

8. Diskussion

8.1. Lungenschädigung und generalisierte Entzündungsreaktion

Die Lungenschäden, welche nach Operationen am offenen Herzen durch das Verfahren der EKZ verursacht werden können, stellen trotz verbesserter Technologien der Herz-Lungen-Maschinen und der intensiven Betreuung der Patienten auch heutzutage noch ein Problem dar (ASIMAKOPOULOS 1999, CARNEY et al. 1999, WASOWICZ et al. 1999, TÖNZ et al. 1987). Patienten mit vorgeschädigter Lunge sind einem größeren Risiko ausgesetzt als lungengesunde Patienten (MESSENT et al. 1992). Dennoch ist es für den einzelnen Patienten kaum vorhersagbar, wie sich die Funktionsstörungen der Lunge klinisch darstellen werden, da sie unterschiedlich ausgeprägt sein können. In besonders schweren Fällen kann die Lungenschädigung in ein ARDS münden (MC CANN et al. 1999, CARNEY et al. 1999, MESSENT et al. 1992, TÖNZ et al. 1987). Die Schäden an der Lunge sind Folge einer generalisierten Entzündungsreaktion, die durch die EKZ induziert wird (KIRKLIN et al. 1983, CASAY 1993, MOAT et al. 1993, CHENOWETH et al. 1981). Die generalisierte Entzündungsreaktion ist ein komplexes Geschehen, in dem humorale und zelluläre Komponenten interagieren (MILLER et LEVY 1997). Die Störungen der Lunge zeigen sich in einer Verschlechterung des Gasaustausches. Die $AaDO_2$, der Q_T/Q_S und die Compliance sind wichtige Parameter für die Veränderung der Lungenfunktion und können als Kontrollparameter vor und nach EKZ herangezogen werden. Beim Menschen kommt es zur Vergrößerung der $AaDO_2$ und des Q_T/Q_S und zur Verringerung der Compliance, (KONTANI et al. 2000 TÖNZ et al. 1995). MAGNUSSON (1996) und BOLDT (1990) zeigten, dass die Einschränkung des pulmonalen Gasaustausches auf einer Vergrößerung des pulmonalen Shuntanteils beruht. Dabei fand sich ebenfalls eine gute Korrelation zwischen dem pulmonalen Q_T/Q_S und $AaDO_2$.

Zu den humoralen Entzündungskomponenten, die durch die EKZ freigesetzt werden, gehören Mediatoren, wie $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, und $IL-8$. Die Cytokine $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ wirken auf die generalisierte Entzündungsreaktion initiiierend und sind in der Lage, wie auch das $IL-8$, diese Schritte zu potenzieren (MOSER et al. 1989, ROTHLEIN et al. 1988, SCHLEIMER et al. 1986)

Die Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen zum Nachweis dieser Cytokine sind kontrovers. Es liegen sowohl Arbeiten vor, bei denen unter der Bedingung der EKZ

die Konzentrationen anstiegen (SABLOTZKI et al.1998, HILL et al.1997, TONNESEN et al. 1996, FINN et al.1993), als auch Arbeiten bei denen die Untersucher die Cytokine gar nicht oder nur bei einem Teil ihrer Patienten nachweisen konnten (OHATA et al. 1995, FRERING et al. 1994, BUTLER et al. 1993).

Diese Mediatoren stehen in enger Verbindung zu den zellulären Komponenten. Zum einen werden sie von Zellen produziert und freigesetzt und zum anderen aktivieren sie wiederum die Zellen. Cytokine induzieren den Anstieg der neutrophilen Granulozyten im zirkulierenden Blut und fördern ihre Adhäsion an die Endothelzellen (HILL et al. 1997). Ferner werden die neutrophilen Granulozyten durch die Entzündungsreaktion selbst aktiviert (MACKAREL et al. 1999). Sie gelangen in den Lungenkreislauf und sammeln sich im Lungengewebe an (TÖNZ et al. 1995). KIRKLIN (1983) konnte zeigen, dass sich 50% aller neutrophilen Granulozyten nach EKZ in der Lunge aufhalten. Auf Grund der Struktur des pulmonalen Gefäßsystems verzögert sich die Lungenpassage (MACNEE et al. 1993). Das Gefäßsystem verzweigt sich in ein umfangreiches Netzwerk von pulmonalen Kapillaren, wobei der mittlere kapilläre Durchmesser geringer ist als der neutrophile Granulozyt.

