

P

Aus der Klinik für Plastische, Hand- und Wiederherstellungschirurgie,
Brandverletztenzentrum,
der
Medizinischen Hochschule Hannover
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Peter M. Vogt

**Immunomodulation der verbrennungsinduzierten
kardialen Dysfunktion –
pharmakologische Interventionsmöglichkeiten**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin in der
Medizinischen Hochschule Hannover

vorgelegt von Leif Claaßen aus Hannover

Hannover, 2011

Aus der Klinik für Plastische, Hand- und Wiederherstellungschirurgie,
Brandverletztenzentrum,
der
Medizinischen Hochschule Hannover
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Peter M. Vogt

**Immunomodulation der verbrennungsinduzierten
kardialen Dysfunktion –
pharmakologische Interventionsmöglichkeiten**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin in der
Medizinischen Hochschule Hannover

vorgelegt von Leif Claaßen aus Hannover

Hannover, 2011

Angenommen vom Senat der Medizinischen Hochschule Hannover am 01.07.2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Hochschule

Präsident: Prof. Dr. med. Dieter Bitter-Suermann

Betreuer der Arbeit: Univ.-Prof. Dr. med. Peter Michael Vogt

Referent: Prof. Dr. med. Gunnar Klein

Korreferent: Prof. Dr. med. Jens Jordan

Tag der mündlichen Prüfung: 01.07.2011

Promotionsausschussmitglieder:

Prof. Dr. med Tobias Welte

Prof. Dr. med. Carlos Guzman

PD Dr. med. Frank Gossé

In großer Dankbarkeit widme ich diese Arbeit meiner Familie.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungsverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	X
1 <u>Einleitung</u>	1
2 <u>Stand der Forschung</u>	3
2.1 Die Verbrennung	3
2.1.1 Empirie und Pathogenese	3
2.1.2 Klinische Klassifikation des Verbrennungstraumas	4
2.1.3 Myokardiale Dysfunktion	5
2.2 Kardiodepressive Zytokine	7
2.2.1 TNF- α	7
2.2.2 IL-1 β	7
2.2.3 IL-6	8
2.3 Der inflammatorische Reflex	8
2.4 Nikotin und der nikotinerge Acetylcholinrezeptor	10
2.5 Hypothese der Studie und Fragestellungen	12
3 <u>Material und Methoden</u>	13
3.1 Studiendesign und Versuchstiergruppen	13
3.2 Versuchstiere	14
3.3 Narkose	15
3.4 Experimentelle Verbrennungsverletzung	15
3.5 Volumenersatz	16

3.6	Transdermale Nikotingabe	17
3.7	Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels	17
3.8	Organentnahme	20
3.9	Organhomogenisate	21
3.10	ELISA	22
3.10.1	TNF- α -, IL-1 β - und IL-6-ELISAs	22
3.10.2	Cotinin-ELISA	22
3.11	Statistische Analyse	23
4	Ergebnisse	24
4.1	Cotininkonzentrationen in Seren	24
4.2	Zytokinkonzentration in Organhomogenisaten	25
4.2.1	Herzhomogenisate	26
4.2.2	Leberhomogenisate	28
4.2.3	Milzhomogenisate	30
4.2.4	Nierenhomogenisate	32
4.2.5	Lungenhomogenisate	34
4.3	Mikrokatheterergebnisse	36
4.3.1	Blutdruckparameter	36
4.3.2	Systole	39
4.3.3	Diastole	41
4.3.4	Herzfrequenz und Herzzyklusdauer	43
5	Diskussion	45
5.1	Material und Methoden	45
5.2	Immunreaktion nach einem Verbrennungstrauma	49
5.3	Myokardiale Funktionsanalyse	51
5.3.1	Blutdruckparameter	52
5.3.2	Systole	54
5.3.3	Diastole	54

5.3.4 Herzfrequenz und Herzzyklusdauer	55
5.4 Nikotin als additive immunomodulatorische Therapieoption des Verbrennungstraumas	55
6 Zusammenfassung	58
7 Literaturverzeichnis	60
Material und Geräte	XI
Danksagung	
Curriculum vitae	
Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 6 und 7 PromO	

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
ANOVA	Analysis Of Variance
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Fa.	Firma
GP	Glykoprotein
h	Stunde
HMGB-1	High Mobility Group Box-1
HRP	Horseradish Peroxidase
I κ B	Inhibitorische- κ B-Protein
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
JAK	Januskinase
kDa	Kilodalton
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
M	Mol
MAPK	Mitogen Aktivierte Protein Kinase
Max.	Maximal
Min.	Minimal
mM	Millimol
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mRNS	Messenger Ribonukleinsäure
N.	Nervus
Nn.	Nervi
n. s.	nicht signifikant
nAChR	nikotinerger Acetylcholinrezeptor
NF- κ B	Nuclear Factor- κ B
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoffmolekül
PBS	Phosphat-gepufferte Saline
RIPA	Radioimmunoprecipitation Assay

STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
V.	Vena
Vv.	Venae
Vs.	Versus
ZNS	zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

	Seite	
Abb. 2-1	Verbrennungsgrade	4
Abb. 2-2	Der inflammatorische Reflex	10
Abb. 3-1	Anordnung der Versuchstiergruppen	14
Abb. 3-2	Applikation des Nikotinplasters	17
Abb. 3-3	Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels	18
Abb. 3-4	Druckkurve des linken Ventrikels	20
Abb. 4-1	Cotininkonzentrationen in Seren	24
Abb. 4-2	Zytokinkonzentrationen in Herzhomogenisaten	26
Abb. 4-3	Zytokinkonzentrationen in Leberhomogenisaten	28
Abb. 4-4	Zytokinkonzentrationen in Milzhomogenisaten	30
Abb. 4-5	Zytokinkonzentrationen in Nierenhomogenisaten	32
Abb. 4-6	Zytokinkonzentrationen in Lungenhomogenisaten	34
Abb. 4-7	Blutdruckparameter	36
Abb. 4-8	Exemplarische individuelle Darstellung des systolischen Blutdruckes	37
Abb. 4-9	Systole	39
Abb. 4-10	Diastole	41
Abb. 4-11	Herzfrequenz und Herzzyklusdauer	43
Abb. A-1	Kalibrierungskurven der vier TNF- α -ELISA-Platten	XIV
Abb. A-2	Kalibrierungskurven der vier IL-1 β -ELISA-Platten	XV
Abb. A-3	Kalibrierungskurven der vier IL-6-ELISA-Platten	XVI
Abb. A-4	Kalibrierungskurven der Cotinin-ELISA-Platte	XVII

1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit und die zugrundeliegenden Experimente sollen verifizieren, ob die Ausschüttung kardiodepressiver Zytokine nach einem thermischen Trauma durch die transdermale Applikation von Nikotin reduziert werden kann und ob dies einen positiven Effekt auf die myokardialen Funktionsparameter hat. Die Ergebnisse vorangegangener Forschungsarbeiten, auf denen die Fragestellungen und das Konzept der Arbeit basieren, sind im Folgenden dargestellt.

Die Immunantwort auf einen Entzündungsreiz unterliegt vielen stimulierenden und hemmenden Einflüssen mit dem Ziel der Herstellung eines Gleichgewichts. Dieses Gleichgewicht ist bei einem thermalen Trauma gestört, woraus eine überschießende Immunreaktion folgt (Greenhalgh, Saffle et al. 2007, Oke, Tracey 2008). Zentrale Punkte der verbrennungsinduzierten Immunreaktion sind die vermehrte Produktion und Freisetzung proinflammatorischer Zytokine (Maass, White et al. 2002, Niederbichler, Westfall et al. 2006). Experimentell konnten drei dieser proinflammatorischen Zytokine, TNF- α , IL-1 β und IL-6, eine kardiodepressive Wirkung zugeordnet werden. Sie trugen entscheidend zur Pathogenese der verbrennungsinduzierten kardialen Dysfunktion bei und wirkten dabei synergistisch (Maass, White et al. 2002, Giroir, Horton et al. 1994, Horton 2004, Gauglitz, Song et al. 2008). Die Konzentrationen der genannten Zytokine erreichten ihre Maximalwerte nach einem experimentellen Verbrennungstrauma im Zeitraum zwischen 12 h und 24 h (Gauglitz, Song et al. 2008).

Die proinflammatorische Wirkung der genannten Zytokine wird durch das Komplementsystem, freie Sauerstoffradikale und NO gesteigert. Dem steht die Aktivität des *N. vagus* gegenüber (Horton, White et al. 1988, Kawada, Yamazaki et al. 2006, Hoesel, Niederbichler et al. 2007). Der Vagustonus stellt einen der Mechanismen dar, die antiinflammatorisch wirken und dadurch die überschießende Immunreaktion begrenzen. Er beeinflusst die Immunantwort auf bakterielle Endotoxine und reduziert die Sekretion systemisch wirksamer proinflammatorischer Zytokine. Der Vagustonus scheint somit eine wesentliche Rolle bei der endogenen Antwort auf einen entzündlichen Stimulus zu spielen (Gaykema, Dijkstra et al. 1995, Fleshner, Goehler et al. 1998). Die Basis für die immunmodulierende Wirkung des *N. vagus*, die auch inflammatorischer Reflex genannt wird, ist die Aktivierung des nAChR. Die Exposition von Acetylcholin führte über diesen Rezeptor zu einer Blockierung der Sekretion proinflammatorischer Zytokine aus Makrophagen (Wang, Yu et al. 2003).

Es wurde weiterhin gezeigt, dass die Stimulation der parasympathischen antiinflammatorischen Mechanismen durch den nAChR-Agonisten Nikotin möglich ist (de Jonge, Ulloa 2007). In klinischen Studien konnte der Nikotinapplikation ein positiver Effekt auf Remissionsdauer und Inzidenz der chronisch-entzündlichen Darmerkrankung Colitis ulcerosa nachgewiesen werden (Sandborn, Tremaine et al. 1997, Guslandi 1999). Zusätzlich fanden sich bei Zigaretten rauchenden Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen geringere Mengen proinflammatorischer Zytokine in der Mukosa des Kolons als bei nicht rauchenden Patienten mit der gleichen Grunderkrankung (Sher, Bank et al. 1999). Diese Ergebnisse dürfen nicht als Effekt des Rauchens gedeutet werden, sondern weisen allein auf die Wirkung des Nikotins als Medikament hin. Mit der hier vorliegenden Studie soll im Hinblick auf die Therapie des Verbrennungstraumas ein weiterer Aspekt der immunmodulierenden Wirkung des Nikotins untersucht werden.

2 Stand der Forschung

2.1 Die Verbrennung

2.1.1 Empirie und Pathogenese

In Deutschland werden bis zu 355.000 Verbrennungsverletzungen pro Jahr ambulant und zusätzlich ungefähr 15.000 Patienten mit schwereren Brandverletzungen stationär versorgt. Von den stationär behandelten Patienten müssen ungefähr 30-40 % in spezielle Verbrennungszentren überwiesen werden (Statistisches Bundesamt 2009, Spanholtz, Theodorou et al. 2009).

Bis zu einer Grenze von ungefähr 40 °C kann der Körper lokal umschriebene Hitzeeinflüsse kompensieren. Sind die Fähigkeiten der Kompensation von Hitzeeinflüssen überschritten, kommt es zunächst zur Degeneration und schlimmstenfalls zur Denaturierung körpereigener Proteine. Die Verbrennungswunde zeigt Dreidimensionalität, verschiedene Traumazonen lassen sich innerhalb der Wunde abgrenzen. Im Zentrum der Verbrennungswunde bildet sich eine Koagulationszone aus, die von einer sich daran anschließenden mittleren Stasezone und – weiter nach außen – von einer peripher gelegenen Hyperämiezone umgeben ist (Jackson 1953).

Lokal entwickelt sich an dem Ort der thermischen Schädigung eine Endothelschädigung mit Ausbildung eines Kapillarlecks. Dieses bewirkt einen Austritt von Flüssigkeit in das Interstitium mit konsekutiver Ödembildung. Dessen Entstehung wird zusätzlich durch den Austritt von Proteinen begünstigt, die den kolloidosmotischen Druck des Interstitiums erhöhen. Es folgt ein Circulus vitiosus, der in einem Volumenmangelschock münden kann (Baxter, Waeckerle 1988).

Neben dem äußeren Integument können auch Schleimhäute durch ein thermales Trauma betroffen sein. Insbesondere gilt das für die Schleimhäute des oberen Respirationstraktes bei Verbrennungen mit heißen Dämpfen oder Bränden in geschlossenen Räumen. Die Folge ist ein sogenanntes Inhalationstrauma mit graduellen pathologischen Veränderungen der Lunge bis hin zum häufig kompliziert und letal verlaufenden Acute Respiratory Distress Syndrome nach der Definition der amerikanisch-europäischen Konsensus-Konferenz (Ashbaugh, Bigelow et al. 1967, Bernard, Artigas et al. 1994). Kennzeichnend sind ein akuter Beginn mit vermindertem arteriellem Sauerstoffpartialdruck und radiologisch sichtbare beidseitige Lungeninfiltrate.

Die durch ein Verbrennungstrauma hervorgerufene proinflammatorische Immunreaktion führt zu einem SIRS nach der Definition der American Burns Association aus dem Jahr 2007 (Greenhalgh, Saffle et al. 2007). Klinische Kriterien sind Hyperthermie, Tachykardie, Leukozytose, Tachypnoe und Hyperventilation. Besteht zusätzlich eine Infektion handelt es sich per Definition um eine Sepsis (Greenhalgh, Saffle et al. 2007, Bone, Balk et al. 1992). Die schwere Sepsis mit Organversagen ist der häufigste Grund für das Versterben von Schwerbrandverletzten (Hotchkiss, Karl 2003). Das Zusammenwirken des Verbrennungstraumas selber und der dadurch induzierten Infektion und Sepsis wurde als „Two-hit-model“ beschrieben (Moore, Moore 1995).

2.1.2 Klinische Klassifikation des Verbrennungstraumas

Die Schwere des thermischen Traumas wird nach den geschädigten Hautschichten in die Grade 1 bis 4 unterteilt (**Abb. 2-1**). Eine Verbrennung ersten Grades umfasst die Epidermis und ist durch eine narbenlos abheilende Rötung gekennzeichnet. Bei einer zweitgradigen Verbrennung ist zusätzlich die Dermis betroffen und es kommt zu einer Blasenbildung als Zeichen der subepidermalen Schädigung. Aufgrund der Tiefenausdehnung und damit einhergehend aufgrund der therapeutischen Relevanz unterteilt man diesen Grad in Grad 2a und 2b. Der Grad 2a heilt spontan und wird konservativ behandelt, wobei der Grad 2b nicht spontan ausheilt und meist einer chirurgischen Therapie bedarf (Baxter, Waeckerle 1988).

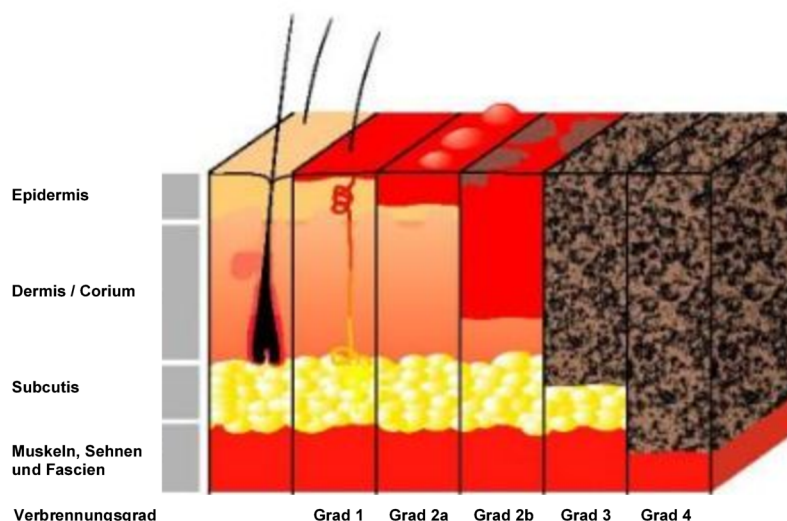


Abb. 2-1 Verbrennungsgrade, modifiziert nach (Stock 2010)

Von links nach rechts zunehmender Grad der Verbrennung, einhergehend mit zunehmender Schädigung der tieferen Hautschichten.

Ab Grad 3 ist zusätzlich die Subcutis geschädigt, es handelt sich um eine tief dermale Verletzung. Durch die Koagulation der kapillarführenden Schichten und die daraus folgende Minderperfusion der Dermis bilden sich Nekrosen aus, die eine Spontanheilung unmöglich machen. Bei einer Verbrennung vierten Grades sind tiefere Schichten betroffen, weshalb in der Literatur manchmal auch von einer Verkohlung gesprochen wird. Passender ist jedoch die Definition, wonach eine viertgradige Verbrennung die Verletzung funktioneller Strukturen wie Faszien, Muskeln und Sehnen beinhaltet (Baxter, Waeckerle 1988).

Prognostisch wichtig ist die Flächenausdehnung verbrannter Haut in Prozent der KOF. Bei Verbrennungspatienten errechnet man sie anhand der so genannten „Neunerregel“ nach Wallace (Kyle, Wallace 1950). Danach bilden ein Unterschenkel, ein Oberschenkel, ein Arm und der Kopf jeweils 9 % der KOF. Hinzu kommen jeweils 18 % für den vorderen und hinteren Torso und das letzte Prozent entspricht dem Genitale. Als Anhaltspunkt gilt ebenfalls die Handfläche, die einem Prozent der KOF entspricht (Kyle, Wallace 1950). Für die Berechnung werden dritt- und viertgradig verbrannte Areale voll und zweitgradig verbrannte Areale halb mit einbezogen. Beim Kind und beim Kleinkind verfährt man nach dem gleichen Prinzip, wobei dem im Verhältnis zum Erwachsenen größeren Kopf und den kleineren Extremitäten durch eine andere Gewichtung Rechnung getragen wird (Baxter, Waeckerle 1988).

2.1.3 Myokardiale Dysfunktion

Große Bedeutung für die Letalität des Verbrennungstraumas haben die Infektion der Brandwunde mit der Gefahr der Ausbildung einer Sepsis und das durch die unkontrollierte Immunreaktion ausgelöste (Multi-) Organversagen (Saffle, Sullivan et al. 1993, Church, Elsayed et al. 2006).

1984 wurden in einer Arbeit Adams die negativen Auswirkungen des thermalen Traumas auf die Herzfunktion beschrieben. Diese Forschungsgruppe stellte experimentell ein posttraumatisch vermindertes Herzminutenvolumen und einen vom enddiastolischen Druck unabhängigen erniedrigten systolischen Blutdruck fest (Adams, Baxter et al. 1984). Horton und Kollegen beschrieben erstmalig eine intrinsische myokardiale kontraktile Dysfunktion, deren Ausbildung durch Flüssigkeitsersatz allein weder verhindert noch therapiert werden kann (Horton, White et al. 1988). Dies führten sie auf eine Zellschädigung durch freie Sauerstoffradikale zurück. In einer weiteren Arbeit bestätigte die Gruppe um Horton Baxters Ergebnisse, wonach nach einem thermalen Trauma ein erniedrigter systolischer Blutdruck

vorliegt (Horton 2004). Die kontraktile Dysfunktion des Myokards konnte bis auf die Ebene einer einzelnen Zelle experimentell nachgewiesen werden. Einzelzellanalysen ergaben eine Stunde nach Verbrennung eine verminderte Sarkomerverkürzung (Niederbichler, Westfall et al. 2006).

Sambol und Kollegen stellten heraus, dass eine Ligation der Lymphbahnen des Darmes die verbrennungsinduzierte Kardiodepression lindert. Sie machten deshalb im Magen-Darm-Trakt sezernierte Zytokine wie TNF- α , IL-1 β und IL-6 für die Kardiodepression verantwortlich (Sambol, White et al. 2002), die bereits 24 h nach einem Verbrennungstrauma festgestellt werden konnte (Horton 2004). Maass und Kollegen wiesen in einem Verbrennungstraumamodell einen Anstieg der Creatinkinase als Anzeichen für die Schädigung der Kardiomyozyten nach, der mit den Konzentrationen von TNF- α , IL-1 β und IL-6 korrelierte (Maass, White et al. 2002).

Neuere Studien wiesen auf ein weiteres kardiodepressives Zytokin hin. Das HMGB-1 ist ein 30 kDa schweres nukleäres Protein, das in fast allen Zellen zu finden ist (Wang, Yang et al. 2004). Es wird passiv bei der Lyse nekrotischer Zellen und aktiv im Rahmen einer Immunreaktion durch Monozyten, Makrophagen und neutrophile Granulozyten freigesetzt (Wang, Yang et al. 2004, Yang, Wang et al. 2005).

Die Stimulation durch HMGB-1 bewirkt eine Akkumulation von neutrophilen Granulozyten, die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 β und TNF- α und eine erhöhte Permeabilität des Endothels (Wang, Yang et al. 2004, Yang, Wang et al. 2005). Tzeng und Kollegen konnten bei einer Studie mit isolierten feline Myokardzellen nachweisen, dass HMGB-1 in Folge eines verringerten Calcium-Einstroms in die Myokardzellen einen negativ inotropen Effekt hat. Dies ging mit einer verminderten Sarkomerverkürzung von bis zu 70 % einher (Tzeng, Fan et al. 2008). HMGB-1 scheint zusätzlich ein weiterer wichtiger Mediator für die Manifestation der Sepsis und für deren kardiodepressive Wirkung zu sein (Wang, Yang et al. 2004, Tzeng, Fan et al. 2008).

Im Gegensatz zu den klassischen frühen Mediatoren der Immunreaktion wie TNF- α hat das HMGB-1 eine verzögerte Kinetik mit einem Plateau nach 16 bis 32 h (Wang, Yang et al. 2004, Andersson, Tracey 2004). Das legt die Hypothese nahe, dass es eher eine Bedeutung für die Aufrechterhaltung der verbrennungsinduzierten kardialen Dysfunktion hat. Dieser Sachverhalt und die Prüfung der genannten Hypothese sind Gegenstand aktueller weiterer Studien zur Evaluation der Langzeitkinetik der myokardialen Funktionsparameter nach einem Verbrennungstrauma und des Einflusses des HMGB-1.

2.2 Kardiodepressive Zytokine

2.2.1 TNF- α

Das 26 kDa schwere Zytokin TNF- α wirkt über drei Gruppen von membranständigen TNF- α -Rezeptoren. Die erste Gruppe aktiviert Caspasen und führt dadurch zur Apoptose. Die zweite Gruppe induziert Signaltransduktionswege über MAPK und den NF- κ B-Signalweg und beeinflusst darüber die Genexpression. Die MAPKs sind Teil einer Signalkaskade von der Rezeptorbindung des TNF- α bis hin zur Translation und Transkription der Zielproteine wie zum Beispiel IL-1 β (Yang, Wang et al. 2005, Pearson, Robinson et al. 2001). NF- κ B bezeichnet mehrere DNS-bindende Transkriptionsfaktoren, die die Genexpression regulieren (Karin, Ben-Neriah 2000). Bei der dritten Gruppe von TNF- α -Rezeptoren handelt es sich um Rezeptoren, die keine Signaltransduktion induzieren. Sie regulieren die Konzentration von ungebundenem TNF- α und somit die Aktivität der Rezeptoren der ersten und zweiten Gruppe (Hehlhans, Pfeffer 2005).

Hauptsächlich wird TNF- α von Makrophagen und Monozyten sezerniert (Akira, Hirano et al. 1990). Es stimuliert die Freisetzung von IL-1 β und IL-6 und erhöht die Phagozytoseleistung der Makrophagen und neutrophilen Granulozyten (Akira, Hirano et al. 1990, Dinarello 1988, Kirchner 1993). Nach Wang und Kollegen ist TNF- α für die Ausprägung und den akuten Verlauf des septischen Schocks verantwortlich (Wang, Yang et al. 2004). Zusätzlich führt es durch ein vermindertes Herzzeitvolumen und das Induzieren von Mikrothromben und Kapillarlecks zu Organschäden (Tracey 2002).

2.2.2 IL-1 β

IL-1 β hat eine Molekülmasse von 30,75 kDa und wird insbesondere von Blutmonozyten, neutrophilen Granulozyten und Gewebsmakrophagen sezerniert. Hauptstimulator für die Synthese sind Endotoxine oder Lipopolysaccharide (Eder 2009). Von den zwei IL-1-Rezeptoren scheint nur der Typ-I-Rezeptor eine Rolle zu spielen. Darüber wird eine G-Protein-gekoppelte Kinase-Kaskade in Gang gesetzt, deren zentraler Bestandteil die MAPKs sind (Pearson, Robinson et al. 2001).

IL-1 β aktiviert T-Zellen und über eine gesteigerte Freisetzung von IL-6 auch B-Zellen. Die Adhäsionsfähigkeit von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten wird erhöht und die Histaminsekretion aus basophilen Granulozyten wird gefördert (Dinarello 1988). Als Akute-Phase-Protein sorgt IL-1 β für die Freisetzung vieler Zytokine, die Bildung

von Adhäsionsmolekülen durch Endothelzellen und die erhöhte Produktion von Prostaglandinen und Leukotrienen (Kirchner 1993, Church, Cook et al. 2008). Hämodynamische Auswirkungen sind eine gesteigerte Herzfrequenz und aufgrund eines gesenkten peripheren Widerstandes eine Hypotonie (Dinarello 1988).

2.2.3 IL-6

IL-6 ist ein 20-30 kDa schweres Protein, wurde 1980 entdeckt und hat einen weitreichenden Einfluss auf die Immunreaktion. Es steigert die Phagozytoseleistung von Monozyten (Kirchner 1993) und induziert die Differenzierung der B-Zellen zu Plasmazellen, deren Antikörperproduktion erhöht wird (Kirchner 1993, Kishimoto 1989). T-Lymphozyten werden durch IL-6 aktiviert und die Hämatopoese gesteigert (Kishimoto 1989). Zusätzlich ist es ein Teil der Akute-Phase-Reaktion und wirkt wie TNF- α und IL-1 β als ein starkes Pyrogen (Helle, Brakenhoff et al. 1988, Nijsten, Hack et al. 1991).

Diese Effekte werden über den IL-6-Rezeptor vermittelt. Wenn IL-6 an den IL-6-Rezeptor bindet, assoziiert der Rezeptor mit dem GP 130 (Rivest, Lacroix et al. 2000). An das GP 130 sind JAKs angegliedert, die Transkriptionsfaktoren der Familie STAT phosphorylieren. Es folgt die Translokation der STATs in den Zellkern, in dem sie als Transkriptionsfaktoren wirken (Leonard 2001).

Sezerniert wird IL-6 von einer Vielzahl von Zellen wie mononukleäre Zellen, B- und T-Lymphozyten, Fibroblasten und Endothelzellen (Akira, Hirano et al. 1990, Kirchner 1993). Hauptsächlich wird IL-6 von mononukleären Zellen produziert (Bauer, Ganter et al. 1988). Maass und Kollegen stellten später dar, dass Myokardzellen neben TNF- α und IL-1 β auch IL-6 freisetzen (Maass, White et al. 2002). Stimulierend auf die IL-6-Sekretion wirken Lipopolysaccharide, IL-1 β und TNF- α (Kishimoto 1989).

2.3 Der inflammatorische Reflex

Es besteht eine bidirektionale Kommunikation zwischen dem Nerven- und dem Immunsystem (Blalock 2005, Andersson 2005). Schon 1984 wurde durch Blalock erstmals eine Verbindung des Nervensystems mit dem Immunsystem postuliert (Blalock 1984). Proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , IL-1 β und IL-6 können die Blut-Hirn-Schranke überqueren und über dort befindliche Rezeptoren direkt das ZNS beeinflussen (Rivest, Lacroix et al. 2000, Szelenyi 2001, Watkins, Maier 2005). Auch peripher exprimieren sensorische Neurone des *N. vagus* mRNS für den IL-1-Rezeptor, wodurch sie Informationen über die Immunreaktion

an das ZNS weiterleiten und damit eine Schaltstelle zwischen peripherer Immunreaktion und ZNS bilden (Watkins, Maier 2005). Andererseits hat das ZNS über den *N. vagus* einen entscheidenden Einfluss auf Immunreaktionen (Tracey 2002, Watkins, Maier 2005, Czura, Tracey 2005, Tracey 2007). Tracey bezeichnete die durch den *N. vagus* vermittelte antiinflammatorische Reflexreaktion des ZNS auf einen Entzündungsreiz als „inflammatorischen Reflex“ (**Abb. 2-2**) (Tracey 2002).

Der efferente Teil dieses Reflexes wurde der „cholinerge antiinflammatorische Pfad“ genannt, da der primäre Neurotransmitter Acetylcholin ist (Borovikova, Ivanova et al. 2000). Der *N. vagus* innerviert einen Großteil der inneren Organe, inklusive derer, die Teile des retikuloendothelialen Systems enthalten wie die Leber, die Milz, den Gastrointestinaltrakt, die Lunge und die Nieren. Die Zielzellen sind primär Makrophagen, welche effektiv inhibiert werden konnten (Tracey 2002, Watkins, Maier 2005, Czura, Tracey 2005, Tracey 2007). Auch die thymische Lymphozytenliberation wurde reduziert (Antonica, Magni et al. 1994). Durch einen erhöhten Vagustonus wurde aus Makrophagen weniger TNF- α , IL-1 β , IL-6 und HMGB-1 freigesetzt. Auch an anderen Organen wie dem Herz wurde direkt die Freisetzung von TNF- α und IL-1 β gehemmt (Wang, Liao et al. 2004)(Borovikova, Ivanova et al. 2000). Da die Konzentration von TNF- α -mRNS durch Stimulation des *N. vagus* unverändert blieb, scheint dieser Effekt posttranskriptional zu entstehen (Tracey 2002).

