

Aus dem Fachbereich Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

aus dem  
Zentrum der Chirurgie  
Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie  
Direktor: Prof. Dr. Ingo Marzi

betreut am  
Universitätsklinikum Ulm

**Die systemische Inflammation bei unterschiedlichen Reaming-  
Verfahren nach Polytrauma  
–  
Großtiermodell am Schwein**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

vorgelegt von  
Felix Karl-Ludwig Klingebiel

aus Düsseldorf

Frankfurt am Main, 2023





Aus dem Fachbereich Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

aus dem  
Zentrum der Chirurgie  
Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie  
Direktor: Prof. Dr. Ingo Marzi

betreut am  
Universitätsklinikum Ulm

**Die systemische Inflammation bei unterschiedlichen Reaming-  
Verfahren nach Polytrauma  
–  
Großtiermodell am Schwein**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

vorgelegt von  
Felix Karl-Ludwig Klingebiel

aus Düsseldorf

Frankfurt am Main, 2023

Dekan:	Prof. Dr. Stefan Zeuzem
Referentin:	Prof. Dr. Borna Relja
Korreferent/in:	Prof. Dr. Henning Cornelius Fiegel
Tag der mündlichen Prüfung:	11.01.2024

# Inhaltsverzeichnis

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis .....	6
1. Einleitung.....	10
<b>1.1 Das Polytrauma .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 Klinische Versorgung des Polytraumas mit Hilfe des RIA .....</b>	<b>12</b>
<b>1.3. Die Pathophysiologie des Polytraumas .....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Akute-Phase-Proteine und Entzündungsmarker.....</b>	<b>16</b>
1.4.1. Interleukin-6 .....	16
1.4.2. Interleukin-8 .....	17
1.4.3. Interleukin-10.....	18
1.4.4. Interleukin-6/Interleukin-10 Ratio .....	19
1.4.5. Tumornekrosefaktor alpha (TNF- $\alpha$ ).....	19
<b>1.5 Inflammatorische Reaktion bei RIA.....</b>	<b>20</b>
<b>1.6. Ziel der Arbeit .....</b>	<b>21</b>
2. Material und Methoden.....	23
<b>2.1 Ethikvotum.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2 Tiere/Versuchskollektiv .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Experimentelles Modell .....</b>	<b>24</b>
<b>2.4. Reamingverfahren.....</b>	<b>26</b>
2.4.1. Konventionelles <i>Reaming</i> .....	26
2.4.2. <i>Reaming-irrigator-aspirator</i> (RIA) System .....	27
<b>2.5 Probenentnahme und Aufbewahrung .....</b>	<b>29</b>
2.5.1. Blutproben.....	29
2.5.2. Bronchoalveoläre Lavage .....	29
2.5.3. Urinproben .....	30
<b>2.6. ELISA - Analysen .....</b>	<b>30</b>

<b>2.6.1. IL-6</b> .....	30
<b>2.6.2. IL-8</b> .....	34
<b>2.6.3. IL-10</b> .....	37
<b>2.6.4. TNF-<math>\alpha</math></b> .....	39
2.7 Sonstige verwendete Materialien und Geräte.....	42
2.8. Statistische Analysen .....	44
3. Ergebnisse .....	44
<b>3.1. Outcome der Versuchstiere</b> .....	<b>44</b>
<b>3.2. Systemische Inflammation bei unterschiedlichen RIA Verfahren nach Polytrauma</b> .....	<b>45</b>
<b>3.3. Lokale Inflammation bei unterschiedlichen RIA Verfahren nach Polytrauma</b> .....	<b>50</b>
<b>3.4. Urinkonzentration der Zytokine bei unterschiedlichen RIA Verfahren nach Polytrauma</b> .....	<b>53</b>
4. Diskussion .....	54
<b>4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse</b> .....	<b>54</b>
<b>4.2. Posttraumatische Pathophysiologie</b> .....	<b>57</b>
<b>4.2.1. IL-6</b> .....	57
<b>4.2.2. IL-8</b> .....	61
<b>4.2.3. IL-10</b> .....	62
<b>4.2.4. IL-6/IL-10 ratio</b> .....	63
<b>4.2.5. TNF-<math>\alpha</math></b> .....	64
<b>4.3. Vergleichen der RIA – Verfahren</b> .....	<b>65</b>
<b>4.4. Diskussion des Modells am Schwein – Vorteile und Nachteile</b> .....	<b>67</b>
<b>4.5. Limitationen der Studie</b> .....	<b>69</b>
<b>4.6. Schlussfolgerung</b> .....	<b>70</b>
5. Zusammenfassung .....	71
<b>5.1. Zusammenfassung (Deutsch)</b> .....	<b>71</b>

<b>5.2. Zusammenfassung (Englisch) .....</b>	<b>73</b>
6. Literatur .....	76



## Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

### Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Bohrkopf des <i>Conventional Monoblock Reamer</i> .....	27
Abbildung 2: RIA2-System .....	28
Abbildung 3: Beispiel-Eichkurve Interleukin-6. ....	34
Abbildung 4: Beispiel-Eichkurve Interleukin-8. ....	36
Abbildung 5: Beispiel-Eichkurve Interleukin-10. ....	39
Abbildung 6: Beispiel-Eichkurve TNF- $\alpha$ .....	41
Abbildung 7: Verlauf der systemischen IL-6 Konzentration im Serum der Versuchsgruppen. ....	45
Abbildung 8: Verlauf der systemischen IL-8 Konzentration im Serum der Versuchsgruppen. ....	46
Abbildung 9: Verlauf der systemischen IL-10 Konzentration im Serum der Versuchsgruppen. ....	47
Abbildung 10: Verlauf der systemischen TNF- $\alpha$ Konzentration im Serum der Versuchsgruppen. ....	48
Abbildung 11: Verlauf der systemischen IL-6/IL-10 Ratio im Serum der Versuchsgruppen. ....	49
Abbildung 12: Verlauf der lokalen IL-6 Konzentration in der BAL der Versuchsgruppen. ....	50
Abbildung 13: Verlauf der lokalen IL-8 Konzentration in der BAL der Versuchsgruppen. ....	51
Abbildung 14: Verlauf der lokalen TNF- $\alpha$ Konzentration in der BAL der Versuchsgruppen. ....	52
Abbildung 15: Verlauf der IL-6 Konzentration im Urin der Versuchsgruppen. ..	53
Abbildung 16: Verlauf der IL-10 Konzentration im Urin der Versuchsgruppen.	54

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Entnahme und Lagerung systemischer Blutproben. ....	29
Tabelle 2: Entnahme und Lagerung der BAL. ....	30
Tabelle 3: Entnahme und Lagerung der Urinproben. ....	30
Tabelle 4: Interleukin-6 Standardreihe. ....	32
Tabelle 5: Interleukin-8 Standardreihe. ....	35
Tabelle 6: Interleukin-10 Standardreihe. ....	38
Tabelle 7: TNF- $\alpha$ Standardreihe. ....	40
Tabelle 8: Sonstige verwendete Materialien und Geräte .....	42

## Abkürzungen:

AB	<i>Antibody</i>
AIS	<i>Abbreviated Injury Scale</i>
AO	Arbeitsgruppe für Osteosynthesefragen
APR	Akute-Phase-Reaktion
ARDS	Akutes respiratorisches Distresss-Syndrom
ATLS	<i>Advances Trauma Life Support</i>
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveoläre Lavage Flüssigkeit
BSA	<i>Bovine serum albumine</i>
CARS	<i>Compensatory anti-inflammatory response syndrome</i>
CRP	<i>C-reactive protein</i>
CT	Computertomographie
DAMP	<i>Damage-associated molecular pattern</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
GCS	<i>Glasgow-Coma-Scale</i>
h	<i>Hour</i> (Stunde)
HLA	<i>Human-leukocyte antigen</i>
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i> (Meerrettichperoxidase)
ICU	<i>Intensive Care Unit</i>
IL	Interleukin
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$
IMN	Intramedulläre Nagelung
ISS	<i>Injury Severity Score</i>
LTK	Institut für Labortierkunde (Universitätsspital Zürich)
MHCII	MHC-Klasse-II-Komplex
ml	Milliliter
MODS	<i>Multiple Organ Dysfunction Syndrome</i>
MOF	<i>Multiple Organ Failure</i>
MOV	Multiorganversagen
ng	Nanogramm
OD	Organdysfunktion

<i>PBS</i>	<i>Phosphate buffered saline</i>
<i>PEEP</i>	<i>Positive end expiratory pressure</i>
PGE2	Prostaglandin E2
PMN	Polymorphnukleare Neutrophile
PMNL	Polymorphonukleären Leukozyten
PT	Polytrauma
<i>RIA</i>	<i>Reaming-Irrigator-Aspirator</i>
SAA	Serum Amyloid A
SARS	<i>Systemic anti-inflammatory response syndrome</i>
SBP	Systolischer Blutdruck
<i>SIRS</i>	<i>Systemic inflammatory response syndrom</i>
<i>t</i>	<i>Timepoint (Zeitpunkt)</i>
TBI	Traumatische Hirnverletzung
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
vBGA	Venöse Blutgasanalyse
$\mu\text{g}$	Mikrogramm

# 1. Einleitung

## 1.1 Das Polytrauma

Das Trauma ist weltweit eines der häufigsten Ursachen für Mortalität <sup>1</sup>. Nach Probst et al. sind 81% der betroffenen Patienten von Frakturen der Extremitäten, 58% von Thoraxtrauma und 50-65% von traumatischen Hirnverletzungen (TBI) betroffen <sup>2</sup>. El Mestoui et al. beschrieben in einer retrospektiven Studie eine Population von 1073 polytraumatisierten Patienten, deren Mortalitätsrate noch während des Klinikaufenthaltes 19,1 % betrug. Das mittlere Alter der verstorbenen Patienten betrug 58,8 Jahre und 125 von 205 Patienten waren männlich. 92% der Todesfälle entstanden durch das primäre Trauma. Als häufigste Todesursache dabei ist die Auswirkung von schweren Kopfverletzungen (63,4%), gefolgt von schwerem Blutverlust (17,6%) <sup>3</sup>. Als zentraler Mechanismus, welcher posttraumatisch das Outcome nach Trauma verschlechtert, wurde die komplexe/überschießende Immunreaktion beschrieben. Diese wird initial als systemische Immunantwort angestoßen, um den Heilprozess zu unterstützen, kann jedoch den weiteren Verlauf des Patienten bei überschießender Dynamik relevant verschlechtern <sup>4,5</sup>.

Das Polytrauma, auch geläufig unter den Termini „schwerverletzt“ oder „Mehrfaches Trauma“, unterliegt per definitionem dem *Injury Severity Score* (ISS). Abweichend von der Literatur <sup>6</sup> erfüllen Werte von ISS>15 <sup>7</sup>, ISS>16 <sup>8</sup>, ISS>18 <sup>9</sup>, ISS≥18 <sup>10</sup> oder ISS>25 <sup>11</sup> die Vorgaben eines Polytraumas. Traditionell wird die Definition eines Polytraumas bei einem ISS>15 erfüllt <sup>12-14</sup>. Der ISS ist die am meisten verbreitete Bewertungsskala, um traumatische Verletzungen zu quantifizieren <sup>15</sup>. Dieser basiert auf der *Abbreviated Injury Scale* (AIS), welche die Verletzungsschwere von einzelnen Körperregionen beschreibt. Nach Trentz und Tscherne (1978) liegt ein Polytrauma vor, wenn „mehrere gleichzeitig geschehene Verletzungen verschiedener Körperregionen, wobei mindestens eine Verletzung oder die Kombination verschiedener Körperregionen lebensbedrohlich ist“ <sup>16</sup>. Basierend darauf werden die drei höchsten AIS-Werte der verschiedenen Körperregionen quadriert und addiert, die Summe ergibt den ISS. Der Anforderung an ein Polytrauma ist dann erfüllt, wenn dieser Wert eine bestimmte Verletzungsschwere übersteigt <sup>15</sup>. Eine Ausnahme wird gebildet,

wenn in einer einzelnen Körperregion der maximale AIS von 6 erreicht wird. Hierbei wird automatisch der ISS = 75 (Maximalwert der Skala) gewertet, da ein AIS von 6 eine nicht mehr behandelbare und tödliche Verletzungsschwere beschreibt <sup>17</sup>. Unter diesem Gesichtspunkt kann auch ein initiales Monotrauma aufgrund der Schwere des Verletzungsmusters per definitionem ein „Polytrauma“ darstellen <sup>18</sup>.

Die Einteilung in Körperregionen ist wie folgt <sup>19</sup>:

- Verletzungen an Kopf und Nacken (ohne Gesicht und Gesichtsschädel)
- Gesicht und Gesichtsschädel
- Thorax
- Abdomen
- Extremitäten und Becken
- Weichteile.

Das Scoring der einzelnen Verletzungen unterliegt dem folgenden Schema des AIS <sup>19</sup>:

- 0 = es liegt keine Verletzung vor
- 1 = geringe Verletzungsschwere
- 2 = ernsthafte Verletzungsschwere
- 3 = schwere Verletzungsschwere
- 4 = sehr schwere Verletzungsschwere
- 5 = kritische Verletzungsschwere
- 6 = maximale (nicht behandelbare) Verletzungsschwere.

In verschiedenen Ansätzen wurden auch weitere Definitionen formuliert, welche neben der reinen Verletzungsschwere auch klinische Parameter einbeziehen, um den Zustand des Patienten nach Trauma mehr zu berücksichtigen. Eine davon ist die „Neue Berlin Definition“, wobei zur Erfüllung der Kriterien eines Polytraumas zwei Verletzungen mit einem AIS  $\geq 3$  sowie ein weiteres Kriterium wie Hypotension, Bewusstlosigkeit, Koagulopathie oder hohes Alter vorliegen müssen. Zudem werden Kriterien wie Laparotomie, schwere

Schocksymptomatik, Aufnahme auf die Intensivstation oder die Kombination von verschiedenen Verletzungsmustern mit Summierung der physiologischen Reaktion angeführt <sup>20</sup>.

Das Vorliegen eines Polytraumas resultiert in einer höheren Mortalität, als die Summe der individuellen Verletzungen <sup>21</sup> und ist mit höheren therapeutischen Anforderungen assoziiert <sup>22</sup>. Zusätzlich dazu haben diverse Parameter wie Alter, Systolischer Blutdruck (SBP) und die *Glasgow Coma Scale* (GCS) eine prädikative Vorhersagekraft in Bezug auf die Mortalität <sup>6</sup>. Zudem werden für die Reanimation und Versorgung eines Polytraumas mehr Ressourcen benötigt und sind auch mit einem längeren Aufenthalt in der Intensivstation (ICU) vergesellschaftet <sup>21</sup>. Nach Rau et al. haben polytraumatisierte Patienten eine 1,9-fach erhöhte Mortalität, einen von 16,8 Tage auf 20 Tage erhöhten Krankenhausaufenthalt und von durchschnittlichen 8,3 auf 10,1 Tage erhöhte Liegedauer auf der Intensivstation, worauf die Aufnahmequote von 75,5% auf 80,8% anstieg. Die medizinischen Kosten steigen im Vergleich zu Patienten, bei welchen kein Polytrauma vorlag um 41,8%, die Untersuchungskosten um 43,8%, Operationskosten um 35,3% und die Medikamentenkosten um 58,2% an <sup>6</sup>.

## **1.2 Klinische Versorgung des Polytraumas mit Hilfe des RIA**

Elsoe et al. haben im Rahmen einer retrospektiven Studie zwischen 2005 und 2010 die Inzidenz von distalen Femurfrakturen in einer Population mit einem mittlerem Alter von 62,2 Jahren untersucht. Zudem wurde eine Subgruppenanalyse nach Geschlecht durchgeführt, wobei sich Unterschiede in den diesbezüglichen Altersgruppen darstellten. Die männlichen Patienten zogen sich die Frakturen meist in einem jüngeren Alter (44,0 Jahre) und die weiblichen Patientinnen erst im höheren Alter (71,6 Jahre) zu. Die Inzidenz wurde mit 8,7/100.000 pro Jahr gemessen, wobei besonders nach Erreichen des 60. Lebensjahres ein rascher Anstieg des Auftretens zu verzeichnen ist. Als dominierender Traumamechanismus insgesamt konnte in beiden Geschlechtergruppen Niedrigrasanztrauma (97%), beispielsweise durch Sturz aus Standhöhe, verzeichnet werden (61 %) <sup>23</sup>.

Bei polytraumatisierten Patienten mit Fraktur langer Röhrenknochen ist die Versorgung besonders in Hinsicht auf ein zwei- oder mehrzeitiges operatives Geschehen zu bewerten, um das *Outcome* des Patienten zu verbessern<sup>24,25</sup>. Eine große Rolle dabei spielt die inflammatorische Reaktion des Körpers, welche initial durch das Trauma getriggert und im Verlauf durch operative Eingriffe weiter stimuliert wird. Daraus resultierende Ereignisse können bei überschießender Immunreaktion Komplikationen wie Sepsis, Multiorganversagen (MOV) und der Tod sein. Deshalb ist besonders bei der Versorgung initial nicht tödlicher Einzelverletzungen wie die Fraktur eines langen Röhrenknochens, die durch operative Versorgung erzeugte inflammatorische Reaktion des Körpers möglichst gering zu halten, um das *Outcome* des Patienten zu verbessern<sup>26-28</sup>. Ein möglicher Ansatz dabei stellt die Versorgung mithilfe des *Reaming-Irrigator-Aspirator* (RIA) dar, welche im Vergleich zu dem bisherig eingesetztem konventionellen *Reaming* mit intramedullärer Nagelung Hinweise darauf liefert, dieser in Bezug auf die erzeugte inflammatorische Reaktion überlegen zu sein und möglicherweise das *Outcome* des polytraumatisierten Patienten zu verbessern<sup>29-32</sup>. Zudem wurde in einer Kadaverstudie am Femur ein erniedrigter intramedullärer Druck nachgewiesen, was in einem erniedrigten Risiko zum Auftreten einer Fettembolie resultieren kann<sup>33</sup>.

### **1.3. Die Pathophysiologie des Polytraumas**

Das Trauma ist nach Zählung der *World Health Organisation* (WHO) unter den führenden Hauptursachen (9%) für Todesfälle weltweit anzusiedeln<sup>34</sup>. Es repräsentiert einen der größten Stressoren für den Organismus. Die Pathophysiologie des Polytraumas unterliegt primär der *two hit theory*, nach welcher der Polytraumapatient mehrfach schweren Einflussnahmen auf den Organismus unterliegt, welche immer weiter die inflammatorische Kaskade verstärken<sup>26</sup>. Der *first hit* ist das (Poly)Trauma selbst, der *second hit* erfolgt beispielsweise dann im Rahmen der Erstversorgung im Schockraum und weiterführend in direkt durchgeführten Notfalloperationen während der so genannten *damage control* – Versorgungsstrategie. Oder aber es handelt sich bei dem *second hit* um endogene (beispielsweise respiratorische Insuffizienz mit Hypoxämie) und/oder exogene (beispielsweise Operationen) Faktoren, die im



späteren post-traumatischen Verlauf auftreten <sup>27</sup>. Während der *damage control* werden nur die akut lebensgefährlichen Verletzungen behandelt und der Vitalzustand des Patienten stabilisiert. Dies ist eine der Versorgungsstrategien, die im Verlauf entwickelt wurden, um die hohe Sterblichkeitsrate der polytraumatisierten Patienten durch adäquates chirurgisches Management zu verbessern. Dazu gehören beispielsweise die Versorgung mittels Thoraxdrainage, Notfallaparotomie, das *Packing* des Beckens oder des Abdomens als auch die Embolisation von Blutgefäßen <sup>35</sup>. Operative Eingriffe der nicht akut lebensgefährlichen Verletzungen werden auf einen späteren Zeitpunkt verschoben; zum einen damit der *second hit* so minimal wie möglich das Immunsystem des Patienten stimuliert, aber auch weil die operative Versorgung selbst einen potenziellen *third hit* darstellt, welcher aufgrund der Summierung der einzelnen Hits zeitlich auseinanderliegen sollte. Darunter fallen entsprechend beispielsweise die Stabilisierung der langen Röhrenknochen, Dekompression und Debridement. Im Rahmen des *damage control concepts* stehen die Normalisierung von Azidose, Koagulopathie und Hypothermie im Mittelpunkt <sup>36</sup>. Diese Parameter bilden die so genannte *lethal triad*, welche teils auch weitestgehend als "(bloody) vicious cycle" bezeichnet wird, da die verschiedenen Kaskaden sich gegenseitig beeinflussen. Das Auftreten besagter Kaskade im traumatisierten Patienten wird mit einer erhöhten Mortalität assoziiert <sup>37,38</sup>.

Der traumainduzierte Gewebeschaden führt, abhängig von den Eigenschaften des verletzten Individuums (allgemeiner Zustand vor dem Unfall, Genetik u.a.) und der Verletzungsschwere, der sogenannten *trauma load*, zu einer Aktivierung der Entzündungskaskade beziehungsweise der Akuten-Phase-Reaktion (APR) und nachfolgenden Immunprozessen <sup>39</sup>. Die systemische Inflammation wird durch die lokale Inflammation bei Gewebeschädigung auf zellulärer Ebene angestoßen. In einem unkomplizierten Trauma gibt es eine Balance zwischen proinflammatorischen und antiinflammatorischen Mediatoren, was für die Regeneration des verletzten Gewebes unablässig ist. Bei schweren (Poly)Traumata kann diese Homöostase nicht immer aufrechterhalten werden, sodass das Risiko einer überschießenden Immunreaktion erhöht ist, was im Verlauf zu Komplikationen wie SIRS, Sepsis, MOV und dem Tod führen kann <sup>40</sup>. Die lokale Inflammation korreliert direkt mit dem Ausmaß des Gewebeschadens,

wobei lokale Mediatoren diese weiter anstoßen und sich im Verlauf durch die Entzündungskaskade eine systemische Inflammation entwickelt. Monozyten und das Endothel in dem geschädigten Bereich setzen proinflammatorische Zytokine frei; wobei IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  initial sekretiert werden. Im weiteren Verlauf induzieren IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  die Freisetzung der proinflammatorischen IL-6 und IL-8 sowie des antiinflammatorischen IL-10. Dieses ist besonders wichtig, um keine überschießende Immunreaktion zu erzeugen<sup>41,42</sup>. Bei einer massiven Verletzungsschwere kommt es zu systemischen inflammatorischen Reaktionen bis hin zum sogenannten *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS). Die SIRS gilt als die zentrale physiologische Antwort auf die Traumabelastung. Insbesondere bei langanhaltender systemischer Inflammation und weiteren *second hits* resultiert die SIRS häufig in reversiblen Organdysfunktionen (OD), auch *Multiple Organ Dysfunction Syndrome* (MODS) genannt, beziehungsweise auch in einem irreversiblen Multiorganversagen (MOV) oder einer Sepsis<sup>28,43</sup>. Die körpereigene Abwehr setzt jedoch zum SIRS gegenregulatorische antiinflammatorische Mediatoren frei, die das sogenannte *Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome* (CARS) darstellen, welches in einer relativen Immunsuppression resultiert<sup>26</sup>. Dies geschieht über komplexe immunmodulatorische Wege, indem durch die Reduktion von Lymphozyten mittels Apoptose, eine Abnahme der Zytokinantwort auf Monozytenstimulation, eine Abnahme der *human-leukocyte antigen* (HLA)-präsentierenden Rezeptoren auf Monozyten oder die Sekretion von Zytokinen, wie IL-10 induziert wird. Diese inhibieren wiederum die Sezernierung von pro-inflammatorischen Faktoren wie Tumornekrosefaktoren<sup>26,44-46</sup>. Diese komplexe post-traumatische inflammatorische Antwort hemmt einerseits Entzündungsreaktionen, um den endogen-induzierten Organschaden zu minimieren, als auch die Wundheilung zu fördern. Gleichzeitig kommt es jedoch zu einer CARS-bedingten Immunsuppression, die endogenen und exogenen Pathogenen den Weg ebnet<sup>36,47,48</sup>.

## 1.4. Akute-Phase-Proteine und Entzündungsmarker

### 1.4.1. Interleukin-6

Das Interleukin-6 (IL-6) ist ein proinflammatorischer Mediator, welcher initial auf lokaler Ebene als Warnsignal freigesetzt wird und die Bildung sowie Freisetzung von Faktoren der akuten Phase, wie C-reaktivem Protein (CRP), Procalcitonin, IL1R-Antagonisten und Prostaglandin E2 (PGE2), induziert<sup>42,49-51</sup>. Die Sekretion von IL-6 wird durch IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  aus den Monozyten und dem Endothel getriggert<sup>42,51</sup>. Das IL-6 steigt nach entzündlichen Prozessen innerhalb von 1-2 Stunden (h) unspezifisch an und auch dessen Abfall kann rasch erfolgen<sup>52</sup>. In der Literatur ist hierbei eine Halbwertszeit von ungefähr einer Stunde beschrieben<sup>53</sup>. Zudem hat es einen nennenswerten Effekt auf die Immunantwort, wobei die Hämatopoese und die Leber eine wesentliche Rolle bei der Chronifizierung von akuten Entzündungen einnehmen.. Es induziert in der Leber die Ausbildung von CRP, Fibrinogen,  $\alpha$ 1-antichymotrypsin, Haptoglobin und Serum Amyloid A (SAA) und verringert die Produktion von Albumin, Fibronectin und Transferrin. Im Knochenmark bewirkt das IL-6 das Heranreifen von Megakaryozyten und eine Erhöhung in der Plättchenzahl bis hin zur Thrombozytose<sup>54</sup>. Auch bei Schädigung des Gewebes im Rahmen eines Traumas kommt es wie zuvor beschrieben über die Schädigung oder Zerstörung von Zellen über *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) zu einer nichtinfektiösen Entzündungsreaktion<sup>55</sup>. Als entzündlicher Mediator korreliert IL-6 mit der Verletzungsschwere, Länge der Operation, dem Risiko von postoperativen Komplikationen sowie dem *Outcome* nach Trauma<sup>40,56</sup> und kann innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma zudem nützlich sein für die Vorhersage hinsichtlich des posttraumatischen MOV und MODS<sup>57</sup>. Als maximale Schwelle für die IL-6 Konzentration in Bezug auf die Kompensation nach einem Polytrauma mit ISS>30 wird 50 pg/mL aufgeführt<sup>58,59</sup>, wobei eine höhere Konzentration zu einem Abfall der IL-6/IL-10 *Ratio* führt, was mit einem schlechten *Outcome* assoziiert ist<sup>59</sup>. Auch wenn eine erhöhte IL-6 Ausscheidung mit einer erhöhten Krankheitsaktivität sowie Schädigung auf pathohistologischer Ebene korreliert, ist sie nicht bindend an einen exzessiven Überschuss von Mesangialzellen, wie beispielsweise im Rahmen einer membranösen Glomerulonephritis<sup>60-63</sup>.

