

Aus der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie
der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Volk

Pentanal als möglicher volatiler Biomarker für eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung

Eine experimentelle *in vivo* Studie an beatmeten Sprague-Dawley-Ratten

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2021

vorgelegt von: Maximilian Alexander Floß

geb. am: 29.05.1993 in Grevenbroich, NRW

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VIII
1. Zusammenfassung	1
1.1 Zusammenfassung.....	1
1.2 Summary.....	2
2. Einleitung.....	3
2.1 Ventilator-induzierte Lungenschädigung.....	3
2.2 Physiologie der Atmung und Beatmung.....	4
2.2.1 Spontanatmung vs. mechanische Ventilation	4
2.2.2 Transpulmonaler Druck unter mechanischer Ventilation	6
2.3 Pathophysiologie der Ventilator-induzierten Lungenschädigung	7
2.3.1 Volutrauma und Barotrauma	7
2.3.1.1 Stress und Strain.....	8
2.3.1.2 Strain-Frequenz und Mechanical Power	11
2.3.2 Atelektrauma und die inhomogen belüftete Lunge.....	12
2.3.3 Mechanotrauma auf zellulärer Ebene	14
2.3.4 Biotrauma.....	15
2.3.4.1 Lipidperoxidation	17
2.3.5 Interaktionen der Schädigungsmechanismen	19
2.4 Protektive Beatmung.....	20
2.5 Ausatemluftanalytik	20
2.6 Fragestellung	22
3. Material und Methodik	23
3.1 Substanzen und Arzneimittel	23
3.2 Materialien und Geräte.....	24
3.3 Versuchstiere	25

3.4	Studiendesign – Gruppen	26
3.5	Versuchsdurchführung	27
3.5.1	Versuchsvorbereitung	27
3.5.2	Versuchsaufbau	28
3.6	Geräte	32
3.6.1	MCC-IMS	32
3.6.2	Auswertung der IMS-Signale	45
3.7	Bestimmung der Leukozytenzahl	45
3.8	Bestimmung der Zytokinkonzentrationen	46
3.9	Histologische Auswertung	47
3.9.1	Herstellung der Präparate	47
3.9.2	Auswertung der histologischen Schnitte	47
3.10	Statistische Auswertung	48
4.	Ergebnisse	49
4.1	Vital- und Beatmungsparameter	49
4.2	Pentanalkonzentration in der Ausatemluft	53
4.3	Leukozyten und TNF-alpha im Blut	57
4.4	Leukozyten, TNF-alpha und Interleukin-6 in der bronchoalveolären Lavage	58
4.5	Histologische Ergebnisse	59
5.	Diskussion	60
5.1	Wertung der Methodik	60
5.1.1	Ausatemluftanalytik	60
5.1.2	Zytokinbestimmungen	61
5.1.3	Histologische Untersuchungen	62
5.2	Diskussion der Ergebnisse	63
5.2.1	Ausatemluft	63
5.2.2	Blutgasanalysen & Vitalparameter	65
5.2.3	Leukozytenzahl, Zytokine und histologische Untersuchung	66
5.3	Schlussfolgerung	68
6.	Literaturverzeichnis	VII

7.	Publikationen / Vorträge & Danksagung.....	XIX
8.	Lebenslauf	XXII

Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Akutes Lungenversagen (engl.: „Acute respiratory distress syndrome“)
BGA	Blutgasanalyse
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl.: „Deoxyribonucleic acid“)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FRC	Funktionelle Residualkapazität
GAG	Glykosaminoglykane
GEE	Verallgemeinerte Schätzgleichung („Generalized estimating equation“)
H ⁺	Proton
HF	Herzfrequenz
HNE	Hydroxynonenal
IL	Interleukin
IMS	Ionenmobilitätsspektrometer
KG	Körpergewicht
MCC	Multikapillarsäule
MDA	Malondialdehyd
O ₂	Sauerstoff
pAw	Atemwegsdruck
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PEEP	Positiver endexpiratorischer Druck (engl.: „positive end-expiratory pressure“)
PFA	Perfluoralkoxy-Polymere
PI	Transpulmonaler Druck

pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
ppbv	Parts per billion volume
Ppl	Pleuradruck
ppt	Parts per trillion
RNA	Ribonukleinsäure (engl.: „Ribonucleic acid“)
RR	Riva-Rocci-Blutdruck
SIFT	Selected Ion Flow Tube
TNF	Tumornekrosefaktor
VALI	Ventilator-assoziierte Lungenschädigung
VILI	Ventilator-induzierte Lungenschädigung
VOC	Flüchtige organische Verbindungen (engl.: „Volatile organic compounds“)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Unterschiedes zwischen Spontanatmung und mechanischer Ventilation hinsichtlich der treibenden Kräfte	4
Abbildung 2: Druckverlauf in den Atemwegen bei Spontanatmung sowie mechanischer Ventilation	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung einer normalen alveolären Belüftung	9
Abbildung 4: Schematische Darstellung eines überblähten Alveolus.....	10
Abbildung 5: Verhältnis von Stress und Strain	11
Abbildung 6: Grafische Repräsentation von Mead's Modell. Auswirkungen von einer inhomogenen Belüftung auf Stress und Strain in der übrigen Lunge	13
Abbildung 7: Schädigungsmechanismen beim Biotrauma	17
Abbildung 8: Primäre Reaktionen der Lipidperoxidation.....	18
Abbildung 9: Schädigungsmechanismen: Zusammenfassung	19
Abbildung 10: Gruppenaufteilung und Studiendesign	26
Abbildung 11: IMS-Arbeitsplatz	28
Abbildung 12: Schematischer Aufbau der Gasmischeinheit.....	29
Abbildung 13: LabChart-Aufzeichnungen zur Überwachung.....	31
Abbildung 14: IMS vom Typ "Breath Discovery".....	32
Abbildung 15: IMS vom Typ „Breath Discovery“ von hinten	32
Abbildung 16: Schematische Darstellung des IMS.....	33
Abbildung 17: Bild der verwendeten Multikapillarsäule	35
Abbildung 18: Schematische Darstellung der Interaktionen zwischen stationärer und mobiler Phase in der MCC	36
Abbildung 19: Pentanal-Monomer- und Pentanal-Dimer-Peak.....	37
Abbildung 20: 2D-Darstellung des Pentanal-Monomer- und Pentanal-Dimer-Peaks.....	38
Abbildung 21: 3D-Darstellung des Pentanal-Monomer- und Pentanal-Dimer-Peaks.....	38
Abbildung 22: Schematische Darstellung der Analyseabläufe	39
Abbildung 23: Berechnungsergebnis der Konzentrationen für die Pentanal-Stammlösung in Microsoft Excel	40
Abbildung 24: Messaufbau der Pentanalkalibration	41
Abbildung 25: Messaufbau der Pentanalkalibration	42
Abbildung 26: Schematische Darstellung der Verdünnungsreihe	42
Abbildung 27: Kalibrationskurven für Pentanal für die zwei verwendeten MCC-IMS Geräte	44
Abbildung 28: Schematische Darstellung der verwendeten ELISA-Technik	46
Abbildung 29: pH in der arteriellen Blutgasanalyse zum Zeitpunkt 7h nach Beatmungsbeginn im Gruppenvergleich.....	51

Abbildung 30: pCO ₂ in der arteriellen Blutgasanalyse zum Zeitpunkt 7h nach Beatmungsbeginn im Gruppenvergleich	51
Abbildung 31: pO ₂ in der arteriellen Blutgasanalyse zum Zeitpunkt 7h nach Beatmungsbeginn im Gruppenvergleich	52
Abbildung 32: Mittlerer arterieller Blutdruck im Gruppenvergleich.....	52
Abbildung 33: Mediane Pentanalkonzentrationen der unterschiedlichen Gruppen im zeitlichen Verlauf	55
Abbildung 34: Pentanalkonzentrationen als Median mit Interquartilsabstand in allen Gruppen.....	56
Abbildung 35: Hypothese zur Pentanalentstehung	63

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Verwendete Substanzen.....	23
Tabelle 2:	Verwendete Materialien	24
Tabelle 3:	Atemfrequenzen in Abhängigkeit vom Tidalvolumen der einzelnen Versuchsgruppen	30
Tabelle 4:	Betriebsparameter IMS	34
Tabelle 5:	Betriebsparameter Multikapillarsäule.....	35
Tabelle 6:	Verdünnungsreihe Pentanalkalibration	43
Tabelle 7:	Messeinstellungen des MCC-IMS für die Kalibration.....	45
Tabelle 8:	Ergebnisse der Blutgasanalysen und Vitalparameter	50
Tabelle 9:	Pentanalkonzentration in der Ausatemluft zu Beginn des Versuches sowie zu verschiedenen Zeitpunkten nach Umstellung auf die Interventionsvolumina in den Interventionsgruppen	53
Tabelle 10:	Durchschnittlicher Anstieg der Pentanalkonzentration in den verschiedenen Gruppen	54
Tabelle 11:	Blutkonzentrationen von TNF-alpha und Anzahl der Leukozyten in den verschiedenen Versuchsgruppen	57
Tabelle 12:	Konzentrationen von Interleukin-6, TNF-alpha und Anzahl der Leukozyten in der bronchoalveolären Lavage	58
Tabelle 13:	Alveolärer Flächenanteil. Daten als Median	59

1. Zusammenfassung

1.1 Zusammenfassung

Eine maschinelle Beatmung von Patienten mit Hilfe eines Beatmungsgerätes ist ein wichtiger Therapiebaustein in der Anästhesie und Intensivmedizin. Die Beatmung mit zu hohen Tidalvolumina (Volutrauma) oder zu hohen Beatmungsdrücken (Barotrauma) kann, insbesondere bei Patienten mit vorgeschädigter Lunge, zu einer Lungenschädigung führen. Es entsteht eine sogenannte Ventilator-induzierte Lungenschädigung.

Die vorliegende Arbeit untersucht, ob das Aldehyd Pentanal als möglicher volatiler Biomarker für eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung in Frage kommt. Hierfür wurden 75 Sprague-Dawley-Ratten anästhesiert und mit verschiedenen hohen Tidalvolumina über 7 Stunden maschinell beatmet. Zwei Protektivgruppen wurden mit Tidalvolumina von 6 und 8 ml/kg Körpergewicht (KG) beatmet. Drei Interventionsgruppen wurden mit Tidalvolumina von 12, 16 und 20 ml/kg KG beatmet. Während des Versuchs wurde die Konzentration von Pentanal in der Ausatemluft mittels multikapillarsäulengekoppelter Ionenmobilitätsspektrometrie gemessen. Mit Hilfe dieser Technik können Ausatemluftproben zeitnah analysiert und die Konzentration von volatilen Produkten in der Ausatemluft bestimmt werden. Zusätzlich wurden Blutproben zur Quantifizierung verschiedener Entzündungsindikatoren entnommen sowie die Lunge abschließend histologisch untersucht.

Die durchgeführte Ausatemluftanalyse zeigte, dass die abgeatmete Pentanalkonzentration stärker anstieg, je höher das zur Beatmung genutzte Tidalvolumen war. So gab es bei der mit 6 ml/kg KG Tidalvolumen beatmeten Gruppe einen durchschnittlichen Pentalananstieg von 0,6 ppbv/h, wohingegen der Anstieg bei der mit 20 ml/kg KG Tidalvolumen beatmeten Gruppe bei durchschnittlich 3,1 ppbv/h lag. Die Pentanalkonzentration unterschied sich am Versuchsende signifikant zwischen der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe und den Interventionsgruppen (4,8 ppbv vs. 19,2 ppbv, 15,3 ppbv und 22,5 ppbv; $p < 0,05$). Zudem ging eine höhere Pentanalkonzentration auch mit einer größeren histologisch nachgewiesenen Lungenschädigung sowie mit einem Anstieg von Entzündungsmarkern in der bronchoalveolären Lavage einher.

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen konnte in der Studie gezeigt werden, dass eine mechanische Beatmung mit schädlich erhöhten Tidalvolumina zu einer verstärkten

pulmonalen Lipidperoxidation führt. Das dabei in der Ausatemluft entstehende Pentanal könnte als ein Biomarker für eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung nützlich sein.

1.2 Summary

Mechanical ventilation is a daily routine in acute care hospitals. Ventilation with high tidal volumes (volutrauma) or high pressure (barotrauma) may result in ventilator-induced lung injury, especially in patients with pre-injured lungs.

This study investigates the use of the aldehyde pentanal as a potential volatile biomarker for ventilator-induced lung injury. Therefore, 75 male Sprague Dawley rats were anesthetized and ventilated with different tidal volumes for 7 hours. Animals were randomly assigned to two "lung-protective" and three "intervention" groups. Animals receiving protective ventilation were ventilated with tidal volumes of either 6 ml/kg or 8 ml/kg body weight. Animals in the intervention-groups were ventilated with either 12, 16 or 20 ml/kg body weight. The exhaled pentanal concentration was measured by multi-capillary column-ion mobility spectrometry. This technique provides online measurements of volatile organic compounds in breath. Blood samples were analysed repetitively to detect changes in the concentration of inflammatory markers and lung tissue was taken for histological analysis.

Breath analysis revealed a higher and steeper incline in exhaled pentanal concentration when the applied tidal volume was increased. At 6 ml/kg body weight tidal volume the rate was 0,5 ppbv/h, whereas 20 ml/kg body weight tidal volume caused 3,1 ppbv/h. The concentration of pentanal differed significantly between the group ventilated with 6 ml/kg body weight and the intervention groups (4,8 ppbv vs. 19,2 ppbv, 15,3 ppbv und 22,5 ppbv; $p < 0,05$) at the end of the trial. In addition, a higher pentanal concentration was accompanied by a higher degree of lung injury observed in postmortem histological analysis as well as elevated markers for inflammation.

The results showed that mechanical ventilation with harmfully high tidal volumes induces pulmonary lipid peroxidation. Exhaled pentanal, a volatile product of lipid peroxidation, may be a potential biomarker for ventilator-induced lung injury.

2. Einleitung

2.1 Ventilator-induzierte Lungenschädigung

Die Ventilator-induzierte Lungenschädigung (engl.: „ventilator induced lung injury“ – VILI) beschreibt eine pulmonale Schädigung, die auf eine mechanische Beatmung zurückzuführen ist [123]. Die schädigenden Auswirkungen kommen hierbei vor allem beim Vorliegen von pulmonalen Vorerkrankungen zu tragen, aber auch beim Lungengesunden kann durch entsprechend schädigende Beatmungseinstellungen oder länger andauernde Beatmung (Tage bis Wochen) eine VILI entstehen [78]. Überlegungen zur VILI wurden in der medizinischen Literatur bereits 1744 von John Fothergill beschrieben [52]. Während der Polio-Epidemien im 20. Jahrhundert kam die mechanische Beatmung vermehrt zur Anwendung und erste Autoren beschrieben das Auftreten eines „Respirator Lung Syndrome“ bei länger andauernder Beatmung [158].

Heutzutage ist die zu verwendende Nomenklatur klar definiert. Der Begriff VILI wird demnach nur im Rahmen tierexperimenteller Forschung genutzt. Nur unter experimentellen Bedingungen lässt sich die Ursache einer Lungenschädigung auf die Beatmung zurückführen. Im klinischen Alltag lässt sich diese Schädigung in der Regel nicht eindeutig auf die Beatmung reduzieren. Auswirkungen pulmonaler Grunderkrankungen lassen sich am Patientenbett meist nicht eindeutig von beatmungsbedingten Schädigungen trennen. Somit spricht man im klinischen Alltag vielmehr von einer Ventilator-assoziierten Lungenschädigung (engl.: „ventilator associated lung injury“ – VALI) [123].

Die Pathophysiologie ist trotz intensiver Forschung noch nicht im Gesamten verstanden [137] (siehe Kapitel 2.3). Es werden sowohl primär mechanische, als auch sekundär inflammatorische Ursachen diskutiert [94]. Vor allem Patienten mit vorgeschädigten Lungen, wie es beim akuten Lungenversagen (engl.: „acute respiratory distress syndrome“ – ARDS) der Fall ist, sind prädisponiert für die Entwicklung einer Ventilator-assoziierten Lungenschädigung [53]. Gerade deshalb ist die weitere Erforschung im Hinblick auf die Verbesserung der ARDS-Therapie, aber auch bezüglich der jährlich mehr als 412.000 beatmungspflichtigen Patienten auf Intensivstationen in Deutschland, von enormer Bedeutung [102, 134, 137].

Ein möglicher neuer diagnostischer Ansatz zur Detektion einer Ventilator-induzierten/assoziierten Lungenschädigung ist die Ausatemluftanalytik mittels Ionenmobilitätsspektrometrie [84, 152]. Bei einer Lungenschädigung anfallende Oxidationsprodukte in Form von volatilen organischen Verbindungen können in der

Ausatemluft nachgewiesen und möglicherweise als Biomarker für eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung genutzt werden [7, 104, 152].

2.2 Physiologie der Atmung und Beatmung

2.2.1 Spontanatmung vs. mechanische Ventilation

Als Grundlage einer Ventilator-induzierten Lungenschädigung ist das Verständnis der Unterschiede zwischen den bei Spontanatmung und bei mechanischer Beatmung wirkenden Kräften notwendig. Hauptunterschiede zwischen Spontanatmung und mechanischer Beatmung stellen die Druckverhältnisse, welche auf die Lunge wirken, dar. Beim spontanatmenden Patienten bewirken die aktive Thoraxexkursion sowie die Absenkung des Zwerchfells einen Druckabfall innerhalb der Lunge. Dies führt zu einer Füllung der Lunge in Folge des auftretenden Druckgradienten. Beim mechanisch ventilerten Patienten wird das Beatmungsgas unter positivem Druck in die Lungen gebracht. Die Lunge dehnt sich entsprechend aus und der umgebende Thorax wird passiv expandiert. In Abbildung 1 ist der Unterschied zwischen Spontanatmung und mechanischer Ventilation hinsichtlich der treibenden Kräfte dargestellt [154].

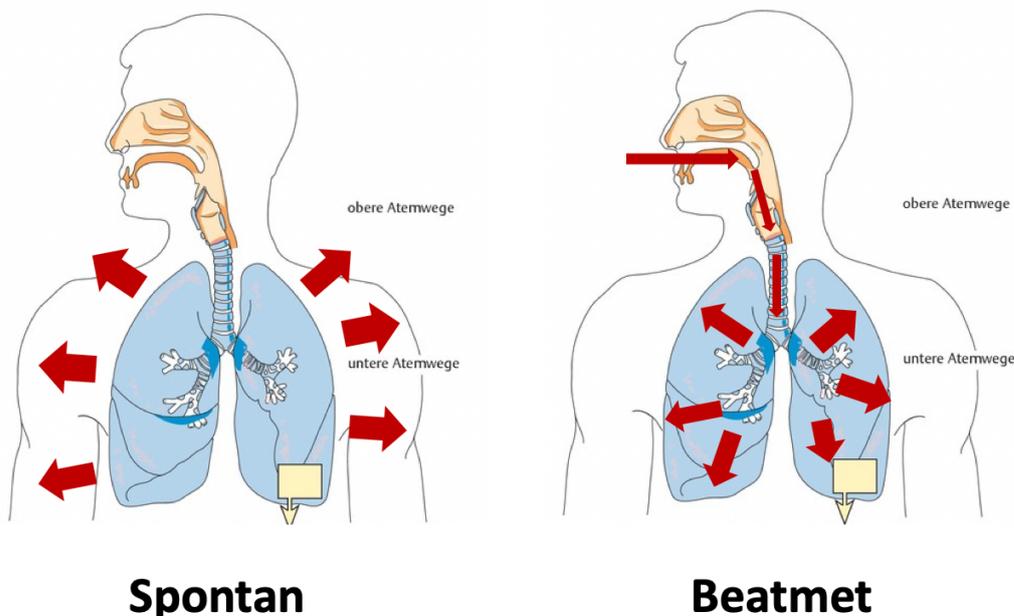


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Unterschiedes zwischen Spontanatmung und mechanischer Ventilation hinsichtlich der treibenden Kräfte

Quelle: Modifiziert nach Wolfgang Oczenski: Atmen - Atemhilfen. Thieme [154]

Abbildung 2 verdeutlicht die Druckunterschiede während Inspiration und Expiration unter Spontanatmung und mechanischer Ventilation. Unter Spontanatmung findet während der Inspiration zunächst ein intrapulmonaler Druckabfall statt. Die Lunge füllt sich und der intrapulmonale Druck gleicht sich gegen Ende der Inspiration wieder dem Umgebungsdruck an. Zu Beginn der Expiration entspannt sich die Atemmuskulatur, Zwerchfell und Thorax kehren unter elastischen Rückstellkräften zurück in ihre Ausgangspositionen, der intrapulmonale Druck steigt an und die Luft strömt wieder aus der Lunge heraus.

Die mechanische Ventilation bewirkt im Gegensatz dazu während des gesamten Atemzyklus eine intrathorakale Druckerhöhung. Diese unphysiologischen Druckverhältnisse sind von entscheidender Bedeutung für die Entstehung einer Ventilator-induzierten Lungenschädigung [154].

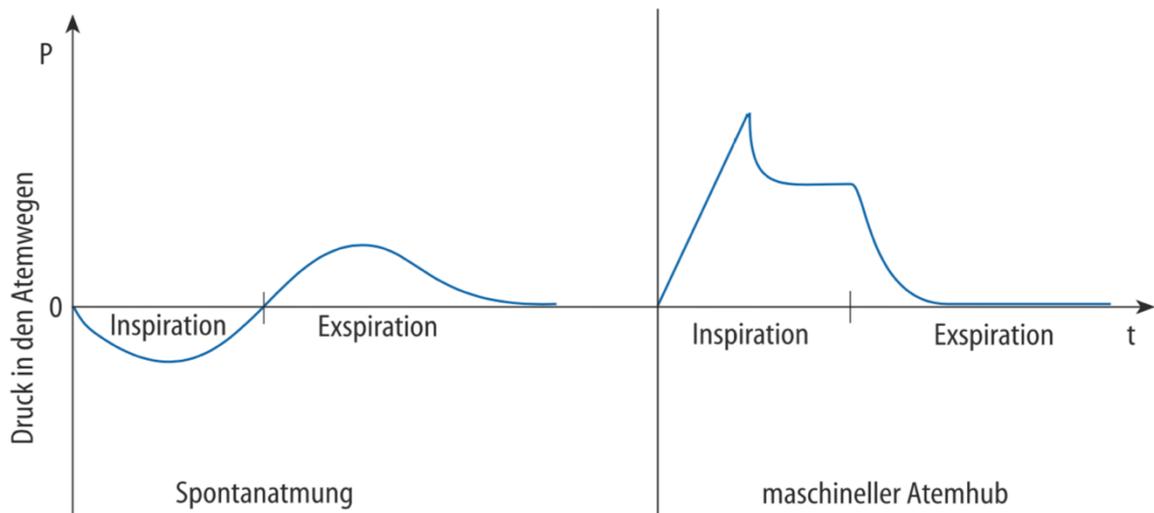


Abbildung 2: Druckverlauf in den Atemwegen bei Spontanatmung sowie mechanischer Ventilation

Quelle: Larsen, Ziegenfuß: Beatmung, Indikationen - Techniken – Krankheitsbilder, 5. Auflage. Springer-Verlag [79]

2.2.2 Transpulmonaler Druck unter mechanischer Ventilation

Treibende Kraft für die mechanische Ventilation ist der transpulmonale Druck (P_L), die Druckdifferenz zwischen dem Druck in den Atemwegen (P_{Aw}) und dem Pleuradruck (P_{pl}) [87]:

$$P_L = P_{Aw} - P_{pl} \quad (1)$$

Zu beachten sind hierbei allerdings die mechanischen Eigenschaften in Form von Elastizität der Lunge und des Thorax. Um dies mit in Betracht zu ziehen, kann man folgende Gleichung aufstellen [55]:

$$P_L = P_{AW} \times \frac{E_L}{E_{tot}} \quad (2)$$

Der transpulmonale Druck gleicht somit dem applizierten Atemwegsdruck multipliziert mit dem Verhältnis aus Lungenelastizität (E_L) zu Elastizität des gesamten Respirationstraktes (Lungenelastizität + Thoraxelastizität; E_{tot}). Ein durchschnittlicher Wert für dieses Verhältnis ist 0,7, jedoch kann es je nach Patient Abweichungen geben [36]. *Chiumello et al.* zeigten, dass dieses Verhältnis zwischen 0,3 und 0,9 variieren kann, sowohl bei gesunden, als auch bei erkrankten mechanisch ventilerten Patienten [36]. Die Elastizität beeinflusst über den Pleuradruck den transpulmonalen Druck. Patienten mit hoher Brustwandelastizität haben einen erhöhten Pleuradruck und somit einen verringerten transpulmonalen Druck (siehe Gleichung 1) [105]. Werden diese Patienten beatmungspflichtig, so führt ein applizierter Beatmungsdruck von beispielsweise 30 cmH₂O zu einem transpulmonalen Druck von 9 cmH₂O bei $\frac{E_L}{E_{tot}} = 0,3$. Zu niedrige transpulmonale Drücke fördern jedoch Atelektasen, wodurch eine Lungenschädigung und ein insuffizienter Gasaustausch entstehen können. Ist die Thoraxelastizität jedoch gering ($\frac{E_L}{E_{tot}} = 0,9$) so führt ein applizierter Atemwegsdruck von 30 cmH₂O zu einem transpulmonalen Druck von 27 cmH₂O. Diese zu hohen transpulmonalen Drücke können zu einer Überblähung und zur Schädigung der Alveolen führen [109].

Das Problem der hohen Thoraxelastizität kann bei Patienten mit extrapulmonalem ARDS auftreten. Durch Ileus oder Aszites steigt der intraabdominelle Druck und drückt auf den Thorax. Eine Beatmung mit einem bestimmten Druck führt nun zu einem niedrigeren transpulmonalen Druck, wie oben rechnerisch gezeigt, als bei Patienten mit pulmonal bedingtem ARDS. Diese Patienten haben in der Regel eine normale bis zu niedrige Thoraxelastizität [36, 57].

Zusammenfassend ist es daher wichtig, nicht alleine den applizierten Atemwegsdruck bei der mechanischen Ventilation, sondern auch die mechanischen Eigenschaften von Lunge und Thorax zu berücksichtigen [138].