Der inflammatorische Reflex konnte auf zwei Wegen angeregt werden, pharmakologisch und elektrisch (Bernik, Friedman et al. 2002b). Der erste Weg war die pharmakologische Stimulation durch Acetylcholin und den Rezeptoragonisten Nikotin (Borovikova, Ivanova et al. 2000). Eine neuere spezifisch antiinflammatorische Substanz mit dem gleichen Wirkmechanismus war das CNI-1493 (Oke, Tracey 2008, Bernik, Friedman et al. 2002b). Es wirkte nur bei intakten *Nn. vagi* und verhinderte die Freisetzung von TNF- α und IL-1 β aus Makrophagen (Oke, Tracey 2008, Pearson, Robinson et al. 2001). Als zweiter Weg kam die direkte elektrische Stimulation des inflammatorischen Reflexes hinzu (Bernik, Friedman et al. 2002a, Altavilla, Guarini et al. 2006, Niederbichler, Papst et al. 2009). In einem Modell mit der Okklusion einer gastrointestinalen Arterie bei Ratten konnte hiermit experimentell die TNF- α -Produktion reduziert werden (Altavilla, Guarini et al. 2006). Diese Blockierung war ausschließlich bei Mäusen möglich, die die $\alpha 7$ -Untereinheit des nAChR exprimierten (Wang, Yu et al. 2003).

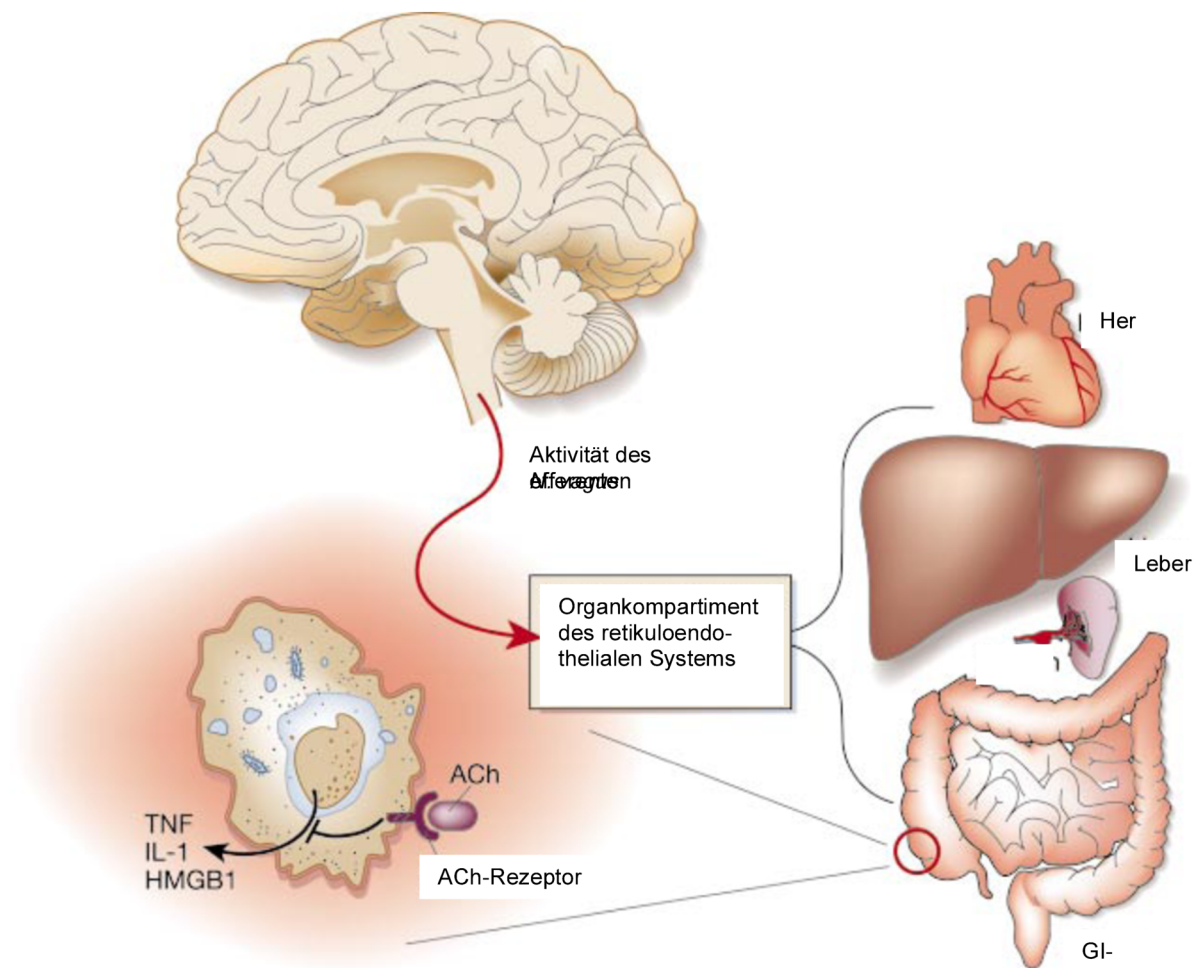


Abb. 2-2 Der inflammatorische Reflex, modifiziert nach (Tracey 2002)

Die Stimulierung der nAChR des *N. vagus* hemmt die Sekretion der proinflammatorischen Zytokine TNF, IL-1 und HMGB-1 aus Herz, Leber, Milz und Gastrointestinaltrakt.

Die Stimulation des *N. vagus* durch einen Entzündungsreiz hat weitere antiinflammatorische Wirkungen. Sie führte zu einem Anstieg von Corticotropin Releasing-Hormon und adrenocorticotropem Hormon, das zur Sekretion von antiinflammatorischen Glukokortikoiden führte (Gaykema, Dijkstra et al. 1995). Zusätzlich zeigten Mioni und Kollegen im Tiermodell, dass die Aktivierung des *N. vagus* auch bei Ischämie des Myokards einen positiven Effekt hatte, indem sie das Auftreten von Arrhythmien reduzierte (Mioni, Bazzani et al. 2005).

2.4 Nikotin und der nikotinerge Acetylcholinrezeptor

Die Substanz Nikotin gehört zu der chemischen Gruppe der Alkaloide. Es ist eine auf Nerven wirksame Substanz und wird deshalb auch als Nervengift bezeichnet. Nikotin wird in der

Wurzel der Tabakpflanze (*Nicotiana ssp.*) generiert und wirkt als Schutz gegen den Befall der Pflanze durch Fraßinsekten.

Neben der klassischen alveolären Resorption ist die transdermale Resorption beschrieben. Die transdermale Nikotinapplikation ist in der Raucherentwöhnung etabliert und fand in Studien mehrerer Forschungsgruppen Verwendung (Sandborn, Tremaine et al. 1997, Guslandi 1999, Sandborn 1999, Richardson, Morgan et al. 2003).

Die antiinflammatorische Wirkung des Nikotins wird über die $\alpha 7$ -Untereinheit des nAChR des Parasympathikus vermittelt (de Jonge, Ulloa 2007, Guslandi 1999, Sandborn 1999). Der $\alpha 7$ nAChR wird als transmembranöser Rezeptor auf der Zelloberfläche exprimiert, führt als ersten Signaltransduktionsweg über die JAK zur Phosphorylierung von Proteinkinase B und als zweiten Signaltransduktionsweg bei Makrophagen und Monozyten zur Inhibierung von NF- κ B (Oke, Tracey 2008, de Jonge, Ulloa 2007, Tracey 2007). NF- κ B ist aktiviert, wenn das I κ B ubiquitiniert ist (Karin, Ben-Neriah 2000). Dann kommt es zur Translokation der NF- κ B-Untereinheiten p65 und p50 in den Zellkern, wo sie die Transkription NF- κ B-abhängiger Gene stimulieren (de Jonge, Ulloa 2007). Dazu gehören die Gene proinflammatorischer Zytokine wie IL-6 und das Gen der induzierbaren NO-Synthetase. Die Aktivierung des $\alpha 7$ nAChR führt zur Aufrechterhaltung der Konzentration des nicht ubiquitinierten I κ B. Dadurch wird die Sekretion mehrerer proinflammatorischer Mediatoren wie TNF- α , IL-1 β und IL-6 vermindert (de Jonge, Ulloa 2007).

Der nAChR kann in vielen Organsystemen und Zellen nachgewiesen werden. Makrophagen und Monozyten exprimieren nAChR auf der Zellmembran. Eine Stimulierung mit Nikotin führt darüber zu verminderter Phagozytose, zur Inhibition der Sekretion proinflammatorischer Zytokine und zu einer verminderten Degradation intrazellulärer Proteine mit nachfolgend längerer Persistenz phagozytierter Mikroorganismen. In ähnlicher Weise gilt das für Histozyten und für die Mikroglia-Zellen des ZNS. Auch in T-Lymphozyten werden nAChR exprimiert. Die funktionelle Konsequenz einer Aktivierung ist unklar. Das gleiche gilt für B-Lymphozyten. Es wird diskutiert, ob der nAChR bei der Entwicklung zum reifen B-Lymphozyten eine Rolle spielt. Dendritische Zellen weisen in ihrer Zellmembran nAChR auf. Eine Aktivierung führt zu einer verminderten endozytotischen und phagozytotischen Aktivität. Daraus folgt eine verminderte Antigenpräsentation, die für die Initialisierung einer Immunreaktion wichtig ist. Weiter konnten nAChR im Nebennierenmark, in autonomen Ganglien, der motorischen Endplatte und in der Darmmukosa nachgewiesen werden (Wang, Yu et al. 2003, de Jonge, Ulloa 2007, Sandborn, Tremaine et al. 1997, Borovikova, Ivanova et al. 2000).

2.5 Hypothese der Studie und Fragestellungen

Die oben dargelegten Forschungsergebnisse legen die Hypothese nah, dass die pharmakologische Stimulation des *N. vagus* mittels Nikotin die Konzentration kardiodepressiver Zytokine verringert und dadurch die verbrennungsinduzierte myokardiale Dysfunktion positiv beeinflusst.

Daraus ergeben sich die zugrunde liegenden Fragestellungen:

- Zeigen sich unterschiedliche Konzentrationen der proinflammatorischen und kardiodepressiven Zytokine TNF- α , IL-1 β und IL-6 bei Versuchstieren nach einem Verbrennungstrauma im Vergleich zu Versuchstieren ohne Verbrennungstrauma?
- Wie verändern sich die kardialen Funktionsparameter nach einem experimentellen Verbrennungstrauma?
- Führt die posttraumatische transdermale Applikation von Nikotin zu verminderten Konzentrationen der proinflammatorischen Zytokine TNF- α , IL-1 β und IL-6?
- Kann die transdermale Applikation von Nikotin die posttraumatische kardiale Dysfunktion abschwächen?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign und Versuchstiergruppen

Die Einteilung der Versuchstiere umfasste sieben Gruppen mit jeweils fünf Versuchstieren. Zu den Gruppen gehörte eine Kontrollgruppe (Kontrolle). Die weiteren sechs Gruppen teilten sich in drei Gruppen, bei denen die Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels und die Organentnahme nach 12 h erfolgten, und drei Gruppen, bei denen dies nach 24 h geschah. Den beiden Zeitpunkten war jeweils eine Traumagruppe (12 h Trauma und 24 h Trauma), eine Traumagruppe plus Nikotinapplikation (12 h Pflaster und 24 h Pflaster) und eine Scheinkontrollgruppe (12 h Scheinkontrolle und 24 h Scheinkontrolle) zugeordnet.

Der Versuchsaufbau der einzelnen Gruppen entsprach folgender Anordnung:

- **Kontrollgruppe:** Die Versuchstiere blieben ohne jegliche Vorbehandlung. Sie wurden narkotisiert und anschließend erfolgten die Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels und die Organentnahme.
- **Traumagruppen:** Bei den Versuchstieren wurde zum Zeitpunkt $t = 0$ h eine experimentelle Verbrennungsverletzung durch Verbrühung induziert, worauf der Volumenersatz folgte. Die Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels und die Organentnahme wurden je nach Gruppe nach 12 h oder nach 24 h durchgeführt.
- **Traumagruppen plus Nikotinapplikation:** Bei den Versuchstieren wurde zum Zeitpunkt $t = 0$ h die experimentelle Verbrennungsverletzung durchgeführt. Es folgten unmittelbar der Volumenersatz und die Applikation des Nikotinpflasters. Nach 12 h oder nach 24 h erfolgten die Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels und die Organentnahme.
- **Scheinkontrollgruppen:** Die Versuchstiere erhielten nicht die experimentelle Verbrennungsverletzung. Diese wurde bei der Durchführung der Scheinkontrollverletzung mit einem Eintauchen der Versuchstiere in 24 °C warmes Wasser imitiert. Darauf folgten der Volumenersatz und die Applikation des Nikotinpflasters. Die Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels und die Organentnahme wurden nach 12 h oder nach 24 h durchgeführt.

Es wurden bei allen Versuchstieren die Herzen, Lebern, Milze, Nieren und Lungen entnommen und homogenisiert. Anschließend wurde bei allen Homogenisaten die TNF- α -

IL-1 β - und IL-6-Konzentration gemessen. Zusätzlich wurde in den Seren der Versuchstiere die Cotininkonzentration bestimmt.

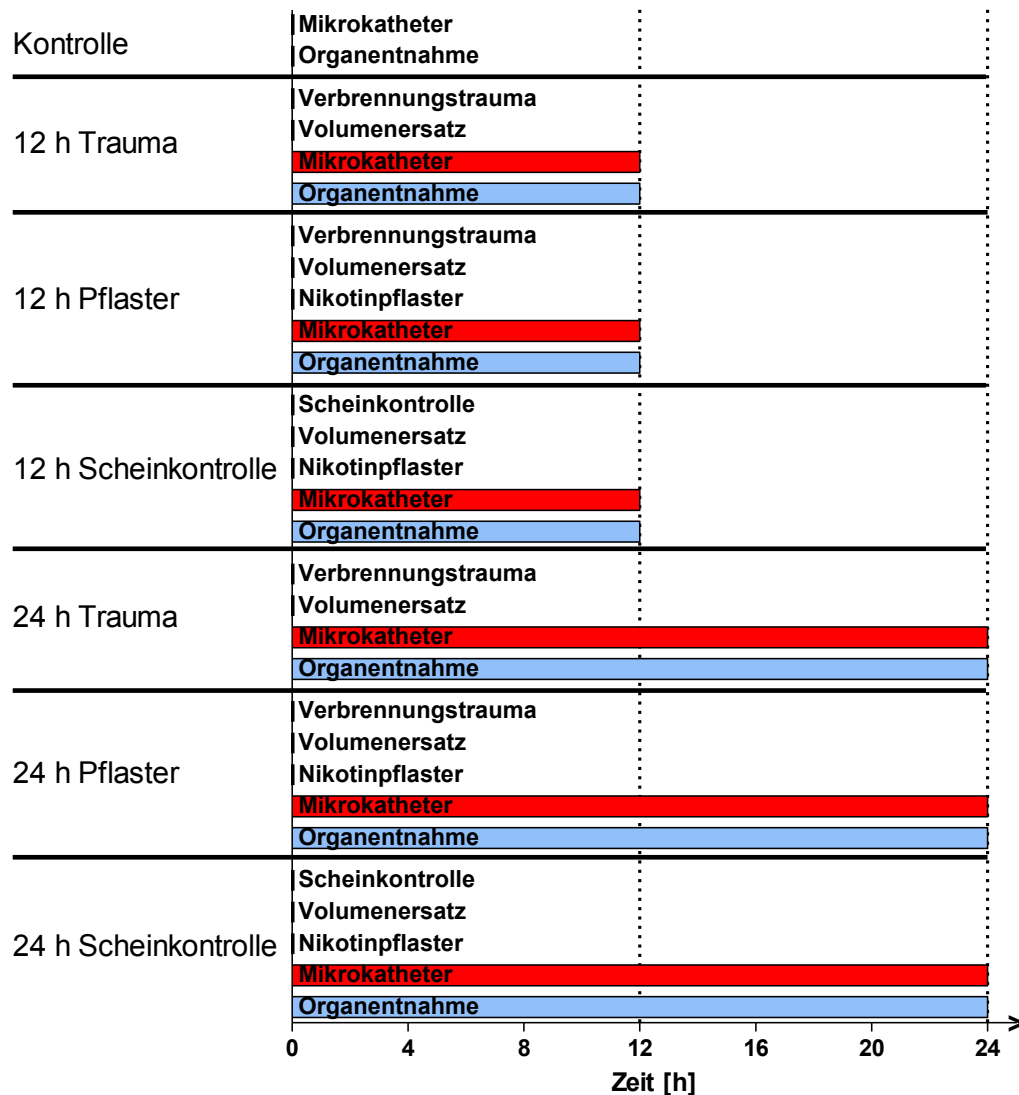


Abb. 3-1 Anordnung der Versuchstiergruppen

Die x-Achse stellt die Zeitachse mit der Markierung der drei Zeitpunkte $t = 0$ h, $t = 12$ h und $t = 24$ h dar. Von oben nach unten sind die verschiedenen Gruppen mit den jeweils durchgeführten Arbeitsschritten aufgeführt.

3.2 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden männliche 300 g bis 350 g schwere Ratten des Stammes Sprague Dawley von Charles River aus dem zentralen Tierlabor Hannover verwendet. Die Tiere erhielten während der gesamten Zeit Flüssigkeit und standardisierte Trockennahrung *ad libitum*. Vor dem Versuchsbeginn wurden sie in einer speziellen pathogenfreien Umgebung bei je zwei Ratten pro Käfig untergebracht. Für eine Woche blieben die Versuchstiere in

einem Hell-dunkel-Rhythmus von 10 h hell und 14 h dunkel. Zusätzlich wurden die Tiere im Verlauf dieser Woche an die Narkose-Box gewöhnt. Dem Trinkwasser der Versuchstiere wurde ab dem Zeitpunkt des Versuchsbeginns Metamizol in gewichtsadaptierter Dosierung zur Analgesie beigefügt. Nach der ersten Narkose mit den je nach Versuchstiergruppe unterschiedlichen Maßnahmen wurden die Tiere einzeln in vorbereitete Käfige gesetzt. Die Versuche wurden nach den Maßgaben und den Bestimmungen des Tierschutzgesetzes (TSchG) sowie der Deutschen Vereinigung für experimentelle Tierversuche durchgeführt (Tierversuchsnummer 05/1052.). Das Protokoll der Versuche wurde von dem universitären Komitee für den Gebrauch und Schutz von Versuchstieren und dem niedersächsischen Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit genehmigt.

3.3 Narkose

Die Narkose erfolgte mit Hilfe eines Isofluran-Vaporisators und einer Narkose-Box. Zur Befüllung der Narkose-Box wurden für drei Minuten bei einem O₂-Fluss von 2,5 l/min 5 % Isofluran zugeleitet. Für die Narkoseeinleitung blieb das Versuchstier drei Minuten in der Narkose-Box, der O₂-Fluss und die Isofluranbeimengung blieben unverändert. Während der Versuchsdurchführung wurden die Tiere über ein Mundstück narkotisiert. Die Narkoseaufrechterhaltung erfolgte bei einem O₂-Fluss von 2,0 l/min mit einer Beimengung von 3 % Isofluran.

Die Tiere waren zur experimentellen Verbrennungsverletzung, bei der Aufbringung des Nikotinplasters, bei der Linksherzkatheterisierung und bei der anschließenden Organentnahme narkotisiert. Die Narkosetiefe wurde regelmäßig während der Versuchsdurchführung kontrolliert.

3.4 Experimentelle Verbrennungsverletzung

Die narkotisierten Tiere wurden in Bauchlage gelagert. Zunächst wurden die Haare der Tiere mit handelsüblichem Schergerät und Depilationscreme im Bereich des Rückens bis in die laterale Bauchregion entfernt. Nach der Depilation wurden die Versuchstiere in einer vorgefertigten Plastischablone mit einer rechteckigen Aussparung gelagert. Die Größe der Aussparung berechnete sich nach einer Arbeit von Gilpin (KOF in cm² entspricht $9,466 \times (\text{KG der Ratte in g})^{2/3}$). 9,466 ist eine von Gilpin ermittelte Konstante (Gilpin 1996). Es wurde ein durchschnittliches Gewicht von 325 g angenommen, woraus sich eine

durchschnittliche KOF von 447,46 cm² ergab. Da eine KOF von 30 % verbrüht werden sollte, wurde eine 134,24 cm² große Aussparung benötigt. Das entsprach ungefähr einem Rechteck mit einer Länge von 15 cm und einer Breite von 9 cm.

Das durch die Plastikschaablone definierte Hautareal des narkotisierten Versuchstieres wurde für 40 Sekunden in auf 60 °C vorgewärmtes Wasser getaucht. Dadurch wurde ein thermisches Trauma dritten Grades induziert. Anhand von Petechien und der eintretenden Ödembildung war die ausreichende Verbrennungstiefe klinisch ersichtlich (**Abb. 3-2**) (Steintraesser, Fohn et al. 2001). Bei den Versuchstieren der Scheinkontrollgruppen war das Wasser lediglich auf 24 °C erwärmt. Umgehend nach der experimentellen Verbrennungsverletzung wurden die Tiere getrocknet und erhielten einen definierten Volumenersatz nach Baxter wie es in Kapitel 3.5 beschrieben wird.

3.5 Volumenersatz

In Anlehnung an die Akuttherapie eines thermalen Traumas beim Menschen wurde der zu erwartende Flüssigkeitsverlust nach der Parkland-Baxter-Formel ausgeglichen:

$$\text{Benötigtes Volumen pro Tag} = 4 \text{ ml} \times \% \text{ verbrannter KOF} \times \text{kg KG}$$

Diese kalkuliert den zu ersetzenden Volumenbedarf in den ersten 24 h nach dem Verbrennungstrauma auf 4 ml Flüssigkeit pro Prozent verbrannter KOF pro Kilogramm KG des Patienten (Baxter, Waeckerle 1988). Davon sollen je 50 % in den ersten 8 h und in den folgenden 16 h nach Verbrennung infundiert werden. Um eine weitere Narkosephase nach 8 h zu vermeiden, wurde die zweite Hälfte nicht injiziert.

Bei einem durchschnittlichen KG von 325 g und einer verbrannten KOF von 30 % ergibt sich daraus ein zu ersetzendes Flüssigkeitsvolumen von 19,5 ml. Zum Flüssigkeitsersatz wurde Ringer-Infusionslösung verwendet. Die eine Hälfte der zu ersetzenden Flüssigkeit wurde dem in Rückenlage gelagerten Tier intraperitoneal injiziert. Die andere Hälfte wurde in mehreren Dosen subkutan injiziert. Der Volumenersatz erfolgte direkt nach dem experimentellen Verbrennungstrauma, wozu das Tier unter Isofluran-Narkose verblieb.

3.6 Transdermale Nikotingabe

Die Größe des Nikotinplasters wurde in Anlehnung an eine Studie von Kalra und Kollegen anhand des Cotininspiegels im Serum eines starken Rauchers gewählt. Danach führt das Rauchen von zwei bis vier Packungen Zigaretten pro Tag zu einem mittleren Cotininspiegel im Serum von 850 ng/ml. Dieser Wert wurde durch eine Nikotindosis von 1,75 mg erreicht (Kalra, Singh et al. 2004). Das bei dieser Studie verwendete Nikotinplaster hat eine vom Hersteller angegebene Nikotindosis von 0,83 mg/cm². Daraus ergab sich eine benötigte Fläche des aufzuklebenden Nikotinplasters von ungefähr 2,1 cm². Dies entspricht einem Rechteck mit der Länge von 1,5 cm und der Breite von 1,4 cm. Ein Nikotinplaster dieser Größe wurde auf dem Nacken der Versuchstiere appliziert. Um Dislokationen zu verhindern, wurde es zusätzlich durch mehrere Einzelknopfnähte befestigt (**Abb. 3-2**). Nach diesem Schritt wurde die Narkose beendet und das Tier wurde in den vorbereiteten Käfig zurückgelegt.

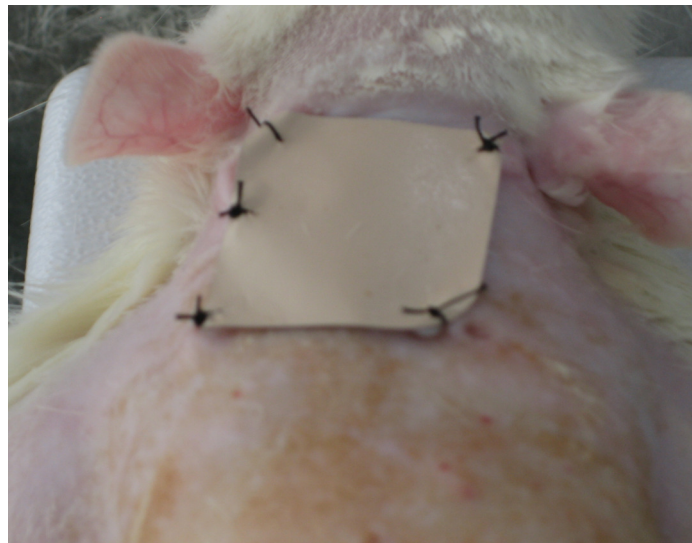


Abb. 3-2 Applikation des Nikotinplasters

Das Nikotinplaster ist im Nacken des Versuchstieres aufgebracht. Die Fixierung des Nikotinplasters via Einzelknopfnäht ist noch nicht komplett. Die experimentelle Verbrennungsverletzung ist erfolgt.

3.7 Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels

Die Mikrokatheterisierung des linken Herzventrikels erfolgte bei den Versuchstieren der Kontrollgruppe nach 0 h und bei den Traumagruppen, Traumagruppen plus Nikotinapplikation und Scheinkontrollgruppen 12 h oder 24 h nach der experimentellen

Verbrennungsverletzung beziehungsweise der Scheinkontrollverletzung. Das Versuchstier wurde dazu wiederum mit Isofluran narkotisiert. Der Operationstisch wurde steril abgedeckt. Das Tier lag in Rückenlage und wurde fixiert. Anschließend wurde das Tier mit einem sterilen Lochtuch abgedeckt. Daraufhin wurde es mit 1000 internationalen Einheiten intraperitoneal appliziertem Heparin antikoaguliert.

Ziel der Präparation war das Freilegen der rechten *A. carotis*. Initial erfolgte ein longitudinaler Halsschnitt in der Medianebene von der Mandibula bis zum Sternum. Anschließend wurde durch Spreizen mit der Präparierschere die Körperfaszie durchtrennt. Die darunter liegende Glandula thyroidea wurde mit Hilfe eines Hakens lateral des Präpariergebietes fixiert. Dadurch wurde ein muskuläres Dreieck sichtbar. Die mediale Begrenzung wurde durch einen longitudinal verlaufenden Muskelstrang gebildet. Zwei leicht schräg nach laterodorsal zur gedachten Spitze des Dreiecks ziehende Muskelstränge, der eine von kranial und der andere von kaudal kommend, bildeten die laterale Begrenzung des Dreiecks (**Abb. 3-3**).

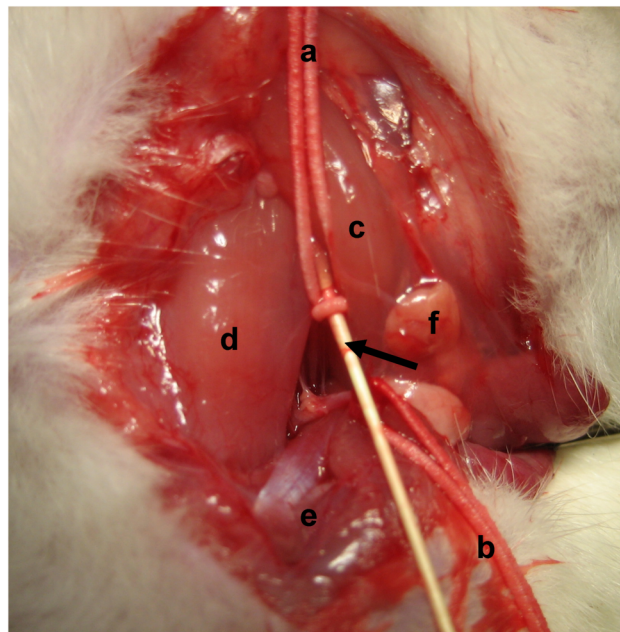


Abb. 3-3 Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels

Der Mikro-Tip Katheter liegt im Lumen der *A. carotis* (**Pfeil**). Zu sehen sind außerdem die zwei elastischen Bindfäden (**a** und **b**), der kaudale schräge Muskelstrang (**c**), der longitudinale Muskelstrang (**d**), der kraniale schräge Muskelstrang (**e**), und Teile der Schilddrüse (**f**).