In Bezug auf den Einfluss von Operationen auf den Anstieg von inflammatorischen Parametern beschreiben Easton et al. in einem systematischen Review, dass die aktuelle Datenlage für einen relevanten Einfluss von operativer Versorgung auf die Inflammation spricht, dies aber noch in grösseren klinischen Studien mit einheitlichen Messwerten und Zeitpunkten verifiziert werden müsse <sup>64</sup>.

### **1.4.2. Interleukin-8**

Die Freisetzung von pro-inflammatorischen IL-8 aus Monozyten und dem Endothel wird durch IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  stimuliert, welches anschließend die Einwanderung sowie die Aktivierung von Leukozyten, Monozyten und Fibroblasten im Gewebe induziert <sup>65-68</sup>. Es ist beschrieben, dass sich die Sekretion von IL-8 eine Stunde nach Trauma erhöht und fünf Stunden nach Trauma sein Maximum erreicht <sup>69</sup>. Pulmonal hat IL-8 einen Einfluss auf die Aktivierung von polymorphonukleären Leukozyten (PMNL), welche proteolytische Enzyme sezernieren können und durch einen Umbau von Lungengewebe mit einem schlechten *Outcome* assoziiert sind <sup>68,70-72</sup>. IL-8 aktiviert die PMNL und induziert die Immigration von Neutrophilen an den Produktionsort, was beispielsweise bei dem Krankheitsbild des ARDS eine wichtige Rolle spielt, welches primär durch Neutrophile induziert wird <sup>73-79</sup>. Durch die Ansammlung von Neutrophilen im Lungengewebe werden weitere entzündliche Prozesse angestoßen, die den Oxygenierungsprozess pathologisch beeinflussen und den interstitiellen Raum vergrößern können, wodurch das *Outcome* verschlechtert wird <sup>68,70-72</sup>. Wie bereits von Störmann et al. <sup>80</sup> beschrieben, verursacht ein pulmonales Trauma auch im porcinen Tiermodell eine Erhöhung der IL-8 Konzentration sowie eine Akkumulierung von Neutrophilen und Infiltration von PMN im Lungengewebe. Somit wird angenommen, dass IL-8 direkt an posttraumatischen inflammatorischen Prozessen der Lunge beteiligt ist <sup>76,81</sup>. Daher stellt sich eine Analyse von IL-8 in Bezug auf das frühzeitige Erkennen von ARDS als ein guter prognostischer Marker dar <sup>82,83</sup>.

### 1.4.3. Interleukin-10

Das Interleukin-10 ist ein antiinflammatorisches Zytokin, welches neben dem IL-6 eines der wichtigsten Zytokine im post-traumatischen Verlauf nach Trauma darstellt<sup>56</sup>. Seine Freisetzung aus den Monozyten und dem Endothel wird durch PGE2 induziert<sup>84</sup>. IL-10 wird von allen Immunzellen inklusive T- und B-Zellen sowie Makrophagen und dendritischen Zellen produziert und hält im Zusammenspiel mit den pro-inflammatorischen Zellen die Balance zwischen einer überschießenden Immunantwort und Gewebeschäden. Im Falle einer fehlenden Produktion von IL-10 kommt es zu entzündlichen Darmerkrankungen aufgrund einer überschießenden Reaktion auf die Mikrobakterien<sup>44</sup>. IL-10 hindert durch Inhibieren des MHC-Klasse-II-Komplexes (MHCII), die Monozyten und Makrophagen, Antigene an T-Zellen zu präsentieren und reguliert auf diese Weise die Expression von IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 und TNF- $\alpha$ <sup>44,45</sup>. Das Interleukin-10 ist abhängig von Faktoren wie der Temperatur und dem PH-Wert, welche im Rahmen eines Polytraumas häufig beeinflusst werden<sup>85</sup>.

In der von Sapan et al. durchgeführten multizentrischen Studie über den Verlauf von IL-10 bei Polytrauma mit einer Studienpopulation von 54 Patienten konnten dahingehend weiterführende Erkenntnisse gesammelt werden. Die behandelten Patienten waren durchschnittlichen 35,9 Jahre alt, männlich und erlitten einen Verkehrsunfall. Das IL-10 wurde an Tag 2, 3 und 5 nach Trauma gemessen. Der Anstieg des IL-10 war direkt proportional zu dem Auftreten von Multiorganversagen (MOV) und Mortalität. Ab einem IL-6 Level von 50 pg/ml und einem ISS>30 versagt die Reaktion des Immunsystems und resultiert in einem Absinken inflammatorischer Zytokine, inklusive IL-10.<sup>59</sup> Zudem besteht Evidenz auf Basis einer von Sherry et al. retrospektiv durchgeführten Studie, dass erhöhtes IL-10 in polytraumatisierten Patienten mit dem Auftreten von Sepsis<sup>86</sup> assoziiert ist.

#### **1.4.4. Interleukin-6/Interleukin-10 Ratio**

Die IL-6 Konzentration steigt nach Schädigung von Gewebe und inflammatorischen Prozessen an und agiert sowohl lokal und systemisch wie auch das IL-10, welches als antiinflammatorischer Mediator ansteigt <sup>87</sup>. Eine erhöhte IL-6/IL-10 Ratio ist zudem ein Indikator für eine hohe systemische Entzündungsreaktion, welche eine höhere Wahrscheinlichkeit in Bezug auf die Ausprägung eines MODS/MOV und Mortalität bei polytraumatisierten Patienten birgt <sup>58</sup>. Bei Abfall der IL-6/IL-10 Ratio bei hoher Traumabelastung (ISS > 30) zeigt sich, dass die CARS dominanter wird als die SIRS und möglicherweise auf die Fehlfunktion des Immunsystems zurückzuführen ist <sup>58</sup>. Patienten hingegen, die bei einem ISS>30 überleben, weisen eine höhere IL-6/IL-10 Ratio auf als jene, die bei einem ISS>30 nicht überleben <sup>59</sup>. Die IL-6/IL-10 Ratio ist demzufolge mitverantwortlich für das Gleichgewicht von pro- und anti-inflammatorischen Prozessen nach Trauma <sup>59</sup>. Die durch IL-6 und IL-10 gebildete Immunantwort bildet das Bestreben des Körpers, wieder in Homöostase zu gelangen <sup>59</sup>. Stensballe et al. beschreiben anhand einer aus 265 aufeinander folgenden Studienkohorte aus traumatisierten, erwachsenen Patienten die frühe inflammatorische Immunantwort, wobei das im Serum gemessene IL-6 und IL-10 mit der Schwere der Verletzung sowie der Mortalität 30 Tage posttraumatisch korreliert <sup>88</sup>.

#### **1.4.5. Tumornekrosefaktor alpha (TNF- $\alpha$ )**

Der TNF- $\alpha$  spielt sowohl eine Rolle in der physiologischen als auch pathologischen Immunreaktion und ist noch vor IL-1 $\beta$  zu Beginn der systemischen pro-inflammatorischen Kaskade beteiligt. In einer prospektiven Studie von erwachsenen Traumapatienten konnten Ferguson et al. nachweisen, dass TNF- $\alpha$  Level für vier Stunden nach Trauma erhöht sind <sup>42</sup>. Dies ist mit auf die kurze Halbwertszeit von 14-18 Minuten zurückzuführen <sup>89</sup>. Wie auch das IL-1 $\beta$  wird seine Sekretion durch die Aktivierung von Makrophagen aus den Monozyten und dem Endothel getriggert <sup>42</sup>. Durch antiinflammatorische Interleukine wie bspw. IL-10 und TNF-beta wird es inhibiert <sup>89</sup>. In Tierversuchen an Mäusen mit fehlendem TNF- $\alpha$  war deren Fähigkeit, Infektionen physiologisch abzuwehren, aufgehoben; die Gabe von TNF- $\alpha$  senkte in einem weiteren

Tierversuch die Mortalität bei der Induktion von Sepsis <sup>90,91</sup>. Bei Schockraumpatienten konnte eine Korrelation zwischen der Konzentration von lokal ausgeschüttetem TNF- $\alpha$  und dem Auftreten eines septischen Schocks festgestellt werden <sup>92</sup>. Bei Schädigung der glomerulären Zellen in der Niere kommt es über sekundäre Mediatoren und endokrinen Feedback zu einem Anstieg von TNF- $\alpha$ , welches direkt schädigend auf die glomerulären Zellen wirkt <sup>93-95</sup>. Eine hohe Exkretionsrate ist vergesellschaftet mit einem instabilen klinischen Verlauf <sup>67,96</sup>.

## 1.5 Inflammatorische Reaktion bei RIA

Bisher durchgeführte klinische Studien deuten darauf hin, dass die Versorgung sowohl von Patienten mit einem ISS < 16 sowie einem ISS > 16 protektive Wirkung auf die Immunreaktion besitzt. Dies basiert auf der Erkenntnis, dass im Vergleich zum konventionellen *Reaming*, die mit dem *Reamer-Irrigator-Aspirator* (RIA) versorgte Gruppe ein geringeres Level von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage (BAL) sowie ein höheres Level von IL-10 im Serum aufweist. Ein Anstieg des IL-6 scheint laut Hartsock et al. unabhängig von der gewählten Art des *Reamings* zu sein <sup>31</sup>. Bei einer Versorgung mittels RIA im Vergleich zum konventionellen *Reaming* ist eine mäßige Reduktion von Embolien – ermittelt durch mäßige Erniedrigung des Embolie Scores - zu ermitteln gewesen <sup>97</sup>.

Giannoudis et al. verglichen in einer klinischen Studie die durch RIA erzeugte inflammatorische Reaktion mit der eines konventionellen *Reamers*. Die Studienpopulation bestand aus einer erwachsenen Patientengruppe, die zwischen September 2009 und März 2010 mit einer Femurschaftfraktur eingeliefert wurden. Sie beschrieben einen erhöhten IL-6 Wert nach Trauma und einen messbaren *second hit*. Der ISS der mit RIA versorgten Studiengruppe war höher als in der Studiengruppe, die mit konventionellem *Reamer* behandelt wurde, die IL-6 Werte waren vergleichbar. Während Durchführung der Studie starb auf Seiten der Gruppe, die durch konventionelles *Reaming* versorgt wurde, ein Studienteilnehmer aufgrund einer Fettembolie <sup>98</sup>. Husebye et al. untersuchten anhand eines Tiermodells am Schwein die unterschiedlichen Auswirkungen des RIA und dem konventionellen *Reaming* bezüglich des Auftretens von

Lungenembolien. Die hämodynamischen und pulmonalen Auswirkungen unterschieden sich dabei nicht signifikant zwischen den beiden angewandten Techniken. Die Versuchsgruppe, die mit dem RIA behandelt wurde, wies allerdings eine geringere Anzahl von Embolien pro Quadratcentimeter Lunge auf. Zwei der Tiere, welche mit konventionellem *Reaming* behandelt wurden, starben an einer Lungenembolie am ersten postoperativen Tag. Somit blieb das Fazit zurück, dass die Benutzung des RIA insbesondere in Hinblick auf das Auftreten von Lungenembolien eine überlegenere operative Alternative zu dem konventionellen *Reaming* darstellen kann <sup>99</sup>. Nach Halvachizadeh et al. ist der Einsatz von beiden RIA Modellen (Generation 1 und 2) dem konventionellen *Reaming* bezüglich lungenprotektiver Versorgung sowie inflammatorischer Reaktion im Tierversuch überlegen <sup>29</sup>. In Bezug auf eine kardioprotektive Rolle konnte bei parallel durchgeführten Analysen kein Unterschied zwischen dem Einsatz von RIA und *Reaming* nachgewiesen werden <sup>30</sup>. Hartsock et al. evaluierten in einer randomisiert prospektiven Studie die inflammatorische Reaktion bei Versorgung am Menschen, wobei sich bei der Versorgung mittels RIA verglichen zum konventionellen *Reaming* eine verminderte IL-8 Konzentration in der BAL und erhöhte IL-10 Konzentration im Serum bei gleichbleibenden IL-6 Konzentrationen darstellte, was eine verminderte inflammatorische Reaktion nahelegt <sup>31</sup>. In dem Erfahrungsbericht eines klinischen 18-monatigem Einsatzes bei multiplen Indikationen inklusive der Versorgung von sieben schwer polytraumatisierten Patienten ist es bei Einsatz des RIA zu keinem *second hit* oder pulmonalen Komplikation gekommen <sup>32</sup>. Zusammenfassend sind hierzu aber noch keine Daten in einem großen Patientenkollektiv mit verlässlicher Evidenz verfügbar.

## **1.6. Ziel der Arbeit**

Die post-traumatische Immunantwort ist einer der Hauptfaktoren in Bezug auf das *Outcome* des Polytraumapatienten. Nicht nur durch das initiale Trauma, sondern auch durch die primäre Versorgung im Rahmen der *damage control surgery* und der anschließenden operativen Versorgung werden inflammatorische Reaktionen induziert, welche im Rahmen der *second hit*-



Reaktion die Gefahr einer SIRS, Sepsis, MODS und MOV erhöhen und das *Outcome* des Patienten maßgeblich beeinflussen können <sup>100</sup>.

Der *Reaming-Irrigator-Aspirator* ist eine von der Arbeitsgruppe für Osteosynthesefragen (AO) entwickelte, kombinierte Apparatur, welche in lange Röhrenknochen eingeführt wird, um vor der operativen Versorgung mittels intramedullärer Nagelung einen Kanal zu schaffen, wonach die Marknagelung unter prospektive geringerer Komplikationsrate eingeführt werden kann. Aufgrund einer Bohrfunktion kombiniert mit einer Spül- sowie Saugfunktion, können somit die gelösten Elemente aspiriert und die durch das Bohren im Knochen entstehende Hitzeentwicklung reduziert werden. Man verspricht sich dadurch zum einen eine geringere Inzidenz von Embolien durch gelöste Knochen- wie auch Fettelemente als auch ein geringeres Auftreten von Thermalnekrosen innerhalb des Knochens <sup>101</sup>. Das RIA-1 System wurde bereits erfolgreich getestet sowie verglichen mit dem konventionellen *Reaming*-System und zeigte dabei ein verringertes Auftreten von hierbei bekannten Nachteilen/Komplikationen auf <sup>99,102-104</sup>.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die periphere Freisetzung von inflammatorischen Mediatoren nach Polytrauma mit Femurfraktur und anschließender Versorgung mittels intramedullärem *Reaming* untersucht. Dabei wurden die beiden Generationen des *Reamer-Irrigator-Aspirator* Systems analysiert und verglichen sowie mit einem konventionellen *Reaming*-System verglichen.

Folgende Fragen waren dahingehend wegweisend für unsere Untersuchungen:

- Wie unterscheidet sich die inflammatorische Reaktion nach *Reaming* mit intramedullärem Nagel zwischen dem konventionellen *Reaming* und den RIA Systemen?
- Kann durch den Einsatz der RIA Systeme im Rahmen der *damage control surgery* die post-traumatische Inflammationsreaktion abgeschwächt werden, um somit perspektivisch das *Outcome* des Patienten positiv beeinflussen zu können?
- Ist das RIA System eine gute oder bessere Alternative im Vergleich zu dem konventionellen *Reaming* in Bezug auf die Erstversorgung nach Polytrauma mit Femurfraktur?

Die Hypothese lautet, dass das neue RIA System (RIA 2) sowohl dem alten RIA System (RIA 1) als auch dem konventionellen *Reaming* in Bezug auf die inflammatorische Dysbalance nach Frakturversorgung im Schweinemodell überlegen ist.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Ethikvotum**

Die Behausung der Tiere und das Versuchsprotokoll wurde durch die lokale Ethikkommission genehmigt (ZH 138/2017). Die gesamte Versuchsreihe sowie die Betreuung der Tiere wurde unter Berücksichtigung und Erfüllung des Tierschutzgesetzes durchgeführt und fand in Übereinstimmung mit den europäischen Richtlinien (2010/63/EU) des europäischen Parlamentes und des Rates zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere statt. Die Studie erfolgte unter fachgerechter Leitung sowie Ausführung in Form von artgerechtem Umgang sowie kontrolliertem Exitus der Tiere. Die Haltung der Tiere sowie Ausführung der Versuche wurden am Institut für Labortierkunde (LTK) am Universitätsspital Zürich (UZH) durchgeführt. Institutionelle Richtlinien wurden wie in "*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*" (*Eighth Edition The National Academies Press, 2011*) befolgt<sup>105</sup>. Alle Tiere wurden im Einklang mit den "ARRIVE"-Richtlinien behandelt<sup>106</sup>.

### **2.2 Tiere/Versuchskollektiv**

Für die Versuche wurden dreißig männliche Schweine der Schweizer Landrasse aus krankheitsfreier Haltung (*Swiss domestic pigs/Sus scrofa*) mit einem Grundgewicht von 40-60 ± 5kg genutzt. 24 dieser Schweine erhielten ein Polytrauma, wohingegen die anderen sechs Schweine als Kontrolltiere (Sham) fungierten und demzufolge kein Trauma erlitten, aber ansonsten dieselbe Versorgung inklusive Kathetereinlagen erhielten wie die polytraumatisierten Versuchstiere.

Die Tiere wurden mindestens sieben Tage vor Versuchsbeginn in den Räumlichkeiten des LTK in klimatisch akklimatisierenden Verhältnissen gehalten und eingehend von einem Tierarzt untersucht und die Eignung als Versuchstier festgestellt.

## 2.3 Experimentelles Modell

Die vierundzwanzig Versuchstiere (24 männliche Schweine (*Sus scrofa*; Herkunft Schweiz) erhielten standardisiert nach Einleitung der Anästhesie und Beatmung nach 1,5 Stunden (h) ein Polytrauma bestehend aus einer unilateralen Femurfraktur mit einhergehender Schädigung der Weichteile, einem stumpfen Thoraxtrauma sowie mit Leberlazeration und hämorrhagischem Schock (MAP 25 mmHg). Anschließend wurden die Polytraumata nach bestehendem Schockraumprotokoll und in Übereinstimmung mit den bestehenden *Guidelines* der *European Resuscitation Council and Advanced Trauma Life Support (ATLS)* eine Stunde nach Trauma – die *golden hour of shock* simulierend - versorgt<sup>107</sup>. Im Rahmen dieser Versorgung wurden die Leberlazeration durch ein Packing mittels Kompressen behandelt und in vorher definierten Studiengruppen eine Auswahl an operativen Erstversorgungen der Femurfraktur gegenübergestellt. Als zu vergleichende operative Erstversorgungen wurde das konventionelle *Reaming* Schema mit anschließender intramedullärer Nagelung (IMN) (PT *Reaming*) mit dem RIA-I (PT RIA-I) mit IMN und dem RIA-II mit IMN (PT RIA-II) verglichen. An sechs der dreißig Versuchstiere wurde kein Polytrauma induziert und diese dienten somit als Sham/Kontrollgruppe. Ansonsten erhielten diese die identische Versorgung während des Versuchsablaufes wie die polytraumatisierten Tiere.

Die Prämedikation wurde durch eine intramuskuläre Injektion von Ketamin (Ketasol®-100, Dr.E.Graeub AG, Berne, Switzerland) 15 mg/kg, Midazolam (Dormicum®, Roche Pharma (Schweiz) AG, Reinach, Switzerland) 0.5 mg/kg und Atropin (Atropin 1%, Kantonsapotheke Zurich, Switzerland) 0.05 mg/kg durchgeführt. Anschliessend wurde eine Allgemeinnarkose durch eine Mischung von Propofol (Propofol-® Lipuro, B.Braun Medical AG, Sempach, Switzerland; 5–10 mg/kg/h CRI) und Sufentanil forte (Sufenta® Forte, Janssen-Cilag AG, Zug, Switzerland; 0.01 mg/kg/h CRI) erwirkt. Nach erfolgter Intubation (orotracheal tube: Bivona®, ID: 9 mm, OD: 12.4 mm, 37FR, Length: 56 cm, Balloon: 5 cm) wurde eine lungenprotektive Ventilation gestartet. Die Beatmung wurde engmaschig auf Basis der regelmässig entnommenen venösen Blutgasanalysen (vBGA) angepasst. Die Kapnometrie unterlag einem Zielwert von pCO<sub>2</sub> of 35–

45 mmHg. Zudem wurde nach erfolgter Anästhesie ein perkutaner arterieller Zugang in die A. femoralis, ein zweilumiger Femoralkatheter in die V. femoralis (HighFlow Dolphin Catheter, 13F, Baxter International, Deerfield IL, USA) sowie ein suprapubischer Urinkatheter installiert.

Kristalloide (Ringerfudin 2 ml/kg BW/h) wurden konstant verabreicht und die Hämodynamik inklusive Urinproduktion sowie die Metabolite an festgelegten Zeitpunkten kontrolliert. Bei nachweislich stabilen Vitalparametern erfolgte die Frakturapplikation des Femur mittels einer Bolzenschussmaschine (Blitz-Kerner, turbocut JOBB GmbH, Germany) bei Auflage auf einer frei erhältlichen Metallplatte, womit eine standardisierte transversal Mittelschaftfraktur des linken Femur induziert wurde. Die suffizient herbeigeführte Fraktur wurde mittels intraoperativem Durchleuchter (Fluoroskop) bestätigt. Die Leberlazeration wurde nach erfolgter medianer Laparotomie im linken Lappen herbeigeführt durch eine sternenförmige (trianguläre) Inzision mittels standardisiert verwendetem dreispitzigem Skalpell. Der Bauchraum wurde anschliessend verschlossen. Ein moderates stumpfes Thoraxtrauma wurde ebenfalls durch beschriebene Bolzenschussmaschine in Kombination mit Unterlage einer Metallplatte durchgeführt. Der hämorrhagische Schock wurde mittels Exsanguination durch die Femoralkatheter mit einem Zielwert des MAP=25 durchgeführt. Die Körpertemperatur unterlag steter Kontrolle durch ösophageale Temperaturmessung mittels Datascope Passport2 Patient Monitoring System (Pacific Medical, Tracy, USA). Bei Abweichen von Normothermie erfolgte Optimierung durch 1) Adjustierung der Raumtemperatur, 2) Infusion warmer Lösung 3) Anpassung der Wärmedecke (Bair Hugger, 3 M, Saint Paul, Minnesota, USA). Im Fall von relevanter Hyperthermie wurden Kühlpacks genutzt. In Simulation an die präklinische Phase wurde für 60 Minuten keine Veränderungen an der Ventilation und Körpertemperatur vorgenommen sowie die Infusion auf 10 ml/h und das FiO<sub>2</sub> auf normale Sauerstoffsättigung (0.21) angepasst. Anschliessend erfolgte die Versorgung nach Advanced Trauma Life Support (ATLS) und entsprechend den S3-Leitlinien durchgeführt<sup>107,108</sup>. Als Nagelsystem wurde ein kurzer distaler Femurnagel für humane Versorgung benutzt (kannülierter DFN Ø 8.0 mm, DePuySynthes, Raynham, Massachusetts,

United States). Die Versorgung der Leberlazeration mittels "Packing" fand nach ATLS-Richtlinien statt.

Die Versorgung der Femurfraktur erfolgte mittels intramedullärer Nagelung in randomisiert verteilten Studiengruppen: 1) *Reaming* mittels RIA1 DePuy Synthes, Switzerland 2006 2) *Reaming* mittels RIA 2, DePuy Synthes, Switzerland, 2019 3) *Reaming* mittels konventionellem *Reamer* (SynReam, DePuy Synthes, Switzerland). Die Kontrollgruppe (sham) erfuhr dieselbe Behandlung mittels Intubation, Sedierung und Katheteranlage, jedoch wurden hier keine Traumata und demzufolge auch keine Frakturversorgungen ausgeübt.

Blut- und Urinentnahmen fanden 1.5h vor erfolgtem Trauma, bei Setzen des Traumas (0h), 1 Stunde nach Trauma (1h), 2 Stunden nach erfolgtem Trauma (2h), 4h nach erfolgtem Trauma und 6 Stunden nach erfolgtem Trauma statt. Nach Ablauf der Zeitpunkte und einer CT-Kontrolle wurde das Tier fachgerecht terminiert und im direkten Anschluss daran die bronchoalveoläre Lavage (BAL) sowie Entnahme von Gewebeproben durchgeführt.

