendet. Hierfür wurde Agarose (SERVA Electrophoresis, Heidelberg, Deutschland) in 1x MOPS-Puffer (4-Morpholinopropansulfonsäure) durch Aufkochen gelöst. 10 % Formaldehyd (Sigma, Rödermark, Deutschland) wurde zugegeben, woraufhin man das Gel aushärten ließ. Die mRNA-Proben wurden nach folgendem Schema vorbereitet:

RNA Ladepuffer (Sigma, Deutschland)	17 µl
Ethidiumbromid [1 mg/ml]	1 µl
RNA-Template [1 µl], tierspezifisch	1,86 – 10,42 µl*
Aqua RNase free., tierspezifisch	1,28 – 8,97 µl*

\* Mit dem Ultrospec 3000 (Buckinghamshire, England) wurde die photometrische Extinktion gemessen und abhängig davon das Gesamtvolumen auf 5 bzw. 13 µl angeglichen.

Die Lösung wurde im Thermomixer Comfort (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) auf 60-65 °C erhitzt und anschließend auf Eis abgekühlt. Nach elektrophoretischer Trennung für 60 Minuten bei 140 Volt erfolgte mit Hilfe der BioDocAnalysis<sup>®</sup>-Software (Biometra, Göttingen, Deutschland) die Auswertung mittels Digitalkamera. Hierzu wurde das Gel unter UV-Licht (254 nm) fotografiert. Die 28S und 18S Banden bestätigten die Reinheit der mRNA.

#### *Zusammensetzung der verwendeten Chemikalien*

10x MOPS Puffer:

92,52 g MOPS (4-Morpholinopropansulfonsäure)
8,2 g Natriumacetat
20 ml 0,5 M

Für den Gebrauch wurde ein Mischungsverhältnis von 1:10 mit Aqua destillatum verwendet.

Die verwendete Ethidiumbromidstammlösung (1 mg/ml) wurde in Aqua destillatum gelöst und lichtgeschützt bei 4 °C aufbewahrt.

### *Umschreiben von mRNA in cDNA*

Die Umschreibung erfolgte mit dem RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland) nach Herstellervorschrift.

Es wurde folgender Ansatz verwendet:

RNA-Template	RNA total (tierspezifisch)	10 ng – 5 µg
Primer	Random hexamer primer (0,2 µg/ µl)	1 µl
Lösungsmittel	Diethylpyrocarbonat (DEPC) behandeltes Wasser	bis 12 µl Gesamtvolumen

Die Lösung wurde bei 70 °C für 5 min inkubiert, anschließend für 5 bis 10 min auf Eis abgekühlt und im Impulsmodus vorsichtig zentrifugiert. Lagerung der Probe auf Eis und Zugabe folgender Reagenzien:

5X reaction buffer	4 µl
RiboLock™ Ribonuclease inhibitor (20 u/µl)	1 µl
10 mM dNTP mix	2 µl

Die Probe wurde vorsichtig gemischt und erneut im Impulsmodus zentrifugiert. Anschließend wurde sie bei 25 °C für 5 min inkubiert. Daraufhin wurde 1 µl RevertAid™ H Minus M-MuLV RT (200 u/µl) hinzugefügt. Das endgültige Volumen betrug 20 µl. Diese Mischung wurde für 10 min auf 25 °C erhitzt und anschließend für 60 min bei 42 °C inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurde die Reaktion mit einer Temperatur von 70 °C für 10 min gestoppt. Die cDNA-Proben wurden bei -20 °C gelagert.

### *Spezifische Amplifikation von exprimierten Genen mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)*

Die Polymerase-Ketten-Reaktion („polymerase chain reaction“, PCR) wurde im PCR-Gerät Biometra T3000 Thermocycler (Biometra, Göttingen, Deutschland) durchgeführt. Der Denaturierung bei 95 °C folgte die Primeranlagerung (Sigma-Genosys, München, Deutschland) bei 58 °C. Anschließend synthetisierte die Taq-Polymerase (aus dem thermophilen Bakterium *Thermophilus aquaticus*), bei einem Temperaturoptimum von 72 °C, in Anwesenheit von

Desoxyribonukleotidtriphosphaten (dNTPs), die komplementären DNA-Stränge. Zum Vergleich der Expressionsstärke wurde das Housekeeping-Gen  $\beta$ -actin in parallelen Ansätzen amplifiziert. Der PCR-Ansatz, das PCR-Schema, sowie die Sequenzen und Größenangaben der verwendeten Primer werden im Folgenden aufgeführt.

PCR-Ansatz:

7,5 $\mu$ l	H <sub>2</sub> O Nuclease-Free
1 $\mu$ l	10 pmol* F <sub>P</sub> (= forward/downstream primer)
1 $\mu$ l	10 pmol* R <sub>P</sub> (= reverse/upstream primer)
3-5 $\mu$ l	cDNA-Template
12,5 $\mu$ l	PCR MasterMix

\*für das Housekeeping-Gen  $\beta$ -actin wurden 8 pmol Primer eingesetzt

PCR-Schema:

Schritt	Temperatur	Zeit
Denaturierung	95 °C	30 sec
Annealing	58 °C	30 sec
Elongation	72 °C	60 sec
finale Elongation	72 °C	5 min
	4 °C	$\infty$

Spezifische Primer für die RT-PCR:

Primer	Forward 5'--3'	Reverse 5'--3'	bp	Zyklen
<u>TNF-alpha</u>	CCC CTG TCC ATC CCT TTA TT	AAG CCC CAG TTC CAA TTC TT	199	35
<u>IL-1-beta</u>	GGG CTT TTG TTC TGC TTG AG	TTG TGC AAG GAG ATG ACA GC	256	32
<u>IL-6</u>	GTG GTG GCT TTG TCT GGA TT	AGC AAG GAG GTA CTG GCA GA	257	32
<u>IL-10</u>	GCT GGA GGA CTT TAA GGG TTA CC	ATA TCC TCC CCA TCA CTC TCT GC	105	35
<u><math>\beta</math>-actin</u>	TCA TCA CCA TCG GCA ACG	TTC CTG ATG TCC ACG TCG C	133	22

Tabelle 2.1: Liste der verwendeten Primer für die Reverse Transkriptase PCR (RT-PCR) mit Angabe der Syntheserichtung und Produktgröße (bp = Basenpaare). Die T<sub>a</sub> [°C] (optimale Annealing-Temperatur) betrug bei allen verwendeten Primern 58 °C. TNF-alpha: Tumornekrosefaktor  $\alpha$ ; IL: Interleukin.

### Nicht-denaturierende Agarose-Gelelektrophorese

Die Trennung der linearen DNA-Moleküle nach ihrer Größe erfolgte mittels Agarose-Gelelektrophorese, für welche 1 %ige Agarosegele hergestellt wurden.



Hierzu wurde Agarose in 1x TBE-Puffer durch Aufkochen gelöst. Nach leichtem Abkühlen wurden 30 µl Ethidiumbromid [1 µg/µl] pro 50 ml Puffer zugesetzt und gewartet, bis das Gel ausgehärtet war. Die DNA-Proben wurden mit 3 µl 10x BlueJuice™ Gel Loading Buffer (Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland) vermischt und in die Kammern des Gels pipettiert. Nach 60 Minuten Laufzeit bei 100 Volt konnten die Nukleinsäuren unter UV-Licht (254nm), durch die Fluoreszenz des eingelagerten Ethidiumbromids, sichtbar gemacht werden. Die Auswertung erfolgte mittels Digitalkamera mit Hilfe der BioDocAnalysis®-Software.

*Zusammensetzung der verwendeten Chemikalien:*

10x TBE Puffer:

---

1,0 M Tris (2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol)  
0,9 M Borsäure (Boric acid)  
0,01 M EDTA (Ethyldiamintetraacetat)  
8,4 pH

---

Für den Gebrauch wurde ein Mischungsverhältnis von 1:10 mit Aqua destillatum verwendet.

10x BlueJuice™ Gel Loading Buffer:

---

65 % (w/v) Saccharose  
10 mM Tris-HCl (pH 7.5)  
10 mM EDTA  
0.3 % (w/v) Bromphenolblau

---

Kontrolle:

0,5 µg/µl GeneRuler™ 1 kb DNA ladder

## 2.9 Statistik

Für die Datenanalyse wurde der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bestimmt. Die Beurteilung der statistischen Differenzen erfolgte durch die Zwei-Weg ANOVA (analysis of variance) mit dem Student-Newman-Keul's Test. Die Ergebnisse der mRNA-Daten wurden als Median und 25 %/75 % Quartilen angegeben. Für die Analyse der statistischen Differenzen wurde der Mann-Whitney-U und Wilcoxon-Rangsummen-Test herangezogen. Ergebnisse mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $<5\%$  ( $p < 0,05$ ) wurden als signifikant angenommen. Alle statistischen Berechnungen wurden mit dem Statistikprogramm SigmaStat (Systat Software Inc., Point Richmond, USA) durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

Die Untersuchungsgruppen wiesen keinen Unterschied in Alter und Gewicht auf. Unter kontinuierlicher Überwachung der Vitalparameter waren die Tiere während der kompletten Versuchsdauer kreislaufstabil. Nach der bronchoalveolären Lavage mit Kochsalzlösung entwickelten alle Tiere ein schweres Lungenversagen (Tab. 3.1;  $p < 0,01$ ). In der HFOV-Gruppe verstarb ein Tier nach 16 Stunden, in der PCV-Gruppe nach 18 Stunden, aufgrund von Luftembolien durch defekte Swan-Ganz-Katheter. Beide Tiere wurden aus der Wertung genommen und ersetzt.

Alle Messergebnisse sind im Folgenden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben.