Der von kaudal kommende schräge Muskelstrang konnte dann mit einem zweiten Haken ebenfalls nach lateral gezogen werden. Daraufhin war die *A. carotis* nebst begleitendem

N. vagus und *V. jugularis* meist schon für einen kleinen Abschnitt sichtbar. Eine verbesserte Sicht konnte durch Wegdrängen des longitudinal verlaufenden Muskelstranges nach medial erreicht werden. Anschließend konnte mit der Hilfe der gebogenen spitzen Pinzette die *A. carotis* mit *N. vagus* und *V. jugularis* aufgeladen werden.

Die isolierte und von Bindegewebe befreite *A. carotis* wurde dann auf eine von der linken Körperhälfte aus untergeschobene schmale anatomische Pinzette abgelegt. Durch das Loslassen der Pinzette wurde die *A. carotis* in einem Verlauf von ungefähr 1,5 cm gut sichtbar und zugänglich. Nun wurde der proximale Anteil der Arterie kaudal der kaudalen Pinzettenspange mit einem Biemer-Clip abgeklemmt. Der distale Anteil der Arterie wurde kranial der kranialen Pinzettenspange mit einem elastischen Bindfaden abgebunden, um einen Blutverlust aus diesem Anteil nach dem Einschneiden der Arterie zu verhindern. Ein zweiter elastischer Bindfaden wurde im kaudalen Drittel zwischen den Pinzettenspangen locker einmal um die Arterie gelegt.

Mit Hilfe der mikrochirurgischen Schere wurde die Arterie danach im kranialen Drittel zwischen den Pinzettenspangen um ungefähr die Hälfte des Gefäßdurchmessers eingeschnitten. Das Einschnittloch wurde daraufhin mit der gebogenen spitzen Pinzette etwas aufgeweitet. Jene Pinzette als Leitschiene nutzend konnte der Mikro-Tip Katheter bis zur kaudalen Pinzettenspange in die Arterie eingeführt werden. Anschließend wurden die schmale anatomische Pinzette und der Biemer-Clip entfernt. Damit konnte der Katheter bis zum linken Ventrikel vorgeschoben werden. Die richtige Lage wurde anhand der charakteristischen Druckkurve des linken Ventrikels (**Abb. 3-4**) überprüft, woraufhin der Katheter mit beiden Biemer-Clips fixiert wurde.

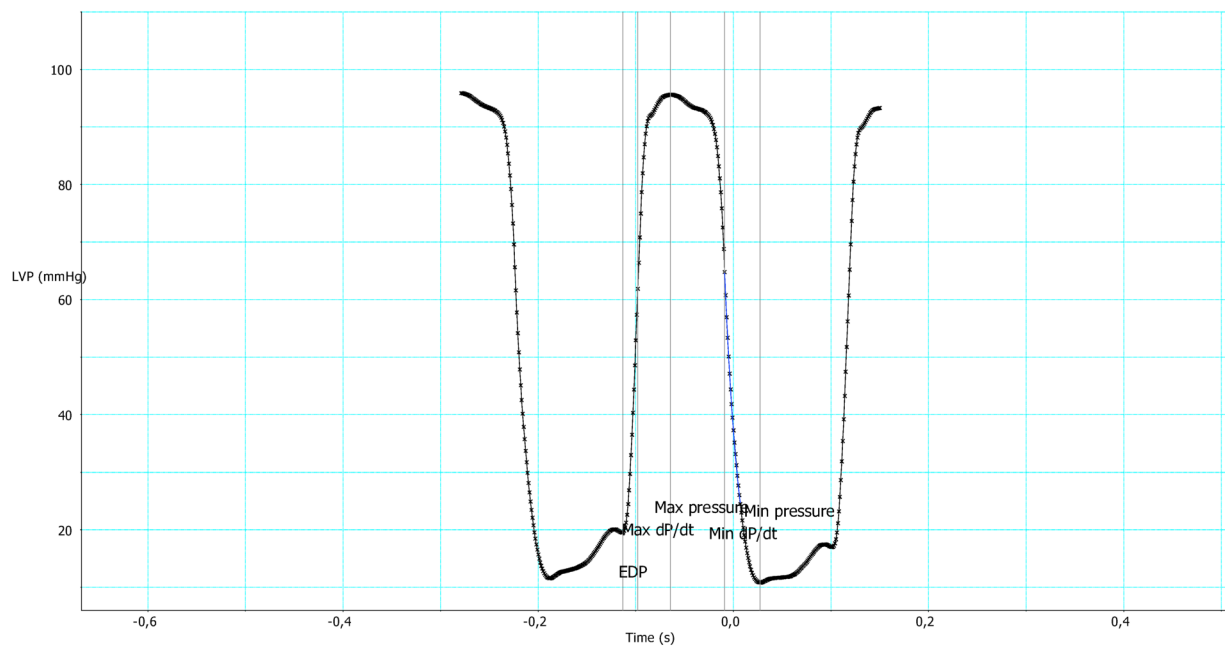


Abb. 3-4 Druckkurve des linken Ventrikels

Die x-Achse gibt die Zeitskala in Sekunden an. Die y-Achse stellt den linksventrikulären Blutdruck in mmHg dar. Von links nach rechts sind markiert: enddiastolischer Blutdruck, maximaler Druckanstieg pro Zeit (max dP/dt), systolischer Blutdruck, maximaler Druckabfall pro Zeit (min dP/dt), diastolischer Blutdruck.

Bei korrekter Lage wurden die Herzaktionen mit der Chart 5 pro Software für fünf Minuten aufgezeichnet. Nach Beendigung der Aufzeichnung wurden erst die Biemer-Clips gelöst und daraufhin der Katheter zurückgezogen. Die proximale *A. carotis* wurde abschließend mit einem Biemer-Clip abgeklemmt, um eine Blutung aus dem proximalen Anteil zu vermeiden.

3.8 Organentnahme

Die Organentnahme erfolgte direkt im Anschluss an die Mikrokatheterisierung. Dazu verblieb das Versuchstier unter Narkose. Die Lagerung des Tieres blieb unverändert. Zu Beginn der Präparation wurde über eine mit der breiten chirurgischen Schere durchgeführte große mediane Laparotomie Zugang zum Bauchraum erlangt. Anschließend wurde der Dünndarm mit einer anatomischen Pinzette zur rechten Körperseite weggedrängt, um zur *V. cava inferior* zu gelangen. Aus dieser wurde Blut für die Messung der Cotininkonzentration im Serum entnommen.

Direkt im Anschluss wurde ebenfalls mit der breiten chirurgischen Schere eine bilaterale Thorakotomie durchgeführt und das Diaphragma durchtrennt. Anschließend wurde das Herz mit der Präparierschere an den *Vv. cavae inferior* und *superior*, sowie an der *Aorta ascendens*

und an den *Aa. pulmonales* abgetrennt. Das aus dem Körper gelöste Herz wurde dann mit gekühlter PBS-Lösung durchgespült. Der linke Ventrikel wurde isoliert und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Die folgenden Organproben wurden ebenfalls mit gekühlter PBS-Lösung gesäubert und in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

Nach der Herzpräparation wurde mit der Präparierschere ein ungefähr 1 cm x 2 cm großes Präparat aus dem linken Leberlappen geschnitten.

Für die Milzentnahme wurden die Gefäße und Ligamenta der Milz durchtrennt. Durch zwei Schnitte wurde das Hilum der Milz sorgfältig entfernt und letzte sichtbare Reste des Bindegewebes beseitigt.

Darauf folgend wurde die linke Niere präpariert. Zunächst wurde sie aus ihrer Fettkapsel gelöst. Dann wurden die Hilusgefäße, das Nierenbecken und die fibröse Nierenkapsel entfernt.

Als letztes Organ wurde die Lunge präpariert. Durch die Entfernung des Herzens gut überschaubar konnte das Parenchym beider Lungenflügel geborgen werden. Anschließend wurden die Anteile des Gefäß- und Bronchialsystems sorgfältig entfernt.

Das entnommene Blut wurde bei 4 °C und 1000-facher Erdschwerebeschleunigung für 20 Minuten zentrifugiert. Daraufhin wurde das Serum abpipettiert und in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80 °C gelagert.

3.9 Organhomogenisate

Jedes entnommene Organ wurde homogenisiert. Die in dem jeweiligen Arbeitsabschnitt zu homogenisierenden Organe wurden in ihren Kryo-Röhrchen in flüssigem Stickstoff gelagert. Weiter vorbereitend musste zunächst der RIPA-Puffer in im Anhang genannter Zusammensetzung hergestellt werden. Zu jeweils 50 ml Puffer wurde dann je eine Tablette Complete[®] (Protease-Inibitor-Mix) hinzugefügt. Daraufhin kam in jedes Eppendorf-Reaktionsgefäß 1 ml des RIPA-Puffer-Complete-Gemisches und 100 mg des jeweiligen homogenisierten Organs. Zur Homogenisierung wurden die Organe in Stickstoff gemörsert und mit einem Homogenisator zerkleinert. Das Gemisch wurde sorgfältig durchmischt und anschließend bei 3000-facher Erdschwerebeschleunigung und 4 °C für 5 Minuten zentrifugiert. Abschließend wurde der Überstand in ein neues Kryo-Röhrchen pipettiert und schockgefroren. Die Organ-Homogenisate lagerten bei -80 °C.

3.10 ELISA

3.10.1 TNF- α -, IL-1 β - und IL-6-ELISA

Zu Beginn stand die Vorbereitung der ELISA-Platte (Coating). Dazu wurden jeweils 100 μ l des Capture-Antikörpers in jedes Well pipettiert. Die Platte wurde über Nacht in Dunkelheit zur Inkubation belassen. Am nächsten Tag wurde die Platte gewaschen. Ein Waschgang umfasste ein dreimaliges Auswaschen jedes Wells mit Waschpuffer aus einer Spritzflasche. Abschließend wurde der Waschpuffer durch Aufschlagen auf gut resorbierendes Papier augenscheinlich vollständig entfernt.

Nach dem Waschen wurde die Platte geblockt. Dazu wurde in jedes Well 300 μ l Reagent Diluent gegeben. Darauf folgte eine Inkubationszeit von einer Stunde. Mit einem abschließenden Waschgang war die Platte fertig für die Auftragung der Proben.

Anschließend wurden der Standard und die Proben aufgetragen. Dies erfolgte jeweils als Duplikat. Die Standardreihe wurde direkt aufgetragen, die Organhomogenisate wurden vorher mit Reagent Diluent verdünnt. Die Leber- und Milz-Homogenisate wurden im Verhältnis 1:100, die Nieren-, Lungen- und Herz-Homogenisate wurden im Verhältnis 1:10 verdünnt. Von den verdünnten Organhomogenisaten wurden jeweils 100 μ l in die entsprechenden Wells pipettiert.

Nach einer Inkubationszeit von zwei Stunden wurde die Platte gewaschen. Dann wurden jeweils 100 μ l Detection-Antikörper in der jeweiligen Arbeitskonzentration in die Wells pipettiert. Es folgten weitere zwei Stunden Inkubationszeit und ein Waschgang, wonach in jedes Well 100 μ l Streptavidin-HRP in Arbeitskonzentration pipettiert wurde. Anschließend wurde die Platte 20 Minuten in Dunkelheit zur Inkubation belassen. Es folgte ein weiterer Waschgang, woraufhin 100 μ l Substrate Solution in jedes Well pipettiert wurde. Die Platte wurde dann für 20 Minuten in Dunkelheit zur Inkubation belassen. Nach der letzten Inkubation wurde in jedes Well 50 μ l Stop Solution pipettiert.

Abschließend erfolgte die Messung der optischen Dichte bei einer Wellenlänge von 450 nm. Die Auswertung wurde durch Analyse eines Plattenlesegerätes der Fa. Tecan und der Software Magellan durchgeführt.

3.10.2 Cotinin-ELISA

Cotinin ist ein Abbauprodukt von Nikotin. Die Messung der Cotininkonzentration im Serum sollte die Nikotinaufnahme durch das aufgebrachte Nikotinplaster veranschaulichen. Der dazu verwendete ELISA wurde vom Hersteller so vorbereitet, dass das direkte Auftragen der Proben möglich war.

Diese wurden genauso wie die Standardreihe folglich im ersten Schritt pipettiert, jeweils als Duplikat. Anschließend wurde 100 µl Enzym Konjugat in jedes Well pipettiert und die Platte in Dunkelheit für 60 Minuten belassen. Darauf folgten ein Waschgang, der mit einer Spritzflasche durchgeführt wurde und ein sechsmaliges Ausspülen der Wells mit destilliertem Wasser umfasste. Die Platte wurde, den Waschgang abschließend, auf resorbierendem Papier ausgeklopft.

Anschließend wurde zu jedem Well 100 µl Substrate Reagent hinzu gegeben und die Platte abgedunkelt für 30 Minuten zur Inkubation belassen. Daraufhin wurde in jedes Well 100 µl Stop Solution pipettiert.

Abschließend erfolgte die Messung der optischen Dichte bei einer Wellenlänge von 450 nm. Die Auswertung wurde durch Analyse eines Plattenlesegerätes der Fa. Tecan und der Software Magellan durchgeführt.

3.11 Statistische Analyse

Die Datenerhebung fand an einem handelsüblichen PC statt. Es wurde dazu das Programm Microsoft Office Excel 2007 verwendet. Für die statistische Analyse und die Darstellung der Graphen wurde anschließend das Programm GraphPad Prism 5 benutzt. Die statistische Analyse umfasste für alle Vergleiche die Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt vom Tukeys post hoc Test und einem zweiseitigen Student's t-Test für zwei unverbundene Stichproben. Die statistische Signifikanz wurde ab einem p -Wert $< 0,05$ angenommen. Die Resultate wurden als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes angegeben.

Da diese Studie hypothesengenerierend ist, sind signifikante p -Werte als deskriptiv zu verstehen. Aufgrund der explorativen Fragestellung der Studie wurde auf eine Korrektur des Multiplizitätsproblems verzichtet.

Die Wahl der Fallzahl orientierte sich an drei Studien, die mit dem Verbrennungsmodell und mit der Gruppenzuordnung einen ähnlichen Versuchsaufbau hatten. Sambol und Kollegen nutzten 5-8 Ratten pro Versuchsgruppe, Horton nutze 4-5 Ratten pro Versuchsgruppe und die Arbeitsgruppe um Gauglitz verwendete 4 Ratten für die Kontrollgruppe und 8 Ratten für die restlichen Versuchsgruppen (Sambol, White et al. 2002, Horton 2007, Gauglitz, Song et al. 2008).

4 Ergebnisse

Bei den Abbildungen der Ergebnisse sind jeweils die Werte der Kontrollgruppe im Vergleich zu den 12 h-Gruppen und die Werte der Kontrollgruppe im Vergleich zu den 24 h-Gruppen gezeigt. Auf der y-Achse ist die jeweilige Maßeinheit mit Skala aufgetragen. Die x-Achse zeigt von links nach rechts die Kontrollgruppe mit der jeweiligen Traumagruppe, Traumagruppe plus Nikotinapplikation und Scheinkontrollgruppe. Die Ergebnisse sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. Für jede Abbildung wurden alle Gruppen miteinander statistisch verglichen. Mit Klammern sind auf den Abbildungen aus Gründen der Übersichtlichkeit lediglich angegeben, ob ein signifikanter Unterschied von der Kontrollgruppe zu der Traumagruppe vorliegt und ob ein signifikanter Unterschied von der Traumagruppe zu der Traumagruppe plus Nikotinapplikation besteht. Die Vergleiche der weiteren Kombinationen sind dem Text zu entnehmen.

4.1 Cotininkonzentrationen in Seren

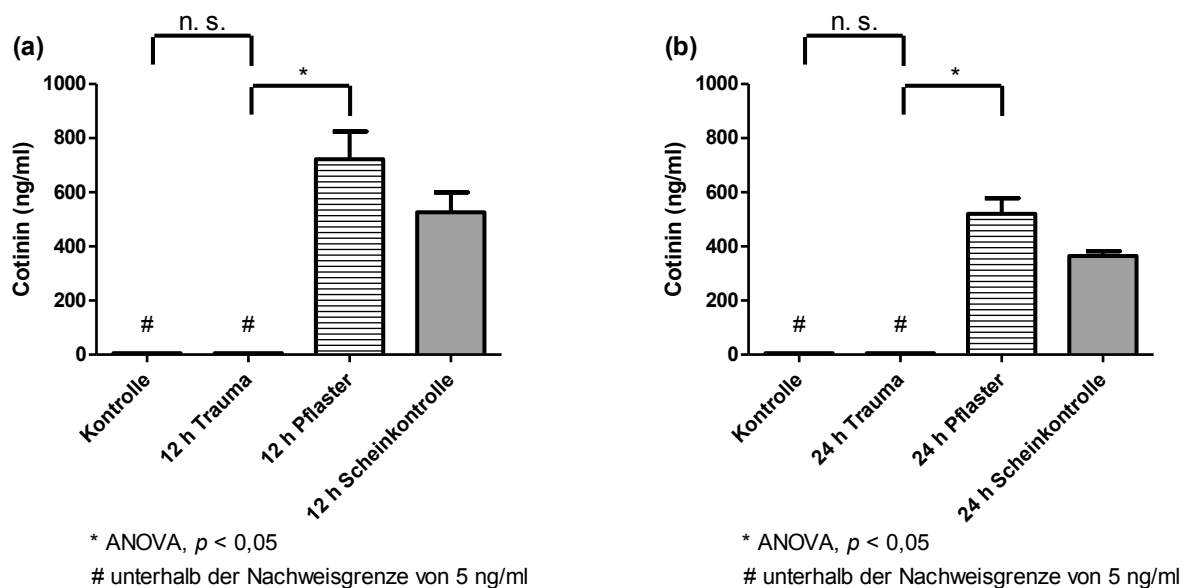


Abb. 4-1 Cotininkonzentrationen in Seren

Signifikante Erhöhung der Cotininkonzentrationen in Seren durch die transdermale Nikotinapplikation. Demgegenüber blieben die Cotininkonzentrationen in den Seren der Versuchstiergruppen ohne

Nikotinapplikation unterhalb der Nachweisgrenze. Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

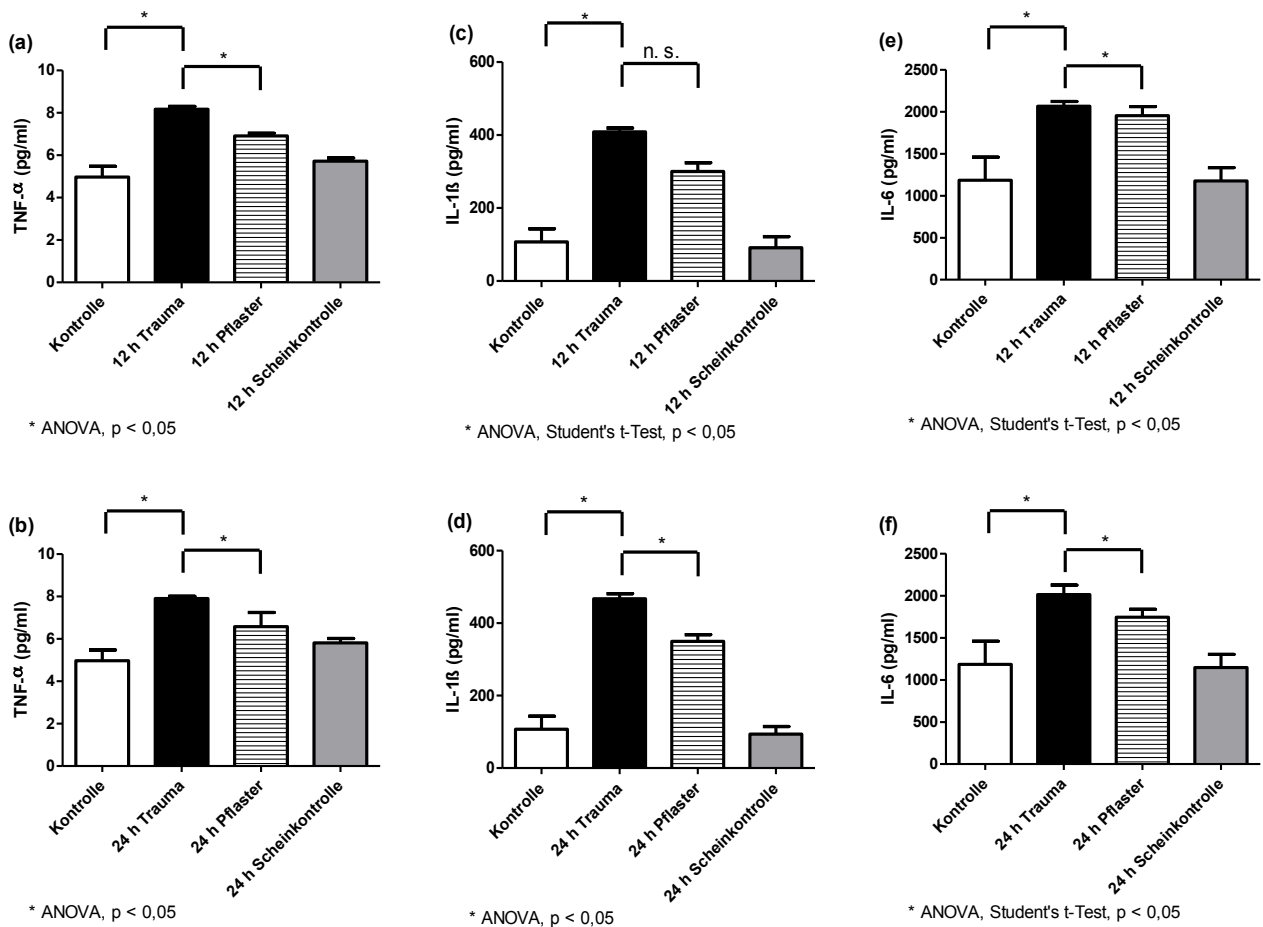
Die Cotininkonzentrationen der Versuchstiergruppen ohne Nikotinapplikation lagen unterhalb der Nachweisgrenze des ELISAs von 5 ng/ml. Demgegenüber waren die Werte der Versuchstiergruppen mit Nikotinapplikation signifikant erhöht. Den Spitzenwert bildet die Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 12 h mit $721,9 \pm 306,9$ ng/ml (gestreifte Säule in **Abb. 4-1 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) gefolgt von der Scheinkontrollgruppe nach 12 h mit $526,4 \pm 254,0$ ng/ml (graue Säule in **Abb. 4-1 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Nach 24 h lagen die Werte der entsprechenden Gruppen unter denen nach 12 h. Der Unterschied war statistisch nicht relevant. Die Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 24 h wies eine Cotininkonzentration von $520,4 \pm 173,3$ ng/ml auf (gestreifte Säule in **Abb. 4-1 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Scheinkontrollgruppe nach 24 h hatte von den mit einem Nikotinpflaster behandelten Gruppen mit $364,7 \pm 50,02$ ng/ml den niedrigsten Wert (graue Säule in **Abb. 4-1 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA).

4.2 Zytokinkonzentrationen in Organhomogenisaten

Die Auswertung der Zytokinkonzentrationen der Herz-, Leber- und Milzhomogenisate zeigten eine signifikante Steigerung der jeweiligen Zytokinkonzentrationen der Traumagruppen verglichen mit denen der Kontrollgruppen oder der Scheinkontrollgruppen. Diese erhöhten Werte konnten in allen Fällen durch die posttraumatische transdermale Nikotिंगabe statistisch relevant gesenkt werden.

4.2.1. Herzhomogenisate

**Abb. 4-2 Zytokinkonzentrationen in Herzhomogenisaten**

(a) und (b) TNF- α -Konzentrationen in Herzhomogenisaten. **(c) und (d)** IL-1 β -Konzentrationen in Herzhomogenisaten. **(e) und (f)** IL-6-Konzentrationen in Herzhomogenisaten. In jedem Diagramm ist die signifikante Erhöhung der jeweiligen Zytokinkonzentration durch die experimentelle Verbrennungsverletzung im Vergleich zur Kontrollgruppe markiert (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Deutlich wird auch die signifikante Reduzierung des verbrennungsinduzierten Anstiegs der Zytokinkonzentrationen durch die transdermale Nikotinapplikation (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Zwischen den Werten der Kontrollgruppen und der Scheinkontrollgruppen besteht kein wesentlicher Unterschied (weiße Säulen vs. graue Säulen, n. s., ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Die Werte der Kontrollgruppe der TNF- α -Konzentration in Herzhomogenisaten lagen bei $4,967 \pm 0,5086$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-2 (a) und (b)**). Die demgegenüber deutlich erhöhten Spitzenwerte wurden durch die Traumagruppen mit $8,618 \pm 0,1331$ pg/ml nach 12 h

(schwarze Säule in **Abb. 4-2 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) beziehungsweise mit $7,903 \pm 0,1107$ pg/ml nach 24 h gebildet (schwarze Säule in **Abb. 4-2 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Traumagruppe plus Nikotinapplikation hatte nach 12 h und nach 24 h erheblich erniedrigte Werte. Die TNF- α -Konzentration betrug hier $6,917 \pm 0,1216$ pg/ml nach 12 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-2 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) und $6,582 \pm 0,6641$ pg/ml nach 24 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-2 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Die Scheinkontrollgruppen wiesen keine signifikanten Unterschiede zu der Kontrollgruppe auf. Nach 12 h hatte die Scheinkontrollgruppe einen Wert von $5,719 \pm 0,1481$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-2 (a)**, n. s., ANOVA) und nach 24 h $5,812 \pm 0,2082$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-2 (b)**, n. s., ANOVA).

Die Herzhomogenisate wiesen für die IL-1 β -Konzentrationen keine entscheidenden Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den Scheinkontrollgruppen auf. Die Kontrollgruppe hatte einen Wert von $107,4 \pm 35,68$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-2 (c) und (d)**). Die Scheinkontrollgruppen hatten demgegenüber nach 12 h Werte von $91,28 \pm 30,50$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-2 (c)**, n. s., ANOVA) und nach 24 h $93,58 \pm 21,09$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-2 (d)**, n. s., ANOVA).

Die Traumagruppen und die Traumagruppen plus Nikotinapplikation wiesen hingegen zu der Kontrollgruppe und untereinander signifikante Unterschiede auf. Die Traumagruppe nach 12 h lag bei $408,9 \pm 10,45$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-2 (c)**, $p < 0,05$, Student's t-Test) im Vergleich zu $300,4 \pm 23,75$ pg/ml der Traumagruppe plus Nikotinapplikation (gestreifte Säule in **Abb. 4-2 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA). Nach 24 h standen $467,1 \pm 14,06$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-2 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA) einem Wert von $349,8 \pm 18,62$ pg/ml gegenüber (gestreifte Säule in **Abb. 4-2 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Für IL-6 in Herzhomogenisaten erreichte die Traumagruppe nach 12 h Konzentrationen von $2261 \pm 60,28$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-2 (e)**). Dieser Wert war gegenüber dem Wert der Traumagruppe plus Nikotinapplikation von $1826 \pm 118,5$ pg/ml signifikant erhöht (gestreifte Säule in **Abb. 4-2 (e)**, $p < 0,05$, Student's t-Test). Nach 24 h zeigte sich ein ähnliches Bild. Die Nikotinapplikation senkte die Werte der Traumagruppe von $2197 \pm 60,41$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-2 (f)**) auf $1652 \pm 90,59$ pg/ml (gestreifte Säule in **Abb. 4-2 (f)**, $p < 0,05$, Student's t-Test). Die Traumagruppen und die Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 12 h hatten statistisch relevant erhöhte Konzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe mit $1185 \pm 275,3$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-2 (e) und (f)**, $p < 0,05$, ANOVA, Student's t-Test). Die Werte der Scheinkontrollgruppen und der Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 24 h zeigten hingegen keine entscheidenden Unterschiede zur

Kontrollgruppe. Die Scheinkontrollgruppe nach 12 h hatte eine IL-6-Konzentration von $1176 \pm 159,3$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-2 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA) und nach 24 h wurde ein Wert von $1146 \pm 156,7$ pg/ml gemessen (graue Säule in **Abb. 4-2 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA).