## **2.4. Reamingverfahren**

### **2.4.1. Konventionelles *Reaming***

In der Versorgung von der Femur- und Tibiaschaftfraktur ist das konventionelle, stufenweise Aufbohren, das sogenannte *Reaming*, mittels flexiblem Bohrarm (siehe Abbildung 1) des intramedullären Kanals gängige Praxis<sup>109</sup>. Die Vorteile dieser Technik sind primär in dem verbesserten Heilungsverlauf zu sehen, welcher insbesondere durch den Kontakt mit der Kortikalis des Knochens sowie durch das Induzieren von *local bone graft* zustande kommt<sup>103,110,111</sup>.

Die Nachteile des konventionellen *Reaming*verfahrens sind beispielsweise der Verlust der intramedullären Blutversorgung, Entstehen von Embolien durch Fett und Knochenmark sowie Thermalnekrosen der diaphysären Knochenkortikalis<sup>103,112-116,117-123</sup>. Zudem hat sich gezeigt, dass das *Reaming* des Knochenkanals zu einer messbaren inflammatorischen Reaktion beiträgt, welche im Rahmen des „second hit Phänomens“ zu einer überschießenden proinflammatorischen

Reaktion beitragen kann <sup>124-126</sup>. Damit wird eine inflammatorische Stressreaktion erzeugt, welche im Rahmen des *damage control* Prinzips zu vermeiden versucht wird <sup>127</sup>. Auch durch das Auftreten des *adult respiratory distress syndrome* (ARDS), Multiorgandysfunktion (MODS) sowie von intraoperativen Todesfällen haben verschiedene Autoren bereits die Frage formuliert, ob die positiven oder negativen Aspekte dieser Technik überwiegen <sup>128-130</sup>.



Abbildung 1: Bohrkopf des *Conventional Monoblock Reamer* <sup>131</sup>

#### **2.4.2. Reaming-irrigator-aspirator (RIA) System**

Der *Reaming-irrigator-aspirator* stellt eine mögliche Alternative zu dem konventionellen *Reaming*-Verfahren für die in der Versorgung von frakturierten Röhrenknochen mit intramedullärer Marknagelung bei Schwerstverletzten dar <sup>102</sup>. Dieser wurde eigens entwickelt, um dem Druckanstieg und die damit verbundenen Komplikationen wie die Intravasation der Knochenmarksbestandteile mittels kontinuierlicher Spülung und Absaugung zu verringern <sup>99,102,132</sup>, als auch durch die Kühlung der Kortikalis und des Markraums Thermalnekrosen und generell thermischen Schädigungen vorzubeugen <sup>103</sup>. Zusätzlich wurde ein geringeres Auftreten von Lungenembolien wie auch Gerinnungsstörungen festgestellt <sup>33,104</sup>. Auch in Bezug auf die Operationszeit zeigt das *Reamer-Irrigator-Aspirator* System Einsparungen auf <sup>133</sup> <sup>102,133</sup>. Das RIA-1 System (2005) wurde bereits erfolgreich getestet und verglichen mit dem konventionellen *Reaming*-System (Abbildung 1) und zeigte ein verringertes Auftreten von durch konventionelles *Reaming* hervorgerufenen Nachteilen/Komplikationen <sup>102-104,134</sup>.

Das RIA-2 System (2019) wurde bei diesen Versuchen erstmalig in präklinischen Studien durch Mitglieder der "AO-Arbeitsgruppe RIA-2" angewandt. Das neue System (RIA-2 2019) zeichnet sich verglichen mit dem RIA-1 (2005) durch einen verringerten Durchmesser des *Reamers* (10mm vs. 12mm) sowie einer verbesserten Spülung und verbessertem Design bezüglich des Handlings durch den Operateur aus (Abbildung 2) <sup>30,104</sup>.

Als andere Einsatzbereiche nebst der Versorgung von Schwerstverletzten sind in der Literatur die Behandlung von Osteomyelitis, Pseudarthrosen/Non-Unions, recalzanierende Atrophien und pathologischen und nicht pathologischen Defekten des Femur genannt <sup>32,135</sup>.

In einem systematischen Review von Cox et al. aus dem Jahre 2011 über die aktuelle Kenntnislage bezüglich des *Reaming-Irrigator-Aspirator* wurden 23 Studien zu dem Thema beleuchtet. Hierbei zeigt sich der RIA als eine gute Alternative zu dem bisherigen Standard mit geringem Auftreten von Fettembolie und Thermalnekrosen des Knochens, wie auch als gutes Instrument zum Sammeln von Knochenmaterial <sup>136</sup>.

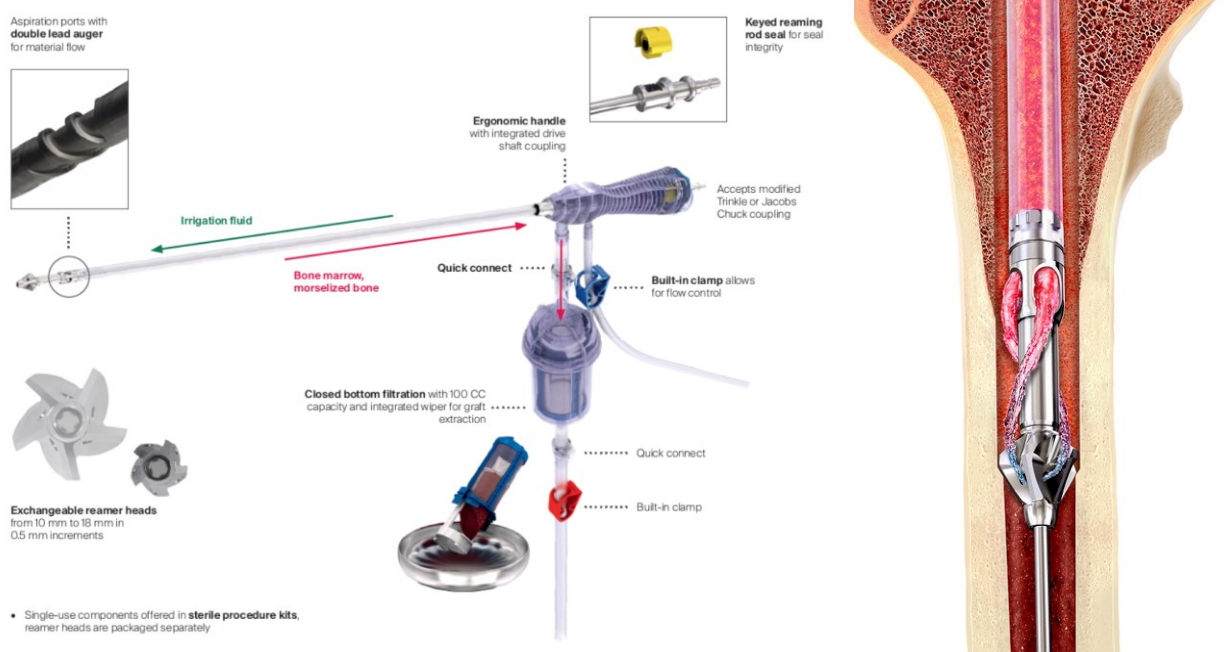


Abbildung 2: RIA2-System 101

## 2.5 Probenentnahme und Aufbewahrung

### 2.5.1. Blutproben

Die Zeitpunkte der Blutentnahme wurden 1,5 Stunden vor Versuchsbeginn, direkt nach Trauma (0h), 1h, 2h, 4h und 6 Stunden später durchgeführt. Alle Blutproben wurden mithilfe vorgekühlter Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)- und Serum-Röhrchen (Sarstedt, Nümbrecht) entnommen. Die Proben wurden umgehend unter Kühlung mit Eis in einer Styroporbox in das Labor transportiert und dort zentrifugiert (2200 rpm, 15 min, 4°C). Der Überstand wurde entnommen und anschließend bei -80°C im Kühlschrank eingefroren. Der Transport für die weiter anstehenden labortechnischen Analysen zur Universitätsklinik Frankfurt erfolgte unter steter Kühlung mittels Trockeneis.

Tabelle 1: Entnahme und Lagerung systemischer Blutproben.

Medium	Menge	Lagerung °C
Plasma	5 x 220 µL	-80°C
Serum	5 x 220 µL	-80°C

### 2.5.2. Bronchoalveoläre Lavage

Die bronchoalveoläre Lavage Flüssigkeit (BALF) wurde unmittelbar nach *Sacrifice* vorgenommen. Durch den noch in die Lunge des Tieres reichenden Intubationsschlauch wurde ein medizinischer Absaugschlauch eingeführt und mittels der Blasenspritze wurden 100 ml NaCl direkt in die Lunge gegeben. Durch mehrfaches Aspirieren wurde eine Verteilung innerhalb der Lungenflügel gewährleistet und anschließend wurden 40 ml BALF über eine Blasenspritze abgenommen. Dies wurde ebenfalls unter durch Eis gewährleisteter Kühlkette in das Labor transportiert und dort in einem 50 ml Falcon Röhrchen zentrifugiert (2200 rpm, 15 min, 4°C). Anschließend erfolgte eine Entnahme des Überstandes sowie eine weitere Verarbeitung des durch die Zentrifugation entstandenen Zellpellets. Dieses wurde durch Vibration innerhalb des Falcon-Röhrchens zerkleinert sowie unter Zugabe und Vermischung mit 250 µL Bambanker-Medium aufgelöst und auch entnommen. Sowohl Überstand wie auch Zellen wurden anschließend bei -80°C eingefroren und equivalent zu den Blutproben mittels Kühlung durch Trockeneis mit kontinuierlicher Kühlkette zu näheren



labortechnischen Untersuchungen zum Universitätsklinikum Frankfurt am Main transportiert.

Tabelle 2: Entnahme und Lagerung der BAL.

Medium	Menge	Lagerung °C
BAL Überstand	3 x 500 µL	-80°C
BAL Zellen (Pellet)	Zellen in 250µL Bambanker Medium	-80°C

### 2.5.3. Urinproben

Die Entnahme des Urins folgte identischem Schema wie auch die Blutentnahmen (-1,5h, 0h, 1h, 2h, 4h, 6h) und erfolgte durch direkte Punktion des zu dem im intrapubischen Urinkatheter ablaufenden Schlauch. Auf Eis wurden diese für die initial weiter anstehenden labordiagnostischen Untersuchungen gekühlt. Die Urinproben wurden in einer Zentrifuge auf 2200 rpm, 15 min und 4°C weiter prozessiert. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und nach Zwischenkühlung bei -80°C gelagert, bzw. auf Trockeneis zu der Universitätsklinik Frankfurt für weitere labortechnische Schritte transportiert.

Tabelle 3: Entnahme und Lagerung der Urinproben.

Medium	Menge	Lagerung °C
Urin	3 x 500 µL	-80°C

## 2.6. ELISA - Analysen

### 2.6.1. IL-6

#### Bestimmung der IL-6 Konzentration

Die Bestimmung der IL-6 Konzentration in Plasma/BAL/Urin erfolgte mit dem Porcine IL-6 DuoSet ELISA der Firma R&D Systems (Abingdon; Catalog No. DY686). Die Handhabung des Testkits erfolgte gemäß den Herstellerangaben.

## Prinzip der Interleukin-6-Messung

Die Konzentration des IL-6 wird mit dem Sandwich-ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) Prinzip gemessen. Dazu wird erst die Platte mit spezifischen IL-6 *Capture* Antikörpern (Fangantikörper) belegt. Nach einer Inkubationszeit über Nacht wird das überschüssige Material mittels Waschvorgang entfernt. Das zu analysierende Plasma wird hinzugegeben und nach einer Inkubationszeit sowie eine Waschung der IL-6 spezifische Antikörper (*Detection Antibody*) hinzugegeben. Der Antikörper bindet an das vorhandene IL-6, welches bereits mit den *Capture Antibody* verbunden ist. Der somit entstehende Komplex wird auch Antikörper-Antigen-Komplex genannt und gibt dem Test seinen Namen. Es folgt eine Inkubationszeit sowie Waschung. Als nächstes wird Streptavidin-konjugierte Meerrettichperoxidase (Streptavidin-HRP) hinzugefügt. Nach einer weiteren abgeschlossenen Inkubationszeit und Waschung wird die Substratlösung der Meerrettichperoxidase hinzugegeben, welches bei der Umsetzung direkt proportional zu der im Plasma befindlichen IL-6 Konzentration eine Blaufärbung annimmt. Nach abgeschlossener Inkubation und Zugabe einer „Stopplösung“ (*Stop Solution*) kann nun bei 450 nm die Blaufärbung gemessen und somit die Konzentration von IL-6 bestimmt werden. Das genauere ELISA Protokoll ist nachfolgend beschrieben.

## Vorbereitung für den Test

- 96-Loch Mikrotiterplatte mit 100 µl Porcine IL-6 Capture Body.
- Waschlösung: Zu 500 ml Phosphate-Buffered Saline (PBS) wird 250 µl Tween20® als Stabilisator hinzugegeben (PBS + 0,05% Tween20®).
- Verdünnungslösung: Zu 500 ml PBS wird zu 1% (5 g) „Bovine Serum Albumine“ (BSA) hinzugefügt.
- Standardlösung: Die Standardlösung wird in einer Verdünnung von 1:43,75 aus der Verdünnungslösung und dem IL-6-Standard vermischt.
  - Schritt A: 22,86 µl Stock + 977,14 µl Verdünnungslösung,
  - Schritt B-G: Verdünnungsreihe 1:2 (Weitergabe pro Reihe: 500 µl).
- Detektionsantikörper: Die Lösung der Detektionskörper wird in einer Konzentration von 1:180 mit der Verdünnungslösung aufgesetzt. Man

erhält aus 10,8 ml Verdünnungslösung und 60 µl Antikörper (AB) die fertige Konzentration.

- Fangantikörper: 10,8 ml PBS werden mit 60 µl Fangantikörper in einer Verdünnung von 1:180 aufgesetzt.
- Farbentwicklungsenzym: 55 µl der Streptavidin HRP werden in einem Verhältnis von 1:200 mit 11 ml Verdünnungslösung gemischt.
- Farbentwicklungslösung: Die Farbentwicklungsreagenz A (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Farbentwicklungsreagenz B (Tetramethylbenzidine) wird in einem 1:1 Verhältnis gemischt.
- Stopplösung: 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Tabelle 4: Interleukin-6 Standardreihe.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine IL-6, Katalog Nummer DY686 (15 Platten))

Schritt	Mischung	Konzentration der Lösung
A	Grundlösung	8000 pg/ml
B	500 µL Lösung A	4000 pg/ml
C	500 µL Lösung B	2000 pg/ml
D	500 µL Lösung C	1000 pg/ml
E	500 µL Lösung D	500 pg/ml
F	500 µL Lösung E	250 pg/ml
G	500 µL Lösung F	125 pg/ml

### Durchführung des Interleukin-6-ELISA

- I. 1. Plattenbelegung: Jede Vertiefung der Platte wird mit 100 µL IL-6 Fangantikörperlösung belegt.
- II. 1. Inkubationsschritt: Die Platte wird bedeckt und über Nacht bei Raumtemperatur ruhen gelassen.
- III. 1. Waschprozedur: Das folgende Prozedere wurde zweimal mit insgesamt drei Waschgängen durchgeführt. Jede Vertiefung der Platte wird mit 400 µL Waschlösung durchgespült und anschließend aspiriert, damit keine Waschlösung zurückbleibt. Danach wird die Platte umgedreht und

achtsam auf trockene Papiertücher geklopft, um die letzten Flüssigkeitsreste sicher zu entfernen.

- IV. 1. Block: 300  $\mu\text{L}$  des *Reagent Buffer Blocks* hinzugeben.
- V. 2. Inkubation: Eine Stunde Inkubation bei Raumtemperatur.
- VI. 2. Waschprozedur: Die Platte wird dreimal gewaschen (Siehe Schritt 3).
- VII. 2. Plattenbelegung: Je 100  $\mu\text{L}$  der Probe aus der Standardreihe auf eine der Vertiefungen geben.
- VIII. 3. Inkubation: 2 Stunden bei Raumtemperatur.
- IX. 3. Waschprozedur: Die Platte wird dreimal gewaschen (Siehe Schritt 3).
- X. 3. Plattenbelegung: Jede Vertiefung der Platte wird mit 100  $\mu\text{L}$  der Detektionsantikörperlösung belegt.
- XI. 4. Inkubation: Zwei Stunden Inkubation bei Raumtemperatur.
- XII. 4. Waschprozedur: Die Platte wird dreimal gewaschen (Siehe Schritt 3).
- XIII. 4. Plattenbelegung: In jede Vertiefung wird 100  $\mu\text{L}$  der Meerrettichperoxidase geben.
- XIV. 5. Inkubation: Die Platte wird 20 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubiert .
- XV. 5. Waschprozedur: Die Platte wird dreimal gewaschen (Siehe Schritt 3)
- XVI. 5. Plattenbelegung: In jede Vertiefung werden 100  $\mu\text{L}$  der Farbentwicklungslösung geben.
- XVII. 6. Inkubation: 20 Minuten Inkubation lichgeschützt bei Raumtemperatur
- XVIII. 6. Plattenbelegung: Zugabe von 50  $\mu\text{L}$  Stop-Lösung.
- XIX. Messung der Farbintensität mittels Durchlichtphotometer bei einer Wellenlänge von 450 nm.

### **Ermittlung der Konzentration**

- In einem zweifachen Ansatz wird die Absorption gemittelt und der Leerwert anschließend abgezogen.
- Die Eichkurve wird anhand der Standardreihe erstellt.
- Anhand den gemessenen Absorptionen sowie der Eichkurve kann die IL-6 Konzentration der gemessenen Proben ermittelt werden.

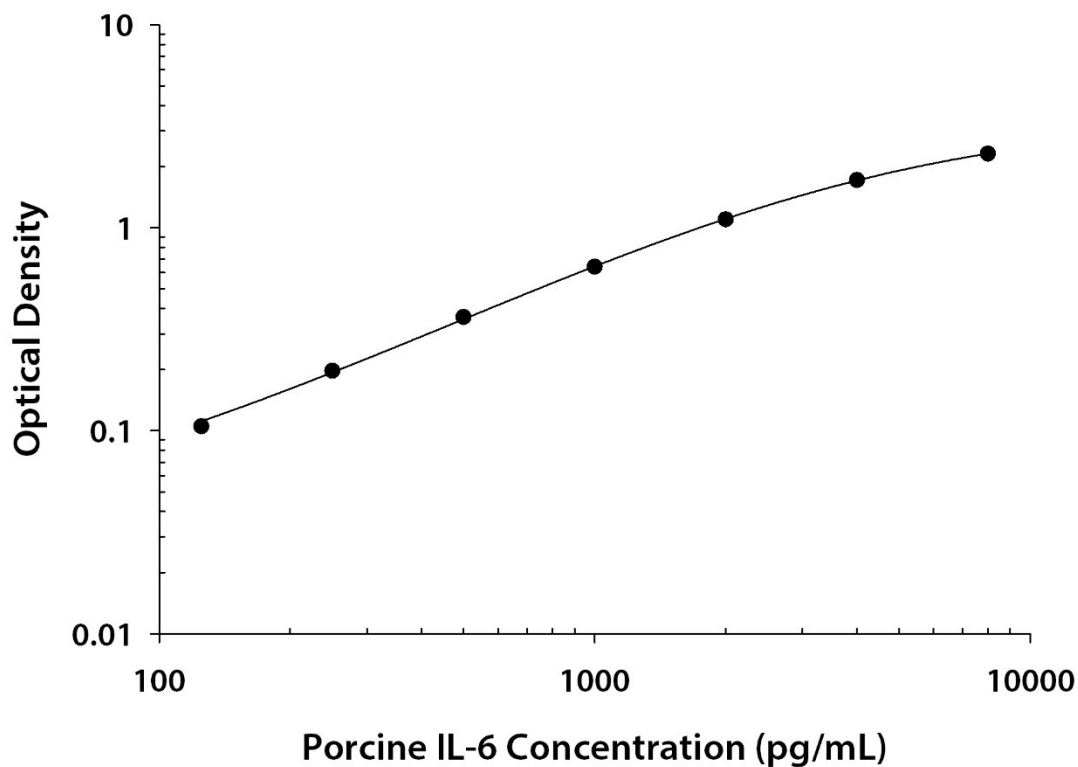


Abbildung 3: Beispiel-Eichkurve Interleukin-6.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine IL-6, Katalog Nummer DY686 (15 Platten))

## 2.6.2. IL-8

### Bestimmung der IL-8 Konzentration

Die Bestimmung der IL-8 Konzentration im Plasma/BAL/Urin erfolgt mit dem Porcine IL-8 DuoSet ELISA der Firma R&D Systems (Abingdon; Catalog No. DY535). Die Handhabung des Testkits erfolgt gemäß den Herstellerangaben.

### Das Prinzip der Interleukin-8-Messung

Die Interleukin-8-Messung wird mittels des ELISA-Sandwich-Prinzips durchgeführt. Das Prinzip gleicht dem unter Punkt 2.6.1. bei IL-6 beschriebenen Prozedere. Im Gegensatz werden hier jedoch IL-8 *Capture* Antikörper (Fangantikörper) eingesetzt.

## Vorbereitung für den Test

- 96-Loch Mikrotiterplatte mit 100µl Porcine IL-8 Capture Body.
- Waschlösung: Zu 500 ml Phosphate-Buffered Saline (PBS) wird 250µl Tween20® als Stabilisator hinzugegeben (PBS + 0,05% Tween20®).
- Verdünnungslösung: Zu 500 ml PBS wird zu 1% (5g) „Bovine Serum Albumine“ (BSA) hinzugefügt.
- Standardlösung: Die Standardlösung wird in einer Verdünnung von 1:16,25 aus der Verdünnungslösung und dem IL-8-Standard vermischt.
  - Schritt A: 61,5µL Stock + 938,5µl Verdünnungslösung,
  - Schritt B-G: Verdünnungsreihe 1:2 (Weitergabe pro Reihe: 500µl).
- Detektionsantikörper: Die Lösung der Detektionskörper wird in einer Konzentration von 1:240 mit der Verdünnungslösung aufgesetzt. Man erhält aus 12 ml Verdünnungslösung und 50µl Antikörper (AB) die fertige Konzentration.
- Fangantikörper: 10,8 ml PBS werden mit 60 µl Fangantikörper in einer Verdünnung von 1:180 aufgesetzt.
- Farbentwicklungsenzym: 55µl der Streptacidin HRP werden in einem Verhältnis von 1:200 mit 11 ml Verdünnungslösung gemischt.
- Farbentwicklungslösung: Die Farbentwicklungsreagenz A (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Farbentwicklungsreagenz B (Tetramethylbenzidine) wird in einem 1:1 Verhältnis gemischt.
- Stopplösung: 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Tabelle 5: Interleukin-8 Standardreihe.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine IL-8/CXCL8, Katalog Nummer DY535 (15 Platten))

Schritt	Mischung	Konzentration der Lösung
A	Grundlösung +	8000pg/ml
B	500µL Lösung A	4000pg/ml
C	500µL Lösung B	2000 pg/ml
D	500µL Lösung C	1000 pg/ml
E	500µL Lösung D	500 pg/ml

F	500µL Lösung E	250 pg/ml
G	500µL Lösung F	125 pg/ml

## Durchführung des Interleukin-8-ELISA

Die Durchführung gleicht dem unter Punkt 2.6.1. bei IL-6 beschriebenen Prozedere. Im Gegensatz werden hier jedoch IL-8 *Capture* Antikörper (Fangantikörper) eingesetzt.

## Ermittlung der Konzentration

- In einem zweifachen Ansatz wird die Absorption gemittelt und der Leerwert anschließend abgezogen
- Die Eichkurve wird anhand der Standardreihe erstellt
- Anhand den gemessenen Absorptionen sowie der Eichkurve kann die IL-8 Konzentration der gemessenen Proben ermittelt werden

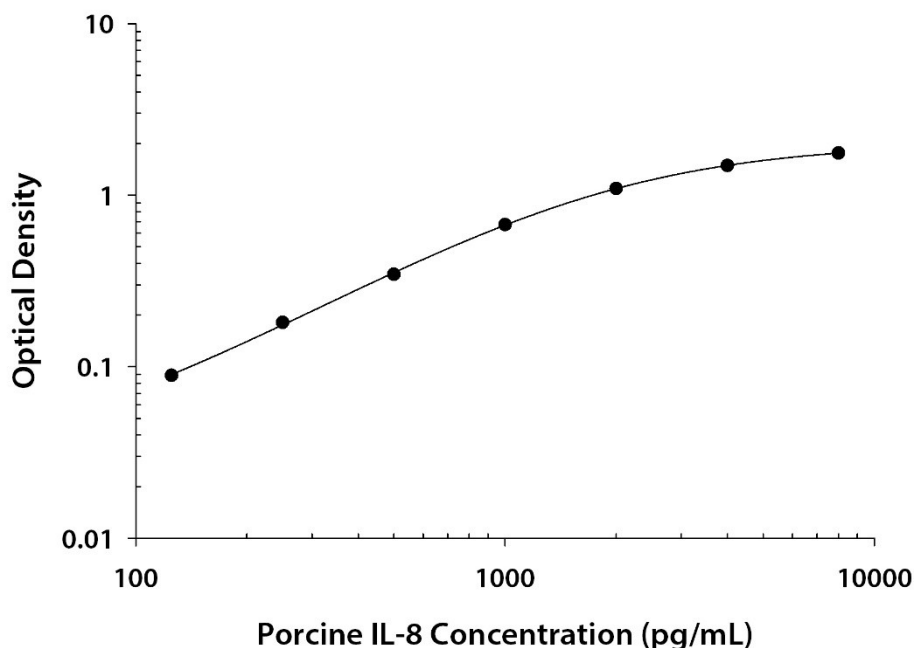


Abbildung 4: Beispiel-Eichkurve Interleukin-8.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine IL-8/CXCL8, Katalog Nummer DY535 (15 Platten))

### **2.6.3. IL-10**

#### **Bestimmung der IL-10 Konzentration**

Die Bestimmung der IL-10 Konzentration im Plasma/BAL/Urin erfolgt mit dem Porcine IL-10 DuoSet ELISA der Firma R&D Systems (Abingdon; Catalog No. DY693B). Die Handhabung des Testkits erfolgt gemäß den Herstellerangaben.

