

# **Neue Wege in der Entzündungsdiagnostik**

## **PMN Elastase**

Beiträge der Symposien  
beim Kongreß für Laboratoriumsmedizin in Wien im April 1983  
und bei der MEDICA in Düsseldorf im November 1983.

Herausgeber  
M. Jochum, F. Gabl, H. Greiling, H. Fritz

GIT VERLAG · DARMSTADT

G86/1016

# Inhaltsverzeichnis

Vorwort	
H. Fritz . . . . .	IX
Granulozytäre Elastase als Marker der unspezifischen Proteolyse in der Pathogenese entzündlicher Erkrankungen	
M. Jochum und H. Fritz . . . . .	1
Enzymimmunoassay für Granulozyten-Elastase im Komplex mit $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor	
S. Neumann, G. Gunzer, N. Hennrich und H. Lang . . . . .	9
Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplex: Ein Indikator für pathobiochemische Veränderungen in der Sepsis und nach Polytrauma	
M. Jochum, K.H. Duswald, H. Dittmer und H. Fritz . . . . .	17
Granulozyten-Elastase, ein Indikator für das Auftreten von Lungenkomplikationen bei Patientinnen mit schwerer Gestose (Prä-Eklampsie): Fallstudien	
H. Schlebusch, G. Garstka, C. Rommelsheim und U. Grün . . . . .	33
Freisetzung von Granulozyten-Elastase bei akutem Nierenversagen und während der Hämodialysebehandlung bei chronisch niereninsuffizienten Patienten	
W. H. Hörl, M. Jochum, S. Neumann und A. Heidland . . . . .	43
Elastase-Inhibitor-Komplexe in der Differentialdiagnose von Pleuraergüssen	
P. M. Bayer, H. Lanschützer, E. Knoth, H. Klech und F. Kummer . . . . .	53
Zur Bedeutung der Bestimmung des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes im Plasma bei Patienten mit rheumatischer Arthritis	
D. Neumeier, J.-H. Hatz, G. Menzel, D. Nagel, H. Kaiser und A. Fateh-Moghadam . . . . .	59
Elastase aus Granulozyten bei chronischen Gelenkerkrankungen: Konzentration und Aktivität der Elastase-Inhibitor-Komplexe in Plasma und Synovialflüssigkeit	
K. Kleesiek, D. Brackertz und H. Greiling . . . . .	71
Autorenverzeichnis . . . . .	83
Sachwortregister . . . . .	83

# Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplex: Ein Indikator für pathobiochemische Veränderungen in der Sepsis und nach Polytrauma \*

M. JOCHUM<sup>1)</sup>, K.H. DUSWALD<sup>2)</sup>, H. DITTMER<sup>3)</sup> und H. FRITZ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Abteilung für Klin. Chemie und Klin. Biochemie in der Chirurgischen Klinik Innenstadt, <sup>2)</sup> Chirurgische Klinik Innenstadt,

<sup>3)</sup> Chirurgische Klinik im Klinikum Großhadern der Universität München

---

\* Mit Mitteln des Sonderforschungsbereichs 207 (LP-8) der Universität München und der Deutschen Forschungsgemeinschaft Jo 106/1-1 finanziert.

## Einführung

Das Auftreten einer Sepsis nach ausgedehnten abdominal-chirurgischen Eingriffen oder schwerem Polytrauma ist nach wie vor eine der gefürchtetsten Komplikationen im postoperativen Verlauf. Trotz erheblicher Verbesserungen in Prophylaxe und Therapie konnten Sepsishäufigkeit und Letalität in solchen Fällen nicht wesentlich gesenkt werden [1]. Die pathophysiologischen Veränderungen, die letztlich zum multiplen Organversagen im septischen Schock führen, haben ihre Ursache zweifellos in massiven synergistischen Störungen der Hämodynamik, der Immunantwort und der Hämostaseologie. Aufgrund des Fortschritts in der Diagnostik hämostaseologischer Dysfunktionen erscheint es uns derzeit sinnvoll, den diesbezüglichen sepsisbedingten Pathomechanismus näher zu untersuchen. Da schwere Gerinnungsstörungen vielfach entscheidend das klinische Bild der Sepsis bestimmen, könnten Veränderungen von Gerinnungsfaktoren zur Frühdiagnose und Verlaufskontrolle der Sepsis mit herangezogen werden.

Endotoxine, seien sie endogenen oder exogenen Ursprungs, spielen eine entscheidende Rolle bei der Auslösung pathobiochemischer Veränderungen von Plasmaproteinen in der Sepsis. Sie schädigen entweder direkt oder indirekt über eine Komplementaktivierung die Membranen verschiedenster Körperzellen und führen dadurch zur Freisetzung der Zellinhaltsstoffe in das extrazelluläre Milieu (Abb. 1). Besondere Bedeutung für den Verbrauch der Gerinnungsfaktoren und anderer Blutproteine könnte hierbei der permanenten Freisetzung von lysosomalen Proteinase aus polymorphkernigen (PMN) Leukozyten zukommen. Das interessanteste proteolytische Enzym stellt dabei die im neutralen pH-Bereich wirksame Elastase dar, und zwar sowohl aufgrund ihrer hohen Konzentration als auch wegen ihrer geringen Substratspezifität (vgl. den Beitrag von M. JOCHUM und H. FRITZ: Granulozytäre Elastase als Marker der unspezifischen Proteolyse in der Pathogenese entzündlicher Erkrankungen.)

Da ins Plasma freigesetzte Leukozyten-Elastase durch das körpereigene Inhibitorpotential relativ rasch komplexiert wird, kann der Nachweis ihrer Freisetzung überwiegend nur durch die Konzentrationsbestimmung der Proteinase-Inhibitor-Komplexe mittels eines entsprechenden Immunoassays erbracht werden. Hierfür steht seit einiger Zeit ein in der Abteilung Biochemische Forschung Merck, Darmstadt entwickelter heterogener Enzymimmunoassay für granulozytäre Elastase, gebunden an  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor (E- $\alpha_1$ PI), zur Verfügung [2; vgl. den Beitrag S. NEUMANN et al.: Enzymimmunoassay für Granulozyten-Elastase im Komplex mit  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor]. Mit Hilfe dieses Tests konnten wir erstmals in klinischen Longitudinal-Studien die kontinuierliche Freisetzung granulozytärer Elastase nach abdominal-chirurgischen Eingriffen sowie nach Polytrauma in vivo belegen [3].

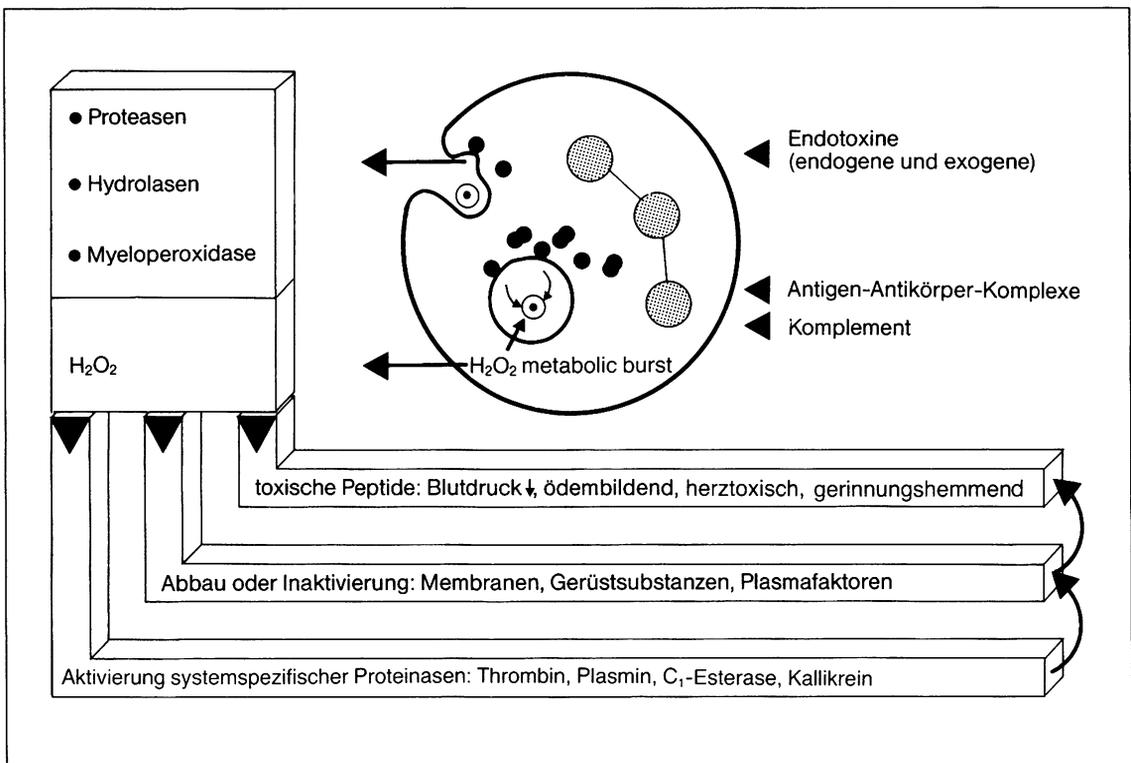


Abb. 1: Schematische Darstellung der Freisetzung lysosomaler Faktoren und der den Entzündungsprozess synergistisch potenzierenden Folgereaktionen.