4.2.2. Leberhomogenisate

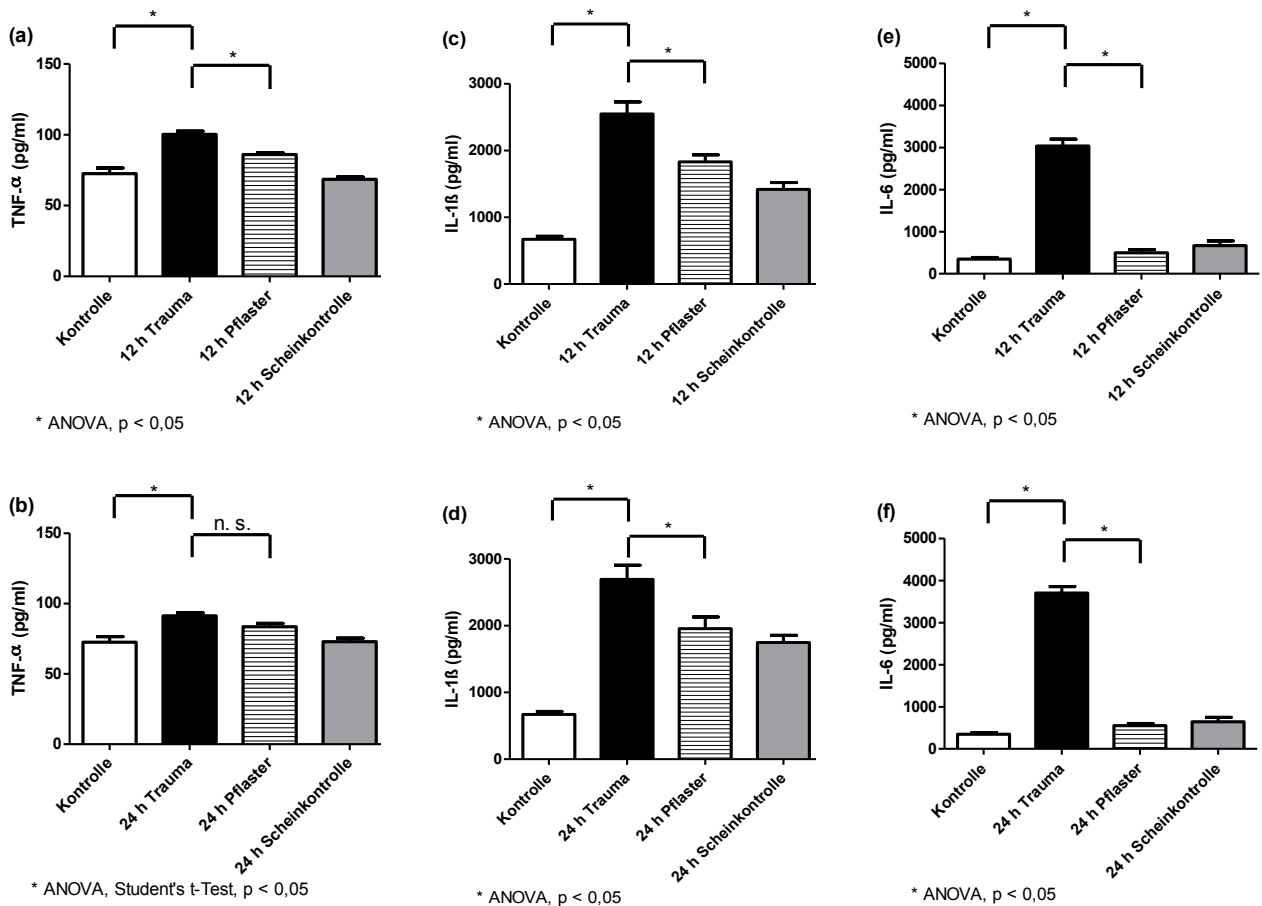


Abb. 4-3 Zytokinkonzentrationen in Leberhomogenisaten

(a) und **(b)** TNF- α -Konzentrationen in Leberhomogenisaten. **(c)** und **(d)** IL-1 β -Konzentrationen in Leberhomogenisaten. **(e)** und **(f)** IL-6-Konzentrationen in Leberhomogenisaten. In jedem Diagramm ist die signifikante Erhöhung der jeweiligen Zytokinkonzentration durch die experimentelle Verbrennungsverletzung im Vergleich zur Kontrollgruppe markiert (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Deutlich wird auch die signifikante Reduzierung des verbrennungsinduzierten Anstiegs der Zytokinkonzentrationen durch die transdermale Nikotinapplikation (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Zwischen den Werten der Kontrollgruppen und der Scheinkontrollgruppen besteht mit Ausnahme der IL-1 β -Konzentrationen kein wesentlicher Unterschied (weiße Säulen vs. graue Säulen, n. s., ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Es war eine signifikante Reduktion der TNF- α -Konzentration der Traumagruppen plus Nikotinapplikation im Vergleich zu den Traumagruppen festzustellen. Nach 12 h hatte die Traumagruppe eine TNF- α -Konzentration von $104,4 \pm 2,262$ pg/ml im Vergleich zu $86,05 \pm 2,262$ pg/ml bei der Traumagruppe plus Nikotinapplikation (schwarze und gestreifte Säulen in **Abb. 4-3 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA). Nach 24 h standen $91,37 \pm 2,034$ pg/ml der Traumagruppe $83,55 \pm 2,442$ pg/ml gegenüber (schwarze und gestreifte Säulen in **Abb. 4-3 (b)**, $p < 0,05$, Student's t-Test). Alle vier Gruppen waren gegenüber der Kontrollgruppe mit Werten von $72,5 \pm 4,090$ pg/ml wesentlich erhöht (weiße Säulen in **Abb. 4-3 (a) und (b)**).

Bei den Leberhomogenisaten der Scheinkontrollgruppen fanden sich gegenüber der Kontrollgruppe keine entscheidenden Unterschiede. Nach 12 h lagen sie bei $68,52 \pm 1,663$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-3 (a)**, n. s., ANOVA) und nach 24 h bei $72,95 \pm 2,470$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-3 (b)**, n. s., ANOVA).

Die auf IL-1 β untersuchten Leberhomogenisate zeigten einen signifikanten Anstieg der Konzentrationen bei den Traumagruppen. Die Traumagruppe nach 12 h hatte Werte von $2548 \pm 180,8$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-3 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) und die Traumagruppe nach 24 h Werte von $2694 \pm 212,2$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-3 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Applikation von Nikotin nach der experimentellen Verbrennungsverletzung bewirkte wesentlich niedrigere IL-1 β -Konzentrationen. Bei der Traumagruppe plus Nikotinapplikation wurden nach 12 h $1830 \pm 105,1$ pg/ml (gestreifte Säule in **Abb. 4-3 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) und nach 24 h $1957 \pm 173,2$ pg/ml gemessen (gestreifte Säule in **Abb. 4-3 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte der Kontrollgruppe lagen bei $670,2 \pm 45,67$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-3 (c) und (d)**). Die Scheinkontrollgruppe nach 12 h wies einen Wert von $1418 \pm 102,9$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-3 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) auf und die Scheinkontrollgruppe nach 24 h einen Wert von $1749 \pm 105,8$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-3 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Die Leberhomogenisate wiesen mit Ausnahme der Traumagruppen keine signifikanten Unterschiede der IL-6-Konzentrationen auf. Die Werte der Kontrollgruppe mit $347,3 \pm 37,73$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-3 (e) und (f)**) waren nicht statistisch relevant niedriger als die der Scheinkontrollgruppe nach 12 h mit $668,0 \pm 111,2$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-3 (e)**, n. s., ANOVA) und nach 24 h mit $644,8 \pm 102,0$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-3 (f)**, n. s., ANOVA).

Die Traumagruppen plus Nikotinapplikation hatten Werte von $497,3 \pm 75,96$ pg/ml nach 12 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-3 (e)**, n. s., ANOVA) und $551,2 \pm 51,54$ pg/ml nach 24 h

(gestreifte Säule in **Abb. 4-3 (f)**, n. s., ANOVA). Allein bei den Traumagruppen waren statistisch relevant erhöhte IL-6-Konzentrationen zu bemerken. In Zahlen bedeutete dies $3037,0 \pm 162,6$ pg/ml nach 12 h (schwarze Säule in **Abb. 4-3 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA) und $3702,0 \pm 153,2$ pg/ml nach 24 h (schwarze Säule in **Abb. 4-3 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA).

4.2.3. Milzhomogenisate

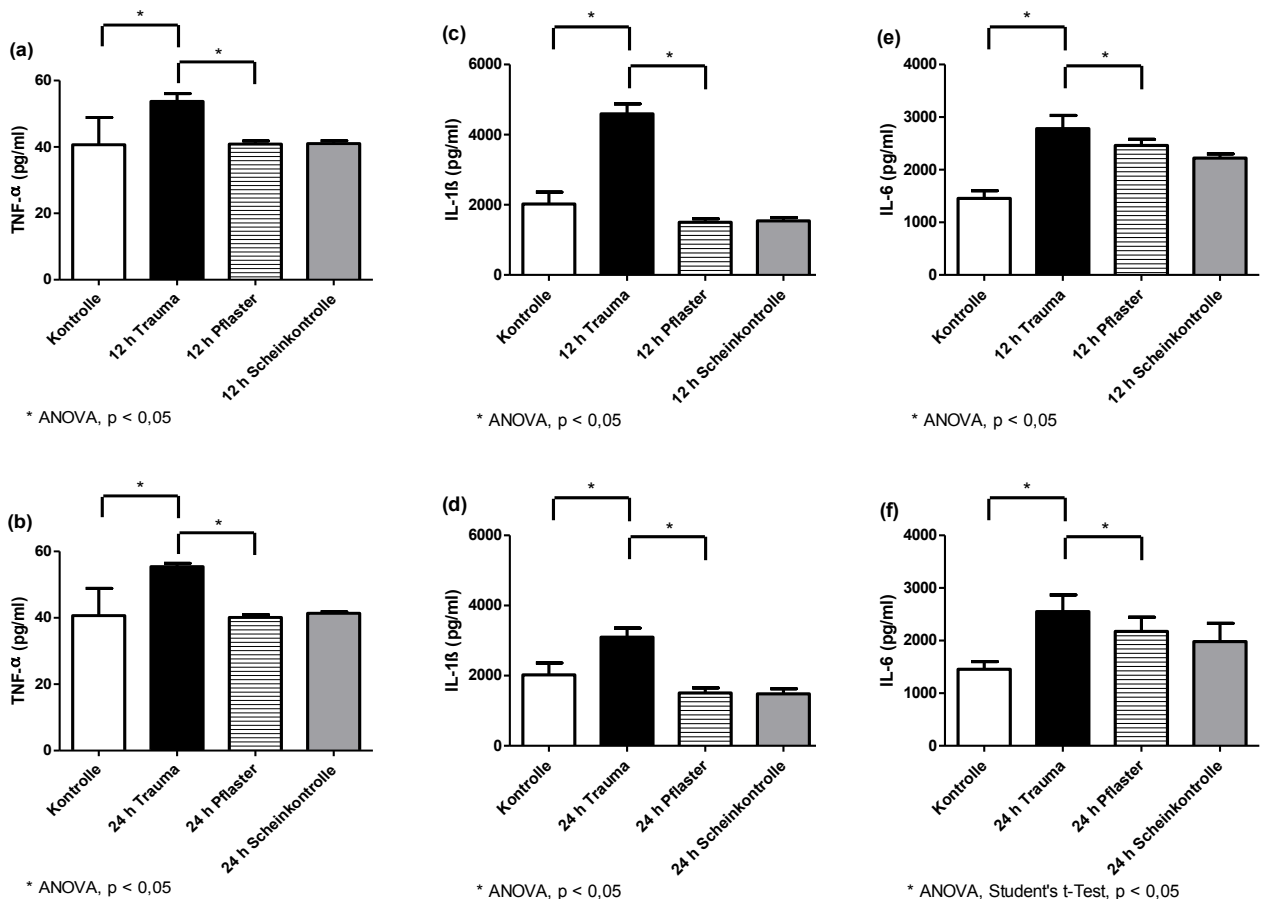


Abb. 4-4 Zytokinkonzentrationen in Milzhomogenisaten

(a) und (b) TNF- α -Konzentrationen in Milzhomogenisaten. (c) und (d) IL-1 β -Konzentrationen in Milzhomogenisaten. (e) und (f) IL-6-Konzentrationen in Milzhomogenisaten. In jedem Diagramm ist die signifikante Erhöhung der jeweiligen Zytokinkonzentration durch die experimentelle Verbrennungsverletzung im Vergleich zur Kontrollgruppe markiert (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Deutlich wird auch die signifikante Reduzierung des verbrennungsinduzierten Anstiegs der Zytokinkonzentrationen durch die transdermale Nikotinapplikation (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Zwischen den Werten der Kontrollgruppen und der Scheinkontrollgruppen besteht mit Ausnahme der IL-6-Konzentrationen kein wesentlicher Unterschied (weiße Säulen vs. graue Säulen, n. s., ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Die höchsten TNF- α -Konzentrationen in Milzhomogenisaten fanden sich bei den Traumagruppen mit Werten von $53,73 \pm 2,348$ pg/ml nach 12 h (schwarze Säule in **Abb. 4-4 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) und $55,45 \pm 0,9707$ pg/ml nach 24 h (schwarze Säule in **Abb. 4-4 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Beide Werte waren gegenüber den Werten der Kontrollgruppe mit $40,69 \pm 8,170$ pg/ml deutlich erhöht (weiße Säulen in **Abb. 4-4 (a) und (b)**). Die Nikotinapplikation reduzierte die TNF- α -Konzentrationen gegenüber den Traumagruppen wesentlich auf Werte von $40,88 \pm 0,9311$ pg/ml nach 12 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-4 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) und auf $40,15 \pm 0,8372$ pg/ml nach 24 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-4 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Die experimentelle Verbrennungsverletzung führte zu wesentlich erhöhten IL-1 β -Konzentrationen in den Milzhomogenisaten. Die Traumagruppe nach 12 h hatte Konzentrationen von $4218 \pm 197,6$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-4 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) und die Traumagruppe nach 24 h $2881 \pm 168,2$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-4 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Demgegenüber waren die Traumagruppe plus Nikotinapplikation mit $1501 \pm 104,3$ pg/ml nach 12 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-4 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) und $1509 \pm 141,4$ pg/ml nach 24 h signifikant niedriger (gestreifte Säule in **Abb. 4-4 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Die Werte der Kontrollgruppe lagen mit $2025 \pm 339,4$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-4 (c) und (d)**, n. s., ANOVA) nicht bedeutsam über den Traumagruppen plus Nikotinapplikation und den Scheinkontrollgruppen. Diese wiesen Werte von $1542 \pm 93,02$ pg/ml nach 12 h (graue Säule in **Abb. 4-4 (c)**, n. s., ANOVA) und $1484 \pm 141,302$ pg/ml nach 24 h auf (graue Säule in **Abb. 4-4 (d)**, n. s., ANOVA).

Die IL-6-Konzentration in den Milzhomogenisaten war verbrennungsinduziert deutlich erhöht. Die Ausgangswerte der Kontrollgruppe lagen bei $1454 \pm 146,773$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-4 (e) und (f)**). Nach 12 h hatte die Traumagruppe erhöhte Werte von $3001 \pm 133,4$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-4 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Nikotinapplikation führte demgegenüber mit $2461 \pm 118,2$ pg/ml zu entscheidend niedrigeren Werten (gestreifte Säule in **Abb. 4-4 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Nach 24 h betragen die Konzentrationen $3099 \pm 11,30$ pg/ml für die Traumagruppe und bedeutsam geringere $2418 \pm 134,2$ pg/ml für die Traumagruppe plus Nikotinapplikation (schwarze und gestreifte Säulen in **Abb. 4-4 (f)**, $p < 0,05$, Student's t-Test). Die Werte der Scheinkontrollgruppen betragen nach 12 h $2221 \pm 79,06$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-4 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA) und nach 24 h $2311 \pm 124,4$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-4 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA).

4.2.4. Nierenhomogenisate

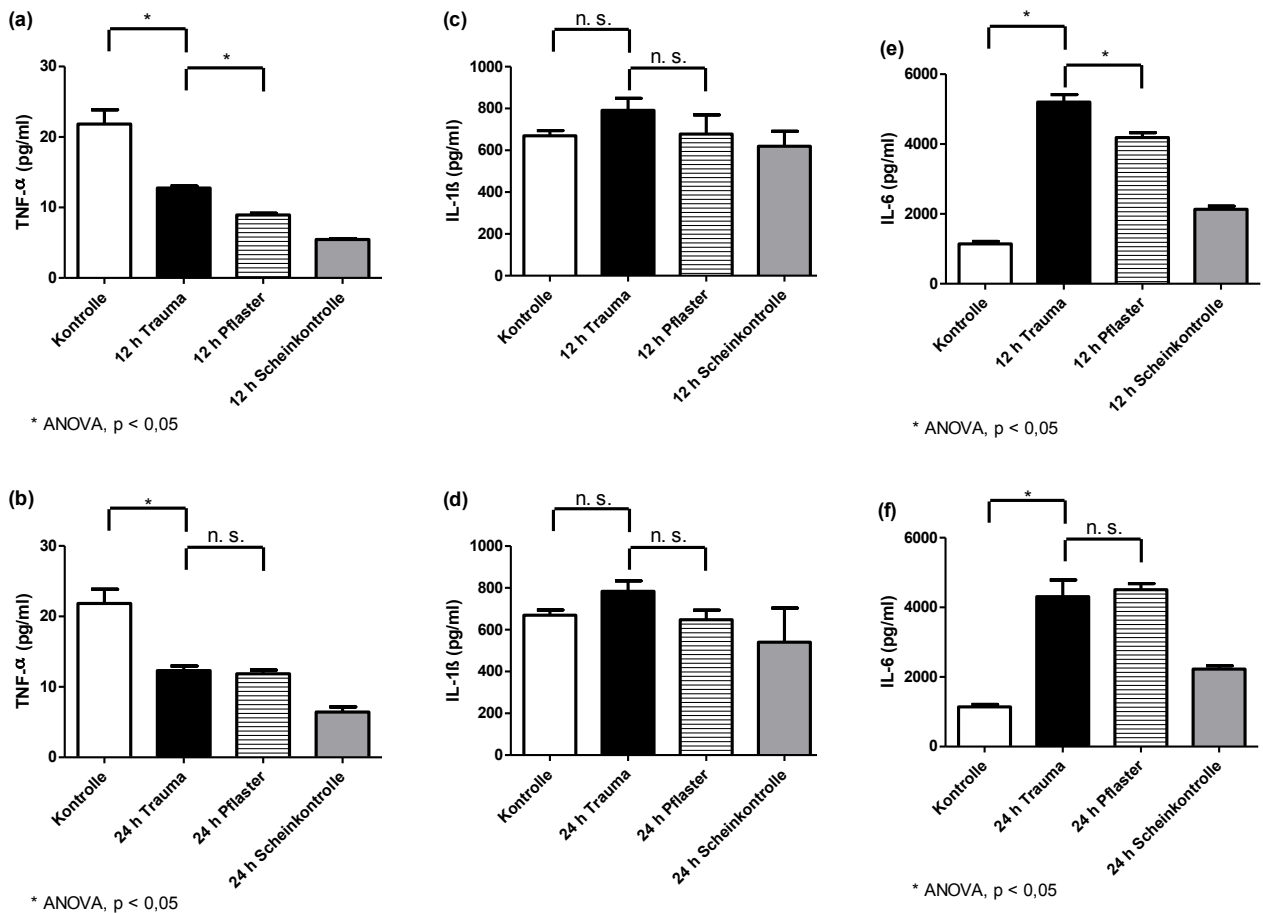


Abb. 4-5 Zytokinkonzentrationen in Nierenhomogenisaten

(a) und (b) TNF- α -Konzentrationen in Nierenhomogenisaten. Der Spitzenwert der TNF- α -Konzentrationen ist bei der Kontrollgruppe zu finden (weiße Säulen in **(a)** und **(b)**). Die anderen Gruppen liegen deutlich darunter. **(c) und (d)** IL-1 β -Konzentrationen in Nierenhomogenisaten. Die Diagramme der IL-1 β -Konzentrationen zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. **(e) und (f)** IL-6-Konzentrationen in Nierenhomogenisaten. Auffallend ist gegenüber den Ergebnissen der TNF- α - und IL-1 β -Konzentrationen die deutliche Erhöhung der IL-6-Konzentration durch die experimentelle Verbrennungsverletzung im Vergleich zur Kontrollgruppe (schwarze Säulen vs. weiße Säulen in **(e)** und **(f)**, $p < 0,05$, ANOVA). Eine wesentliche Reduktion der erhöhten IL-6-Konzentration durch die Nikotinapplikation ist nur nach 12 h möglich (schwarze Säule vs. gestreifte Säule in **(e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Die Kontrollgruppe für die TNF- α -Konzentrationen in Nierenhomogenisaten lag mit ihrem Wert von $21,84 \pm 2,029$ pg/ml über allen anderen Gruppen (weiße Säulen in **Abb. 4-5 (a) und (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte der anderen Gruppen lagen zwischen $12,77 \pm 0,2808$ pg/ml der Traumagruppe nach 12 h (schwarze Säule in **Abb. 4-5 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) und $5,472 \pm 0,1028$ pg/ml der Scheinkontrollgruppe nach 12 h (graue Säule in **Abb. 4-5 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Die Nierenhomogenisate zeigten keine wesentlichen Unterschiede bei der IL-1 β -Konzentration. Die Werte lagen zwischen $540,6 \pm 163,1$ pg/ml für die Scheinkontrollgruppe nach 24 h (graue Säule in **Abb. 4-5 (d)**, n. s., ANOVA) und $790,9 \pm 58,05$ pg/ml bei der Traumagruppe nach 12 h (schwarze Säule in **Abb. 4-5 (c)**, n. s., ANOVA).

Die Werte der Kontrollgruppe für die IL-6-Konzentration in Nierenhomogenisaten lagen bei $1144 \pm 65,62$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-5 (e) und (f)**). Nach 12 h hatte die Traumagruppe signifikant erhöhte Werte von $5240 \pm 216,0$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-5 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Applikation von Nikotin bewirkte eine entscheidend niedrigere IL-6-Konzentration von $4185 \pm 140,2$ pg/ml (gestreifte Säule in **Abb. 4-5 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Scheinkontrollgruppe hatte nach 12 h einen zu der Kontrollgruppe nicht wesentlich unterschiedlichen Wert von $2135 \pm 85,74$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-5 (e)**, n. s., ANOVA).

Nach 24 h war der Wert der Traumagruppe mit $4308 \pm 477,5$ pg/ml gegenüber der Kontrollgruppe deutlich erhöht (schwarze Säule in **Abb. 4-5 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA). Der Unterschied zur Traumagruppe plus Nikotinapplikation war bei einem Wert von $4507 \pm 176,1$ pg/ml nicht statistisch relevant (gestreifte Säule in **Abb. 4-5 (f)**, n. s., ANOVA). Die Konzentration der Nierenhomogenisate der Scheinkontrollgruppe nach 24 h betrug $2229 \pm 93,15$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-5 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA).

4.2.5. Lungenhomogenisate

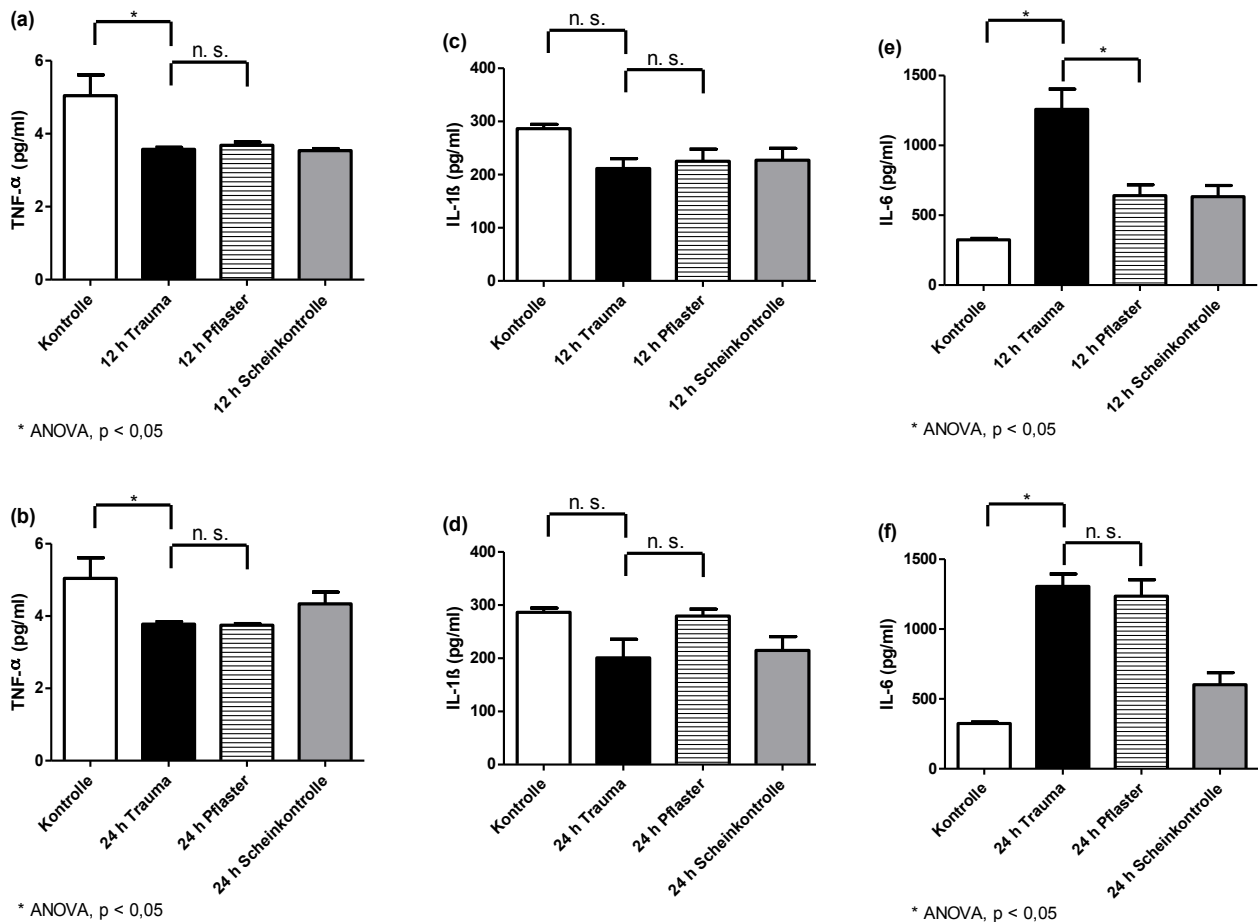


Abb. 4-6 Zytokinkonzentrationen in Lungenhomogenisaten

(a) und (b) TNF- α -Konzentrationen in Lungenhomogenisaten. Der Spitzenwert der TNF- α -Konzentrationen ist bei der Kontrollgruppe zu finden (weiße Säulen in (a) und (b)). Die anderen Gruppen liegen mit Ausnahme der Scheinkontrollgruppe nach 24 h deutlich darunter. (c) und (d) IL-1 β -Konzentrationen in Lungenhomogenisaten. Die Diagramme der IL-1 β -Konzentrationen zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. (e) und (f) IL-6-Konzentrationen in Lungenhomogenisaten. Auffallend ist gegenüber den Ergebnissen der TNF- α - und IL-1 β -Konzentrationen die deutliche Erhöhung der IL-6-Konzentration durch die experimentelle Verbrennungsverletzung im Vergleich zur Kontrollgruppe (schwarze Säulen vs. weiße Säulen in (e) und (f), $p < 0,05$, ANOVA). Eine statistisch relevante Reduktion der erhöhten IL-6-Konzentration durch die Nikotinapplikation ist nur nach 12 h möglich (schwarze Säule vs. gestreifte Säule in (e), $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Bei den Lungenhomogenisaten zeigte die Kontrollgruppe die höchsten TNF- α -Werte mit $5,042 \pm 0,5733$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-6 (a) und (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Für die weiteren Gruppen waren TNF- α -Konzentration zwischen $4,339 \pm 0,3214$ pg/ml für die Scheinkontrollgruppe nach 24 h (graue Säule in **Abb. 4-6 (b)**, n. s., ANOVA) und $3,538 \pm 0,05593$ pg/ml für die Scheinkontrollgruppe nach 24 h festzustellen (graue Säule in **Abb. 4-6 (b)**, n. s., ANOVA).

Die Unterschiede bei den IL-1 β -Konzentrationen der Lungenhomogenisate waren statistisch nicht relevant. Es fanden sich Werte von $200,8 \pm 35,18$ pg/ml, festzustellen bei der Traumagruppe nach 24 h (schwarze Säule in **Abb. 4-6 (d)**, n. s., ANOVA), bis $286,6 \pm 7,753$ pg/ml als Wert der Kontrollgruppe (weiße Säulen in **Abb. 4-6 (a) und (b)**, n. s., ANOVA).

Bei der Betrachtung der IL-6-Konzentrationen in den Lungenhomogenisaten konnte nach 12 h eine bedeutsame Erhöhung durch die experimentelle Verbrennungsverletzung festgestellt werden. Die Traumagruppe nach 12 h hatte einen Wert von $1258 \pm 145,7$ pg/ml (schwarze Säule in **Abb. 4-6 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Demgegenüber konnte die IL-6-Konzentration durch die Nikotinapplikation signifikant gesenkt werden. Die Traumagruppe plus Nikotinapplikation hatte nach 12 h einen Wert von $640,2 \pm 78,34$ pg/ml (gestreifte Säule in **Abb. 4-6 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Nach 24 h zeigte sich ein ähnliches Bild. Allerdings war der Unterschied der Traumagruppe plus Nikotinapplikation mit $1236 \pm 118,0$ pg/ml zu dem Wert der Traumagruppe mit $1306 \pm 88,24$ pg/ml nicht signifikant (schwarze und gestreifte Säulen in **Abb. 4-6 (f)**, n. s., ANOVA).