#### **Das Prinzip der Interleukin-10-Messung**

Die Interleukin-10-Messung wird mittels des ELISA-Sandwich-Prinzips durchgeführt. Das Prinzip gleicht dem unter Punkt 2.6.1. bei IL-6 beschriebenen Prozedere. Im Gegensatz werden hier jedoch IL-10 *Capture Antibody* (Fangantikörper) eingesetzt.

#### **Vorbereitung für den Test**

- 96-Loch Mikrotiterplatte mit 100µl Porcine IL-10 Capture Body.
- Waschlösung: Zu 500 ml Phosphat Buffered Saline (PBS) wird 250µl Tween20<sup>®</sup> als Stabilisator hinzugegeben (PBS + 0,05% Tween20<sup>®</sup>).
- Verdünnungslösung: Zu 500 ml PBS wird zu 1% (5g) „Bovine Serum Albumine“ (BSA) hinzugefügt.
- Standardlösung: Die Standardlösung wird in einer Verdünnung von 1:53,3 aus der Verdünnungslösung und dem IL-10-Standard vermischt.
  - Schritt A: 18,75µL Stock + 981,25µl Verdünnungslösung,
  - Schritt B-G: Verdünnungsreihe 1:2 (Weitergabe pro Reihe: 500µl).
- Detektionsantikörper: Die Lösung der Detektionskörper wird in einer Konzentration von 1:7200 mit der Verdünnungslösung aufgesetzt. Man erhält aus 14,4 ml Verdünnungslösung und 2µl Antikörper (AB) die fertige Konzentration.
- Fangantikörper: 10,8 ml PBS werden mit 60 µl Fangantikörper in einer Verdünnung von 1:180 aufgesetzt.
- Farbentwicklungsenzym: 55µl der Streptavidin HRP werden in einem Verhältnis von 1:200 mit 11 ml Verdünnungslösung gemischt.
- Farbentwicklungslösung: Die Farbentwicklungsreagenz A (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Farbentwicklungsreagenz B (Tetramethylbenzidine) wird in einem 1:1 Verhältnis gemischt.



- Stopplösung: 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Tabelle 6: Interleukin-10 Standardreihe.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine IL-10, Katalog Nummer DY693B (15 Platten))

Schritt	Mischung	Konzentration der Lösung
A	Grundlösung	1500 pg/ml
B	500µL Lösung A	750 pg/ml
C	500µL Lösung B	375 pg/ml
D	500µL Lösung C	188 pg/ml
E	500µL Lösung D	593,8 pg/ml
F	500µL Lösung E	46,9 pg/ml
G	500µL Lösung F	23,4 pg/ml

### Durchführung des Interleukin-10-ELISA

Die Durchführung gleicht dem unter Punkt 2.6.1. bei IL-6 beschriebenen Prozedere. Im Gegensatz werden hier jedoch IL-10 *Capture* Antikörper (Fangantikörper) eingesetzt.

### Ermittlung der Konzentration

- In einem zweifachen Ansatz wird die Absorption gemittelt und der Leerwert anschließend abgezogen.
- Die Eichkurve wird anhand der Standardreihe erstellt.
- Anhand den gemessenen Absorptionen sowie der Eichkurve kann die IL-10 Konzentration der gemessenen Proben ermittelt werden.

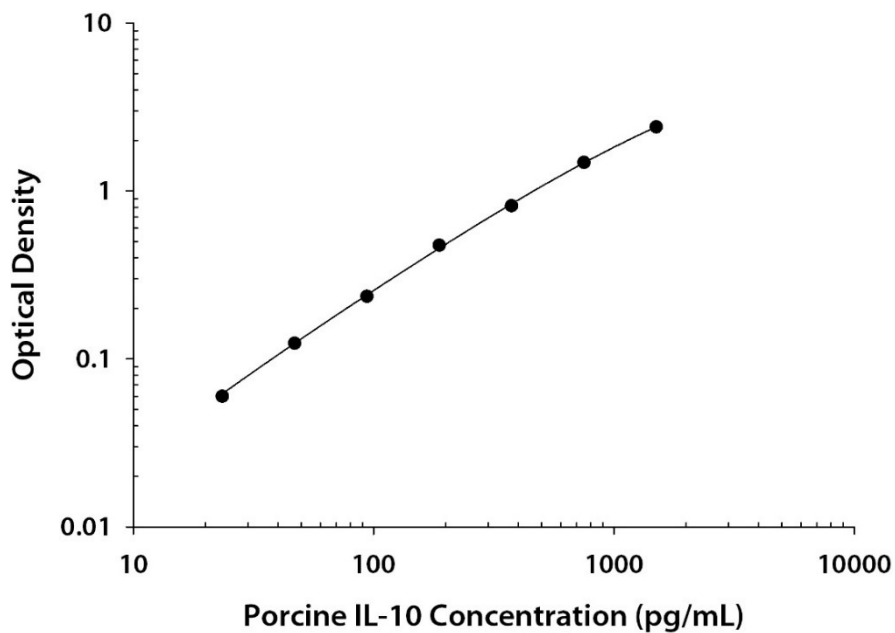


Abbildung 5: Beispiel-Eichkurve Interleukin-10.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine IL-10, Katalog Nummer DY693B (15 Platten))

#### 2.6.4. TNF- $\alpha$

##### Bestimmung der TNF-a-Konzentration

Die Bestimmung der TNF- $\alpha$  Konzentration im Plasma/BAL/Urin erfolgt mit dem Porcine TNF- $\alpha$  DuoSet ELISA der Firma R&D Systems (Abingdon; Catalog No. DY690B). Die Handhabung des Testkits erfolgt gemäß den Herstellerangaben.

##### Das Prinzip der TNF- $\alpha$ Messung

Die TNF-a-Messung wird mittels des ELISA-Sandwich-Prinzips durchgeführt. Das Prinzip gleicht dem unter Punkt 2.6.1. bei IL-6 beschriebenen Prozedere. Im Gegensatz werden hier jedoch TNF- $\alpha$  Capture Antikörper (Fangantikörper) eingesetzt.

##### Vorbereitung für den Test

- 96-Loch Mikrotiterplatte mit 100 $\mu$ l Porcine TNF- $\alpha$  Capture Body.
- Waschlösung: Zu 500 ml Phosphate-Buffered Saline (PBS) wird 250 $\mu$ l Tween20® als Stabilisator hinzugegeben (PBS + 0,05% Tween20®).

- Blockpuffer: Zu 500 ml PBS wird zu 1% (5g) „Bovine Serum Albumine“ (BSA) hinzugefügt.
- Verdünnungslösung: 500µl destilliertes Wasser wird mit 0,1% BSA (0,5µL) und 0,05% Tween20 (0,25µL) sowie 4,383g NaCl und 1,2114g TrizmaBase zu der Verdünnungslösung angerichtet.
- Standardlösung: Die Standardlösung wird in einer Verdünnung von 1:215 aus der Verdünnungslösung und dem TNF-α Standard vermischt.
  - Schritt A: 20µL Stock 4,280ml Verdünnungslösung,
  - Schritt B-G: Verdünnungsreihe 1:2 (Weitergabe pro Reihe: 500µl).
- Detektionsantikörper: Die Lösung der Detektionskörper wird in einer Konzentration von 1:180 mit der Verdünnungslösung aufgesetzt. Man erhält aus 10,8ml Verdünnungslösung und 60µl Antikörper (AB) die fertige Konzentration.
- Fangantikörper: 10,8 ml PBS werden mit 60 µl Fangantikörper in einer Verdünnung von 1:180 aufgesetzt.
- Farbentwicklungsenzym: 55µl der Streptavidin HRP werden in einem Verhältnis von 1:200 mit 11 ml Verdünnungslösung gemischt.
- Farbentwicklungslösung: Die Farbentwicklungsreagenz A (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Farbentwicklungsreagenz B (Tetramethylbenzidine) wird in einem 1:1 Verhältnis gemischt.
- Stopplösung: 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Tabelle 7: TNF-α Standardreihe.

*(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet® ELISA Porcine TNF-α, Katalog Nummer DY690B (15 Platten))*

Schritt	Mischung	Konzentration der Lösung
A	Grundlösung	2000 pg/ml
B	500µL Lösung A	1000 pg/ml
C	500µL Lösung B	500 pg/ml
D	500µL Lösung C	250 pg/ml
E	500µL Lösung D	125 pg/ml
F	500µL Lösung E	62,5 pg/ml

G	500µL Lösung F	31,3 pg/ml
---	----------------	------------

## Durchführung der TNF-alpha-ELISA

Die Durchführung gleicht dem unter Punkt 2.6.1. bei IL-6 beschriebenen Prozedere. Im Gegensatz werden hier jedoch TNF- $\alpha$  *Capture* Antikörper (Fangantikörper) eingesetzt.

## Ermittlung der Konzentration

- In einem zweifachen Ansatz wird die Absorption gemittelt und der Leerwert anschließend abgezogen.
- Die Eichkurve wird anhand der Standardreihe erstellt.
- Anhand den gemessenen Absorptionen sowie der Eichkurve kann die TNF-a- Konzentration der gemessenen Proben ermittelt werden.

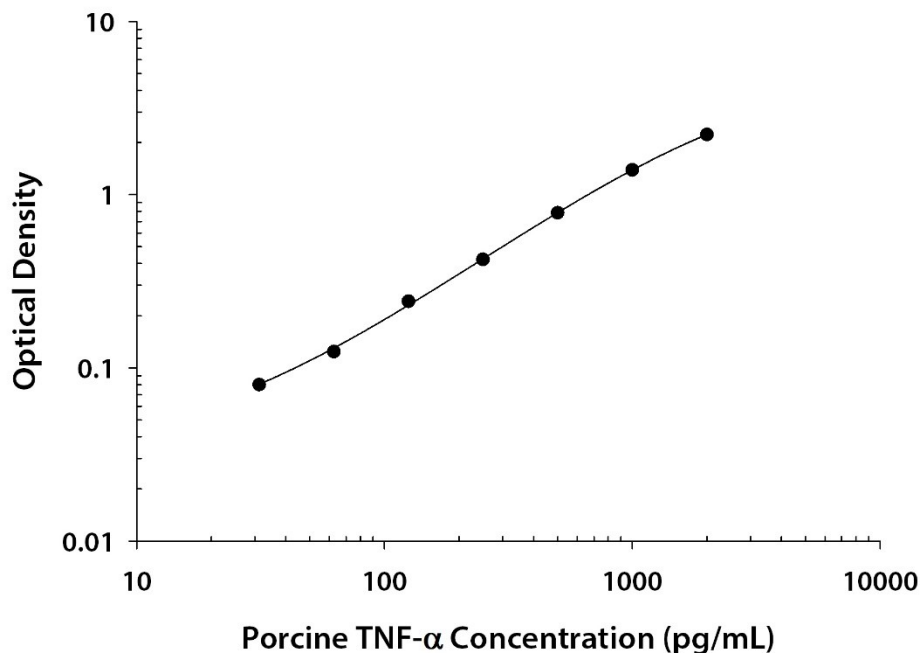


Abbildung 6: Beispiel-Eichkurve TNF-a.

(entnommen aus der Kit-Anleitung des DuoSet<sup>®</sup> ELISA Porcine TNF-a, Katalog Nummer DY690B (15 Platten))

## 2.7 Sonstige verwendete Materialien und Geräte

Tabelle 8: Sonstige verwendete Materialien und Geräte

(alphabetisch geordnet).

Kategorie	Bezeichnung	Firma	Ort	Land
Analysemodule und Testkits	Aqua destilliert	B. Braun AG	Melsungen	Deutschland
	DuoSet® Development System Porcine IL-8	R&DSYSTEMS	Abingdon	United Kingdom
	DuoSet® Development System Porcine IL-10	R&DSYSTEMS	Abingdon	United Kingdom
	DuoSet® ELISA Development System Porcine TNF-a	R&DSYSTEMS	Abingdon	United Kingdom
	DuoSet® ELISA Development System Porcine IL-6	R&DSYSTEMS	Abingdon	United Kingdom
Chemikalien	Einmal- Handschuhe	Paul Hartmann	Heidenheim	Deutschland
	NaCl 0,9%	B. Braun AG	Melsungen	Deutschland
Materialien	Absaugkatheter Typ Standard	B. Braun AG	Melsungen	Deutschland
	Eppendorf Cup	Star Lab	Ahrensburg	Deutschland
	Eppendorfpipette Micro One (100 µg, 200 µg, 1000 µg)	Star Lab	Ahrensburg	Deutschland

	Falcon Röhrchen 20/50 ml	Corning Life Sciences	Corning	United States
	Mikrotiterplatte	Sarstedt	Nümbrecht	Deutschland
	Omnifix® Solo Blasenspritze 100ml	B. Braun AG	Melsungen	Deutschland
	PCR Safe-Lock Tubes	Eppendorf	Hamburg	Deutschland
	Pipettenspitze (100 µg, 200 µg, 1000 µg)	Star Lab	Ahrensburg	Deutschland
	Spritze 10 ml	B. Braun AG	Melsungen	Deutschland
	Tork Papierhandtücher	SCA Hygiene Products	Mannheim	Deutschland
	Vacutainer® Serum Tubes	Becton Dickinson	Heidelberg	Deutschland
	Vacutainer® EDTA Tubes	Becton Dickinson	Heidelberg	Deutschland
	Zentrifuge Megafuge 1.0R Heraeus	Thermo Electron Corporation	Dreieich	Deutschland
Technische Geräte	Wasserbad WTB	Memmert	Schwabach	Deutschland

## 2.8. Statistische Analysen

Zur statistischen Auswertung wurde die Statistiksoftware GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc. San Diego, CA) genutzt. Für die Beurteilung der Teststärke wurde mit einem Alpha von 0,05 gearbeitet und eine Teststärke von 0,8 für zweiseitige Tests definiert. Mittelwert und Standardfehler wurden dabei in Prozent der entsprechenden Population angegeben. Die Normalverteilung wurde mittels D'Agostino-Pearson-Test bestimmt. Es wurden entweder ein Mann-Whitney-*U*-Test oder ein statistischer Paarvergleich im Rahmen eines Friedman-Tests mit anschließendem Dunn-Post-Hoc-Test durchgeführt, um Differenzen zwischen den Gruppen zu vergleichen. Bei einem *p*-Wert von unter 0,05 wurde statistische Signifikanz angegeben.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Outcome der Versuchstiere

Von den vierundzwanzig Versuchstieren sind drei Tiere vor Erreichen des Zeitpunktes t6 (6h) verstorben. Eines davon aus der Gruppe „Polytrauma ohne *Reaming*“, eines aus der Gruppe „Polytrauma mit konventionellem *Reaming*“ und eines aus der Gruppe „Polytrauma mit RIA 2“.

Zudem ist in der Gruppe „Polytrauma ohne *Reaming*“ bei einem Tier nach Zeitpunkt t6 (6h), aber noch vor dem *Sacrifice* ein kardiales Flimmern aufgetreten. Bei einem Tier der Gruppe „Polytrauma mit konventionellem *Reaming*“ entstand eine pulmonale Embolie, welche mechanisch mittels eines Ballonkatheters entfernt wurde. In der Vergleichsgruppe „SHAM“ trat eine weitere pulmonale Embolie auf mit hämodynamischer Relevanz. Ansonsten haben alle Versuchstiere ohne Auffälligkeiten den Zeitpunkt 6h (t6) sowie das *Sacrifice* erreicht.

## 3.2. Systemische Inflammation bei unterschiedlichen RIA Verfahren nach Polytrauma

### Interleukin-6 (systemisch)

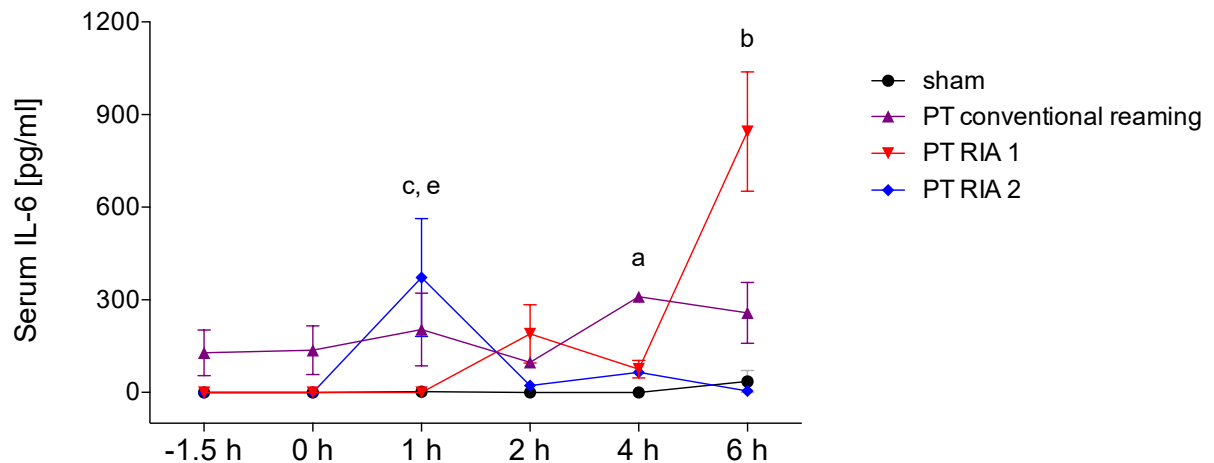


Abbildung 7: Verlauf der systemischen IL-6 Konzentration im Serum der Versuchsgruppen.

IL-6 Spiegel wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt. a:  $p < 0.05$  sham vs. PT conventional Reaming, b:  $p < 0.05$  sham vs. PT RIA 1, c:  $p < 0.05$  sham vs. PT RIA 2 und e:  $p < 0.05$  PT RIA 1 vs. PT RIA 2.

Alle vier Gruppen wiesen bei den Zeitpunkten -1.5h (t1) und 2h (t4) keine signifikanten Unterschiede bei systemischen IL-6 Konzentrationen auf. Bei Zeitpunkt 1h (t3) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe „PT RIA 2“ verglichen mit „PTA RIA 1“ und „sham“ bezüglich des Parameters IL-6. Bei 4h (t5) ist die Gruppe „PT conventional Reaming“ signifikant erhöht verglichen mit der Gruppe „sham“ ( $p < 0.05$ ). Bei 6h (t6) zeigte sich die Gruppe „PT RIA 1“ signifikant erhöht, verglichen mit der Gruppe „sham“. In der Gruppe „PT RIA 2“ gab es nur zwei detektierte IL-6 Messwerte, daher wurde dieser Zeitpunkt in dieser Gruppe nicht statistisch berücksichtigt (Vgl. Abbildung 7).



## Interleukin-8 (systemisch)

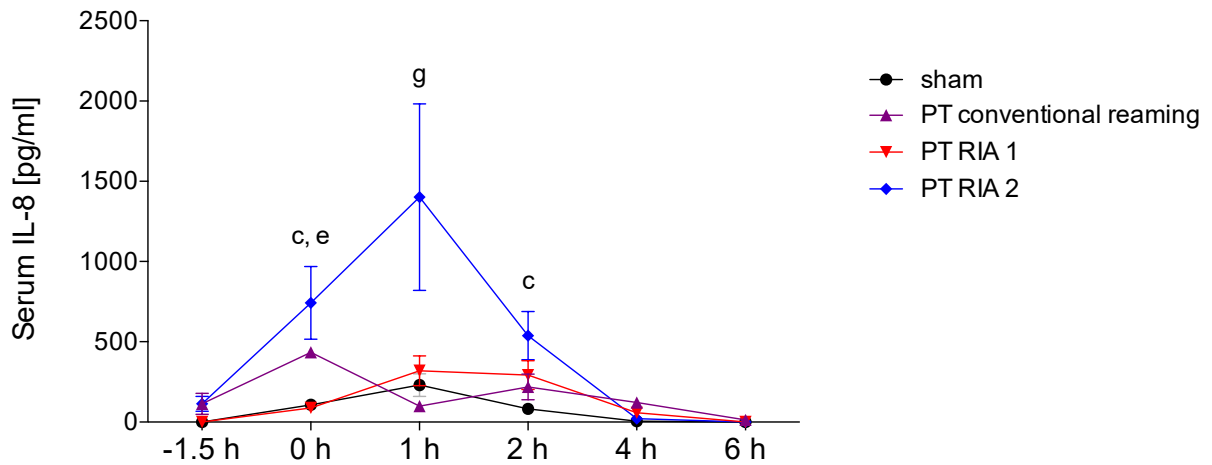


Abbildung 8: Verlauf der systemischen IL-8 Konzentration im Serum der Versuchsgruppen.

IL-8 Spiegel wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt. c:  $<0.05$  sham vs. PT RIA 2, e:  $p<0.05$  PT RIA 1 vs. PT RIA 2, g:  $p<0.05$  PT RIA 2 vs. alle Gruppen.

Bei den Zeitpunkten -1.5h (t1), 4h (t5), 6h (t6) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die IL-8 Konzentration. Bei Zeitpunkt 0h (t2) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe "PT RIA 2" und den Gruppen "sham" sowie "PT RIA 1". Bei 1h (t3) zeigte sich "PT RIA 2" gegenüber allen Gruppen („PT conventional Reaming“, „PT RIA 1“ und „sham“) signifikant erhöht. Bei 2h (t4) zeigte sich die Gruppe "PT RIA 2" signifikant erhöht gegenüber der Gruppe "sham". Sonstige Unterschiede in der Dynamik wiesen keine Signifikanzen auf (Vgl. Abbildung 8).

## Interleukin-10 (systemisch)

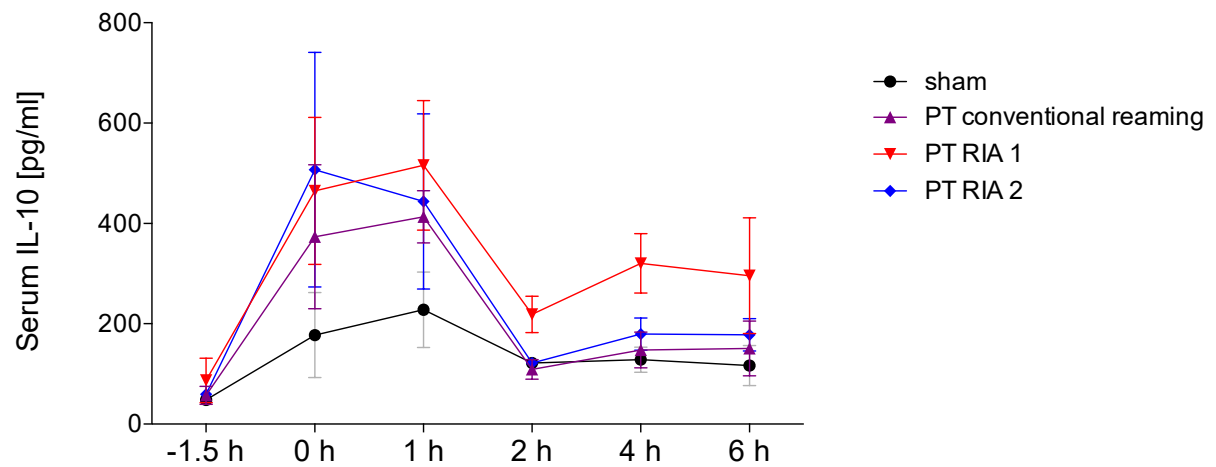


Abbildung 9: Verlauf der systemischen IL-10 Konzentration im Serum der Versuchsgruppen.

*IL-10 Spiegel wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt.  $p$  (alle Gruppen)  $> 0.05$ .*

Es konnten zwischen Gruppen „sham“, „PT *conventional Reaming*“, „PT RIA 1“ und „PT RIA 2“ zu keinem der Zeitpunkte Signifikanzen bezüglich der systemischen IL-10 Konzentration ermittelt werden (Vgl. Abbildung 9).

## TNF- $\alpha$ (systemisch)

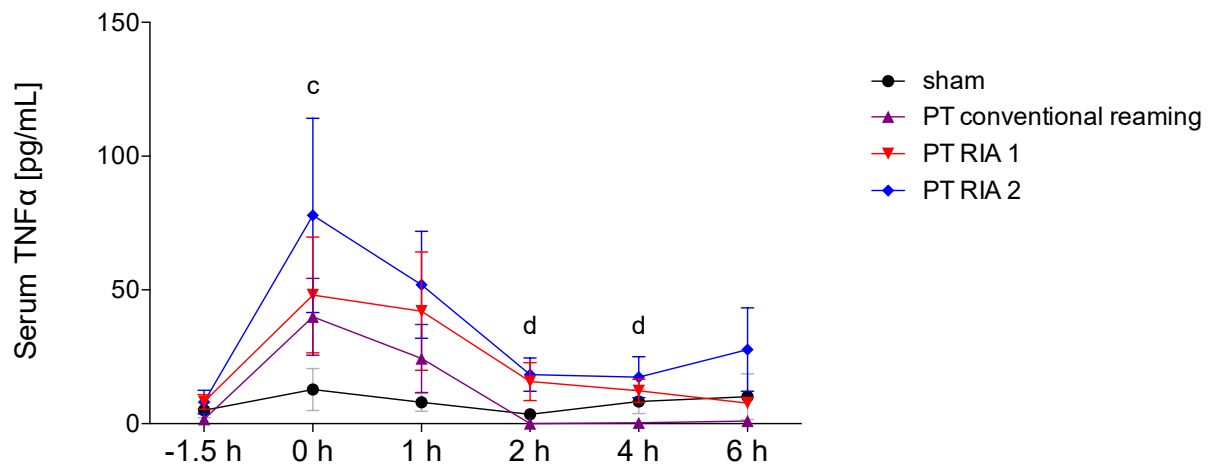


Abbildung 10: Verlauf der systemischen TNF- $\alpha$  Konzentration im Serum der Versuchsgruppen.