Im Lungengewebe und in den Alveolen schütten diese Blutzellen nach Aktivierung ihre Granula und damit ihre proteolytischen Enzyme aus und setzen Sauerstoffradikale frei (GIBBSON 1999, MILLER et LEVY 1997, BOROWIEC 1995). Unter physiologischen Bedingungen ist die alveolo-endotheliale Barriere durch ihre Struktur für neutrophile Granulozyten undurchlässig (ELLIOT et al. 1993, SHAPPELL et al. 1990). Die Permeabilität erhöht sich während der inflammatorischen Reaktion, die alveolo-endotheliale Barriere wird zerstört, Granulozyten wandern ein und es gelangen außerdem vermehrt Proteine und Wasser in die Alveolen (BRAUDE et al. 1986, KIRKLIN et al.1983). Die Proteinkonzentration in der Lavage steigt an und der Wasseranteil in der Lunge nimmt zu. Die Lunge zeigt ein kapilläres Leck (SINCLAIR et al. 1995, BOLDT et al. 1990, KIRKLIN et al.1987)

Die zerstörerische Rolle der Produkte der neutrophilen Granulozyten ist nicht vollständig geklärt. Allerdings konnte CAMERON 1996 in einem Tierversuch mit Hunden, bei denen die EKZ eingesetzt wurde, nachweisen, dass sich der Gasaustausch bei den Tieren, denen die Leukozyten entzogen worden waren, im Gegensatz zur Kontrollgruppe nur minimal verschlechterte.

Wir haben in unserer Studie Schweine als ein Modell für die Lungenschädigung, welche durch EKZ verursacht werden kann, eingesetzt. Dabei ist zu bedenken, dass

die Tiere nicht dieselbe Physiologie und Biochemie wie die Menschen besitzen. Die Lungenschädigungen nach EKZ sind beim Schwein im Vergleich zum Menschen viel schwerwiegender (CAMERON 1996).

Die generalisierte Entzündungsreaktion, welche durch die EKZ im Rahmen der offenen Herzchirurgie bei unseren Versuchstieren ausgelöst wurde, ist mit den Reaktionen des menschlichen Organismus vergleichbar, die nach Operationen mit Einsatz der EKZ auftreten können. Ebenso wie in zahlreichen Untersuchungen am Menschen beschrieben, veränderten sich die AaDO₂, der Rechts-Links-Shunt und die Compliance (ASIMAKOPOULOS 1999, PREDIMAN 1999, TÖNZ et al. 1995). Die Verschlechterung des pulmonalen Gasaustausches hielt auch 180 Minuten nach Abnahme der Tiere von der EKZ noch an.

In unserer Studie fanden wir einen Anstieg der Konzentrationen von Cytokinen TNF- α , IL-1 β und IL-8 und einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten in der BAL. Diese Ergebnisse wurden als Bestätigung der generalisierten Entzündungsreaktion angenommen. Die 5 Minuten und 180 Minuten nach Abnahme von der EKZ gemessenen Entzündungsparameter waren im Vergleich zu den Basiswerten deutlich erhöht. Da die nach 180 Minuten gemessenen Werte deutlich höher lagen, als die 5 Minutenwerte, kann ein kontinuierlicher Anstieg der Parameter vermutet werden.

Die Messung des Quotienten der Leukozytenzahlen vom rechtem zum linken Vorhof wurde als Maß für die Sequestration der Leukozyten in die Lunge genutzt. Der Leukozytenquotient vergrößerte sich bis 10 Minuten nach Abnahme der Tiere von der Herz-Lungen-Maschine, nahm dann langsam ab und erreichte nach 180 Minuten annähernd den Basiswert. Offensichtlich ließ der Effekt der Leukozytensequestration mit Beendigung der EKZ nach, dennoch wanderten noch 180 Minuten post EKZ mit ansteigender Zahl weiter neutrophile Granulozyten in die Lunge ein. In dieser Studie fand der Sequestrationseffekt demnach nur während der EKZ statt. Die Leukozytensequestration ließ sich in anderen Studien nicht reproduzieren (ZIMMERMANN et al. 1982).