Die Werte der Kontrollgruppe lagen bei $324,4 \pm 9,525$ pg/ml (weiße Säulen in **Abb. 4-6 (e) und (f)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Konzentrationen der Scheinkontrollgruppen betragen nach 12 h $633,3 \pm 79,40$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-6 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA) und nach 24 h $601,4 \pm 86,33$ pg/ml (graue Säule in **Abb. 4-6 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA).

4.3 Mikrokatheterergebnisse

4.3.1. Blutdruckparameter

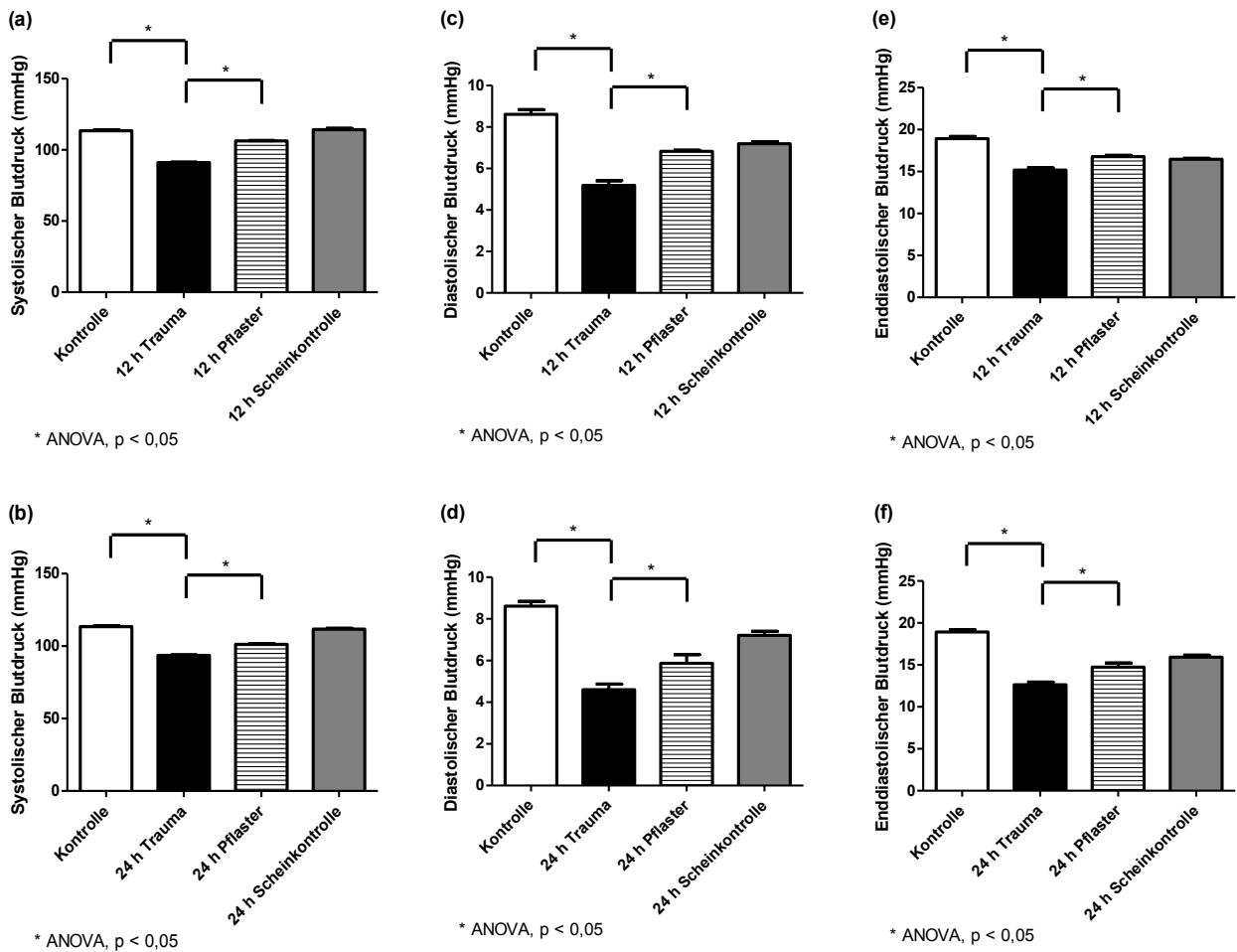


Abb. 4-7 Blutdruckparameter

(a) und (b) Systolischer Blutdruck. (c) und (d) Diastolischer Blutdruck. (e) und (f) Enddiastolischer Blutdruck. In jedem Diagramm ist die signifikante Absenkung des jeweiligen Blutdruckparameters durch die experimentelle Verbrennungsverletzung im Vergleich zur Kontrollgruppe markiert (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Deutlich wird auch die signifikante Abschwächung der verbrennungsinduzierten Absenkung der Blutdruckparameter durch die transdermale Nikotinapplikation (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Die Auswertung der Mikrokatheterergebnisse zeigte für jeden Blutdruckparameter deutlich erniedrigte Blutdruckwerte der Traumagruppen im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollgruppen. Bei jedem gewählten Parameter bewirkte die Nikotinapplikation eine wesentliche Erhöhung der Blutdruckwerte gegenüber den unbehandelten Traumagruppen. Die Werte der Kontroll- und Scheinkontrollgruppen wurden durch die Nikotinapplikation nicht erreicht.

Die Kontrollgruppe erreichte für den systolischen Blutdruck Werte von $113,4 \pm 0,5178$ mmHg (weiße Säulen in **Abb. 4-7 (a) und (b)**). Die Scheinkontrollgruppen erreichten Werte, die sich von denen der Kontrollgruppe nicht erheblich unterschieden. Nach 12 h waren dies $114,2 \pm 0,8557$ mmHg (graue Säule in **Abb. 4-7 (a)**, n. s., ANOVA) und nach 24 h $111,7 \pm 0,5248$ mmHg (graue Säule in **Abb. 4-7 (b)**, n. s., ANOVA).

Signifikante Unterschiede zeigten sich dagegen mit Blick auf die Traumagruppen. Nach 12 h waren deren Werte von $91,09 \pm 0,2007$ mmHg (schwarze Säule in **Abb. 4-7 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) wesentlich niedriger als die Kontrollwerte und die Werte der Traumagruppe plus Nikotinapplikation von $106,3 \pm 0,2742$ mmHg (gestreifte Säule in **Abb. 4-7 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Nach 24 h war der systolische Blutdruck der Traumagruppe mit $93,75 \pm 0,2534$ mmHg (schwarze Säule in **Abb. 4-7 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA) gegenüber der Kontrollgruppe deutlich erniedrigt. Die Applikation des Nikotinpflasters erhöhte den systolischen Blutdruck auf Werte von $101,2 \pm 0,4245$ mmHg (gestreifte Säule in **Abb. 4-7 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA).

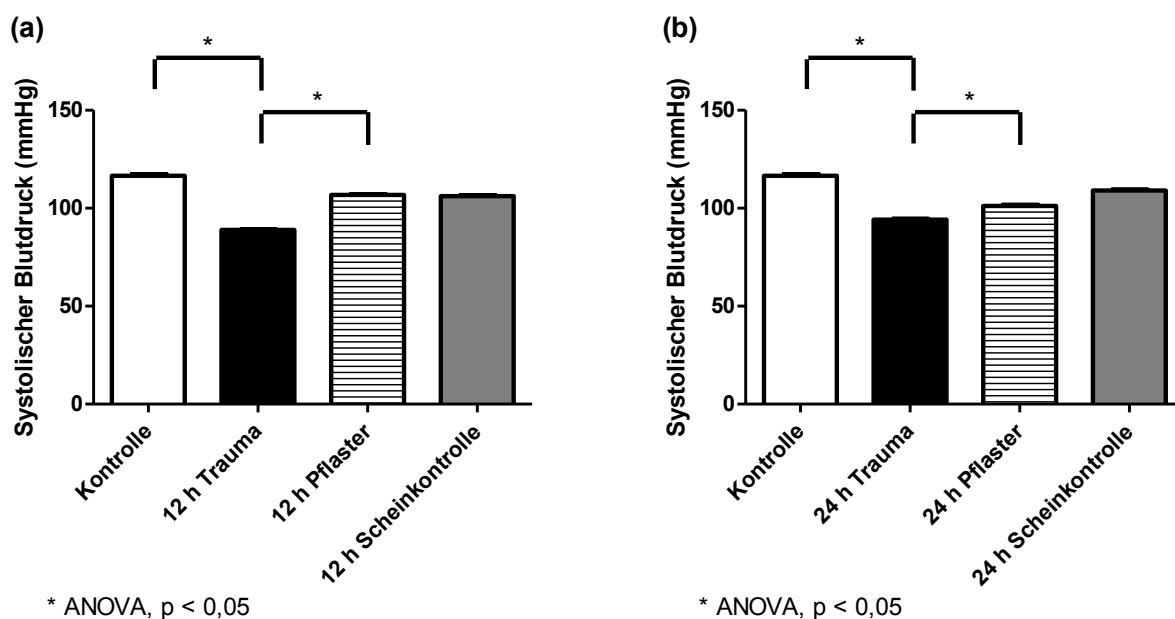


Abb. 4-8 Exemplarische individuelle Darstellung des systolischen Blutdruckes

Der systolische Blutdruck ist hier mit jeweils einem Versuchstier pro Gruppe dargestellt. Das Verhältnis der Gruppen im Vergleich zueinander ist folglich dem der **Abb. 4-7 (a) und (b)**. Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt.

Die Nikotinapplikation bewirkte einen entscheidend geringeren Abfall des diastolischen Blutdrucks. Nach 12 h standen die Werte der Traumagruppe plus Nikotinapplikation von $6,827 \pm 0,05288$ mmHg (gestreifte Säule in **Abb. 4-7 (c)**) den Werten der Traumagruppe mit $5,19 \pm 0,2204$ mmHg gegenüber (schwarze Säule in **Abb. 4-7 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Höchstwerte waren hier mit $8,616 \pm 0,2190$ mmHg bei der Kontrollgruppe zu finden (weiße Säulen in **Abb. 4-7 (c) und (d)**). Die Scheinkontrollgruppen hatten mit $7,192 \pm 0,1001$ mmHg nach 12 h (graue Säule in **Abb. 4-7 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) und mit $7,216 \pm 0,1895$ mmHg nach 24 h signifikant niedrigere Werte (graue Säule in **Abb. 4-7 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Der niedrigste Wert wurde bei der Traumagruppe nach 24 h erreicht. Er betrug $4,604 \pm 0,2685$ mmHg (schwarze Säule in **Abb. 4-7 (d)**) und war wesentlich niedriger als der diastolische Blutdruck der Traumagruppe plus Nikotinpflaster von $5,87 \pm 0,4169$ mmHg (gestreifte Säule in **Abb. 4-7 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA).

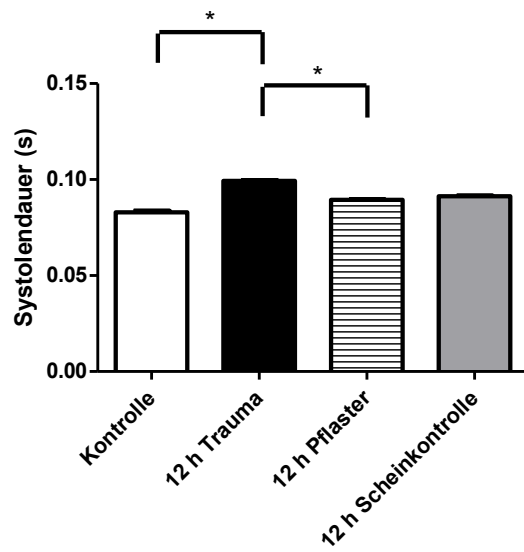
Bei der Betrachtung des enddiastolischen Blutdrucks fanden sich bei der Kontrollgruppe Werte von $18,93 \pm 0,2390$ mmHg (weiße Säulen in **Abb. 4-7 (e) und (f)**). Die Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 12 h und die Scheinkontrollgruppe nach 12 h mit Druckwerten von $16,78 \pm 0,1557$ mmHg (gestreifte Säule in **Abb. 4-7 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA) beziehungsweise $16,15 \pm 0,1229$ mmHg lagen statistisch relevant darunter (graue Säule in **Abb. 4-7 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA). Den niedrigsten Wert nach 12 h hatte die Traumagruppe mit $15,17 \pm 0,2603$ mmHg (schwarze Säule in **Abb. 4-7 (e)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Nach 24 h konnten die niedrigen Werte für den enddiastolischen Blutdruck der Traumagruppe von $12,63 \pm 0,3155$ mmHg (schwarze Säule in **Abb. 4-7 (f)**) durch die Nikotinapplikation wieder angehoben werden. Hier lagen die Werte bei $14,47 \pm 0,4735$ mmHg (gestreifte Säule in **Abb. 4-7 (f)**, $p < 0,05$, ANOVA). Damit lag ein statistisch relevanter Unterschied vor. Die Scheinkontrollgruppe nach 24 h hatte einen Wert von $15,92 \pm 0,2285$ mmHg (graue Säule in **Abb. 4-7 (f)**).

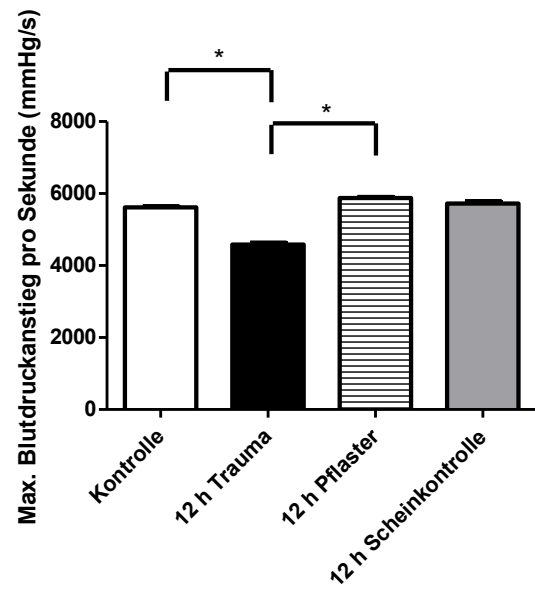
Nicht gesondert dargestellt sind der mittlere Blutdruck und die Blutdruckamplitude. Die Werte dieser beiden Funktionsparameter ergeben sich aus den dargestellten Funktionsparametern. Zusammenfassend lässt sich beschreiben, dass die experimentelle Verbrennungsverletzung zu erniedrigten Werten führte. Dieser Effekt wurde durch die Nikotinapplikation nach einer experimentellen Verbrennungsverletzung abgeschwächt.

4.3.2. Systole

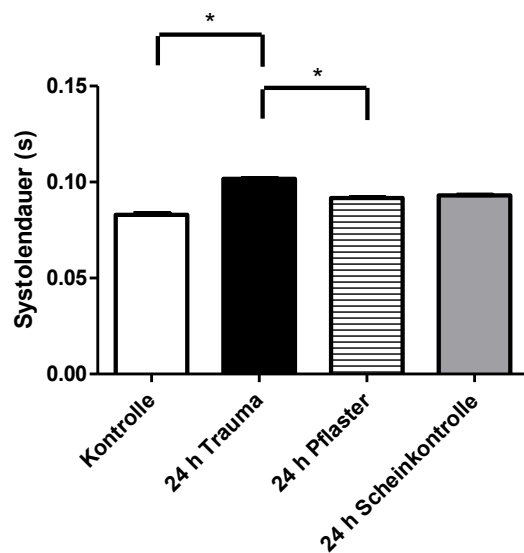
(a)

* ANOVA, $p < 0,05$

(c)

* ANOVA, $p < 0,05$

(b)

* ANOVA, $p < 0,05$

(d)

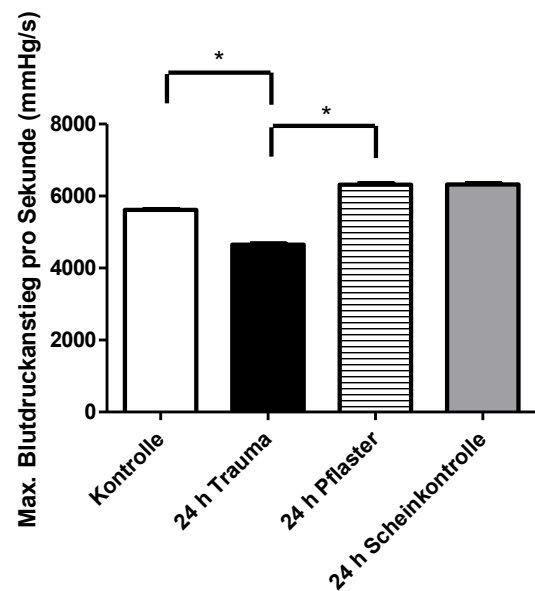
* ANOVA, $p < 0,05$

Abb. 4-9 Systole

(a) und (b) Systolendauer. Markiert ist der signifikante Anstieg der Systolendauer als Folge der experimentellen Verbrennungsverletzung (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Durch die posttraumatische Nikotinapplikation wird dieser Effekt reduziert (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). **(c) und (d)** Maximaler Blutdruckanstieg pro Sekunde (Kontraktilität). Es zeigt sich eine verbrennungsinduziert deutlich verminderte Kontraktilität (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Die Nikotinapplikation hat darauf einen statistisch relevanten positiven Einfluss (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Für die Beurteilung der Herzfunktion während der Systole wurden die Dauer der Systole und die Kontraktilität in Form des maximalen Blutdruckanstiegs pro Sekunde gemessen.

Auffällig war bei der Betrachtung der Systolendauer, dass die Kontrollgruppe mit $0,08296 \pm 0,0007261$ s die Gruppe mit den signifikant niedrigsten Werten bildete (weiße Säulen in **Abb. 4-9 (a) und (b)**). Nach 12 h lag die Traumagruppe plus Nikotinapplikation mit $0,08938 \pm 0,0002143$ s (gestreifte Säule in **Abb. 4-9 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) und die Scheinkontrollgruppe mit $0,09128 \pm 0,0002559$ s deutlich darüber (graue Säule in **Abb. 4-9 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA). Den höchsten Wert nach 12 h bildete die Traumagruppe mit einer Systolendauer von $0,09576 \pm 0,001017$ s (schwarze Säule in **Abb. 4-9 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Das gleiche Verhältnis zwischen den Versuchstiergruppen ergab sich 24 h posttraumatisch. Bemerkenswert war, dass die Werte von den 12 h- zu den 24 h-Gruppen jeweils erhöht waren. So lag die Traumagruppe plus Nikotinapplikation hier bei $0,09172 \pm 0,0001839$ s (gestreifte Säule in **Abb. 4-9 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA), die Scheinkontrollgruppe bei $0,093 \pm 0,0002829$ s (graue Säule in **Abb. 4-9 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA) und die Traumagruppe bei $0,09827 \pm 0,001014$ s (schwarze Säule in **Abb. 4-9 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Zusätzlich war eine wesentliche Minderung der Systolendauer durch Nikotinapplikation im Vergleich zum alleinigen thermalen Trauma zu bemerken.

Die Werte der Kontrollgruppe für den maximalen Blutdruckanstieg pro Sekunde betragen $5616 \pm 19,97$ mmHg/s (weiße Säulen in **Abb. 4-9 (c) und (d)**). Die Traumagruppen plus Nikotinapplikation hatten mit $5878 \pm 28,60$ mmHg/s beziehungsweise $6316 \pm 31,68$ mmHg/s erheblich höhere Werte nach 12 h und nach 24 h (gestreifte Säulen in **Abb. 4-9 (c) und (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Scheinkontrollgruppen lagen auf dem Niveau der Traumagruppen plus Nikotinapplikation.

Allein die Traumagruppen zeigten gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigte Werte. Nach 12 h lagen die Werte bei $4586 \pm 41,27$ mmHg/s (schwarze Säule in **Abb. 4-9 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA), und nach 24 h blieben sie mit $4653 \pm 21,67$ mmHg/s auf niedrigem

Niveau (schwarze Säule in **Abb. 4-9 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Zusätzlich waren deutlich geringere Werte im Vergleich zu den jeweiligen Traumagruppen plus Nikotinapplikation festzuhalten.

4.3.3. Diastole

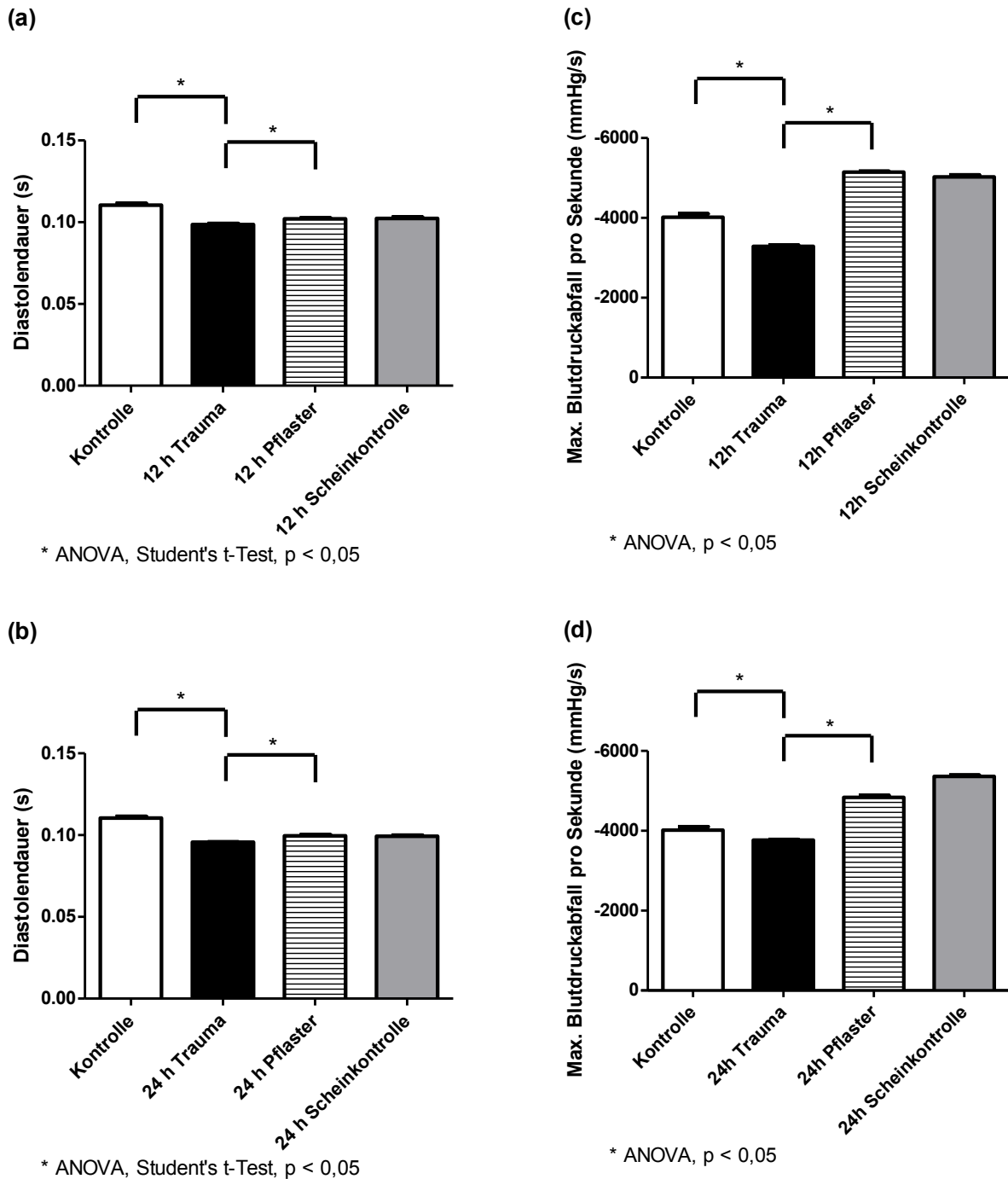


Abb. 4-10 Diastole

(a) und (b) Diastolendauer. Markiert ist der signifikante Abfall der Diastolendauer als Folge der experimentellen Verbrennungsverletzung (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Durch die posttraumatische Nikotinapplikation wird dieser Effekt reduziert (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). **(c) und (d)** Maximaler Blutdruckabfall pro Sekunde (Relaxationsfähigkeit). Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist hier zu berücksichtigen, dass die Skala negativ ist und dass der maximale Blutdruckabfall umso größer ist, je kleiner der Wert ist. Es zeigt sich eine verbrennungsinduziert deutlich verminderte Relaxationsfähigkeit (schwarze Säulen vs. weiße Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Die Nikotinapplikation hat darauf einen statistisch relevanten positiven Einfluss (schwarze Säulen vs. gestreifte Säulen, $p < 0,05$, ANOVA). Bemerkenswerterweise weisen sowohl beide Traumagruppen plus Nikotinapplikation als auch beide Scheinkontrollgruppen kleinere Werte als die Kontrollgruppe auf (gestreifte Säulen und graue Säulen vs. weiße Säulen in **(c) und (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

In Anlehnung an die Beurteilung der Herzfunktion während der Systole wurden für die Beurteilung der Herzfunktion während der Diastole die Parameter Diastolendauer und die Relaxationsfähigkeit in Form des maximalen Blutdruckabfalls pro Sekunde gemessen.

Die Spitze der Werte der Diastolendauer bildete die Kontrollgruppe mit Werten von $0,1104 \pm 0,0009435$ s (weiße Säulen in **Abb. 4-10 (a) und (b)**). Die Traumagruppe nach 12 h hatte demgegenüber eine wesentlich erniedrigte Diastolendauer von $0,09855 \pm 0,004048$ s (schwarze Säule in **Abb. 4-10 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA). Den niedrigsten Wert hatte die Traumagruppe nach 24 h mit Werten von $0,09572 \pm 0,001296$ s (schwarze Säule in **Abb. 4-10 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA).

Die Traumagruppe plus Nikotinapplikation hatte nach 12 h eine Diastolendauer von $0,1020 \pm 0,0005311$ s (gestreifte Säule in **Abb. 4-10 (a)**, $p < 0,05$, ANOVA) und nach 24 h eine Diastolendauer von $0,09959 \pm 0,0006310$ s (gestreifte Säule in **Abb. 4-10 (b)**, $p < 0,05$, ANOVA). Damit hatten diese beiden Versuchstiergruppen statistisch relevant höhere Werte für die Diastolendauer im Vergleich zu den jeweiligen Traumagruppen.

Der niedrigste Wert für die Relaxationsfähigkeit war der Diastolendauer entsprechend bei der Traumagruppe nach 12 h zu finden. Die hier zu bemerkenden $-3282 \pm 31,82$ mmHg/s (schwarze Säule in **Abb. 4-10 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) waren gegenüber der Kontrollgruppe und gegenüber der Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 12 h signifikant erniedrigt. Das Gleiche galt für die Traumagruppe nach 24 h mit einem Wert von $-3760 \pm 16,48$ mmHg/s (schwarze Säule in **Abb. 4-10 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA). Hier bestand ein deutlicher Unterschied zusätzlich zu der Kontrollgruppe auch zu der Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 24 h. Der Wert der Kontrollgruppe lag bei $-4013 \pm 86,53$ mmHg/s (weiße Säulen in **Abb. 4-10 (c) und (d)**).

Die Werte der Traumagruppen plus Nikotinapplikation mit $-5143 \pm 19,32$ mmHg/s (gestreifte Säule in **Abb. 4-10 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) und $-4833 \pm 51,01$ mmHg/s (gestreifte Säule in **Abb. 4-10 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA) sowie die der beiden Scheinkontrollgruppen mit $-5021 \pm 53,58$ mmHg/s (graue Säule in **Abb. 4-10 (c)**, $p < 0,05$, ANOVA) beziehungsweise $-5359 \pm 27,04$ mmHg/s (graue Säule in **Abb. 4-10 (d)**, $p < 0,05$, ANOVA) waren im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich erhöht.