2.3 Pathophysiologie der Ventilator-induzierten Lungenschädigung

Primär kommt es im Rahmen einer VILI zu einer rein mechanischen Schädigung des Lungengewebes [16, 106]. Sekundär zeigt sich eine Entzündungsreaktion im Lungengewebe, die bereits vorhandene Schäden aggravieren kann [16, 106]. Grundlegend lassen sich dabei vier Schädigungsmechanismen unterscheiden. Primäre Mechanismen sind Volutrauma, Barotrauma und Atelektrauma. Die durch die sekundär entstehende Entzündungsreaktion hinzukommende Schädigung bezeichnet man als Biotrauma [94]. In den folgenden Kapiteln werden diese Mechanismen detailliert beschrieben.

2.3.1 Volutrauma und Barotrauma

Das Volutrauma resultiert aus einer Überdehnung der Lunge durch hohe Tidalvolumina und führt letztlich zum Lungenödem. Ursachen hierfür sind unter anderem die Ablösung der Zellen von der Basalmembran, Ruptur der Zellverbände sowie weitere epitheliale und endotheliale Schädigungen, welche zu einer erhöhten Kapillarpermeabilität führen. *Dreyfuss et al.* konnten in einer tierexperimentellen Studie an Ratten zeigen, dass die Beatmung mit hohen Volumina zum Lungenödem führt. Weitere Studien konnten dies verifizieren [45, 76, 141, 146]. Ebenfalls kommt es im späteren Verlauf zu einer Granulozyteninfiltration sowie einer oxidativen Schädigung, ebenfalls ausgelöst durch zu hohe Tidalvolumina [38, 80, 117, 127].

Eine weitere Form eines pulmonalen Traumas ist das Barotrauma. Hierbei wird davon ausgegangen, dass hohe Beatmungsdrücke zu einer Schädigung der Lunge führen. Beachten muss man jedoch, dass die Drücke nur schädlich sind, sofern sie mit einem erhöhten Tidalvolumen einhergehen. In einer Studie von *Dreyfuss et al.* konnte gezeigt werden, dass bei isolierter Druckerhöhung ohne erhöhte Tidalvolumina, welches durch eine äußerliche Fixierung des Thorax erreicht wurde, keine Schädigung auftritt [45].

Volutrauma und Barotrauma lassen sich unter klinischen Bedingungen nur schwer voneinander differenzieren. Letztlich treten beide Mechanismen unter mechanischer Beatmung parallel auf und lassen sich nicht zwangsläufig voneinander trennen. Ein erhöhter Beatmungsdruck bedingt erhöhte Tidalvolumina und umgekehrt.

2.3.1.1 Stress und Strain

Eine wesentliche Bedeutung bei der Entstehung von Volu- und Barotrauma hat der transpulmonale Druck [36, 94]. Das sogenannte „Stress and Strain – Modell“ beschreibt die Zusammenhänge von unterschiedlichen beatmungsrelevanten Parametern. Stress entspricht dabei dem transpulmonalen Druck (siehe Kapitel 2.2.2). Strain ist die darauffolgende Strukturveränderung der Lunge, beispielsweise in Form von Zu- oder Abnahme des Lungenvolumens und kann definiert werden als:

$$strain = \frac{dV}{V_0}$$

dV ist hierbei die Veränderung des Lungenvolumens, V_0 das Volumen in Ruheposition (Gleichgewicht zwischen den nach außen und nach innen wirkenden Kräften in der Lunge). Angepasst an messbare Lungenvolumina kann man den Strain mit der Formel $strain = \frac{V_T + V_{PEEP}}{FRC}$ ermitteln. V_T ist das Tidalvolumen [ml], V_{PEEP} die Differenz aus endexpiratorischem Lungenvolumen [L] und der funktionellen Residualkapazität (FRC) [L]. Entsprechend ist die FRC das endexpiratorische Lungenvolumen ohne Applikation eines positiven endexpiratorischen Drucks [22, 56].

Stress und Strain können mithilfe einer spezifischen Konstanten analog dem Young'schen Elastizitätsmodul, welcher den Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung bei der Verformung eines Körpers beschreibt [86], in Relation gesetzt werden:

Stress = spezifische Lungenelastizität x Strain

Die Lungenelastizität ist definiert als $\frac{\Delta p \text{ mbar}}{\Delta V \text{ ml}}$ und kann berechnet werden durch $\frac{D_{PEEP}}{D_{V_{PEEP}}}$ [154].

Die spezifische Lungenelastizität entspricht: *spezifische Elastizität = Elastizität x FRC* [22, 131]. Geht man davon aus, dass dV und V_0 dieselben Werte haben, der Strain also 1 ist, so gleicht die spezifische Elastizität dem transpulmonalen Druck. Dies heißt, dass die spezifische Elastizität der Wert ist, bei dem sich das Volumen in Ruheposition verdoppelt [55]. 13,4 cmH₂O ist ein in Studien bestimmter Durchschnittswert für diese spezifische Elastizität. Dies bedeutet, dass bei einem transpulmonalen Druck von 13,4 cmH₂O das belüftete Lungenvolumen auf das doppelte Volumen der funktionellen Residualkapazität ansteigt [36].

Ein unphysiologisch hoher Strain, sprich eine übermäßige Dehnung der Alveolen, beispielsweise verursacht durch die Beatmung mit zu hohen Volumina, kann die Lunge gravierend schädigen. Eine Studie an Schweinen zeigte, dass ein Strain von 1,5 während einer

54-stündigen Beatmung keine Schäden auslöste, wohingegen ein Strain von 2,5 zum Tod durch Lungenödem und konsekutivem Lungenversagen führte [109].

Um deutlich zu machen, worauf die Kräfte von Stress und Strain wirken, muss man die Alveolen, als Ort des Gasaustausches in der Lunge, genauer betrachten. Sie sind luftgefüllte Bläschen, überzogen mit einem dünnen Flüssigkeitsfilm und verbunden durch Bindegewebe aus Elastin und Kollagen. Sie bilden ein dreidimensionales Netzwerk in der Lunge [60].

Die folgenden zwei Abbildungen verdeutlichen die Auswirkungen eines übermäßigen Strains auf die Alveolen. Abbildung 3 zeigt ein Modell mit gleichmäßig belüfteten Alveolen. Die Alveolen grenzen unmittelbar aneinander an. Jede Wand eines Alveolus ist gleichzeitig auch die Wand eines benachbarten. Dies zeigt auch, dass die Strukturänderung in einem Abschnitt zwangsläufig Strukturänderungen der benachbarten Strukturen bewirkt. Abbildung 4 zeigt einen zentral massiv geblähten Alveolus und die Auswirkungen auch auf umgebende Alveolen in Form von Strukturveränderungen und exzessiver Verzerrung, welche pathologische Konsequenzen hat.

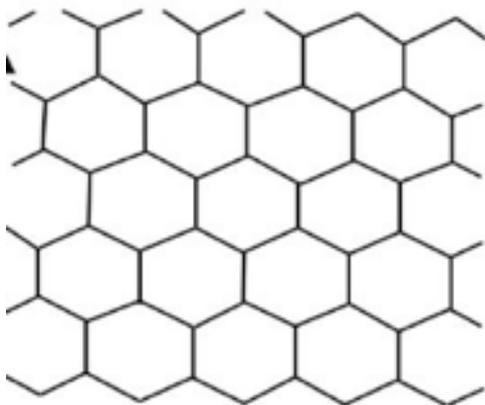


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer normalen alveolären Belüftung

Quelle: Gatto L, Fluck RR (2004) Alveolar mechanics in the acutely injured lung: role of alveolar instability in the pathogenesis of ventilator-induced lung injury [60]

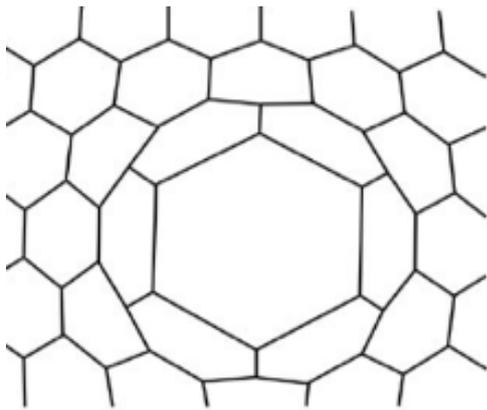


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines überblähten Alveolus

Quelle: Gatto L a, Fluck RR (2004) Alveolar mechanics in the acutely injured lung: role of alveolar instability in the pathogenesis of ventilator-induced lung injury [60]

Die nicht-invasive Bestimmung von Stress und Strain kann individuell für jeden Patienten mit der oben genannten Formel durchgeführt werden. Eine Optimierung der Beatmung anhand dieser Werte könnte nützlich sein und wird aktuell diskutiert [22]. Es zeigt sich durch diese Rechnungen außerdem, dass nicht die alleinige Beatmung mit einem bestimmten Tidalvolumen schädlich ist, sondern, dass hierbei die Elastizität der Lunge und des gesamten Atmungsapparates ebenfalls beachtet werden muss [138].

Die nächste Abbildung zeigt das Verhältnis von Stress und Strain ($\frac{dV}{V_0}$) und das Erreichen eines kritischen Bereiches ab einem Strain $> 1,5$. In diesem hohen Bereich ist die Entstehung einer Lungenschädigung wahrscheinlich [109]. Erkennbar ist auch die Verdopplung der funktionellen Residualkapazität bei einem Strain von 1,0. Es zeigt sich, dass mit zunehmendem Stress auch der auf die Alveolen wirkende Strain zunimmt.

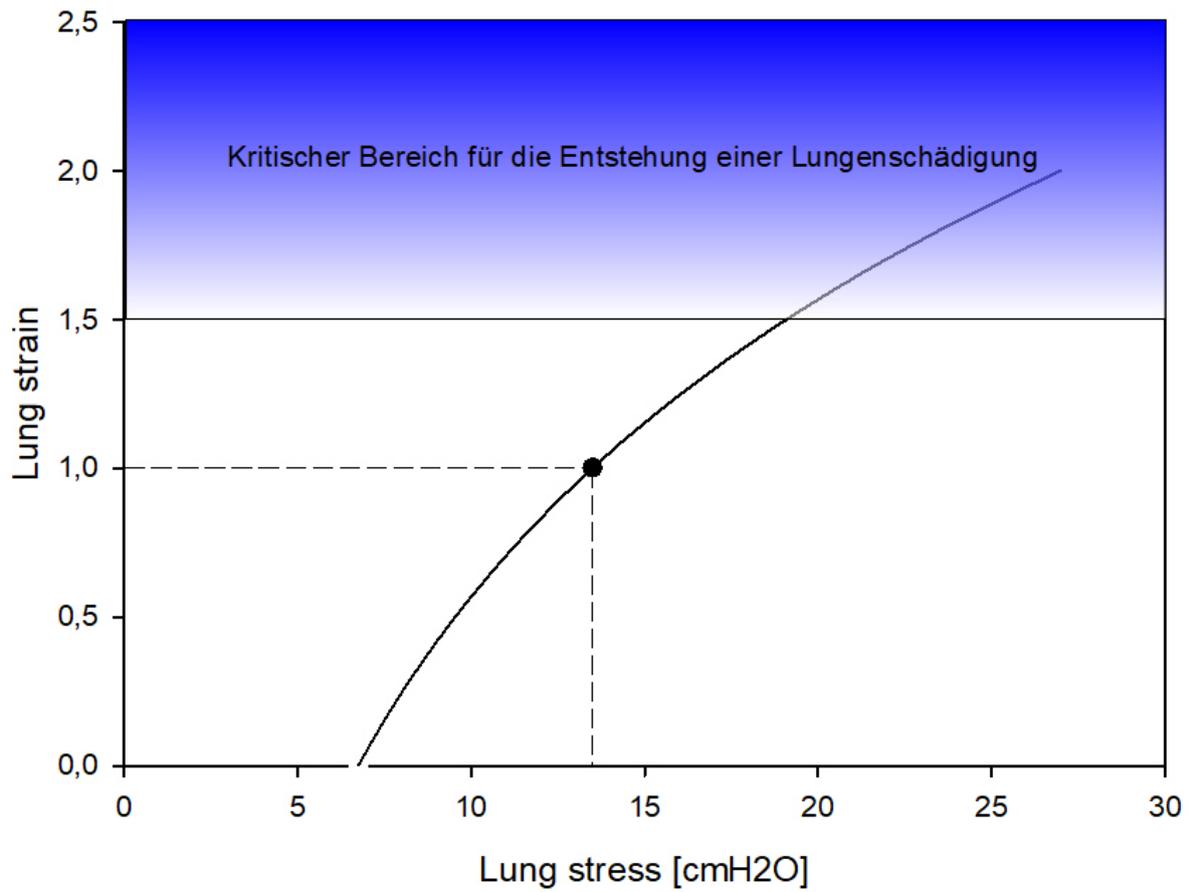


Abbildung 5: Verhältnis von Stress und Strain

Abbildung angelehnt an Gattinoni L, Marini JJ, Collino F et al (2017) The future of mechanical ventilation: lessons from the present and the past [58] mit Daten von Chiumello D, Carlesso E, Cadringer P et al (2008) Lung stress and strain during mechanical ventilation for acute respiratory distress syndrome [36]

2.3.1.2 Strain-Frequenz und Mechanical Power

Liegt ein schädigender Strain vor, spielt auch die Frequenz, mit welcher dieser erfolgt, eine Rolle. Es konnte gezeigt werden, dass ein schädlicher Strain bei niedrigen Atemfrequenzen zunächst keine Auswirkungen haben kann, während es bei hohen Frequenzen zur Schädigung kommt [110].

Alle diese Faktoren kann man in einer Gleichung zusammenfassen und die theoretische mechanische Kraft, welche bei der Beatmung auf die Lunge wirkt, abschätzen:

$$Power = 0,098 \times RR \times \left\{ \Delta V^2 \times \left[\frac{1}{2} \times E_{rs} + RR \times \frac{(1+I:E)}{60 \times I:E} \times R_{aw} \right] + \Delta V \times PEEP \right\} [138]$$

0,098 ist hierbei der Umrechnungsfaktor der Einheit L x cmH₂O zu Joule, RR ist die Beatmungsfrequenz, E_{rs} ist die Elastizität des Beatmungssystems, I:E ist das Inspirations-

Expirations-Verhältnis, R_{aw} ist der Widerstand im Atmungssystem und ΔV ist das applizierte Tidalvolumen. Berücksichtigt wird hierbei also die benötigte Kraft, um die elastischen Rückstellkräfte der Lunge zu überwinden, die Kraft, welche benötigt wird, um Luft in die Lungen zu bekommen, sowie der PEEP als statischer Strain [138].

All diese Faktoren spielen eine Rolle bei der Entstehung einer VILI und sind im klinischen Alltag zu beachten. Eine falsch eingestellte Beatmung kann, insbesondere bei vorgeschädigter Lunge, ernsthafte Folgen haben [56, 138].

2.3.2 Atelektrauma und die inhomogen belüftete Lunge

Neben zu hohen können auch zu niedrige transpulmonale Drücke im Rahmen der mechanischen Ventilation die Lunge schädigen [101]. Niedrige transpulmonale Drücke entstehen vor allem endexpiratorisch. Hierdurch kommt es zu einem endexpiratorischen Kollaps von Alveolen [94, 101]. Während der anschließenden Inspirationsphase werden Anteile der kollabierten Alveolen wieder belüftet, bevor sie in der nachfolgenden Expirationsphase abermals kollabieren. Dieser repetitive Alveolarkollaps schädigt die entsprechenden Lungenabschnitte. Eine wichtige Ursache ist die hierbei entstehende Ausdünnung des Surfactantfilms. Surfactant setzt sich überwiegend aus Lipiden sowie einem geringen Proteinanteil zusammen und reduziert die Oberflächenspannung des Flüssigkeitsfilms auf den Alveolarwänden. Kleinere Alveolen benötigen zur Eröffnung, gemäß dem Laplace-Gesetz, einen erhöhten Beatmungsdruck. Die Reduktion der Oberflächenspannung durch eine Verdichtung des Surfactantfilms in kleineren Alveolen wirkt diesem Effekt entgegen und trägt zu einer homogenen Belüftung der Lunge bei [18]. Eine Deaktivierung des Surfactant verstärkt die inhomogene Belüftung der Lunge und erhöht den lokal zur Eröffnung der Alveolen notwendigen transpulmonalen Druck [149]. Die Entstehung eines Surfactantmangels kann auch im Rahmen eines Biotraumas (siehe Kapitel 2.3.4) durch Entzündungsprozesse und Ödembildung initiiert werden [118, 120, 149, 157].

Um einer Schädigung durch zu niedrige transpulmonale Drücke entgegenzuwirken und damit einen repetitiven Alveolarkollaps zu vermindern, ist heutzutage der Einsatz eines positiven endexpiratorischen Drucks Standard [97]. Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass die Beatmung ohne PEEP eine Lungenschädigung hervorruft [99, 139]. Auch Untersuchungen am Patienten zeigten, dass die Beatmung mit höheren positiven endexpiratorischen Drücken bei Patienten mit akutem Lungenversagen zu einer höheren Überlebensrate führt [69].

Neben den schädigenden Einflüssen des repetitiven Alveolarkollaps führen atelektatische Lungenabschnitte zu einer Überblähung und damit zu einer Erhöhung des Stresses in angrenzenden Abschnitten. *Mead et al.* zeigten schematisch auf, dass ein bestimmter transpulmonaler Druck nur gleichmäßig über die ganze Lunge wirkt, wenn diese homogen

belüftet ist [86]. Sobald Alveolen kollabieren und nicht belüftet werden können, steigt der Stress auf die verbliebenen Alveolen und führt zu schädigenden Scherkräften und damit auch zu erhöhtem Strain. Eine grafische Repräsentation des Modells von *Mead et al.* ist im Folgenden gezeigt (siehe Abbildung 6). Die den kollabierten Alveolus umgebenden Alveolen sind am stärksten von Stress und Strain betroffen und dunkelrot dargestellt. Dies nimmt mit zunehmender Belüftung der Lunge zu, wie man im oberen Teil der Abbildung erkennen kann [92, 138].

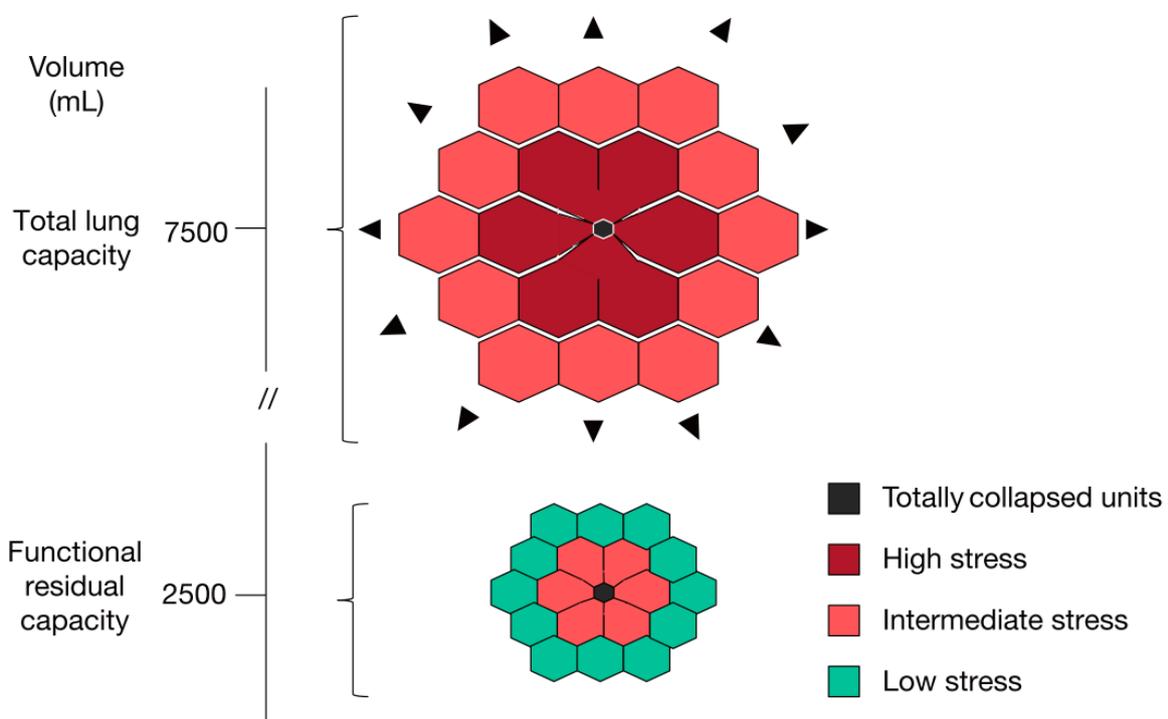


Abbildung 6: Grafische Repräsentation von Mead's Modell. Auswirkungen von einer inhomogenen Belüftung auf Stress und Strain in der übrigen Lunge

Quelle: Tonetti T, Vasques F, Rapetti F et al (2017) Driving pressure and mechanical power: new targets for VILI prevention [138]

Ebenfalls ermittelten *Mead et al.* einen Multiplikationsfaktor, mit dem sich der transpulmonale Druck auf die Alveolen in einer inhomogen belüfteten Lunge errechnen lässt. Dies betrifft vor allem die Alveolen in direkter Umgebung der Atelektasen. Um einen genaueren Wert für die Praxis zu ermitteln, untersuchten *Cressoni et al.* mit Hilfe von computertomographischen Untersuchungen die Belüftungsstruktur der Lungen von Patienten mit ARDS und ermittelten auf deren Grundlage einen Multiplikationsfaktor von ca. 2. Dies bedeutet, dass ein transpulmonaler Druck von 12 cmH₂O in manchen Lungenregionen einem transpulmonalen

Druck von 24 cmH₂O entsprechen kann - der einwirkende Stress auf die verbliebenen belüfteten Alveolen erhöht sich somit bis auf das Doppelte [41]. Für die Entstehung einer VILI wurde eine kritische Schwelle des transpulmonalen Drucks bei 21 cmH₂O beschrieben [109]. So kann in den entsprechenden Lungenabschnitten bereits eine kritische Schwelle für die Entstehung einer VILI erreicht werden [56].

2.3.3 Mechanotrauma auf zellulärer Ebene

Folgen einer VILI äußern sich vor allem durch den Einfluss auf die folgenden Strukturen der Lunge: Epithelzellen vom Typ I und II, Endothelzellen, Makrophagen, extrazelluläre Matrix und Blut-Gas-Schranke [89, 128].

Schon in ersten Studien, in denen ein Volutrauma induziert wurde, zeigte sich die Entwicklung einer Permeabilitätsstörung mit resultierendem Lungenödem [46, 146]. Quantifiziert werden kann dieses mittels Messung des Lungengewichts post-mortem sowie durch die Messung der Aufnahme von vor Versuchsbeginn appliziertem, radioaktiv markiertem Albumin und Natrium [44]. Die Permeabilitätsstörung basiert auf Schädigung des Endothels und Epithels und wird durch ein Volutrauma bei kleineren Tieren schon nach kurzer Zeit ausgelöst [44]. Morphologische Untersuchungen mittels Licht- und Elektronenmikroskopie zeigten diffuse Schädigungsmuster mit Ablösung der Endothelzellen von der Basalmembran sowie Ausbildung von endothelialen Blasen und Zerstörung der Zellverbände [117]. Zusätzlich bildeten sich hyaline Membranen, bestehend aus Zellresten und Fibrin, in den Alveolen [117]. Bei größeren Tieren fanden sich diese Veränderungen nach wenigen Stunden ebenfalls [32]. Vor allem die extrazelluläre Matrix, zwischen Epithel und Endothel liegend, ist zunächst betroffen [56]. Sie besteht hauptsächlich aus Kollagen und Elastin, die mit Proteoglykanen ein Netzwerk bilden, und umfasst vielfältige Funktionen [128]. Kollagen dient zur Stabilisierung der Lungenstruktur und ist nicht dehnbar. Dadurch limitiert es die Ausdehnung der Lunge ab einem gewissen Punkt und ist für die Reißfestigkeit dieser verantwortlich [26]. Elastin ist ebenfalls ein elementarer Bestandteil der Lungenstruktur, jedoch ist es im Gegensatz zum Kollagen dehnbar und unterstützt damit die Elastizität der Lunge [77]. Proteoglykane bestehen aus einem Kern, an welchen mehrere aus Disaccharid-Einheiten bestehende Glykosaminoglykane (GAG) angehängt sind [40]. Proteoglykane haben wichtige Funktionen innerhalb der Lunge. Sie sind unter anderem an der Permeabilität des Endothels beteiligt, an der Regulation der Flüssigkeitsfiltration im Interstitium, sie stabilisieren Epithel- und Endothelzellen und sind an diversen Stoffwechsel-, Entzündungs- wie auch Umbauvorgängen innerhalb des Gewebes beteiligt [100].

Es konnte gezeigt werden, dass die Beatmung mit hohen Tidalvolumina zu Veränderungen in der Extrazellulärmatrix führen. Zunächst werden kompensatorisch im Rahmen eines

Reparaturvorgangs vermehrt Kollagen [27] und Proteoglykane gebildet [2]. Gleichzeitig konnte an Ratten gezeigt werden, dass es schon bei niedrigen Tidalvolumina zu einer teilweisen Zerstörung der Proteoglykane kommt, welche mit zunehmendem Tidalvolumen weiter ansteigt. Dies geht mit einer vermehrten Aktivierung von Metalloproteinasen einher, welche für den Abbau eines Teils der Proteoglykane verantwortlich sind [98, 128]. Durch den Verlust der Proteoglykane kommt es zu einer zunehmenden Destabilisierung des engen Netzwerks im Extrazellularraum. Dies kann Auswirkungen auf die Funktionen der Extrazellulärmatrix haben. Resultierende mangelhafte Stabilisierung der Endothel- und Epithelkomplexe, einhergehend mit dem Verlust der Flüssigkeitsregulations- und -filtrationsfunktion, tragen zur Entwicklung eines Lungenödems bei [100, 128].

Verstärkt wird dieses durch die Beschaffenheit der Blut-Gas-Schranke, welche mit 0,2 – 0,4 µm sehr dünn und damit anfällig für erhöhte transpulmonale und intravaskuläre Drücke ist. Schäden an dieser Stelle können ebenfalls zur Entwicklung eines Lungenödems beitragen [89, 149].

2.3.4 Biotrauma

Zusätzlich zu den biophysikalischen, morphologisch sichtbaren Schäden, konnten ebenfalls biochemische Veränderungen als sekundäre Schädigungsmechanismen festgestellt werden [101]. Diese bezeichnet man auch als Biotrauma.