## Ergebnisse

### I. Elastase- $\alpha_1$ PI-Konzentration\* nach abdominal-chirurgischen Operationen

Ziel dieser Untersuchungen war es, folgende Fragen zu klären:

- Wie hoch ist die E- $\alpha_1$ PI-Konzentration im Patientenplasma vor der Operation und nach abdominal-chirurgischen Eingriffen?
- Wie verhält sich die E- $\alpha_1$ PI-Konzentration bei Auftreten einer Sepsis sowie bei unterschiedlichem Schweregrad der Sepsis?
- Besteht eine Korrelation zwischen der E- $\alpha_1$ PI-Konzentration und anderen, z. T. bekannten pathobiochemischen Veränderungen wichtiger Parameter während der Sepsis?

Zur eindeutigen Diagnose einer Sepsis wurden neben den bekannten hämodynamischen Veränderungen das gemeinsame Auftreten der in Tab. 1 dargestellten Sepsiskriterien gefordert. Die Blutkultur blieb jedoch oft negativ, entweder weil die Antibiotikatherapie ein Bakterienwachstum weitgehend verhinderte oder die Toxinwirkung und nicht die Bakteriämie im Vordergrund stand.

Von mehr als 120 nach abdominal-chirurgischen Eingriffen untersuchten Patienten genügten letztlich nur 30 den von uns prospektiv festgelegten Sepsiskriterien. Davon haben 14 Patienten

\* Angaben in ng/ml beziehen sich ausschließlich auf den Anteil der komplexierten Elastase und nicht auf den gesamten Komplex.

## Sepsiskriterien

- |  |  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Definierter Infektionsherd und positive Bakterienkultur</li> <li>• Körpertemperatur &gt; 38,5°C</li> <li>• (Positive Blutkulturen)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Leukozytose mit &gt; 15000 Zellen/mm<sup>3</sup> oder Leukopenie mit &lt; 5000 Zellen/mm<sup>3</sup></li> <li>• Plättchenzahl &lt; 100000/mm<sup>3</sup> oder Abfall &gt; 30 %</li> </ul> |
|--|--|

Tab. 1: Prospektiv festgelegte Kriterien zur Diagnose der Sepsis.

die Sepsis überlebt (Gruppe B) und 16 Patienten verstarben an den Folgen der schweren Infektion (Gruppe C). Weitere 11 Patienten, die weder vor noch nach der Operation lokale oder allgemeine Infektionszeichen aufwiesen, wurden als Kontrollgruppe A den beiden anderen gegenübergestellt (Abb. 2).

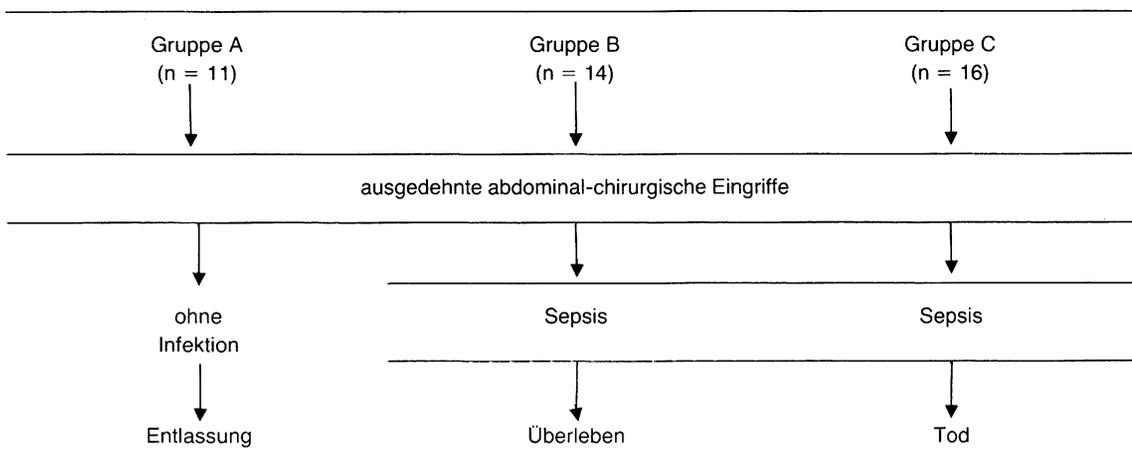


Abb. 2: Patientengruppen der klinischen Studie nach abdominal-chirurgischen Eingriffen.

### Plasmaspiegel des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes

Der Konzentrationsverlauf des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes bei den 3 Patientengruppen ist in Abb. 3 wiedergegeben. Bei Patienten ohne präoperative Infektion (Gruppen A und B) erhöhte sich allein aufgrund des operativen Traumas der E- $\alpha_1$ PI-Gehalt auf das 2–3-fache des Normalwertes ( $86,5 \pm 25,5$  ng/ml). Patienten, die bereits vor der Operation an einer Infektion erkrankt waren (eitrige Peritonitis bei 6 von 16 der Gruppe C) hatten schon eindeutig erhöhte präoperative E- $\alpha_1$ PI-Werte. Unmittelbar nach dem chirurgischen Eingriff konnte hier allerdings eine leichte Abnahme beobachtet werden, die wahrscheinlich durch die Elimination des Infektionsherdes verursacht war. Im frühen postoperativen Verlauf blieben die E- $\alpha_1$ PI-Konzentrationen in den beiden Gruppen B und C mäßig

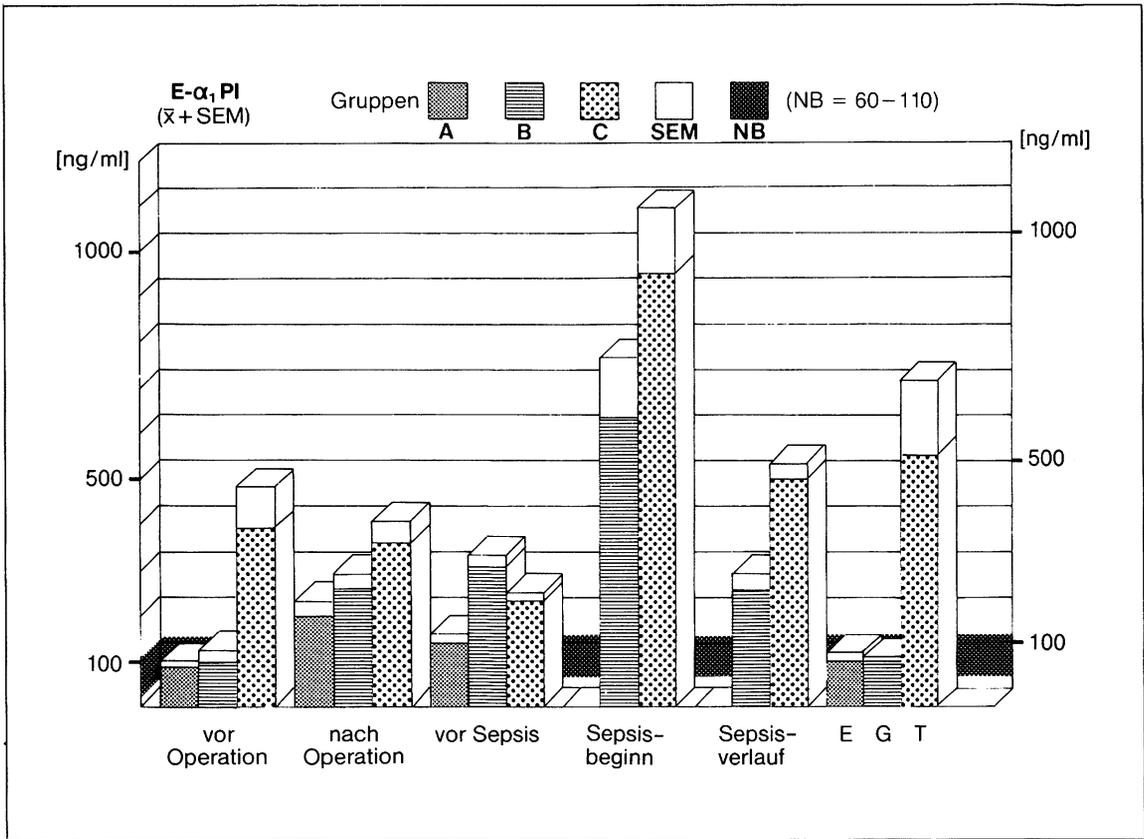


Abb. 3: Plasmaspiegel des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- $\alpha_1$ PI) nach abdominal-chirurgischen Eingriffen:  
 A = Patienten ohne postoperative Infektion (n = 11)  
 B = Patienten, die die postoperative Infektion überlebten (n = 14)  
 C = Patienten, die an der postoperativen Infektion verstarben (n = 16)