4.3.4. Herzfrequenz und Herzzyklusdauer

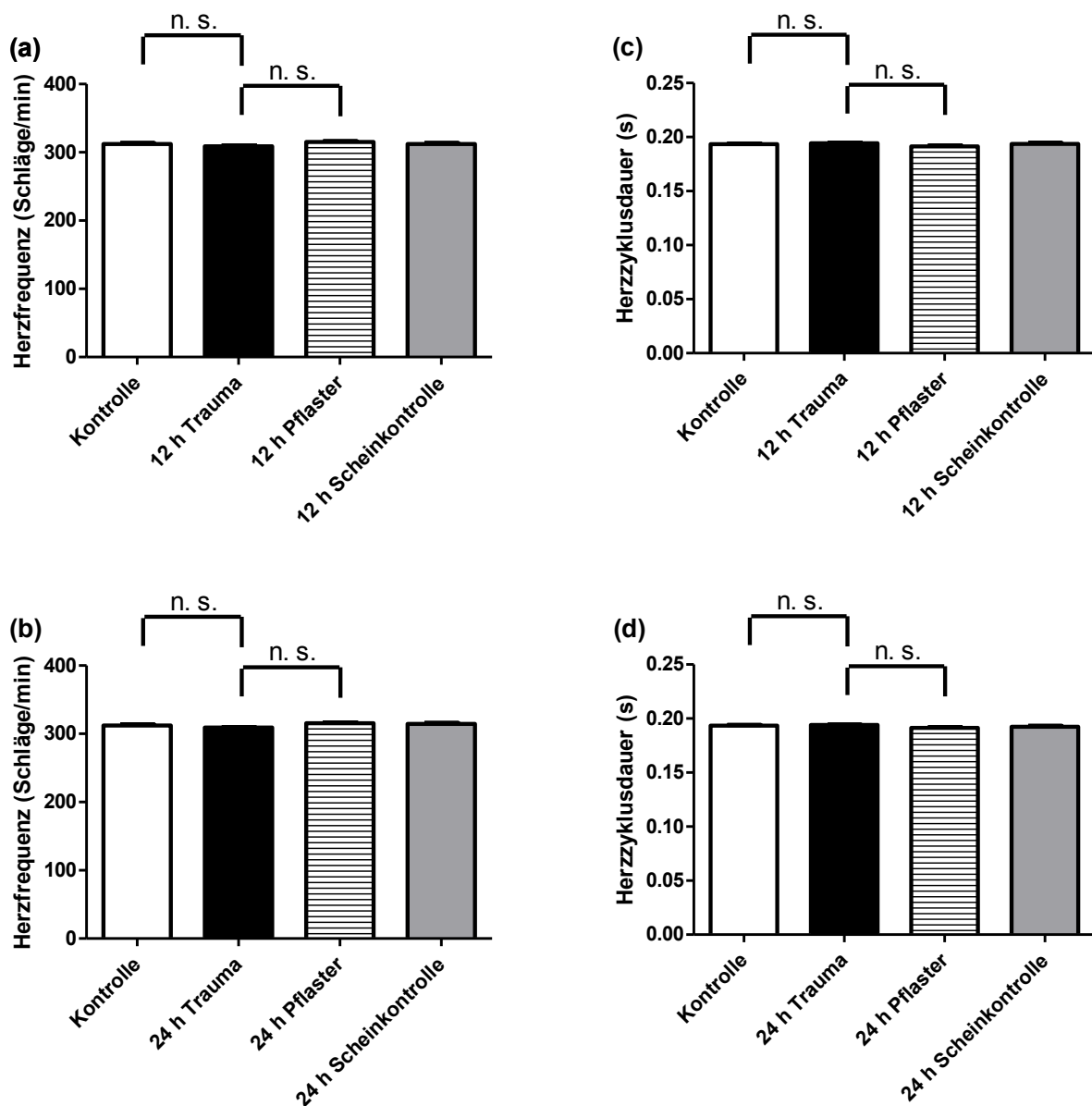


Abb. 4-11 Herzfrequenz und Herzzyklusdauer

(a) und (b) Herzfrequenz. (c) und (d) Herzzyklusdauer. Bei der Analyse der Herzfrequenz und der Herzzyklusdauer zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Versuchstiergruppen. Die Werte sind als Mittelwert + Standardfehler des Mittelwerts dargestellt. Jede Säule entspricht fünf Versuchstieren.

Bei der Herzfrequenz fanden sich nach 12 h und nach 24 h keine signifikanten Unterschiede. Die Werte reichten von $309,3 \pm 3,194$ Schläge/min, gemessen bei der Traumagruppe nach 24 h (schwarze Säule in **Abb. 4-11 (b)**, n. s., ANOVA), bis zu $315,4 \pm 1,193$ Schläge/min für die Traumagruppe plus Nikotinplaster nach 24 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-11 (b)**, n. s., ANOVA).

Die Herzzyklusdauer zeigte, der Herzfrequenz entsprechend, keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Versuchstiergruppen. Die Werte lagen zwischen $0,1913 \pm 0,01496$ s bei der Traumagruppe plus Nikotinapplikation nach 24 h (gestreifte Säule in **Abb. 4-11 (d)**, n. s., ANOVA) und $0,1943 \pm 0,004217$ s bei der Traumagruppe nach 12 h (schwarze Säule in **Abb. 4-11 (c)**, n. s., ANOVA).

Die experimentelle Verbrennungsverletzung und die darauffolgende Nikotinapplikation hatten keine Auswirkung auf die Herzfrequenz und die Herzzyklusdauer. Demgegenüber waren Auswirkungen auf die Systolendauer festzustellen, wodurch sich der Anteil der Systole am Herzzyklus änderte. So führte die experimentelle Verbrennungsverletzung zu einem erhöhten Anteil der Systole am Herzzyklus. Lag dieser bei der Kontrollgruppe noch bei 42,9 %, betrug er bei der Traumagruppe nach 12 h 49,3 % und 50,7 % nach 24 h.

Die Nikotinapplikation allein führte zu einem höheren Anteil der Systole, der mit der Zeit größer wurde. Das war an der Scheinkontrollgruppe ersichtlich: betrug er hier nach 12 h gegenüber der Kontrollgruppe schon erhöhte 47,2 %, waren es 24 h nach Nikotinapplikation schon 48,4 %.

5 Diskussion

Thermische Traumata größeren Ausmaßes können lebensbedrohliche Folgen haben. Die multifaktorielle Pathogenese der verbrennungsinduzierten Multiorgandysfunktion ist hinreichend beschrieben. Entscheidende pathogenetische Faktoren sind der erhebliche Flüssigkeitsverlust bis hin zum Volumenmangelschock und die Dysbalance des Immunsystems (Baxter, Waeckerle 1988, Saffle, Sullivan et al. 1993, Church, Elsayed et al. 2006). An der Pathogenese der immunologischen Dysbalance nach einem Verbrennungstrauma sind mehrere Faktoren wie proinflammatorische Zytokine, das Komplementsystem, freie Sauerstoffradikale und NO beteiligt (Horton, White et al. 1988, Hoesel, Niederbichler et al. 2007). Folgen sind in schweren Fällen ein Versagen multipler Organe und die Entwicklung einer Sepsis (Hotchkiss, Karl 2003). Diese Thematik wurde in den Kapiteln 2.1.1 und 2.1.3 näher beschrieben.

Es wurde dargestellt, dass das Immunsystem nach einem ausgedehnten Verbrennungstrauma durch enorme Veränderungen gekennzeichnet ist. Nach der American Burns Association geht jedes schwere Verbrennungstrauma mit einem SIRS einher (Greenhalgh, Saffle et al. 2007). Dies und die Hypovolämie führen zu einer Beeinträchtigung der kardialen Funktionen (Niederbichler, Westfall et al. 2006, Horton, White et al. 1988, Adams, Baxter et al. 1984).

Daher stellte sich die Frage, ob sich mit Hilfe von Nikotin die Dysbalance des Immunsystems lindern lässt und sich dadurch ein positiver Effekt auf die kardialen Funktionsparameter nach einem thermalen Trauma erzielen lässt.

In der vorliegenden Studie wurde anhand der Zytokinkonzentrationen von TNF- α , IL-1 β und IL-6 und anhand mehrerer kardialer Funktionsparameter die Eignung von Nikotin als additive Therapie des Verbrennungstraumas untersucht.

5.1 Material und Methoden

In der hier vorliegenden Studie wurde der antiinflammatorische Reflex pharmakologisch mit Nikotin stimuliert. Als zweite Möglichkeit der Stimulation gilt die direkte elektrische Reizung des *N. vagus*. Diese fand in zwei Studien an Ratten Verwendung, einer mit dem Verschluss des *Truncus coeliacus* und der *A. mesenterica superior* und einer mit einem Endotoxin-Schock-Modell. Bei beiden Stressmodellen konnte über die direkte elektrische Stimulation der chirurgisch freigelegten *Nn. vagi* ein antiinflammatorischer Effekt erzielt werden (Bernik, Friedman et al. 2002b, Altavilla, Guarini et al. 2006). Die Federal Drug

Administration (FDA) hat in den USA die Therapie durch implantierte elektrische Stimulatoren des *N. vagus* zugelassen, allerdings bislang nur zur Therapie neuropsychiatrischer Erkrankungen wie Depressionen und Epilepsie (FineSmith, Zampella et al. 1999, Goodnick, Rush et al. 2001, Schachter 2002). Auch die pharmakologische Stimulation durch Nikotingabe hat ihre antiinflammatorische Wirkung bewiesen. Klinisch wurde sie bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen belegt (Sandborn, Tremaine et al. 1997, Guslandi 1999). Aufgrund eines hohen First-Pass-Effektes ist die gastrointestinale Aufnahme nach oraler Gabe von Nikotin gering (Sandborn 1999). Die intravenöse Verabreichung des Nikotins hat den Nachteil der wenn auch geringen Invasivität und wird in der Literatur nicht häufig beschrieben. Zudem wäre in Zukunft der intravenöse Applikationsweg nicht so praktikabel wie das einfache Aufkleben eines Transdermalpflasters. Aus diesen Gründen wurde in der vorliegenden Studie die transdermale Nikotinapplikation verwendet. Die Vorteile dieser Methode sind die Nicht-Invasivität, das Erreichen konstanter Plasmanikotinspiegel und die weitreichenden Erfahrungen mit dieser Methode in der Raucherentwöhnung (Sandborn 1999).

Die isolierte Nikotingabe ist nicht mit dem Rauchen von Zigaretten oder sonstigen Tabakwaren gleichzusetzen. Tabakrauch enthält mehr als 4.800 teils giftige und kanzerogene Inhaltsstoffe (Pötschke-Langer, Mons et al. 2009). 90 dieser Inhaltsstoffe wurden bisher als Kanzerogene identifiziert (Nair, Thielmann et al. 2009). Es ist hervorzuheben, dass es sich bei den in der Literatur wie auch in der hier vorliegenden Studie gezeigten Ergebnissen um einen reinen Nikotineffekt durch alleinige Gabe von Nikotin handelt, der deutlich von den gesundheitsschädlichen Effekten des Tabakrauches abzugrenzen ist. Bei Konsum von Tabakrauch als Applikationsweg für Nikotin würden die Risiken der giftigen Inhaltsstoffe des Tabakrauches gegenüber den Vorteilen des Nikotins deutlich überwiegen.

Nikotin selber eignet sich aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit von 2 h schlecht für den experimentellen Nachweis einer Nikotinaufnahme. Besser geeignet ist einer der primären Metaboliten des Nikotins, das Cotinin mit einer Halbwertszeit von 16 h (Benowitz, Hukkanen et al. 2009). Nikotin wird zu 70 - 80 % zu Cotinin metabolisiert, wobei die Cotininkonzentration direkt proportional zur aufgenommenen Nikotindosis ist (Sandborn 1999, Benowitz, Hukkanen et al. 2009). Die Messung der Cotininkonzentration als Parameter für die aufgenommene Dosis Nikotin fand in mehreren vorangegangenen experimentellen Studien Verwendung (Sandborn, Tremaine et al. 1997, Sandborn 1999, Richardson, Morgan et al. 2003, Whincup, Gilg et al. 2004).

Bei der Betrachtung der Wirkung des Nikotins darf man die Komplexität der Wirkung dieser Substanz nicht unberücksichtigt lassen. Wie in der Einleitung beschrieben konnten auf vielen Zellen und in vielen Organen nAChR nachgewiesen werden. Daraus folgt eine komplexe Wirkweise, die bis heute nur teilweise verstanden wurde. Nikotin hat Einflüsse auf das zentrale und periphere Nervensystem und es kann je nach Dosierung eine hemmende oder eine stimulierende Wirkung haben. Hinzu kommt, dass auch postganglionäre Neurone des Sympathikus nAChR tragen. Die Auswirkungen der nikotinergen Stimulierung des Sympathikus auf die Immunreaktion und auf das Myokard nach einem Verbrennungstrauma sind weitgehend unbekannt und wurden auch in der gängigen Literatur kaum behandelt. Es ist sinnvoll, diese Probleme bei der Beurteilung nikotinassoziierter Studien zu bedenken.

Für die Wahl des Anästhesieverfahrens war insbesondere dessen Beeinträchtigung des Herz-Kreislauf-Systems von Bedeutung. Von der Isoflurannarkose ist in klinischer Dosierung bekannt, dass sie die Herzfähigkeit inklusive der Ejektionsfraktion und des rechtsatrialen Drucks als Marker des Rückwärtsversagens *in vivo* kaum beeinträchtigt (Eger 1981). Auch werden der koronararterielle Blutfluss und die Sauerstoffversorgung des Herzens nicht vermindert. Bei einer Überdosierung von Isofluran tritt ein Herz-Kreislauf-Stillstand im Vergleich zu einer Überdosierung von Halothan und Enfluran erst später auf. Ein weiterer Vorteil des Isoflurans ist der geringe Löslichkeitskoeffizient. Daraus resultiert ein rasches An- und Abfluten der Narkose und somit eine gute Steuerbarkeit. Auch ist die Hepato- und Nephrotoxizität wesentlich geringer ausgeprägt als bei anderen Inhalationsnarkotika. Bei *in vitro*-Versuchen mit Isofluran sind dahingegen eine Beeinträchtigung der Verkürzung der Herzmuskelzellen und der Kontraktilität beschrieben (Eger 1981). Halothan und Enfluran als weitere Inhalationsnarkotika weisen eine Beeinträchtigung der myokardialen Funktion auf und führen zu einer Erhöhung des rechtsventrikulären Drucks und einer Verminderung des koronararteriellen Blutflusses. Die Herzfrequenz wird durch die drei genannten Inhalationsnarkotika eher gesteigert. Das Gegenteil gilt für den arteriellen Blutdruck. Das resultiert bei Isofluran aus einem erniedrigten peripheren Gefäßwiderstand und bei Halothan und Enfluran aus einem verminderten Herzzeitvolumen. Ein atemdepressiver Effekt ist bei allen Inhalationsnarkotika beschrieben (Eger 1981, Wissing, Kuhn et al. 2000). Ein weiteres Narkoseverfahren ist die Ketamin-Narkose, teilweise kombiniert mit Xylazin. Hierbei handelt es sich um eine Form der Injektionsnarkose. Sie zeigt allerdings eine große Variationsbreite in Bezug auf den Grad der Analgesie. Dies reicht von guter Analgesie bis kaum nachweisbarer Analgesie. Auch die Narkosedauer ist schlecht kalkulierbar. Zusätzlich sind teilweise wesentliche Beeinträchtigungen der Herz- und Lungen-Funktion beschrieben. Insbesondere

für Xylazin ist die Induktion von Herzrhythmusstörungen bekannt (Green, Knight et al. 1981, Erhardt, Hebestedt et al. 1984). Zusammenfassend stellte sich die Isoflurannarkose als geeignetes Anästhesieverfahren für diese Studie dar. Die geringe Beeinträchtigung des Herz-Kreislauf-Systems und die gute Steuerbarkeit der Narkose sprechen dafür. Zusätzlich ist auch die unkomplizierte Handhabung des Materials ein großer Vorteil.

Die Zeitpunkte für die Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels und die Organentnahme wurden in der hier vorliegenden Arbeit 12 h und 24 h nach der Induktion der experimentellen Verbrennungsverletzung angesetzt. Dies lag in den Ergebnissen einer Arbeit von Gauglitz und Kollegen begründet. Sie belegten experimentell, dass IL-1 β und IL-6 im Bereich zwischen 12 h und 24 h nach einem Verbrennungstrauma ihre Spitzenwerte erreichen (Gauglitz, Song et al. 2008). Zusätzlich wurden in drei weiteren Studien, zwei verwendeten Verbrennungsmodelle und eine basierte auf einem Sepsismodell, die kardialen Funktionsparameter nach 24 h bestimmt (Adams, Baxter et al. 1984, Sambol, White et al. 2002, Niederbichler, Hoesel et al. 2006). Die Grundlagen für die Durchführung der experimentellen Verbrennungsverletzung und des Volumenersatzes wurden in den jeweiligen Kapiteln dargelegt (siehe Kapitel 3.4 und 3.5).

Die statistische Auswertung umfasste multiple statistische Tests. Wichtig ist, dass bei der Auswertung die Ergebnisse den Abbildungen des Ergebnisteils entsprechend gruppiert und ausgewertet wurden. So wurden nur die Gruppen zum Beispiel des systolischen Blutdruckes nach 12 h separat für sich betrachtet und ausgewertet. Das gleiche gilt für alle Abbildungen. Trotzdem ergibt sich das Problem der Adjustierung. Die ANOVA allein vergleicht alle Gruppen untereinander und prüft für alle Vergleiche einzeln, ob der p -Wert zum Beispiel $< 0,05$ ist. Für die in der hier vorliegenden Arbeit dargestellten Abbildungen bedeutet das bei jeweils vier Gruppen mit folglich 6 Vergleichen pro Abbildung und einer fehlenden Adjustierung eine deutlich höhere Irrtumswahrscheinlichkeit als 0,05. Das hieße, die Aussage der systolische Blutdruck der Traumagruppe ist signifikant niedriger als der der Traumagruppe plus Nikotinapplikation ist mit einer Wahrscheinlichkeit von größer 0,05 falsch. Aus diesem Grund wurden paarweise Vergleiche mit einer Multiplizitätskorrektur nach Tukey durchgeführt. Er führt dazu, dass bei einer Abbildung die Irrtumswahrscheinlichkeit aller Vergleiche zusammen maximal 0,05 beträgt. Dadurch beträgt die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Ablehnung der Nullhypothese der beispielhaft genannten Aussage maximal 0,05.

Der Charakter der vorliegenden Studie ist im statistischen Sinn hypothesengenerierend oder deskriptiv. Durch die gewählte Art der Adjustierung bezogen auf die den Abbildungen

entsprechenden Gruppen ist folgende Aussage möglich: Es gibt einen begründeten Hinweis darauf, dass der systolische Blutdruck nach 12 h bei der Traumagruppe plus Nikotinapplikation höher ist als bei der Traumagruppe. Dies mit dem Ziel, Ideen für weitere Studien zu generieren. Was aus der gewählten Auswertung nicht möglich ist, und hier besteht die Limitation der Studie, ist folgende Aussage: Nikotin reduziert die Entzündungsreaktion und schützt das Herz. Es dürfen anders gesagt keine konfirmatorischen Schlüsse gezogen werden. Hierzu hätte die Adjustierung alle Vergleiche, die in der Dissertation vorgenommen wurden, umfassen müssen. Der Nachteil dieser Vorgehensweise wäre gewesen, dass die Irrtumswahrscheinlichkeit hätte deutlich kleiner gewählt werden müssen. Dann wären eventuell vorhandene relevante Unterschiede bei den Einzelergebnissen unentdeckt geblieben.

5.2 Immunreaktion nach einem Verbrennungstrauma

TNF- α , IL-1 β und IL-6 wurden in Kapitel 2.2 als proinflammatorische Zytokine beschrieben. Ihre Eignung als Indikatoren für die Aktivität beziehungsweise die Auswirkung der Immunreaktion nach einem Verbrennungstrauma wurde durch mehrere Forschungsarbeiten dargelegt (Niederbichler, Westfall et al. 2006, Horton 2004, Sambol, White et al. 2002, Niederbichler, Papst et al. 2009). Entscheidend für die vorliegende Studie war die durch sie vermittelte kardiodepressive Wirkung des thermalen Traumas (Maass, White et al. 2002).

Trotz weitreichender Forschungsarbeiten zur Kinetik der Entzündungsreaktion nach einem Verbrennungstrauma blieben die Konzentrationen der Zytokine in den verschiedenen Organen unbekannt. Die Resultate der vorliegenden Studie bestätigten die Ergebnisse früherer Forschungsarbeiten mit posttraumatisch erhöhten Zytokinkonzentrationen und spezifizierten dieses Wissen in Hinblick auf die genannten Organe und Zeitpunkte. Zusätzlich wurde gezeigt, dass die posttraumatische Nikotinapplikation die Zytokinkonzentrationen signifikant reduziert.

In den Homogenisaten der Herzen und Lebern konnten nach experimenteller Verbrennungsverletzung signifikant erhöhte TNF- α -, IL-1 β - und IL-6-Konzentrationen nachgewiesen werden (**Abb. 4-2 (a) bis (f)** und **Abb. 4-3 (a) bis (f)**). Diese Tatsache korreliert mit den Ergebnissen eines Verbrennungsmodells an Ratten von Gauglitz und Kollegen, der unter anderem nach 12 h und 24 h erhöhte IL-1 β - und IL-6-Konzentrationen im Serum feststellte. Für Homogenisate von isolierten Kardiomyozyten besteht der Nachweis erhöhter TNF- α -, IL-1 β - und IL-6-Konzentrationen in einem Verbrennungsmodell an Ratten für verschiedene Zeitpunkte inklusive 12 h und 24 h nach Verbrennung (Maass, White et al.

2002). Ebenfalls für Kardiomyozyten von Ratten wurden nach einer Stunde in einem Endotoxin-Modell und nach drei Stunden bei einem Verbrennungsmodell erhöhte TNF- α -, IL-1 β - und IL-6-Konzentrationen nachgewiesen (Niederbichler, Westfall et al. 2006, Niederbichler, Papst et al. 2009). In dem letztgenannten Verbrennungsmodell konnten auch in Leberhomogenisaten 3 h nach dem Verbrennungstrauma erhöhte Zytokinkonzentrationen gezeigt werden (Niederbichler, Papst et al. 2009).

Die transdermale Nikotingabe senkte die posttraumatisch erhöhten Zytokinkonzentrationen in den Herz- und Leberhomogenisaten deutlich (**Abb. 4-2 (a) bis (f)** und **Abb. 4-3 (a) bis (f)**). Ein ähnlicher protektiver Effekt der Stimulation des antiinflammatorischen Reflexes zeigte sich in anderen Stressmodellen. In einem Endotoxinmodell an Ratten konnten Bernik und Kollegen durch elektrische Stimulation und durch pharmakologische Stimulation mit CNI-1493 deutlich erniedrigte TNF- α -Konzentrationen im Serum dargelegt werden (Bernik, Friedman et al. 2002b). Auch in einem Modell mit kardialer Ischämiezeit von Kawada und Kollegen und in einem Modell mit dem Verschluss von visceralen Gefäßen von Altavilla und Kollegen wurden aufgrund der elektrischen Stimulation des *N. vagus* verminderte Stressreaktionen beobachtet (Kawada, Yamazaki et al. 2006, Altavilla, Guarini et al. 2006). Ebenfalls durch elektrische Stimulation des *N. vagus* wurden in einem Verbrennungsmodell an Ratten gesenkte posttraumatische TNF- α -, IL-1 β - und IL-6-Konzentrationen in Herz- und Leberhomogenisaten festgestellt (Niederbichler, Papst et al. 2009). Borovikova und Kollegen konnten mit der Applikation von Acetylcholin in durch Endotoxine stimulierten Makrophagenkulturen erniedrigte Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine erzielen. Interessanterweise hatte die Acetylcholingabe in der letztgenannten Studie keine Auswirkung auf die Konzentrationen des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 (Borovikova, Ivanova et al. 2000).

Zu den eigenen Ergebnissen der Milz-, Nieren- und Lungen-Homogenisate gibt es nach derzeitigem Kenntnisstand keine vergleichbaren Arbeiten. Bei den Milzhomogenisaten führte das experimentelle Verbrennungstrauma in Korrelation zu den Herz- und Leberhomogenisaten zu einem wesentlichen Anstieg der Zytokinkonzentrationen als Zeichen der Immunreaktion. Dieser Anstieg wurde durch die Nikotinapplikation signifikant abgeschwächt (**Abb. 4-4 (a) bis (f)**). Auffällig waren die Ergebnisse der Nieren- und Lungenhomogenisate. Mit Ausnahme der IL-1 β -Konzentration in Nierenhomogenisaten (**Abb. 4-5 (c) und (d)**) blieben die TNF- α - und IL-1 β -Werte der Traumagruppen und der Traumagruppen plus Nikotinapplikation unter denen der Kontrollgruppen (**Abb. 4-5 (a) und (b)** und **Abb. 4-6 (a) bis (d)**). Bemerkenswert war demgegenüber der posttraumatisch

starke Anstieg der IL-6-Konzentration in beiden Organen (**Abb. 4-5 und 4-6 jeweils (e) und (f)**).

Trotz intensiver Literaturrecherche fand sich keine eindeutige Erklärung für die isolierte Erhöhung der IL-6-Konzentrationen in Nieren- und Lungenhomogenisaten. Bei Betrachtung von anderen klinisch häufig auftretenden Entzündungsreaktionen der Niere und Lunge wie den Glomerulonephritiden und der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung waren in der Literatur gleichsinnig zur Erhöhung der IL-6-Konzentrationen auch Erhöhungen der TNF- α - und IL-1 β -Konzentrationen beschrieben (Yoshioka, Takemura et al. 1993, Chung 2005).

Dennoch sind dem IL-6 insbesondere in der Akutphase einer Immunreaktion auch antiinflammatorische Wirkungen zuzuschreiben (Gabay 2006). Auch ist bekannt, dass IL-6 nicht direkt zu erhöhten TNF- α - oder IL-1 β -Konzentrationen führt, sondern auch reduzierte TNF- α - oder IL-1 β -Konzentrationen bewirken kann (Dinarello 2004, Hildebrand, Pape et al. 2005). Zusätzlich zeigte die isolierte IL-6-Gabe in der Studie an isolierten Kardiomyocyten von Maass und Kollegen den geringsten proinflammatorischen und kardiodepressiven beziehungsweise kardiotoxischen Effekt. Dies im Vergleich zu isolierter TNF- α - oder IL-1 β -Gabe und im Vergleich zu einer kombinierten Gabe der drei genannten Zytokine (Maass, White et al. 2002). Aufgrund der genannten Punkte lässt sich sagen, dass eine isolierte Erhöhung der IL-6-Konzentration bei einer Immunreaktion nicht ausgeschlossen ist. Hypothetisch wäre denkbar, dass bei den Nieren- und Lungenhomogenisaten zu den untersuchten Zeitpunkten die initiale antiinflammatorische Wirkung des IL-6 gegenüber der proinflammatorischen Wirkung von TNF- α - und IL-1 β überwogen hat. Daraus könnten die isoliert erhöhten IL-6-Konzentrationen in Nieren- und Lungenhomogenisaten resultieren.

5.3 Myokardiale Funktionsanalyse

Die myokardiale Dysfunktion als Folge eines schweren Verbrennungstraumas wurde durch mehrere Arbeiten beschrieben und wurde in Kapitel 2.1.3 näher erläutert (Niederbichler, Westfall et al. 2006, Saffle, Sullivan et al. 1993, Adams, Baxter et al. 1984, Sambol, White et al. 2002). In der hier vorliegenden Studie wurde die Wirkung des Nikotins auf den linksventrikulären Blutdruck, die Herzfrequenz, die Kontraktilität und die Relaxationsfähigkeit als Parameter für die kardiale Funktionalität untersucht.

5.3.1 Blutdruckparameter

Das Verbrennungstrauma führte zu einem signifikant erniedrigten systolischen Blutdruck im linken Ventrikel. Die hier vorliegende Studie stellte dar, dass die Applikation von Nikotin den verbrennungsinduziert erniedrigten systolischen Blutdruck normalisiert (**Abb. 4-7 (a) und (b)**). Die Forschungsgruppen um Sambol und um Adams stellten ebenfalls erniedrigte systolische Blutdruckwerte 24 h nach einem Verbrennungstrauma fest. Sambol gelang dies in einem Modell an Ratten und Adams in einem Modell an Meerschweinchen. Die Reduktion kardiodepressiver Zytokine führte dabei zu einem normalisierten Blutdruck nach einem Verbrennungstrauma (Adams, Baxter et al. 1984, Sambol, White et al. 2002). In einem Sepsismodell wurden ebenso signifikant erniedrigte Werte für den linksventrikulären Blutdruck 24 h nach Induktion der Sepsis festgestellt (Niederbichler, Hoesel et al. 2006). In dieser Studie konnte der Blutdruckabfall mit der Blockade des Komplement Anaphylatoxins C5a reduziert werden. Maass und Kollegen konnten den in ihrer Studie progredient ansteigenden Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine progredient abfallende systolische Blutdruckwerte zuordnen. Es besteht folglich eine negative Korrelation zwischen den Zytokinkonzentrationen und dem systolischen Blutdruck (Maass, White et al. 2002).