Es konnte sowohl am Tier [139] als auch am Menschen [112] gezeigt werden, dass bei einer Beatmung mit erhöhten Tidalvolumina die Konzentrationen von Entzündungsmediatoren, wie Interleukinen und Tumornekrosefaktor, in bronchoalveolärer Flüssigkeit höher sind als bei Kontrollgruppen, welche mit niedrigeren Volumina beatmet wurden. Dieses Biotrauma ist insofern von Bedeutung, da es nicht nur lokal begrenzte Auswirkungen, sondern ebenfalls systemische Folgen haben kann [130].

Die Umwandlung der auf die Lunge wirkenden physikalischen Kräfte in biochemische Signale geschieht über Fokalkontakte, wie Integrine, in der Extrazellulärmatrix [59]. Sie verbinden Extrazellulärmatrix und Zytoskelett der Zellen und übertragen dadurch Informationen, unter anderem über Ionenkanäle und Second-Messenger-Systeme [59, 125, 145]. Folge ist die Produktion einer Vielzahl von Entzündungsmediatoren, wie Interleukin 1, 6, 8, Tumornekrosefaktor alpha, die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren, wie Nukleärer Faktor NF-κB und c-fos mRNA [20, 43, 63] sowie die Initiierung des Komplementsystems [34]. So zeigte eine Studie am Menschen niedrigere Interleukinwerte durch Reduktion des Tidalvolumens als bei Vergleichsgruppen mit höherem Tidalvolumen [108]. Gleiches konnte an Patienten mit einem akuten Lungenversagen gezeigt werden [28, 132].

Ebenfalls beteiligt sind Entzündungswege über Keratinocyte Derived Chemokine (KC), welche mit Interleukin 8 wesentlich an der Einwanderung von Neutrophilen in das geschädigte Gewebe beteiligt sind [17, 156]. Dies ist ein wesentlicher Schritt in der schädigenden Entzündungsreaktion im Rahmen einer akuten Lungenschädigung [61, 75]. Die Neutrophilen werden mittels Interleukinen sowie Zellrezeptoren an Endothel, Epithel und der Extrazellulärmatrix aktiviert [156]. Sie enthalten diverse gefüllte Granula mit Proteasen, Phospholipasen und Enzymen wie Myeloperoxidase, Elastase und Kollagenase [6]. Durch die Ausschüttung dieser Substanzen wird das Lungengewebe zusätzlich geschädigt. Ebenfalls werden reaktive Sauerstoffspezies, wie Superoxid, Wasserstoffperoxid, Peroxynitrit und hypochlorige Säure produziert [6]. Erhöhte Peroxidkonzentrationen konnten bei Patienten mit akutem Lungenversagen ermittelt werden [10]. Sie führen gemeinsam mit Interleukinen und weiteren Entzündungsmediatoren zur Deaktivierung des Surfactant in der Lunge [118, 120]. Dies führt zu inhomogener Belüftung sowie erhöhtem lokalem transpulmonalem Druck und fördert ein Atelektrauma (siehe Kapitel 2.3.2) [149]. Ebenfalls gehen wichtige immunregulierende Fähigkeiten verloren [68, 70]. Die Abläufe sind in folgender Grafik noch einmal dargestellt.

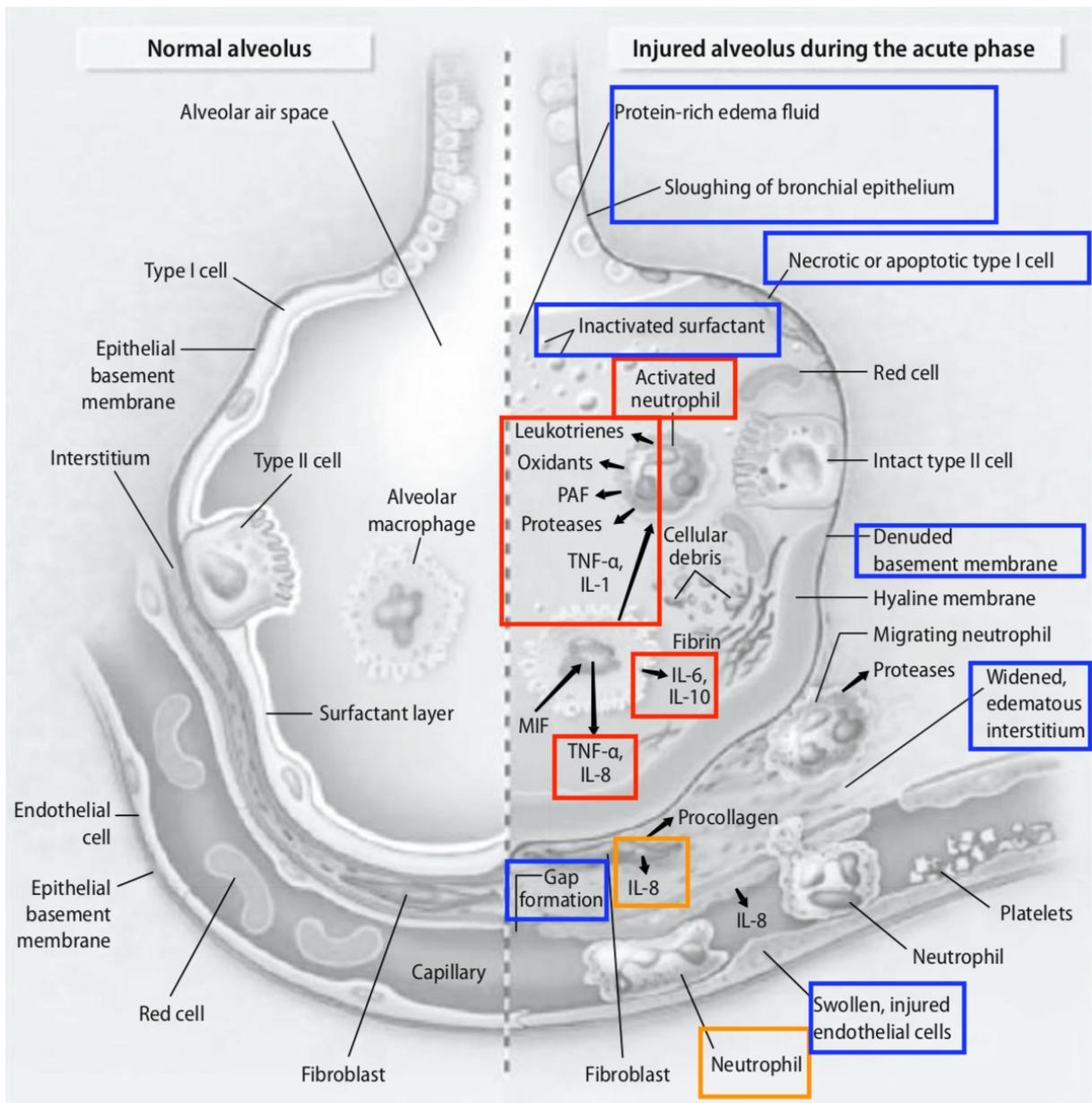


Abbildung 7: Schädigungsmechanismen beim Biotrauma

Rot markiert sind die Substanzen, welche von aktivierten Neutrophilen freigesetzt werden – Interleukine, TNF, Proteasen, Leukotriene und Oxidantien. Über Chemokine der CXC-Familie wie Interleukin 8 (orange markiert) werden weitere Neutrophile angelockt und aktiviert. Die Folgen sind in den blauen Quadraten dargestellt – Ödembildung, Strukturzerstörung und Absterben der Zelle sowie Inaktivierung des Surfactant.

Quelle: modifiziert nach Albert S, Kubiak B, Nieman G Protective Mechanical Ventilation: Lessons Learned From Alveolar Mechanics [3]

2.3.4.1 Lipidperoxidation

Die im Rahmen des Biotraumas freigesetzten Radikale schaden neben dem Surfactant auch dem Lungengewebe durch eine Induktion von Apoptose [121], Auflösung der Zellverbände [113], DNA-Schädigung und Lipidperoxidation der Zellmembranen [39]. Insbesondere Zellmembranen sind Hauptangriffspunkt für Radikale. Sie initiieren die Oxidation der Lipide und schädigen damit das Grundgerüst der Zellmembran [39]. Abbildung 8 zeigt die Vorgänge,

welche bei der Lipidperoxidation ablaufen. Ungesättigte Fettsäuren stellen mit ihren C=C-Doppelbindungen die Angriffspunkte für Radikale dar. Radikale induzieren die Abspaltung eines Protons mit resultierendem ungesättigtem Fettsäure-Radikal (Reaktion 1). Anschließend reagiert dieses in Schritt 2 mit Sauerstoff und bildet ein Fettsäure-Peroxy-Radikal. Durch die Reaktion mit einer weiteren ungesättigten Fettsäure entstehen dann in Schritt 3 ein Fettsäure-Hydroperoxid sowie wieder ein ungesättigtes Fettsäure-Radikal. Das Fettsäure-Hydroperoxid und das Fettsäure-Radikal sind hochreaktiv und können eine weitere Radikalbildung induzieren, wodurch eine Kettenreaktion entsteht. Die Reaktionskette kann jedoch durch Antioxidantien unterbrochen werden. Diese geben ein Proton an das Fettsäure-Peroxy-Radikal ab und verhindern die weiteren Schritte der Lipidperoxidation (siehe Abbildung 8, Schritt 4) [7].

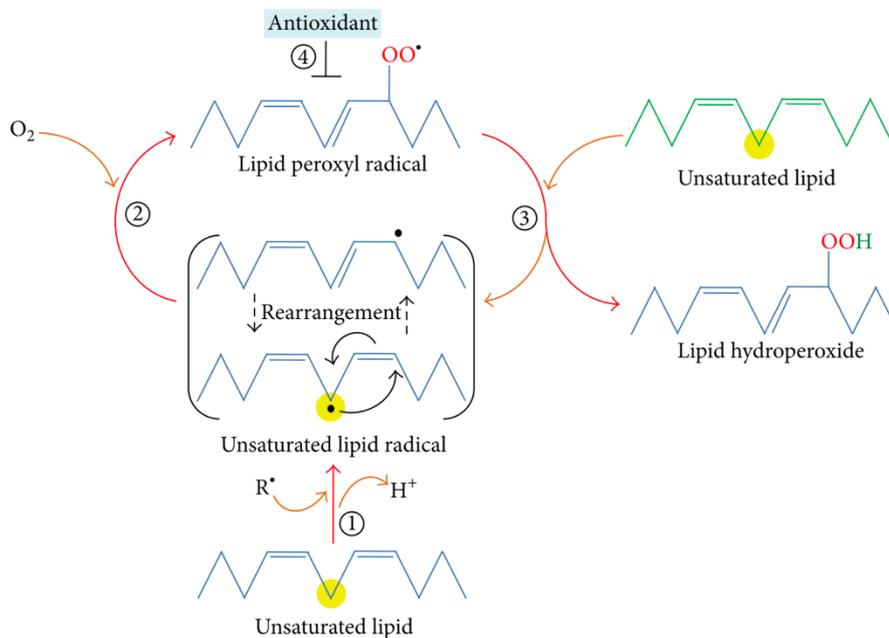


Abbildung 8: Primäre Reaktionen der Lipidperoxidation

Quelle: Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S (2014) Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal [7]

Durch weitere enzymatische oder nicht-enzymatische Reaktionen können sekundäre Oxidationsprodukte, wie die Aldehyde 4-HNE, Malondialdehyd (MDA) oder Pentanal, entstehen, welche weitere Schädigungen verursachen können [7, 114]. Pentanal ist im Gegensatz zu den anderen genannten Substanzen stark flüchtig und kann im Rahmen einer Ausatemluftanalyse nachgewiesen werden [54, 67, 83, 103]. In einer Pilotstudie unserer Arbeitsgruppe konnte bereits ein Pentanal-Anstieg in der Ausatemluft von stark traumatisch beatmeten Tieren festgestellt werden [84]. Pentanal könnte also einen Biomarker für eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung darstellen. Im Rahmen der vorliegenden Studie

wurden nun Tiere mit nur mäßig bis moderat erhöhten Tidalvolumina beatmet, um Pentanal als einen möglichen Biomarker weiter zu untersuchen (siehe Fragestellung in Kapitel 2.6).

2.3.5 Interaktionen der Schädigungsmechanismen

In den vorangehenden Kapiteln wurden die Schädigungsmechanismen in einer bestimmten Reihenfolge erläutert. Es ist jedoch so, dass nicht immer ein appliziertes hohes Volumen unmittelbar zur Ventilator-induzierten Lungenschädigung führt [60]. Vielmehr spielen hier auch verschiedene prädisponierende Faktoren eine Rolle. Einige hiervon sind Alter [126], pulmonale Vorschädigung und Sepsis [53, 81], Transfusionen von Blutprodukten [72] sowie Hypervolämie [72, 122]. In Kapitel 2.3. wurde ebenfalls gezeigt, dass auch die Dauer einer schädigenden Beatmung Einfluss auf die Entstehung einer Lungenschädigung haben kann [109]. So wie die Ursache der Ventilator-induzierten Lungenschädigung eine Verkettung verschiedener Faktoren ist, so ist auch der Mechanismus dahinter multifaktoriell [124]. Die Kausalkette Beatmung → (Risikofaktoren →) Mechanotrauma → Biotrauma → VILI ist zu eindimensional. Vielmehr beeinflussen sich die verschiedenen Faktoren gegenseitig [60]. Das Mechanotrauma führt zum Biotrauma. Das Biotrauma verursacht eine Störung der Surfactant-Funktion, eine Zerstörung der Extrazellulärmatrix, eine Entstehung von Radikalen. Diese Faktoren prädisponieren wieder für die Entstehung eines Mechanotraumas durch Vorschädigung, inhomogene Belüftung und so weiter. Das Ganze zeigt sich vielmehr als Kreislauf mit konsekutiver Verstärkung [60, 117, 120]. In Abbildung 9 ist dieser Sachverhalt schematisch dargestellt und fasst die verschiedenen Schädigungsmechanismen noch einmal abschließend zusammen.

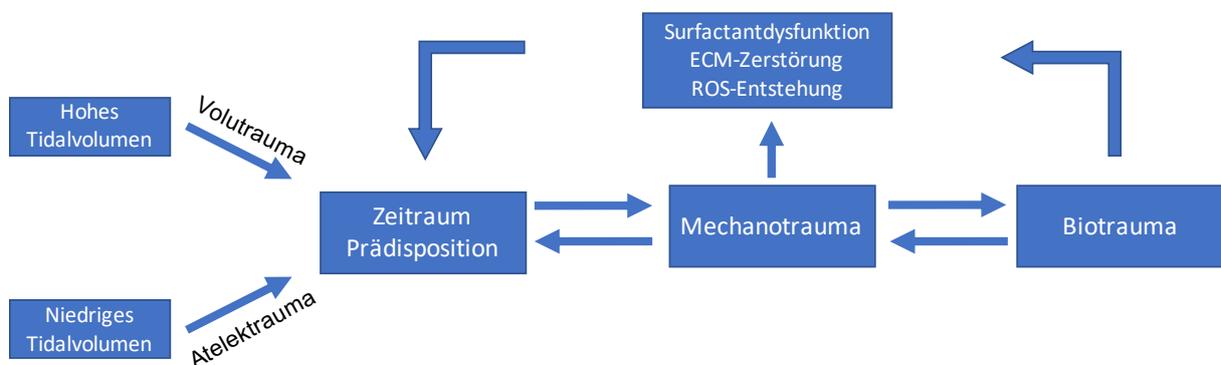


Abbildung 9: Schädigungsmechanismen: Zusammenfassung
ECM = Extrazellulärmatrix, ROS = reaktive Sauerstoffspezies

2.4 Protektive Beatmung

Wie in den vorherigen Kapiteln ausgeführt, kommt der Art und Weise der mechanischen Beatmung, insbesondere bei vorgeschädigten Lungen, eine entscheidende Bedeutung zu. Sowohl zu hohe als auch zu niedrige Tidalvolumina können die Lunge schädigen. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Beatmung mit niedrigem Tidalvolumen von 6 – 8 ml/kg Körpergewicht sowie die Nutzung eines positiven endexpiratorischen Drucks hingegen einen protektiven Effekt auf die Lunge haben [5, 29]. Dies basiert auf der Annahme, dass niedrige Tidalvolumina in Kombination mit moderaten PEEP-Werten eine Instabilität von Alveolen vermindern können [33, 62]. Der positive endexpiratorische Druck reduziert die Bildung von Atelektasen und erhöht dadurch die Anzahl der am Gasaustausch teilnehmenden Alveolen. Hierdurch kann ein Atelektrauma durch die geringen Tidalvolumina vermindert werden. Das niedrige Tidalvolumen führt hingegen zu einer suffizienten Oxygenierung bei Vermeidung von übermäßigem Stress und Strain und resultierendem Volutrauma. [3, 62] Es gibt Hinweise darauf, dass die Nutzung dieses Beatmungskonzeptes auch bei Patienten ohne Lungenvorschädigung vorteilhafte Effekte, wie eine verminderte postoperative Inzidenz pulmonaler Infektionen, hat [135].

2.5 Ausatemluftanalytik

Mit jedem Atemzug von Mensch oder Tier werden Substanzen abgeatmet, die als flüchtige bzw. volatile organische Substanzen (engl.: „volatile organic compounds“, VOCs) bezeichnet werden. Mit Hilfe dieser VOCs können Rückschlüsse auf im Körper ablaufende Prozesse gezogen werden [69, 95, 152]. Ein Beispiel hierfür ist der Atem von Patienten mit ketogener Stoffwechsellage, welcher einen süßlichen Geruch annimmt. Ursache hierfür ist der erhöhte Gehalt von Aceton im Körper, der sich auch in der Ausatemluft widerspiegelt [104].

Für die Messung solcher volatilen organischen Verbindungen stehen eine Vielzahl von Analysemethoden zur Verfügung. Hierzu gehören Gaschromatographie, SIFT-Massenspektrometrie oder auch die Ionenmobilitätsspektrometrie [31, 147]. Die Gaschromatographie stellt den Goldstandard in der Ausatemluftanalytik dar. Jedoch sind entsprechende Geräte nicht mobil einsetzbar und äußerst kostenintensiv, was gegen einen weit verbreiteten Einsatz spricht. Unsere Arbeitsgruppe nutzt daher die Technik der Multikapillarsäulen-gekoppelten Ionenmobilitätsspektrometrie (engl.: „multi-capillary column-ion mobility spectrometry“; MCC-IMS).

Bei der Ionenmobilitätsspektrometrie, entwickelt von Paul Langevin, handelt es sich um ein Verfahren, welches VOCs im Spurenbereich (ppbv- bis pptv-Bereich (ppb = parts per billion;

ppt = parts per trillion, v = Volumenverhältnis)) detektieren kann. Hierfür wird das zu analysierende Probegas mittels eines Trägergases in das System eingebracht, ionisiert und das Mischgas strömt unter Einfluss eines elektrischen Feldes durch eine Röhre. Ein Driftgas fließt in entgegengesetzter Richtung und bewirkt eine Aufspaltung der Moleküle je nach Größe und Form. Die Zeit, die eine Substanz benötigt, um durch die Röhre zu gelangen, bezeichnet man als Driftzeit. Am Ende der Röhre befindet sich ein Faraday-Auffänger, auf den die ionisierten Moleküle treffen. Dadurch entsteht eine elektrische Spannung. Aus der Intensität der elektrischen Spannung kann man nun Rückschlüsse auf die Konzentration einer Substanz in der jeweiligen Probe ziehen [12, 13].

Um eine dreidimensionale Identifikation von VOCs zu ermöglichen wird beim MCC-IMS dem IMS eine Multikapillarsäule vorgeschaltet. Durch unterschiedlich starke Interaktion der Moleküle mit den Kapillaren ergibt sich eine unterschiedlich lange Retention während der Säulenpassage. Dieser als Retentionszeit bezeichnete Parameter ermöglicht eine weitere Differenzierung der Substanzen. Aus Driftzeit, Retentionszeit und Intensität kann man nun Rückschlüsse auf die gemessenen Substanzen und deren Konzentrationen ziehen [4, 12, 14, 153].

Die IMS-Analytik erfährt in den letzten Jahren zunehmende Verwendung. Im nicht-medizinischen Bereich wird sie zur Erkennung von Spreng- und Gefahrenstoffen [47, 49] sowie zur Qualitätsüberwachung im Rahmen des Brauprozesses [144] oder von Nahrungsmitteln [74] genutzt. Im medizinischen Bereich gibt es erste Studien mit der IMS für die Erkennung von Karzinomen [147, 148], für die Diagnostik der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung [19, 23] und zur Erkennung von Sepsis und Schock [50, 68]. Ein weiteres Einsatzgebiet der MCC-IMS-Technik ist das sogenannte Drug-Monitoring. Durch die Bestimmung von Arzneimitteln in der Ausatemluft können Rückschlüsse auf die Blutkonzentration derer gezogen werden. So kann beispielsweise das Narkosemedikament Propofol in der Ausatemluft nachgewiesen werden. Untersuchungen zeigen eine gute Korrelation mit der Blutkonzentration von Propofol [30, 107]. So könnte die Bestimmung der Propofolkonzentration in der Ausatemluft in Zukunft eine optimierte Narkoseführung ermöglichen [107].

Ob volatile organische Verbindungen auch für die Diagnostik einer Ventilator-induzierten Lungenschädigung nützlich sein können, wurde in einer Studie mit Ratten untersucht [84]. Eine Kontrollgruppe wurde mit 8 ml/kg Körpergewicht, die Interventionsgruppe zur Induktion eines Volutraumas mit 45 ml/kg KG beatmet. Hierbei zeigte sich in der Ausatemluft bereits nach einer Stunde eine signifikant höhere Konzentration von Pentanal im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies deutet darauf hin, dass Pentanal ein möglicher Biomarker für oxidativen Stress im Rahmen einer Ventilator-assoziierten Lungenschädigung sein könnte.

2.6 Fragestellung

Die in der Einleitung dargestellten Sachverhalte zeigen, dass eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung enorme pathophysiologische Auswirkungen hat und ein frühzeitiges Erkennen und Vermeiden dieser Lungenschädigung daher von großem Vorteil für beatmete Patienten sein kann. Die Erkenntnis, dass Pentanal bei einer induzierten Lungenschädigung ansteigt, wirft eine Vielzahl von Fragen hinsichtlich des Verlaufs und der Interpretation der Pentanalkonzentration in der Ausatemluft auf. Daher sollen in der vorliegenden Arbeit folgende Fragestellungen beantwortet werden:

1. Wie verhält sich die abgeatmete Pentanalkonzentration während einer mechanischen Beatmung?
2. Unterscheidet sich die abgeatmete Pentanalkonzentration durch eine Beatmung mit unterschiedlich hohen Tidalvolumina?
3. Lassen sich parallel zu einem Anstieg der Pentanalkonzentration erhöhte Inflammationsmarker und histologische Veränderungen des Lungengewebes nachweisen?

3. Material und Methodik

3.1 Substanzen und Arzneimittel

Tabelle 1: Verwendete Substanzen

Verwendete Substanzen	
Synthetische Luft	ALPHAGAZ™ 1 LUFT, AIR LIQUIDE, Ludwigshafen, Deutschland (O ₂ 20,5 Vol-%, N ₂ 79,5 %, CO ₂ < 100 ppbv, CO < 100 ppbv, Kohlenwasserstoffe < 50 ppbv, Stickoxide < 10 ppbv, SO ₂ < 5 ppbv, H ₂ S < 5 ppbv, H ₂ O < 2 ppm)
Ketamin	Rotexmedica, Trittau, Deutschland
Rocuronium	Esmeron - Organon, Oss, Niederlande
Propofol	Fresenius, Bad Homburg, Deutschland
Heparin-Natrium	BBraun, Melsungen, Deutschland
Sevofluran	AbbVie, Wiesbaden, Deutschland
Natrium-Chlorid-Lösung	BBraun, Melsungen, Deutschland
Sterofundin	BBraun, Melsungen, Deutschland
Formaldehyd	Fischar, Saarbrücken, Deutschland
Pentanal (Valeraldehyd)	Analytical Standard von SIGMA-Aldrich (St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten)
Hexan	Pestnorm Supra Trace von VWR, International, Radnor, Pennsylvania, Vereinigte Staaten

3.2 Materialien und Geräte

Tabelle 2: Verwendete Materialien

Verwendete Materialien	
Polyethylen-Katheter	Fine Bore Polyethene Tubing, 0,58 mm ID, 0,96 mm OD, Smiths Medical International Ltd. , Kent, UK
Perfusoren	Perfusor Compact und Perfusor Space, BBraun, Melsungen, Germany
Druckabnehmer-System	PMSET ROSE, BD DTXPlus, BD, New Jersey, Vereinigte Staaten
Kleintierbeatmungsgerät	KTR-5 small animal ventilator, Hugo Sachs Elektronik-Harvard Apparatus, March-Hugstetten, Deutschland
Ionenmobilitätsspektrometer	„Breath Discovery“ B&S Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland
Multikapillarsäule	Multichrom, Moskau und Novobirsk
Oxymeter	GHM 3600 Series, GHM Messtechnik GmbH, Regensburg, Deutschland
LabChart	ADInstruments, Dunedin, New Zealand
Kalibrationsgefäß mit Rührstab	Bohlender GmbH, Grünsfeld, Deutschland
Wärmebecken	Precision GP10, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Vereinigte Staaten
ELISA-Reader	ELx800™ Absorbance Microplate Reader
ELISA-Kit	BD Biosciences San Diego, Vereinigte Staaten
ELISA-Software	BioTEK Gen5™, Winooski, Vermont, Vereinigte Staaten
Mikrotom	CUT 4062, SLEE Mainz, Germany
ImageJ	Wayne Rasband, Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, Vereinigte Staaten
Ilastik	Interactive Learning and Segmentation Toolkit, Sommer et al, 2011
Microsoft Excel 2010	Microsoft Corporation Redmond, Washington, Vereinigte Staaten
SigmaPlot 12.5	Systat Software Erkrath, Deutschland

IMS-Auswertungssoftware	Visual Now, Version 3.1, B&S Analytik, Dortmund, Deutschland
Zentrifugen	Megafuge 1.0 R, Heraeus, Hanau, Deutschland Z233 MK-2, Hermle, Gosheim, Deutschland
BGA-Gerät	ABL-800, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark
BGA-Set	safeCLINITUBES, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark

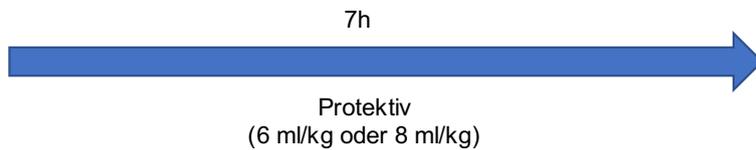
3.3 Versuchstiere

Die Versuche wurden mit durchschnittlich 330 g (293 g – 410 g) schweren männlichen Sprague-Dawley-Ratten nach Genehmigung durch die lokale Tierschutzkommission (Landesamt für Gesundheit und Verbraucherschutz, Saarbrücken, Deutschland) durchgeführt (Antragsnummer: 45/2016). Die Tiere wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten (Lufttemperatur 20 ± 2 °C, relative Luftfeuchtigkeit 50 ± 5 %). Die Fütterung erfolgte mit Standardlaborfutter, Wasser wurde ad libitum bereitgestellt. Zwölf Stunden vor Versuchsbeginn wurden die Tiere nüchtern gesetzt, Wasser stand jedoch weiterhin zur Verfügung.