Die E- $\alpha_1$ PI-Konzentrationen sind angegeben als Mittelwerte für den Tag vor der Operation, für den Tag nach der Operation, den Zeitraum vor Beginn der Sepsis, bei Eintritt der Sepsis und für den Verlauf der Septikämie. Die letzte Bestimmung erfolgte am Tag der Entlassung (E) in der Gruppe A, am Tag der Genesung (G) in Gruppe B und vor Eintritt des Todes (T) in Gruppe C.

NB = Normbereich.

erhöht, während sie sich in der Kontrollgruppe wieder normalisierten. Zu Beginn einer Sepsis nahm der Gehalt an E- $\alpha_1$ PI im Mittel jedoch auf das 6-fache des Normwertes in Gruppe B und auf mehr als das 10-fache in Gruppe C zu. Spitzenwerte von über 2500 ng/ml konnten in beiden Gruppen gemessen werden. Bei Patienten, die die Infektion (Gruppe B) überlebten, kehrten die E- $\alpha_1$ PI-Konzentrationen zu Normalwerten zurück, während sie bei Patienten der Gruppe C bis zum Tode signifikant erhöht blieben.

Ein charakteristischer Kurvenverlauf aus jeder Gruppe ist in Abb. 4 dargestellt. Hier wird besonders deutlich, daß ein Patient ohne postoperative Infektion eine mäßige Erhöhung des E- $\alpha_1$ PI nur in der frühen Phase nach dem Eingriff zeigt, während bei Sepsispatienten häufigere und höhere Spitzenwerte zu verzeichnen sind. Aufgrund der wiederholten raschen Ausschüttung der Elastase und schnellen Elimination des Komplexes aus der Zirkulation (Halbwertszeit ca. 1 Stunde) sollten deshalb bei einer Verlaufsbeobachtung möglichst engmaschig Blutproben analysiert werden.

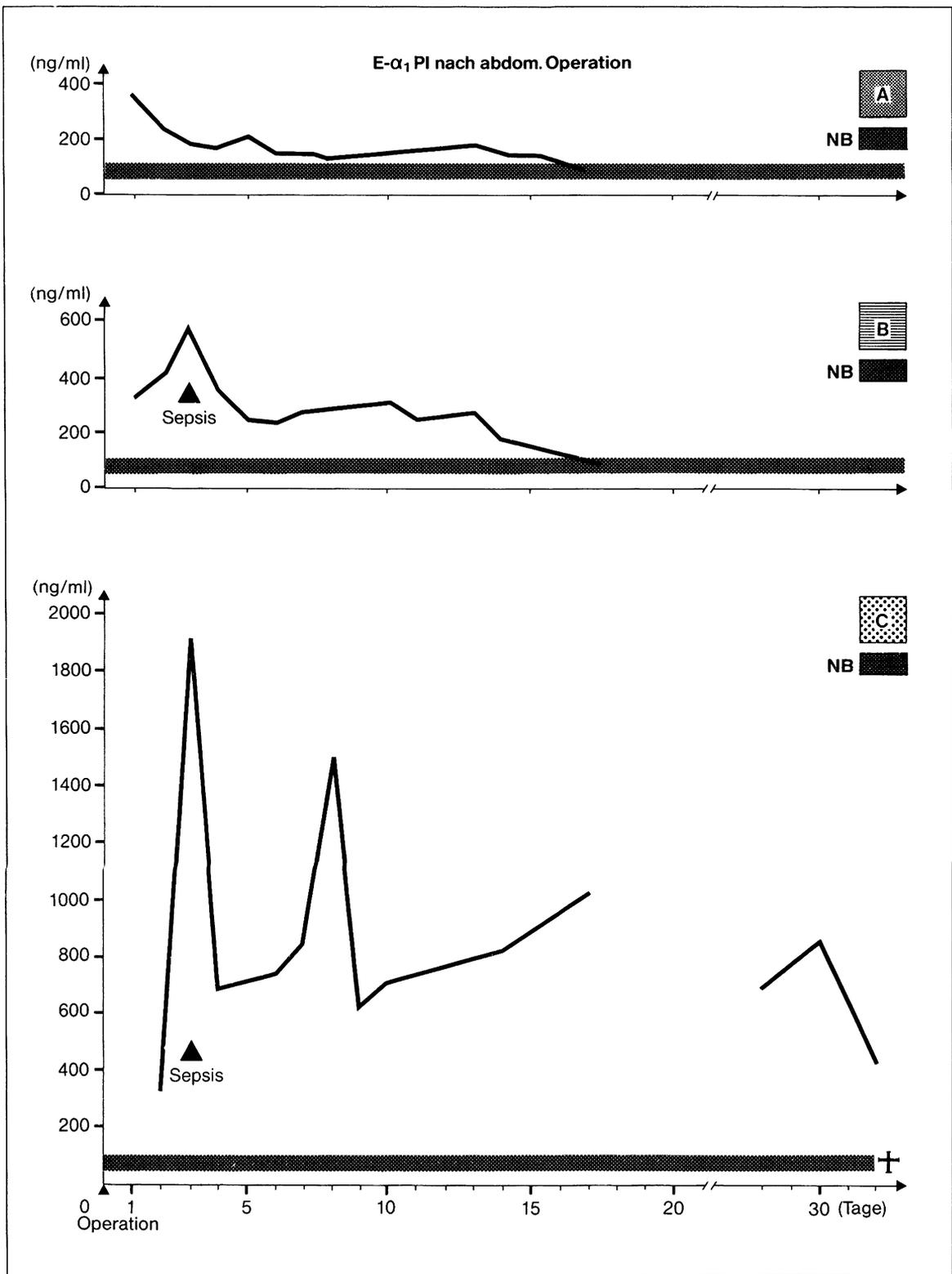


Abb. 4: Plasmaspiegel des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- $\alpha_1$ PI) nach abdominal-chirurgischen Eingriffen. Drei Einzelverläufe sind exemplarisch dargestellt. Zur Gruppeneinteilung siehe Abb. 2 und 3. NB = Normbereich (60-110 ng/ml).