Der systolische linksventrikuläre Blutdruck steht in einer direkten Beziehung mit dem arteriellen Blutdruck. Dieser basiert auf dem intravasalen Blutvolumen, dem Herzschlagvolumen und auf dem totalen peripheren Widerstand. Das Verbrennungstrauma affiziert alle drei Parameter. Auf das Kapillarleck folgt durch den Flüssigkeitsverlust eine Abnahme des intravasalen Blutvolumens, die verminderte Kontraktilität des Ventrikels führt zu einem verminderten Herzschlagvolumen und die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β resultiert in einer Abnahme des totalen peripheren Widerstandes (Horton 2004, Baxter, Waeckerle 1988, Dinarello 1988). Auf das intravasale Blutvolumen hat Nikotin wohl keinen direkten Einfluss. Dahingegen kann die Normalisierung des systolischen Blutdrucks folgenderweise erklärt werden. Nikotin senkt die Konzentration der vasodilatatorisch wirksamen Zytokine wie IL-1 β und führt dadurch zu einem erhöhten totalen peripheren Widerstand (de Jonge, Ulloa 2007, Dinarello 1988). Zusätzlich wird durch die Reduktion der Konzentrationen von TNF- α , IL-1 β und IL-6 deren negativer Einfluss auf die Kontraktilität gemindert (Horton 2004). Nikotin führt folglich durch einen erhöhten totalen peripheren Widerstand und durch ein erhöhtes Herzschlagvolumen zu normalisierten Blutdruckwerten. Hinzu kommt der Volumenersatz, der über die Erhöhung des intravasalen Volumens zur Normalisierung des systolischen Blutdruckes beiträgt, allerdings allein nicht

ausreicht. Das war in der hier vorliegenden Studie an den Traumagruppen ersichtlich (**Abb. 4-7 (a) und (b)**). Diese Tatsache wurde schon von Horton und Kollegen beschrieben (Horton, White et al. 1988)

Für den diastolischen und enddiastolischen Blutdruck zeigte sich ebenfalls ein Abfall durch die experimentelle Verbrennungsverletzung (**Abb. 4-7 (c) bis (f)**). Beide kardialen Funktionsparameter werden wesentlich durch das intravasale beziehungsweise intravenöse Volumen und die Kontraktionskraft des linken Ventrikels bestimmt. So könnte man den Anstieg des diastolischen und des enddiastolischen Blutdruckes von den Traumagruppen zu den Traumagruppen plus Nikotinapplikation als Verschlechterung der linksventrikulären Funktion deuten. Dies wäre widersprüchlich zu den Messungen der anderen myokardialen Funktionsparameter in der vorliegenden Arbeit, die auf einen positiven Effekt der Nikotinapplikation auf die linksventrikuläre Funktion hinweisen. Ein zweiter Erklärungsansatz für den Anstieg des diastolischen und des enddiastolischen Blutdruckes nach der Nikotinapplikation beruht auf dem posttraumatischen intravasalen Volumen. Dem großen verbrennungsinduzierten Volumenverlust durch das Kapillarleck, das ein Absinken des diastolischen und enddiastolischen Blutdruckes zur Folge hätte, steht die Volumengabe nach der Baxter-Formel entgegen. Daraus folgt, dass initial der Flüssigkeitsverlust durch das Kapillarleck als Ursache für die Abnahme des diastolischen und enddiastolischen Blutdrucks am wahrscheinlichsten ist. Es wurde angestrebt, diesen Flüssigkeitsverlust durch die posttraumatische Volumensubstitution auszugleichen. Der Anstieg von den Traumagruppen zu den Traumagruppen plus Nikotinapplikation könnte durch eine zu großzügige Volumengabe begründet sein. Zu berücksichtigen ist hierbei allerdings, dass sich die Werte der Traumagruppen plus Nikotinapplikation unter denen der Kontrollgruppen befinden. Jedoch ist eine Beteiligung des Nikotins an diesem Effekt nicht auszuschließen. Ipaktchi et al. konnten diesbezüglich nachweisen, dass eine immunsuppressive Therapie nach einem Verbrennungstrauma das Kapillarleck deutlich reduziert. Der Nachweis gelang mit der spezifischen Hemmung von MAPKs, folglich durch die Inhibition eines Bausteins der proinflammatorischen Signalkaskade, die auch durch Nikotin inhibiert wird (Ipaktchi, Mattar et al. 2006). In der Zusammenschau spielt die Nikotinapplikation in Bezug auf den diastolischen und enddiastolischen Blutdruck wahrscheinlich eine untergeordnete, wenn auch nachweisbare Rolle im Vergleich zum Volumenersatz. Der normalisierte enddiastolische Blutdruck resultiert sekundär über den Frank-Starling-Mechanismus auch in einem erhöhten Herzschlagvolumen und darüber dann tertiär in einem erhöhten systolischen Blutdruck.

5.3.2 Systole

Die Traumagruppen zeigten gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöhte Werte für die Systolendauer (**Abb. 4-9 (a) und (b)**). Dies wurde von signifikant erniedrigten Werten für den maximalen Blutdruckanstieg pro Zeit begleitet (**Abb. 4-9 (c) und (d)**). Beide Tatsachen wiesen auf eine verminderte Kontraktilität hin. Der Ventrikel brauchte posttraumatisch länger, um zu kontrahieren, und schaffte dies nicht mit der gleichen Kraft im Vergleich zur Kontrollgruppe. Frühere Studien zeigten ebenfalls eine verbrennungsinduzierte kontraktile Dysfunktion (Adams, Baxter et al. 1984, Sambol, White et al. 2002). Durch die Applikation von Nikotin lies sich der depressive Effekt des Verbrennungstraumas in Bezug auf die Systolendauer abschwächen und in Bezug zum maximalen Blutdruckanstieg pro Zeit aufheben.

Auffälligerweise steigerte die Nikotinapplikation allein die Werte des maximalen Blutdruckanstiegs pro Zeit signifikant (**Abb. 4-9 (c) und (d)**). Der Grund hierfür blieb unklar und könnte Anlass für weitere Studien sein.

5.3.3 Diastole

Auch beim maximalen Blutdruckabfall pro Zeit war die Wirkung des Nikotins wie schon beim maximalen Blutdruckanstieg pro Zeit auffällig. Die Traumagruppen plus Nikotinapplikation und die Scheinkontrollgruppen hatten gegenüber der Kontrollgruppe deutlich erhöhte Werte.

Die Diastolendauer schien nur geringe Veränderungen aufzuweisen. Aber immerhin handelte es sich um eine Verkürzung von ungefähr 10 % der 12 h-Traumagruppe und von 15 % der 24 h-Traumagruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (**Abb. 4-10 (a) und (b)**). Größere Unterschiede fanden sich beim maximalen Blutdruckabfall pro Zeit (**Abb. 4-10 (c) und (d)**). Die experimentelle Verbrennungsverletzung führte zu signifikant erniedrigten Werten. Vergleichende Daten sind hierzu kaum zu finden. Einzig die Arbeit von Adams und Kollegen zeigte den gleichen Effekt des Verbrennungstraumas (Adams, Baxter et al. 1984). Durch die Ergebnisse ist ersichtlich, dass das thermale Trauma neben der systolischen Dysfunktion auch zu einer diastolischen Dysfunktion führt. Entscheidend war, dass Nikotin bei der systolischen und bei der diastolischen Dysfunktion einen mit dieser Studie belegten positiven Effekt hat.

5.3.4 Herzfrequenz und Herzzyklusdauer

Die Werte der Herzfrequenz und der Herzzyklusdauer zeigten keine signifikanten Unterschiede (**Abb. 4-11 (a) bis (d)**). Dies deckt sich mit den Ergebnissen mehrerer Autoren. Adams und Kollegen fanden eine gleichbleibende Herzfrequenz in einem Verbrennungsmodell nach 24 h posttraumatisch (Adams, Baxter et al. 1984). Ebenso wiesen auch Sambol, Maass, und Forschungsgruppen um Niederbichler in Verbrennungsmodellen keine Veränderungen der Herzfrequenz auf (Maass, White et al. 2002, Sambol, White et al. 2002, Niederbichler, Papst et al. 2009, Niederbichler, Hoesel et al. 2006). Bemerkenswert war, dass die Nikotinapplikation keine Bradykardie induziert, welche bei der Stimulation des N. vagus zu erwarten wäre. Jedoch sind in der Literatur Hinweise zu finden, wonach Nikotin eher tachykard wirkt (Sandborn 1999, Benowitz 1988).

5.4 Nikotin als additive immunomodulatorische Therapieoption des Verbrennungstraumas

Die Therapie der Verbrennungsverletzung umfasst je nach Ausmaß verschiedene Maßnahmen. In der Akuttherapie stehen die Schmerztherapie, die Kühlung der betroffenen Hautareale der Volumenersatz nach der Parkland-Baxter-Formel und die weitestgehende Infektionsprophylaxe im Vordergrund (Baxter, Waeckerle 1988, Dries 2009). Bei einer stationären Versorgung kommen intensivmedizinische Maßnahmen, die weitergeführte adäquate Infektionsprophylaxe und –behandlung, und chirurgische Maßnahmen wie Escharotomie, Nekrektomie, Lappenplastiken und Spalthauttransplantation hinzu (Spanholtz, Theodorou et al. 2009, Baxter, Waeckerle 1988, Dries 2009). Zusätzlich werden das Inhalationstrauma und die eventuellen Begleitverletzungen weiter therapiert (Dries 2009).

Eine additive gezielt antiinflammatorische Therapie würde früh in die Pathogenese des SIRS eingreifen, welches mit dem Verbrennungstrauma assoziiert ist. Aktuell werden Verbrennungspatienten teilweise mit Glukokortikoiden behandelt. Der Nachteil der Glukokortikoide ist neben diversen anderen erheblichen unerwünschten Arzneimittelwirkungen eine Erhöhung der Infektionsrate (Hotchkiss, Karl 2003). Dies ist unter der Berücksichtigung, dass rund 75 % der Schwerbrandverletzten aufgrund einer schweren Infektion sterben und die häufigste Komplikation nach einer Verbrennung mit der Pneumonie eine Infektion ist, umso schwerwiegender (Spanholtz, Theodorou et al. 2009). Doch die Ergebnisse mehrerer Forschungsgruppen wiesen darauf hin, dass eine direktere und

spezifischere Blockierung der pathologischen Immunreaktion nach einem Verbrennungstrauma möglich ist. Dazu gehört die spezifische Blockierung von HMGB-1 und anderen proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α und IL-1 β mit Antikörpern gegen die Zytokine oder deren Rezeptoren (Yang, Wang et al. 2005, Hehlhans, Pfeffer 2005, Tracey 2007).

Die antiinflammatorische Potenz der Stimulierung des inflammatorischen Reflexes konnte experimentell nachgewiesen werden. CNI-1493 hat eine gesicherte antiinflammatorische Wirkung, obwohl noch nicht in klinischen Studien belegt (Oke, Tracey 2008, Bernik, Friedman et al. 2002b). Die elektrische Stimulation des N. vagus findet zwar bereits Anwendung in der Klinik, allerdings nicht im Hinblick auf seine antiinflammatorische Wirkung (Schachter 2002).

Nikotin stellt eine Substanz dar, die in mehreren klinischen Studien einen positiven Effekt auf pathologische Entzündungserkrankungen aufwies (Sandborn, Tremaine et al. 1997, Guslandi 1999). In dieser Studie zeigte Nikotin eine klar positive Wirkung auf die kardialen Funktionsparameter nach der experimentellen Verbrennungsverletzung. Aber auch für Nikotin sind bei transdermaler Applikation unerwünschte Nebenwirkungen beschrieben worden. In klinischen Studien wurden in erster Linie Übelkeit, Kopfschmerzen und lokale Hautreaktionen geschildert (Sandborn, Tremaine et al. 1997, Guslandi 1999). Jedoch wird die transdermale Nikotinapplikation grundsätzlich gut vertragen und führt bemerkenswerterweise nicht zu einer Nikotinabhängigkeit (Sandborn 1999). Nikotin scheint somit tendenziell ein verträglicheres Nebenwirkungsprofil als zum Beispiel Glukokortikoide zu haben. Zudem befindet es sich, im Gegensatz zu weiteren genannten antiinflammatorischen Substanzen, bereits in der klinischen Anwendung. Damit eignet sich Nikotin am ehesten als additive immunomodulatorische Therapie des Verbrennungstraumas.

In der vorliegenden Arbeit konnten die Auswirkungen des Verbrennungstraumas veranschaulicht werden. Dazu gehören der signifikante Anstieg kardiodepressiver Zytokine in Herz, Leber und Milz, ein Abfall des Blutdrucks und eine Verminderung der Kontraktilität und der Relaxationsfähigkeit. Demgegenüber gibt es Hinweise für einen positiven Einfluss des Nikotins. Es führte zu einer deutlich reduzierten Konzentration der genannten Zytokine normalisierte die Werte einer Vielzahl myokardialer Funktionsparameter. Dies trotz der Tatsache, dass zur genauen Wirkweise des Nikotins noch viele offene Fragen bestehen.

Ob die getestete neue Therapieform auch die Letalität des Verbrennungstraumas günstig beeinflussen kann, war nicht Gegenstand dieser Untersuchungen. Dies wäre aber für weitere

Studien von großer Bedeutung. Somit könnten die Ergebnisse Anlass für weitere Studien auf dem Themengebiet des inflammatorischen Reflexes und der Therapie von Verbrennungspatienten geben.

6 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Studie war die Beantwortung der Frage, ob die transdermale Applikation von Nikotin die verbrennungsinduzierte kardiale Dysfunktion durch Hemmung der Generation proinflammatorischer kardiodepressiver Zytokine positiv beeinflussen kann.

Zu diesem Zweck wurden in einem Ratten-Tiermodell bei 35 Ratten die Funktion des Herzens anhand des Blutdrucks, der Herzfrequenz, der Zyklusdauer, der Kontraktilität und der Relaxationsfähigkeit analysiert. Zusätzlich wurden die Konzentrationen der als kardiodepressiv wirkend bekannten Zytokine TNF- α , IL-1 β und IL-6 in Homogenisaten der Herzen, Lebern, Milzen, Nieren und Lungen der Versuchstiere bestimmt. Auch wurde die Cotininkonzentration, ein Abbaustoff des Nikotins, in den Seren der Versuchstiere ermittelt. Die Versuchstiere waren in 7 Gruppen mit jeweils 5 Tieren aufgeteilt. Eine Gruppe bildete die Kontrollgruppe. Hinzu kamen drei Gruppen, bei denen die oben genannten Untersuchungen nach 12 h vorgenommen wurden und drei Gruppen, bei denen das nach 24 h geschah. Diese jeweils drei Gruppen bestanden aus einer Gruppe mit induziertem experimentellem Verbrennungstrauma, einer Traumagruppe mit posttraumatischer Nikotinpflasterapplikation und einer Scheinkontrollgruppe. Das Modell der experimentellen Verbrennungsverletzung basiert auf der Induktion eines thermischen Traumas dritten Grades.

Die Cotininkonzentrationen der Gruppen ohne Nikotinpflaster lagen unterhalb der Nachweisgrenze von 5ng/ml. Dagegen waren die Werte der Gruppen plus Nikotinpflaster mit einem Spitzenwert von 721,9 ng/ml signifikant erhöht. Damit beruhen die Ergebnisse mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf der Nikotinapplikation.

Das experimentelle Verbrennungstrauma führte zu einer signifikanten Erhöhung der Zytokinkonzentrationen in Herzen, Lebern und Milzen. Die Nikotinapplikation führte zu einer Verringerung des negativen Effekts des Verbrennungstraumas mit signifikant niedrigeren Konzentrationen im Vergleich zu den Traumagruppen. Bei den Werten aus Nieren- und Lungenhomogenisaten war das in der Form nur bei den IL-6-Konzentrationen feststellbar.

Der systolische Blutdruck lag bei der Kontrollgruppe bei 113,4 mmHg. Bei den Traumagruppen waren die Werte demgegenüber signifikant erniedrigt. So wurden nach 12 h 91,09 mmHg und nach 24 h 93,75 mmHg gemessen. Die Nikotinapplikation näherte den Blutdruck mit 106,3 mmHg nach 12 h und mit 101,2 mmHg nach 24 h wieder den Werten der Kontrollgruppe an. Das experimentelle Verbrennungstrauma führte auch zu einer signifikant verminderten Kontraktilität und Relaxationsfähigkeit des Myokards. Mit der Applikation von

Nikotin normalisierten sich beide Funktionsparameter. Bemerkenswerterweise zeigte die Herzfrequenz bei allen Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede.

Zusammenfassend zeigte die vorliegende Studie, dass die transdermale Nikotinapplikation die Sekretion kardiodepressiver Zytokine reduziert und einen deutlich positiven Effekt auf die verbrennungsinduzierte myokardiale Dysfunktion hat.

7 Literaturverzeichnis

ADAMS, H.R., BAXTER, C.R. und IZENBERG, S.D., 1984. Decreased contractility and compliance of the left ventricle as complications of thermal trauma. *American Heart Journal*, **108**(6), 1477-1487.

AKIRA, S., HIRANO, T., TAGA, T. und KISHIMOTO, T., 1990. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **4**(11), 2860-2867.

ALTAVILLA, D., GUARINI, S., BITTO, A., MIONI, C., GIULIANI, D., BIGIANI, A., SQUADRITO, G., MINUTOLI, L., VENUTI, F.S., MESSINEO, F., DE MEO, V., BAZZANI, C. und SQUADRITO, F., 2006. Activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway reduces NF-kappa activation, blunts TNF-alpha production, and protects against splanchnic artery occlusion shock. *Shock (Augusta, Ga.)*, **25**(5), 500-506.

ANDERSSON, J., 2005. The inflammatory reflex--introduction. *Journal of internal medicine*, **257**(2), 122-125.

ANDERSSON, U.G. und TRACEY, K.J., 2004. HMGB1, a pro-inflammatory cytokine of clinical interest: introduction. *Journal of internal medicine*, **255**(3), 318-319.

ANTONICA, A., MAGNI, F., MEARINI, L. und PAOLOCCI, N., 1994. Vagal control of lymphocyte release from rat thymus. *Journal of the Autonomic Nervous System*, **48**(3), 187-197.

ASHBAUGH, D.G., BIGELOW, D.B., PETTY, T.L. und LEVINE, B.E., 1967. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*, **2**(7511), 319-323.

BAUER, J., GANTER, U., GEIGER, T., JACOBSHAGEN, U., HIRANO, T., MATSUDA, T., KISHIMOTO, T., ANDUS, T., ACS, G. und GEROK, W., 1988. Regulation of interleukin-6 expression in cultured human blood monocytes and monocyte-derived macrophages. *Blood*, **72**(4), 1134-1140.

BAXTER, C.R. und WAECKERLE, J.F., 1988. Emergency treatment of burn injury. *Annals of Emergency Medicine*, **17**(12), 1305-1315.

BENOWITZ, N.L., 1988. Drug therapy. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. *The New England journal of medicine*, **319**(20), 1318-1330.

BENOWITZ, N.L., HUKKANEN, J. und JACOB, P.,3RD, 2009. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handbook of Experimental Pharmacology*, **(192)**(192), 29-60.

BERNARD, G.R., ARTIGAS, A., BRIGHAM, K.L., CARLET, J., FALKE, K., HUDSON, L., LAMY, M., LEGALL, J.R., MORRIS, A. und SPRAGG, R., 1994. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **149**(3 Pt 1), 818-824.

BERNIK, T.R., FRIEDMAN, S.G., OCHANI, M., DIRAIMO, R., SUSARLA, S., CZURA, C.J. und TRACEY, K.J., 2002a. Cholinergic antiinflammatory pathway inhibition of tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter*, **36**(6), 1231-1236.

BERNIK, T.R., FRIEDMAN, S.G., OCHANI, M., DIRAIMO, R., ULLOA, L., YANG, H., SUDAN, S., CZURA, C.J., IVANOVA, S.M. und TRACEY, K.J., 2002b. Pharmacological stimulation of the cholinergic antiinflammatory pathway. *The Journal of experimental medicine*, **195**(6), 781-788.

BLALOCK, J.E., 2005. The immune system as the sixth sense. *Journal of internal medicine*, **257**(2), 126-138.

BLALOCK, J.E., 1984. The immune system as a sensory organ. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, **132**(3), 1067-1070.

BONE, R.C., BALK, R.A., CERRA, F.B., DELLINGER, R.P., FEIN, A.M., KNAUS, W.A., SCHEIN, R.M. und SIBBALD, W.J., 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, **101**(6), 1644-1655.

- BOROVIKOVA, L.V., IVANOVA, S., ZHANG, M., YANG, H., BOTCHKINA, G.I., WATKINS, L.R., WANG, H., ABUMRAD, N., EATON, J.W. und TRACEY, K.J., 2000. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, **405**(6785), 458-462.
- CHUNG, K.F., 2005. Inflammatory mediators in chronic obstructive pulmonary disease. *Current drug targets.Inflammation and allergy*, **4**(6), 619-625.
- CHURCH, D., ELSAYED, S., REID, O., WINSTON, B. und LINDSAY, R., 2006. Burn wound infections. *Clinical microbiology reviews*, **19**(2), 403-434.
- CHURCH, L.D., COOK, G.P. und MCDERMOTT, M.F., 2008. Primer: inflammasomes and interleukin 1beta in inflammatory disorders. *Nature clinical practice.Rheumatology*, **4**(1), 34-42.
- CZURA, C.J. und TRACEY, K.J., 2005. Autonomic neural regulation of immunity. *Journal of internal medicine*, **257**(2), 156-166.
- DE JONGE, W.J. und ULLOA, L., 2007. The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation. *British journal of pharmacology*, **151**(7), 915-929.
- DINARELLO, C.A., 2004. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. *Journal of endotoxin research*, **10**(4), 201-222.
- DINARELLO, C.A., 1988. Interleukin-1. *Digestive diseases and sciences*, **33**(3 Suppl), 25S-35S.
- DRIES, D.J., 2009. Management of burn injuries - recent developments in resuscitation, infection control and outcomes research. *Scandinavian journal of trauma, resuscitation and emergency medicine*, **17**(1), 14.
- EDER, C., 2009. Mechanisms of interleukin-1beta release. *Immunobiology*, **214**(7):543-53.
- EGER, E.I., 2ND, 1981. Isoflurane: a review. *Anesthesiology*, **55**(5), pp. 559-576.
- ERHARDT, W., HEBESTEDT, A., ASCHENBRENNER, G., PICHOTKA, B. and BLUMEL, G., 1984. A comparative study with various anesthetics in mice (pentobarbitone, ketamine-xylazine, carfentanyl-etomidate). *Research in experimental medicine.Zeitschrift fur die gesamte experimentelle Medizin einschliesslich experimenteller Chirurgie*, **184**(3), pp. 159-169.

- FINESMITH, R.B., ZAMPELLA, E. und DEVINSKY, O., 1999. Vagal nerve stimulator: a new approach to medically refractory epilepsy. *New Jersey medicine : the journal of the Medical Society of New Jersey*, **96**(6), 37-40.
- FLESHNER, M., GOEHLER, L.E., SCHWARTZ, B.A., MCGORRY, M., MARTIN, D., MAIER, S.F. und WATKINS, L.R., 1998. Thermogenic and corticosterone responses to intravenous cytokines (IL-1beta and TNF-alpha) are attenuated by subdiaphragmatic vagotomy. *Journal of neuroimmunology*, **86**(2), 134-141.
- GABAY, C., 2006. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis research & therapy*, **8 Suppl 2**, S3.
- GAUGLITZ, G.G., SONG, J., HERNDON, D.N., FINNERTY, C.C., BOEHNING, D., BARRAL, J.M. und JESCHKE, M.G., 2008. Characterization of the inflammatory response during acute and post-acute phases after severe burn. *Shock (Augusta, Ga.)*, **30**(5), 503-507.
- GAYKEMA, R.P., DIJKSTRA, I. und TILDERS, F.J., 1995. Subdiaphragmatic vagotomy suppresses endotoxin-induced activation of hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurons and ACTH secretion. *Endocrinology*, **136**(10), 4717-4720.
- GILPIN, D.A., 1996. Calculation of a new Meeh constant and experimental determination of burn size. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, **22**(8), 607-611.
- GIROIR, B.P., HORTON, J.W., WHITE, D.J., MCINTYRE, K.L. und LIN, C.Q., 1994. Inhibition of tumor necrosis factor prevents myocardial dysfunction during burn shock. *The American Journal of Physiology*, **267**(1 Pt 2), H118-24.
- GOODNICK, P.J., RUSH, A.J., GEORGE, M.S., MARANGELL, L.B. und SACKEIM, H.A., 2001. Vagus nerve stimulation in depression. *Expert opinion on pharmacotherapy*, **2**(7), 1061-1063.
- GREEN, C.J., KNIGHT, J., PRECIOUS, S. and SIMPKIN, S., 1981. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. *Laboratory animals*, **15**(2), pp. 163-170.
- GREENHALGH, D.G., SAFFLE, J.R., HOLMES, J.H., 4TH, GAMELLI, R.L., PALMIERI, T.L., HORTON, J.W., TOMPKINS, R.G., TRABER, D.L., MOZINGO, D.W., DEITCH, E.A., GOODWIN, C.W., HERNDON, D.N., GALLAGHER, J.J., SANFORD, A.P., JENG, J.C., AHRENHOLZ, D.H., NEELY, A.N., O'MARA, M.S., WOLF, S.E., PURDUE, G.F.,

- GARNER, W.L., YOWLER, C.J., LATENSER, B.A. und AMERICAN BURN ASSOCIATION CONSENSUS CONFERENCE ON BURN SEPSIS AND INFECTION GROUP, 2007. American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns. *Journal of burn care & research : official publication of the American Burn Association*, **28**(6), 776-790.
- GUSLANDI, M., 1999. Nicotine treatment for ulcerative colitis. *British journal of clinical pharmacology*, **48**(4), 481-484.
- HEHLGANS, T. und PFEFFER, K., 2005. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology*, **115**(1), 1-20.
- HELLE, M., BRAKENHOFF, J.P., DE GROOT, E.R. und AARDEN, L.A., 1988. Interleukin 6 is involved in interleukin 1-induced activities. *European journal of immunology*, **18**(6), 957-959.
- HILDEBRAND, F., PAPE, H.C. und KRETTEK, C., 2005. The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction. *Der Unfallchirurg*, **108**(10), 793-4, 796-803.
- HOESEL, L.M., NIEDERBICHLER, A.D., SCHAEFER, J., IPAKTCHI, K.R., GAO, H., RITTIRSCH, D., PIANKO, M.J., VOGT, P.M., SARMA, J.V., SU, G.L., ARBABI, S., WESTFALL, M.V., WANG, S.C., HEMMILA, M.R. und WARD, P.A., 2007. C5a-blockade improves burn-induced cardiac dysfunction. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, **178**(12), 7902-7910.
- HORTON, J.W., 2004. Left ventricular contractile dysfunction as a complication of thermal injury. *Shock (Augusta, Ga.)*, **22**(6), 495-507.
- HORTON, J.W., WHITE, J. und BAXTER, C.R., 1988. The role of oxygen-derived free radicals in burn-induced myocardial contractile depression. *The Journal of burn care & rehabilitation*, **9**(6), 589-598.
- HOTCHKISS, R.S. und KARL, I.E., 2003. The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England journal of medicine*, **348**(2), 138-150.
- JACKSON, D.M., 1953. The diagnosis of the depth of burning. *The British journal of surgery*, **40**(164), 588-596.

- KALRA, R., SINGH, S.P., PENA-PHILIPPIDES, J.C., LANGLEY, R.J., RAZANI-BOROUJERDI, S. und SOPORI, M.L., 2004. Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of nicotine administered by patch in an animal model. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, **11**(3), 563-568.
- KARIN, M. und BEN-NERIAH, Y., 2000. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annual Review of Immunology*, **18**, 621-663.
- KAWADA, T., YAMAZAKI, T., AKIYAMA, T., LI, M., ARIUMI, H., MORI, H., SUNAGAWA, K. und SUGIMACHI, M., 2006. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release. *Life Sciences*, **78**(8), 882-887.
- KIRCHNER, H., ed, 1993. *Cytokine und Interferone: Botenstoffe des Immunsystems*. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
- KISHIMOTO, T., 1989. The biology of interleukin-6. *Blood*, **74**(1), 1-10.
- KYLE, M.J. und WALLACE, A.B., 1950. Fluid replacement in burnt children. *British journal of plastic surgery*, **3**(3), 194-204.
- LEONARD, W.J., 2001. Role of Jak kinases and STATs in cytokine signal transduction. *International journal of hematology*, **73**(3), 271-277.
- MAASS, D.L., WHITE, J. und HORTON, J.W., 2002. IL-1beta and IL-6 act synergistically with TNF-alpha to alter cardiac contractile function after burn trauma. *Shock (Augusta, Ga.)*, **18**(4), 360-366.
- MIONI, C., BAZZANI, C., GIULIANI, D., ALTAVILLA, D., LEONE, S., FERRARI, A., MINUTOLI, L., BITTO, A., MARINI, H., ZAFFE, D., BOTTICELLI, A.R., IANNONE, A., TOMASI, A., BIGIANI, A., BERTOLINI, A., SQUADRITO, F. und GUARINI, S., 2005. Activation of an efferent cholinergic pathway produces strong protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Critical care medicine*, **33**(11), 2621-2628.
- MOORE, F.A. und MOORE, E.E., 1995. Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. *The Surgical clinics of North America*, **75**(2), 257-277.
- NAIR, U., THIELMANN, H.W. und PÖTSCHKE-LANGER, M., 2009. *Krebserzeugende Substanzen im Tabakrauch*. Heidelberg.

NIEDERBICHLER, A.D., HOESEL, L.M., WESTFALL, M.V., GAO, H., IPAKTCHI, K.R., SUN, L., ZETOUNE, F.S., SU, G.L., ARBABI, S., SARMA, J.V., WANG, S.C., HEMMILA, M.R. und WARD, P.A., 2006. An essential role for complement C5a in the pathogenesis of septic cardiac dysfunction. *The Journal of experimental medicine*, **203**(1), 53-61.