3.4 Studiendesign – Gruppen

5 Gruppen mit jeweils 15 Tieren

Zwei Protektivgruppen



Drei Interventionsgruppen

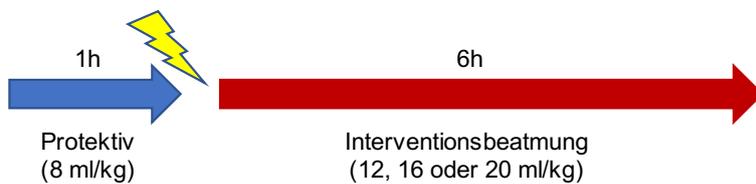


Abbildung 10: Gruppeneinteilung und Studiendesign

Die Studie enthielt fünf Gruppen à 15 Tiere. Entsprechend wurde eine Gesamtzahl von 75 Tieren untersucht. Zwei Protektivgruppen wurden mit einem Tidalvolumen von 6 und 8 ml/kg KG beatmet. Drei Interventionsgruppen wurden mit einem Tidalvolumen von 12, 16 und 20 ml/kg KG beatmet. Die Versuchsdauer betrug in allen Gruppen sieben Stunden. Die Tiere aus den Protektivgruppen wurden durchgängig mit dem gruppenspezifischen Tidalvolumen beatmet. Die Tiere aus den Interventionsgruppen wurden initial mit einem Tidalvolumen von 8 ml/kg KG für eine Stunde beatmet. Anschließend wurden die gruppenspezifischen Tidalvolumina für sechs weitere Stunden appliziert.

3.5 Versuchsdurchführung

3.5.1 Versuchsvorbereitung

Die Narkose wurde inhalativ in einer luftdicht verschlossenen Box mit dem volatilen Anästhetikum Sevofluran und dem Trägergas Sauerstoff durchgeführt (5% Sevofluran, 1L/min O₂). Nach Erreichen einer ausreichenden Narkosetiefe wurden die Tiere gewogen und anschließend in Rückenlage auf einer Wärmeplatte positioniert. Die Narkose wurde nun inhalativ weiterhin über eine Maske mit Sevofluran und Sauerstoff aufrechterhalten. Nach Erlöschen des Zwischenzehenreflexes und einer damit einhergehenden suffizienten Narkosetiefe wurde die chirurgische Präparation mit einem medianen Hautschnitt zwischen Mandibula und Manubrium sterni begonnen. Es erfolgte die Freilegung der Vena jugularis interna dextra mittels stumpfer Präparation. Anschließend wurde das Gefäß nach kranial ligiert, eingeschnitten, ein Polyethylen-Katheter eingeführt und dieser mittels Fäden fixiert. Im Anschluss wurde die Infusion von einer Narkosemischung aus Ketamin und Propofol mit je 5mg/ml Wirkstoff und einer Dosierung von 30 mg/kg/h begonnen. Die Gesamtrate des infundierten Volumens betrug 10 ml/kg/h. Die Applikation des inhalativen Anästhetikums wurde sukzessiv unter zunehmender Wirkung der intravenösen Narkosemedikation reduziert. Anschließend wurde die Trachea frei präpariert, eingeschnitten und eine Stahlkanüle zur späteren maschinellen Beatmung eingeführt. Abschließend wurde die Arteria carotis communis sinistra freipräpariert, der Nervus vagus von dieser gelöst, das Gefäß kaudal geklemmt und kranial mit einem Faden ligiert. Es erfolgte die Inzision und Anlage des Polyethylen-Katheters und der Anschluss an ein arterielles Drucksystem zur späteren Blutdruckableitung.

Die bisher beschriebene Präparation wurde unter Spontanatmung durchgeführt. Nach Abschluss der Präparation wurden die Tiere mit dem Muskelrelaxans Rocuronium relaxiert und gemäß Gruppenzugehörigkeit mechanisch ventiliert.

3.5.2 Versuchsaufbau

Abbildung 11 zeigt eine Fotografie des MCC-IMS-Arbeitsplatzes mit den relevanten angeschlossenen Geräten. In den folgenden Kapiteln werden die einzelnen Komponenten eingehend besprochen.

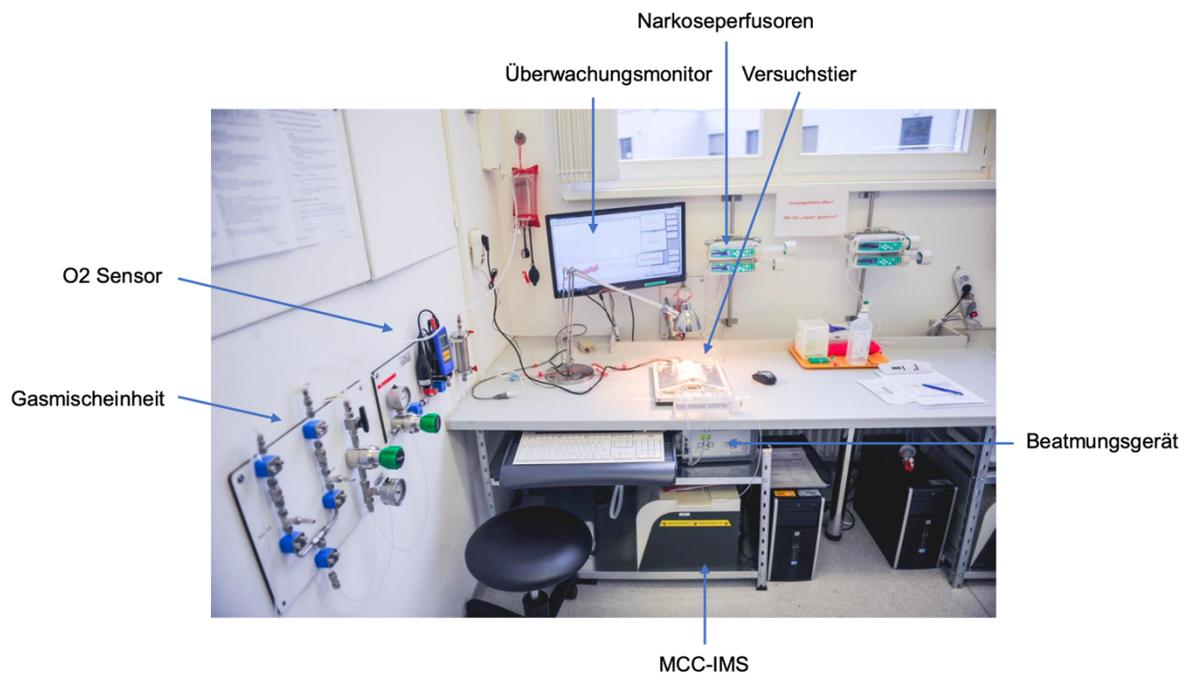


Abbildung 11: IMS-Arbeitsplatz

3.5.2.1 Narkose

Nach Beatmungsbeginn wurde die Narkose mittels einer Propofol-Ketamin-Mischung mit einer Dosierung von zunächst 25 mg/kg/h aufrechterhalten. Zu jeder folgenden Stunde wurde die Perfusorlauftrate um 0,1 ml/h bis zum Erreichen einer Dosierung von 15 mg/kg/h reduziert. Hierdurch sollte einer Überdosierung und einer übermäßigen Akkumulation der verwendeten Substanzen entgegengewirkt werden. Die Laufrate der Basalinfusion mit Sterofundin wurde entsprechend der Differenz zur gewichtsadaptierten Gesamtlaufrate (10 ml/kg/h) angepasst.

3.5.2.2 Beatmung und Ausatemluftanalytik

Die Ausatemluftanalysen erfolgten mit Hilfe eines standardisierten Versuchsaufbaus. Die Beatmungsgeräte wurden bereits am Tag vor dem Versuch mit 100% Stickstoff betrieben, um mögliche Verunreinigungen zu vermeiden. Vor Versuchsbeginn wurden zusätzlich noch Raumluft- sowie Ventilatormessungen durchgeführt, um nicht-tierspezifische Analyten zu identifizieren und von der Auswertung auszuschließen.

Die Tiere wurden während des gesamten Untersuchungszeitraums mit einem Kleintierbeatmungsgerät maschinell beatmet. Zur Beatmung wurde eine Mischung aus Stickstoff aus einem Stickstoffgenerator sowie Sauerstoff aus einer Sauerstoffflasche mit einer Sauerstoffendkonzentration von 45-55% benutzt. Mittels Oxymeter wurde die inspiratorische Sauerstoffkonzentration überwacht. Der technische Aufbau der verwendeten Gasmischeinheit ist in Abbildung 12 schematisch dargestellt.

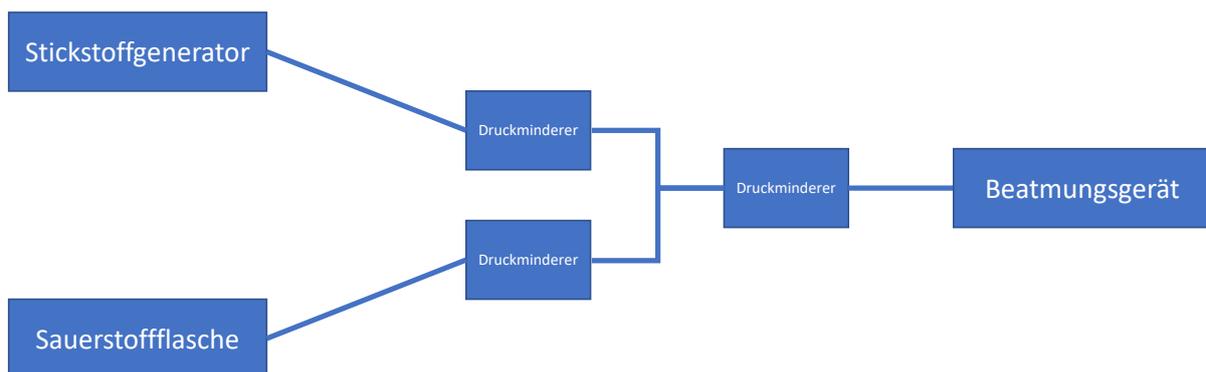


Abbildung 12: Schematischer Aufbau der Gasmischeinheit

Die Atemfrequenz variierte je nach Versuchsgruppe, um bei unterschiedlichem Tidalvolumen zwischen den Gruppen dennoch ein einheitliches Minutenvolumen über alle Gruppen hinweg zu generieren. Die Atemfrequenzen je nach Gruppe sind Tabelle 3 zu entnehmen. Der positive endexpiratorische Druck (PEEP) wurde mit 2 cmH₂O eingestellt. Wurde in den Blutgasanalysen ein pCO₂ > 45 mmHg festgestellt, so wurde die Atemfrequenz um 10 % erhöht. Bei einem pCO₂ von < 28 mmHg wurde die Atemfrequenz um 10 % verringert.

Die Entnahme der Atemluftproben fand am Expirationsschenkel der Beatmungseinheit statt. Hier wurden in 15-minütigen Intervallen Atemluftproben mit einem Volumen von 30 ml über eine Minute hinweg durch das MCC-IMS-Gerät entnommen. Die verwendeten Schläuche bestanden aus Perfluoralkoxy-Polymeren (PFA), einem besonders inerten Material, um Resorption oder Adhäsion von Analyten zu vermeiden.

Tabelle 3: Atemfrequenzen in Abhängigkeit vom Tidalvolumen der einzelnen Versuchsgruppen

Tidalvolumen	Atemfrequenz [min^{-1}]
6 ml/kg KG	83
8 ml/kg KG	63
12 ml/kg KG	42
16 ml/kg KG	31
20 ml/kg KG	25

3.5.2.3 Überwachung der Vitalparameter

Die Vitalparameter wurden während des gesamten Versuchs mittels der Software LabChart aufgezeichnet und auf einem Monitor visualisiert (siehe Abbildung 13). Der mittlere arterielle Druck (MAP) sowie die Herzfrequenz wurden durch ein Druckabnehmer-System am arteriellen Katheter gemessen. Die aktuellen Tidal- und Minutenvolumina sowie die Beatmungsdrücke wurden durch ein im inspiratorischen Beatmungsschenkel integriertes Spirometer ermittelt. Die rektale Temperatur wurde mit einer dauerhaft angelegten Temperatursonde gemessen. Die Daten wurden im Anschluss an den Versuch gespeichert und in die spätere Auswertung mit einbezogen (siehe Kapitel 4.1).

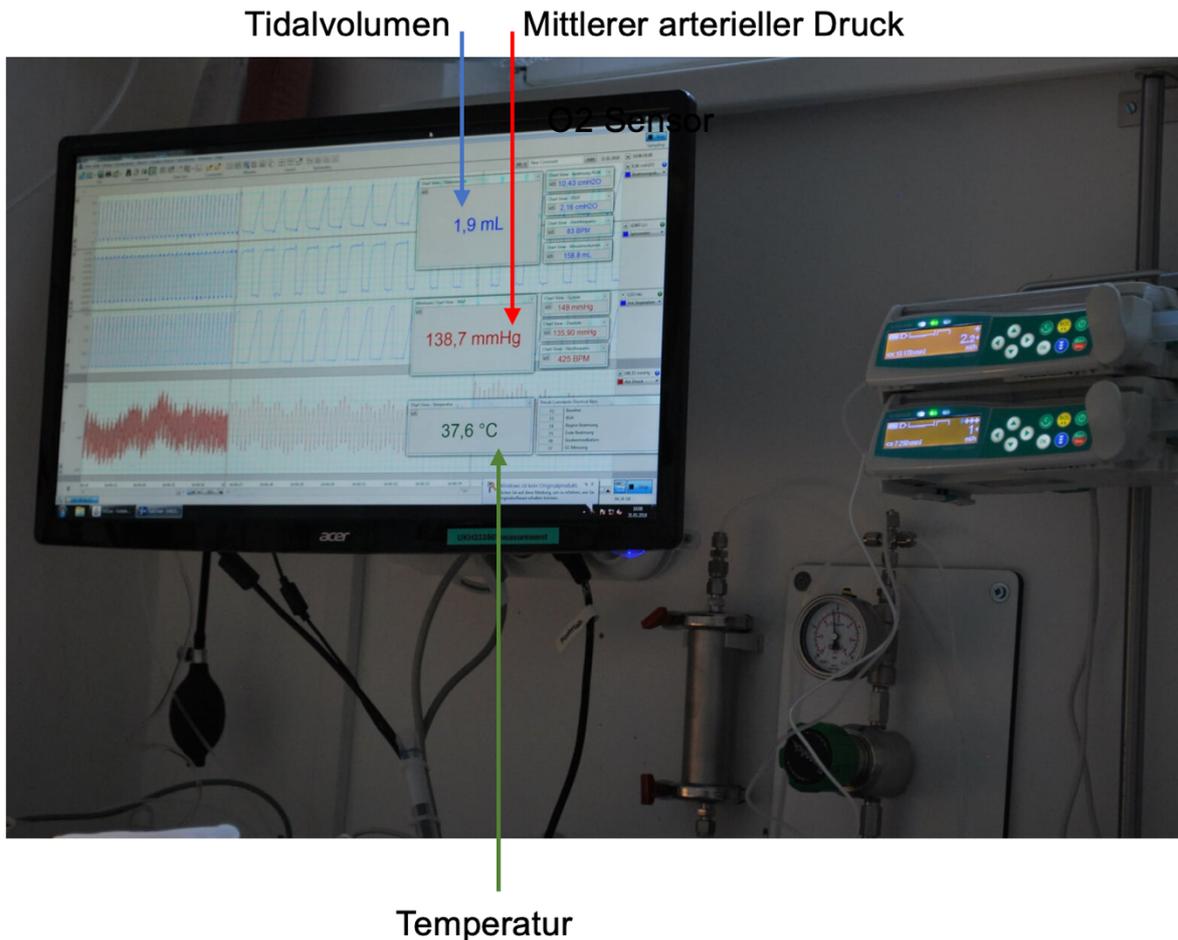


Abbildung 13: LabChart-Aufzeichnungen zur Überwachung

3.5.2.4 Blutentnahmen

Blutentnahmen wurden nach 1, 4 und 7 Stunden durchgeführt. Bei den ersten zwei Blutentnahmen wurden 0,5 ml, bei der letzten Blutentnahme 3 ml über den arteriellen Katheter entnommen und in EDTA-beschichtete Eppendorf Tubes gefüllt. Im Anschluss an jede Blutentnahme wurden zusätzliche 0,15 ml Blut entnommen und für arterielle Blutgasanalysen in eine mit Heparin beschichtete Kapillare gefüllt und mittels eines BGA-Geräts analysiert. 100 µL des EDTA-Blutes der letzten Blutentnahme wurden zur Leukozytenzählung verwendet (siehe Kapitel 3.7). Das Blut im EDTA-Gefäß wurde 10 Minuten bei 7000 Umdrehungen/min und 4 °C zentrifugiert, das Serum anschließend entnommen und bei -75 °C eingefroren.

3.5.2.5 Bronchoalveoläre Lavage und Organentnahme

Die Tötung der Tiere erfolgte nach Ablauf des Untersuchungszeitraums in tiefer Narkose durch eine Überdosis von Propofol und Ketamin. Im Anschluss wurde der Thorax eröffnet und der rechte Hauptbronchus mittels Faden ligiert. Mit einer 5 ml Spritze wurde die linke Lungenhälfte über die Trachealkanüle mit 5 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) dreimal gespült und das erhaltene Material 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen/min bei 4 °C zentrifugiert. Der zellfreie Überstand wurde anschließend bei -75 °C für die Zytokinbestimmung eingefroren (Kapitel 3.8). Das Sediment wurde zur Leukozytenzählung benutzt (Kapitel 3.7). Die rechte Lungenhälfte wurde komplett entnommen. Der rechte obere Lungenlappen wurde zur histologischen Auswertung in ein Gitterkästchen gelegt und anschließend in 4 %-igem Formaldehyd konserviert. Die verbleibenden Anteile der rechten Lungenhälfte wurden in flüssigen Stickstoff gegeben und anschließend bei -75 °C gelagert.

3.6 Geräte

3.6.1 MCC-IMS

3.6.1.1 Aufbau und Funktion

In der vorliegenden Studie wurde ein IMS vom Typ „Breath Discovery“ (B&S Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland) verwendet, welches in den Abbildungen 14 und 15 gezeigt ist.



Abbildung 14: IMS vom Typ "Breath Discovery" von vorne



Abbildung 15: IMS vom Typ „Breath Discovery“ von hinten

Das IMS besteht aus vier Hauptkomponenten – dem Ionisationsraum, einem Schaltgitter, der Driftkammer mit Driftringen und einem Faraday-Auffänger als Detektor am Ende. Die folgende Abbildung zeigt den Aufbau dieser Komponenten schematisch.

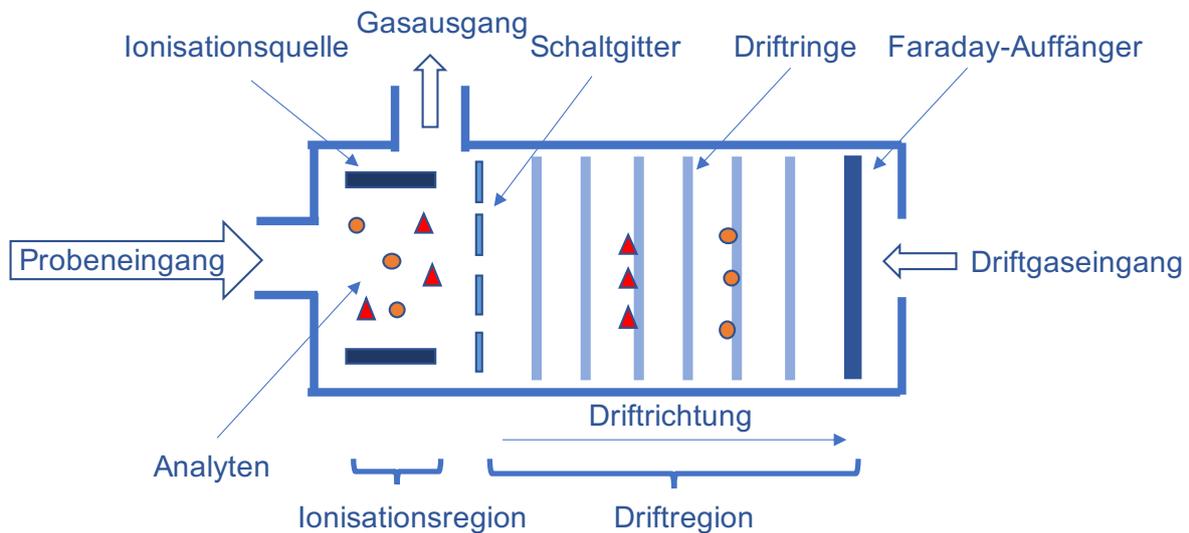


Abbildung 16: Schematische Darstellung des IMS

Angelehnt an Cumeras R, Figueras E, Davis CE et al (2015) Review on ion mobility spectrometry. Part 1: current instrumentation [42]

Im vorliegenden IMS wird Nickel-63 als Betastrahler genutzt, um eintreffende Analyten zu ionisieren. Das Schaltgitter, welches Ionisationsregion und Driftregion voneinander trennt, besteht aus zwei Einzelgittern mit parallel angeordneten Drähten. Die Erzeugung eines elektrischen Feldes senkrecht zum elektrischen Feld der Driftkammer verhindert den Einlass von Molekülen in die Driftregion. Erst eine Reduktion des Feldes ermöglicht den Einstrom von Molekülen in die Driftregion. Das Schaltgitter dient somit als Einlassventil mit einer periodischen Öffnungszeit von 5000 ms. Die Driftringe im Inneren der Driftkammer erzeugen ein elektrisches Feld mit einer Stärke von $300 \frac{V}{cm}$. Am Ende der Driftkammer befindet sich ein Faraday-Auffänger, welcher das Auftreffen der Ionen in ein elektrisches Signal umwandelt. Weitere Betriebsparameter des verwendeten IMS sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4: Betriebsparameter IMS

Betriebsparameter des IMS „Breath Discovery“	
Ionisationsquelle	Betastrahler (63Ni)
Elektrische Feldstärke	300 V/cm
Driftstrecke	12 cm
Durchmesser der Driftkammer	15 mm
Öffnungszeit des Schaltgitters	5000 ms
Trägergasfluss Multikapillarsäule	150 ml/min
Driftgasfluss	100 ml/min
Betriebstemperatur	40 °C
Druck	Umgebungsdruck
Probenschleifen-Volumen	10 ml
Probenfluss	50 ml/min
Messdauer	750 Sekunden
Driftgas	Synthetische Luft

Zusätzlich ist dem IMS eine Multikapillarsäule (MCC, engl. : multi capillary column) vorgeschaltet, die eine Voraufftrennung anhand der physikalischen Beschaffenheit der Analyten bewirkt sowie eine Messung bei hoher Luftfeuchtigkeit ermöglicht [14] (Abbildung 17). Die genutzte Multikapillarsäule der Firma Multichrom aus Moskau und Novosibirsk besteht aus ca. 1000 einzelnen Kapillaren mit einem Durchmesser von jeweils ca. 43 µm. Die Kapillaren sind mit einem leicht polaren Film bedeckt, welcher als stationäre Phase dient, um die Analyten der Probe aufzutrennen. Der mögliche Trägerfluss kann bis zu 300 ml/min betragen. Eingestellte Parameter und Eigenschaften der genutzten MCC sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Betriebsparameter Multikapillarsäule

Betriebsparameter der Multikapillarsäule MCC-OV5	
Temperaturbereich	Max. 250 °C
Trägergasfluss	150 ml/min
Säulenlänge	Bis 100 cm
Anzahl der Kapillaren	Ca. 1000
Innendurchmesser der Kapillaren	43 µm
Polarität	Unpolar / polar
Filmdicke	200 nm

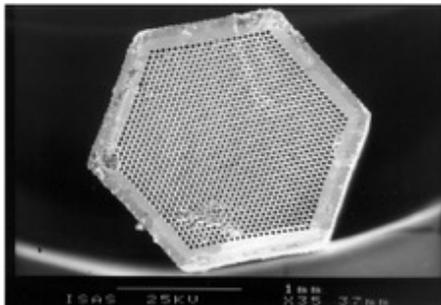


Abbildung 17: Bild der verwendeten Multikapillarsäule

Quelle: Baumbach JI (2009) Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath [14]

Bei jedem Messvorgang gelangen 10 ml Ausatemluft mit Hilfe von Stickstoff als Trägergas durch die Probenschleife in die MCC. Durch Interaktion der Analyten aus der Ausatemluft mit der stationären Phase des IMS werden diese je nach physikalischer Beschaffenheit aufgetrennt. Im Folgenden ist diese Interaktion schematisch dargestellt. Die verschiedenen Analyten brauchen unterschiedlich lang, um die MCC zu passieren. Als charakteristischen Parameter erhält man die für den jeweiligen Analyten spezifische Retentionszeit.