#### 3.1 Gasaustausch und Beatmungsparameter

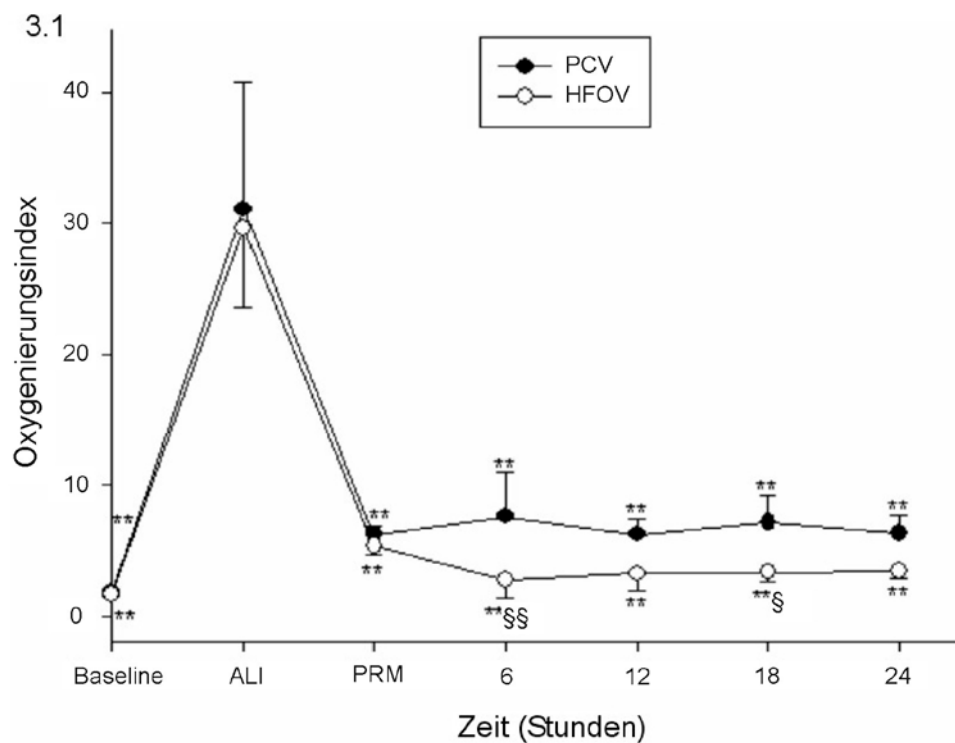
Die Parameter von Gasaustausch und Beatmung sind in folgender Tabelle (3.1) dargestellt.

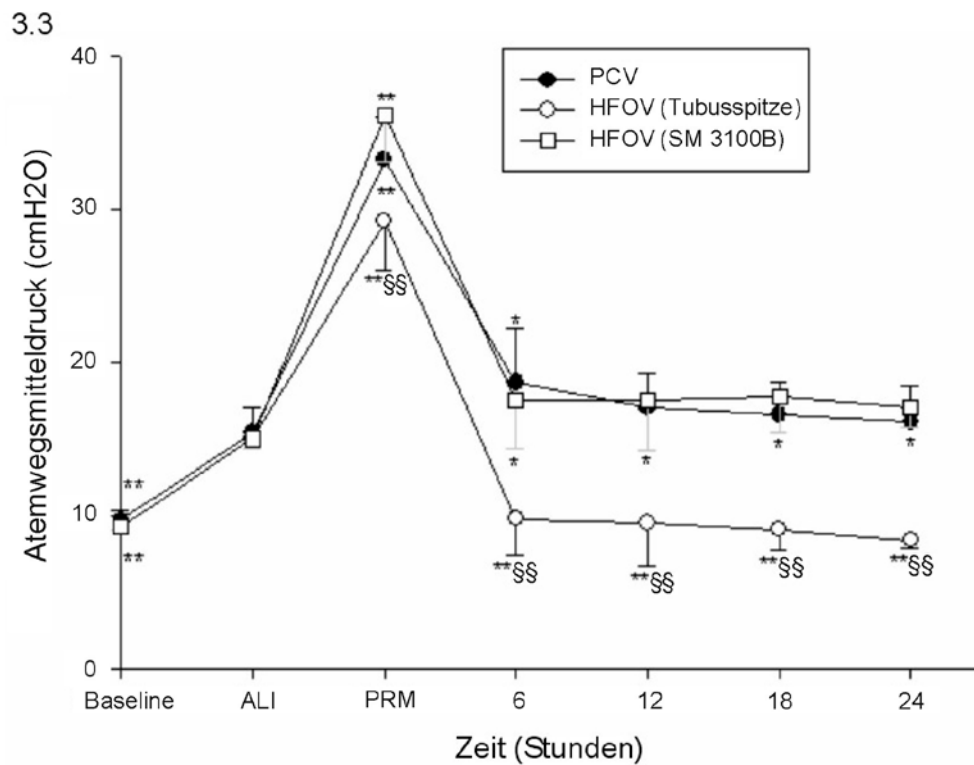
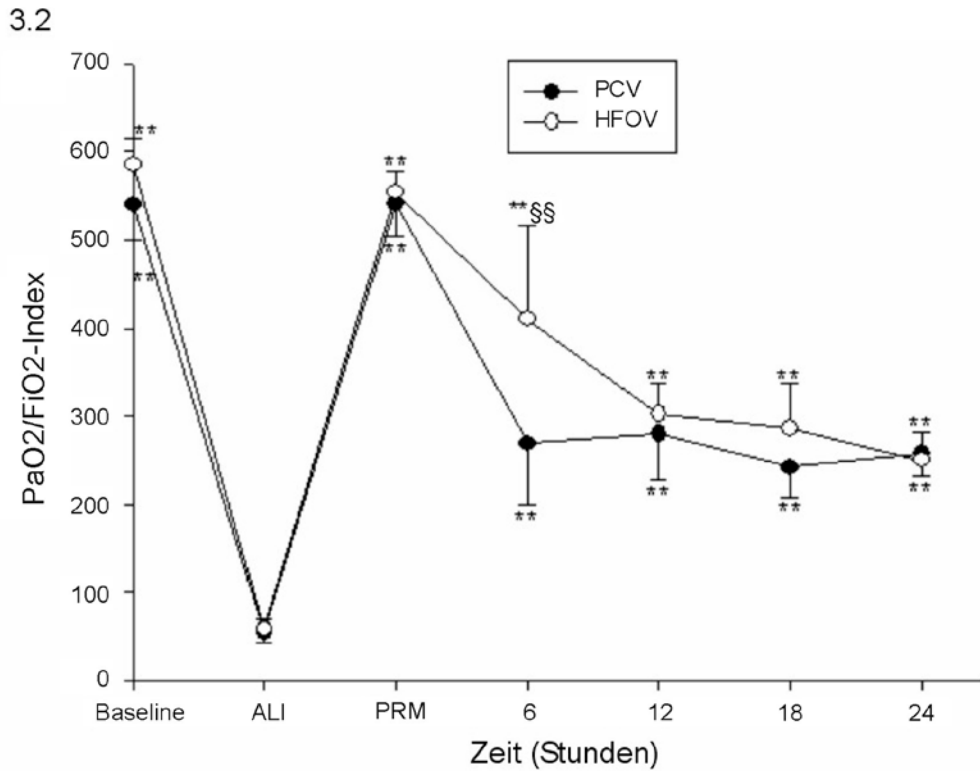
Parameter	Gruppen	Baseline	ALI	PRM	6 Std.	12 Std.	18 Std.	24 Std.
PIP (cmH <sub>2</sub> O)	PCV	14.5 $\pm$ 1.1**	25.2 $\pm$ 2.9	41.0 $\pm$ 3.9**	25.7 $\pm$ 3.5	24.5 $\pm$ 2.7	24.3 $\pm$ 3.3	23.7 $\pm$ 3.7
	HFOV	13.6 $\pm$ 1.3**	24.4 $\pm$ 1.6	31.2 $\pm$ 3.2**§§	11.8 $\pm$ 2.4**§§	11.5 $\pm$ 2.8**§§	11.1 $\pm$ 1.4**§§	10.4 $\pm$ 0.5**§§
RR/min	PCV	30 $\pm$ 0	30 $\pm$ 0	34 $\pm$ 4	34 $\pm$ 4**	34 $\pm$ 4**	34 $\pm$ 4**	36 $\pm$ 4**
	HFOV	30 $\pm$ 0	30 $\pm$ 0	360 $\pm$ 0**§§	360 $\pm$ 0**§§	360 $\pm$ 0**§§	360 $\pm$ 0**§§	360 $\pm$ 0**§§
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	PCV	40 $\pm$ 4**	60 $\pm$ 14	57 $\pm$ 13	55 $\pm$ 15	51 $\pm$ 11	53 $\pm$ 12	52 $\pm$ 13
	HFOV	40 $\pm$ 8**	52 $\pm$ 10	45 $\pm$ 6§	38 $\pm$ 5**§	51 $\pm$ 7	53 $\pm$ 7	56 $\pm$ 10
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	PCV	539 $\pm$ 42**	55 $\pm$ 12	540 $\pm$ 36**	115 $\pm$ 26**	112 $\pm$ 22**	99 $\pm$ 11**	105 $\pm$ 8**
	HFOV	586 $\pm$ 34**§§	59 $\pm$ 12	554 $\pm$ 25**	156 $\pm$ 45**§	121 $\pm$ 15**	114 $\pm$ 22**	100 $\pm$ 14**
SaO <sub>2</sub> (%)	PCV	100 $\pm$ 0**	82 $\pm$ 14	100 $\pm$ 0**	98 $\pm$ 1**	98 $\pm$ 1**	97 $\pm$ 1**	98 $\pm$ 1**
	HFOV	100 $\pm$ 0**	88 $\pm$ 5§§	100 $\pm$ 0**	99 $\pm$ 1**	98 $\pm$ 1**	98 $\pm$ 1**	97 $\pm$ 1**
SvO <sub>2</sub> (%)	PCV	84 $\pm$ 6**	59 $\pm$ 14	71 $\pm$ 4**	65 $\pm$ 9	64 $\pm$ 3	61 $\pm$ 5	55 $\pm$ 9
	HFOV	84 $\pm$ 4**	64 $\pm$ 7	72 $\pm$ 4*	70 $\pm$ 11	65 $\pm$ 9	59 $\pm$ 8	59 $\pm$ 6

Tabelle 3.1: Beatmungs- und Gasaustauschparameter. PCV, druckkontrollierte Beatmung; HFOV, Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation; ALI, akutes Lungenversagen; PRM, Postrekruitment; PIP, inspiratorischer Spitzendruck; RR, Atemfrequenz; PaO<sub>2</sub>, arterieller Sauerstoffpartialdruck; PaCO<sub>2</sub>, arterieller Kohlendioxidpartialdruck; SaO<sub>2</sub>, arterielle Sauerstoffsättigung; SvO<sub>2</sub>, gemischtvenöse Sauerstoffsättigung; \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$  vs. ALI; §  $p < 0.05$  and §§  $p < 0.01$  vs. PCV.