NIEDERBICHLER, A.D., PAPST, S., CLAASSEN, L., JOKUSZIES, A., STEINSTRÄESSER, L., HIRSCH, T., ALTINTAS, M.A., IPAKTCHI, K.R., REIMERS, K., KRAFT, T. und VOGT, P.M., 2009. Burn-induced organ dysfunction: Vagus nerve stimulation attenuates organ and serum cytokine levels. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, **35**(6), 783-9.

NIEDERBICHLER, A.D., WESTFALL, M.V., SU, G.L., DONNERBERG, J., USMAN, A., VOGT, P.M., IPAKTCHI, K.R., ARBABI, S., WANG, S.C. und HEMMILA, M.R., 2006. Cardiomyocyte function after burn injury and lipopolysaccharide exposure: single-cell contraction analysis and cytokine secretion profile. *Shock (Augusta, Ga.)*, **25**(2), 176-183.

NIJSTEN, M.W., HACK, C.E., HELLE, M., TEN DUIS, H.J., KLASSEN, H.J. und AARDEN, L.A., 1991. Interleukin-6 and its relation to the humoral immune response and clinical parameters in burned patients. *Surgery*, **109**(6), 761-767.

OKE, S.L. und TRACEY, K.J., 2008. From CNI-1493 to the immunological homunculus: physiology of the inflammatory reflex. *Journal of leukocyte biology*, **83**(3), 512-517.

PEARSON, G., ROBINSON, F., BEERS GIBSON, T., XU, B.E., KARANDIKAR, M., BERMAN, K. und COBB, M.H., 2001. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocrine reviews*, **22**(2), 153-183.

PÖTSCHKE-LANGER, M., MONS, U., SCHALLER, K., STEIN, S., KAHNERT, S., SCHNEIDER, N.K., NAIR, U., SCHUNK, S. und MERSMANN, H., 2009. *Tabakatlas Deutschland 2009*. Heidelberg.

RICHARDSON, C.E., MORGAN, J.M., JASANI, B., GREEN, J.T., RHODES, J., WILLIAMS, G.T., LINDSTROM, J., WONNACOTT, S., PEEL, S. und THOMAS, G.A., 2003. Effect of smoking and transdermal nicotine on colonic nicotinic acetylcholine receptors in ulcerative colitis. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, **96**(1), 57-65.

RIVEST, S., LACROIX, S., VALLIERES, L., NADEAU, S., ZHANG, J. und LAFLAMME, N., 2000. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the

hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, **223**(1), 22-38.

SAFFLE, J.R., SULLIVAN, J.J., TUOHIG, G.M. und LARSON, C.M., 1993. Multiple organ failure in patients with thermal injury. *Critical care medicine*, **21**(11), 1673-1683.

SAMBOL, J.T., WHITE, J., HORTON, J.W. und DEITCH, E.A., 2002. Burn-induced impairment of cardiac contractile function is due to gut-derived factors transported in mesenteric lymph. *Shock (Augusta, Ga.)*, **18**(3), 272-276.

SANDBORN, W.J., 1999. Nicotine therapy for ulcerative colitis: a review of rationale, mechanisms, pharmacology, and clinical results. *The American Journal of Gastroenterology*, **94**(5), 1161-1171.

SANDBORN, W.J., TREMAINE, W.J., OFFORD, K.P., LAWSON, G.M., PETERSEN, B.T., BATTS, K.P., CROGHAN, I.T., DALE, L.C., SCHROEDER, D.R. und HURT, R.D., 1997. Transdermal nicotine for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of Internal Medicine*, **126**(5), 364-371.

SCHACHTER, S.C., 2002. Vagus nerve stimulation therapy summary: five years after FDA approval. *Neurology*, **59**(6 Suppl 4), S15-20.

SHER, M.E., BANK, S., GREENBERG, R., SARDINHA, T.C., WEISSMAN, S., BAILEY, B., GILLILAND, R. und WEXNER, S.D., 1999. The influence of cigarette smoking on cytokine levels in patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*, **5**(2), 73-78.

SPANHOLTZ, T.A., THEODOROU, P., AMINI, P. und SPILKER, G., 2009. Severe burn injuries: acute and long-term treatment. *Deutsches Arzteblatt international*, **106**(38), 607-613.

STATISTISCHES BUNDESAMT, Z.B., 2009. *Krankenhausdiagnosestatistik*. Bonn.

STEINSTRÄESSER, L., FOHN, M., KLEIN, R.D., AMINLARI, A., REMICK, D.G., SU, G.L. und WANG, S.C., 2001. Feasibility of biolistic gene therapy in burns. *Shock (Augusta, Ga.)*, **15**(4), 272-277.

STOCK, W., 2010. Verbrennungsgrade. URL: <http://www.professor-stock.de/verbrennungschirurgie/akutversorgung.html>, abgerufen am 20.03.2010.

SZELENYI, J., 2001. Cytokines and the central nervous system. *Brain research bulletin*, **54**(4), 329-338.

TRACEY, K.J., 2007. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *The Journal of clinical investigation*, **117**(2), 289-296.

TRACEY, K.J., 2002. The inflammatory reflex. *Nature*, **420**(6917), 853-859.

TZENG, H.P., FAN, J., VALLEJO, J.G., DONG, J.W., CHEN, X., HOUSER, S.R. und MANN, D.L., 2008. Negative inotropic effects of high-mobility group box 1 protein in isolated contracting cardiac myocytes. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, **294**(3), H1490-6.

WANG, H., LIAO, H., OCHANI, M., JUSTINIANI, M., LIN, X., YANG, L., AL-ABED, Y., WANG, H., METZ, C., MILLER, E.J., TRACEY, K.J. und ULLOA, L., 2004. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nature medicine*, **10**(11), 1216-1221.

WANG, H., YANG, H. und TRACEY, K.J., 2004. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis. *Journal of internal medicine*, **255**(3), 320-331.

WANG, H., YU, M., OCHANI, M., AMELLA, C.A., TANOVIC, M., SUSARLA, S., LI, J.H., WANG, H., YANG, H., ULLOA, L., AL-ABED, Y., CZURA, C.J. und TRACEY, K.J., 2003. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*, **421**(6921), 384-388.

WATKINS, L.R. und MAIER, S.F., 2005. Immune regulation of central nervous system functions: from sickness responses to pathological pain. *Journal of internal medicine*, **257**(2), 139-155.

WHINCUP, P.H., GILG, J.A., EMBERSON, J.R., JARVIS, M.J., FEYERABEND, C., BRYANT, A., WALKER, M. und COOK, D.G., 2004. Passive smoking and risk of coronary heart disease and stroke: prospective study with cotinine measurement. *BMJ (Clinical research ed.)*, **329**(7459), 200-205.

WISSING, H., KUHN, I., RIETBROCK, S. and FUHR, U., 2000. Pharmacokinetics of inhaled anaesthetics in a clinical setting: comparison of desflurane, isoflurane and sevoflurane. *British journal of anaesthesia*, **84**(4), pp. 443-449.

YANG, H., WANG, H., CZURA, C.J. und TRACEY, K.J., 2005. The cytokine activity of HMGB1. *Journal of leukocyte biology*, **78**(1), 1-8.

YOSHIOKA, K., TAKEMURA, T., MURAKAMI, K., OKADA, M., YAGI, K., MIYAZATO, H., MATSUSHIMA, K. und MAKI, S., 1993. In situ expression of cytokines in IgA nephritis. *Kidney international*, **44**(4), 825-833.

Material und Geräte

Narkose:

Isofluran-Vaporisator und Zubehör

Fa. EZ Anaesthesia, Palmer USA

Isofluran

Fa. Baxter, Unterschleißheim

Sauerstoff

Fa. Linde, Pullach

Experimentelle Verbrennungsverletzung:

Rasierer

Fa. Aesculap, Tuttlingen

Enthaarungscreme

Fa. Veet, Mannheim

Unsterile Mullkompressen

Fa. Lohmann und Rauscher,
Rengsdorf

Wärmebad

Fa. GFL, Burgwedel

Volumenersatz:

10 ml Spritze

Fa. Braun, Melsungen

20 Gauge Kanüle

Fa. Braun, Melsungen

20 ml NaCl-Infusionslösung

Fa. Berlin-Chemie, Berlin

Transdermale Nikotingabe:

Nikotinpflaster (Nicorette Pflaster 16,6 mg)

Fa. Pfizer Consumer Healthcare,
Karlsruhe

Chirurgisches Nahtmaterial

Fa. Johnson & Johnson

(Ethicon Nurilon 4/0, 75 cm)

Medical, Norderstedt

Chirurgisches Besteck

Fa. Aesculap, Tuttlingen

Mikrokatheterisierung des linken Ventrikels:

Mikro-Tip Katheter

Fa. Millar Instruments, Houston
USA

Katheter-Kalibrator

Fa. Utah medical products,
Midvale USA

Power Lab

Fa. AD Instruments, Spechbach

Bridge Amp

Fa. AD Instruments, Spechbach

Chart 5 pro Software

Fa. AD Instruments, Spechbach

Material für ein steriles OP-Feld	Fa. Mölnlycke health care, Göteborg Schweden
Skalpell	Fa. Feather safety razor, Osaka Japan
Chirurgisches Besteck	Fa. Aesculap, Tuttlingen
Heparin (Liquemin)	Fa. Roche-Pharma, Reinach Schweiz

Organentnahme:

Chirurgisches Besteck	Fa. Aesculap, Tuttlingen
Zentrifuge (Multifuge 4KR)	Fa: Heraeus, Hanau
Halbmikrowaage (Kern 770)	Fa. Kern & Sohn, Balingen
PBS (Gibco Tabletten)	Fa. Invitrogen, Carlsbad USA
PBS-Lösung	eine Tablette PBS in 500 ml destilliertem Wasser aufgelöst erzeugt folgende Konzentrationen: 137 mM NaCl 2,7 mM KCl 8,1 mM Na ₂ HPO ₄ 1,5 mM KH ₂ PO ₄

Organhomogenisate:

Halbmikrowaage (Kern 770)	Fa. Kern & Sohn, Balingen
Homogenisator (Polytron PT 1200 E)	Fa. Brinkmann Instruments, Westbury USA
Zentrifuge (Biofuge Primo R)	Fa: Heraeus, Hanau
Vortexer (Reax Top)	Fa. Heidolph Instruments, Schwabach
Flüssigstickstoffbehälter (2x)	Fa. KGW-Isotherm, Karlsruhe
Flüssiger Stickstoff	Fa. Linde, Pullach
Chirurgisches Besteck	Fa. Aesculap, Tuttlingen
Skalpell	Fa. Feather safety razor, Osaka Japan
Eppendorf-Variopipette	Fa. Eppendorf, Hamburg
Mörser	Fa. O. Kohl Chemie – Pharma - Laborbedarf, Ritterhude

Pistill	Fa. O. Kohl Chemie – Pharma - Laborbedarf, Ritterhude
RIPA-Puffer: 0,3 M NaCl	Fa. Sigma Aldrich, München
20 mM Tris-HCl	
PH 8,1 Natriumdesoxycholate	
0,1 % Natriumdodezylsulfat (SDS)	
1 % Triton X-100	
1 mM Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	
1 mM Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF)	
Complete [®] (Protease-Inhibitor-Mix)	Fa. Roche Diagnostics, Mannheim
TNF-α-, IL-1β-, und IL-6-ELISAs:	
ELISA-Plattenlesegerät	Fa. Tecan, Männedorf Schweiz
Magellan-Software	Fa. Tecan, Männedorf Schweiz
pH-Messgerät	Fa. Sartorius, Göttingen
Vortexer (Reax Top)	Fa. Heidolph Instruments, Schwabach
Magnetmischer (RH basic KT/C)	Fa. IKA, Stauffen
ELISA-Kit (TNF- α)	Fa. R&D Systems, Minneapolis USA
Spezifität: 2,4 % Kreuzreaktion zu Maus-TNF- α , keine zu menschlichem TNF- α und TNF- β	

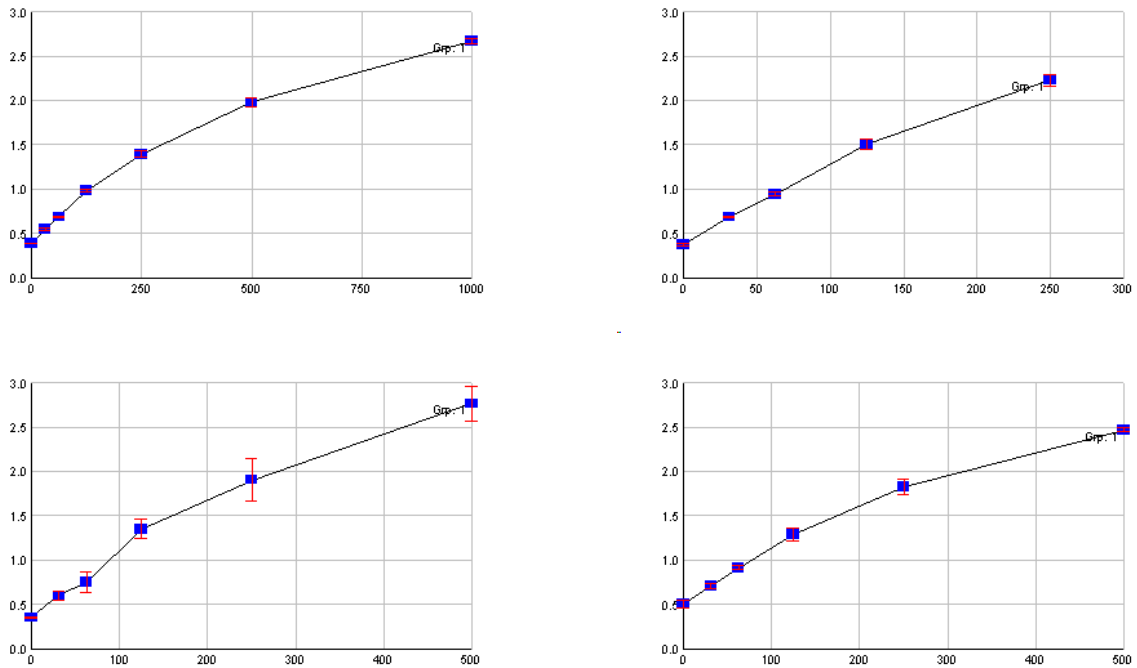


Abb. A-1 Kalibrierungskurven der vier TNF- α -ELISA-Platten

ELISA-Kit (IL-1 β)

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Spezifität: keine Kreuzreaktion zu IL-1 RI der Ratte, IL-1ra der Maus, menschlichem IL-1 α , IL-1 β , IL-1 RI, IL-1 RII, IL-1 RAcP/Fc und IL-1 R rp2/Fc, und keine Kreuzreaktion zu IL-1 α , IL-1 β und IL-1ra vom Schwein; 0,79 % Kreuzreaktion zu IL-1 β der Maus; die Anwesenheit von IL-1 RI der Maus senkt den gemessenen Wert von IL-1 β der Ratte

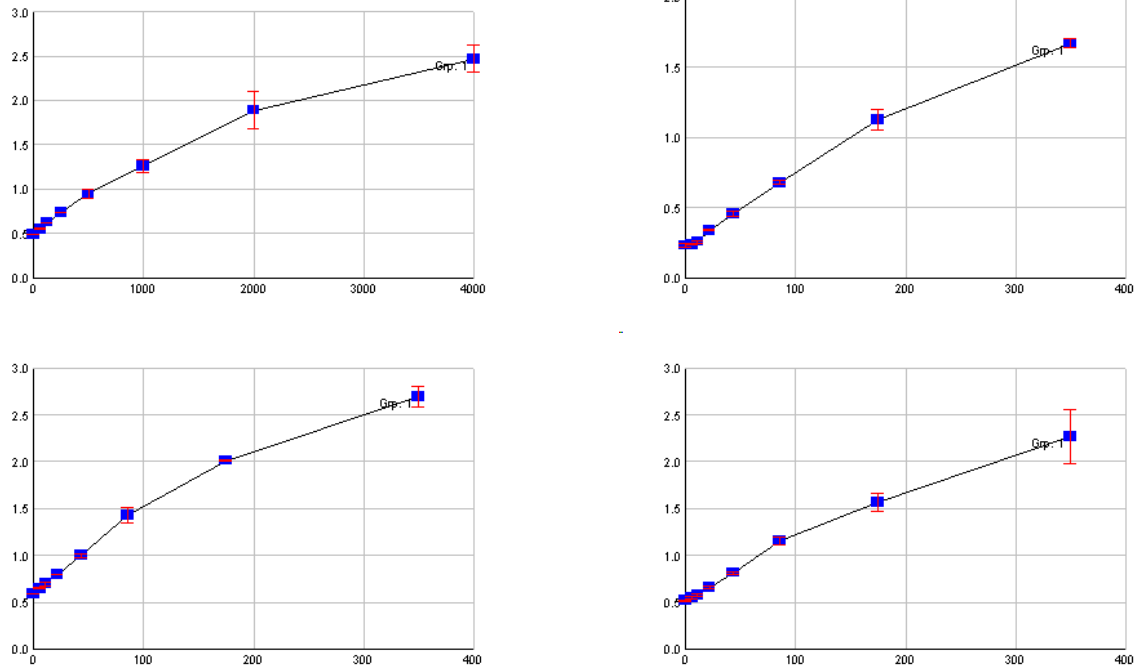


Abb. A-2 Kalibrierungskurven der vier IL-1 β -ELISA-Platten

ELISA-Kit (IL-6)

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Spezifität: keine Kreuzreaktion zu CNTF der Ratte, menschlichem IL-6 und IL-6 vom Schwein; 0,7 % Kreuzreaktion zu IL-6 der Maus

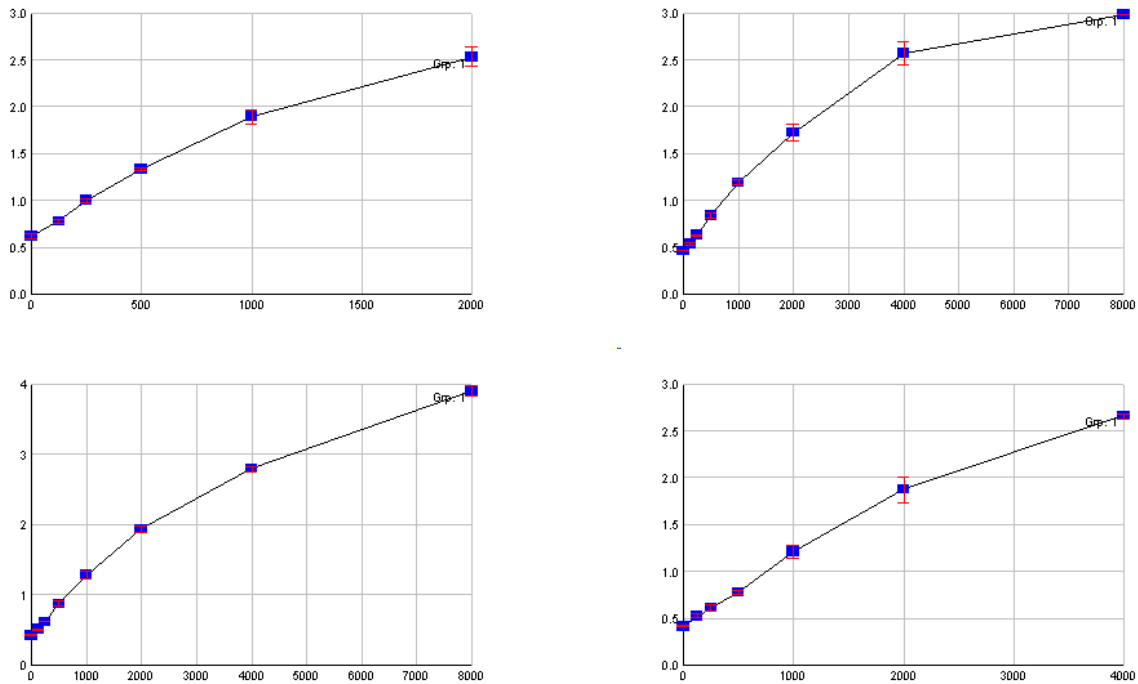


Abb. A-3 Kalibrierungskurven der vier IL-6-ELISA-Platten

ELISA-Platten (96 Wells)

Sterilfilter

Spritzflasche

Tween 20

Bovines Serum Albumin (BSA)

H₂O₂ (Color Reagent A)

Tetramethylbenzidine (Color Reagent B)

H₂SO₄

Streptavidin-HRP

Capture-Antikörper

Detection-Antikörper

Fa. Nunc, Roskilde Dänemark

Fa. Millipore, Massachusetts USA

Fa. OMNILAB, Bremen

Fa. Sigma, St. Louis USA

Fa. Sigma, St. Louis USA

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Fa. R&D Systems, Minneapolis
USA

Standard	Fa. R&D Systems, Minneapolis USA
PBS (Gibco Tabletten)	Fa. Invitrogen, Carlsbad USA
PBS-Lösung	eine Tablette PBS in 500 ml destilliertem Wasser aufgelöst erzeugt folgende Konzentrationen: 137 mM NaCl 2,7 mM KCl 8,1 mM Na ₂ HPO ₄ 1,5 mM KH ₂ PO ₄ pH auf 7,2-7,4 eingestellt und sterilgefiltert
Waschpuffer	0,05 % Tween 20 in PBS entsprechend 250 µl Tween in 500 ml PBS pH auf 7,2-7,4 eingestellt und sterilgefiltert
Reagent Diluent	1 % Bovines Serum Albumin (BSA) in PBS entsprechend 5 g BSA in 500 ml PBS pH auf 7,2-7,4 eingestellt und sterilgefiltert
Substrate Solution	1:1-Gemisch von Color Reagent A und Color Reagent B
Stop Solution	2N H ₂ SO ₄ entsprechend einer Lösung von 40 ml 10 M H ₂ SO ₄ und 60 ml destilliertem Wasser

Cotinin-ELISA:

ELISA-Plattenlesegerät	Fa. Tecan, Männedorf Schweiz
Vortexer (Reax Top)	Fa. Heidolph Instruments, Schwabach
ELISA-Kit	Fa. Calbiotech, Spring Valley USA
Spezifität: Kreuzreaktion <1 % zu Nikotin, Nikotinamid und Nikotinsäure	
Sensitivität: 5 ng/ml	

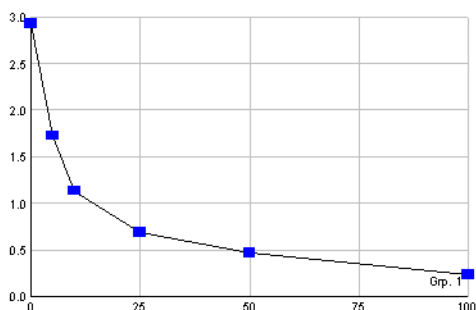


Abb. A-4 Kalibrierungskurven der Cotinin-ELISA-Platte

Eppendorf-Variopipetten	Fa. Eppendorf, Hamburg
Multipipette	Fa. Matrix
Spritzflasche	Fa. OMNILAB, Bremen
Abdeckfolien	Fa. Nunc, Roskilde Dänemark
Tränke	Fa. Nunc, Roskilde Dänemark
Enzym Konjugat	Fa. Calbiotech, Spring Valley USA
Stop Solution	Fa. Calbiotech, Spring Valley USA
Substrate Reagent	Fa. Calbiotech, Spring Valley USA

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen, die mir während der Anfertigung dieser Arbeit behilflich waren, herzlich danken.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Peter M. Vogt gebührt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas dieser Dissertationsarbeit.

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Andreas David Niederbichler neben vielen anderen Dingen für seine stetige Unterstützung, Motivationsgabe, Hilfsbereitschaft und seine unentbehrlichen Hinweise im gesamten Verlauf der Arbeit bedanken.

Frau Dr. Kerstin Reimers und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Labors der Klinik für Plastische, Hand- und Wiederherstellungschirurgie danke ich für das gute Arbeitsklima im Labor, für die fortwährende Ansprechbarkeit und Freundlichkeit, und für ihr sehr großes Engagement bei der Bewältigung von Problemen jeglicher Art.

Sehr dankbar bin ich auch meinem Kommilitonen Stephan Papst, der immer ansprechbar war und mir viele Techniken der Laborarbeit zeigen konnte.

Allen Mitarbeitern der Klinik für Plastische, Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Medizinischen Hochschule Hannover sei mein herzlicher Dank für die freundliche Aufnahme und Unterstützung gesagt.

Curriculum vitae

Leif Claaßen

Persönliche Informationen

Geburtsdatum: 16.12.1983
Geburtsort: Hannover
Adresse: Mühlenberger Markt 5
30457 Hannover
Eltern: Uwe Claaßen, geboren am 07.05.1954
Heike Claaßen, geborene Mahler, geboren am 31.12.1956
Geschwister: Sven Claaßen, geboren am 22.03.1979
Nils Claaßen, geboren am 20.07.1987

Schulbildung

1990-1994	Theodor-Heuss-Grundschule	Empelde
1994-2003	IGS Mühlenberg <i>Allgemeine Hochschulreife (Abitur) am 27.06.2003</i>	Hannover

Wehrersatzdienst

2003-2004	Freiwilliges Soziales Jahr bei der Johanniter- Unfall- Hilfe, Ortsverband Deister	Ronnenberg
------------------	--	------------

Hochschulbildung

Okt. 2004	Immatrikulation für das Fach Humanmedizin an der Medizinischen Hochschule Hannover	Hannover
Sept. 2006	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung	

Famulaturen

23.07.2007-	Klinikum Region Hannover Krankenhaus Oststadt-	Hannover
22.08.2007	Heidehaus <i>Notfallaufnahme</i>	

Curriculum vitae

25.03.2008-	Diakoniekrankenhaus Friederikenstift	Hannover
21.04.2008	<i>Klinik für Allgemein-, Visceral- und Gefäßchirurgie und Klinik für Unfallchirurgie</i>	
07.07.2008-	Krankenhaus Siloah	Hannover
21.07.2008	<i>Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin</i>	
28.07.2008-	Medizinische Hochschule	Hannover
12.09.2008	<i>Klinik für Herz-, Thorax-, Transplantations- und Gefäß- chirurgie</i>	

Praktisches Jahr

17.08.2009-	Hôpital Fribourgeois Murten	Murten,
06.12.2009	<i>Innere Medizin</i>	Schweiz
07.12.2009-	Medizinische Hochschule Hannover	Hannover
28.03.2010	<i>Chirurgie</i>	
29.03.2010-	Diakoniekrankenhaus Annastift	Hannover
18.07.2010	<i>Wahlfach Orthopädie</i>	

Approbation

23.11.2010	Approbation als Arzt	Hannover
-------------------	----------------------	----------

Ärztliche Tätigkeit

Seit 01.02.2011	Assistenzarzt in der orthopädischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover im Annastift	Hannover
------------------------	--	----------

Teilnahme an Kongressen

Sept. 2007	12. Kongress der European Burn Association <i>Vortrag: Topical attenuation of burn wound inflammation reduces thymic apoptosis and lymphoepithelial inflammation</i>	Budapest, Ungarn
-------------------	---	---------------------

- | | | |
|------------------|---|------------------------|
| Jan. 2008 | 26. Jahrestagung der Deutschsprachigen Arbeitsgemeinschaft für Verbrennungsbehandlung
<i>Vortrag: Atemwegsinfektion und Brandverletzte-Keimspektrum und Daten zur Resistenzlage</i> | Engelberg,
Schweiz |
| Jan. 2009 | 27. Jahrestagung der Deutschsprachigen Arbeitsgemeinschaft für Verbrennungsbehandlung
<i>Vortrag: Neuroimmunologie des Verbrennungstraumas: Normalisierung der Inflammationsreaktion und kardialen Funktion durch transdermale Nikotिंगabe</i> | Leogang,
Österreich |

Veröffentlichung

Burn-induced organ dysfunction: vagus nerve stimulation attenuates organ and serum cytokine levels

Niederbichler,A.D.; Papst,S.; Claassen,L.; Jokuszies,A.; Steinstraesser,L.; Hirsch,T.; Altintas,M.A.; Ipaktchi,K.R.; Reimers,K.; Kraft,T.; Vogt,P.M.

Burns, 2009, 35, 6, 783-789, Netherlands

Burn-induced organ dysfunction: vagus nerve stimulation improves cardiac function.

Niederbichler AD, Papst S, Claassen L, Jokuszies A, Ipaktchi K, Reimers K, Hirsch T, Steinstraesser L, Kraft T, Vogt PM.

Eplasty. 2010 Jun 21;10:e45.

Hannover, den 14. Juli 2011

Leif Claßen

Erklärung nach § 2 Abs. 2 Nr. 6 und 7 PromO

Ich erkläre, dass ich die in der Medizinischen Hochschule Hannover zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Immunomodulation der verbrennungsinduzierten kardialen Dysfunktion – pharmakologische Interventionsmöglichkeiten

in der Klinik für Plastische, Hand- und Wiederherstellungschirurgie (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Peter M. Vogt) im Zentrum für Chirurgie der Medizinischen Hochschule

unter Betreuung von Dr. med. Andreas David Niederbichler

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsverfahren ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Insbesondere habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen und Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistungen für mich ganz oder teilweise erledigt.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Weiterhin versichere ich, dass ich den beantragten Titel bisher noch nicht erworben habe.

Hannover, den 14. Juli 2011

Leif Claaßen