TNF- $\alpha$  wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt. c:  $<0.05$  sham vs. PT RIA 2 und d:  $<0.05$  PT conventional Reaming vs. PT RIA 1 und PT RIA 2.

Der systemische Verlauf der TNF- $\alpha$  Konzentration in der Gruppe „sham“ zeigte sich signifikant erniedrigt bei 0h (t2) verglichen mit „PT RIA2“. Die Gruppe „PT conventional Reaming“ zeigt sich bei 2h (t4) und 4h (t5) signifikant erniedrigt gegenüber der Gruppe „PT RIA1“ und „PT RIA2“. Weitere Unterschiede in der Dynamik waren nicht signifikant (Vgl. Abbildung 10).

## IL-6/IL-10 Ratio (systemisch)

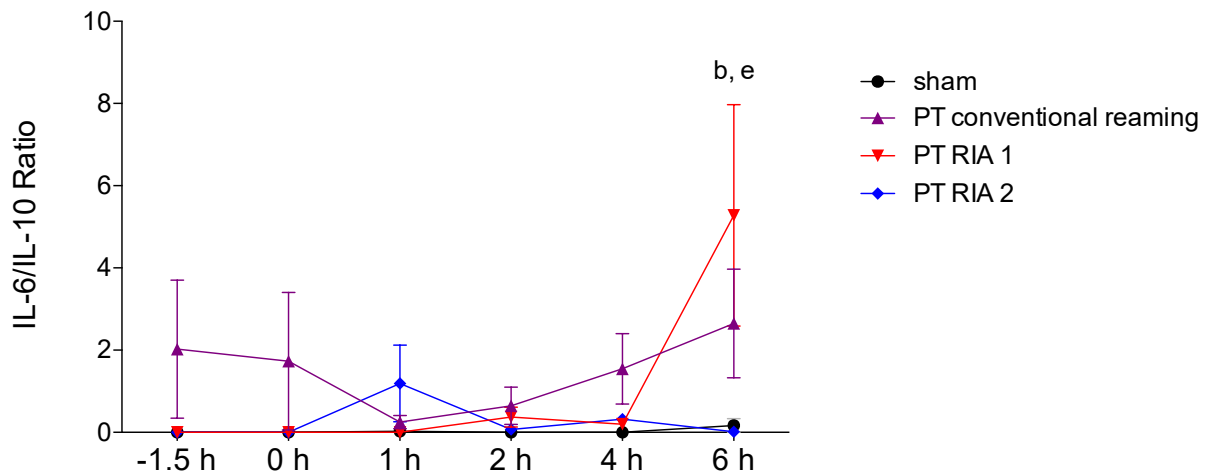


Abbildung 11: Verlauf der systemischen IL-6/IL-10 Ratio im Serum der Versuchsgruppen.

Die IL-6/IL-10 Ratio wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt. b:<math><0.05</math> sham vs. PT RIA 1 und e:  $<0.05</math> PT RIA 1 vs. PT RIA 2.$

Bei den Zeitpunkten t1 – t5 (-1.5h - 4h) waren bezüglich der IL6/IL10 Ratio keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen festzustellen. Bei 6h (t6) zeigt sich die Gruppe "PT RIA 1" signifikant erhöht verglichen mit den Gruppen "sham" und "PT RIA 2". Sonstige Signifikanzen wurden nicht ermittelt. (Vgl. Abbildung 11).

### 3.3. Lokale Inflammation bei unterschiedlichen RIA Verfahren nach Polytrauma

#### Lokale pulmonale Inflammation (Bronchoalveoläre Lavage/ BAL)

##### IL-6 (BAL/lokal)

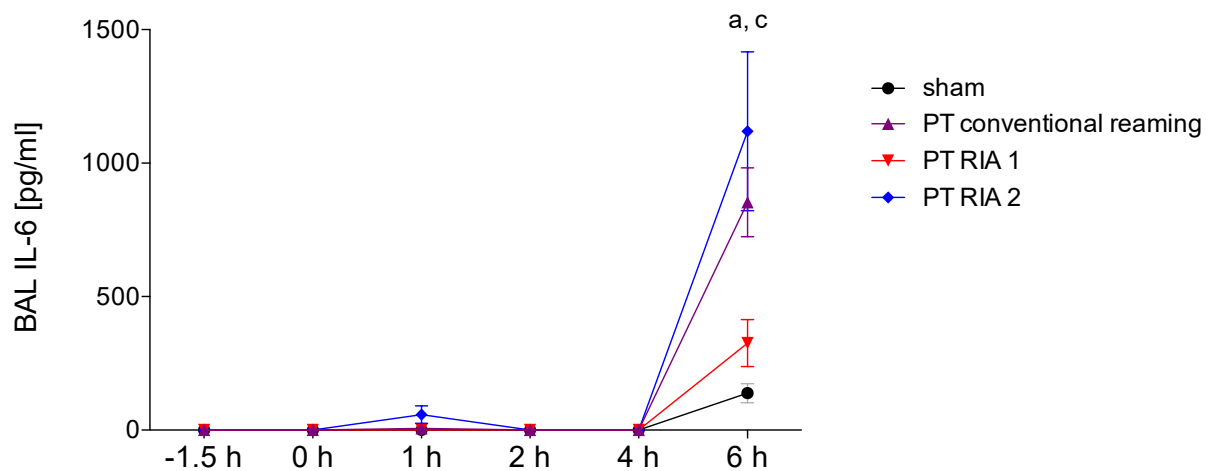


Abbildung 12: Verlauf der lokalen IL-6 Konzentration in der BAL der Versuchsgruppen.

Bronchoalveoläre IL-6 Spiegel wurden vor Trauma-induktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt. a:  $p < 0.05$  sham vs PT conventional Reaming und c:  $p < 0.05$  sham vs. PT RIA 2.

Bei den Zeitpunkten  $t_1 - t_5$  (-1.5h – 4h) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Der regelhafte Entnahmezeitpunkt fand nach Exitus bei 6h statt. Die erhobenen Messungen erfolgten bei frühzeitig versorbenen Versuchstieren zu dem jeweiligen Zeitpunkt ( $t_3$  (1h)). Bei 6h ( $t_6$ ) zeigten sich die Gruppen “PT RIA 2“ und “PT conventional Reaming“ signifikant erhöht gegenüber der “sham“ Gruppe. Sonstige Unterschiede zwischen den Gruppen waren zu keinem anderen Zeitpunkt signifikant. (Vgl. Abbildung 12).

## IL-8 (BAL/lokal)

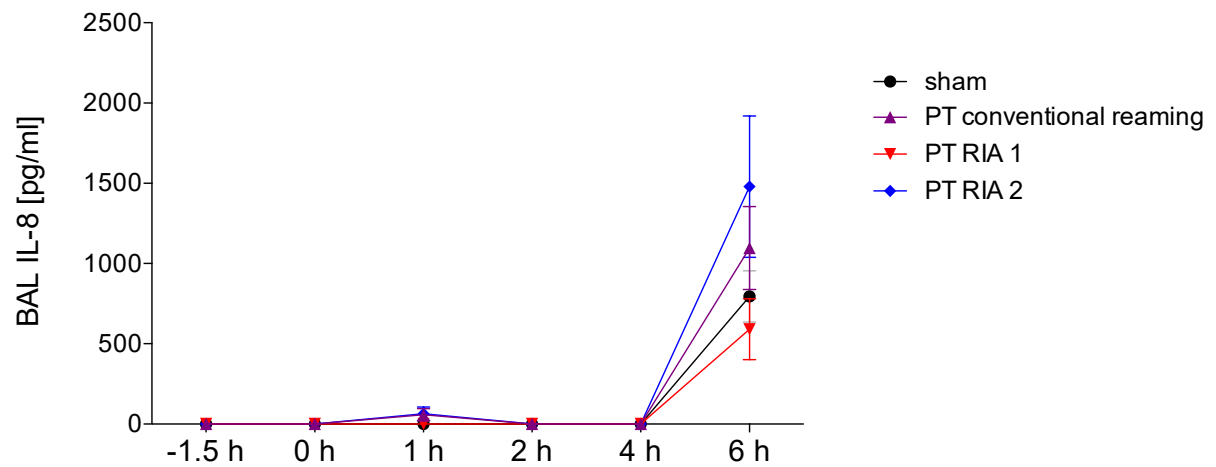


Abbildung 13: Verlauf der lokalen IL-8 Konzentration in der BAL der Versuchsgruppen.

*Der bronchoalveoläre IL-8 Spiegel wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt.*

In keiner der Gruppen „sham“, „PT *conventional Reaming*“, „PT RIA 1“ und „PT RIA 2“ konnten signifikante Unterschiede auf Basis der in der BAL gemessenen lokalen IL-8 Werte festgestellt werden ( $p > 0.05$ , vgl. Abbildung 13).

## IL-10 (BAL/lokal)

Die IL-10 Konzentration in der BAL war in unseren Messungen bei alle Proben zu keinem der Zeitpunkte messbar, eine graphische Darstellung entfällt dementsprechend.

## TNF-alpha (BAL/lokal)

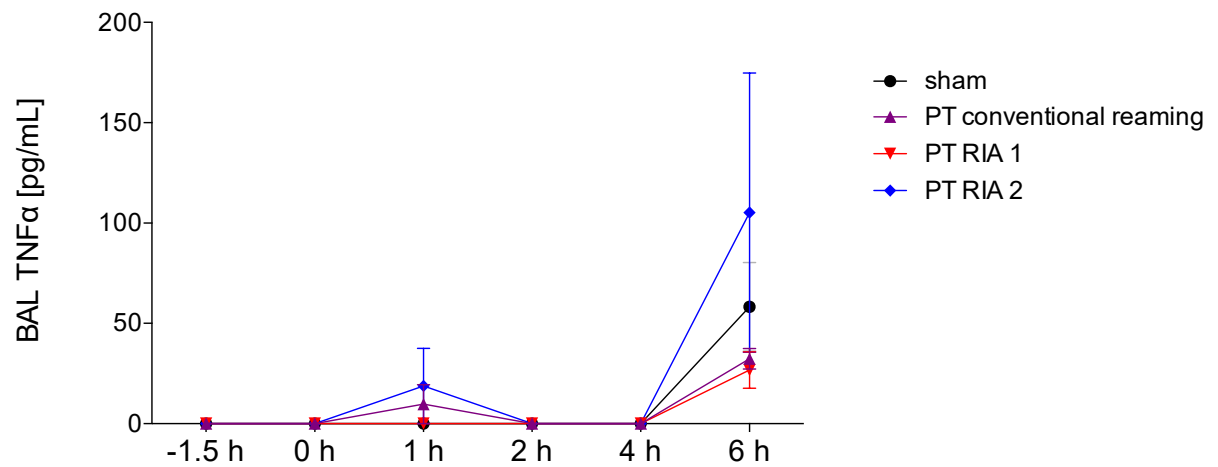


Abbildung 14: Verlauf der lokalen TNF- $\alpha$  Konzentration in der BAL der Versuchsgruppen.

*TNF-alpha Spiegel wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt.*

Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen keiner der Gruppen zu keinem der gemessenen Zeitpunkte ermittelt werden (Vgl. Abbildung 14).

### 3.4. Urinkonzentration der Zytokine bei unterschiedlichen RIA Verfahren nach Polytrauma

#### IL-6 (Urin)

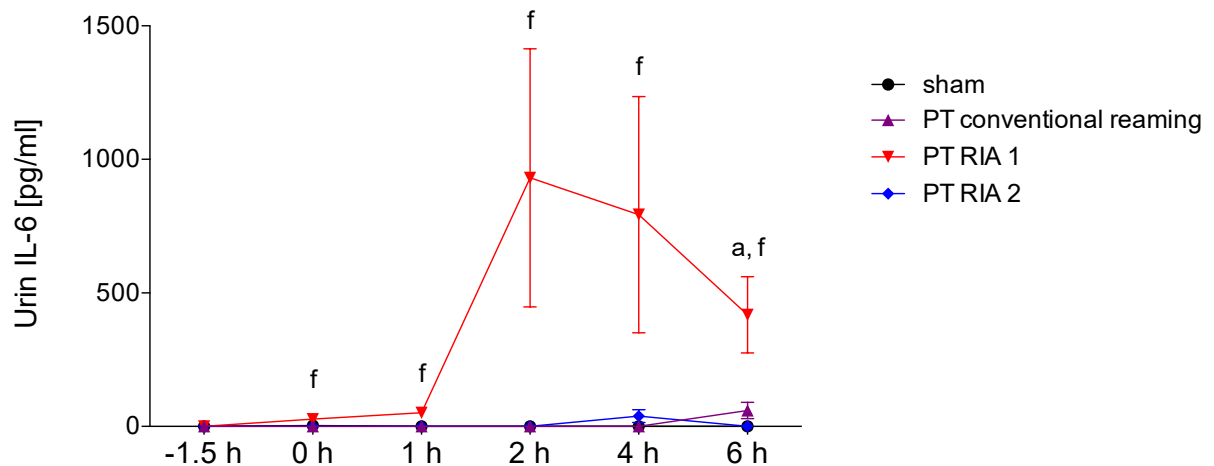


Abbildung 15: Verlauf der IL-6 Konzentration im Urin der Versuchsgruppen.

*IL-6 Spiegel im Urin wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt. a: <0.05 sham vs. PT conventional Reaming und f: <0.05 PT RIA 1 vs. alle Gruppen.*

Bei dem Zeitpunkt -1.5h (t1) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Bei 0h (t2), 1h (t3), 2h (t4), 4h (t5) und 6h (t6) zeigte sich die Gruppe "PT RIA 1" gegenüber allen anderen Gruppen (sham, PT *conventional Reaming*, PT RIA 2) signifikant erhöht. Bei 6h (t6) zeigte sich die Gruppe "PT *conventional Reaming*" signifikant erhöht gegenüber der Gruppe „sham“. Sonstige Unterschiede in der Dynamik zeigten keine Signifikanz (Vgl. Abbildung 15).

#### IL-8 (Urin)

Die IL-8 Konzentration im Urin war in unseren Messungen für alle Proben zu keinem der Zeitpunkte messbar, eine graphische Darstellung entfällt dementsprechend.



## IL-10 (Urin)

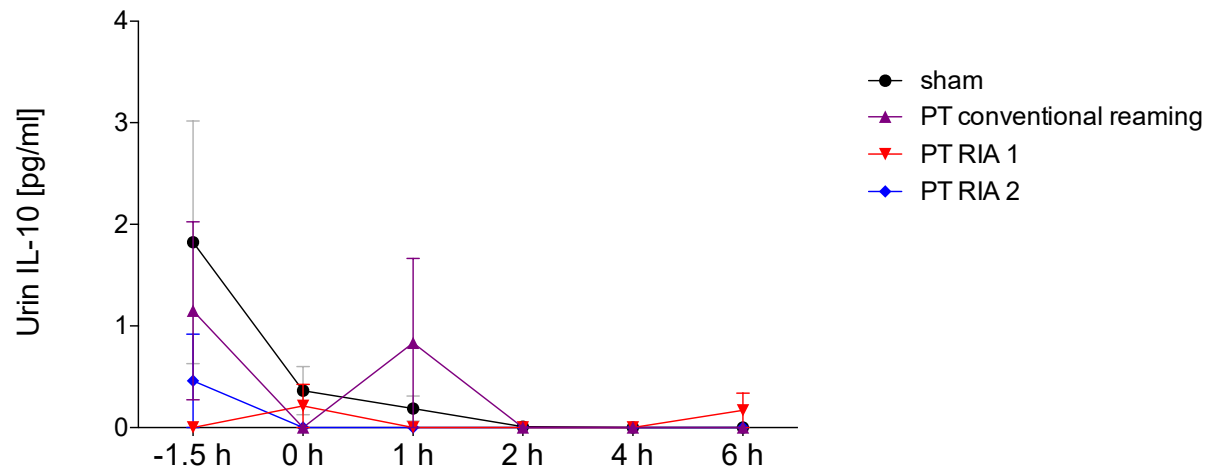


Abbildung 16: Verlauf der IL-10 Konzentration im Urin der Versuchsgruppen.

IL-10 Spiegel im Urin wurden vor Traumainduktion (-1.5 h) sowie im Verlauf (0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h) bestimmt. Mittelwerte und Standardfehler zu den verschiedenen Zeitpunkten sind dargestellt.

Es konnten zu keinem der gemessenen Zeitpunkte signifikanten Unterschiede bezüglich der IL-10 Konzentration im Urin zwischen den Gruppen festgestellt werden (Vgl. Abbildung 16).

## TNF-alpha (Urin)

Die TNF-alpha Konzentration im Urin war in unseren Messungen für alle Proben zu keinem der Zeitpunkte messbar, eine graphische Darstellung entfällt dementsprechend.

## 4. Diskussion

### 4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Zu Beginn (-1.5h, t1) vor Induktion des Traumas zeigen sich sowohl die systemischen pro- (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  wie auch antiinflammatorische (IL-10) Parameter auf einem Baseline-Level ohne Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die IL-6/IL-10 Ratio ist niedrig.

Direkt nach Zeitpunkt des Traumas zeigt sich bei allen Gruppen respektive der „sham“ Gruppe (kein Trauma) in Bezug auf das IL-6 noch kein relevanter Anstieg, da dieses durch u.a. TNF- $\alpha$  erst getriggert wird. Einen Anstieg dagegen verzeichnen die Marker IL-8 und TNF- $\alpha$  wie auch bei IL-10. Unterschiede zwischen den Gruppen gibt es lediglich bei den Markern IL-8 und TNF- $\alpha$ . Diese Unterschiede sind jedoch nicht auf die jeweilige Intervention zurückzuführen, da diese noch nicht stattgefunden hat.

Nach chirurgischer Versorgung (1h, t3) ist die IL-6 Reaktion bei der Gruppe „PT RIA 2“ erhöht gegenüber den Gruppen „sham“ und „PT RIA 2“. Respektive des bei IL-6 - generell in der Inflammationskaskade - verzögerten Anstiegs ist dies jedoch primär auf das initiale Trauma und nicht die Versorgung selbst zurückzuführen; hierdurch steigt auch die IL-6/IL-10 Ratio in dieser Gruppe. Auch das IL-8 steigt weiterhin an, insbesondere in der Gruppe „PT RIA 2“, wobei das IL-10 nur sehr dezent steigt ohne Unterschiede zwischen den Gruppen. Das TNF- $\alpha$  hingegen präsentiert sich ganzheitlich in einer eher sinkenden Dynamik in den Gruppen.

Bei Zeitpunkt t4 (2h) zeigen sich die pro-inflammatorischen Parameter IL-8 und TNF- $\alpha$  in einer sinkenden Dynamik, wobei insbesondere „PT RIA 1 und 2“ dann noch erhöht sind gegenüber den Gruppen „sham“ (IL-8) und „*conventional Reaming*“ (TNF- $\alpha$ ). Das TNF- $\alpha$  bleibt hierbei noch für den nächsten Zeitpunkt (4h, t5) signifikant erhöht gegenüber dem „*conventional Reaming*“, wobei dieser Unterschied nicht persistent bleibt beim letzten Zeitpunkt (6h, t6). Das IL-8 sinkt im weiteren Zeitintervall in allen Gruppen ohne bestehende Unterschiede weiter ab. Das IL-6 sinkt in der Gruppe „PT RIA 2“ über die Zeitpunkte 2h-6h (t4-t6) weiter ab, wohingegen es bei der Gruppe „PT *conventional Reaming*“ (4h, t5) und „PT RIA 1“ (6h, t6) gegenüber der „sham“ Gruppe signifikant ansteigt. Das anti-inflammatorische IL-10 sinkt nach der chirurgischen Intervention (1h, t3) auf den Zeitpunkt t4 (2h) in allen Gruppen ab und steigt über t5 (4h) bis t6 (6h) nur dezent an mit anschließender Seitwärtsbewegung. Dementsprechend steigt auch die IL-6/IL-10 Ratio bei Zeitpunkt t6 (6h) signifikant in der Gruppe „PT RIA 1“ gegenüber den Gruppen „sham“ und „PT RIA 2“.

Lokal zeigt sich in der Lunge eine durch IL-6 vermittelte erhöhte pro-inflammatorische Reaktion bei der regulär an t6 (6h) durchgeführten BAL in den Gruppen „PT *conventional Reaming*“ und „PT RIA 2“ gegenüber der „sham“ Gruppe. Ebenso konnten IL-8 und TNF- $\alpha$  Konzentrationen in den Gruppen detektiert werden, jedoch ohne signifikante Unterschiede untereinander. Anti-inflammatorische Reaktionen im Rahmen von IL-10 Konzentrationen konnten nicht detektiert werden.

Im Urin zeigt sich insbesondere in der Gruppe „PT RIA 1“ gegenüber allen anderen Gruppen eine starke inflammatorische Reaktion insbesondere 2h nach Trauma (t4), welche bis zu Zeitpunkt t6 (6h) bestehen bleibt. Hierbei findet an Zeitpunkt t6 (6h) ebenfalls eine Erhöhung in der „PT *conventional Reaming*“ gegenüber der „sham“ Gruppe statt. Hierbei ist das IL-10 als systemischer Gegenspieler primär bei Zeitpunkt t1 (-1.5h) erhöht, was gegebenenfalls durch die Einlage des Urinkatheters mit provoziert sein kann. Anschließend präsentiert sich eine ganzheitlich stark sinkende Dynamik bis hin zum letzten Zeitpunkt t6 (6h).

Wir sehen demzufolge eine initial verstärkte systemische pro-inflammatorische Reaktion in den Gruppe „PT RIA 2“ nach Trauma (t2, 0h) und Versorgung (t3, 1h), welche aber rasch absinkt und keine Unterschiede in der anti-inflammatorischen Reaktion hat. Die Gruppe „PT RIA 1“ hingegen präsentiert verstärkt pro-inflammatorische Aktivität im Bereich von t4 (2h) bis t6 (6h), wobei es auch hier keine signifikanten Auswirkungen auf den anti-inflammatorischen IL-10 hat und in eine erhöhte IL-6/IL-10 Ratio resultiert. Auf lokaler Ebene zeigt sich pulmonal am Endpunkt die stärkste inflammatorische Reaktion der Gruppen „PT *conventional Reaming*“ und „PT RIA 2“ wie urethral in der Gruppe „PT RIA 1“ im gesamten Verlauf.

## 4.2. Posttraumatische Pathophysiologie

### 4.2.1. IL-6

Als proinflammatorischer Marker, korrelierend mit der Verletzungsschwere, mit spezifischer Relevanz für das Outcome und Auftreten von Komplikationen ist das IL-6 von zentraler Relevanz für die Interpretation von Verletzungsschwere und das Vergleichen von Interventionsverfahren<sup>40</sup>. Da die Immunantwort durch das Trauma getriggert wird, ist es stimmig, dass bei unseren Ergebnissen der systemischen IL-6 Antwort (Abbildung 7) bei t1 (-1.5h) vor Ausübung des Traumas bei 0h (t2) sowohl systemisch wie auch lokal keine signifikanten Veränderungen detektierbar sind (Abbildung 7, 12, 15). Die nicht signifikanten systemischen Unterschiede insbesondere der Gruppe, die mittels konventionellem *Reamer* versorgt wurde, kann beispielsweise auf die vorher benötigte Einlage von Kathetern sowie Beatmung zurückgeführt werden, die bei allen Gruppen genormt durchgeführt wurden, aber dennoch individuell unterschiedliche inflammatorische Reaktion hervorrufen kann (Abbildung 7). Dies unterstützt die weiterführende Vergleichbarkeit der Ergebnisse bei gleicher *Baseline*. Bei 0h (t2) wurde das Trauma ausgeübt. Hierbei findet sich zu diesem Zeitpunkt eine Signifikanz bezüglich der IL-6 Konzentration im Urin (Abbildung 15) zwischen der Gruppe "RIA 1" und allen anderen Gruppen, wobei die IL-6 Konzentration geringfügig ansteigt. Zu dem Zeitpunkt wurde jedoch noch keine Interventionsverfahren oder Frakturversorgung durchgeführt und jegliche Versorgung (ausgenommen die Gruppe "sham", die kein Trauma erhielt), sodass diese Signifikanz am ehesten im Rahmen von individueller/nicht traumaassoziierter Reaktionen gedeutet werden kann.

Bei 1h (t3) wurde die Intervention mittels vorherig zugewiesener Technik (*Conventional Reamer*, RIA1, RIA 2, keine Intervention (sham) durchgeführt und anschließend Blutentnahmen vollzogen. Hierbei zeigt sich systemisch (Abbildung 7) ein signifikanter Anstieg von der Gruppe "PT RIA 2" verglichen mit den Gruppen "PT RIA 1" und „sham“. Hierbei ist jedoch in Betracht zu ziehen, dass IL-6 innerhalb von 1-2 Stunden ansteigt<sup>53</sup>, sodass diese unmittelbar nach Versorgung mittels RIA 2 aufgetretene Signifikanz eher auf das eine Stunde zurückliegende Trauma zurückzuführen ist. Diese Annahme wird dadurch

unterstützt, dass die systemische IL-6 Konzentration der RIA 2 Gruppe anschließend abfällt und zu allen weiteren Entnahmezeitpunkten keine signifikante Erhöhung, sondern signifikante Erniedrigung verglichen mit "PT RIA 1" zu dem Zeitpunkt 6h (t6) aufzeigt (Abbildung 7).