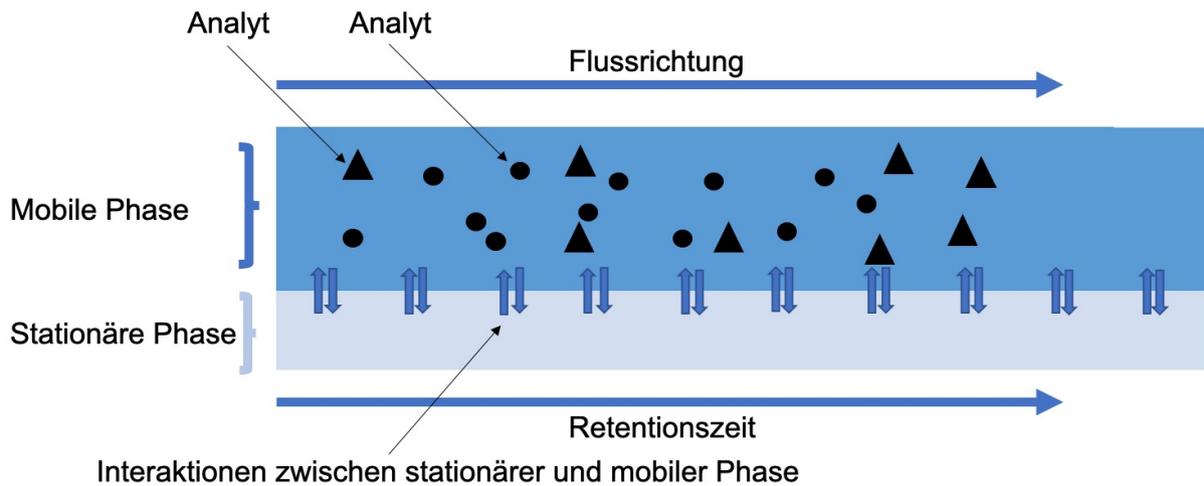


Abbildung 18: Schematische Darstellung der Interaktionen zwischen stationärer und mobiler Phase in der MCC

Anschließend gelangen die Analyten mit dem Trägergas in den Ionisationsraum des IMS und werden mittels Nickel-63 ionisiert. Im ersten Schritt wird hauptsächlich der Stickstoff im Trägergas ionisiert [12]. Es wird nun eine Kaskade in Gang gesetzt, bei der der ionisierte Stickstoff weitere Bestandteile der Luft ionisiert. Hierbei entstehen instabile, hochreaktive Ionen, unter anderem H^+ (H_2O)_n- und negative O_2^- (H_2O)_n-Ionen [14]. Die Ionisationsintensität ist hierbei abhängig von der Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Analytkonzentration und dem Luftdruck.

Nach Passage des Ionengitters gelangen die Analyten in die Driftkammer. Durch das elektrische Feld, erzeugt durch die in der Driftkammer enthaltenen Driftringe, werden die ionisierten Moleküle nun in Richtung des Faraday-Auffängers gelenkt. In entgegengesetzter Richtung fließt ein Driftstrom, bestehend aus synthetischer Luft mit höchster Reinheit. Die Moleküle werden je nach Beschaffenheit unterschiedlich stark durch das Driftgas ausgebremst. Verschiedene Moleküle haben somit eine unterschiedliche charakteristische Driftzeit. Größere Moleküle kollidieren öfters mit den Molekülen aus dem Driftgas und besitzen somit eine längere Driftzeit als kleinere Moleküle. [14]

Durch das Auftreffen der Moleküle auf den Faraday-Auffänger am Ende der Driftkammer wird eine elektrische Spannung erzeugt, welche in Volt ausgegeben wird. Je höher die Konzentration des Analyten, desto höher ist auch die erzeugte Stromspannung. Ein direkter Rückschluss von der generierten Spannung auf die Analytkonzentration ist jedoch nicht möglich. Hierfür ist eine Kalibration mittels definierter Konzentrationen notwendig (siehe Kapitel 3.6.1).

Durch Auftragen der Signalintensität gegen die Driftzeit ergibt sich das entsprechende IMS-Spektrum (Abbildung 19). Berücksichtigt man nun die Retentionszeit in der Multikapillarsäule, so erhält man ein dreidimensionales IMS-Spektrum, in dem die Parameter Retentionszeit,

Driftzeit und Intensität dargestellt sind. Ein zwei- und dreidimensionales Auswertungsbild eines IMS-Spektrums ist in den Abbildungen 20 und 21 dargestellt.

Je nach Konzentration des Analyten sind neben den Monomeren auch Dimere nachweisbar. Bei Monomeren bindet ein Proton ein Molekül des Analyten. Ist die Konzentration dessen sehr hoch, so sind nicht genügend Protonen für eine Einzelbindung vorhanden und ein Proton bindet zwei Moleküle und es entstehen Dimere. Der im Spektrum auftretende Peak der Dimere weist die gleiche Retentionszeit auf, jedoch erhöht sich die Driftzeit aufgrund der größeren molekularen Beschaffenheit. Zur Berechnung der Analyt-Gesamtkonzentration muss die Dimer-Bildung berücksichtigt werden. So erfolgt die Berechnung der Gesamtintensität eines Analyten mit der folgenden Formel: Gesamtintensität [Volt] = Monomer-Intensität [Volt] + 2 x Dimer-Intensität [Volt].

Die benutzten Messparameter in den Tierversuchen sind in Tabelle 4 gezeigt.

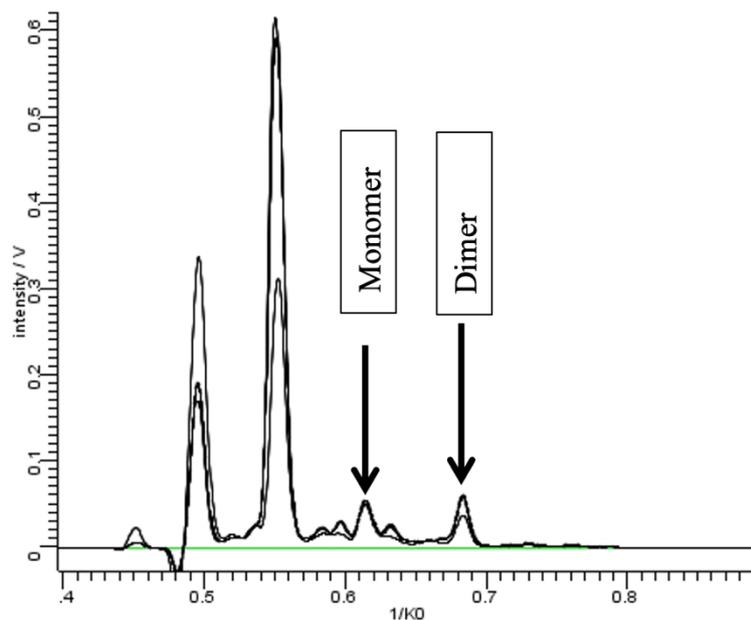


Abbildung 19: Pentanal-Monomer- und Pentanal-Dimer-Peak

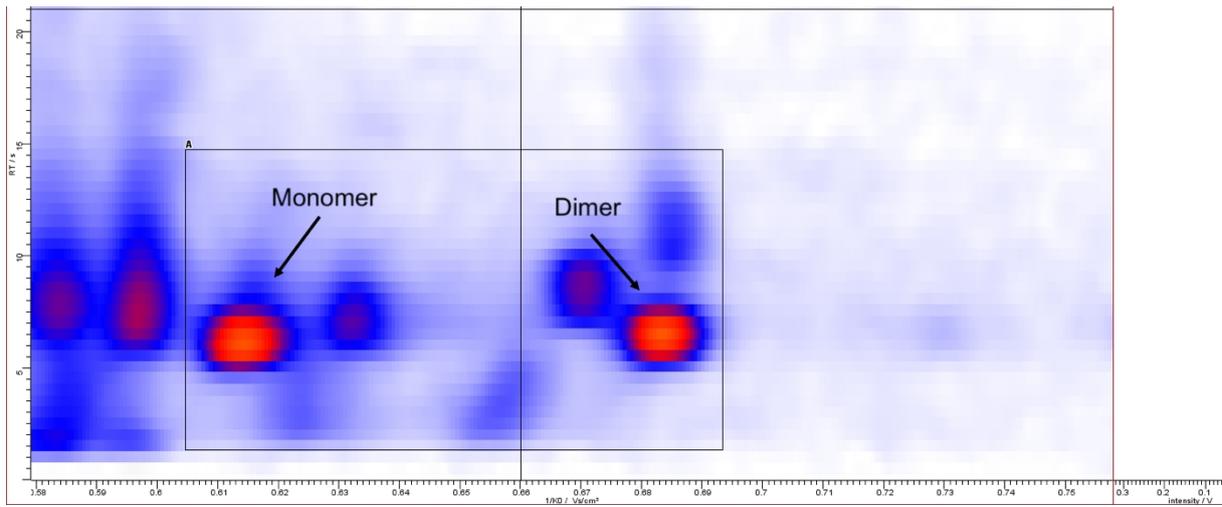


Abbildung 20: 2D-Darstellung des Pentanal-Monomer- und Pentanal-Dimer-Peaks

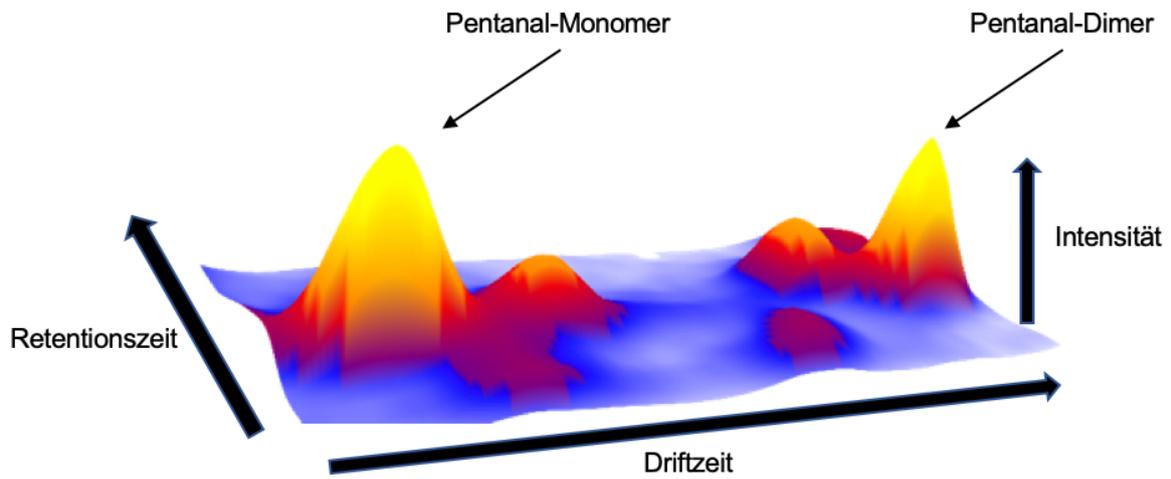


Abbildung 21: 3D-Darstellung des Pentanal-Monomer- und Pentanal-Dimer-Peaks

In der folgenden Grafik sind die Abläufe der Ausatemluftgewinnung und -analyse noch einmal schematisch dargestellt.

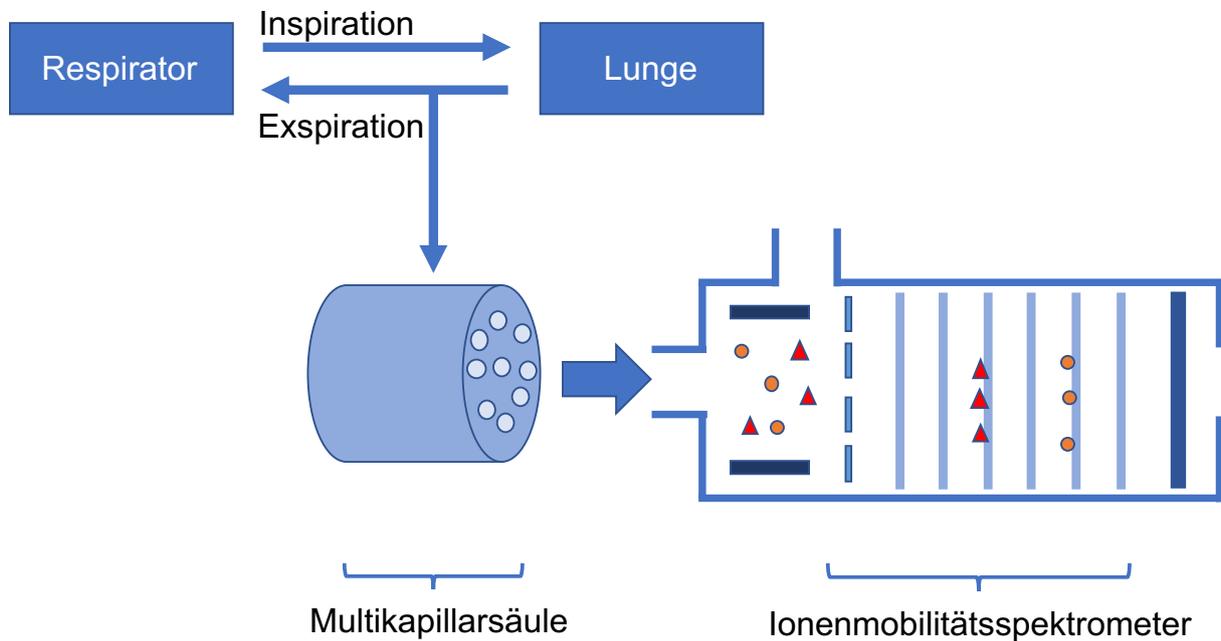


Abbildung 22: Schematische Darstellung der Analyseabläufe. Enthält Abbildung angelehnt an [42]

3.6.1.2 Kalibration

Um die vom IMS-Gerät ausgegebene Intensität einer bestimmten Konzentration des Analyten zuordnen zu können, ist eine Kalibration für jedes Gerät für die entsprechende Substanz notwendig. Die Reinsubstanz Pentanal wurde hierzu mit hochreinem Hexan verdünnt, um definierte Konzentrationen in einem Kalibrationsgefäß zu erreichen und mit dem MCC-IMS vermessen zu können.

Beim Kalibrationsgefäß handelte es sich um ein Perfluoralkoxy-Gefäß (PFA-Gefäß), welches im Wasserbad auf 37 °C temperiert wurde. Mittels Rührer wurden eine homogene Verteilung und schnelle Verdunstung des Analyten sichergestellt. Der Aufbau ist in den Abbildungen 24 und 25 dargestellt. Zur Reinigung des Gefäßes wurde es mit synthetischer Luft höchster Reinheit und Stickstoff gespült. Der Rechenansatz der Stammlösung zur Kalibration von Pentanal ist in Abbildung 23 dargestellt.

Kalibration 2.6782 Behälter			
Untersuchter Stoff:	Pentanal		Molare Masse: 86,13 g/mol
Volumen:	1	μl	Stoffmenge: 9,2163E-06 mol
Konzentration:	98	%	Volumen: 0,234555628 mL
Dichte:	810	μg/μl	
Menge:	793,8	μg	
Flaschen Volumen:	2678,2	ml	für 37°C = 310,15 K
Startkonzentration:	87579,58	ppb (v/v)	
Verdünnen mit	87,57857888 ml Lösungsmittel, damit 1 μl = 1 ppb(v/v)		
Weitere Verdünnungen			
Hexan (ml)	Pentanal (μl)		
87,55957888	20 damit 1 μl = 20 ppb(v/v)		
87,52957888	50 damit 1 μl = 50 ppb(v/v)		
87,47957888	100 damit 1 μl = 100 ppb(v/v)		

Abbildung 23: Berechnungsergebnis der Konzentrationen für die Pentanal-Stammlösung in Microsoft Excel

Zur Kalibration wurde zunächst eine Stammlösung angesetzt, von welcher 1 μl zu einer Konzentration von 50 ppbv im Kalibrationsgefäß führt. Um das Mischungsverhältnis von Reinsubstanz und Hexan zu bestimmen, wurde zunächst die durch das theoretische Einbringen von 1 μl Pentanal im Kalibrationsgefäß erreichte Konzentration in ppbv berechnet. Anschließend wurde berechnet, mit welcher Menge Hexan die Reinsubstanz zu verdünnen ist, um die gewünschte Ausgangskonzentration durch 1 μl im Kalibrationsgefäß zu erreichen.

Um die Konzentration, die durch 1 μl Pentanal-Reinsubstanz im Kalibrationsgefäß mit einem Volumen von 2,6782 l erzeugt wird, zu berechnen, müssen zunächst die Masse m , die molare Masse M sowie die Stoffmenge n ermittelt werden. Die Masse m kann mittels Multiplikation von Volumen, Konzentration und Dichte der Reinsubstanz ermittelt werden. Bei der Konzentration der Pentanal-Reinsubstanz von 98% mit einer Dichte von 810 μg/μl ergibt sich eine Masse von 793,8 μg für ein Volumen von 1 μl. Hieraus kann nun bei bekannter molarer Masse M von 86,12 g/mol die Stoffmenge n mittels $M = \frac{m}{n}$ errechnet werden und diese beträgt $9,2163 \times 10^{-6}$ mol. Zur Berechnung des Volumens, welches 1 μL Pentanal in Gasform einnimmt, müssen die Gaskonstante, die Temperatur und der Druck nach der Formel $V = \frac{nRT}{p}$ berücksichtigt werden, wobei V das gesuchte Volumen (m^3), n die Stoffmenge (mol), R die allgemeine Gaskonstante ($J/(kg \times K)$), T die Temperatur (K) und p der atmosphärische Druck (Pa) ist. Eingesetzt in die Formel ergibt sich:

$$V = \left(\frac{9,2163 \times 10^{-6} \text{ mol} \times 8,3144598 \frac{\text{J}}{\text{kg} \times \text{K}} \times 310,15 \text{ K}}{101325 \text{ Pa}} \right) \times 10^6 \text{ und damit ein Volumen von } 0,234555628 \text{ ml.}$$

Zur Berechnung der Pentanalkonzentration im Kalibrationsgefäß wird nun das gasförmige Volumen von Pentanal ins Verhältnis zum Volumen im Kalibrationsgefäß gesetzt und mit dem Faktor 10^{-9} multipliziert, wodurch sich eine Konzentration von 87579,58 ppbv ergibt.

Abschließend wurde die erforderliche Verdünnung mit Hexan berechnet, damit 1 μl der gewonnenen Lösung zu einer Konzentration von 50 ppbv im Kalibrationsgefäß führt. So ergab sich eine erforderliche Zugabe von 87,52957888 ml Hexan zu 1 μl der Pentanal-Reinsubstanz.



Abbildung 24: Messaufbau der Pentanalkalibration

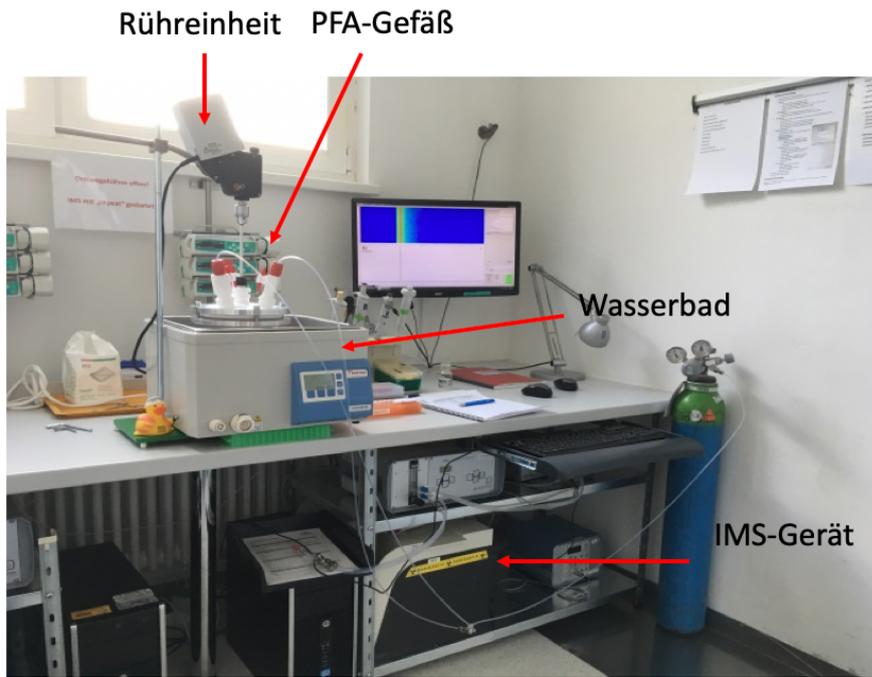


Abbildung 25: Messaufbau der Pentanalkalibration

Folgend wurde eine geometrische Verdünnungsreihe mit 1,5 ml-Reaktionsgefäßen ausgehend von der 50 ppbv-Stammlösung durchgeführt, um 10 Konzentrationen/Verdünnungen herzustellen. Jeder Verdünnungsschritt führte zu einer Halbierung der Konzentration. Jeweils 1 μL der jeweiligen Verdünnung entsprach der angegebenen Konzentration im Kalibrationsgefäß in ppbv. Der schematische Ablauf der Verdünnung ist in Abbildung 26 dargestellt, die entsprechenden Verdünnungen finden sich in Tabelle 6.

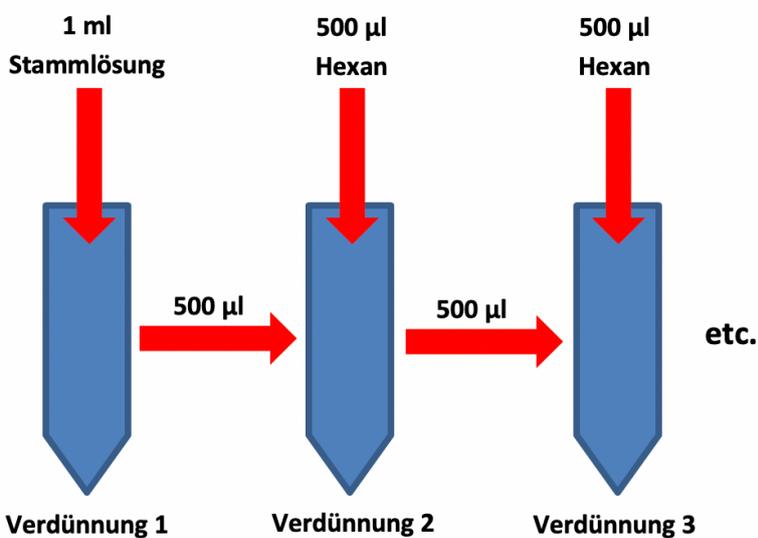


Abbildung 26: Schematische Darstellung der Verdünnungsreihe

Tabelle 6: Verdünnungsreihe Pentanalkalibration

Verdünnung Nr.	ppbv
1	50
2	25
3	12,5
4	6,25
5	3,125
6	1,5625
7	0,78125
8	0,390625
9	0,1953125
10	0,09765625

Zunächst wurde das Kalibrationsgefäß für 10 Minuten mit gefiltertem Stickstoff gespült, gefolgt von einer Spülung mit synthetischer Luft höchster Reinheit für zwei Minuten. Bei den beiden IMS-Geräten wurde anschließend eine Blank-Messung durchgeführt. Beginnend mit der größten Verdünnung wurde 1 µl der jeweiligen Kalibrationslösung in das Kalibrationsgefäß pipettiert und durch den Rührer im geschlossenen Gefäß für zwei Minuten verteilt. Anschließend wurde die Probenmessung gestartet. Durch grafische Auftragung der mit dem MCC-IMS gemessenen Intensität in Volt und den Konzentrationswerten in ppbv konnten für beide genutzten MCC-IMS-Geräte Kalibrationskurven mit einem R^2 von rund 0,99 erstellt werden. Die Kalibrationskurven sind in Abbildung 27 dargestellt.

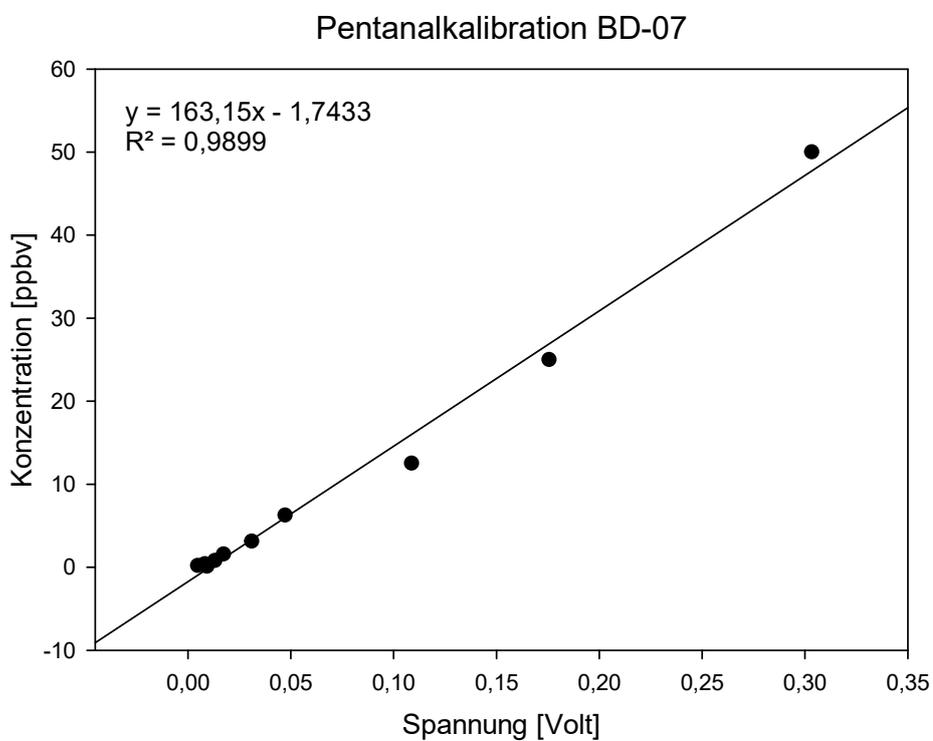
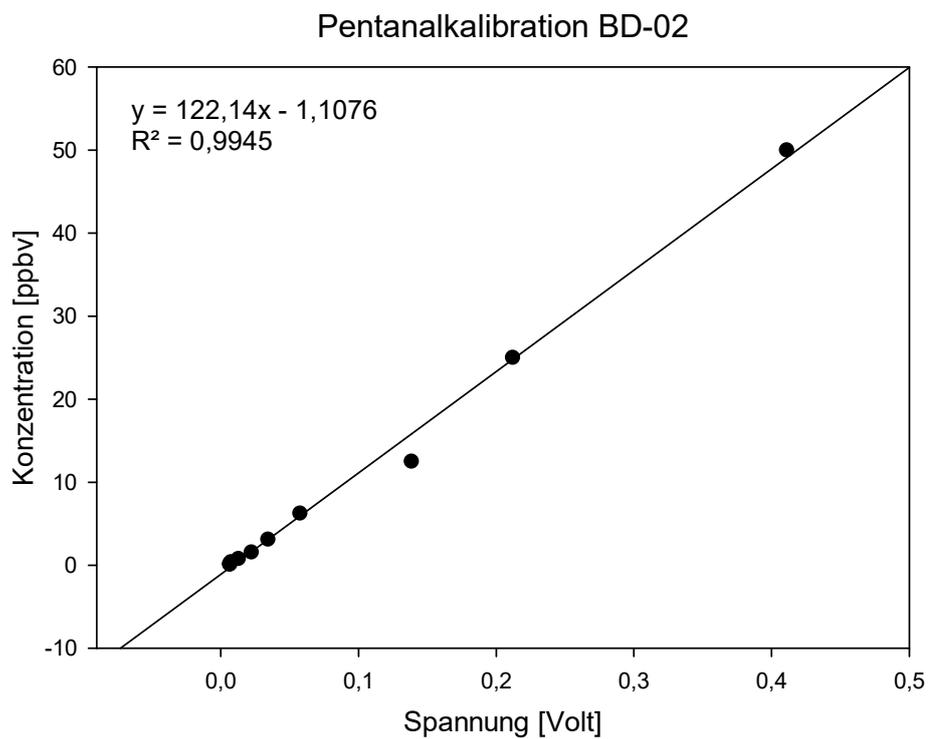


Abbildung 27: Kalibrationskurven für Pentanal für die zwei verwendeten MCC-IMS-Geräte

Die für die Kalibration genutzten Messeinstellungen sind Tabelle 7 zu entnehmen.