Verglichen mit den Werten nach Induktion des akuten Lungenversagens verbesserten sich nach 6 Stunden sowohl der Oxygenierungsindex (OI), als auch das  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Verhältnis signifikant in beiden Gruppen (Grafik 3.1 und 3.2;  $p < 0,01$ ). Dieser Effekt hielt bis zum Ende des 24-stündigen Versuchs an. Der OI war in der HFOV-Gruppe nach 6 und 18 Stunden im Vergleich zur PCV-Gruppe signifikant erniedrigt (Grafik 3.1; 6 Std.:  $p < 0,01$ ; 18 Std.:  $p < 0,05$ ). In der HFOV-Gruppe war der mPaw und der PIP, gemessen an der Tubusspitze, über 24 Stunden signifikant niedriger als zum Zeitpunkt des akuten Lungenversagens und im Vergleich zur PCV-Gruppe (Grafik 3.3 und Tabelle 3.1;  $p < 0,01$ ).

In der HFOV-Gruppe konnte Normokapnie erreicht werden.





Grafik 3.1 – 3.3: Gasaustausch und Atemwegsmitteldruck im Verlauf über 24 Stunden. 3.1 Oxygenierungsindex; 3.2 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>-Verhältnis; 3.3 Atemwegsmitteldruck; PCV, druckkontrollierte Beatmung; HFOV, Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation; ALI, akutes Lungenversagen; PRM, Postrekrutment; \* p<0.05 and \*\* p<0.01 vs. ALI; § p<0.05 and §§ p<0.01 vs. PCV. Publiziert in High-frequency oscillatory ventilation reduces lung inflammation: a large-animal 24-h model of respiratory distress [110].

### 3.2 Entzündungszellen und inflammatorische Zytokinfreisetzung in der BAL

Die Messungen der Entzündungszellen und Zytokine beider Gruppen wurden vor Induktion des akuten Lungenversagens und nach 24 Stunden durchgeführt. Die Ergebnisse der Zelldifferenzierung und der ELISAs können Tabelle 3.2 entnommen werden. Die Ausgangswerte vor ARDS waren für PMN, TNF-alpha und IL-1-beta im Gruppenvergleich bei HFOV-Tieren signifikant niedriger ( $p < 0,05$ ). Im 24-Stunden-Verlauf stieg die Summe der neutrophilen Granulozyten, wie auch die Freisetzung von Interleukin-1-beta in beiden Gruppen signifikant an ( $p < 0,05$ ). Die Mengen an TNF-alpha und Interleukin-6 tendierten in der PCV-Gruppe nach oben und waren in der HFOV-Gruppe nach 24 Stunden signifikant erhöht ( $p < 0,05$ ). Zwischen den Gruppen konnte für Entzündungsparameter in der BAL kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Sie waren in der HFOV-Gruppe jedoch tendenziell niedriger.

BAL	PCV		HFOV	
	Baseline	24 Std.	Baseline	24 Std.
AM/ $\mu$ l	358 (298 - 445)	177 (36 - 225)*	411 (302 - 522)	143 (81 - 180)*
PMN/ $\mu$ l	136 (69 - 240)	1543 (720 - 1898)*	35 (31 - 39)§	832 (537 - 1015)*
LY/ $\mu$ l	84 (69 - 144)	72 (45 - 116)	94 (42 - 121)	83 (59 - 122)
TNF-alpha (pg/ml)	99 (66 - 118)	121 (87 - 157)	10 (5 - 13)§	74 (36 - 132)*
IL-1-beta (pg/ml)	184 (164 - 482)	1046 (623 - 1484)*	25 (9 - 38)§	876 (412 - 1430)*
IL-6 (pg/ml)	31 (27 - 38)	54 (30 - 68)	31 (30 - 34)	45 (38 - 84)*
IL-10 (pg/ml)	26 (15 - 58)	18 (9 - 44)	14 (0 - 73)	14 (7 - 41)

Tabelle 3.2: Entzündungszellen und Zytokine aus BAL: PCV, druckkontrollierte Beatmung; HFOV, Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation; BAL, bronchoalveoläre Lavage; AM, Alveolarmakrophagen; PMN, neutrophile Granulozyten; LY, Lymphozyten; TNF, Tumornekrosefaktor; IL, Interleukin; Die Messdaten werden als Median mit Quartilen (25/75 % Perzentilen) dargestellt. \*  $p < 0.05$  vs. Baseline, §  $p < 0.05$  vs. PCV.

### 3.3 Entzündungszellen und inflammatorische Zytokinfreisetzung im Serum

Bei der Bestimmung der Entzündungsparameter im Serum konnte weder zwischen den Gruppen, noch zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende ein Unterschied ermittelt werden.

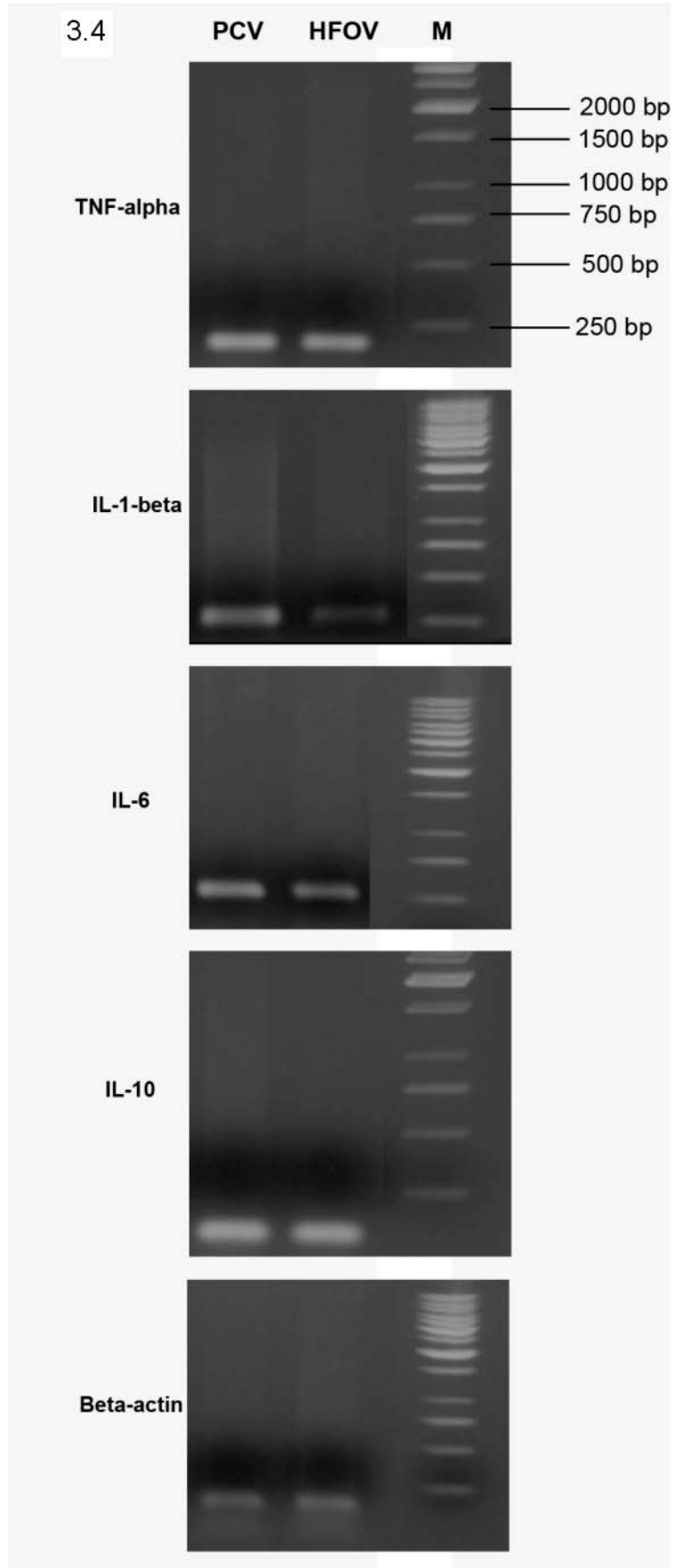
	DK		HFOV	
	Baseline	24 h	Baseline	24 h
TNF-alpha	47 (37 - 70)	41 (29 - 58)	55 (39 - 87)	53 (39 - 66)
IL-1beta	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 1,9)	0 (0 - 0,2)
IL-6	115 (110 - 143)	120 (116 - 130)	109 (108 - 110)	115 (112 - 117)
IL-10	21 (18 - 31)	26 (23 - 33)	19 (17 - 37)	22 (12 - 29)

Tabelle 3.3: Zytokine aus dem Serum: TNF, Tumornekrosefaktor; IL, Interleukin; Die Messdaten werden als Median mit Quartilen (25/75 % Perzentilen) dargestellt.