Zwei Stunden nach Trauma und eine Stunde nach Intervention zeigen sich keine Signifikanzen in der systemischen IL-6 Konzentration. Bei 4h nach Trauma (t5) und somit 3 Stunden nach Intervention ist die IL-6 Konzentration der Gruppe, die mittels konventionellem *Reaming* versorgt wurde, signifikant erhöht verglichen mit der sham-Gruppe. Eine signifikante Erhöhung gegenüber RIA 1 und RIA 2 liegt zu diesem Zeitpunkt nicht vor.

Bei 6h nach Trauma (t6) ist die systemische IL-6 Konzentration der Gruppe „PT RIA 1“ signifikant erhöht (Abbildung 7) gegenüber der Gruppe "sham". Diese Erhöhung der systemischen Inflammation ist am ehesten auf die Intervention mittels RIA Typ 1 zurückzuführen. Unterstützt wird diese Annahme durch die ebenso über die Zeitpunkte ansteigende IL-6 Konzentration im Urin (Abbildung 15). Hierbei ist bei den Messzeitpunkten 0h (t2), 1h (t3), 2h (t4), 4h (t5) und 6h (t6) die Gruppe, die mittels RIA 1 versorgt wurde, signifikant erhöht gegenüber allen Gruppen und bei und 6h (t6) gegenüber der „sham“ Gruppe. Insbesondere 2 Stunden (t4) nach Trauma und somit eine Stunde nach Intervention zeigt sich ein großer Anstieg in der IL-6 Konzentration dieser Gruppe.

Eine weitere Signifikanz findet sich bei 6h (t6) in der Gruppe, die mittels konventionellem *Reamer* versorgt wurde (Abbildung 7). Die bronchoalveoläre Lavage, welche standardmäßig bei 6h (t6) durchgeführt wurde, wurde bei einem Schwein aus der Gruppe "PT RIA 2" sowie aus der Gruppe „PT *conventional Reaming*“ zum Zeitpunkt von 1h (t3) durchgeführt, da diese früh verstarben an den Folgen des initialen Traumas (Abbildung 12). Des Weiteren ist ebenfalls ein Tier der Gruppe ohne Interventionen (sham) im Laufe des Versuches verstorben. Demzufolge war die Anzahl dieser Gruppen für den Zeitpunkt 6h (t6) um ein Versuchstier erniedrigt. Diesbezüglich gab es keinen vorzeitigen Todesfall in der Gruppe „PT RIA 1“. Hierbei kann bedacht werden, dass diese Tatsache auch Einfluss haben kann auf die signifikant hohen IL-6 Werte dieser Gruppe. Es kann

angenommen werden, dass die verstorbenen Tiere eher hohe Inflammationsparameter aufweisen. Insofern kann das frühzeitige Ausscheiden dann dazu folgen, dass zu den späteren Zeitpunkten nur die Messungen der Tiere berücksichtigt werden, denen es „besser geht“ (*Survivorship bias*).

Am Zeitpunkt t6 (6h) zeigte sich eine signifikante Erniedrigung in der IL-6 Konzentration in der BAL zwischen der Gruppe „sham“ und PT RIA 2“ sowie „PT *conventional Reaming* (Abbildung 12). Zwischen den Gruppen, die mittels *Reaming* (RIA oder konventionell) versorgt wurden, gab es keine signifikanten Unterschiede hierzu. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass Interventionsgruppen auch ein Thorax/Lungentrauma erhielten, sodass erhöhte Inflammationswerte trotz standardisierter Ausführung auch auf eine pulmonale Dekompensation zurückzuführen sein können im Rahmen des initialen Traumas. Die „sham“ Gruppe erhielt kein Thoraxtrauma, wurde aber simultan zu den Interventionstieren über mehreren Stunden intubiert, was auch zu pulmonaler Inflammation führen kann<sup>137</sup>. Es ist tendenziell anzunehmen, dass in Bezug auf die systemische IL-6 Konzentration der RIA 2 dem RIA 1 in unserer Versuchsreihe überlegen ist, da im Verlauf nach Versorgung die Inflammation in der RIA 2 Gruppe eher absinkt und in den Gruppen *conventional Reaming* und RIA 1 eher ansteigt (Abbildung 7). Um hier einen signifikanten Unterschied aufzuzeigen, war die *Sample Size* in unserer Versuchsreihe gegebenenfalls zu klein und größere Tiermodelle könnten zu weiteren Erkenntnissen führen. Sonstige Signifikanzen sind entweder primär dem Trauma und nicht der Versorgung zuzuordnen, oder bestanden gegenüber der Gruppe ohne Intervention (sham), was einleuchtend ist, da diese Gruppe keine operative Versorgung und kein Trauma erfahren hat. Relevante Rückschlüsse sind hieraus nicht verlässlich zu ziehen.

Hartsock et al. beschrieben hierzu in einer prospektiv randomisierten Studie am Menschen (Polytrauma vs. kein Polytrauma) einen Vergleich zwischen der Versorgung mittels konventionellem *Reamer* und RIA 1 bei intramedullärer Nagelung bezogen auf die Inflammation. Hierbei wurde kein signifikanter Unterschied in der IL-6 Konzentration zwischen den beiden Verfahren festgestellt, sodass das Forscherteam schlussfolgerte, dass *Reaming* sowie

intramedulläre Fixierung unabhängig vom Versorgungstyp eine Erhöhung von IL-6 induziert. Ebenfalls beschreibt diese Studie, eine signifikant erhöhte IL-6 Konzentration in der bronchoalveolären Lavage der Gruppe, welche mittels konventionellem *Reaming* versorgt wurde gegenüber der RIA Gruppe <sup>31</sup>.

Diese Ergebnisse sind mit unseren Resultaten soweit vergleichbar respektive der Tatsache, dass in dieser Studie nur der konventionelle *Reamer* mit dem RIA 1 verglichen wird. Beide Gruppen wiesen bei uns eine ähnliche systemische IL-6 Dynamik über die Versuchszeitpunkte auf. In der bronchoalveolären Lavage 6 Stunden nach Trauma (t6) zeigte sich zwischen diesen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied, wobei aber die IL-6 Konzentrationen nach konventionellem *Reaming* tendenziell höher waren.

In einer weiteren Studie beschrieben Giannoudis et al. weitere inflammatorische Messungen bei (poly)traumatisierten Patienten, die entweder mittels konventionellem *Reamer* oder RIA 1 behandelt wurden <sup>98</sup>. Hierbei war die RIA 1 Gruppe im Schnitt zwar schwerer verletzt (median ISS 20 vs. ISS 10), die Baseline IL-6 Werte zwischen den Gruppen aber vergleichbar. Bei vergleichbaren Zeitpunkten zu unseren Messungen wurde intraoperativ (vergleichbar zu unserem t3) in der RIA 1 Gruppe ein Wert von ca. 125 pg/ml und der konventionellen *Reamer* Gruppe ca. 85 pg/ml ermittelt. Zu diesem Zeitpunkt war in unserer *Reamer*-Gruppe das IL-6 noch nicht nachweisbar und die konventionelle *Reamer* Gruppe hatte einen IL-6 Mittelwert von 190 pg/ml (dieser war bei Baseline bereits erhöht). Hierbei ist die Vergleichbarkeit der Zeitpunkte zu diskutieren, da unsere *Baselines* nicht vergleichbar sind. In der Studie von Giannoudis et al. konnte verständlicherweise nicht standardisiert eine Stunde nach Trauma die Frakturversorgung durchgeführt werden, sodass die Zeitpunkte demnach späteren Messwerten von uns entsprechen. Zudem waren die Versuchsgruppen in besagter Studie relativ klein (*Conventional Reamer*: n=12, RIA n=8), was ohne Standardisierung zu einer grösseren Standardabweichung der Messwerte führt. Insofern schwankte die generelle Verletzungsschwere, insbesondere in der RIA Gruppe von einem ISS 9-50 und nicht alle Patienten waren polytraumatisiert. Dies könnte auch die wesentlich höheren Interleukin-6 Werte in unserem Tiermodell erklären. Dennoch ist die Grenze für eine schwere systemische Immunantwort beim Menschen definiert als 50pg/ml, welche die

Versuchspersonen grösstenteils zumindest zeitweise überstiegen, sodass die generelle Schwere der Immunantwort als adäquat für eine Vergleichbarkeit zu sehen wäre <sup>59</sup>.

#### **4.2.2. IL-8**

Interleukin-8 ist ein proinflammatorischer Marker mit spezieller Zugehörigkeit zu pulmonalen Komplikationen <sup>76</sup>. Bei unserem Tiermodell wurde im Rahmen des Polytraumas zudem ein Thorax/Lungentrauma ausgeübt, wobei nach Störmann et al. erhöht ein pulmonales Trauma die IL-8 Konzentration und Akkumulierung von Neutrophilen im Lungengewebe <sup>80</sup>. IL-8 soll hierbei insbesondere für die Früherkennung von ARDS eine Rolle spielen <sup>82</sup>. Bei der Baseline t1 (-1.5h) ist kein signifikanter Unterschied in der systemischen IL-8 Konzentration zu verzeichnen (Abbildung 8). Bei 0h (t1/Trauma) ist die IL-8 Konzentration der Gruppe, die mittels dem RIA Typ 2 versorgt wird signifikant erhöht gegenüber der Gruppe ohne Trauma und Intervention (sham) und der Gruppe, die mittels RIA Typ 1 versorgt wird. Ebenso ist bei 1h (t3) kurz nach Setzen des Traumas die systemische IL-8 Konzentration gegenüber allen anderen Gruppen erhöht (Abbildung 8). Dies ist nach Tang et al. nicht auf das Versorgungsprinzip zurückzuführen, da IL-8 innerhalb einer Stunde nach Trauma vermehrt sekretiert wird, sondern auf das initiale Trauma des Zeitpunktes t2 (0h) <sup>69</sup>. Bei 2h (t4) ist die systemische IL-8 Konzentration nun abgesunken und nur noch signifikant erhöht in der Gruppe RIA 2 gegenüber der Gruppe ohne Trauma und ohne Intervention (sham). Bei 4h (t5) und 6h (t6) liegen keine Signifikanzen mehr vor und alle Gruppen befinden sich auf einem vergleichbaren Level wie vor dem Trauma. In der lokal pulmonalen Konzentration zeigt sich IL-8 ohne Signifikanzen zwischen allen Gruppen (Abbildung 13). Im Urin ist keine IL-8 Konzentration messbar. Zusammenfassend ist bezüglich der Interleukin-8 Konzentration sowohl systemisch wie auch lokal keine Überlegenheit eines Versorgungsprinzips herzuleiten.

Interleukin 8 scheint in der aktuellen Literatur gegenüber IL-6 und IL-10 eine untergeordnete Rolle zu spielen. Jedoch existiert hierzu Evidenz seitens Hartsock et al., dass konventionelles *Reaming* zu einer höheren IL-8



Konzentration in der bronchoalveolären Lavage führt, als der RIA 1 <sup>31</sup>. Dieses Resultat findet in unserem Versuchsmodell keine Signifikanz, dennoch ist das IL-8 in der *conventional Reaming* Gruppe tendenziell höher als bei der RIA 1 Gruppe bei größeren Standardabweichungen. Horst et al. führten ein – dem unseren ähnliches - porcines Versuchsmodell durch, in welchem Monotrauma gegen Polytrauma verglichen wurde. Hierbei zeigte sich das IL-8 in polytraumatisierten Schweinen eher ansteigend, wohin gehend es in den mono-traumatisierten Schweinen eher absank. Dennoch war dieses Ergebnis nicht statistisch signifikant <sup>138</sup>.

Wir haben keinen Unterschied zu monotraumatisierten Versuchstieren durchgeführt, jedoch entspricht dies der generellen Annahme der inflammatorischen Reaktion nach schwerem Trauma. Greven et al. berichten ebenfalls von einem Polytrauma Modell am Schwein, bei welchem IL-8 24 und 48 Stunden nach Trauma signifikant anstieg <sup>139</sup>. Dies liegt jedoch außerhalb dem von uns betrachteten Zeitraum.

### **4.2.3. IL-10**

Als antiinflammatorischer Marker ist IL-10 insbesondere wichtig zur Regulierung und zum Ausgleich der inflammatorischen Reaktion zur Prävention von Sepsis und SIRS <sup>86</sup>. Systemisch zeigen sich zwischen den unterschiedlichen Gruppen über alle Zeitpunkte hinweg keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 9). Von der Dynamik her finden sich die höchsten Werte zum Zeitpunkt des Traumas bei 0h (t2) sowie bei 1h (t3). Anschließend zeigt sich bei allen ein Rückgang auf niedrigere Werte mit Konstanz von 2-6h nach Trauma (t4-t6). Auf lokaler Ebene kann IL-10 in der bronchoalveolären Lavage nicht bestimmt werden. Im Urin war die IL-10 Konzentration ohne Signifikanzen über alle Zeitpunkte hinweg (Abbildung 16). Hierbei zeigten sich initial bei -1.5h (t1) vor Trauma im Schnitt die höchsten Werte mit anschließendem Abfall zum Zeitpunkt des Traumas (0h/t2) bis hin zum Ende des Versuches (6h/t6) (Abbildung 7).

In der bereits erwähnten Vergleichsstudie von Hartsock et al. zeigt sich das IL-10 postoperativ erhöht in der RIA Gruppe verglichen mit dem konventionellen

*Reaming*, ebenso zeigte sich in der RIA Gruppe ein signifikanter Anstieg verglichen zur *Baseline* <sup>31</sup>. Jedoch war in dieser Versuchskohorte die Gruppe, welche mittels RIA versorgt wurde signifikant schwerer verletzt (ISS 23 vs. ISS 11), was sicherlich die systemische Inflammation beeinflusst und zu einer limitierten Vergleichbarkeit zwischen den Versuchsgruppen führt. Gegenätzlich beschreiben Giannoudis et al. einen erhöhten Anstieg in der Patientengruppe, welche mittels konventionellem *Reamer* behandelt wurden, verglichen mit RIA. Hier war präsentierten beide Gruppen ein Maximum bei 4h (t5) nach Trauma mit anschließendem Abfall; dieser war bei der konventionellen *Reamer* Gruppe jedoch wesentlich verzögert. Dennoch muss in Betracht gezogen werden, dass die Baseline in der konventionellen *Reamer* Gruppe signifikant erhöht war gegenüber der RIA Gruppe (median 32pg/ml vs. 7pg/ml) <sup>98</sup>.

In unserer Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der IL-10 Konzentration zwischen den unterschiedlichen Gruppen über die Zeitpunkte hinweg. Vor dem Hintergrund sind die in der Literatur teils gegensätzlichen Resultate mit begründbar durch das unterschiedliche Studiendesign und die bereits beschriebenen Co-Faktoren. Zudem zeigte sich in einem porcinen Polytrauma-Modell von Oestreich et al. die IL-10 Dynamik zudem auch abhängig von der der Körpertemperatur. In normothermen Versuchstieren waren diese Level niedriger, als in hypothermen <sup>140</sup>. Dies ist sicherlich durch die Tatsache beeinflusst, dass Hypothermie eine wesentliche Rolle in der pathophysiologischen Kaskade in Trauma – auch genannt »*Triad of death*« spielt. Hypothermie beeinflusst wesentlich die Funktionsfähigkeit von multiplen Abläufen im Körper durch Einflussnahme auf die Funktionsfähigkeit einzelner Zellgruppen und ist hierbei wesentlich assoziiert mit einer erhöhten Mortalität <sup>37</sup>.

#### **4.2.4. IL-6/IL-10 ratio**

Je höher die proinflammatorische IL-6 Konzentration und geringer die antiinflammatorische IL-10 Konzentration ist, umso größer ist die IL-6/IL-10 ratio. Insofern zeigt eine erhöhte IL-6/IL-10 ratio ein Ungleichgewicht zugunsten der systemisch entzündlichen Aktivität im Organismus auf, mit höherem Risiko, einen komplizierteren Verlauf zu erleiden und erhöht die Mortalität; hierbei korreliert

dies mit der Verletzungsschwere <sup>58</sup>. Über die ersten 5 Zeitpunkte (t1-t5) zeigen sich in den unterschiedlichen Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Beim Zeitpunkt t6 (6 Stunden nach Trauma) ist die IL-6/IL-10 Konzentration der Gruppe, die mittels RIA 1 versorgt wurde, signifikant erhöht gegenüber der Gruppe, die mittels RIA Typ 2 versorgt wurde (PT RIA 2) und der Gruppe ohne Interventionen und ohne Trauma (sham) (Abbildung 11). Dieses Ergebnis ist durch das Ansteigen von IL-6 bei gleichzeitigem Abfall von IL-10 bedingt. Dies könnte nahelegen, dass die Versorgung mittels RIA 1 eine erhöhte proinflammatorische Reaktion des Organismus bewirkt, als der RIA 2, da das Trauma sowie sonstige Vorgänge wie Intubation und Katheter Einlage standardisiert waren.

In der Literatur ist hierzu eine Korrelation zwischen der IL-6/IL-10 ratio mit dem ISS beschrieben. In Patienten, mit einem ISS>30, welche verstarben, steigt die IL-6/IL-10 Ratio, wohingegen sie in überlebenden Patienten absank. Dies unterstreicht, dass die überschießende inflammatorische Reaktion (IL-6 getriggert) mit einem schlechten Outcome assoziiert ist. Das Absinken beider Zytokine (mit ggf. gleicher ratio) impliziert, dass das Immunsystem erschöpft ist, was weiterführend zu Multiorganversagen und Exitus führen kann. Wenn die IL-6/IL-10 Ratio nach schwerem Trauma mit ISS>40 absinkt, impliziert dies eine führende Rolle des CARS, was ein erhöhtes Risiko für Sepsis und Infektionen bietet <sup>50,59</sup>. Demzufolge ist die IL-6/IL-10 ratio nicht isoliert zu betrachten, sondern muss auch die einzelnen Parameter evaluieren, um kritische Grenzen frühzeitig zu identifizieren.

#### **4.2.5. TNF- $\alpha$**

TNF- $\alpha$  ist ein früher inflammatorischer Parameter in der Kaskade zur Sekretion von proinflammatorischen Mediatoren wie IL-6 <sup>42</sup>. 1.5 Stunden vor Trauma (t1) ist die systemische Konzentration bei allen Gruppen vergleichbar ohne Signifikanzen. Kurz nach Setzen des Traumas bei t2 (0h) ist das systemische TNF- $\alpha$  signifikant erhöht in der Gruppe "PT RIA 2" gegenüber der Gruppe, die kein Trauma widerfahren hat. Da zu diesem Zeitpunkt noch keine Intervention erfolgte, sodass die TFN-a Sekretion rein auf das Trauma zurückzuführen ist, ist

erklärlich, dass diese signifikant erhöht ist gegenüber der Gruppe, die kein Trauma widerfahren hat (Abbildung 10). Die anderen beiden Gruppen mit Trauma (PT RIA 1, PT *conventional Reaming*) sind auch erhöht, jedoch nicht signifikant. Eine Stunde nach Trauma (t3) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zum Zeitpunkt der Intervention. Zwei Stunden sowie vier Stunden nach Trauma (t4-t5) zeigen sich die beiden RIA Gruppen signifikant erhöht gegenüber der Gruppe mit konventionellem *Reaming* (Abbildung 10). Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass beide RIA Gruppen, insbesondere RIA 2 bereits initial bei Trauma erhöht waren und anschließend abgefallen sind, sodass diese Signifikanz im Verlauf sich nicht zwangsläufig aus der diesbezüglichen Intervention ergeben muss. Dies wird unterstützt durch die kurze Halbwertszeit von TNF- $\alpha$  mit 14-18 Minuten <sup>89</sup>. Lokal zeigten sich in der bronchoalveolären Lavage keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen über alle Zeitpunkte (Abbildung 13). Im Urin war die TNF- $\alpha$  Konzentration nicht messbar. In einer Vergleichsstudie zwischen RIA und konventionellem *Reamer* zeigte sich kein signifikanter Anstieg von TNF- $\alpha$  über einen Zeitraum von 168 Stunden <sup>98</sup>. Jedoch wurden hier die Zeitpunkte mit wesentlich weiterem Abstand untereinander gewählt, als bei unserem Experiment, weswegen die initiale inflammatorische Antwort gegebenenfalls nicht realitätsnah abgebildet wurde. Interleukin-6 induziert nämlich gleichzeitig eine Down-Regulation von TNF- $\alpha$  <sup>31</sup>. Weitere aufgebaute Versuchsreihen zu TNF-alpha sind hierzu in der Literatur leider nicht beschrieben, da der Fokus in den Inflammationskaskaden primär auf den Interleukinen zu liegen scheint.

### **4.3. Vergleichen der RIA – Verfahren**

Der Zweck des so genannten *Reamings* ist das Aufbohren des intramedullären Knochenkanals zum Insertieren intramedullärer Nagelung, wie auch für weiterführende Bereiche wie das Sammeln von Knochenmaterial und Behandlung von pathologischen und nicht-pathologischen Defekten <sup>128</sup>. Das konventionelle *Reaming* erfolgt mittels eines partiell flexiblen Bohrarmes, welcher den Markraum aushöhlt, wobei jedoch einerseits Knochenfragmente sowie intramedulläres Fett in den Organismus freigesetzt werden <sup>118,122</sup>. Dies führt im schlimmsten Falle zu einer Fettembolie und kann für den Patienten ein fatales

*Outcome* bedeuten. Zudem erhitzt sich der intramedulläre Kanal durch die ungekühlte Bohrung, was zu Knochennekrosen und einer Verschlechterung von intraossärer Blutversorgung führen kann und den weiteren Heilungsverlauf verschlechtern kann <sup>103,115</sup>. In Bestreben, diese zentralen Nachteile des *Reamings* auszubessern, erfolgte demnach die Entwicklung des *Reaming-Irrigator-Aspirators* (RIA), der während des Bohrvorganges gleichzeitig kühlt und die Elemente, die während des Bohrvorganges freigesetzt werden (primär Knochen und Fett), absaugt <sup>136</sup>. Die beiden RIA Modelle unterscheiden sich primär in Bezug auf die Größe des Bohrkopfes, wobei der RIA Typ 2 zwei Millimeter weniger Durchmesser aufweist sowie eine verbesserte Spülfunktion und bessere Handhabung durch den Operateur<sup>104</sup>.

Anhand unserer Daten können wir soweit die obig benannten Punkte unterstützen. Zwar zeigten sich soweit keine relevanten Unterschiede zwischen dem konventionellen *Reaming* und den RIA-Verfahrensweisen, jedoch präsentierte sich insbesondere der RIA Typ 2 dem RIA Typ 1 überlegen in Hinblick auf die systemischen Inflammationswerte in Bezug auf die Interleukin-6 Konzentration (Abbildung 7) sowie die IL-6/IL-10 *ratio* (Abbildung 11). Da es sich bei dem RIA Typ 2 um ein Produkt handelt, welches in mehreren Punkten verbessert wurde im Vergleich zum RIA Typ 1 ist nicht direkt zu schlussfolgern, welche der Modifikationen hierbei die größte Rolle spielt, oder eben die Summe der einzelnen Optimierungen dieses Ziel erreicht hat.

Halvachizadeh et al. führten ein Tiermodell am Schwein durch, bei welchem die verschiedenen *Reamer* Typen (Konventionell, *Reamer 1*, *Reamer 2*) und intramedulläre Nagelung ohne *Reaming* untereinander verglichen wurden und evaluierten die Auswirkungen auf die Lunge anhand pulmonaler Parameter sowie CT-Kontrolle. Hierbei beschreiben sie einen protektiven Effekt auf die Lunge verglichen mit konventionellem *Reaming* oder Nagelung ohne *Reaming*. Hierbei scheint der Einsatz des RIA generell für die Versorgung im Rahmen des Safe Definitive Surgery geeignet zu sein <sup>29</sup>. Verglichen mit unseren Ergebnissen, in welchen die BAL der Gruppen «*conventional Reaming*» und «*RIA 2*» gegenüber der Sham Gruppe erhöht war, ist diese Aussage soweit zu unterstützen, da zwischen den Interventionsgruppen kein signifikanter Unterschied bestand.

Jedoch induzierte der RIA 1 tendenziell weniger lokal pulmonale Inflammation, aber ohne Signifikanz. Vergleichsstudien der verschiedenen RIA-Typen am Menschen sind in der Literatur zum jetzigen Zeitpunkt nicht beschrieben.

Auch trat bei einem unsere Versuchstiere, die mit konventionellem *Reaming* behandelt wurden eine Lungenembolie auf, in allen anderen Versuchsgruppen nicht. Dieses Ereignis ist nicht mit Signifikanz zu untermauern, jedoch ist bereits in vorherigen Vergleichsstudien das Auftreten von einzelnen Lungen/Fettembolien bei Benutzung des konventionellen *Reamer* beschrieben<sup>98,125</sup>. Es ist demnach zu vermuten, dass das Absaugen des intramedullären Fettes des RIA demnach eine protektive Eigenschaft in Bezug auf diese Komplikation aufweist.