Tabelle 7: Messeinstellungen des MCC-IMS für die Kalibration

Messeinstellungen des MCC-IMS für die Kalibration	
IMS-Gerät	„Breath-Discovery“
Dauer des Samplings	10 s
Analysedauer	60 s
Betriebstemperatur	40 °C
Druck	Atmosphärendruck
Driftgasfluss	100 $\frac{mL}{min}$

3.6.2 Auswertung der IMS-Signale

Zur Auswertung der durch das MCC-IMS generierten Messspektren wurde die Software Visual Now von B&S Analytik verwendet. Der Pentanal-Peak wurde anhand von Drift- und Retentionszeit lokalisiert. Die ermittelte Spannung in Volt konnte durch die vorherige Kalibration (siehe Kapitel 3.6.1.2) der entsprechenden Pentanal-Konzentration in ppbv zugeordnet werden.

3.7 Bestimmung der Leukozytenzahl

Für die Leukozytenzählung wurden 10 µl Vollblut bzw. das abzentrifugierte Pellet der bronchoalveolären Lavage mit 190 µl 3 %-iger Essigsäure vermischt. Anschließend wurden in einer Neubauer-Zählkammer die vier Eckquadrate ausgezählt und mit 50 multipliziert, um die Leukozytenzahl pro µl zu bestimmen.

3.8 Bestimmung der Zytokinkonzentrationen mittels ELISA

Die Konzentrationen von Interleukin 6 und TNF-alpha wurden mittels Sandwich-ELISA bestimmt. Hierzu wurden kommerziell erhältliche ELISA-Kits der Firma BD Biosciences verwendet.

Für die Bestimmung mittels Sandwich-ELISA wird zunächst ein spezifischer Antikörper auf eine Mikrotiterplatte gegeben und bei 4 °C über Nacht inkubiert. Es erfolgt anschließend das Blocken der übrigen Bindungsstellen mittels speziellem Diluent der Firma BD Biosciences und Inkubation für 60 Minuten bei Raumtemperatur. Im Anschluss wird die Probe aufgetragen und 120 Minuten inkubiert. Die Antikörper binden am Epitop des spezifischen Antigens. Durch einen Waschvorgang wird überschüssiges Material entfernt und ein zweiter Antikörper, welcher an ein zweites Epitop des zu analysierenden Antigens bindet, hinzugefügt. Enzym und Substrat werden nun aufgebracht. Das Enzym bindet an den zuletzt hinzugefügten Antikörper und setzt das Substrat um, wobei eine blaue Farbreaktion entsteht. Durch Zugabe von Schwefelsäure nach 30 Minuten wird die blaue Farbreaktion gestoppt und der Farbstoff ändert seine Farbe zu gelb. Mittels ELISA-Reader und zugehöriger Software kann dieser Farbumschlag nun ausgewertet und die Interleukin-Konzentration bestimmt werden.

Eine schematische Darstellung des Prinzips des Sandwich-ELISA, wie bei der Interleukinbestimmung in der vorliegenden Arbeit verwendet, ist in Abbildung 28 gezeigt.

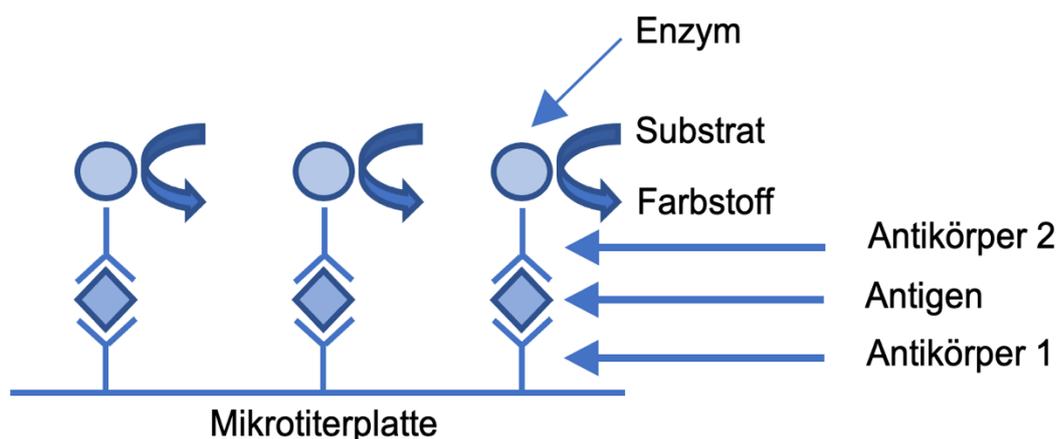


Abbildung 28: Schematische Darstellung der verwendeten ELISA-Technik

3.9 Histologische Auswertung

3.9.1 Herstellung der Präparate

Für eine histologische Untersuchung auf Lungengewebsschäden wurde jeweils der rechte Oberlappen der Lunge entnommen und mittels 4 %-igem gepuffertem Formaldehyd fixiert. Zur Vorbereitung des Gewebes für die Schnitte wurde zunächst das Fixierungsmittel mit destilliertem Wasser ausgespült. Es erfolgte die Entwässerung mittels einer Alkoholreihe in aufsteigender Konzentration mit Ethanol 70 % (3 Minuten), 80 % (3 Minuten), 90 % (5 Minuten), 100 % (2 x 5 Minuten) sowie abschließend Xylol (3 x 5 Minuten). Anschließend wurde das fixierte Gewebe in 50-70 °C temperiertem Paraffin eingebettet und war danach geeignet für die Anfertigung von Schnitten.

Diese erfolgten mit Hilfe eines Mikrotoms. Hierzu wurden aus den Blöcken jeweils Schnitte mit einer Dicke von 4 µm angefertigt und anschließend in einem Wasserbad mit 50 °C gestreckt, um glatt auf einen Objektträger gezogen werden zu können.

Die Schnitte wurden dann 40 Minuten bei 60 °C im Inkubator getrocknet und mit Xylol und einer Reihe von absteigenden Ethanol-Konzentrationen in entgegengesetztem Ablauf, wie oben beschrieben, fixiert. Die fixierten Schnitte wurden mit Mayer's Hämalaun 2-5 Minuten gefärbt sowie für 2 Minuten mit 0,1 % Eosin mit jeweils folgender Auswaschung unter Leitungswasser für 5-7 Minuten. Es folgte die abschließende Differenzierung mit Ethanol in aufsteigender Konzentration und Xylol, wie oben beschrieben.

3.9.2 Auswertung der histologischen Schnitte

Zur Auswertung des Flächenanteils des Alveolarraumes im histologischen Schnitt wurden von jedem Präparat zehn repräsentative Bildausschnitte gewählt und abfotografiert. Es folgte eine automatische Segmentierung in zwei Graustufen mittels Ilastik (Interactive Learning and Segmentation Toolkit). Ilastik ist ein selbstlernendes Programm und ermöglicht die automatische Klassifikation und Segmentierung von Bildmaterial hinsichtlich unterschiedlicher Strukturen. Hierdurch ist eine automatisierte Abgrenzung von Alveolarraum und perialveolärem Gewebe möglich. Mit Hilfe von ImageJ wurde die Erstellung eines binären Bildes sowie die Errechnung der alveolären Fläche aus der generierten Quelldatei durchgeführt. Bilder mit einem alveolären Flächenanteil von unter 10 % wurden einzeln überprüft und ausgeschlossen, da es sich hier um nicht-repräsentative Schnitte mit beispielsweise peribronchialen Gewebe oder von der Organentnahme komprimierten Abschnitten gehandelt hat.

3.10 Statistische Auswertung

Die tabellarische Auflistung der Messdaten sowie die Randomisierung der Versuchstage und Versuchsgruppen wurde mit Hilfe von Microsoft Excel erstellt. Die erhobenen Daten wurden mittels SigmaPlot 12.5 und SPSS 26 analysiert. Durch den Shapiro-Wilk Test wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft. Da bei den meisten Daten keine Normalverteilung vorlag, werden die Daten als Median mit Interquartilsabstand angegeben. Der zu erwartende Unterschied der IMS-Intensität wurde, basierend auf vorherigen Daten, auf $2,0 \pm 1,5$ mV nach 7 Stunden Beatmung mit Tidalvolumina zwischen 6 ml/kg KG und 20 ml/kg KG geschätzt. Basierend auf einer Anova-Fallzahlplanung wurde die Gruppengröße auf 15 Tiere festgelegt (Power 0,8; Alpha 0,05).

Der Anstieg der Pentanalkonzentration wurde mit Hilfe von verallgemeinerten linearen Schätzgleichungen (engl.: „generalized estimating equations“ - GEE) unter Nutzung einer austauschbaren Arbeitskorrelationsmatrix berechnet. Hierbei war die Beatmungszeit mit dem jeweils gruppenspezifischen Tidalvolumen die unabhängige Variable. Die Konzentrationen von Pentanal und Zytokinen sowie histologische Zeichen einer Lungenschädigung wurden mittels one-way ANOVA on ranks und Dunn's Test zwischen den Gruppen verglichen. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

4. Ergebnisse

4.1 Vital- und Beatmungsparameter

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 83 Tiere untersucht, wovon 75 eingeschlossen wurden. Ausschlussgründe waren Komplikationen bei der Präparation sowie technische Fehler.

In Tabelle 8 sind die Vitalparameter und Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalysen jeweils eine Stunde, vier Stunden und sieben Stunden nach Beatmungsbeginn dargestellt. Im Anschluss an die Tabelle findet sich zudem zu jedem Parameter ein Boxplot, welcher den Gruppenvergleich der Blutgasanalysen zum letzten Blutentnahmezeitpunkt besser visualisiert. Es zeigte sich beim pO_2 ein signifikanter Unterschied zwischen den Interventionsgruppen (12–20 ml/kg KG) und der Protektivgruppe 1 (6 ml/kg KG Tidalvolumen) bereits nach einer Stunde interventioneller Beatmung. Hier ergab sich in der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe mit 185 mmHg der niedrigste pO_2 -Wert. Zu den mit 8 ml/kg KG beatmeten Tieren zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied.

Der pCO_2 zeigte eine deutliche Abnahme in den Interventionsgruppen im Laufe des Versuches. Am stärksten zeigte sich diese in der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe, bei welcher ein initialer pCO_2 von 37,2 mmHg vorlag und ein Endwert von 29,6 mmHg gemessen wurde. Der pH-Wert wies keine relevanten Unterschiede auf und befand sich im Bereich zwischen 7,3 und 7,5.

Während des Untersuchungszeitraums zeigte sich ein Abfall des Blutdrucks in allen Gruppen. Dies ist in Abbildung 32 dargestellt.

Tabelle 8: Ergebnisse der Blutgasanalysen und Vitalparameter

	<u>Gruppe</u>	<u>1h</u>	<u>4h</u>	<u>7h</u>
pH-Wert	6 ml/kg KG	7,39 7,36 - 7,41	7,38 7,36 - 7,40	7,33 7,30 - 7,38
	8 ml/kg KG	7,41 7,40 - 7,44	7,40 7,36 - 7,43	7,36 7,32 - 7,41
	12 ml/kg KG	7,44 7,42 - 7,46	7,45 7,42 - 7,47	7,42 7,37 - 7,45
	16 m/kg KG	7,42 7,40 - 7,46	7,46 7,42 - 7,47	7,45 7,39 - 7,47
	20 ml/kg KG	7,44 7,40 - 7,48	7,45 7,43 - 7,48	7,45 7,41 - 7,51
pCO₂ [mmHg]	6 ml/kg KG	42,5 38,0 - 43,8	39,9 37,4 - 42,9	41,7 39,0 - 47,6
	8 ml/kg KG	39,5 36,3 - 41,2	37,9 34,9 - 39,5	38,2 34,0 - 42,4
	12 ml/kg KG	37,8 35,6 - 40,5	32,7 31,3 - 35,1	32,0 30,3 - 35,4
	16 m/kg KG	37,3 36,7 - 39,8	33,3 29,3 - 35,5	30,5 28,8 - 33,8
	20 ml/kg KG	37,2 34,7 - 40,4	31,1 27,4 - 33,4	29,6 27,0 - 34,0
pO₂ [mmHg]	6 ml/kg KG	184 152 - 213	202 167 - 220	181 166 - 199
	8 ml/kg KG	239 190 - 256	223 178 - 260	231 173 - 253
	12 ml/kg KG	229 211 - 244	251 243 - 265	264 231 - 283
	16 m/kg KG	220 216 - 240	247 224 - 265	262 239 - 283
	20 ml/kg KG	230 199 - 251	243 232 - 261	268 244 - 300
HF [bpm]	6 ml/kg KG	375 360 - 395	365 311 - 377	328 286 - 347
	8 ml/kg KG	380 340 - 408	336 312 - 374	334 322 - 335
	12 ml/kg KG	312 285 - 354	309 302 - 341	320 248 - 340
	16 m/kg KG	357 301 - 407	277 241 - 290	280 270 - 298
	20 ml/kg KG	387 348 - 416	264 260 - 268	275 273 - 282
RR [mmHg]	6 ml/kg KG	123 111 - 135	101 91 - 116	84 64 - 91
	8 ml/kg KG	120 114 - 136	104 95 - 111	82 68 - 90
	12 ml/kg KG	131 114 - 134	111 83 - 116	77 70 - 101
	16 m/kg KG	128 122 - 138	97 94 - 112	66 51 - 86
	20 ml/kg KG	134 116 - 138	106 94 - 120	79 70 - 90

HF = Herzfrequenz, RR = Blutdruck. Werte als Median mit 25% und 75% Perzentile zu verschiedenen Zeitpunkten

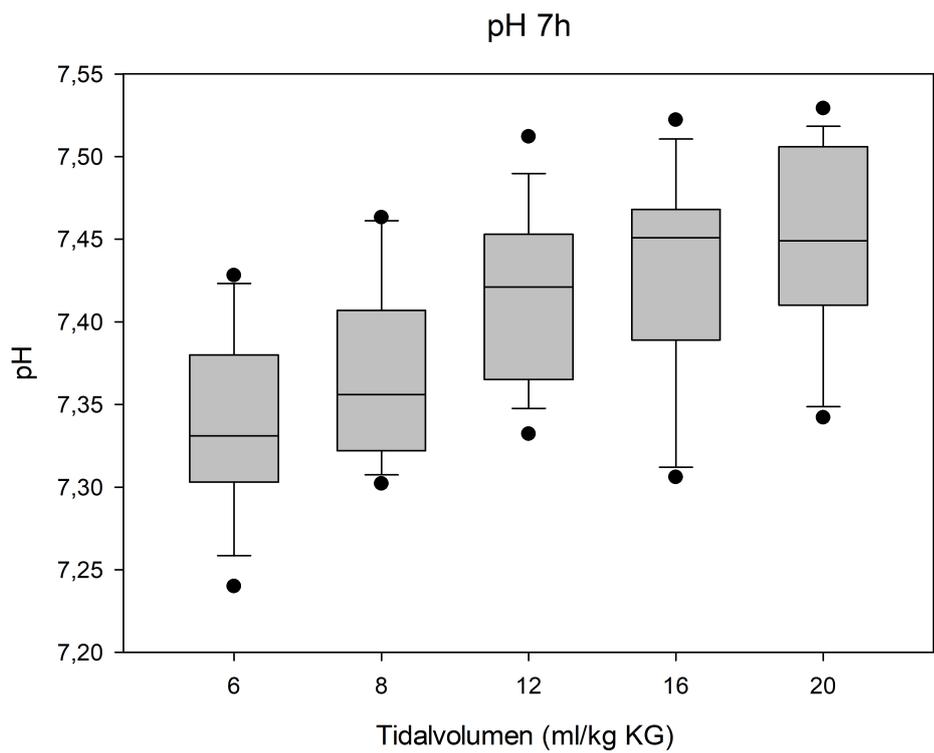


Abbildung 29: pH in der arteriellen Blutgasanalyse zum Zeitpunkt 7h nach Beatmungsbeginn im Gruppenvergleich

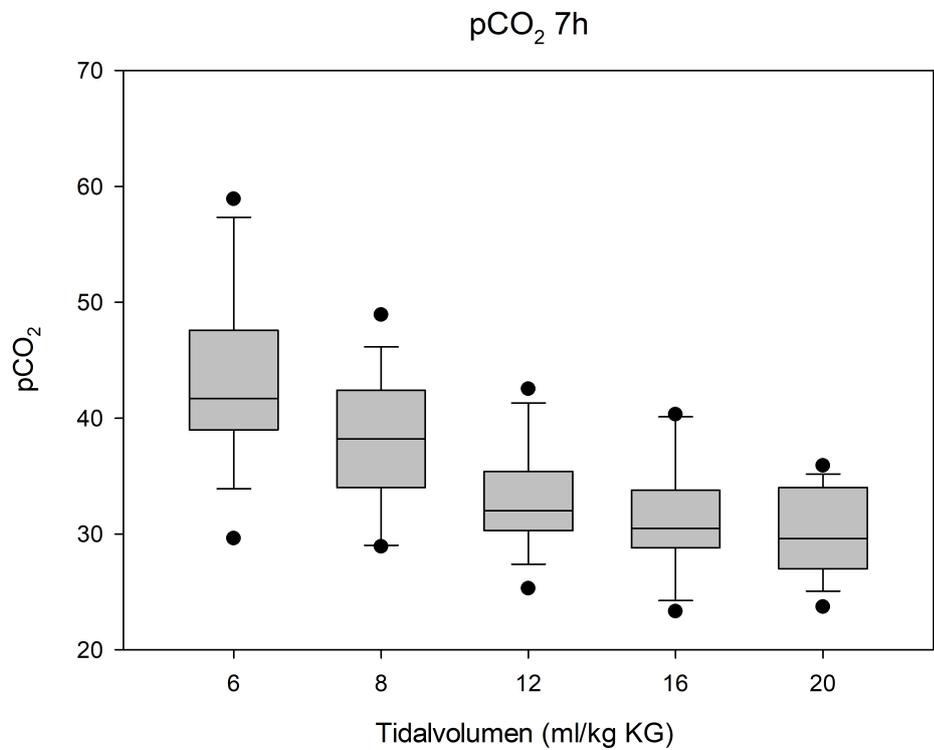


Abbildung 30: pCO₂ in der arteriellen Blutgasanalyse zum Zeitpunkt 7h nach Beatmungsbeginn im Gruppenvergleich

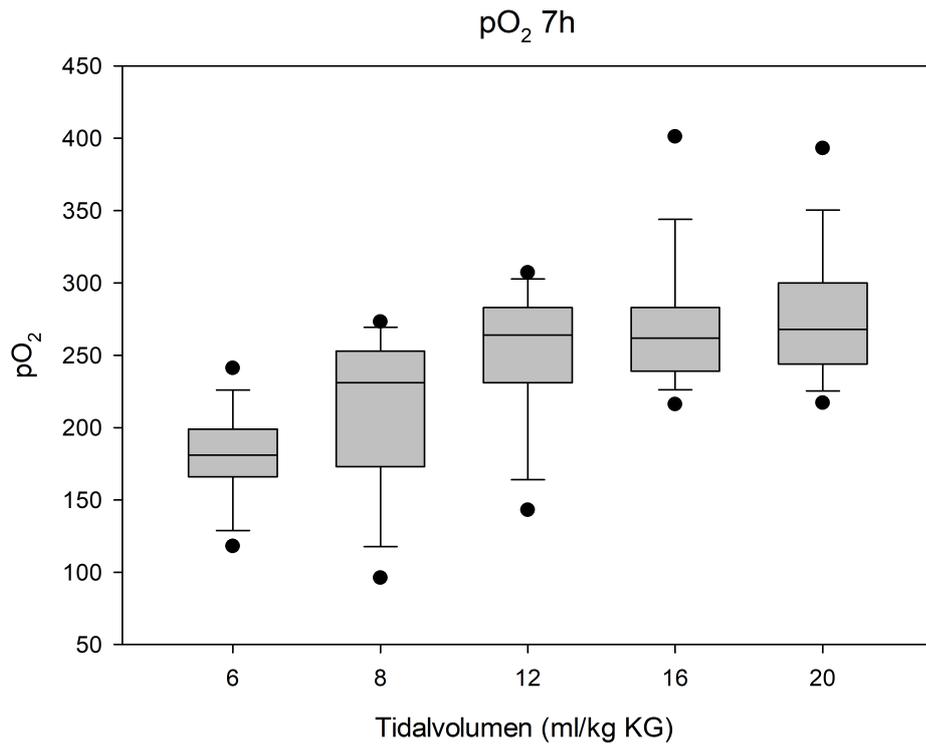


Abbildung 31: pO₂ in der arteriellen Blutgasanalyse zum Zeitpunkt 7h nach Beatmungsbeginn im Gruppenvergleich

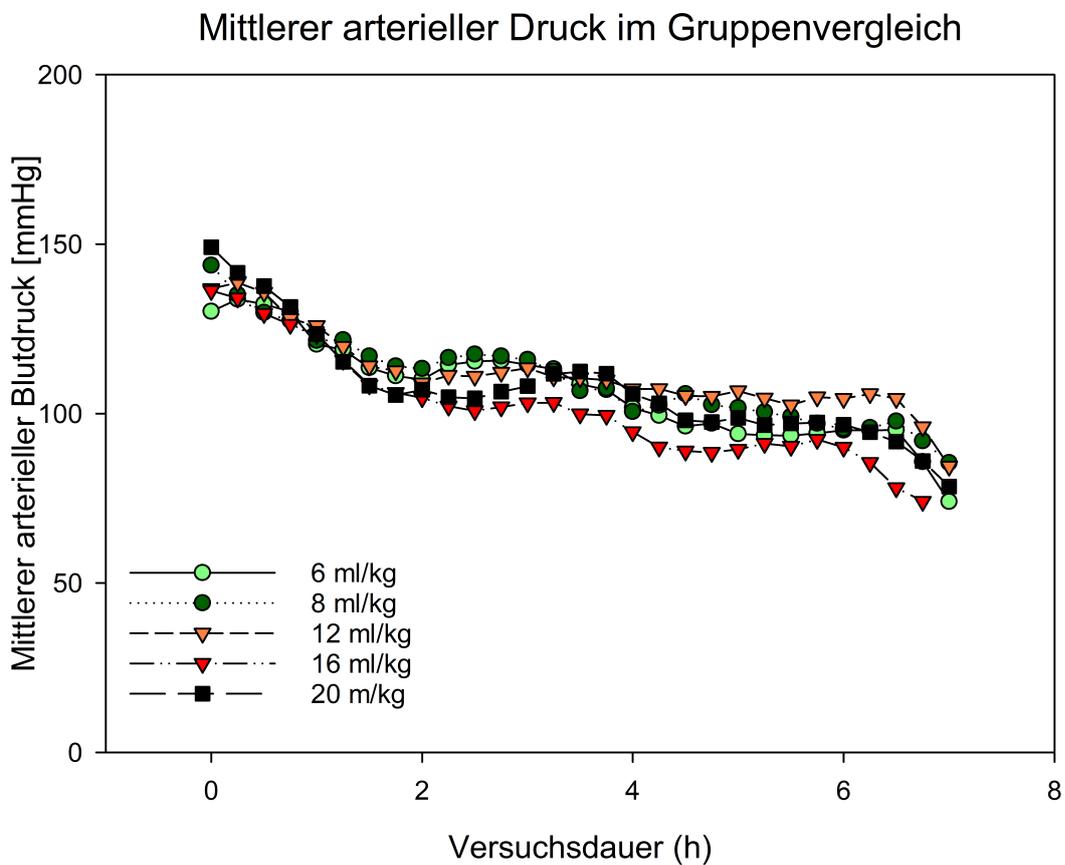


Abbildung 32: Mittlerer arterieller Blutdruck im Gruppenvergleich. Werte als Median angegeben

4.2 Pentanalkonzentration in der Ausatemluft

Über den gesamten Untersuchungszeitraum stieg die Pentanalkonzentration in der Ausatemluft bei allen Gruppen an. Hierbei zeigte sich eine höhere Pentanalkonzentration bei größerem Tidalvolumen.

In der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe lag die Pentanalkonzentration am Ende des Versuchs mit 4,8 ppbv am niedrigsten, in der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe mit 22,5 ppbv am höchsten.

Die mediane Pentanalkonzentration in der Ausatemluft zu Beginn lag in allen Gruppen bei 3 [IQR: 2, 4] ppbv (Tabelle 9). In den mit 12 - 20 ml/kg KG beatmeten Gruppen zeigte sich bereits 15-30 Minuten nach Umstellung auf die interventionellen Tidalvolumina ein signifikanter Unterschied zu der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe.