Das erwartete kapilläre Leck konnten wir durch einen Anstieg der Proteinkonzentration in der Lavage und die Erhöhung des Wassergehaltes in der Lunge nachweisen.

Die generalisierte Entzündungsreaktion wird als eine Ursache für die Einschränkung der Lungenfunktion und die Verschlechterung des pulmonalen Gasaustausches in

Folge einer EKZ diskutiert. Aus diesem Grunde haben wir die Korrelationen zwischen den Cytokinen, den neutrophilen Granulozyten in der BAL, dem Proteinen in der BAL, dem Wassergehalt in der Lunge und den Gasaustauschparametern $AaDO_2$ und Q_T/Q_S gemessen.

Cytokin IL-1 β zeigte im zweiten Messwert 5 Minuten post EKZ eine signifikante Korrelation.

IL-8 und TNF- α korrelierten mit beiden Gasaustauschparametern $AaDO_2$ und Q_T/Q_S 5 und 180 Minuten post EKZ. Die neutrophilen Granulozyten korrelierten ebenfalls mit $AaDO_2$ und Q_T/Q_S 180 Minuten post EKZ. Dies bestätigt den engen Zusammenhang zwischen der generalisierten Entzündungsreaktion und der Verschlechterung des Gasaustausches in der Lunge unter der EKZ.

Die Schädigung der alveolo-endothelialen Barriere wird durch eine Korrelation der Gasaustauschparameter zu dem Proteingehalt in der Lavage sowohl 5 als auch 180 Minuten post EKZ bestätigt. Unter physiologischen Umständen würden nicht so viele Makromoleküle vom Blut in die Lavage diffundieren können.

Obwohl ein deutlicher Anstieg des Wassergehalts der Lunge zu sehen war, fehlt eine Korrelation zwischen dem Wassergehalt der Lunge und den Gasaustauschparametern. Ein möglicher Grund könnte die Probenentnahme sein, d.h. es wurden zu drei verschiedenen Zeitpunkten kleine oberflächliche Gewebeproben entnommen, welche nur einen minimalen Ausschnitt der gesamten Lunge darstellen und möglicherweise in ihrer histologischen Struktur nicht ausreichend verändert waren.

8.2. MMP und Lunge

In den letzten Jahren haben sich immer mehr Arbeitsgruppen mit der Funktion der Matrix-Metalloproteasen in der Lunge auseinandergesetzt. In der BALF von gesunden Menschen wurden keine MMP entdeckt. Die Enzyme wurden nur in der BALF von Patienten, die an unterschiedlichen Lungenerkrankungen litten, gefunden.

Bis heute kann über die genaue Rolle der MMP in den Lungen bei den verschiedenen Lungendysfunktionen und Lungenerkrankungen keine genaue Aussage gemacht werden. In der gesunden Lunge sind die MMP am physiologischen Ab-, Um- und Aufbau der EZM, der täglich bis zu 10 % betragen kann, beteiligt (DUNSMORE und RANNELS 1996, LAURENT 1987). Es herrscht zwischen diesen proteolytischen

Enzymen und ihren endogenen Inhibitoren (TIMP) eine Balance und somit ein Gleichgewicht zwischen der Regulation der Synthese und der Degradierung der Komponenten der extrazellulären Matrix (CORBEL et al. 2000, PARDO et SELMAN 1996). Allerdings wurden Imbalancen zwischen der physiologischen Expression von MMP und TIMP bei Krankheiten wie Lungenfibrose, Lungenkrebs und ARDS beobachtet (O'CONNOR und FITZGERALD 1994). Die Arbeitsgruppe EICKELBERG et al. (1997) fand in Pleuraergüssen, sowohl in Transudaten als auch in Exsudaten eine gegenüber dem Blut erhöhte Konzentration an MMP-2. MMP-9 war dagegen nur bei entzündlich veränderten Pleuraergüssen nachweisbar. Die MMP-Isoformen werden also bei unterschiedlichen Erkrankungen differenziert exprimiert.