### 3.4 Semiquantitative PCR

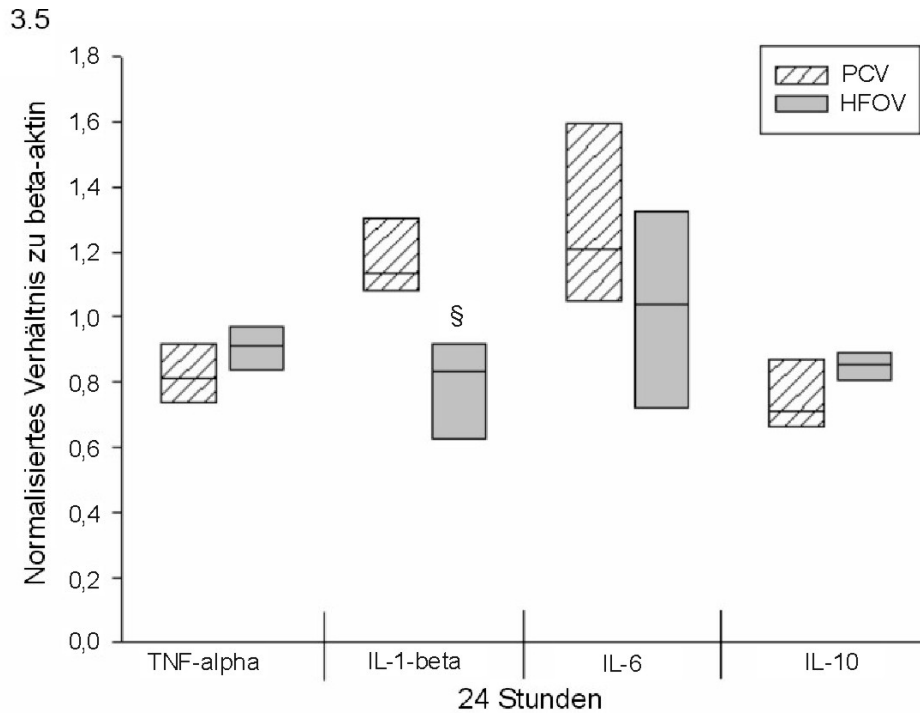
Die Vervielfältigung des cDNA-Templates wurde mittels Primern für TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6 und IL-10 durchgeführt. Die entstandenen Produkte korrespondierten mit den vorhergesagten Molekulargrößen von 199 bp für TNF-alpha, 256 bp für IL-1-beta, 257 bp für IL-6 und 105 bp für IL-10. Die Messung erfolgte im Bezug auf das Housekeeping-Gen  $\beta$ -actin (Grafik 3.4).

In der HFOV-Gruppe war die mRNA-Expression von IL-1-beta signifikant reduziert ( $p < 0,01$ ). Bezüglich der restlichen Parameter (TNF-alpha, IL-6 und IL-10) konnte kein Unterschied festgestellt werden. Die Ergebnisse sind in Grafik 3.5 dargestellt.



Grafik 3.4: Repräsentative Banden für TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6, IL-10 und  $\beta$ -actin.





Grafik 3.5: Analyse der mRNA von TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6 und IL-10 im linken, unteren Lungenunterlappen mittels RT-PCR. Zu Beta-actin normalisierte Dichteverhältnisse der Banden von TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6 und IL-10. PCV, druckkontrollierte Beatmung; HFOV, Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation; TNF, Tumornekrosefaktor; IL, Interleukin; bp, Basenpaare; M, Marker; Daten werden als Mittelwerte mit Quartilen (25/75 % Perzentilen) dargestellt; § p<0.01 vs. PCV. Publiziert in High-frequency oscillatory ventilation reduces lung inflammation: a large-animal 24-h model of respiratory distress [110].

#### 4. Diskussion

Das Hauptaugenmerk der vorliegenden Großtiermodellstudie liegt auf dem Vergleich zweier lungenprotektiver Beatmungsformen im lavage-induzierten ARDS. Hierbei wurden Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation und lungenprotektive druckkontrollierte Beatmung gegenübergestellt. Zielparameter waren die pulmonale und systemische Inflammationsreaktion, sowie der pulmonale Gasaustausch.

Das wichtigste Ergebnis stellt die signifikante Reduktion der mRNA-Expression von IL-1-beta nach 24 Stunden im Lungengewebe der HFOV-Gruppe dar.

##### *Lavagemodell*

Das Lungenversagen in der vorliegenden Untersuchung wurde durch Surfactantdepletion erreicht [109]. Dieses Verfahren wurde in einer Vielzahl von Studien eingesetzt. Wie das klinische Syndrom führt es zu ausgeprägten Gasaustauschstörungen. Hierdurch ist es geeignet, ein ARDS am Menschen zu simulieren [111]. Daten dieser Studie belegen die Induktion einer akuten schweren Hypoxämie und eines Ventilations-Perfusions-Missverhältnisses durch repetitive Lungenlavagen. Um ein stabiles Lungenversagen zu induzieren waren im Durchschnitt  $20 \pm 4$  Lavagen nötig. Diese Ergebnisse wurden in einer weiteren Studie bestätigt. Diese zeigte einen sekundären pulmonalen Hypertonus über 24 Stunden und eine erhöhte Freisetzung von Entzündungsmediatoren in der BAL [112]. Dem gegenüber stehen Untersuchungen, bei denen 4 Lavagen ausreichten um ein Lungenversagen zu induzieren. Allerdings wurden hierbei in der Phase der Surfactantdepletion Tidalvolumina von mehr als 6 ml/kg KG appliziert [111]. Unter diesen Bedingungen ist es schwierig, die Schädigung der Lunge der Surfactantdepletion oder der maschinellen Beatmung zuzuschreiben. In der vorliegenden Studie wurde das Lungenversagen unter lungenprotektiver Beatmung mit einem Tidalvolumen von 6 ml/kg KG induziert. In beiden Gruppen war es gleichartig ausgeprägt und konstant, so dass ein stabiles Lungenversagen für die Beurteilung der Interventionseffekte vorausgesetzt

werden kann [113]. Veränderungen in den Untersuchungsgruppen können demnach als interventionsbedingt betrachtet werden.

Dennoch beschränkt sich das Modell auf die Schädigung der Lunge. Die systemischen Auswirkungen auf den Organismus können nicht direkt auf ein ARDS am Menschen übertragen werden. Auf diese Tatsache ist vermutlich zurückzuführen, dass beim Nachweis der Zytokine im Serum kein aussagekräftiges Ergebnis erzielt werden konnte. Ein Versuchsansatz mit LPS als Induktor einer Inflammationsreaktion wäre denkbar, um diesem Phänomen entgegenzuwirken. LPS stammt aus der Zellmembran gram-negativer Bakterien. Im Serum bildet es mit dem so genannten LPS-Bindungs-Protein einen Komplex [114, 115]. Dieser aktiviert Monozyten und Makrophagen, wodurch die Bildung inflammatorischer Mediatoren getriggert wird [116]. Im Tiermodell wurde LPS unter anderem intratracheal appliziert [117]. In der Lunge führt LPS zum Einschluss neutrophiler Granulozyten in die Lungenkapillaren und schließlich zu deren Migration in den Alveolarraum. Die Barrierefunktion der Alveolarwand geht verloren [118-121]. Um eine begleitende Sepsis zu simulieren, kann LPS zusätzlich intravenös appliziert werden. Das LPS-Modell spiegelt gut die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten, sowie eine Sepsis wider. Verglichen mit dem Lavagemodell bestehen beim LPS-induzierten Lungenversagen Nachteile bezüglich der Auswirkungen auf das Lungengewebe: Einerseits liegt eine geringere Schädigung der epithelialen Barrierefunktion vor, andererseits repräsentiert es die Auswirkungen eines ARDS beim Menschen nicht ausreichend. Hier findet sich *in vivo* eine geringere Menge an intraalveolären neutrophilen Granulozyten, stattdessen liegt vermehrt proteinreiches alveoläres Ödem vor. Die Erhöhung proinflammatorischer Mediatoren in der BAL unter den angewandten Studienbedingungen spricht für eine angemessene pulmonale Entzündungsreaktion.

### *Pulmonaler Gasaustausch*

Die Untersuchungsergebnisse zeigten eine über 24 Stunden anhaltende signifikante Verbesserung des OI, sowie des  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Verhältnisses in beiden Gruppen. Nach 6 und 18 Stunden bestand eine signifikante Erniedrigung des OI in der HFOV-Gruppe. Wir konnten erstmals zeigen, dass eine Verbesserung der Oxygenierung und des Oxygenierungsindex über 24 Stunden aufrecht erhalten werden kann [122-124]. Zusätzlich konnte in dieser Gruppe Normokapnie erreicht werden. Unter den angewandten Studienbedingungen wurden erstmals zwei als lungenprotektiv geltende Beatmungsformen [125] miteinander verglichen. Bisherige Studien dieser Art wurden hauptsächlich an Kleintieren durchgeführt und konnten keine Überlegenheit der HFOV bezüglich Gasaustausch, Lungenmechanik und Proteininflux belegen [126].

Positive Effekte von permissiver Hyperkapnie auf ein VILI konnten in aktuellen Studien belegt werden [64, 127]. Permissive Hyperkapnie führt über eine pulmonale Vasokonstriktion zu einer Zunahme des Shunt- und des Herzzeitvolumens. Zusätzlich kommt es zu einer arteriellen Vasodilatation im Systemkreislauf. Hierdurch wird die Organperfusion, bei gleichzeitig vermindertem Sauerstoffverbrauch, verbessert [128]. Neuere Studien zeigten in vitro weitere positive pulmonale Effekte. De Smet et al. beschrieben eine verbesserte Compliance, sowie die Reduktion von pulmonalem Ödem. Des Weiteren wurden positive Einflüsse auf Oxygenierung, Lungenmechanik und Lungenpermeabilität beobachtet [66]. In der BAL konnten verminderte Werte für TNF-alpha und IL-6 nachgewiesen werden [129]. Auch der durch freie radikale induzierte Gewebeschaden wurde reduziert [69]. Die permissive Hyperkapnie war jedoch kein primäres Therapieziel. Sie wurde im Rahmen der lungenprotektiven Beatmung im vorliegenden Studienprotokoll wohlwollend in Kauf genommen, um das Tidalvolumen und damit den Scherstress der Alveolen zu minimieren [128]. In der HFOV-Gruppe wurde dennoch Normokapnie erreicht. Diese Erkenntnis könnte darauf hindeuten, dass bei den applizierten Frequenzen von 6 Hz unter HFOV noch weiterer Spielraum bezüglich der Lungenprotektion besteht. Bei einer Steigerung der Frequenz wäre eine weitere Abmilderung der Lungenschädigung denkbar. Gleichzeitig auftretende positive Effekte einer permissiven Hyperkapnie unter diesen Bedingungen könnten die

Auswirkungen eines ARDS auf die Lunge und den Organismus zusätzlich reduzieren. Bei Patienten mit einem ARDS gelang dies jedoch häufig nicht [85]. Ein möglicher Grund hierfür könnten die Kontraindikationen für eine permissive Hyperkapnie sein. Zu diesen zählen unter anderem ein erhöhter intrakranieller Druck, eine Herzinsuffizienz und kardiale Arrhythmien. Auch kann die zunehmende Rechtsherzbelastung durch die pulmonale Hypertonie zu klinisch relevanten Problemen führen. Zusammenfassend führt eine permissive Hyperkapnie zu einer Senkung der Mortalität bei ARDS-Patienten und ist somit unter Beachtung der Kontraindikationen wünschenswert [130].