Bei den mit 6 ml/kg KG beatmeten Tieren stieg die Pentanalkonzentration im Durchschnitt um 0,5 ppbv/h an, wohingegen bei den mit 20 ml/kg KG beatmeten Tieren der durchschnittliche Anstieg bei 3,1 ppbv/h lag (Tabelle 10).

Tabelle 9: Pentanalkonzentration [ppbv] in der Ausatemluft zu Beginn des Versuches sowie zu verschiedenen Zeitpunkten nach Umstellung auf die Interventionsvolumina in den Interventionsgruppen

Tidalvolumen [ml/kg KG]	Ausgangswerte	15 min	30 min	60 min	120 min	240 min	360 min
6	2,4 1,3-4,1	2,3 1,4-3,6	2,7 1,2-3,2	2,9 1,2-3,5	2,8 1,4-4,0	3,9 1,8-4,9	4,8 2,2-6,7
8	3,0 2,4-4,4	3,1 1,6-4,4	3,2 1,6-4,8	4,5 1,6-5,6	6,2 2,2-7,3	9,2 5,6-14,0	11,3* 6,2-14,6
12	3,0 2,6-3,5	3,8 3,5-5,5	3,9* 3,5-5,7	5,2* 4,2-6,7	7,8* 5,5-10,2	13,1* 8,3-17,6	19,2* 10,4-22,2
16	4,1 3,5-4,7	6,4*§ 5,3-7,8	7,0*§ 5,9-8,6	8,1*§ 6,4-9,2	10,5*§ 7,2-14,3	16,7* 11,1-22,0	15,3* 9,1-31,0
20	3,8 2,1-4,2	5,2* 4,0-8,1	5,2* 4,6-8,6	6,7* 5,1-9,4	8,2* 7,1-13,0	17,9*§ 11,7-20,2	22,5* 16,5-25,8

Graue Boxen und * p<0,05 vs. 6 ml/kg KG Tidalvolumen, § p<0,05 vs. 8 ml/kg KG Tidalvolumen (ANOVA on ranks, Dunn's post-hoc test). Daten als Median mit Interquartilsabstand

Tabelle 10: Durchschnittlicher Anstieg der Pentanalkonzentration in den verschiedenen Gruppen

Tidalvolumen [ml/kg KG]	Durchschnittlicher Anstieg [ppbv/h]	95 %-Konfidenzintervall
6	0,5	0,3 – 0,6
8	1,7	1,3 – 2,1
12	2,6	1,6 – 3,6
16	2,8	1,9 – 3,8
20	3,1	2,3 – 3,8

Abhängige Variable: Pentanalkonzentration in der Ausatemluft (ppbv); unabhängige Variable: Beatmungszeit (h); P < 0,001 für alle Regressionskoeffizienten

Abbildung 33 zeigt die medianen Pentanalkonzentrationen der untersuchten Gruppen im zeitlichen Verlauf. Die Pentanalkonzentrationen der Interventionsgruppen unterschieden sich deutlich von denen der Protektivgruppe, insbesondere von der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe. Die Pentanalkonzentrationen der Interventionsgruppen zeigten untereinander ähnliche Verläufe.

Der Verlauf der Pentanalkonzentrationen innerhalb der Gruppen ist in Abbildung 34 dargestellt. Die Werte sind als Median mit dem 25 % und 75 % Perzentil angegeben.

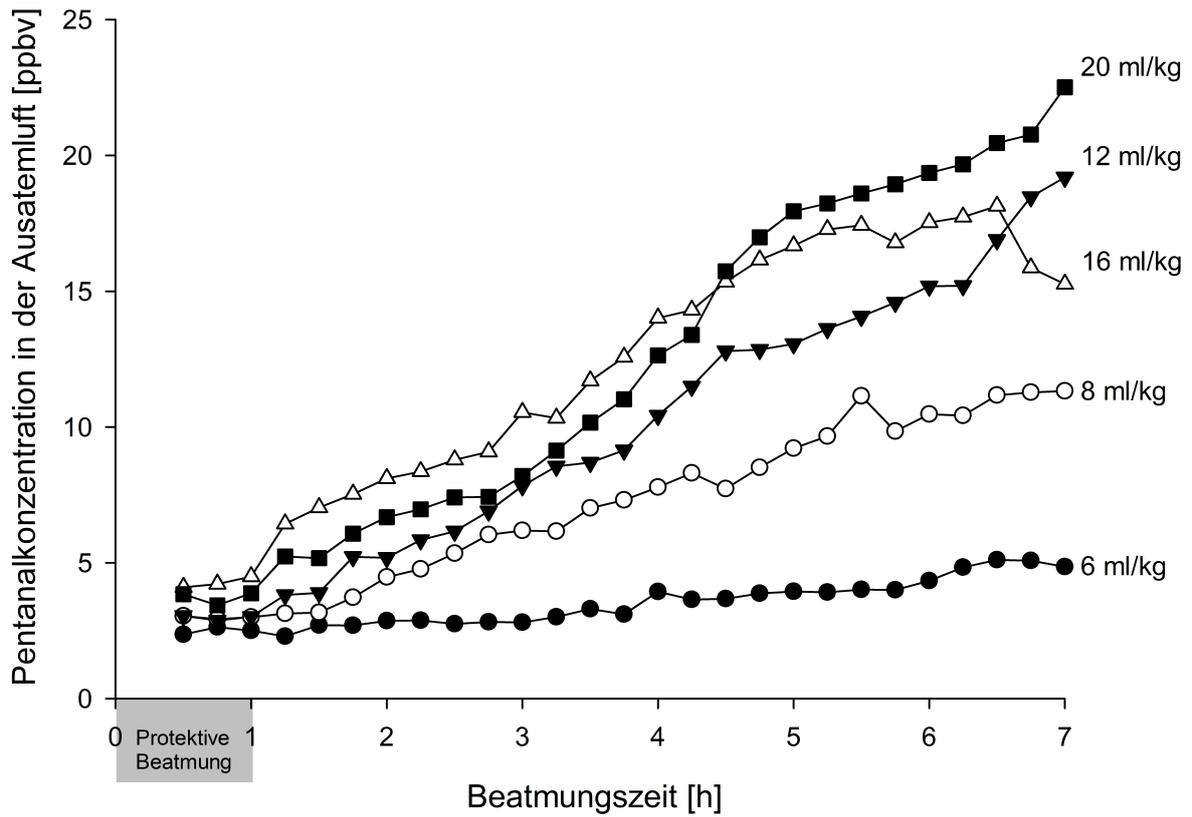


Abbildung 33: Mediane Pentanalkonzentrationen der unterschiedlichen Gruppen im zeitlichen Verlauf. Die initiale einstündige protektive Beatmung mit 8 ml/kg KG in den Interventionsgruppen ist grau unterlegt

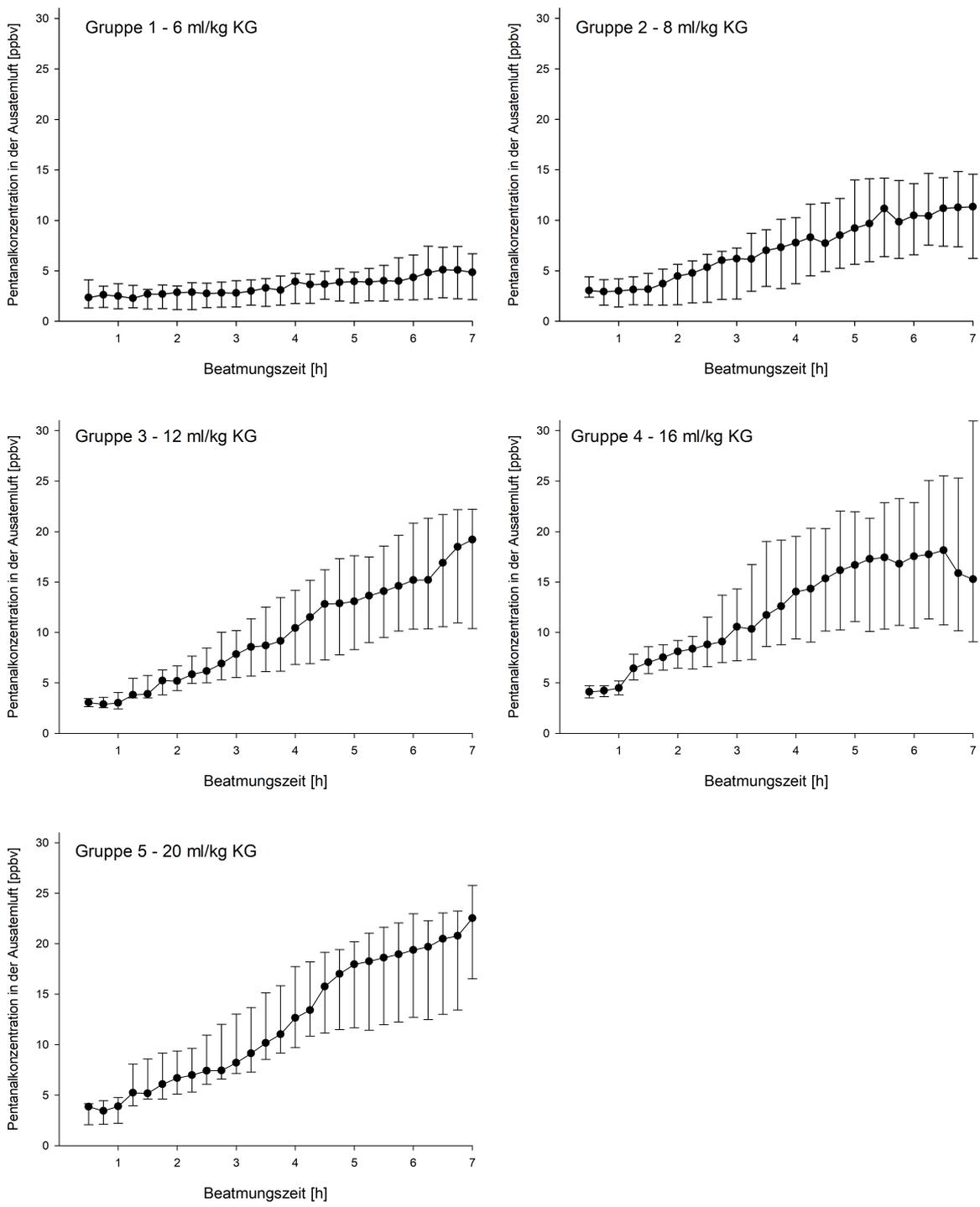


Abbildung 34: Pentanalkonzentrationen als Median mit Interquartilsabstand in allen Gruppen

4.3 Leukozyten und TNF-alpha im Blut

Die Blutkonzentrationen der Leukozyten und von TNF-alpha variierten zwischen den Gruppen, aber auch innerhalb der Gruppen, wie an den Interquartilsabständen ersichtlich. Ein höheres Tidalvolumen resultierte hierbei jedoch nicht in höheren Konzentrationen.

Tabelle 11: Blutkonzentrationen von TNF-alpha und Anzahl der Leukozyten in den verschiedenen Versuchsgruppen

Tidalvolumen [ml/kg KG]	TNF-alpha [pg/ml]			Leukozyten [n/µl]
	1 h	4 h	7 h	7 h
6	4,7 (2,7 - 8,6)	5,7 (3,2 - 7,1)	6,6 (4,7 - 12,6)	5550 (4075 - 7950)
8	0,7 (0 - 4,8)	0* (0 - 3)	0,5 (0 - 4,7)	6600 (4950 - 7900)
12	1 (0 - 10,9)	2,0 (0 - 7,5)	4,5 (1,5 - 6)	5850 (4062 - 6262)
16	2,6 (0,8 - 4,5)	3,4 (0,9 - 6,7)	3,4 (1,5 - 10,5)	7400 (5100 - 8000)
20	3,6 (2,3 - 7,2)	4,2 (2,0 - 8,1)	3,7 (0,1 - 9)	6450 (5125 - 7575)

* p<0.05 vs. 6 ml/kg KG Tidalvolumen (ANOVA on ranks, Dunn's method). Daten sind dargestellt als Median mit Interquartilsabstand

4.4 Leukozyten, TNF-alpha und Interleukin-6 in der bronchoalveolären Lavage

Die Konzentration von Interleukin-6 am Versuchsende in der bronchoalveolären Lavage stieg mit zunehmendem Tidalvolumen an. So zeigte sich in der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe am Versuchsende eine knapp 50 % höhere IL-6 Konzentration als bei der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe.

Auch die Anzahl an Leukozyten stieg mit zunehmendem Tidalvolumen an. Im Vergleich zwischen der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe zu der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe zeigte sich eine Differenz von knapp 500 n/µl, wobei dieser Anstieg nicht statistisch signifikant war. Die TNF-alpha Konzentration zeigte keine statistisch signifikanten Auffälligkeiten.

Tabelle 12: Konzentrationen von Interleukin-6, TNF-alpha und Anzahl der Leukozyten in der bronchoalveolären Lavage

Tidal - volumen [ml/kg KG]	IL-6 [pg/ml]	TNF-alpha [pg/ml]	Leukozyten [n/µl]
6	572* (473 - 729)	n.a.	10850 (8163 - 16625)
8	683* (561 - 835)	3 (0,5 – 6,7)	11100 (10400 - 14400)
12	897 (661 - 1127)	1,5 (0 – 7,5)	11450 (8450 - 13950)
16	852 (677 - 1104)	4,8 (3,2 – 6,9)	15000 (12363 - 16488)
20	1170 (774 - 1406)	7 (3,3 – 13,1)	15650 (11988 - 19313)

* p<0.05 vs. 20 ml/kg KG Tidalvolumen (ANOVA on ranks, Dunn's method). Daten als Median mit Interquartilsabstand

4.5 Histologische Ergebnisse

Tabelle 13 zeigt den alveolären Flächenanteil der verschiedenen Gruppen im Median. Die mit 6 ml/kg KG beatmete Gruppe zeigte hierbei einen alveolären Flächenanteil von 48,6 %, wobei die mit 20 ml/kg KG beatmete Gruppe nur noch einen alveolären Flächenanteil von 29,6 % aufwies. Es zeigte sich eine Abnahme der Werte mit zunehmendem Tidalvolumen.

Tabelle 13: Alveolärer Flächenanteil. Daten als Median

Tidalvolumen	Alveolärer Flächenanteil
6 ml/kg KG	48,6 % 40,9 % – 52,5 %
8 ml/kg KG	37,8 % 30,0 % - 44,0 %
12 ml/kg KG	36,0 % 27,2 % - 46,3 %
16 ml/kg KG	33,7 % 24,1 % - 42,5 %
20 ml/kg KG	29,6 % 21,0 % - 42,1 %

5. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den in einer Vorstudie beobachteten Zusammenhang zwischen Volutrauma und Anstieg der Pentanalkonzentration in der Ausatemluft zu validieren und weiter zu untersuchen [84]. Hierzu wurden insgesamt 75 Tiere in fünf Gruppen aufgeteilt und mit 6, 8, 12, 16 oder 20 ml/kg Körpergewicht beatmet. Die Pentanalkonzentration in der Ausatemluft wurde alle 15 Minuten analysiert. Zusätzlich wurde durch molekularbiologische und histologische Untersuchungen der jeweilige Schädigungsgrad untersucht.

Die in der Ausatemluft gemessene Pentanalkonzentration stieg in allen Gruppen während des Versuchszeitraums an. Der geringste Anstieg fand sich in der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe. Je höher das Tidalvolumen, desto höher war auch die Pentanalkonzentration am Ende des Versuchszeitraumes. Am Versuchsende lag die Konzentration von Pentanal in der Ausatemluft bei 4,8 ppbv bei der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe, wohingegen bei 20 ml/kg KG Tidalvolumen eine mediane Konzentration von 22,5 ppbv gemessen wurde. Parallel zum Anstieg der Pentanalkonzentration ließen sich histologische Veränderungen im Lungengewebe nachweisen, die auf eine Lungenschädigung hinweisen. Als Inflammationsmarker ließ sich mit zunehmendem Tidalvolumen eine erhöhte Konzentration an Interleukin-6 in der bronchoalveolären Lavage feststellen, welche in der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe im Median doppelt so hoch war wie in der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe.

5.1 Wertung der Methodik

5.1.1 Ausatemluftanalytik

Zur Analyse der Ausatemluft stehen eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung. Diese unterscheiden sich in ihren Analyseverfahren, besitzen unterschiedliche Detektionsbereiche und sind hinsichtlich ihrer Praktikabilität unterschiedlich [31, 147].

Für die vorliegende Studie war es von Bedeutung, volatile organische Verbindungen im niedrigen Spurenbereich in der Ausatemluft zuverlässig und ohne großen Wartungs- und Analyseaufwand detektieren zu können. Daher fiel die Wahl auf die Ionenmobilitätsspektrometrie, kombiniert mit einer Multikapillarsäule, um die Analyse der Ausatemluft trotz eines hohen Feuchtigkeitsgehalts zu ermöglichen. Den Goldstandard stellt in der Ausatemluftanalytik die Massenspektrometrie-gekoppelte Gaschromatographie dar. Diese benötigt jedoch einen hohen technischen Aufwand und eignet sich nicht für eine kontinuierliche, bettseitige Messung [150].

Ein Problem bei der Analyse von volatilen organischen Verbindungen ist die Adsorption an Probenschläuche. Für Propofol beispielsweise wurde nachgewiesen, dass sich die volatilen Verbindungen an Probenschläuche anlagern können und es somit zu fehlerhaften Konzentrationsbestimmungen kommt [91]. Um dieses Problem zu lösen, wurden Perfluoralkoxy (PFA)-Schläuche verwendet, bei denen diese Adsorption geringer ausfällt. Für Pentanal gibt es jedoch aktuell keine Untersuchungen, ob und inwiefern es an die PFA-Schläuche adsorbiert.

Um eine Unterscheidung von volatilen Verbindungen in der Raumluft und im Ventilator von denen der Versuchstiere zu ermöglichen, wurden vor Versuchsbeginn eine Raumluftmessung und mehrere Ventilatormessungen durchgeführt. Die gemessenen Signale wurden in der späteren Auswertung berücksichtigt, um lediglich Signale von Tieren zu analysieren. Zur Validierung des Versuchsmodells wurden zuvor bereits Versuche durchgeführt, in denen gezeigt werden konnte, dass eine kontinuierliche Ausatemluftanalyse bei Ratten möglich ist [153].

5.1.2 Zytokinbestimmungen

Für die Bestimmung der Zytokine gibt es zwei verbreitete Varianten: Bioassays und Immunoassays [48]. Letztere, wie der in der vorliegenden Studie verwendete ELISA, nutzen rekombinante Antikörper zur Detektion der Zytokinkonzentration. Der Nachteil dieser Assays liegt darin, dass sie nur sehr spezifisch die entsprechenden Zytokine detektieren können. Einige Zytokine liegen jedoch beispielsweise gebunden an Proteine oder Rezeptoren vor, andere liegen in Dimer- oder Trimer-Strukturen vor, sodass sie möglicherweise nicht vom Antikörper gebunden werden. Aufgrund dieser Tatsachen ist unter anderem die Sensitivität eingeschränkt [96]. Vorteile der Immunoassays sind jedoch die gute Vergleichbarkeit, die schnelle und unkomplizierte Durchführung sowie die niedrigen Kosten bei ausreichender Sensitivität und Spezifität. Deshalb ist der Immunoassay auch die am meisten genutzte Variante. [35]

Der Bioassay nutzt im Gegensatz zum Immunoassay Zellreihen zur Bestimmung der biologisch aktiven Wirkung der Zytokine. Es wird die Wirkung, beispielsweise in Form von Zelluntergang, gemessen und damit Rückschluss auf die Konzentration gezogen. Der Vorteil dieser Methode ist, dass jegliche biologisch aktive Formen des entsprechenden Zytokins gemessen werden. Daraus ergibt sich allerdings auch der Nachteil, dass Kofaktoren zum gemessenen Effekt beitragen können, beispielsweise andere, zuvor nicht eliminierte Zytokine. Ebenfalls ist eine Vergleichbarkeit schwierig zu erreichen, da die lebenden Zellkulturen variieren und anfällig für Störfaktoren sind. [48, 93]

5.1.3 Histologische Untersuchungen

Für die histologische Untersuchung des rechten Lungen-Oberlappens wurde das Gewebe mit Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Bildausschnitte wurden aus den angefertigten Schnitten ausgewählt und diese halbautomatisiert hinsichtlich des Alveolarraum/Gewebe-Verhältnisses analysiert. Für die Fixation stehen eine Vielzahl von Möglichkeiten zur Verfügung. Idealerweise wird die Lunge mit dem Fixiermittel entweder mittels Schwerkraft bei definiertem Druck oder durch Füllung mittels eines bestimmten Volumens fixiert [115]. Eine weitere Möglichkeit ist die Perfusion der Lunge mittels Fixationsmittel, worin einige Autoren den Vorteil sehen, dass die Lungenstruktur weitestgehend erhalten bliebe [8, 65]. Zu beachten ist zusätzlich, dass die Fixierung die physiologische Beschaffenheit der Lunge verändert, unter anderem durch Schrumpfung des Gewebes [88]. Auch repräsentiert die Auswertung mittels 2D-Bild nicht die wirkliche 3D-Beschaffenheit der Lunge und es kann zu Fehlinterpretationen und -messungen kommen [66]. Überlagerte Alveolarwände können außerdem zu einer Erhöhung der errechneten Gewebefläche führen. Eine neuere, jedoch sehr aufwändige Methode ist die Fixierung mittels flüssigem Stickstoff und anschließender computertomographischer Aufnahme der Lunge [64].

Neben einer möglichen Optimierung der Gewebefixierung sollte in kommenden Studien die Bildauswahl der histologischen Präparate nicht manuell, sondern mittels automatisierter Software erfolgen, um hier eine Randomisierung zu erleichtern. Wichtig ist jedoch auch die Berücksichtigung von nicht-pathologischen Lungenstrukturen. Beispielsweise sollte zwischen der Aufnahme von einem physiologischen Bronchus und pathologisch verdickten Alveolarwänden unterschieden werden, um Fehlberechnungen der vorhandenen Alveolarfläche zu vermeiden [64].

Zusammenfassend zeigt sich sowohl für die Fixation als auch für die Auswertung mögliches Optimierungspotential, um die Aussagekraft der Methode zu verbessern. Nichtsdestotrotz zeigt die in der vorliegenden Studie verwendete Technik zur histologischen Untersuchung signifikante und plausible Ergebnisse hinsichtlich eines Unterschieds zwischen Interventions- und Protektivgruppen in Bezug auf die belüftete Alveolarfläche.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Ausatemluft

Ergebnisse einer Pilotstudie zeigten einen Anstieg der Pentanalkonzentrationen in der Ausatemluft durch die Induktion eines Volutraumas bei beatmeten Ratten. Der Anstieg der Pentanalkonzentration wurde hierbei als Folge einer alveolären Schädigung mit konsekutiver Entzündungsreaktion interpretiert [85]. Eine Schädigung der Zellmembran könnte hierbei zu einer Exposition ungesättigter Fettsäuren gegenüber oxidativen Prozessen führen. Bei der Lipidperoxidation reagieren ungesättigte Fettsäuren mit freien Radikalen (z.B. reaktive Sauerstoffspezies) und werden in unterschiedliche Abbauprodukte degradiert. Pentanal ist ein typisches, volatiles Produkt der Lipidperoxidation [155], was dessen Anstieg unter lungenschädigender Beatmung erklären könnte. Die Hypothese zur Entstehung des abgeatmeten Pentanals unter lungenschädigender Beatmung ist in Abbildung 35 dargestellt. Zugrundeliegende Mechanismen sind in Kapitel 2 im Detail beschrieben.

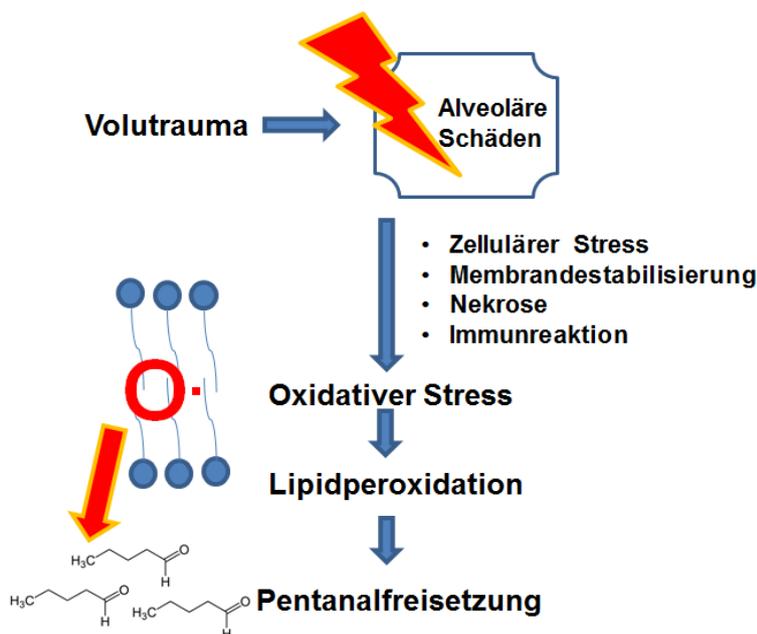


Abbildung 35: Hypothese zur Pentanalentstehung. Durch ein Volutrauma kommt es zum alveolären Schaden, welcher über diverse Mechanismen oxidativen Stress erzeugt. Dieser führt zur Lipidperoxidation und damit zur Pentanalentstehung [85]

In der vorliegenden Studie konnten die Ergebnisse der Pilotstudie bestätigt werden. Bereits moderate Erhöhungen des Tidalvolumens (V_t) führten zu einer Erhöhung der abgeatmeten Pentanalkonzentration und zu pathologischen Veränderungen der Lungenstruktur. Dabei war die abgeatmete Pentanalkonzentration in den Interventionsgruppen mit einem V_t von 16 und

20 ml/kg KG bereits 15 Minuten nach Umschaltung auf die größeren Tidalvolumina signifikant höher als in der Protektivgruppe mit einem V_t von 6 ml/kg KG. Selbst geringe Unterschiede zwischen den Tidalvolumina der beiden Protektivgruppen (6 und 8 ml/kg KG) führten nach 7 Stunden mechanischer Ventilation zu einem Unterschied von ca. 5 ppbv (5 vs. 11 ppbv). In den Protektivgruppen fand also ebenfalls ein Pentanalanstieg über den Versuchszeitraum statt, der jedoch nicht annähernd so hoch wie in den Interventionsgruppen war.