In Folge einer MMP/TIMP-Imbalance wird die physiologische Architektur des Lungengewebes drastisch beeinflusst, wie bei entzündlichen Reaktionen und Lungemetastasen nachgewiesen wurde (WOESSNER 1991, MATRISIAN 1990). So konnten D'ORTHO et al. 1994 im Tierversuch an Meerschweinchen zeigen, dass bei akuter Lungenschädigung durch LPS (bakterielle Lipopolysaccharide) die erhöhte Konzentration von MMP-9 mit dem Ausmaß der Schädigung an der Lunge korrelierten. Im Gegensatz hierzu steht eine Arbeit von BETSUYAKU et al. (1999). Er entfernte das Gen für die Expression von MMP-9 bei Mäusen. Die durch LPS induzierten Lungenschäden zeigten das gleiche Ausmaß wie die Lungenschäden bei den Mäusen mit Gen. Daraus kann gefolgert werden, dass die MMP bei dieser induzierten Schädigung des Lungengewebes bei der Maus keine Rolle zu spielen scheinen.

BAKOWSKA und ADAMSON (1998) schädigten die Lunge von Versuchsratten mit Bleomycin und untersuchten MMP-2 in der BAL über einen Zeitraum von 8 Wochen. Ein maximaler MMP-2 Peak wurde 2 Wochen nach Bleomycingabe gefunden. Gleichzeitig fanden sie zu diesem Zeitpunkt die stärkste Aktivität der Epithelzellproliferation. Aus diesem Grunde vermuteten die Autoren, dass die MMP-2 wohl auch in der Lage sein könnten, Cytokine freizusetzen, die eine Stimulation der Zellen bewirken, die zur Regeneration der Lungenstruktur benötigt werden. FERRY et al. (1996) untersuchten die von den neutrophilen Granulozyten freigesetzten MMP-9 und Elastase in einem Hamstermodell und postulierten anhand ihrer Ergebnisse, dass die Elastase sehr wahrscheinlich nicht nur ihr Substrat abbaut und dabei die Lunge schädigt, sondern auch die inaktiven MMP-9 aktiviert. GIBBS et al. (1999) untersuchten verstärkt die Rolle der MMP bei Lungenschädigungen, an denen Makrophagen

gen beteiligt sind. Sie zeigten am Rattenmodell, dass die MMP-9 bei diesen Lungenerkrankungen produziert werden und dass sie eine EZM zerstörende Rolle spielen. Die Makrophagen setzen unter bestimmten proinflammatorischen Zuständen MMP-9 frei und sind wahrscheinlich am progressiven Verlauf einer akuten Entzündungsreaktion beteiligt.

GIPSON et al. (1999) gingen in ihren Überlegungen davon aus, dass die Lungenschädigungen eventuell durch die Imbalance zwischen Protease und Proteaseinhibitoren zusammen mit Oxidantien und Antioxidantien und proinflammatorischen und antiinflammatorischen Cytokinen beeinflusst werden. Durch Inaktivierung von endogenen TIMP-2 und endogene secreted leukoprotease inhibitor (SLPI) mit Anti-TIMP und Anti-SLPI fanden sie stärker zerstörte Lungen bei den Versuchstieren. Aus diesem Resultat vermuteten sie, daß TIMP-2 und SLPI den Grad der Zerstörung der Lunge bei Entzündungen mit beeinflussen können.