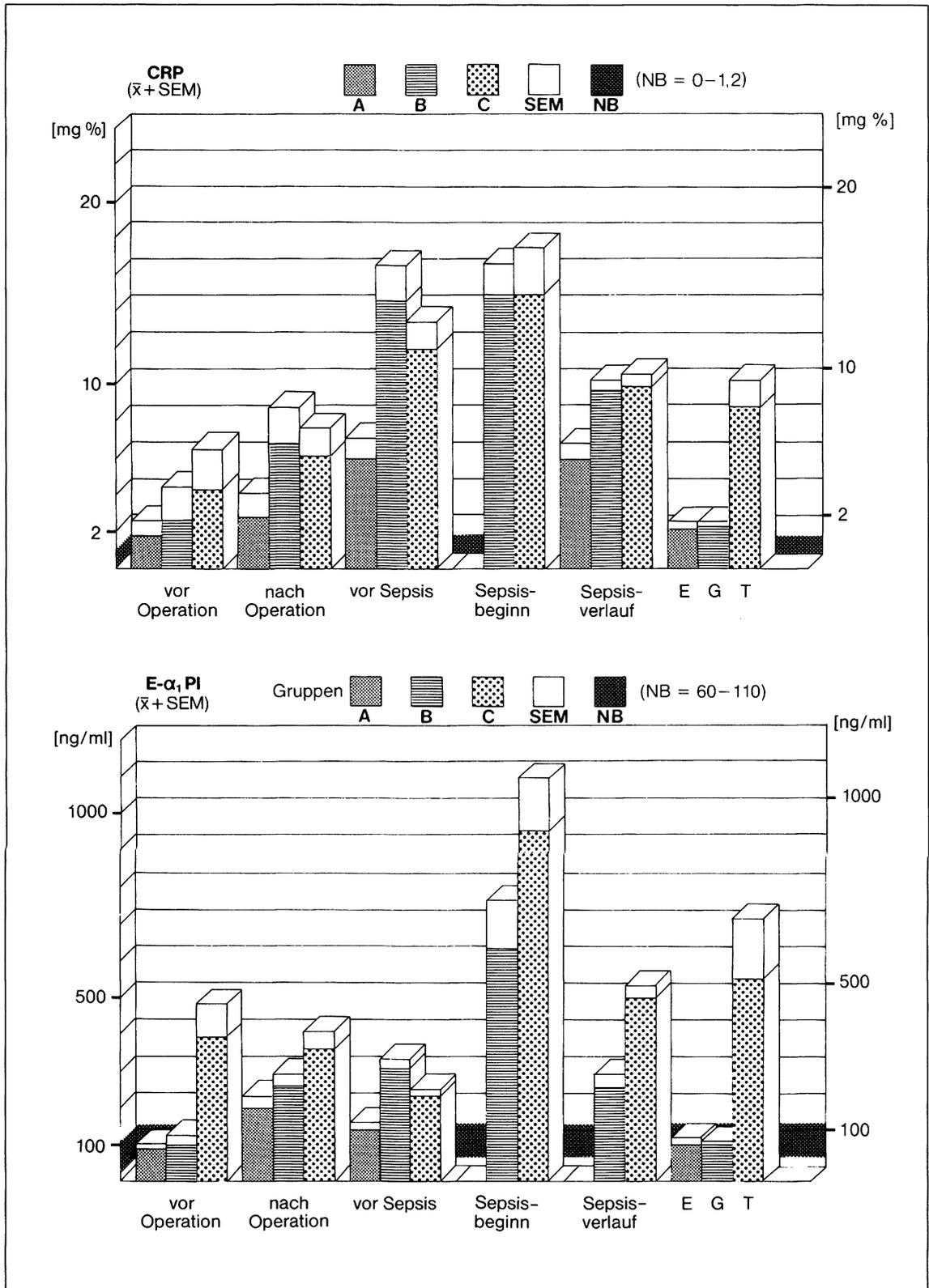


Abb. 5: Plasmaspiegel des C-reaktiven Proteins (CRP) im Vergleich zum Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplex (E- $\alpha_1$ PI). Weitere Erläuterungen finden sich in Abb. 3.

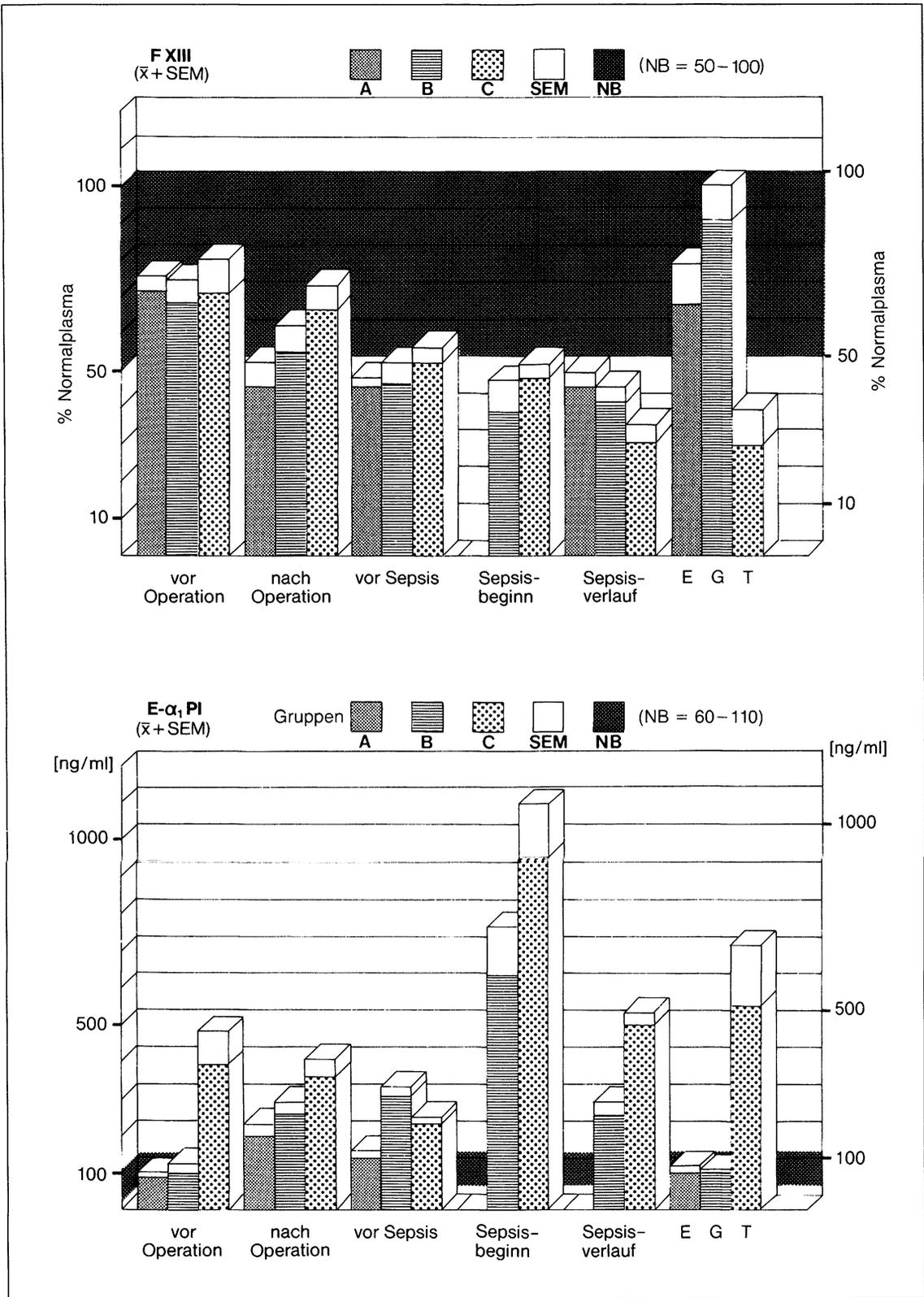


Abb. 6: Plasmaspiegel des fibrinstabilisierenden Faktors (F XIII) im Vergleich zum Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplex (E- $\alpha_1$ PI). Weitere Erläuterungen finden sich in Abb. 3.

## *Korrelation zwischen den Plasmaspiegeln des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes und anderen Blutproteinen*

Lassen sich nun die E- $\alpha_1$ PI-Werte mit dem Verhalten anderer Plasmaproteine korrelieren? Von den zahlreichen Faktoren, die wir gemessen haben, seien hier zwei für ein Entzündungsgeschehen sehr charakteristische Parameter beschrieben.

Jede Gewebsnekrose führt im Rahmen der nachfolgenden Entzündungsreaktion auch zum Anstieg der sog. „Akut-Phase-Proteine“. Dem *C-reaktiven Protein (CRP)* kommt hierbei sowohl aufgrund seiner raschen und massiven Neusynthese wie auch wegen seiner vielfältigen biologischen Funktionen offensichtlich eine zentrale Rolle in der unspezifischen Infektabwehr zu [4]. In unserer Studie zeigte das CRP jeweils 12 Stunden vor und nach dem operativen Eingriff ein auffallend gleichartiges Verhalten zum E- $\alpha_1$ PI (Abb. 5). Im Gegensatz zu diesem stiegen jedoch die CRP-Konzentrationen bei Eintritt einer Sepsis nicht mehr signifikant an, und auch im weiteren Verlauf war zunächst keine Differenzierung des Schweregrades der Infektion in den Gruppen B und C auf dieser Basis möglich. Erst die letzten Messungen wiesen wieder Übereinstimmung mit dem zugrundeliegenden klinischen Bild auf. Es ist demnach davon auszugehen, daß die komplexierte Elastase den Schweregrad des durch die bakterielle Infektion bedingten Krankheitsgeschehens präziser wiedergibt als das CRP, von dem bekannt ist, daß es auf jede Art von Gewebeschädigung mit einem Anstieg reagiert.