#### *Inflammatorische Zytokinfreisetzung*

Die Untersuchungsergebnisse zeigen im 24-Stunden-Verlauf eine signifikant erniedrigte mRNA-Expression von IL-1-beta in der HFOV-Gruppe. Die Auswertung der BAL ergibt einen signifikanten Anstieg der neutrophilen Granulozyten, wie auch eine erhöhte Freisetzung an IL-1-beta in beiden Gruppen. In der HFOV-Gruppe werden in der BAL tendenziell weniger Entzündungsmediatoren nachgewiesen. Bei der Bestimmung der Entzündungsparameter im Serum ergaben sich keine Unterschiede. Dies gilt sowohl beim Vergleich der Versuchsgruppen untereinander, wie auch beim Vergleich zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende.

Durch eine maschinelle Beatmung wird mechanischer Stress auf das Lungengewebe ausgeübt. Dieser führt, bedingt durch Volutrauma, Barotrauma und Atelektrauma, zu einer Steigerung der Zytokinproduktion der Lunge. Dieses als Biotrauma bezeichnete Phänomen stellt einen Pathomechanismus des VILI dar. Die daraus resultierende Entzündungsreaktion kann ein ARDS aggravieren [73, 80, 83]. Die Ergebnisse bestätigen frühere Studien an Kleintieren, welche unter HFOV eine reduzierte mRNA-Expression der proinflammatorischen Zytokine IL-1-beta, IL-6 und IL-8 zeigten [80, 82]. In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals eine signifikante Senkung der mRNA-Expression von IL-1-beta unter HFOV nachgewiesen werden. Erreicht wurde dies bei einem zusätzlich effektiv niedrigerem mPaw in der HFOV-Gruppe, verglichen mit der PCV-Gruppe [80, 82]. Im Gegensatz zu bisherigen

Untersuchungen gelang dies im Langzeitversuch am Großtiermodell. In der BAL von ARDS-Patienten wurden hohe Konzentrationen an biologisch aktiven Mediatoren gefunden. Diese führten in vitro während der Frühphase eines ARDS zu einer Steigerung der pulmonalen Reparaturmechanismen [131]. Laut Geiser et al. kommt IL-1-beta eine Hauptrolle bei der Aktivierung dieser Mediatoren zu [132]. Ein hoher Spiegel entspricht gesteigerten Reparaturvorgängen. Der erniedrigte Spiegel unter HFOV kann unter anderem durch den Zeitpunkt der Probenentnahme nach 24 Stunden bedingt sein, da sich der höchste intraalveoläre Anteil an IL-1-beta innerhalb der ersten 12 Stunden eines ARDS findet [131]. Andererseits könnte auch ein geringer ausgeprägtes VILI unter HFOV den niedrigeren Spiegel an IL-1-beta im Lungengewebe erklären. Eine Reduktion der mRNA-Expression für die Synthese von IL-1-beta wäre die Folge.

In dieser Studie konnte ebenfalls die pulmonale Freisetzung von Entzündungsparametern nachgewiesen werden. Wir konnten zeigen, dass es im 24-Stunden-Verlauf einen signifikanten Anstieg an neutrophilen Granulozyten und IL-1-beta gab, sowie eine tendenzielle Erhöhung von TNF-alpha und IL-6. Somit wurde ein Anstieg mehrerer für ein VILI verantwortlicher Entzündungsparameter in vivo im Tiermodell demonstriert. Diese Ergebnisse stimmen mit Studien überein, die ebenfalls eine Erhöhung von IL-1-beta in der BAL nachweisen konnten [133]. Jedoch gelang dies bislang weder für TNF-alpha noch für IL-6 [134].

Für TNF-alpha, IL-1-beta und IL-6 liegen laut Literatur die höchsten Werte in der Frühphase des ARDS innerhalb der ersten 3 Tage vor [135]. Möglicherweise blieben ähnliche Beobachtungen bislang deshalb aus, da Versuchsprotokolle von wenigen Stunden eingesetzt wurden. In dieser sehr frühen Phase des ARDS ist eventuell noch kein Anstieg der Zytokine nachweisbar.

Zwischen den Untersuchungsgruppen konnte jedoch kein Unterschied bezüglich der Entzündungsparameter ermittelt werden. Betrachtet man die einzelnen Mediatoren gibt es dafür verschiedene Erklärungsalternativen: IL1-

beta und TNF-alpha werden experimentell nach etwa 30-90 Minuten freigesetzt [136] und sind vorwiegend in der BAL nachweisbar. Der TNF-alpha-Spiegel steigt nach Freisetzung über weitere 1-6 Stunden an [137]. Ähnlich frühe Anstiege wurden für IL-6 beschrieben [17]. Das Erreichen des Maximums nach 6 Stunden könnte der Grund sein, weswegen bei der Bestimmung nach 24 Stunden keine signifikanten Unterschiede in der BAL zu verzeichnen waren.

ARDS-Patienten weisen eine massive Akkumulation neutrophiler Granulozyten in der Lunge auf [138]. Diese Beobachtungen konnten in der vorliegenden Studie im Großtiermodell bestätigt werden. Bei nicht überlebtem ARDS wurden hierbei die höchsten Konzentrationen verzeichnet [139]. Neutrophile Granulozyten besitzen eine sehr potente mikrobielle Abwehrfunktion, verursachen jedoch aufgrund ihrer unspezifischen Eigenschaften hohe Kollateralschäden im Gewebe. Darüber hinaus ist die Apoptoserate im Gewebe deutlich vermindert, die Überlebenszeit der neutrophilen Granulozyten hierdurch entsprechend verlängert [140]. Diese Tatsache könnte ebenfalls ursächlich für die im 24-Stunden-Verlauf steigende Zahl der neutrophilen Granulozyten beider Gruppen sein.

Zusammenfassend spricht die Erhöhung proinflammatorischer Mediatoren im 24-Stunden-Verlauf für eine adäquate pulmonale Entzündungsreaktion im angewandten Großtiermodell.

In dieser Studie wurde erstmals die Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation mit einer lungenprotektiven konventionellen Beatmung im Langzeitversuch am Großtiermodell verglichen. Da die verwendete konventionelle Beatmung bereits als lungenprotektiv gilt, zeigten sich überwiegend tendenzielle Vorteile der HFOV. Die bisherigen Ausführungen verdeutlichen die entscheidende Bedeutung einer frühen und effektiven Bekämpfung der Entzündungsreaktion während eines ARDS. Hierdurch könnte das Überleben der Patienten verbessert werden. Patienten, die eine erste Inflammationsreaktion überleben, können an einer zweiten, leichteren versterben, auch wenn diese im Normalfall nicht letal enden würde. Laut einer Hypothese entsteht dies durch ein Priming der Entzündungskaskade durch das überaktive SIRS im Rahmen des ARDS

[141]. Vermeidet man weitere Infekte, ist eine Heilung möglich. Auch kleineren Infektionen, wie einer katheterassoziierten Infektion oder einer Lungenentzündung, sollte erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt werden, da diese zu einer überhöhten Entzündungsantwort und möglicherweise zum Tod führen können [4, 142].



## 5. Zusammenfassung

Ein ARDS wird von einer schweren Hypoxämie mit hohem intrapulmonalem Shuntvolumen, einer pulmonalen Hypertonie und einer komplexen Inflammationsreaktion begleitet. Ein letaler Ausgang ist trotz moderner Beatmungsstrategien häufig [143]. Aktuelle Therapieansätze mittels lungenprotektiver druckkontrollierter Beatmung wurden in dieser Studie mit einer Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation verglichen. Das Ziel dieser Studie war, zu untersuchen, ob durch den Einsatz der HFOV der beatmungsinduzierte Lungenschaden, bestehend aus Barotrauma, Volutrauma, Atelektrauma und Biotrauma, verringert werden kann. Hierzu wurde 16 adulten Schweinen ein Lungenversagen mittels repetitiver bronchoalveolärer Lavage induziert. Die Tiere wurden randomisiert der HFOV- oder PCV-Gruppe zugeteilt. Es folgte ein gruppenspezifisches Rekrutierungsmanöver. Nach Erreichen eines konstanten  $\text{PaO}_2$  und  $\text{PaCO}_2$  wurde zunächst die  $\text{FiO}_2$  und anschließend in der HFOV-Gruppe der  $\text{Paw}$ , sowie in der PCV-Gruppe der PEEP reduziert. Nach Bestimmung der Ausgangswerte der Blutgase, Beatmungs- und Kreislaufparameter erfolgten stündlich weitere Messungen. Eine BAL wurde vor Induktion des Lungenversagens und nach 24 Stunden vorgenommen. Die Proben der PCR Analyse wurden nach Versuchsende aus Lungenbiopsaten gewonnen.

Nach Datenauswertung konnte in der HFOV-Gruppe ein signifikant niedrigerer Oxygenierungsindex nach 6 und 18 Stunden, sowie signifikant niedrigere Atemwegsmittel- und Spitzendrücke nachgewiesen werden. Die Bestimmungen aus den bronchoalveolären Lavagen erbrachten in beiden Gruppen signifikant erhöhte Werte der neutrophilen Granulozyten und des IL-1-beta nach 24 Stunden. TNF-alpha und IL-6 waren nach diesem Zeitraum in der HFOV-Gruppe signifikant erhöht. Jedoch konnten lediglich tendenziell niedrigere Werte der Entzündungsparameter unter Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation nachgewiesen werden. Kein Unterschied ergab sich aus den Bestimmungen der Serumkonzentrationen der Entzündungsmediatoren. Eine signifikant

erniedrigte IL-1-beta mRNA-Expression im Lungengewebe der HFOV-Gruppe wurde mittels semiquantitativer PCR nachgewiesen.