Nicht nur in Tierversuchen wurden die verschiedenen MMP-Isomeren untersucht, sondern auch in verschiedenen Untersuchungen am Menschen. In der BAL von Patienten mit Emphysem wurden vermehrt MMP-2 und MMP-9 nachgewiesen (FINLAY et al. 1996). SEPPER et al. (1994) konnten in BAL von Patienten mit Bronchiektasen eine deutlich erhöhte MMP-2, MMP-8 und MMP-9 Aktivität nachweisen. In vitro haben sie die BAL der kranken Patienten und einer Kontrollgruppe mit Doxycyclin versetzt und eine deutliche Herabsetzung der MMP-Aktivität bei den kranken Patienten gefunden. Immunhistochemische Studien von HAYASHI et al. (1996) zeigten bei Patienten mit idiopathischer pulmonaler Fibrose und diffusen Alveolarschaden eine im Vergleich zum Gesunden höhere Menge an MMP in Myofibroblasten und in Epithelzellen. MMP-2 konnte vermehrt fokal in kapillaren Epithelzellen naher zerstörter Basalmembran nachgewiesen werden. Eine weitere Studie von Patienten mit idiopathischer pulmonaler Fibrose zeigte eine deutliche Überexpression von MMP-9 in alveolären Makrophagen im Gegensatz zu gesunden Menschen. Weiterhin zeigt sich eine deutlich Verringerung von MMP-9 bei Patienten, die mit Steroiden und immunsuppressiv wirkenden Medikamenten behandelt wurden (LEMJABBAR et al. 1999/1). LEMJABBAR et al. (1999/2) fanden ebenfalls MMP-9 bei Patienten während eines Status asthmaticus. MMP-9 und TIMP-1 steigen nach Reizung der Luftwege mit Allergenen bei Allergikern in der BALF an (BECKY et al. 2000). Die MMP und TIMP wurden ebenfalls bei Patienten, die an ARDS erkrankten untersucht. TORRI et al. (1997) fanden erhöhte Konzentrationen von

MMP-2, MMP-9 und TIMP-1 bei Patienten mit ARDS im Vergleich zu Gesunden. Weiterhin wurden 7S Kollagen und Laminin als Marker für die zerstörte Basalmembran in den BAL gemessen. Die an ARDS Erkrankten zeigten eine Korrelation zwischen diesen Markern und MMP-2, MMP-9 korrelierte mit 7S-Kollagen und neutrophilen Granulozyten. PUGIN et al. (1999) verglichen Patienten mit ARDS mit Patienten, die an einem hydrostatischen Lungenödem erkrankten. Bei den Patienten mit ARDS fand sich eine erhöhte MMP-9 Konzentration in der BAL, wohin die MMP-9 Konzentration im Plasma kaum Veränderungen zeigt. Im Gegensatz hierzu stieg MMP-9 bei den Patienten mit Lungenödem kaum an. MMP-2 stieg bei beiden Gruppen in der Lavage an. Der Unterschied zeigte sich also deutlich in den MMP-9, welche von den neutrophilen Granulozyten, die im Frühstadium des ARDS in die Lunge emigrieren, freigesetzt wurden. RICOU et al. vermuteten schon 1996 eine Imbalance zwischen MMP und TIMP bei Patienten mit ARDS.

Aufgrund der nicht geklärten Rollen der MMP-Isoformen in der Lunge haben auch wir unser Hauptaugenmerk auf sie gesetzt. Die Architektur des Endothels und der Alveolen einschließlich ihrer Basalmembranen besteht hauptsächlich aus Typ IV Kollagen. Die Isoformen MMP-2 und MMP-9, die wir in der Lavage unserer Schweine gemessen haben, degradieren substratspezifisch dieses Kollagen (O'CONNOR et FITZGERALD 1994).

Der Nachweis der MMP-Isoformen erfolgte durch Kollagenverdau mittels Zymographie. Die Ergebnisse unseres Schweinmodells zeigten, dass sowohl MMP-2, als auch MMP-9 signifikant bis 180 Minuten nach Abnahme von der EKZ anstiegen. Zur Standardisierung wurden die BALF der verschiedenen Versuchstiere immer zu den gleichen Zeitpunkten gewonnen (vor, 5 und 180 Minuten nach EKZ). Auf den blau gefärbten Gelen lassen sich weiße Banden erkennen. Die Wanderstrecke von MMP-9 (92 kDa) ist aufgrund seiner Größe und elektrischen Ladung kürzer als von MMP-2 (72 kDa). Im Vergleich zu der ersten Bande (Proben vor der EKZ) ist die dritte Bande (180 Minuten nach EKZ) bei allen Tieren breiter und deutlicher zu sehen. Die semiquantitative Auswertung der Zymographien bestätigt prozentual den Anstieg der aktivierten Enzyme. Weitere Aussagen konnten wir in unserem Tierversuch nicht erbringen, da die von uns gemessenen Parameter keine statistische Korrelation zu den MMP zeigten.

Dennoch darf nicht davon ausgegangen werden, dass tatsächlich kein Zusammenhang zwischen der EKZ einschließlich der generalisierten Entzündungsreaktion und

den Veränderungen an der Lunge und den MMP besteht.