Ein sehr sensibler Parameter für Blutgerinnungsstörungen bei der Sepsis ist der *fibrinstabilisierende Faktor F XIII*, der sowohl durch die ablaufende Gerinnung als auch durch unspezifische Proteolyse verbraucht werden kann [5, 6]. Interessanterweise verursacht der Gerinnungsvorgang vor allem eine Abnahme der enzymatisch aktiven Untereinheit A (Transglutaminase), nicht jedoch des Trägerproteins S. Elastase hingegen ist in der Lage, beide Moleküle *in vitro* gleichermaßen proteolytisch abzubauen. In Abb. 6 ist das Verhalten der aktiven Enzymeinheit A bei unseren Patienten dargestellt. Gegensinnig zur Erhöhung des E- $\alpha_1$ PI waren die F XIII-Werte signifikant erniedrigt im Verlauf der Sepsis, insbesondere zum letzten Zeitpunkt der Messung in der Gruppe C. In einzelnen Fällen wurden von uns auch die Konzentrationen der Untereinheiten A und S immunologisch (Rocket-Technik) gemessen. Ergänzend zu punktuellen Bestimmungen der Arbeitsgruppe EGBRING [5] konnten auch wir feststellen, daß bei einem schweren Sepsisverlauf beide Untereinheiten ähnlich stark verbraucht waren, während dies in Gruppe B weniger oft und in Gruppe A kaum der Fall war.

Die Veränderungen der aussagekräftigsten Plasmafaktoren nach großen abdominal-chirurgischen Eingriffen sind in Abb. 7 zusammengefaßt. Neben den bereits erwähnten Proteinen CRP und F XIII korrelierten insbesondere der wichtigste Inhibitor der Gerinnung, das Antithrombin III (AT III) und das als bedeutendster endogener Proteinaseinhibitor bekannte  $\alpha_2$ -Makroglobulin ( $\alpha_2$ M) sehr gut mit dem Verhalten des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes. Im Gegensatz dazu ließen die in Abb. 8 wiedergegebenen Faktoren keine eindeutigen Aussagen bezüglich des Schweregrades einer postoperativen Infektion zu. Da einige dieser Proteine ( $\alpha_1$ -Antichymotrypsin,  $\alpha_2$ -Antiplasmin,  $\alpha_1$ -Antitrypsin und C1-Inaktivator) einerseits Akutphasereaktanten, andererseits aber auch Proteinaseinhibitoren darstellen, kommt es hier sicherlich zu einer Überlagerung von gesteigerter Produktion und vermehrtem Verbrauch, letzteres sowohl durch Komplexbildung mit dem Zielenzym als auch durch Inaktivierung mittels lysosomaler Proteinasen und oxidierender Faktoren.

Parameter mit hoher Signifikanz			
↑ ↑ hochsignifikant; ↑ signifikant; n: normal			
Parameter	Sepsis	Genesung	Präfinal
E- $\alpha_1$ PI-Komplex	↑↑	n	↑↑
Antithrombin III	↓↓	n	↓↓
Faktor XIII	↓↓	n	↓↓
$\alpha_2$ M Konzentration	↓↓	n	↓↓
$\alpha_2$ M Aktivität	↓↓	n-↓	↓↓
C-reaktives Protein	↑↑	n	↑

E- $\alpha_1$ PI: Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor  
 $\alpha_2$ M:  $\alpha_2$ -Makroglobulin  
 ↑ Anstieg ↓ Abfall

Abb. 7: Plasmafaktoren mit hochsignifikanter Korrelation zum Schweregrad einer postoperativen Infektion.

Bestimmungsmethoden:

- E- $\alpha_1$ PI-Komplex: ELISA, Merck Darmstadt
- Antithrombin III: chromogener Substratassay: S-2238, Deutsche Kabi München
- Faktor XIII: F XIII-Schnelltest, Behringwerke Marburg
- $\alpha_2$ -Makroglobulin: M-Partigen, Behringwerke Marburg und  $\alpha_2$ -Makroglobulin-Farbstest, Boehringer Mannheim
- C-reaktives Protein: LC-Partigen, Behringwerke Marburg

Parameter ohne hohe Signifikanz			
↑ signifikant; n: normal			
Parameter	Sepsis	Genesung	Präfinal
$\alpha_1$ -Antichymotrypsin	↑	n	n
$\alpha_2$ -Antiplasmin	n	n	n
$\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor	n-↑	n-↑	n-↑
C1 INA Konzentration	n-↑	n-↑	n
C1 INA Aktivität	n	n	n
Fibrinopeptide			
F-CB 3	↑	n	↑
FPA	↑	n	↑

C1 INA: C1-Inaktivator ↑ Anstieg, ↓ Abfall: vgl. Abb. 7

Abb. 8: Plasmafaktoren mit geringer bzw. ohne Korrelation zum Schweregrad einer postoperativen Infektion.

Bestimmungsmethoden:

- $\alpha_1$ -Antichymotrypsin: M-Partigen, Behringwerke Marburg
- $\alpha_2$ -Antiplasmin: chromogener Substratassay: S-2251, Deutsche Kabi München
- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor:  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Farbstest, Boehringer Mannheim
- C1-Inaktivator: radiale Immundiffusion und chromogener Substratassay: S-2302, Deutsche Kabi München
- F-CB 3 und FPA: W. Schramm: Zur Diagnostik und Therapie thrombophiler Diathesen. Habilitationsschrift, Medizin. Fakultät der Univ. München (1981).

## II. Elastase- $\alpha_1$ PI-Konzentration nach Polytrauma

Ein weiteres Krankheitsbild, das mit einer massiven Gewebe- und Zellstörung und somit mit der Freisetzung einer Vielzahl von Entzündungsmediatoren einhergeht, ist das Polytrauma [7]. Die rasche Ansammlung von PMN Leukozyten in den Lungenkapillaren bereits 30 Minuten nach schwerem Trauma legt die Annahme nahe, daß das enzymatische lysosomale Potential dieser Zellen (sowie das der pulmonalen Makrophagen und Mastzellen) die destruktive Wirkung endogener „Toxine“ aus primär traumatisiertem Gewebe gravierend verstärkt und dadurch beträchtlich zur progressiven Lungenschädigung beiträgt. Der Nachweis einer zeit- und schweregrad-abhängigen Ausschüttung bestimmter lysosomaler Proteinase, wie z. B. der granulozytären Elastase, stand bisher jedoch bei schweren Traumen noch aus.

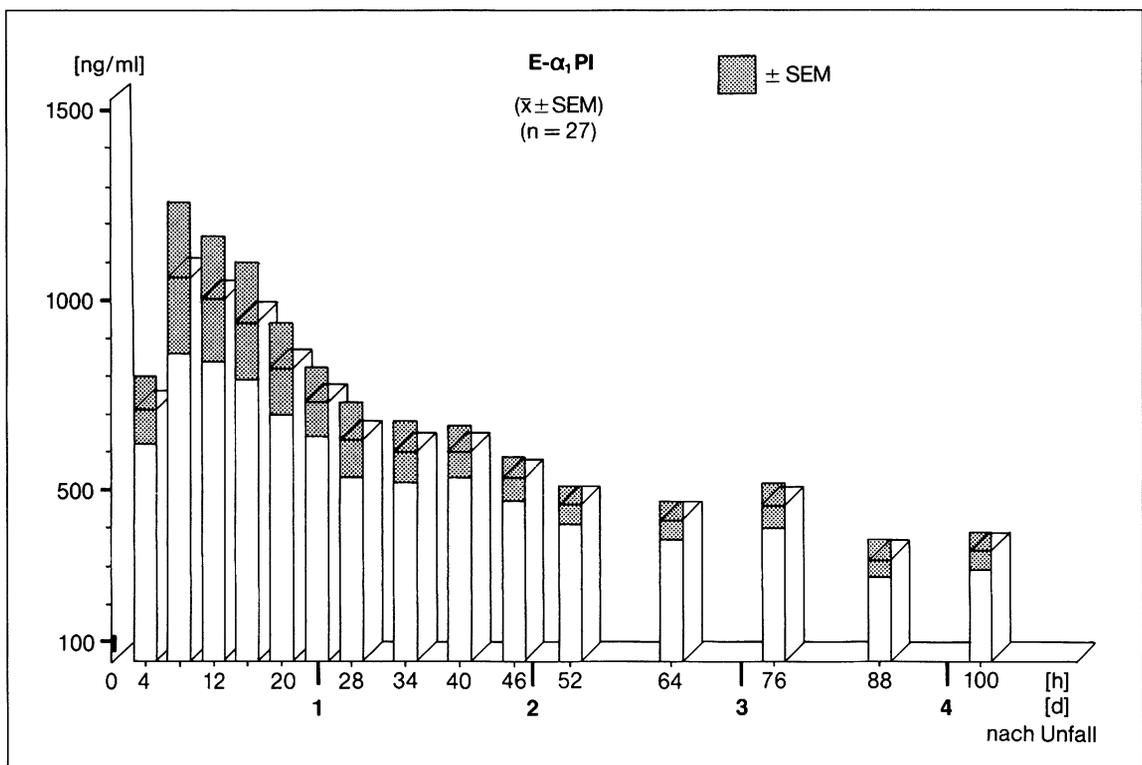


Abb. 9: Plasmaspiegel des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- $\alpha_1$ PI) nach Polytrauma. Die Konzentrationen der Elastase im Komplex mit  $\alpha_1$ PI sind angegeben als Mittelwerte ( $\pm$  SEM) für 27 Patienten mit unterschiedlichem Schweregrad des Traumas.