In dieser Arbeit wurde erstmals eine Langzeitstudie bei lavage-induziertem Lungenversagen am Großtiermodell mit dem Vergleich zweier als lungenprotektiv geltender Beatmungsformen durchgeführt. Die Studie beschäftigte sich neben den Beatmungsparametern hauptsächlich mit Expression und Freisetzung intrapulmonaler Entzündungsmediatoren.

Zusammenfassend lässt sich aufgrund der Versuchsergebnisse feststellen, dass sowohl mit der druckkontrollierten lungenprotektiven Beatmung, wie auch der Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation, ein dauerhafter Anstieg der Oxygenierung nach Durchführung eines Rekrutierungsmanövers, über 24 Stunden aufrechterhalten werden konnte. Des Weiteren wurde ein signifikant niedrigerer Oxygenierungsindex in der HFOV-Gruppe nach 6 und 18 Stunden nachgewiesen. In der HFOV-Gruppe wurden hierfür signifikant niedrigere Atemwegsmitteldrücke benötigt.

Die Tiere mit Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation wiesen zu Versuchsende eine signifikant erniedrigte mRNA-Expression von IL-1-beta im Lungengewebe auf. Dieses Ergebnis lässt erstmals im ARDS-Großtiermodell eine zusätzliche Reduktion der pulmonalen Entzündungsreaktion durch HFOV, verglichen mit lungenprotektiver druckkontrollierter Beatmung, vermuten.

## 6. Ausblick

Aktuelle Studien suggerieren eine zusätzliche Reduktion des VILI bei Tidalvolumina kleiner als 6 ml/kg KG. Dies soll die Überblähung ventilierter Areale im Vergleich zu nicht ventilierten Gebieten verhindern und somit das Trauma der Lunge reduzieren. Hierbei wurde eine zusätzliche Reduktion inflammatorischer Zytokine nachgewiesen [144]. Bei Tidalvolumen von  $\leq 3$  ml/kg KG ist aufgrund der unzureichenden Kohlenstoffdioxidelimination die Kombination mit einer interventionellen Lungenassistenz (ILA) notwendig, um eine Hyperkapnie zu vermeiden. Jedoch besteht bei unzureichendem PEEP-Niveau die Gefahr der alveolären Derekrutierung [145]. In einem Fallbericht konnte von Muellenbach et al bereits die erfolgreiche Kombination von av-ECLA mit hohen HFOV-Frequenzen berichtet werden [146].

Die Möglichkeit einer zusätzlichen Reduktion des VILI bei der Kombination aus HFOV und ILA bedarf weiterer Langzeitstudien. Hierbei könnten unter HFOV höhere Frequenzen angestrebt werden. Bei druckkontrollierter lungenprotektiver Beatmung kommt eine weitere Reduktion des Tidalvolumens, eventuell bis zu Apnoe, in Betracht. In beiden Fällen könnten die positiven Effekte einer permissiven Hyperkapnie additiv wirken. Um eine ausreichende Kohlenstoffdioxidelimination zu gewährleisten, ist möglicherweise die Kombination mit einer ILA notwendig. Diese Studien sollten zusätzlich unter anderem die pulmonale Entzündungsreaktion und den Einfluss der Lungenschädigung auf die Barrierefunktion des Lungenepithels betrachten.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Ashbaugh DG, B.D., Petty JL, Levine BE. , Acute respiratory distress in adults. . Lancet 1967. 2: 319–323.
2. Bernard, G.R., et al., The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Am J Respir Crit Care Med, 1994. 149(3 Pt 1): p. 818-24.
3. Bhatia, M., Novel therapeutic targets for acute pancreatitis and associated multiple organ dysfunction syndrome. Curr Drug Targets Inflamm Allergy, 2002. 1(4): p. 343-51.
4. Bhatia, M., et al., Inflammatory mediators in acute pancreatitis. J Pathol, 2000. 190(2): p. 117-25.
5. Bhatia, M., J.P. Neoptolemos, and J. Slavin, Inflammatory mediators as therapeutic targets in acute pancreatitis. Curr Opin Investig Drugs, 2001. 2(4): p. 496-501.
6. Tasaka, S., N. Hasegawa, and A. Ishizaka, Pharmacology of acute lung injury. Pulm Pharmacol Ther, 2002. 15(2): p. 83-95.
7. Weinacker, A.B. and L.T. Vaszar, Acute respiratory distress syndrome: physiology and new management strategies. Annu Rev Med, 2001. 52: p. 221-37.
8. Hudson, L.D., et al., Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med, 1995. 151(2 Pt 1): p. 293-301.
9. McHugh, L.G., et al., Recovery of function in survivors of the acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med, 1994. 150(1): p. 90-4.
10. Fukuda, Y., et al., The role of intraalveolar fibrosis in the process of pulmonary structural remodeling in patients with diffuse alveolar damage. Am J Pathol, 1987. 126(1): p. 171-82.
11. Bachofen, M. and E.R. Weibel, Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome. Clin Chest Med, 1982. 3(1): p. 35-56.
12. Burkhardt, A., Alveolitis and collapse in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. Am Rev Respir Dis, 1989. 140(2): p. 513-24.
13. Chesnutt, A.N., et al., Early detection of type III procollagen peptide in acute lung injury. Pathogenetic and prognostic significance. Am J Respir Crit Care Med, 1997. 156(3 Pt 1): p. 840-5.
14. Martin, C., et al., Pulmonary fibrosis correlates with outcome in adult respiratory distress syndrome. A study in mechanically ventilated patients. Chest, 1995. 107(1): p. 196-200.
15. Baker, C.S., et al., Damage to surfactant-specific protein in acute respiratory distress syndrome. Lancet, 1999. 353(9160): p. 1232-7.
16. Charles, Interleukin-1beta. Crit Care Med, 2005. 33, No. 12 (Suppl.): p. 460-2.
17. Fong, Y., et al., Endotoxemia elicits increased circulating beta 2-IFN/IL-6 in man. J Immunol, 1989. 142(7): p. 2321-4.
18. Patel, R.T., et al., Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis. Br J Surg, 1994. 81(9): p. 1306-8.

19. Barriere, S.L. and S.F. Lowry, An overview of mortality risk prediction in sepsis. *Crit Care Med*, 1995. 23(2): p. 376-93.
20. Calandra, T., et al., Prognostic values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, interferon-alpha, and interferon-gamma in the serum of patients with septic shock. Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. *J Infect Dis*, 1990. 161(5): p. 982-7.
21. Marano, M.A., et al., Serum cachectin/tumor necrosis factor in critically ill patients with burns correlates with infection and mortality. *Surg Gynecol Obstet*, 1990. 170(1): p. 32-8.
22. Pinsky, M.R., et al., Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest*, 1993. 103(2): p. 565-75.
23. Moore, K.W., et al., Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*, 2001. 19: p. 683-765.
24. O'Garra, A., et al., IL-10-producing and naturally occurring CD4+ Tregs: limiting collateral damage. *J Clin Invest*, 2004. 114(10): p. 1372-8.
25. Wakkach, A., et al., Characterization of dendritic cells that induce tolerance and T regulatory 1 cell differentiation in vivo. *Immunity*, 2003. 18(5): p. 605-17.
26. van der Poll, T., et al., Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med*, 1994. 180(5): p. 1985-8.
27. Lehmann, A.K., et al., High levels of interleukin 10 in serum are associated with fatality in meningococcal disease. *Infect Immun*, 1995. 63(6): p. 2109-12.
28. Marchant, A., et al., Clinical and biological significance of interleukin-10 plasma levels in patients with septic shock. *J Clin Immunol*, 1995. 15(5): p. 266-73.
29. Marchant, A., et al., Interleukin-10 production during septicaemia. *Lancet*, 1994. 343(8899): p. 707-8.
30. Friedman, G., et al., Blood interleukin 10 levels parallel the severity of septic shock. *J Crit Care*, 1997. 12(4): p. 183-7.
31. Aggarwal, B.B. and K. Natarajan, Tumor necrosis factors: developments during the last decade. *Eur Cytokine Netw*, 1996. 7(2): p. 93-124.
32. Baud, V. and M. Karin, Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol*, 2001. 11(9): p. 372-7.
33. Pfeffer, K., Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2003. 14(3-4): p. 185-91.
34. Armstrong, L. and A.B. Millar, Relative production of tumour necrosis factor alpha and interleukin 10 in adult respiratory distress syndrome. *Thorax*, 1997. 52(5): p. 442-6.
35. Bayley, J.P., T.H. Ottenhoff, and C.L. Verweij, Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun*, 2004. 5(5): p. 315-29.
36. Robertson, C.M. and C.M. Coopersmith, The systemic inflammatory response syndrome. *Microbes Infect*, 2006. 8(5): p. 1382-9.
37. Savill, J., Apoptosis in resolution of inflammation. *J Leukoc Biol*, 1997. 61(4): p. 375-80.
38. Savill, J.S., et al., Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation. Programmed cell death in the neutrophil leads to its recognition by macrophages. *J Clin Invest*, 1989. 83(3): p. 865-75.