MMP-9 wird in den neutrophilen Granulozyten gebildet und abgegeben (O'CONNOR et FITZGERALD 1994). Ein vermehrter Anstieg der neutrophilen Granulozyten legt die Vermutung nahe, dass vermehrt MMP-9 freigesetzt wird.

MMP-2 wiederum wird von Endothelzellen gebildet und freigesetzt. Da die Integrität der Endothelzellen durch die generalisierte Entzündungsreaktion verändert wird, ist es denkbar, dass sie durch unbekannte Mechanismen dazu induziert werden könnten, vermehrt MMP-2 zu sezernieren. Diese Aussagen müssen durch weitere Untersuchungen bestätigt werden. Eine Wechselwirkung zwischen MMP und Cytokinen ist über eine Beeinflussung der Zellen durch die Mediatoren denkbar, da die Cytokine sowohl die neutrophilen Granulozyten aktivieren, als auch auf die Endothelzellen wirken (O'CONNOR und FITZGERALD 1994).

Es konnte kein Zusammenhang zwischen den MMP-Isoformen und der Lungenfunktionsstörung, sowie der gesteigerten Permeabilität gefunden werden. Einige Gründe für die fehlende Korrelation sind in unserer Methode begründet. So konnten die Konzentrationen der Enzyme nur semiquantitativ errechnet werden. Das Verfahren der Zymographie lässt keine quantitative Auswertung zu. Der einzige Vorteil dieses Verfahrens ist, dass verschiedene Enzymformen anhand ihrer Molekülgröße gemessen werden können. In dieser Studie fehlte uns die Möglichkeit, die Schweine-MMP-Isoformen mittels Elisa-Verfahren quantitativ zu ermitteln, da die für Menschen etablierten Elisa keine Kreuzreaktion mit den Schweinefermenten ergaben. Ein weiterer Aspekt ist der fehlende Nachweis der TIMP, die wir mit unseren Mitteln ebenfalls nicht erfassen konnten. Es werden auf dem Markt keine spezifischen Antikörper gegen die Schweine-TIMP angeboten. Beide Verfahren müssten für das Schwein entwickelt und etabliert werden. So bleibt die Frage offen, ob im physiologischen Verhältnis von MMP zu TIMP Veränderungen aufgetreten sind oder ob eine Imbalance besteht, die zu einer vermehrten Zerstörung der Extrazellulären Matrix der Lunge führt.

8.3. Diskussion über die mögliche Beeinflussung der MMP durch Inhibitoren

Nach der *in vivo* Aktivierung der MMP-Isoformen scheinen in erster Linie endogene Inhibitoren das Ausmaß der EZM-Zerstörung zu beeinflussen. Die TIMP hemmen mit unterschiedlichen Affinitäten die MMP im aktiven Zentrum im stöchiometrischen Verhältnis von 1:1. Das MMP-9 Proenzym wird kompetitiv von TIMP-1 und das MMP-2 Proenzym wird durch TIMP-2 gehemmt (O'CONNOR et FITZGERALD 1994). Inwiefern die Balance zwischen diesen beiden Enzymen geregelt wird ist bis heute noch nicht geklärt. So wird die Transkription und Synthese der MMP-Antagonisten durch dieselben Cytokine reguliert wie die MMP. Dieser Synergismus scheint im ersten Moment unlogisch. Allerdings könnte dieser Mechanismus für eine Schadensbegrenzung in sofern von Bedeutung sein, dass die MMP im Zielgebiet degradieren und die TIMP dieses Gebiet begrenzen, in dem sie vermehrt bei den MMP produzierenden Zellen zu finden sind und die MMP an ihrer Aktivierung hindern (BRAUN et O'CONNOR 1999). Die TIMP reagieren empfindlich auf die neutrophile Elastase und andere Serinproteasen (OKADA et al. 1988). Das vermehrte Ausschütten dieser Enzyme könnte die entstehende Imbalance während einer inflammatorischen Reaktion erklären. Die MMP könnten in inflammatorischen Gebieten aktiviert werden.