In Bezug auf die Behandlung polytraumatisierter Patienten ist das Ziel, im Rahmen von *damage control surgery* möglichst wenig inflammatorische Prozesse zu triggern, um weiterführenden Komplikationen wie SIRS/Sepsis und Multiorganversagen vorzubeugen<sup>35</sup>. Gemessen hieran zeigt sich der RIA Typ 2 besser geeignet als sein Vorgänger. Wenn man das Auftreten der Lungenembolie als interventionsbezogene Komplikation des konventionellen *Reamer* betrachtet, zeigt sich der RIA Typ 2 auch dem konventionellen *Reaming* überlegen, da der einzige Todesfall in der Gruppe nur im Rahmen des Traumas auftrat und somit nicht mit der Versorgung durch den RIA Typ 2 selbst in Verbindung steht<sup>98,125</sup>

#### **4.4. Diskussion des Modells am Schwein – Vorteile und Nachteile**

Das Modell am Schwein bietet einige Vorteile. Zum einen ist es möglich, einen Grundspiegel für alle Daten zu erheben und somit eine Baseline abzubilden. In der Praxis ist dies nicht möglich, da man bei schwer verletzten Patienten keine Entnahmen von Proben vor dem Trauma erhalten kann. Polytraumatisierte Patienten werden nach dem Eintreffen der Rettungskräfte initial vital stabilisiert und dann während der „golden hour of shock“ in die nächstgelegene Klinik transportiert. Ein solches Prozedere erlaubt es aber nicht – alleine aufgrund der zeitlichen Diskrepanz zwischen Induktion des Traumas und Eintreffen der

Rettungskräfte – eine Baseline zu bestimmen oder die inflammatorische Reaktion direkt nach Traumainduktion zu bestimmen und somit den darauffolgenden Verlauf in Bezug setzen zu können. Das Modell am Schwein erlaubt sowohl standardisierte Ausgangspunkte, eine gleiche und somit besser in Bezug zu setzende Vergleichsgruppe und eine – aufgrund stattfindenden Akklimatisierungsphasen sowohl vor dem Versuch selbst wie auch vor dem Trauma – vergleichbare Ausgangssituation. Zudem kann bei dem Tiermodell eine standardisierte Verletzungsschwere ausgeübt werden. Diese Konstellation ist in der klinischen Praxis schwer zu replizieren, da sich viele unterschiedliche Traumakonstellationen in Bezug auf Schwere und Lokalisation ergeben.

Das Schwein bietet zudem ein hohes Blutvolumen, was essentiell ist um die kontinuierlich stattfindenden Blutabnahmen sowohl komplikationslos – wie auch ohne hämodynamische Folgen für das Tier selbst durchzuführen. Dies wäre beispielsweise nicht möglich, würde man als Versuchstiere Ratten oder Mäuse nehmen, welche aufgrund der wesentlich geringeren Blutmenge dafür nicht in der Lage wären. Aufgrund der Größe der Schweine können problemlos Hilfsmittel, Geräte und Zubehör verwendet werden, welches auch bei der Behandlung von Menschen zum Einsatz kommt. Besonders positiv ist dies in Hinblick auf den Einsatz des RIA Systems zu verzeichnen, welches problemlos auch beim Schwein aufgrund ähnlicher knöcherner Strukturen eingesetzt werden kann und Erkenntnisse daraus translatierbar auf den Menschen sind. Die Röntgenkontrolle mittels C-Bogen und die abschließende Ganzkörper-Computertomographie (CT) stellten dahingehend sowohl die Fraktur wie auch korrekte Lage des eingebrachten intramedullären Nagels sicher. Verschiedene Studien haben die immunologischen Reaktionen zwischen Menschen und porcinen Polytraumamodellen verglichen, um festzustellen, ob eine generelle Vergleichbarkeit vorliegt. Serve et al. beschreiben hierbei geringe Unterschiede, aber eine generelle Translatierbarkeit von porcinen Polytraumamodellen auf die klinische Praxis am Menschen <sup>141</sup>.

Eschbach et al. analysieren in einer Studie das Auftreten von adverse outcomes, insbesondere Mortalität und Multiorganversagen in einem Schweinmodell mit hämorrhagischem Schock und berichten von vergleichbarem Auftreten bei

menschlichen Polytrauma Patienten <sup>142</sup>. Generell sind experimentelle Modelle am Schwein aufgrund Ähnlichkeit in der Reaktion auf beispielsweise Trauma und Sepsis am besten geeignet, aufgrund dem Menschen ähnlichen, grundlegender anatomischer und physiologischer Eigenschaften <sup>143,144</sup>.

Insgesamt ist die Intubation über insgesamt 7.5 Stunden in unserem Modell nur selten in der klinischen Praxis anzutreffen. Polytraumatisierte Patienten unterliegen im Vergleich zu den Schweinen im Tiermodell häufig gängigen Volkskrankheiten und/oder Multimorbiditäten, welche sowohl eigenständig, wie auch im Rahmen der dahingehend eingenommenen Medikamente, zu veränderten hämodynamischen Konstellationen, beispielsweise bezüglich einer verminderten Gerinnung, führen. Auch kann die inflammatorische Reaktion durch Medikamenteneinnahme verändert sein. Zusammenfassend ist zu sagen, dass das Großtiermodell am Schwein eine gute Möglichkeit ist, um standardisiert die systemische und lokale Reaktion auf Traumata zu untersuchen, gleichzeitig bietet sich die Möglichkeit, die Versorgung so nahe wie möglich an der klinischen Praxis zu betreiben und somit eine gute Translationsfähigkeit zu gewährleisten.

#### **4.5. Limitationen der Studie**

Die Ergebnisse unseres Modells am Schwein sind naturbedingt einiger Limitationen unterworfen. Ein vertretbares Modell mit Simulation eines Polytraumas und geeigneter Vergleichsgruppe ist komplex in der Durchführung und muss natürlich auch dem Tierschutz entsprechen. Demzufolge waren alle Versuchstiere, inklusive der Vergleichsgruppe (sham) sediert und intubiert. Hierbei ist anzumerken, dass sowohl die Beatmung wie auch die konstante Gabe von Analgesie und Sedativa sowohl die inflammatorische Kaskade beeinflusst, die Blutzusammensetzung ändert und die Bewusstlosigkeit und Schmerzabsenz des Tieres die Reaktion des Körpers verändert. Die komplette Abwesenheit von Schmerz und Angst während des Traumas und im Verlauf der Behandlung mäßigt die Übertragbarkeit auf einen klassischen/menschlichen Schockraumpatienten. Auch werden durch die mehrstündige Beatmung der Tiere die Lungenwege auch lokal manipuliert und geschädigt im Rahmen eines Barotrauma, was auch Mitverursacher von inflammatorischen Reaktionen sein



kann. Auch wurde für die Evaluierung eines polytraumatisierten Patienten ein konstantes Verletzungsmuster gewählt, in welchem beispielsweise Verletzungen des Gehirns (intrazerebrale Blutungen) oder der Wirbelsäule und des Beckens nicht erfasst worden sind. Eine solche Verletzung wäre in dem Rahmen dieser Studie erschwert zu standardisiert durchzuführen und im Verlauf zu kontrollieren gewesen und hätte mutmasslich häufiger zu Todesfällen bei den Versuchstieren führen können.

Auch ist der Aspekt zu nennen, dass selbst die "sham" Vergleichsgruppe minimal operative Eingriffe bspw. im Rahmen des Legens eines Blasenkatheters und von Zugängen erfahren musste und somit nicht ganz ohne inflammatorische Immunreaktion bleibt. Dies aber, ebenso wie das Durchführen der Totalanästhesie war wichtig, um die Vergleichbarkeit der Gruppen zu erzielen. Auch ist anzunehmen, dass alle Gruppen eine gewisse Ausprägung eines Liegetraumas erfahren haben. Zwar wurden diese Tiere auch regelmässig umgelagert, aber verglichen mit den Interventionsgruppen dann doch aufgrund der Interventionen weniger manipuliert. Dies kann einen relevanten Einfluss auf die lokale Mikrozirkulation insbesondere im Bereich der Auflagefläche haben, was zu Minderperfusion in bestimmten Gewebsarealen führt <sup>145</sup>.

#### **4.6. Schlussfolgerung**

Die erhobenen Werte der IL-6/IL-10 Ratio legen nahe, dass das RIA-2 System dem RIA-1 System hinsichtlich der inflammatorischen Immunantwort überlegen ist. Zudem ist in der Gruppe „PT *conventional Reaming*“ sowohl ein vorzeitiger Exitus wie auch eine pulmonale Embolie aufgetreten, was darauf hindeuten kann, dass das *Outcome* durch Einsatz des RIA durch Vermeiden schwerwiegender intraoperativer Komplikationen verbessert werden kann. Da insbesondere in der Polytrauma-Versorgung die inflammatorische Reaktion von zentraler Relevanz zur Vorbeugung von relevanten Komplikationen (SIRS/Sepsis) ist, könnten diese Patienten im Rahmen der frühzeitigen Versorgung der langen Röhrenknochen von einer Behandlung mittels dem RIA Typ 2 profitieren. Inwieweit das RIA System generell in die Polytrauma-Versorgung einbezogen wird, ist aktuell noch unklar, insbesondere auch aufgrund der wesentlich höheren Kosten dieses

neueren Instrumentariums. Primär findet sich der Einsatzbereich in der elektiven Versorgung chronischer Knocheninfekte (Osteomyelitis), Falschgelenken (Pseudarthrosen) oder zur Gewinnung von Knochenmark aus den langen Röhrenknochen. Im Rahmen der primären Versorgung können lange Röhrenknochen per Marknagelung osteosynthetisch versorgt werden, dennoch entscheidet man sich bei stark traumatisierten Patienten mit hohem Risiko für eine überschießende inflammatorische Reaktion dann eher für eine (minimalinvasive) initiale externe Stabilisierung (Fixateur externe) mit definitiver Versorgung im Verlauf. Dennoch ist generell die Aspirationsfunktion des RIA von relevanter klinischer Bedeutung, da bei intramedullärem *Reaming* das fetthaltige Knochenmark freigesetzt wird und im schlimmsten Fall durch die Blutbahn in die Lunge zirkulieren kann. Dieses Risiko scheint bei Benutzung des RIA gemindert zu sein, da das Knochenmark parallel zum Bohren abgesaugt wird. Größere, prospektiv randomisierte Versuchsreihen am Menschen werden hierzu benötigt, um den weiteren klinischen Einsatz zu evaluieren.

## **5. Zusammenfassung**

### **5.1. Zusammenfassung (Deutsch)**

Im Rahmen der Versorgung von polytraumatisierten (schwerstverletzten) Patienten ist insbesondere die systemische Inflammation zu beachten. Durch das initiale Trauma ("first hit") kommt es zu einer systemischen Dysregulation der inflammatorischen Kaskaden, wobei sowohl eine überschießende (SIRS/Sepsis) wie auch unterschließende Reaktion (CARS) zu schweren Komplikationen wie Multiorganversagen bis hin zum Tod führen kann. Die notfallmässige chirurgische Versorgung fügt durch multiple Faktoren wie Weichteilverletzung, Blutverlust und Intubation dem Patienten einen "second hit" zu, welcher sich auf den "first hit" aufsummieren und besagte Komplikationen induzieren kann. Aufgrund dessen wurden verschiedene Therapiekonzepte entwickelt wie beispielsweise die "Damage control surgery", welche durch minimalinvasive Techniken die notfallmässig versorgungsbedürftigen Verletzungen temporär stabilisiert/versorgt, bis der Patient sich physiologisch stabilisiert und definitiv versorgt werden kann. Eine weitere Strategie stellt die „Safe Definitive Surgery“ dar, welche eine Synopsis bildet aus zu einer frühzeitiger definitiver Versorgung

gepaart mit minimalinvasiven Techniken, um während der Operation multipler Frakturen intraoperativ anhand der Physiologie des Patienten regelmäßig zu reevaluieren und daran zu adjustieren.

Bei der definitiven Versorgung von langen Röhrenknochen im Schaftbereich werden klinisch standardmässig Marknägel verwendet. Hierbei eröffnet man den langen Röhrenkochen am proximalen Eintrittspunkt, bohrt den Knochen intramedullär mittels "*Reamer*" auf und führt den Nagel ein, welchen man mittels Schrauben multidimensional in der Corticalis verriegelt. Hierbei stellt die intramedulläre Aufbohrung den kritischsten Schritt dar, da hierbei zum einen Knochenmark austritt und durch den Bohrer Thermonekrosen im Knochen auftreten können sowie auch Knochenpartikel austreten. Um diese Nachteile zu beheben, wurde der "*Reamer-Irrigator-Aspirator*" (RIA) entwickelt, welcher nebst der klassischen Bohrfunktion noch eine Spül-Saugfunktion innehat und somit parallel intramedullär eine Kühlung herbeiführt, wie auch das Knochenmark nebst Knochenpartikeln absaugt. Hiervon gibt es eine ältere (RIA 1) und eine neuere (RIA 2) Version, wobei sich diese geringfügig in Grösse des Bohrkopfes und der Saugfunktion wie auch im Handling unterscheiden. Wenig ist jedoch zum aktuellen Zeitpunkt bekannt, welche Auswirkungen diese unterschiedlichen Versionen verglichen mit dem konventionellen "*Reamer* haben". Um dies näher zu evaluieren, wurde ein standardisiertes Polytrauma-Modell an 30 Schweinen (*Sus scrofa*) durchgeführt. Unter konstanter Analgesie wurde nach Erreichen einer standardisierten Baseline an 24 der Tiere ein Polytrauma, bestehend aus unilateraler Femurfraktur, stumpfem Thoraxtrauma inklusive Leberlazeration und hämorrhagischem Schock ausgeübt. Sechs Tiere fungierten als Kontrollgruppe (sham), welche kein Trauma sowie Therapie erhielten, aber sonst gleich behandelt wurden. Die polytraumatisierten Tiere erhielten Therapie nach Schockraum- und ATLS Versorgung nach dem Trauma. Bestehend aus "Abdominal Packing", Kreislaufstabilisierung und Versorgung der Femurfraktur mittels intramedullärer Nagelung. Die 24 polytraumatisierten Versuchstiere wurden bezüglich der Versorgung der Femurfraktur in drei Gruppen aufgeteilt: 1) Konventionelles *Reaming*, 2) RIA 1 und 3) RIA 2. An sechs Zeitpunkte (t1 (-1.5h) - t6 (6h)) über 7.5 Stunden erfolgten regelmäßige Blut- wie Urinentnahmen und eine bronchoalveoläre Lavage vor fachgerechtem Exitus am letzten Zeitpunkt.

Anschließend wurde mittels ELISA in besagten Proben das Interleukin-6, Interleukin-8, Interleukin-10 und Tumornekrosefaktor-alpha bestimmt und statistische Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt.

Die Ergebnisse legen nahe, dass die Verwendung des *Reamer-Irrigator-Aspirator* Typ 2 aufgrund spezifischer Modifikationen verglichen mit seinem Vorgänger (RIA Typ 1) eine geringere inflammatorische Immunantwort aufweist. Verglichen mit dem konventionellen *Reaming* konnte in unserer Versuchsreihe in Hinblick auf entzündliche Mediatoren systemisch wie lokal kein Unterschied zu der Versorgung mittels RIA aufgezeigt werden. Jedoch präsentierte sich bei der Benutzung des konventionellen *Reamers* auch in unserer Versuchsreihe das Auftreten einer Fett/Lungenembolie, was bereits in der Literatur als eine gängige Komplikation dieses Instrumentariums beschrieben wird. Zusammenfassend ist der *Reaming-Irrigator-Aspirator* eine modernisierte Version des konventionellem *Reamers*, welcher multiple Vorteile aufweist, jedoch im Rahmen der Kostensenkung wahrscheinlich erst im weiteren zeitlichen Verlauf regelmäßige Anwendung in der Klinik finden wird.

## **5.2. Zusammenfassung (Englisch)**

When caring for polytraumatized (severely injured) patients, particular attention must be paid to systemic inflammation. The initial trauma ("first hit") leads to a systemic dysregulation of the inflammatory cascades, whereby both an excessive (SIRS/SEPSIS) and an insufficient reaction (CARS) can lead to severe complications such as multi-organ failure and even death. Emergency surgical care inflicts a "second hit" on the patient due to multiple factors such as soft tissue injury, blood loss and intubation, which can add up to the "first hit" and induce said complications. Because of this, various therapy concepts have been developed, such as "damage control surgery", which uses minimally invasive techniques to temporarily stabilize/supply the injuries requiring emergency care until the patient is physiologically stabilized and can be definitively treated. Another strategy is "safe definitive surgery", which forms a synopsis of early definitive treatment paired with minimally invasive techniques in order to regularly

re-evaluate and adjust intraoperatively during the operation of multiple fractures on the basis of the patient's physiology.

For the definitive restoration of long tubular bones in the shaft region, intramedullary nails are clinically used as standard. The long tubular bone is opened at the proximal entry point, the bone is reamed intramedullarily using a *Reamer* and the nail is inserted, which is locked multidimensionally in the corticalis using screws. The intramedullary *Reaming* is the most critical step, as bone marrow can escape and thermonecrosis can occur in the bone due to the drill, as well as bone particles. In order to overcome these disadvantages, the "*Reamer-Irrigator-Aspirator*" (RIA) was developed, which, in addition to the classic drilling function, also has an irrigation-suction function and thus simultaneously brings about intramedullary cooling and sucks out the bone marrow and bone particles. There is an older version (RIA 1) and a newer version (RIA 2), which differ slightly in the size of the drill head and the suction function as well as handling. However, little is currently known about the impact of these different versions compared to the *conventional "Reamer"*. To evaluate this more closely, a standardized polytrauma model was performed on 30 pigs (*Sus scrofa*). Under constant analgesia, a polytrauma consisting of unilateral femur fracture, blunt thoracic trauma including liver laceration and haemorrhagic shock was administered to 24 of the animals after a standardised baseline was reached. Six animals functioned as a control group (sham), which did not receive trauma and therapy, but were otherwise treated in the same way. The polytrauma animals received therapy after shock room and ATLS care after trauma. This consisted of abdominal packing, circulatory stabilization and treatment of the femur fracture with intramedullary nailing. The 24 polytrauma animals were divided into three groups for femoral fracture management: 1) *conventional Reaming*, 2) RIA 1 and 3) RIA 2. Regular blood and urine samples were taken at six time points over 7.5 hours and a bronchoalveolar lavage was performed before professional exit at the last time point. Subsequently, interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha were determined by ELISA in said samples and statistical differences between the groups were determined.

The results showed that the *Reamer-Irrigator-Aspirator* type 2 has a lower inflammatory immune response compared to its predecessor (RIA type 1) due to specific modifications. Compared to *conventional Reaming*, our series of tests showed no difference in terms of inflammatory mediators systemically or locally compared to RIA care. However, the use of the *conventional Reamer* in our series of tests also showed the occurrence of a fat/lung embolism, which is already described in the literature as a common complication of this instrument. In summary, the *Reaming-irrigator-aspirator* is a modernized version of the *conventional Reamer*, which has multiple advantages, but in the context of cost reduction will probably only find regular use in the clinic in the further course of time.

## 6. Literatur

1. Sakran JV, Greer SE, Werlin E, McCunn M. Care of the injured worldwide: trauma still the neglected disease of modern society. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2012;20:64. doi:10.1186/1757-7241-20-64.
2. Probst C, Pape H-C, Hildebrand F, et al. 30 years of polytrauma care: An analysis of the change in strategies and results of 4849 cases treated at a single institution. *Injury*. 2009;40(1):77-83. doi:10.1016/j.injury.2008.10.004.
3. El Mestoui Z, Jalalzadeh H, Giannakopoulos GF, Zuidema WP. Incidence and etiology of mortality in polytrauma patients in a Dutch level I trauma center. *Eur J Emerg Med*. 2017;24(1):49-54. doi:10.1097/MEJ.0000000000000293.
4. Huber-Lang M, Lambris JD, Ward PA. Innate immune responses to trauma. *Nat Immunol*. 2018;19(4):327-341. doi:10.1038/s41590-018-0064-8.
5. Relja B, Mörs K, Marzi I. Danger signals in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(3):301-316. doi:10.1007/s00068-018-0962-3.
6. Rau C-S, Wu S-C, Kuo P-J, et al. Polytrauma Defined by the New Berlin Definition: A Validation Test Based on Propensity-Score Matching Approach. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(9). doi:10.3390/ijerph14091045.
7. Sikand M, Williams K, White C, Moran CG. The financial cost of treating polytrauma: implications for tertiary referral centres in the United Kingdom. *Injury*. 2005;36(6):733-737. doi:10.1016/j.injury.2004.12.026.
8. Biewener A, Aschenbrenner U, Rammelt S, Grass R, Zwipp H. Impact of helicopter transport and hospital level on mortality of polytrauma patients. *J Trauma*. 2004;56(1):94-98. doi:10.1097/01.TA.0000061883.92194.50.
9. Hildebrand F, Giannoudis P, Krettek C, Pape H-C. Damage control: extremities. *Injury*. 2004;35(7):678-689. doi:10.1016/j.injury.2004.03.004.
10. Pape HC, Remmers D, Rice J, Ebisch M, Krettek C, Tscherne H. Appraisal of early evaluation of blunt chest trauma: development of a standardized scoring system for initial clinical decision making. *J Trauma*. 2000;49(3):496-504. doi:10.1097/00005373-200009000-00018.
11. McLain RF. Functional outcomes after surgery for spinal fractures: return to work and activity. *Spine*. 2004;29(4):470-7; discussion Z6. doi:10.1097/01.brs.0000092373.57039.fc.
12. Boyd CR, Tolson MA, Copes WS. Evaluating trauma care: the TRISS method. Trauma Score and the Injury Severity Score. *J Trauma*. 1987;27(4):370-378.
13. Palmer C. Major trauma and the injury severity score--where should we set the bar? *Annu Proc Assoc Adv Automot Med*. 2007;51:13-29.
14. Sasser SM, Hunt RC, Faul M, et al. Guidelines for field triage of injured patients: recommendations of the National Expert Panel on Field Triage, 2011. *MMWR Recomm Rep*. 2012;61(RR-1):1-20.
15. Brown JB, Gestring ML, Leeper CM, et al. The value of the injury severity score in pediatric trauma: Time for a new definition of severe injury? *J Trauma Acute Care Surg*. 2017;82(6):995-1001. doi:10.1097/TA.0000000000001440.