Zeitskala: h = Stunden, d = Tage

schraffierte Flächen:  $\pm$ SEM

In einer vorläufigen und zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschlossenen Studie konnten wir nun erstmals durch Messung des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes die Freisetzung granulozytärer Elastase in die Zirkulation nach schweren Verletzungen belegen. Untersucht wurden bisher 27 Patienten mit unterschiedlichem Schweregrad eines Unfalltraumas.

### Plasmaspiegel des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes

Die ersten Blutproben nach Einlieferung in die Klinik (zwischen 30 Minuten und 4 Stunden nach Unfall!) zeigten bereits eine signifikante Erhöhung des Elastasekomplexes, gefolgt von einem weiteren Anstieg bis zur 12., in einzelnen Fällen auch bis zur 16. Stunde nach Trauma (Abb. 9.). In der nachfolgenden Beobachtungsphase (bis ca. 4 Tage) war wieder eine deutliche Normalisierungstendenz zu verzeichnen.

Nach einer unabhängig voneinander vorgenommenen Beurteilung der Patienten, einerseits anhand des Schweregrades der Verletzungen (Essener Punkteskala: Tab. 2) und andererseits aufgrund der Konzentration des Elastasekomplexes, konnte retrospektiv eine Einteilung in drei Gruppen getroffen werden (Abb. 10).

In der Gruppe I (n = 12), den leichter Verletzten mit  $6,3 \pm 0,6$  Punkten, war die maximale E- $\alpha_1$ PI-Konzentration auf das ca. 5fache des Normalwertes erhöht. Die Gruppe II (n = 11) mit  $10 \pm 1,0$

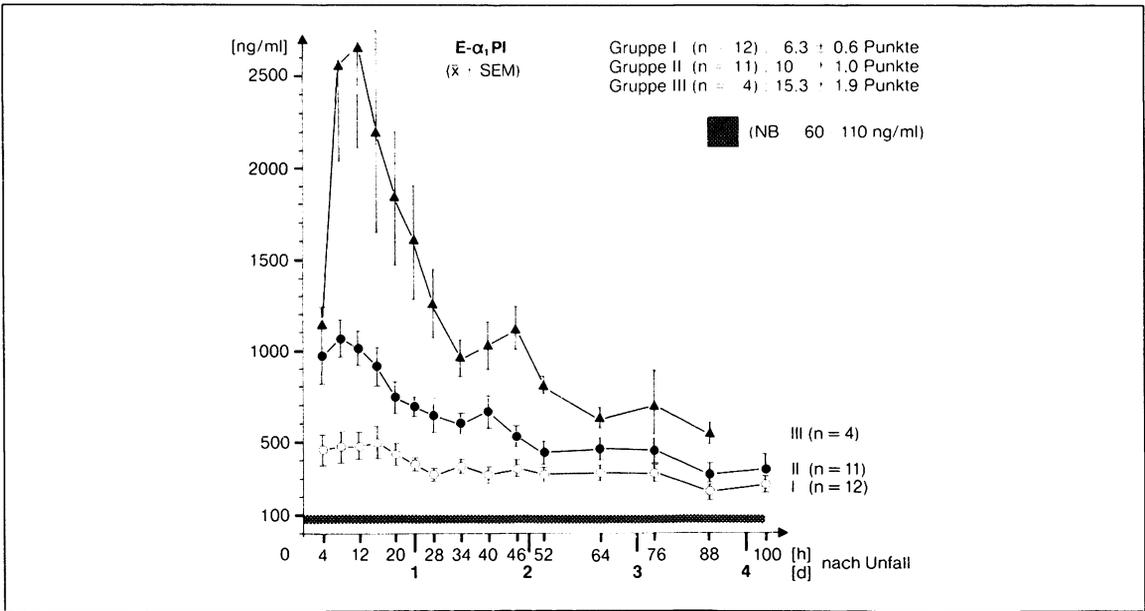


Abb. 10: Plasmaspiegel des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- $\alpha_1$ PI) nach Polytrauma. Die Gruppeneinteilung erfolgte nach dem Schweregrad des Traumas anhand der „Essener Punkteskala“ (siehe Tab.2). Normalbereich der Elastase im Komplex mit  $\alpha_1$ PI: 60–110 ng/ml (schraffiert in der Abb.); Zeitskala: h = Stunden, d = Tage

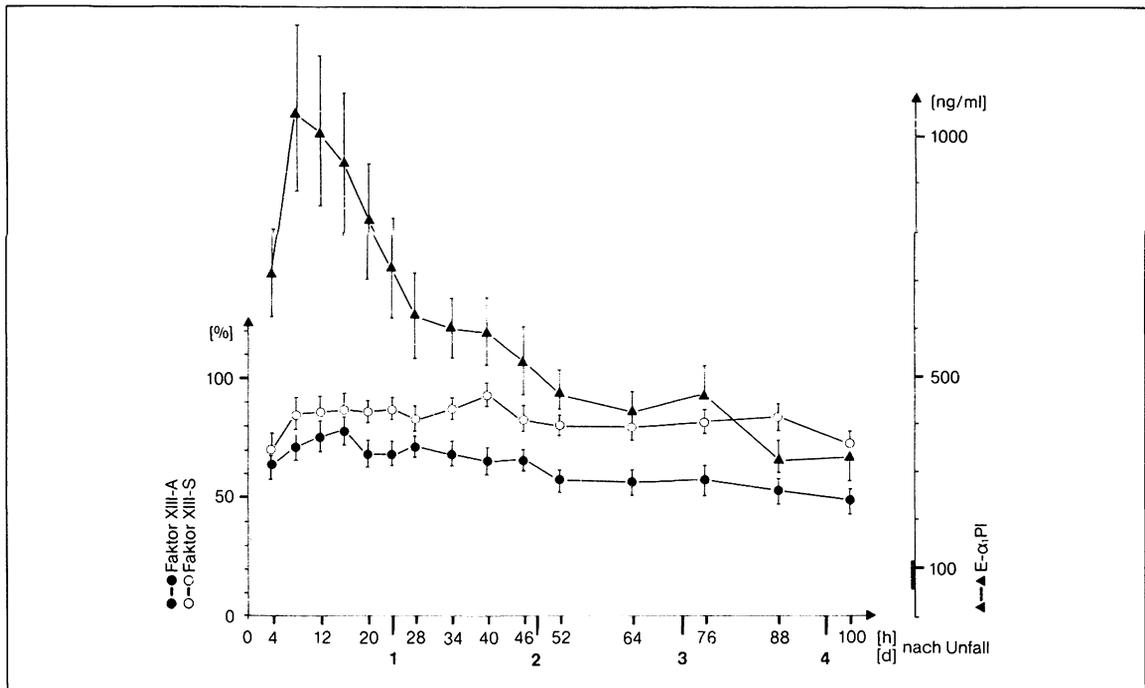


Abb. 11: Plasmaspiegel der Elastase im Komplex mit  $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor (E- $\alpha_1$ PI) im Vergleich zu den Untereinheiten A und S des fibrinstabilisierenden Faktors FXIII nach Polytrauma. Die Konzentrationen [FXIII in % eines Normalplasmas; komplexierte Elastase in ng/ml] der einzelnen Parameter sind angegeben als Mittelwerte ( $\pm$  SEM) für 27 Patienten mit unterschiedlichem Schweregrad des Traumas. Zeitskala: h = Stunden, d = Tage

Punkten wies eine Erhöhung auf das ca. 10fache auf. In der Gruppe III (n = 4) waren in Übereinstimmung mit dem höchsten Schweregrad der Verletzungen ( $15,3 \pm 1,9$  Punkte) auch die höchsten E- $\alpha_1$ PI-Werte, nämlich bis zum 20–30fachen der Norm zu finden. Isoliertes Lungenversagen innerhalb der ersten 36 Stunden konnte bei zwei Patienten aus jeder Gruppe beobachtet werden; keiner der Patienten verstarb jedoch an diesem Organversagen. Mehrfachorganversagen war bei zwei Patienten aus der Gruppe II und einem Patienten aus der Gruppe III zu verzeichnen; nur ein Patient aus der Gruppe II überlebte diese Mehrfachorganschädigungen.