39. Abraham, E., Neutrophils and acute lung injury. *Crit Care Med*, 2003. 31(4 Suppl): p. S195-9.
40. Smith, J.A., Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword. *J Leukoc Biol*, 1994. 56(6): p. 672-86.
41. Feterowski, C., et al., Immune protection against septic peritonitis in endotoxin-primed mice is related to reduced neutrophil apoptosis. *Eur J Immunol*, 2001. 31(4): p. 1268-77.
42. Matute-Bello, G., et al., Neutrophil apoptosis in the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997. 156(6): p. 1969-77.
43. Mizgerd, J.P., Molecular mechanisms of neutrophil recruitment elicited by bacteria in the lungs. *Semin Immunol*, 2002. 14(2): p. 123-32.
44. Hayashi, F., T.K. Means, and A.D. Luster, Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood*, 2003. 102(7): p. 2660-9.
45. Savill, J., et al., A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol*, 2002. 2(12): p. 965-75.
46. Müller, Hochfrequenzoszillationsventilation beim akuten Lungenversagen des Erwachsenen. *Deutsches Ärzteblatt*, 2004. Jg. 101, Heft 14.
47. Haitsma, J.J. and B. Lachmann, Lung protective ventilation in ARDS: the open lung maneuver. *Minerva Anesthesiol*, 2006. 72(3): p. 117-32.
48. Tobin, M.J., Advances in mechanical ventilation. *N Engl J Med*, 2001. 344(26): p. 1986-96.
49. Dreyfuss, D., et al., High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*, 1988. 137(5): p. 1159-64.
50. Dreyfuss, D. and G. Saumon, Barotrauma is volutrauma, but which volume is the one responsible? *Intensive Care Med*, 1992. 18(3): p. 139-41.
51. Egan, E.A., 2nd, Effect of lung inflation on alveolar permeability to solutes. *Ciba Found Symp*, 1976(38): p. 101-14.
52. International consensus conferences in intensive care medicine: Ventilator-associated Lung Injury in ARDS. This official conference report was cosponsored by the American Thoracic Society, The European Society of Intensive Care Medicine, and The Societe de Reanimation de Langue Francaise, and was approved by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999. 160(6): p. 2118-24.
53. Slutsky, A.S., Lung injury caused by mechanical ventilation. *Chest*, 1999. 116(1 Suppl): p. 9S-15S.
54. Tremblay, L.N. and A.S. Slutsky, Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians*, 1998. 110(6): p. 482-8.
55. Gattinoni, L., et al., Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2006. 354(17): p. 1775-86.
56. Webb, H.H. and D.F. Tierney, Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures. Protection by positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*, 1974. 110(5): p. 556-65.

57. Wyszogrodski, I., et al., Surfactant inactivation by hyperventilation: conservation by end-expiratory pressure. *J Appl Physiol*, 1975. 38(3): p. 461-6.
58. Faridy, E.E., Effect of ventilation on movement of surfactant in airways. *Respir Physiol*, 1976. 27(3): p. 323-34.
59. Dreyfuss, D. and G. Saumon, Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998. 157(1): p. 294-323.
60. Mehta, S., et al., Temporal change, reproducibility, and interobserver variability in pressure-volume curves in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 2003. 31(8): p. 2118-25.
61. McCulloch, P.R., P.G. Forkert, and A.B. Froese, Lung volume maintenance prevents lung injury during high frequency oscillatory ventilation in surfactant-deficient rabbits. *Am Rev Respir Dis*, 1988. 137(5): p. 1185-92.
62. Villar, J., et al., A high positive end-expiratory pressure, low tidal volume ventilatory strategy improves outcome in persistent acute respiratory distress syndrome: a randomized, controlled trial. *Crit Care Med*, 2006. 34(5): p. 1311-8.
63. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med*, 2000. 342(18): p. 1301-8.
64. Broccard, A.F., et al., Protective effects of hypercapnic acidosis on ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. 164(5): p. 802-6.
65. Laffey, J.G., et al., Hypercapnic acidosis attenuates endotoxin-induced acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004. 169(1): p. 46-56.
66. Laffey, J.G., et al., Therapeutic hypercapnia reduces pulmonary and systemic injury following in vivo lung reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000. 162(6): p. 2287-94.
67. West, M.A., J. Baker, and J. Bellingham, Kinetics of decreased LPS-stimulated cytokine release by macrophages exposed to CO<sub>2</sub>. *J Surg Res*, 1996. 63(1): p. 269-74.
68. Sinclair, S.E., et al., Hypercapnic acidosis is protective in an in vivo model of ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002. 166(3): p. 403-8.
69. Coakley, R.J., et al., Ambient pCO<sub>2</sub> modulates intracellular pH, intracellular oxidant generation, and interleukin-8 secretion in human neutrophils. *J Leukoc Biol*, 2002. 71(4): p. 603-10.
70. Foti, G., et al., Effects of periodic lung recruitment maneuvers on gas exchange and respiratory mechanics in mechanically ventilated acute respiratory distress syndrome (ARDS) patients. *Intensive Care Med*, 2000. 26(5): p. 501-7.
71. Pelosi, P., et al., Sigh in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999. 159(3): p. 872-80.
72. Rothen, H.U., et al., Dynamics of re-expansion of atelectasis during general anaesthesia. *Br J Anaesth*, 1999. 82(4): p. 551-6.

73. Ranieri, V.M., et al., Mechanical ventilation as a mediator of multisystem organ failure in acute respiratory distress syndrome. *Jama*, 2000. 284(1): p. 43-4.
74. Ranieri, V.M., et al., Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *Jama*, 1999. 282(1): p. 54-61.
75. Bryan, A.C., The oscillations of HFO. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. 163(4): p. 816-7.
76. Slutsky, A.S. and J.M. Drazen, Ventilation with small tidal volumes. *N Engl J Med*, 2002. 347(9): p. 630-1.
77. Chang, H.K., Mechanisms of gas transport during ventilation by high-frequency oscillation. *J Appl Physiol*, 1984. 56(3): p. 553-63.
78. Viasis, 3100A High Frequency Oscillatory Ventilator - Gebrauchsanweisung.
79. Werner, M.D.C., Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation Beatmungsverfahren bei Erwachsenen mit akutem Lungenversagen. *Anaesthesist*, 2007. 56:485–490: p. 485-490.
80. Imai, Y., et al., Inflammatory chemical mediators during conventional ventilation and during high frequency oscillatory ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994. 150(6 Pt 1): p. 1550-4.
81. Imai, Y., et al., Comparison of lung protection strategies using conventional and high-frequency oscillatory ventilation. *J Appl Physiol*, 2001. 91(4): p. 1836-44.
82. von der Hardt, K., et al., High frequency oscillatory ventilation suppresses inflammatory response in lung tissue and microdissected alveolar macrophages in surfactant depleted piglets. *Pediatr Res*, 2004. 55(2): p. 339-46.
83. Yoder, B.A., et al., High-frequency oscillatory ventilation: effects on lung function, mechanics, and airway cytokines in the immature baboon model for neonatal chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000. 162(5): p. 1867-76.
84. Clark, R.H., High-frequency oscillatory ventilation in pediatric respiratory failure: a multicenter experience. *Crit Care Med*, 2000. 28(12): p. 3941-2.
85. Derdak, S., et al., High-frequency oscillatory ventilation for acute respiratory distress syndrome in adults: a randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002. 166(6): p. 801-8.
86. Ferguson, N.D., et al., Combining high-frequency oscillatory ventilation and recruitment maneuvers in adults with early acute respiratory distress syndrome: the Treatment with Oscillation and an Open Lung Strategy (TOOLS) Trial pilot study. *Crit Care Med*, 2005. 33(3): p. 479-86.
87. Gerstmann, D.R., et al., The Provo multicenter early high-frequency oscillatory ventilation trial: improved pulmonary and clinical outcome in respiratory distress syndrome. *Pediatrics*, 1996. 98(6 Pt 1): p. 1044-57.
88. Hager, D.N., et al., Tidal volume delivery during high-frequency oscillatory ventilation in adults with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 2007. 35(6): p. 1522-9.
89. Meyer, J., et al., Protective strategies of high-frequency oscillatory ventilation in a rabbit model. *Pediatr Res*, 2006. 60(4): p. 401-6.



90. Froese, A.B., The incremental application of lung-protective high-frequency oscillatory ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002. 166(6): p. 786-7.
91. David, M., et al., Cardiac function and haemodynamics during transition to high-frequency oscillatory ventilation. *Eur J Anaesthesiol*, 2004. 21(12): p. 944-52.
92. Fessler, H.E., D.N. Hager, and R.G. Brower, Feasibility of very high-frequency ventilation in adults with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 2008. 36(4): p. 1043-8.
93. Tao, W., et al., Significant reduction in minute ventilation and peak inspiratory pressures with arteriovenous CO<sub>2</sub> removal during severe respiratory failure. *Crit Care Med*, 1997. 25(4): p. 689-95.
94. Zwischenberger, J.B., et al., Percutaneous extracorporeal arteriovenous CO<sub>2</sub> removal for severe respiratory failure. *Ann Thorac Surg*, 1999. 68(1): p. 181-7.
95. Sussman, J.B., et al., Effects of arteriovenous extracorporeal therapy on hemodynamic stability, ventilation, and oxygenation in normal lambs. *Crit Care Med*, 2001. 29(10): p. 1972-8.
96. Reng, M., et al., Pumpless extracorporeal lung assist and adult respiratory distress syndrome. *Lancet*, 2000. 356(9225): p. 219-20.
97. Brederlau, J., et al., Combination of arteriovenous extracorporeal lung assist and high-frequency oscillatory ventilation in a porcine model of lavage-induced acute lung injury: a randomized controlled trial. *J Trauma*, 2007. 62(2): p. 336-46; discussion 345-6.
98. Gattinoni, L., et al., Effect of prone positioning on the survival of patients with acute respiratory failure. *N Engl J Med*, 2001. 345(8): p. 568-73.
99. Vieillard-Baron, A., et al., Prone position improves mechanics and alveolar ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*, 2005. 31(2): p. 220-6.
100. Gattinoni, L., et al., Decrease in PaCO<sub>2</sub> with prone position is predictive of improved outcome in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 2003. 31(12): p. 2727-33.
101. Gannier, M., et al., Prone position and positive end-expiratory pressure in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 2003. 31(12): p. 2719-26.
102. Brederlau, J., et al., High frequency oscillatory ventilation and prone positioning in a porcine model of lavage-induced acute lung injury. *BMC Anesthesiol*, 2006. 6: p. 4.
103. Esteban, A., et al., Characteristics and outcomes in adult patients receiving mechanical ventilation: a 28-day international study. *Jama*, 2002. 287(3): p. 345-55.
104. Ferring, M. and J.L. Vincent, Is outcome from ARDS related to the severity of respiratory failure? *Eur Respir J*, 1997. 10(6): p. 1297-300.
105. Wrigge, H., et al., Effects of mechanical ventilation on release of cytokines into systemic circulation in patients with normal pulmonary function. *Anesthesiology*, 2000. 93(6): p. 1413-7.
106. Meduri, G.U., et al., Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. Persistent elevation over time predicts poor outcome. *Chest*, 1995. 108(5): p. 1303-14.