Neben den spezifischen Inhibitoren können die Proteasen durch α_2 -Makroglobuline und synthetische Antagonisten, wie GM6001, inhibiert werden (BROWN 1999). Wie oben bereits erwähnt, führt eine Störung der MMP/TIMP-Balance zu pathophysiologischen Veränderungen und damit zur Gewebszerstörung. Seit Mitte der 80er Jahre wurden verschiedene künstlich hergestellte Inhibitoren entwickelt. Es existieren 3 Arten: auf Peptidbasis (z.B. Marimastat BB-2516), auf Nichtpeptidbasis (z.B. AG-3340) und aus natürlich modifizierten Tetrazyklinderivaten (z.B. CMT-3). Zur Zeit sind solche Präparate in der Tumorforschung in den Anfängen der klinischen Erprobungsphase (BROWN 1999).

Die Arbeitsgruppe CARNEY et al. (1999) ging in einer Versuchsanordnung am Schweinmodell der Frage nach, ob durch Einsatz von Inhibitoren die Schädigung der Lunge, die durch Einwirkungen von MMP und Elastase verursacht werden, gemindert werden könnte. Durch *i.v.* Gabe von LPS teilweise in Verbindung mit EKZ wurden schwere Lungenstörungen erzeugt. Es folgte ein Abfall von pO_2 , ein Anstieg des intrapulmonalen Shunts bei gleichzeitigem signifikanten Anstieg der neutrophili-

len Granulozyten und ein Anstieg der Elastase und MMP-9 Konzentrationen. Durch Gabe von modifiziertem Tetrazyklin-3 kam es zu keiner Verschlechterung der Lungenfunktion bei gleichzeitiger Verminderung der Aktivitäten von Elastase und MMP-9. Auf Grund der Untersuchungsergebnisse könnte die Verhinderung eines Postperfusionssyndroms durch Hemmung der von den neutrophilen Granulozyten freigesetzten proteolytischen Enzyme einen wesentlichen Teil der Therapie ausmachen. Aussagen über einen therapeutischen Erfolg dieses Konzeptes lassen sich noch nicht machen.

8.4. Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse bestätigen, wie in zahlreichen Untersuchungen nachgewiesen, das Auftreten einer inflammatorische Reaktion nach EKZ im besonders betroffenen Organ Lunge. Die Konzentrationen an Cytokinen und neutrophilen Granulozyten stiegen nach EKZ in der Lavage an. Die Lunge reagierte auf die Entzündungsreaktion initial mit einem verschlechterten Gasaustausch und im weiteren Verlauf mit einer deutlichen Permeabilitätssteigerung als Folge eines kapillären Lecks, Ursache für einen vermehrten Proteingehalt in der Lavage und vermehrte Wasseransammlung in der Lunge.

Eine Korrelation zwischen den proteolytischen MMP und den gemessenen Parametern, wie den neutrophilen Granulozyten, Cytokinen, Gasaustauschparametern und Proteingehalt in der Lavage-Flüssigkeit konnte nicht gefunden werden. Allerdings liegt die Vermutung nahe, dass sie eine bedeutende Funktion bei der Strukturveränderung der Matrix besitzen und an der Entstehung von Lungenschäden bis einschließlich des Postperfusionssyndroms maßgeblich beteiligt sind. Für genauere Antworten müsste eine neue weiterführende Studie entwickelt werden, wobei die folgenden Gesichtspunkte berücksichtigt werden sollten: Ein Vergleich von MMP-Isoformen in der Lavage und im Blut, sowie die Messung des für die neutrophilen Granulozyten spezifischen MMP-8. Gleichzeitig sollten die TIMP ebenfalls in Lavage und Blut gemessen werden, um Rückschlüsse auf ihre Balance und den Einfluss auf die MMP ziehen zu können. Für eine weiterführende Erklärung der Funktion sollten die neutrophilen Granulozyten in Lavage und Blut gezählt, sowie die dazugehörigen histologischen Auswertungen durchgeführt werden.

Obwohl keine Korrelation zwischen den Entzündungsparametern, der gestörten Lungenfunktion und der verstärkten Permeabilität zu den MMP gefunden wurden, muss weiterhin eine wesentliche Rolle dieser Enzyme im Ablauf der Entzündungsreaktion nach EKZ angenommen werden, so dass die Bemühungen zur genauen Betrachtung und quantitativen Messung der MMP-Isoformen fortgeführt werden sollten.