16. Tscherne H, Trentz O. Mehrfachverletzungen. In: Heberer G, Köle W, Tscherne H, eds. *Chirurgie: Lehrbuch für Studierende der Medizin und Ärzte*. Vierte, neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 1983:655-658.
17. Baker SP, O'Neill B, Haddon W, Long WB. The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *J Trauma*. 1974;14(3):187-196.
18. Yang B, Bundkirchen K, Krettek C, Relja B, Neunaber C. Traumatic injury pattern is of equal relevance as injury severity for experimental (poly)trauma modeling. *Sci Rep*. 2019;9(1):5706. doi:10.1038/s41598-019-42085-1.
19. Gennarelli TA, Wodzin E. AIS 2005: a contemporary injury scale. *Injury*. 2006;37(12):1083-1091. doi:10.1016/j.injury.2006.07.009.
20. Pape H-C, Lefering R, Butcher N, et al. The definition of polytrauma revisited: An international consensus process and proposal of the new 'Berlin definition'. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;77(5):780-786. doi:10.1097/TA.0000000000000453.
21. Butcher N, Balogh ZJ. The definition of polytrauma: the need for international consensus. *Injury*. 2009;40 Suppl 4:S12-22. doi:10.1016/j.injury.2009.10.032.
22. Paffrath T, Lefering R, Flohé S. How to define severely injured patients? -- an Injury Severity Score (ISS) based approach alone is not sufficient. *Injury*. 2014;45 Suppl 3:S64-9. doi:10.1016/j.injury.2014.08.020.
23. Elsoe R, Ceccotti AA, Larsen P. Population-based epidemiology and incidence of distal femur fractures. *Int Orthop*. 2018;42(1):191-196. doi:10.1007/s00264-017-3665-1.
24. Laupland KB, Svenson LW, Grant V, Ball CG, Mercado M, Kirkpatrick AW. Long-term mortality outcome of victims of major trauma. *Injury*. 2010;41(1):69-72. doi:10.1016/j.injury.2009.06.006.
25. Kristiansen T, Søreide K, Ringdal KG, et al. Trauma systems and early management of severe injuries in Scandinavia: review of the current state. *Injury*. 2010;41(5):444-452. doi:10.1016/j.injury.2009.05.027.
26. Keel M, Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury*. 2005;36(6):691-709. doi:10.1016/j.injury.2004.12.037.
27. Pfeifer R, Pape H-C. Diagnostik und Versorgungsstrategien beim polytraumatisierten Patienten. *Chirurg*. 2016;87(2):165-73; quiz 174-5. doi:10.1007/s00104-015-0139-0.
28. Tschoeke SK, Hellmuth M, Hostmann A, Ertel W, Oberholzer A. The early second hit in trauma management augments the proinflammatory immune response to multiple injuries. *J Trauma*. 2007;62(6):1396-403; discussion 1403-4. doi:10.1097/TA.0b013e318047b7f0.
29. Halvachizadeh S, Teuben M, Lempert M, et al. Protective effects of new femoral *Reaming* techniques (*Reamer* irrigator aspirator, RIA I and II) on pulmonary function and posttraumatic contusion (CT morphology) - results from a standardized large animal model. *Injury*. 2021;52(1):26-31. doi:10.1016/j.injury.2020.10.027.
30. Lackner I, Weber B, Miclau T, et al. *Reaming* of femoral fractures with different *Reaming* irrigator aspirator systems shows distinct effects on



- cardiac function after experimental polytrauma. *J Orthop Res*. 2020;38(12):2608-2618. doi:10.1002/jor.24830.
31. Hartsock LA, Barfield WR, Kokko KP, et al. Randomized prospective clinical trial comparing *Reamer* irrigator aspirator (RIA) to standard *Reaming* (SR) in both minimally injured and multiply injured patients with closed femoral shaft fractures treated with reamed intramedullary nailing (IMN). *Injury*. 2010;41 Suppl 2:S94-8. doi:10.1016/S0020-1383(10)70018-8.
  32. Kanakaris NK, Morell D, Gudipati S, Britten S, Giannoudis PV. *Reaming* Irrigator Aspirator system: Early experience of its multipurpose use. *Injury*. 2011;42:S28-S34. doi:10.1016/S0020-1383(11)70009-2.
  33. van Gorp CC, Falk JV, Kmiec SJ, Siston RA. The *Reamer/irrigator/aspirator* reduces femoral canal pressure in simulated TKA. *Clin Orthop Relat Res*. 2009;467(3):805-809. doi:10.1007/s11999-008-0258-8.
  34. K. Bartolomeos, Caroline Chebiwot Kipsaina, N. Grills, J. Ozanne-Smith, M. Peden. Fatal injury surveillance in mortuaries and hospitals: a manual for practitioners. *undefined*. 2012. <https://www.semanticscholar.org/paper/Fatal-injury-surveillance-in-mortuaries-and-a-for-Bartolomeos-Kipsaina/e4a1ae8e42f304a1c0c85b196870cd65f78e2590>.
  35. Brøchner AC, Toft P. Pathophysiology of the systemic inflammatory response after major accidental trauma. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2009;17:43. doi:10.1186/1757-7241-17-43.
  36. Moore FA, Moore EE. The evolving rationale for early enteral nutrition based on paradigms of multiple organ failure: a personal journey. *Nutr Clin Pract*. 2009;24(3):297-304. doi:10.1177/0884533609336604.
  37. Gerech R. The lethal triad. Hypothermia, acidosis & coagulopathy create a deadly cycle for trauma patients. *JEMS*. 2014;39(4):56-60.
  38. Moore EE. Staged laparotomy for the hypothermia, acidosis, and coagulopathy syndrome. *The American Journal of Surgery*. 1996;172(5):405-410. doi:10.1016/S0002-9610(96)00216-4.
  39. Relja B, Land WG. Damage-associated molecular patterns in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2019. doi:10.1007/s00068-019-01235-w.
  40. Nast-Kolb D, Waydhas C, Gippner-Steppert C, et al. Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1997;42(3):446-54; discussion 454-5. doi:10.1097/00005373-199703000-00012.
  41. Svoboda P, Kantorová I, Ochmann J. Dynamics of interleukin 1, 2, and 6 and tumor necrosis factor alpha in multiple trauma patients. *J Trauma*. 1994;36(3):336-340. doi:10.1097/00005373-199403000-00009.
  42. Ferguson KL, Taheri P, Rodriguez J, Tonapi V, Cardellio A, Dechert R. Tumor necrosis factor activity increases in the early response to trauma. *Acad Emerg Med*. 1997;4(11):1035-1040. doi:10.1111/j.1553-2712.1997.tb03676.x.
  43. Sauaia A, Moore FA, Moore EE. Postinjury Inflammation and Organ Dysfunction. *Crit Care Clin*. 2017;33(1):167-191. doi:10.1016/j.ccc.2016.08.006.
  44. Rutz S, Ouyang W. Regulation of Interleukin-10 Expression. *Adv Exp Med Biol*. 2016;941:89-116. doi:10.1007/978-94-024-0921-5\_5.

45. Moore KW, Waal Malefyt R de, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683-765. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.683.
46. Giannoudis PV, Smith RM, Perry SL, Windsor AJ, Dickson RA, Bellamy MC. Immediate IL-10 expression following major orthopaedic trauma: relationship to anti-inflammatory response and subsequent development of sepsis. *Intensive Care Med*. 2000;26(8):1076-1081. doi:10.1007/s001340051320.
47. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, et al. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012;72(6):1491-1501. doi:10.1097/TA.0b013e318256e000.
48. Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, et al. A genomic storm in critically injured humans. *J Exp Med*. 2011;208(13):2581-2590. doi:10.1084/jem.20111354.
49. Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*. 1995;86(4):1243-1254.
50. Sapan HB, Paturusi I, Islam AA, et al. Interleukin-6 and interleukin-10 plasma levels and mRNA expression in polytrauma patients. *Chin J Traumatol*. 2017;20(6):318-322. doi:10.1016/j.cjtee.2017.05.003.
51. Nast-Kolb D, Waydhas C, Gippner-Steppert C, et al. Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1997;42(3):446-54; discussion 454-5. doi:10.1097/00005373-199703000-00012.
52. Meisner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care*. 2005;11(5):473-480. doi:10.1097/01.ccx.0000176694.92883.ce.
53. Castell JV, Geiger T, Gross V, et al. Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *Eur J Biochem*. 1988;177(2):357-361. doi:10.1111/j.1432-1033.1988.tb14384.x.
54. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*. 1990;265(3):621-636. doi:10.1042/bj2650621.
55. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(10):a016295. doi:10.1101/cshperspect.a016295.
56. Hack CE, Groot ER de, Felt-Bersma RJ, et al. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood*. 1989;74(5):1704-1710.
57. Qiao Z, Wang W, Yin L, et al. Using IL-6 concentrations in the first 24 h following trauma to predict immunological complications and mortality in trauma patients: a meta-analysis. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(5):679-687. doi:10.1007/s00068-017-0880-9.
58. Sapan HB, Paturusi I, Islam AA, et al. Interleukin-6 and interleukin-10 plasma levels and mRNA expression in polytrauma patients. *Chin J Traumatol*. 2017;20(6):318-322. doi:10.1016/j.cjtee.2017.05.003.
59. Sapan HB, Paturusi I, Jusuf I, et al. Pattern of cytokine (IL-6 and IL-10) level as inflammation and anti-inflammation mediator of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in polytrauma. *Int J Burns Trauma*. 2016;6(2):37-43.
60. Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, et al. Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol*. 1989;143(12):3949-3955.

61. Tomino Y, Funabiki K, Ohmuro H, et al. Urinary levels of interleukin-6 and disease activity in patients with IgA nephropathy. *Am J Nephrol.* 1991;11(6):459-464. doi:10.1159/000168359.
62. Dohi K, Iwano M, Muraguchi A, et al. The prognostic significance of urinary interleukin 6 in IgA nephropathy. *Clin Nephrol.* 1991;35(1):1-5.
63. Gordon C, Richards N, Howie AJ, et al. Urinary IL-6: a marker for mesangial proliferative glomerulonephritis? *Clin Exp Immunol.* 1991;86(1):145-149. doi:10.1111/j.1365-2249.1991.tb05787.x.
64. Easton R, Balogh ZJ. Peri-operative changes in serum immune markers after trauma: a systematic review. *Injury.* 2014;45(6):934-941. doi:10.1016/j.injury.2013.12.002.
65. Muehlstedt SG, Richardson CJ, Lyte M, Rodriguez JL. Systemic and pulmonary effector cell function after injury. *Crit Care Med.* 2002;30(6):1322-1326. doi:10.1097/00003246-200206000-00029.
66. Keel M, Ecknauer E, Stocker R, et al. Different pattern of local and systemic release of proinflammatory and anti-inflammatory mediators in severely injured patients with chest trauma. *J Trauma.* 1996;40(6):907-12; discussion 912-4. doi:10.1097/00005373-199606000-00008.
67. Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma. *Crit Care Med.* 1997;25(11):1813-1819. doi:10.1097/00003246-199711000-00018.
68. Aggarwal A, Baker CS, Evans TW, Haslam PL. G-CSF and IL-8 but not GM-CSF correlate with severity of pulmonary neutrophilia in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 2000;15(5):895-901. doi:10.1034/j.1399-3003.2000.15e14.x.
69. Tang R, Zhou J, Cheng M, Nie Y, Wu J, Chen H. Time-dependent increase of interleukin-8 production in endothelial cells exposed to fluid shear stress. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* 2004;21(1):34-37.
70. Murakami H, Nakao A, Kishimoto W, Nakano M, Takagi H. Detection of O<sub>2</sub>-generation and neutrophil accumulation in rat lungs after acute necrotizing pancreatitis. *Surgery.* 1995;118(3):547-554. doi:10.1016/s0039-6060(05)80372-1.
71. Raymondos K, Martin MU, Schmudlach T, et al. Early alveolar and systemic mediator release in patients at different risks for ARDS after multiple trauma. *Injury.* 2012;43(2):189-195. doi:10.1016/j.injury.2011.05.034.
72. Robb CT, Regan KH, Dorward DA, Rossi AG. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. *Semin Immunopathol.* 2016;38(4):425-448. doi:10.1007/s00281-016-0560-6.
73. Martin TR. Lung cytokines and ARDS: Roger S. Mitchell Lecture. *Chest.* 1999;116(1 Suppl):2S-8S. doi:10.1378/chest.116.suppl\_1.2s.
74. Pugin J, Ricou B, Steinberg KP, Suter PM, Martin TR. Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ARDS, a prominent role for interleukin-1. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153(6 Pt 1):1850-1856. doi:10.1164/ajrccm.153.6.8665045.
75. Bouros D, Alexandrakis MG, Antoniou KM, et al. The clinical significance of serum and bronchoalveolar lavage inflammatory cytokines in patients at risk

- for Acute Respiratory Distress Syndrome. *BMC Pulm Med*. 2004;4:6. doi:10.1186/1471-2466-4-6.
76. Bhatia RK, Pallister I, Dent C, Jones SA, Topley N. Enhanced neutrophil migratory activity following major blunt trauma. *Injury*. 2005;36(8):956-962. doi:10.1016/j.injury.2005.03.009.
77. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343(2):108-117. doi:10.1056/NEJM200007133430207.
78. Fudala R, Krupa A, Stankowska D, Allen TC, Kurdowska AK. Anti-interleukin-8 autoantibody:interleukin-8 immune complexes in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Clin Sci*. 2008;114(6):403-412. doi:10.1042/CS20070272.
79. Kurdowska AK, Geiser TK, Alden SM, et al. Activity of pulmonary edema fluid interleukin-8 bound to alpha(2)-macroglobulin in patients with acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002;282(5):L1092-8. doi:10.1152/ajplung.00378.2001.
80. Störmann P, Auner B, Schimunek L, et al. Leukotriene B4 indicates lung injury and on-going inflammatory changes after severe trauma in a porcine long-term model. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2017;127:25-31. doi:10.1016/j.plefa.2017.09.014.
81. Huber AR, Kunkel SL, Todd RF, Weiss SJ. Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin-8. *Science*. 1991;254(5028):99-102. doi:10.1126/science.1718038.
82. Masclans JR, Sabater J, Sacanell J, et al. Possible prognostic value of leukotriene B(4) in acute respiratory distress syndrome. *Respir Care*. 2007;52(12):1695-1700.
83. Amat M, Barcons M, Mancebo J, et al. Evolution of leukotriene B4, peptide leukotrienes, and interleukin-8 plasma concentrations in patients at risk of acute respiratory distress syndrome and with acute respiratory distress syndrome: mortality prognostic study. *Crit Care Med*. 2000;28(1):57-62. doi:10.1097/00003246-200001000-00009.
84. Lyons A, Kelly JL, Rodrick ML, Mannick JA, Lederer JA. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection. *Ann Surg*. 1997;226(4):450-8; discussion 458-60. doi:10.1097/00000658-199710000-00006.
85. Syto R, Murgolo NJ, Braswell EH, Mui P, Huang E, Windsor WT. Structural and biological stability of the human interleukin 10 homodimer. *Biochemistry*. 1998;37(48):16943-16951. doi:10.1021/bi981555y.
86. Sherry RM, Cue JI, Goddard JK, Parramore JB, DiPiro JT. Interleukin-10 is associated with the development of sepsis in trauma patients. *J Trauma*. 1996;40(4):613-6; discussion 616-7. doi:10.1097/00005373-199604000-00016.
87. Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care part II: clinical implications. *J Intensive Care Med*. 2011;26(2):73-87. doi:10.1177/0885066610384188.
88. Stensballe J, Christiansen M, Tønnesen E, Espersen K, Lippert FK, Rasmussen LS. The early IL-6 and IL-10 response in trauma is correlated

- with injury severity and mortality. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2009;53(4):515-521. doi:10.1111/j.1399-6576.2008.01801.x.
89. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000;117(4):1162-1172. doi:10.1378/chest.117.4.1162.
  90. Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14(3-4):185-191. doi:10.1016/s1359-6101(03)00022-4.
  91. Echtenacher B, Hültner L, Männel DN. Cellular and molecular mechanisms of TNF protection in septic peritonitis. *J Inflamm*. 1995;47(1-2):85-89.
  92. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-508. doi:10.1378/chest.118.2.503.
  93. Rother K, Hänsch GM, Rauterberg EW. Complement in inflammation: induction of nephritides and progress to chronicity. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;94(1-4):23-37. doi:10.1159/000235320.
  94. Schönermark M, Deppisch R, Riedasch G, Rother K, Hänsch GM. Induction of mediator release from human glomerular mesangial cells by the terminal complement components C5b-9. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;96(4):331-337. doi:10.1159/000235517.
  95. Bertani T, Abbate M, Zoja C, et al. Tumor necrosis factor induces glomerular damage in the rabbit. *Am J Pathol*. 1989;134(2):419-430.
  96. Beal AL, Cerra FB. Multiple organ failure syndrome in the 1990s. Systemic inflammatory response and organ dysfunction. *JAMA*. 1994;271(3):226-233.
  97. Hall JA, McKee MD, Vicente MR, et al. Prospective Randomized Clinical Trial Investigating the Effect of the *Reamer-Irrigator-Aspirator* on the Volume of Embolic Load and Respiratory Function During Intramedullary Nailing of Femoral Shaft Fractures. *J Orthop Trauma*. 2017;31(4):200-204. doi:10.1097/BOT.0000000000000744.
  98. Giannoudis PV, Tan HB, Perry S, Tzioupis C, Kanakaris NK. The systemic inflammatory response following femoral canal *Reaming* using the *Reamer-Irrigator-Aspirator* (RIA) device. *Injury*. 2010;41 Suppl 2:S57-61. doi:10.1016/S0020-1383(10)70011-5.
  99. Husebye EE, Lyberg T, Opdahl H, Laurvik H, Røise O. Cardiopulmonary response to reamed intramedullary nailing of the femur comparing traditional *Reaming* with a one-step *Reamer-Irrigator-Aspirator Reaming* system: an experimental study in pigs. *J Trauma*. 2010;69(4):E6-14. doi:10.1097/TA.0b013e3181d27928.
  100. Gebhard F, Huber-Lang M. Polytrauma--pathophysiology and management principles. *Langenbecks Arch Surg*. 2008;393(6):825-831. doi:10.1007/s00423-008-0334-2.
  101. RIA 2 System: next generation *Reamer-Irrigator-Aspirator*. <https://www.aofoundation.org/approved/approvedsolutionsfolder/2020/ria-2-system-next-generation-Reamer-Irrigator-Aspirator#tab=details;>. Updated September 13, 2022. Accessed September 13, 2022.
  102. Pfeifer R, Kobbe P, Knobe M, Pape H-C. Das *Reamer-Irrigator-Aspirator* (RIA)-System. *Oper Orthop Traumatol*. 2011;23(5):446-452. doi:10.1007/s00064-011-0117-8.

103. Higgins TF, Casey V, Bachus K. Cortical heat generation using an irrigating/aspirating single-pass *Reaming* vs *conventional* stepwise *Reaming*. *J Orthop Trauma*. 2007;21(3):192-197. doi:10.1097/BOT.0b013e318038d952.
104. Pape H-C, Zelle BA, Hildebrand F, Giannoudis PV, Krettek C, van Griensven M. Reamed femoral nailing in sheep: does irrigation and aspiration of intramedullary contents alter the systemic response? *J Bone Joint Surg Am*. 2005;87(11):2515-2522. doi:10.2106/JBJS.D.02024.
105. *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8. ed., 2. printing. Washington, D.C.: National Academies Press; 2011. <http://dx.doi.org/10.17226/12910>.
106. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8(6):e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412.
107. *Advanced trauma life support: Student course manual*. Tenth edition. Chicago, IL: American College of Surgeons; 2018.
108. Bouillon B, Marzi I. The updated German "Polytrauma - Guideline": an extensive literature evaluation and treatment recommendation for the care of the critically injured patient. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(Suppl 1):1. doi:10.1007/s00068-018-0949-0.
109. Rudloff MI, Smith WR. Intramedullary nailing of the femur: current concepts concerning *Reaming*. *J Orthop Trauma*. 2009;23(5 Suppl):S12-7. doi:10.1097/BOT.0b013e31819f258a.
110. Larsen LB, Madsen JE, Høiness PR, Øvre S. Should insertion of intramedullary nails for tibial fractures be with or without *Reaming*? A prospective, randomized study with 3.8 years' follow-up. *J Orthop Trauma*. 2004;18(3):144-149. doi:10.1097/00005131-200403000-00003.
111. Forster MC, Aster AS, Ahmed S. *Reaming* during anterograde femoral nailing: is it worth it? *Injury*. 2005;36(3):445-449. doi:10.1016/j.injury.2004.07.031.
112. Anwar IA, Battistella FD, Neiman R, Olson SA, Chapman MW, Moehring HD. Femur fractures and lung complications: a prospective randomized study of *Reaming*. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;(422):71-76.
113. Bone LB, Anders MJ, Rohrbacher BJ. Treatment of femoral fractures in the multiply injured patient with thoracic injury. *Clin Orthop Relat Res*. 1998;(347):57-61.
114. Bone LB, Babikian G, Stegemann PM. Femoral canal *Reaming* in the polytrauma patient with chest injury. A clinical perspective. *Clin Orthop Relat Res*. 1995;(318):91-94.
115. Duwelius PJ, Huckfeldt R, Mullins RJ, et al. The effects of femoral intramedullary *Reaming* on pulmonary function in a sheep lung model. *J Bone Joint Surg Am*. 1997;79(2):194-202. doi:10.2106/00004623-199702000-00005.
116. Pape HC, Auf'm Kolk M, Paffrath T, Regel G, Sturm JA, Tscherne H. Primary intramedullary femur fixation in multiple trauma patients with associated lung contusion--a cause of posttraumatic ARDS? *J Trauma*.

- 1993;34(4):540-7; discussion 547-8. doi:10.1097/00005373-199304000-00010.
117. Johnson KD, Cadambi A, Seibert GB. Incidence of adult respiratory distress syndrome in patients with multiple musculoskeletal injuries: effect of early operative stabilization of fractures. *J Trauma*. 1985;25(5):375-384. doi:10.1097/00005373-198505000-00001.
118. Manning JB, Bach AW, Herman CM, Carrico CJ. Fat release after femur nailing in the dog. *J Trauma*. 1983;23(4):322-326. doi:10.1097/00005373-198304000-00009.
119. Pape HC, Dwenger A, Regel G, et al. Pulmonary damage after intramedullary femoral nailing in traumatized sheep--is there an effect from different nailing methods? *J Trauma*. 1992;33(4):574-581. doi:10.1097/00005373-199210000-00014.
120. Riska EB, Myllynen P. Fat embolism in patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1982;22(11):891-894. doi:10.1097/00005373-198211000-00001.
121. Robinson CM, Ludlam CA, Ray DC, Swann DG, Christie J. The coagulative and cardiorespiratory responses to reamed intramedullary nailing of isolated fractures. *J Bone Joint Surg Br*. 2001;83(7):963-973. doi:10.1302/0301-620x.83b7.11593.
122. van Os JP, Roumen RM, Schoots FJ, Heystraten FM, Goris RJ. Is early osteosynthesis safe in multiple trauma patients with severe thoracic trauma and pulmonary contusion? *J Trauma*. 1994;36(4):495-498. doi:10.1097/00005373-199404000-00006.
123. Wenda K, Runkel M, Degreif J, Ritter G. Pathogenesis and clinical relevance of bone marrow embolism in medullary nailing--demonstrated by intraoperative echocardiography. *Injury*. 1993;24 Suppl 3:S73-81. doi:10.1016/0020-1383(93)90011-t.
124. Giannoudis PV. Current concepts of the inflammatory response after major trauma: an update. *Injury*. 2003;34(6):397-404. doi:10.1016/s0020-1383(02)00416-3.
125. Giannoudis PV, Smith RM, Banks RE, Windsor AC, Dickson RA, Guillou PJ. Stimulation of inflammatory markers after blunt trauma. *Br J Surg*. 1998;85(7):986-990. doi:10.1046/j.1365-2168.1998.00770.x.
126. Lasanianos NG, Kanakaris NK, Giannoudis PV. Intramedullary nailing as a 'second hit' phenomenon in experimental research: lessons learned and future directions. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(9):2514-2529. doi:10.1007/s11999-009-1191-1.
127. Giannoudis PV, Giannoudi M, Stavlas P. Damage control orthopaedics: lessons learned. *Injury*. 2009;40 Suppl 4:S47-52. doi:10.1016/j.injury.2009.10.036.
128. Forster MC. Should the tibia be reamed with nailing? *Injury*. 2006;37(9):923. doi:10.1016/j.injury.2006.03.032.
129. Karunakar MA, Frankenburg EP, Le TT, Hall J. The thermal effects of intramedullary Reaming. *J Orthop Trauma*. 2004;18(10):674-679. doi:10.1097/00005131-200411000-00004.
130. Müller CA, Schavan R, Frigg R, Perren SM, Pfister U. Intramedullary pressure increase for different commercial and experimental Reaming

- systems: an experimental investigation. *J Orthop Trauma*. 1998;12(8):540-546. doi:10.1097/00005131-199811000-00002.
131. Flexible Monobloc *Reamers*.  
<https://www.aofoundation.org/approved/approvedsolutionsfolder/2021/flexible-monobloc-Reamers#tab=details>; Updated September 13, 2022. Accessed September 13, 2022.
  132. Mueller CA, Rahn BA. Intramedullary pressure increase and increase in cortical temperature during *Reaming* of the femoral medullary cavity: the effect of draining the medullary contents before *Reaming*. *J Trauma*. 2003;55(3):495-503; discussion 503.  
doi:10.1097/01.TA.0000075919.53201.7D.
  133. Giannoudis PV, Tzioupis C, Green J. Surgical techniques: how I do it? The *Reamer/Irrigator/Aspirator* (RIA) system. *Injury*. 2009;40(11):1231-1236.  
doi:10.1016/j.injury.2009.07.070.
  134. Husebye EE, Lyberg T, Madsen JE, Eriksen M, Røise O. The influence of a one-step *Reamer-Irrigator-Aspirator* technique on the intramedullary pressure in the pig femur. *Injury*. 2006;37(10):935-940.  
doi:10.1016/j.injury.2006.06.119.
  135. Kobbe P, Laubach M, Hutmacher DW, Alabulrahman H, Sellei RM, Hildebrand F. Convergence of scaffold-guided bone regeneration and RIA bone grafting for the treatment of a critical-sized bone defect of the femoral shaft. *Eur J Med Res*. 2020;25(1):70. doi:10.1186/s40001-020-00471-w.
  136. Cox G, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. *Reamer-Irrigator-Aspirator* indications and clinical results: a systematic review. *Int Orthop*. 2011;35(7):951-956. doi:10.1007/s00264-010-1189-z.
  137. Diaz R, Heller D. StatPearls: Barotrauma And Mechanical Ventilation. 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31424810/>.
  138. Horst K, Greven J, Lüken H, et al. Trauma Severity and Its Impact on Local Inflammation in Extremity Injury-Insights From a Combined Trauma Model in Pigs. *Front Immunol*. 2019;10:3028.  
doi:10.3389/fimmu.2019.03028.
  139. Greven J, Horst K, Qiao Z, et al. Fracture fixation strategy and specific muscle tissue availability of neutrophilic granulocytes following mono- and polytrauma: intramedullary nailing vs. external fixation of femoral fractures. *Eur J Med Res*. 2020;25(1):62. doi:10.1186/s40001-020-00461-y.
  140. Oestreich M-A, Seidel K, Bertrams W, et al. Pulmonary inflammatory response and immunomodulation to multiple trauma and hemorrhagic shock in pigs. *PLoS one*. 2022;17(12):e0278766.  
doi:10.1371/journal.pone.0278766.
  141. Serve R, Sturm R, Schimunek L, et al. Comparative Analysis of the Regulatory T Cells Dynamics in Peripheral Blood in Human and Porcine Polytrauma. *Front Immunol*. 2018;9:435. doi:10.3389/fimmu.2018.00435.
  142. Eschbach D, Steinfeldt T, Hildebrand F, et al. A porcine polytrauma model with two different degrees of hemorrhagic shock: outcome related to trauma within the first 48 h. *Eur J Med Res*. 2015;20(1):73.  
doi:10.1186/s40001-015-0162-0.



143. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock*. 2008;30 Suppl 1:53-59. doi:10.1097/SHK.0b013e318181a343.
144. Zanotti-Cavazzoni SL, Goldfarb RD. Animal models of sepsis. *Crit Care Clin*. 2009;25(4):703-19, vii-viii. doi:10.1016/j.ccc.2009.08.005.
145. Kumabe Y, Kalbas Y, Halvachizadeh S, et al. Occult hypoperfusion and changes of systemic lipid levels after severe trauma: an analysis in a standardized porcine polytrauma model. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2022. doi:10.1007/s00068-022-02039-1.



Publiziert unter der Creative Commons-Lizenz Namensnennung (CC BY) 4.0 International.

Published under a Creative Commons Attribution (CC BY) 4.0 International License.

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>