#### Vergleich der Plasmaspiegel des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes und anderer Blutproteine

Im Gegensatz zu den Patienten mit abdominal-chirurgischen Eingriffen konnten bisher bei den Polytraumapatienten keine Korrelationen zwischen der Menge des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes und den Konzentrationen anderer Plasmaproteine nachgewiesen werden. Stellvertretend für Prothrombin (F II), Antithrombin III (AT III),  $\alpha_2$ -Makroglobulin ( $\alpha_2$ M) und Plasminogen sind in Abb. 11 die Verlaufskurven der Untereinheiten A und S von Faktor XIII (F XIII) dargestellt. Eine mögliche Ursache für dieses im Vergleich zur Sepsis so unterschiedliche Verhalten mag in den teilweise sehr hohen Mengen an transfundiertem Blut bei Polytraumapatienten liegen.

Um dies näher zu untersuchen, haben wir einige Plasmaproteine und den E- $\alpha_1$ PI-Spiegel in verschiedenen ACD-Blutkonserven in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer gemessen. Während wir bei  $\alpha_2$ M und AT III keine nennenswerte und bei F II nur eine geringe Abnahme der Aktivität bei längerer Lagerung beobachteten, nahm die Konzentration des Elastasekomplexes kontinuierlich zu und erreichte gegen Ende der Untersuchungszeit extrem hohe Werte (Abb. 12). Demnach werden lysosomale Inhaltsstoffe der Granulozyten bei der Lagerung von Konservenblut in beträchtlichem Ausmaß freigesetzt.

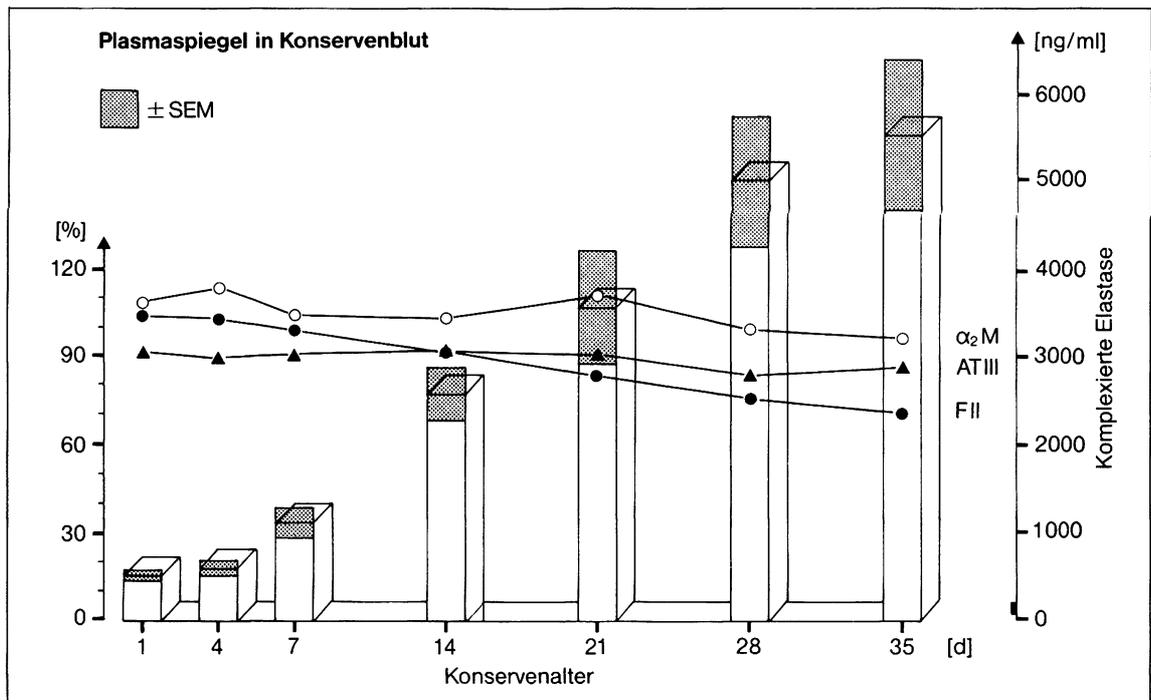


Abb. 12: Plasmaspiegel des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- $\alpha_1$ PI),  $\alpha_2$ -Makroglobulin ( $\alpha_2$ M), Antithrombin III (AT III) und Prothrombin (F II) in Blutkonserven (n = 11) in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer (Konservenalter in Tagen = d, Abszisse). Die Konzentrationen sind angegeben in ng/ml für komplexierte Elastase (Säulendarstellung) bzw. in % eines Normalplasmas für  $\alpha_2$ M, AT III und F II.

Diese Ergebnisse können auf folgende Weise gedeutet werden:

- a) Aufgrund massiver Bluttransfusionen sowie der relativ langen Halbwertszeiten der Blutproteine in der Zirkulation bleiben die Konzentrationen dieser Faktoren bei Polytraumapatienten relativ unbeeinflusst von der körpereigenen Freisetzung lysosomaler Proteinasen (Elastase).
- b) Hohe Werte des E- $\alpha_1$ PI-Komplexes im Patientenplasma werden möglicherweise durch Bluttransfusionen verursacht.

### Bewertungskatalog Polytraumatisierter

Verletzung	Punkte	max.	Verletzung	Punkte	max.
<b>1. SCHÄDEL</b>			<b>4. BECKEN/WIRBELSÄULE</b>		
SHT 1*			Einfache Beckenfraktur	1	
SHT 2* Coma scale $\leq$ 6	2		Kombinierte Beckenfraktur	2	
SHT 3*			Becken und Urogenital	3	
Mittelgesichtsfraktur	1		Wirbelbruch	1	
Mittelgesichtsfraktur mit behandlungswürdiger Blutung	2	4	Wirbelbruch/Querschnitt	2	
			Beckenquetschung	4	6
<b>2. THORAX</b>			<b>5. EXTREMITÄTEN</b>		
Sternum, Rippenfrakturen (1–3)	1		Zentraler Hüftverrenkungsbruch	3	
Rippserienfrakturen	3		Oberschenkelfraktur einfach	2	
Rippserienfrakturen bds. (4)	5		Oberschenkelstück-, Trümmerfraktur	3	
Hämato/Pneumothorax	1		Unterschenkelfraktur	1	
Lungenkontusion	3		Knieband, Patella, Unterarm, Ellbogen, Sprunggelenk	0,5	
Lungenkontusion beiderseits	4		Oberarm, Schulter	1	
instabiler Thorax (zusätzlich)	2		Gefäßverletzung oberhalb Ellbogen bzw. Kniegelenk	2	
Aortenruptur	4	6	Gefäßverletzung unterhalb Ellbogen bzw. Kniegelenk	1	
<b>3. ABDOMEN</b>			<i>Oberschenkel-, Oberarmamputation</i>		
Milzruptur	2		Unterarm-, Unterschenkelamputation	2	
Milz- und Leberruptur	3 (4)		Je offene 2* und 3* Fraktur	1	
Leberruptur (ausgedehnt)	3 (4)		Große Weichteilquetschung	0,5	12
Darm, Mesenterium, Niere, Pankreas	2	6			

Tab. 2: Essener Punkteskala: Bewertungsschema für den Schweregrad eines Polytraumas, erstellt in einer gemeinsamen Sitzung der Unfallchirurgen der Universitätskliniken München, Essen und Hannover im Juli 1981; niedergelegt im DFG-Schwerpunktprogramm „Grundmechanismen des posttraumatischen progressiven Lungenversagens“.

Um letzteres auszuschließen, haben wir bei drei mit großen Blutmengen substituierten Patienten die tatsächlich gemessene E- $\alpha_1$ PI-Konzentration mit einem hypothetischen Spiegel verglichen, der unter Einbeziehung der transfundierten Menge und der bekannten Eliminierungshalbwertszeit des Komplexes (ca. 1 Stunde) berechnet wurde. Wie aus Abb. 13 zu ersehen ist, haben die applizierten E- $\alpha_1$ PI-Mengen keinen signifikanten Einfluß auf den Kurvenverlauf des E- $\alpha_1$ PI-Spiegels im Patientenplasma. Dies ist evtl. darauf zurückzuführen, daß in vitro gebildete E- $\alpha_1$ PI-Komplexe infolge von Strukturveränderungen als „Fremdkörper“ wesentlich rascher vom Organismus eliminiert werden als die nativen in vivo-Komplexe.