107. Headley, A.S., E. Tolley, and G.U. Meduri, Infections and the inflammatory response in acute respiratory distress syndrome. *Chest*, 1997. 111(5): p. 1306-21.
108. Network, T.A.R.D.S., Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000. 342(18): p. 1301-8.
109. Lachmann, B., B. Robertson, and J. Vogel, In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1980. 24(3): p. 231-6.
110. Muellenbach, R.M., et al., High-frequency oscillatory ventilation reduces lung inflammation: a large-animal 24-h model of respiratory distress. *Intensive Care Med*, 2007. 33(8): p. 1423-33.
111. Matute-Bello, G., C.W. Frevert, and T.R. Martin, Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008. 295(3): p. L379-99.
112. Muellenbach, R.M., et al., Acute respiratory distress induced by repeated saline lavage provides stable experimental conditions for 24 hours in pigs. *Exp Lung Res*, 2009. 35(3): p. 222-33.
113. Luecke, T., et al., Oleic acid vs saline solution lung lavage-induced acute lung injury: effects on lung morphology, pressure-volume relationships, and response to positive end-expiratory pressure. *Chest*, 2006. 130(2): p. 392-401.
114. Martin, T.R., et al., Lipopolysaccharide binding protein enhances the responsiveness of alveolar macrophages to bacterial lipopolysaccharide. Implications for cytokine production in normal and injured lungs. *J Clin Invest*, 1992. 90(6): p. 2209-19.
115. Tobias, P.S., K. Soldau, and R.J. Ulevitch, Isolation of a lipopolysaccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum. *J Exp Med*, 1986. 164(3): p. 777-93.
116. Komuro, T., et al., Comparison of R- and S-form lipopolysaccharides fractionated from *Escherichia coli* UKT-B lipopolysaccharide in pyrogen and *Limulus* tests. *FEMS Microbiol Lett*, 1989. 51(1): p. 79-83.
117. Wright, S.D., et al., CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 1990. 249(4975): p. 1431-3.
118. Azghani, A.O., E.J. Miller, and B.T. Peterson, Virulence factors from *Pseudomonas aeruginosa* increase lung epithelial permeability. *Lung*, 2000. 178(5): p. 261-9.
119. Conroy, D.M., J.N. Francischi, and P. Sirois, Effect of tumor necrosis factor receptor binding protein on cell infiltration induced by lipopolysaccharide and Sephadex beads in guinea pig lung. *Inflammation*, 1995. 19(2): p. 233-43.
120. Wiener-Kronish, J.P., K.H. Albertine, and M.A. Matthay, Differential responses of the endothelial and epithelial barriers of the lung in sheep to *Escherichia coli* endotoxin. *J Clin Invest*, 1991. 88(3): p. 864-75.
121. Wiggs, B.R., et al., Contributions of capillary pathway size and neutrophil deformability to neutrophil transit through rabbit lungs. *J Appl Physiol*, 1994. 77(1): p. 463-70.
122. Kolton, M., et al., Oxygenation during high-frequency ventilation compared with conventional mechanical ventilation in two models of lung injury. *Anesth Analg*, 1982. 61(4): p. 323-32.

123. Sedeek, K.A., et al., Open-lung protective ventilation with pressure control ventilation, high-frequency oscillation, and intratracheal pulmonary ventilation results in similar gas exchange, hemodynamics, and lung mechanics. *Anesthesiology*, 2003. 99(5): p. 1102-11.
124. van Kaam, A.H., et al., Positive pressure ventilation with the open lung concept optimizes gas exchange and reduces ventilator-induced lung injury in newborn piglets. *Pediatr Res*, 2003. 53(2): p. 245-53.
125. Lachmann, B., Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med*, 1992. 18(6): p. 319-21.
126. Vazquez de Anda, G.F., et al., The open lung concept: pressure-controlled ventilation is as effective as high-frequency oscillatory ventilation in improving gas exchange and lung mechanics in surfactant-deficient animals. *Intensive Care Med*, 1999. 25(9): p. 990-6.
127. Laffey, J.G., D. Engelberts, and B.P. Kavanagh, Injurious effects of hypocapnic alkalosis in the isolated lung. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000. 162(2 Pt 1): p. 399-405.
128. Kavanagh, B., Normocapnia vs hypercapnia. *Minerva Anesthesiol*, 2002. 68(5): p. 346-50.
129. De Smet, H.R., et al., Hypercapnic acidosis modulates inflammation, lung mechanics, and edema in the isolated perfused lung. *J Crit Care*, 2007. 22(4): p. 305-13.
130. Kregenow, D.A., et al., Hypercapnic acidosis and mortality in acute lung injury. *Crit Care Med*, 2006. 34(1): p. 1-7.
131. Geiser, T., et al., Pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury augments in vitro alveolar epithelial repair by an IL-1beta-dependent mechanism. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. 163(6): p. 1384-8.
132. Geiser, T., Mechanisms of alveolar epithelial repair in acute lung injury--a translational approach. *Swiss Med Wkly*, 2003. 133(43-44): p. 586-90.
133. Goodman, R.B., et al., Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996. 154(3 Pt 1): p. 602-11.
134. Pugin, J., et al., Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro. *Am J Physiol*, 1998. 275(6 Pt 1): p. L1040-50.
135. Park, W.Y., et al., Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. 164(10 Pt 1): p. 1896-903.
136. Cohen, J., The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 2002. 420(6917): p. 885-91.
137. Norman, J.G., G.W. Fink, and M.G. Franz, Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch Surg*, 1995. 130(9): p. 966-70.
138. Ware, L.B. and M.A. Matthay, The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000. 342(18): p. 1334-49.
139. Steinberg, K.P., et al., Evolution of bronchoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994. 150(1): p. 113-22.
140. Taneja, R., et al., Delayed neutrophil apoptosis in sepsis is associated with maintenance of mitochondrial transmembrane potential and reduced caspase-9 activity. *Crit Care Med*, 2004. 32(7): p. 1460-9.

141. Bhatia, M. and S. Moochhala, Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *J Pathol*, 2004. 202(2): p. 145-56.
142. Moore, F.A. and E.E. Moore, Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. *Surg Clin North Am*, 1995. 75(2): p. 257-77.
143. Krafft, P., et al., The acute respiratory distress syndrome: definitions, severity and clinical outcome. An analysis of 101 clinical investigations. *Intensive Care Med*, 1996. 22(6): p. 519-29.
144. Terragni, P.P., et al., Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007. 175(2): p. 160-6.
145. Dembinski, R., et al., Pumpless extracorporeal lung assist for protective mechanical ventilation in experimental lung injury. *Crit Care Med*, 2007. 35(10): p. 2359-66.
146. Muellenbach, R.M., et al., Early treatment with arteriovenous extracorporeal lung assist and high-frequency oscillatory ventilation in a case of severe acute respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2007. 51(6): p. 766-9.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

AF	Atemfrequenz
ALI	akute Lungenschädigung (acute lung injury)
AM	Alveolarmakrophagen
ARDS	akutes Lungenversagen (acute respiratory distress syndrome)
av-ECLA	Arteriovenöse extrakorporale Lungenassistenz (arteriovenous ECLA)
AZV	Atemzugvolumen
BAL	bronchoalveoläre Lavage
bp	Basenpaare
CDP	Atemmitteldruck unter HFOV (continuous distending pressure)
cm H <sub>2</sub> O	Zentimeter Wassersäule
CPAP	Kontinuierlicher positiver Atemwegsdruck (continuous positive airway pressure)
EELV	endexpiratorisches Lungenvolumen
EILV	endinspiratorisches Lungenvolumen
ELISA	enzymgekoppelter Immunadsorptionstest (enzyme linked immunosorbent assay)
f	Beatmungsfrequenz
FiO <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstoffkonzentration (fraction of inspired oxygen)
HE	Hematoxylin-Eosin-Färbung
HFOV	Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation (high frequency oscillatory ventilation)
Hz	Hertz (1/Minute)
ILA	interventionelle Lungenassistenz
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
IL	Interleukin
LPS	Lipopolysaccharid
LY	Lymphozyten
MAP	mittlerer arterieller Druck (mean arterial pressure)
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter

mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mPaw	mittlerer Atemwegsdruck (mean airway pressure)
MW	Mittelwert
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	Horowitz-Index
Paw	Atemwegsdruck (airway pressure)
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion (polymerase chain reaction)
PCV	druckkontrollierte Beatmung (pressure controlled ventilation)
PEEP	positiver endexpiratorischer Druck (positive end-expiratory pressure)
P <sub>insp</sub>	inspiratorischer Beatmungsdruck
PIP	Beatmungsspitzenndruck (peak inspiratory pressure)
PMN	pigmentkernige neutrophile Granulozyten (polymorphonuclear neutrophils)
PRM	Postrekrutment
RM	Rekrutierungsmanöver
RT	Raumtemperatur
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SIRS	systemisches inflammatorisches Response Syndrom (systemic inflammatory response syndrome)
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumornekrosefaktor
u	Einheiten (units)
U/min	Umdrehungen pro Minute
VILI	beatmungsinduzierter Lungenschaden (ventilator induced lung injury)
V <sub>t</sub>	Tidalvolumen (tidal volume)
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

## **Danksagung**

Ich danke Professor Dr. N. Roewer für die Vergabe des Themas, die Bereitstellung der Arbeitsplätze und die Durchsicht der Arbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Jörg Brederlau danke ich für die freundliche Überlassung dieses Themas und die Durchsicht der Niederschrift.

Herrn Dr. med. Ralf Muellenbach danke ich besonders für die intensive Betreuung, die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und bei der Durchsicht der Arbeit.

Danken möchte ich auch meinen Eltern für die Unterstützung während meines Studiums.