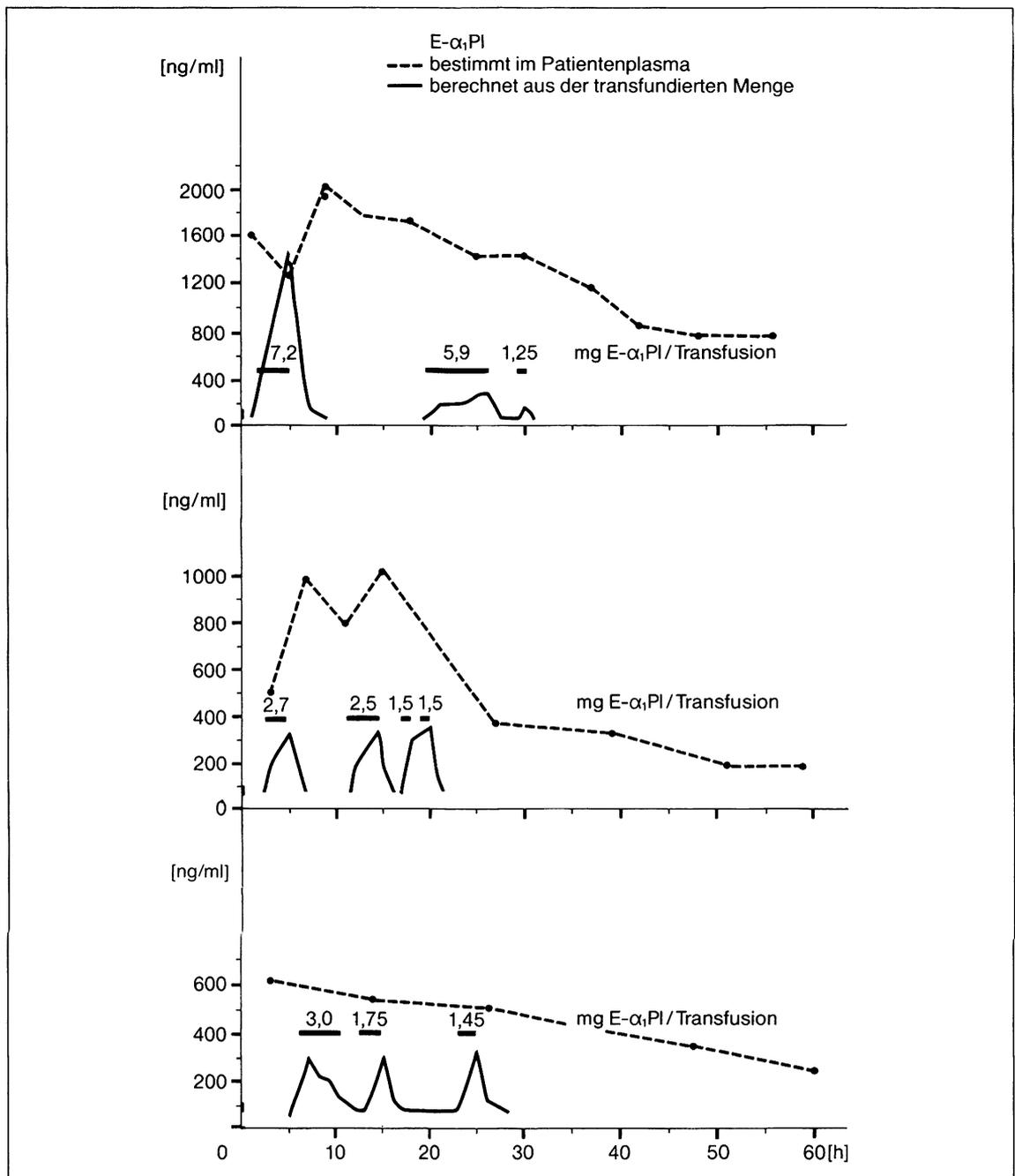


Abb. 13: Vergleich der bei 3 Patienten tatsächlich gemessenen Plasmaspiegel des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- $\alpha_1$ PI) nach Polytrauma mit dem jeweils zu erwartenden hypothetischen Spiegel aufgrund der Bluttransfusionen. Der hypothetische Spiegel wurde berechnet unter Berücksichtigung des E- $\alpha_1$ PI-Gehaltes im Transfusionsblut und der bekannten Eliminationshalbwertszeit des Komplexes von ca. 1 Stunde. Die pro Transfusion infundierte E- $\alpha_1$ PI-Menge ist in der Abbildung über den schematisch angegebenen Transfusionszeiträumen (waagrechte Balken) angegeben.

## Zusammenfassung und Ausblick

Polymorphkernige Granulozyten enthalten in ihren Lysosomen neben anderen Hydrolasen beträchtliche Mengen einer Elastase mit hoher proteolytischer Potenz im neutralen pH-Bereich. Ihre Freisetzung in das umgebende Milieu kann mittels eines heterogenen Enzymimmunoassays quantitativ erfaßt werden. Die in Plasma und anderen Körperflüssigkeiten nachweisbare Konzentration des Elastase- $\alpha_1$ -Proteinaseinhibitor-Komplexes reflektiert das Ausmaß der extrazellulären Freisetzung lysosomaler Faktoren, deren biologische Funktion primär intrazellulär zu suchen ist. Im Rahmen klinischer Studien (Sepsis, Polytrauma) wurde erstmals die Freisetzung der lysosomalen Elastase kontinuierlich über einen längeren Zeitraum verfolgt (Longitudinalstudien) und ein möglicher Zusammenhang mit dem Verbrauch von Plasmafaktoren untersucht. Bei der Sepsis konnte eine hochsignifikante Korrelation zwischen freigesetzter lysosomaler Elastase und dem Verbrauch von Plasmafaktoren beobachtet werden. Beim Polytrauma ist ein solcher Zusammenhang wahrscheinlich infolge massiver Faktorensubstitution durch laufende Bluttransfusionen nicht mehr nachweisbar; hier könnten Korrelationen jedoch auf lokaler Ebene (z. B. in der Lungenlavage beim ARDS: Adult Respiratory Distress Syndrome = akutes Atemnotsyndrom des Erwachsenen) nachweisbar sein.

## Literatur:

- [1] K.H. DUSWALD, M. JOCHUM, H. FRITZ. New findings on the pathophysiology and pathobiochemistry of sepsis and septic shock: the importance of proteinase release and the possibilities for treatment. *Intense Care News* **2** (1982), 1–6. Excerpta Medica, Amsterdam.
- [2] S. NEUMANN, N. HENNRICH, G. GUNZER, H. LANG. Enzyme-linked immunoassay for human granulocyte elastase in complex with  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor. In *Proteases: Potential Role in Health and Disease* (Hörl, W. A., Heidland, A., eds.). Plenum Press, New York, London (1984) 379–390.
- [3] K.H. DUSWALD. Zur Pathobiochemie der Leukozyten-Elastase und ausgewählter Plasmaproteine bei Sepsis nach abdominalchirurgischen Eingriffen, G-I-T Verlag Ernst Giebeler, Darmstadt 1983.
- [4] J. KUSHNER, H. GEWURZ, M.D. BENSON. C-reactive protein and the acute phase response. *J. Lab. Clin. Med.* **97** (1981) 739–749.
- [5] R. EGBRING, W. SCHMIDT, G. FUCHS, K. HAVEMANN. Demonstration of granulocytic proteases in plasma of patients with acute leukemia and septicemia with coagulation defects. *Blood* **49** (1977) 219–231.
- [6] M. JOCHUM, K.H. DUSWALD, E. HILLER, H. FRITZ. Plasma levels of neutrophil elastase- $\alpha_1$ -proteinase inhibitor complexes and factor XIII (including subunits A and S) in septicemia and leukemia. In: *Factor XIII and Fibronectin* (Egbring, R. and Klingemann, H.-G. eds.). Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn (1983) 107–115.
- [7] A.M. LEVER, H. ARAKI, J.B. SMITH, K.C. NICOLAOU, R.L. MAGOLDA. Protective effects of a novel thromboxane analog in lethal traumatic shock. *Prostaglandins Med.* **3** (1979) 139–146.