Zusätzlich wurde der Anstieg der Pentanalkonzentration je nach Tidalvolumen berechnet. Auch hier ist erkennbar, dass der Pentanalanstieg mit ca. 3,1 ppbv/h in der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe am höchsten war. Die mit 6 ml/kg KG beatmete Gruppe kam hier nur auf einen durchschnittlichen Anstieg von 0,5 ppbv/h.

Pentanal konnte bereits in mehreren Studien im Rahmen pathologischer Vorgänge als Oxidationsprodukt nachgewiesen werden. Beispiele sind Tumor- [54] oder auch chronische Nierenerkrankungen [103]. Zur Ventilator-induzierten Lungenschädigung lagen bisher keine Studien hinsichtlich möglicher Biomarker in der Ausatemluft vor, jedoch gibt es Untersuchungen der Ausatemluft bei Tieren und Menschen mit einem ARDS [24, 25]. Das ARDS ist nach der sogenannten Berlin-Klassifikation definiert als ein akutes Auftreten von Hypoxämie sowie bilateralen pulmonalen Infiltraten, ausgelöst durch einen bestimmten infektiösen oder nicht-infektiösen Trigger [111, 142]. Auch eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung kann in letzter Instanz ein ARDS auslösen, ebenso wie ein bereits bestehendes ARDS durch eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung verstärkt werden kann. Ursache hierfür ist die beim ARDS vorliegende Vulnerabilität der Lunge, hervorgerufen durch eine Inflammation mit Ödembildung sowie die daraus folgende inhomogene Belüftung der Lunge mit verstärkten Scherkräften. Dies sind ähnliche Mechanismen wie bei Ventilator-induzierten Lungenschädigungen [11, 90, 143]. Auch ähneln sich die pathophysiologischen Befunde von ARDS- und ventilationsgeschädigten Lungen. Hierzu gehört die zuvor genannte Ödembildung in der Lunge sowie die Entwicklung einer Entzündungsreaktion unter wesentlicher Beteiligung von neutrophilen Granulozyten mit fibroproliferativen Umbauprozessen [117, 123].

Aktuell basiert die Diagnose eines ARDS auf klinischen Parametern und der passenden Anamnese [111]. Es gibt jedoch mittlerweile auch mehrere Studien, die zeigen, dass die Detektion eines ARDS mittels volatiler Biomarker gelingen kann [24, 25]. Mögliche und bereits untersuchte Ansatzpunkte sind hier elektronische Nasen oder die Bestimmung konkreter Biomarker mittels Gaschromatographie [24, 25]. Elektronische Nasen analysieren Gase mittels elektronischer Gassensoren. Die Signale der verschiedenen Gassensoren werden mathematisch evaluiert und es entsteht ein charakteristisches Muster. Mit Hilfe dieses Musters können Rückschlüsse auf die Zusammensetzung von analysierten Gasen, wie beispielsweise Ausatemluft, gezogen werden [15]. *Bos et al.* konnten mit dieser Methode Patienten mit einem

ARDS von Patienten ohne ARDS unterscheiden. Hierbei war insbesondere auch die Differenzierung zwischen ARDS und Pneumonie möglich [25]. Weiterhin konnten *Bos et al.* zeigen, dass die Detektion eines ARDS bei Patienten auf der Intensivstation mittels volatiler Biomarker möglich ist. Hierbei zeigte sich, dass bestimmte volatile Produkte bei Patienten mit ARDS in erhöhten Konzentrationen messbar waren, darunter Oktan und Acetaldehyd [25]. Zusammenfassend scheinen pulmonale Pathologien durch Veränderungen der Ausatemluft detektierbar zu sein. Sowohl die Ventilator-induzierte Lungenschädigung als auch das ARDS führen zu einer verstärkten Abatmung von Produkten der Lipidperoxidation. Pentanal könnte somit in Zukunft als möglicher Surrogatparameter pulmonaler Pathologien unter mechanischer Ventilation nützlich sein.

Zur weiteren Untersuchung von Pentanal als möglicher volatiler Biomarker einer pulmonalen Schädigung ergeben sich weitere zu betrachtende Aspekte. Auffällig ist, dass es auch in den Protektivgruppen zu einem Anstieg von Pentanal kam. Dies weist darauf hin, dass sich möglicherweise auch in den Protektivgruppen eine gewisse Lungenschädigung entwickelt. Die Ursachen hierfür können vielfältig sein. Einerseits ist jegliche Form der maschinellen Beatmung nicht physiologisch und vermag pulmonale Schäden zu induzieren. Andererseits ergeben sich aufgrund der durchgeführten chirurgischen Maßnahmen Gewebeschäden (Tracheotomie, Katheterisierung), die eine vermehrte Abatmung von Pentanal bewirken könnten. Auch die zur Beatmung genutzte Sauerstoffkonzentration könnte durch die verstärkte Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies eine Lipidperoxidation fördern [73]. Untersuchungen zeigten, dass eine Ventilator-induzierte Lungenschädigung durch eine erhöhte inspiratorische Sauerstoffkonzentration verstärkt wird [9, 129]. Inwiefern dies zu einer verstärkten Abatmung von Pentanal führt, wurde bisher nicht untersucht. Letztlich verbleibt noch die Fragestellung, ob ein Wechsel von schädigender zu protektiver Beatmung auch zu einem Abfall der abgeatmeten Pentanalkonzentration führt. Als möglicher volatiler Biomarker einer pulmonalen Schädigung wäre es vorteilhaft, wenn die abgeatmete Pentanalkonzentration nicht nur den Beginn einer Schädigung signalisiert, sondern auch deren Ende.

5.2.2 Blutgasanalysen & Vitalparameter

Die Blutgasanalysen zeigten eine Zunahme des pO_2 bei Abnahme des pCO_2 im Vergleich von Versuchsbeginn und Versuchsende in den Interventionsgruppen. Ein möglicher Erklärungsansatz hierfür ist eine Beatmung mit höheren Tidalvolumina und folglich vermehrtem Gasaustausch. In den beiden mit 6 ml/kg KG und 8 ml/kg KG beatmeten Protektivgruppen gab es nur kleine Varianzen. So konnten *Blanch et al.* zeigen, dass die

Beatmung mit höheren Tidalvolumina zu einer Erhöhung des Oxygenierungsindex führt [21]. Es zeigt sich anhand unserer Daten zudem, dass es zu keiner signifikanten Verschlechterung des Gasaustausches im Untersuchungszeitraum kommt. Dies würde mit einer Abnahme des pO_2 und Zunahme des pCO_2 einhergehen [21, 136]. Möglich ist jedoch, dass sich bei länger andauernder schädigender Beatmung eine zunehmende Verschlechterung des Gasaustausches durch das Voranschreiten der pulmonalen Schädigung gezeigt hätte. Die histologischen Ergebnisse sprechen zumindest für fortschreitende Pathologien.

Bei den Vitalparametern zeigte sich eine Abnahme des mittleren arteriellen Blutdrucks in allen Gruppen über den Versuchszeitraum. Es ergaben sich auch keine größeren Unterschiede zwischen den Protektiv- und den Interventionsgruppen. Dies spricht dafür, dass dies nicht primär durch die Beatmungseinstellungen bedingt ist. Wahrscheinlicher ist die Wirkung des zur Narkose verwendeten Hypnotikums Propofol durch eine Verminderung des sympathischen Tonus der Gefäßmuskulatur mit resultierender Vasodilatation und Hypotonie [1, 82, 119]. Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass die Tiere zum Versuchsende hypoton, jedoch kardiopulmonal stabil waren, was sich an der suffizienten Sauerstoffsättigung in der BGA sowie den ansonsten normwertigen Vitalparametern erkennen lässt.

5.2.3 Leukozytenzahl, Zytokine und histologische Untersuchung

Bei der Leukozytenzahl in der bronchoalveolären Lavage und im Blut zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, wobei die Leukozytenzahl bei der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe in der bronchoalveolären Lavage ca. 50 % höher lag als bei der mit 6 ml/kg KG beatmeten. Es ist bekannt, dass Leukozyten eine wesentliche Rolle in der Entwicklung einer Ventilator-induzierten Lungenschädigung spielen [123]. In der Literatur finden sich hierfür Beispiele nach längeren Beatmungszeiten oder nach der Applikation von höheren Tidalvolumina [117, 140]. Möglicherweise steigt auch in unserem Versuchsaufbau die Anzahl der Leukozyten in der bronchoalveolären Lavage und im Blut nach längerer Beatmung im verwendeten Studiensetting weiter an. Für die vorliegende Studie kann die erhöhte Leukozytenzahl in der bronchoalveolären Flüssigkeit Ausdruck einer stattfindenden lokalen Entzündungsreaktion sein.

Das Ziel der Bestimmung der Konzentration von Interleukin-6 und TNF-alpha war der Nachweis einer stattfindenden Entzündungsreaktion im Rahmen eines Biotraumas (siehe Kapitel 2.3.4). Die Konzentrationen von Interleukin-6 lagen in der bronchoalveolären Lavage in den Interventionsgruppen höher als in der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe. Die Konzentration bei der mit 20 ml/kg KG beatmeten Gruppe war dabei circa doppelt so hoch wie bei der mit 6 ml/kg KG beatmeten Gruppe. Die Konzentration von TNF-alpha ließ sich jedoch

nicht in Beziehung zum Tidalvolumen setzen. Im Blut fanden sich ebenfalls keine korrelierenden Konzentrationen für TNF-alpha und auch nicht für Interleukin-6. Die Ergebnisse für Zytokinkonzentrationen bei Ventilator-induzierter Lungenschädigung variieren je nach Studie. Einige Studien zeigen erhöhte Konzentrationen [37, 139], andere wiederum nicht [116]. Dies hängt mitunter von der Methodik der Studie ab. In einigen Studien wurden ex-vivo Lungen untersucht [139], in anderen wiederum in-vivo [51]. In einigen Studien waren die Lungen vorgeschädigt [37, 70, 133], in anderen nicht [51, 71, 139]. Vor allem hinsichtlich TNF-alpha gibt es hierbei große Unterschiede. *Wilson et al.* zeigten in einer Studie, dass auch der Zeitpunkt der Zytokinbestimmung entscheidend sein kann [151]. Tiere, welche für 120 Minuten einem Volutrauma exponiert waren, hatten höhere TNF-alpha Konzentrationen in der bronchoalveolären Lavage als Tiere, deren Expositionszeit länger war. Auch konnte hier gezeigt werden, dass es je nach verwendeter laborchemischer Bestimmungsmethode der Zytokine zu Unterschieden kam.

Weitere Untersuchungen der oben angesprochenen Punkte könnten hier zeigen, ob TNF-alpha und Interleukin-6 im Blut zu einem anderen Zeitpunkt freigesetzt werden und in welchem Maße. Die erhöhten Interleukin-6 Werte in der bronchoalveolären Flüssigkeit deuten jedoch auf eine lokal stattfindende Entzündungsreaktion hin. Die nicht messbaren Interleukin-6- und TNF-alpha Konzentrationen im Blut implizieren, dass keine mit diesem Setting messbare systemische Entzündungsreaktion zu diesem Zeitpunkt vorlag.

Die histologischen Auswertungen zeigten eine signifikante Abnahme der Alveolarfläche in den mit einem Tidalvolumen von mehr als 6 ml/kg KG beatmeten Tieren im Vergleich zu den mit 6 ml/kg KG beatmeten. Andere Studien bestätigten fibroproliferative Umbauprozesse und einen Verlust der Lungenstruktur zum Nachteil einer suffizienten Gasaustauschfläche [44, 117, 123]. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass schon die Beatmung mit 8 ml/kg KG einen signifikanten Unterschied zur Beatmung mit 6 ml/kg KG hinsichtlich des alveolären Flächenanteils nach 7 Stunden ergibt. Eine Verbesserung der Methodik, wie in Kapitel 5.1 erläutert, könnte hierzu noch weitere Ergebnisse aufzeigen und die Reproduzierbarkeit validieren.

5.3 Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Auswirkungen von erhöhten Tidalvolumina auf die Pentanalkonzentration, gemessen in der Ausatemluft. Hierzu wurden 5 Untersuchungsgruppen mit jeweils 15 Tieren gebildet und diese mit Tidalvolumina zwischen 6 ml/kg Körpergewicht und 20 ml/kg Körpergewicht beatmet. Zusätzlich wurden die Konzentrationen der Entzündungsmarker Interleukin-6, TNF-alpha und die Anzahl der Leukozyten sowohl im Blut als auch in einer bronchoalveolären Lavage bestimmt. Zur Verifizierung einer Schädigung wurden Teile der Lunge post mortem histologisch untersucht. Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich:

1. Pentanal steigt unter mechanischer Beatmung in der Ausatemluft an.
2. Je höher und damit schädlicher das applizierte Tidalvolumen, desto stärker steigt die abgeatmete Pentanalkonzentration.
3. Eine mechanische Beatmung mit schädlich erhöhten Tidalvolumina über 7 Stunden führt nicht zu einer systemischen Inflammation. Jedoch zeigen sich histologische Auswirkungen einer Schädigung der Lunge in Form einer Abnahme der zur Verfügung stehenden Alveolarfläche. Dies ist umso ausgeprägter, je höher das applizierte Tidalvolumen ist. Zusätzlich kommt es zu einer erhöhten Konzentration von Interleukin-6 und Leukozyten in der bronchoalveolären Lavage, welches auf lokale Entzündungsvorgänge im Rahmen einer Ventilator-induzierten Lungenschädigung zurückgeführt werden kann.

6. Literaturverzeichnis

1. Aboian M, Johnson JM, Ginat DT (2015) Propofol. *Neuroimaging Pharmacopoeia*. doi: 10.1007/978-3-319-12715-6_50
2. Al-Jamal R, Ludwig MS (2001) Changes in proteoglycans and lung tissue mechanics during excessive mechanical ventilation in rats. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 281:L1078–L1087. doi: 10.1152/ajplung.2001.281.5.L1078
3. Albert S, Kubiak B, Nieman G *Protective Mechanical Ventilation: Lessons Learned From Alveolar Mechanics*.
4. Albrecht FW, Hüppe T, Fink T et al (2015) Influence of the respirator on volatile organic compounds: An animal study in rats over 24 hours. *J Breath Res* 9:016007. doi: 10.1088/1752-7155/9/1/016007
5. Amato MBP, Barbas CSV, Medeiros DM et al (1998) Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 338:347–354. doi: 10.1056/NEJM199802053380602
6. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL et al (2012) Neutrophil function: From mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol* 30:459–489. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-074942
7. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S (2014) Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. doi: 10.1155/2014/360438
8. Bachofen H, Ammann A, Wangenstein D, Weibel ER (1982) Perfusion fixation of lungs for structure-function analysis: Credits and limitations. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 53:528–533. doi: 10.1152/jappl.1982.53.2.528
9. Bailey TC, Martin EL, Zhao L, Veldhuizen RAW (2003) High oxygen concentrations predispose mouse lungs to the deleterious effects of high stretch ventilation. *J Appl Physiol* 94:975–982. doi: 10.1152/japplphysiol.00619.2002
10. Baldwin SR, Grum CM, Boxer LA et al (1986) Oxidant Activity in Expired Breath of Patients With Adult Respiratory Distress Syndrome. *Lancet* 327:11–14. doi: 10.1016/S0140-6736(86)91895-7
11. Bates JHT, Smith BJ (2018) Ventilator-induced lung injury and lung mechanics. *Ann Transl Med* 6:378–378. doi: 10.21037/atm.2018.06.29
12. Baumbach JI (2006) Process analysis using ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 384:1059–1070. doi: 10.1007/s00216-005-3397-8
13. Baumbach JI (2009) Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for

- metabolic profiling of human breath. *J Breath Res* 3:034001. doi: 10.1088/1752-7155/3/3/034001
14. Baumbach JI (2009) Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath. *J Breath Res*. doi: 10.1088/1752-7155/3/3/034001
 15. Behera B, Joshi R, Anil Vishnu GK et al (2019) Electronic nose: A non-invasive technology for breath analysis of diabetes and lung cancer patients. *J Breath Res* 13:0–27. doi: 10.1088/1752-7163/aafc77
 16. Beitler JR, Malhotra A, Thompson BT (2016) Ventilator-induced Lung Injury. *Clin Chest Med* 37:633–646. doi: 10.1016/j.ccm.2016.07.004
 17. Belperio JA, Keane MP, Burdick MD et al (2002) Critical role for CXCR2 and CXCR2 ligands during the pathogenesis of ventilator-induced lung injury. *J Clin Invest* 110:1703–1716. doi: 10.1172/jci15849
 18. Bernhard W (2016) Lung surfactant: Function and composition in the context of development and respiratory physiology. *Ann Anat* 208:146–150. doi: 10.1016/j.aanat.2016.08.003
 19. Bessa V, Darwiche K, Teschler H et al (2011) Detection of volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by ion mobility spectrometry. *Int J Ion Mobil Spectrom* 14:7–13. doi: 10.1007/s12127-011-0060-2
 20. Von Bethmann AN, Brasch F, Nüsing R et al (1998) Hyperventilation induces release of cytokines from perfused mouse lung. *Am J Respir Crit Care Med* 157:263–272. doi: 10.1164/ajrccm.157.1.9608052
 21. Blanch L, Fernandez R, Vallés J et al (1994) Effect of two tidal volumes on oxygenation and respiratory system mechanics during the early stage of adult respiratory distress syndrome. *J Crit Care* 9:151–158. doi: 10.1016/0883-9441(94)90011-6
 22. Blankman P, Hasan D, Bikker IG, Gommers D (2016) Lung stress and strain calculations in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *Acta Anaesthesiol Scand* 60:69–78. doi: 10.1111/aas.12589
 23. Borrill ZL, Roy K, Singh D (2008) Exhaled breath condensate biomarkers in COPD. *Eur Respir J* 32:472–486. doi: 10.1183/09031936.00116107
 24. Bos LDJ, Schultz MJ, Sterk PJ (2014) Exhaled breath profiling for diagnosing acute respiratory distress syndrome. *BMC Pulm Med* 14:1–9. doi: 10.1186/1471-2466-14-72
 25. Bos LDJ, Weda H, Wang Y et al (2014) Exhaled breath metabolomics as a noninvasive diagnostic tool for acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J* 44:188–197. doi: 10.1183/09031936.00005614

26. Bradley K, McConnell Breul S, Crystal RG (1975) Collagen in the human lung. Quantitation of rates of synthesis and partial characterization of composition. *J Clin Invest* 55:543–550. doi: 10.1172/JCI107961
27. Breen EC (2000) Mechanical strain increases type I collagen expression in pulmonary fibroblasts in vitro. *J Appl Physiol* 88:203–209. doi: 10.1152/jappl.2000.88.1.203
28. Brower RG, Matthay MA, Morris A et al (2000) Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342:1301–1308. doi: 10.1056/NEJM200005043421801
29. Brower RG, Matthay MA, Morris A et al (2000) Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342:1301–1308. doi: 10.1056/NEJM200005043421801
30. Buchinger H, Kreuer S, Hellbrück R et al (2013) Minimal retarded Propofol signals in human breath using ion mobility spectrometry. *Int J Ion Mobil Spectrom* 16:185–190. doi: 10.1007/s12127-012-0118-9
31. Cao W, Duan Y (2007) Current status of methods and techniques for breath analysis. *Crit Rev Anal Chem* 37:3–13. doi: 10.1080/10408340600976499
32. Carlton DP, Cummings JJ, Scheerer RG et al (1990) Lung overexpansion increases pulmonary microvascular protein permeability in young lambs. *J Appl Physiol* 69:577–583. doi: 10.1152/jappl.1990.69.2.577
33. Cereda M, Foti G, Musch G et al (1996) Positive end-expiratory pressure prevents the loss of respiratory compliance during low tidal volume ventilation in acute lung injury patients. *Chest* 109:480–485. doi: 10.1378/chest.109.2.480
34. Chen L, Xia H-F, Shang Y, Yao S-L (2018) Molecular Mechanisms of Ventilator-Induced Lung Injury. *Chin Med J (Engl)* 131:1225–1231. doi: 10.4103/0366-6999.226840
35. Chiswick EL, Duffy E, Japp B, Remick D (2012) Detection and quantification of cytokines and other biomarkers. *Methods Mol Biol* 844:15–30. doi: 10.1007/978-1-61779-527-5_2
36. Chiumello D, Carlesso E, Cadringer P et al (2008) Lung stress and strain during mechanical ventilation for acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 178:346–355. doi: 10.1164/rccm.200710-1589OC
37. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS (1999) Mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 160:109–116. doi: 10.1164/ajrccm.160.1.9803046
38. Chow CW, Abreu MTH, Suzuki T, Downey GP (2003) Oxidative stress and acute lung

- injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29:427–431. doi: 10.1165/rcmb.F278
39. Chow CW, Abreu MTH, Suzuki T, Downey GP (2003) Oxidative stress and acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29:427–431. doi: 10.1165/rcmb.F278
 40. Couchman JR, Pataki CA (2012) An Introduction to Proteoglycans and Their Localization. *J Histochem Cytochem* 60:885–897. doi: 10.1369/0022155412464638
 41. Cressoni M, Cadringer P, Chiurazzi C et al (2014) Lung inhomogeneity in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 189:149–158. doi: 10.1164/rccm.201308-1567OC
 42. Cumeras R, Figueras E, Davis CE et al (2015) Review on Ion Mobility Spectrometry. Part 1: Current instrumentation. *Analyst* 140:1376–1390. doi: 10.1039/c4an01100g
 43. Curley GF, Laffey JG, Zhang H, Slutsky AS (2016) Biotrauma and Ventilator-Induced Lung Injury: Clinical Implications. *Chest* 150:1109–1117. doi: 10.1016/j.chest.2016.07.019
 44. Dreyfuss D, Basset G, Soler P, Saumon G (1985) Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *Am Rev Respir Dis* 132:880–884. doi: 10.1016/0883-9441(87)90024-4
 45. Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G (1988) High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis* 137:1159–1164. doi: 10.1164/ajrccm/137.5.1159
 46. Egan EA (1982) Lung inflation, lung solute permeability, and alveolar edema. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 53:121–125. doi: 10.1152/jappl.1982.53.1.121
 47. Eiceman GA, Schmidt H (2009) Advances in Ion Mobility Spectrometry of Explosives. In: *Asp. Explos. Detect.* S 171–202
 48. Elborn JS, Delamare F, Bell SC, Shale DJ (1995) Can tumor necrosis factor- α (TNF- α) be reliably measured in blood? *Pediatr Pulmonol* 19:226–230. doi: 10.1002/ppul.1950190407
 49. Ewing RG, Atkinson DA, Eiceman GA, Ewing GJ (2001) A critical review of ion mobility spectrometry for the detection of explosives and explosive related compounds. *Talanta* 54:515–529. doi: 10.1016/S0039-9140(00)00565-8
 50. Fink T, Wolf A, Maurer F et al (2015) Volatile organic compounds during inflammation and sepsis in rats: A potential breath test using ion-mobility spectrometry. *Anesthesiology* 122:117–126. doi: 10.1097/ALN.0000000000000420
 51. Foda HD, Rollo EE, Drews M et al (2001) Ventilator-induced lung injury upregulates and activates gelatinases and EMMPRIN: Attenuation by the synthetic matrix metalloproteinase inhibitor, prinomastat (AG3340). *Am J Respir Cell Mol Biol* 25:717–724. doi: 10.1165/ajrcmb.25.6.4558f

52. Fothergill J (1744) Observations of a case published in the last volume of the medical essays of recovering a man dead in appearance, by distending the lungs with air. *Philos Trans* 43:275–281. doi: 10.1098/t6446m868
53. Frank JA, Matthay MA (2003) Science review: Mechanisms of ventilator-induced injury. *Crit Care* 7:233–241. doi: 10.1186/cc1829
54. Fuchs P, Loeseken C, Schubert JK, Miekisch W (2010) Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *Int J Cancer* 126:2663–2670. doi: 10.1002/ijc.24970
55. Gattinoni L, Anestesia D, Intensiva R Specific elastance , stress and strain. 1–6.
56. Gattinoni L, Carlesso E, Caironi P (2012) Stress and strain within the lung. *Curr Opin Crit Care* 18:42–47. doi: 10.1097/MCC.0b013e32834f17d9
57. Gattinoni L, Chiumello D, Carlesso E, Valenza F (2004) Bench-to-bedside review: Chest wall elastance in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome patients. *Crit Care* 8:350–355. doi: 10.1186/cc2854
58. Gattinoni L, Marini JJ, Collino F et al (2017) The future of mechanical ventilation: lessons from the present and the past. *Crit Care* 21:183. doi: 10.1186/s13054-017-1750-x
59. Gattinoni L, Protti A, Caironi P, Carlesso E (2010) Ventilator-induced lung injury: The anatomical and physiological framework. *Crit Care Med*. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181f1fcf7
60. Gatto LA, Fluck RR (2004) Alveolar mechanics in the acutely injured lung: role of alveolar instability in the pathogenesis of ventilator-induced lung injury. *Respir Care* 49:1045–1055.
61. Grommes J, Soehnlein O (2011) Contribution of neutrophils to acute lung injury. *Mol Med* 17:293–307. doi: 10.2119/molmed.2010.00138
62. Halter JM, Steinberg JM, Gatto LA et al (2007) Effect of positive end-expiratory pressure and tidal volume on lung injury induced by alveolar instability. *Crit Care* 11:R20. doi: 10.1186/cc5695
63. Held HD, Boettcher S, Hamann L, Uhlig S (2001) Ventilation-induced chemokine and cytokine release is associated with activation of nuclear factor- κ B and is blocked by steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 163:711–716. doi: 10.1164/ajrccm.163.3.2003001
64. Hogg JC, McDonough JE, Sanchez PG et al (2009) Micro-computed tomography measurements of peripheral lung pathology in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 6:546–549. doi: 10.1513/pats.200905-029DS
65. Hsia CCW, Hyde DM, Ochs M, Weibel ER (2010) An official research policy statement of the American Thoracic Society/European Respiratory Society: Standards for quantitative assessment of lung structure. *Am J Respir Crit Care Med* 181:394–418.

- doi: 10.1164/rccm.200809-1522ST
66. Hsia CCW, Hyde DM, Ochs M, Weibel ER (2010) An official research policy statement of the American Thoracic Society/European Respiratory Society: Standards for quantitative assessment of lung structure. *Am J Respir Crit Care Med* 181:394–418. doi: 10.1164/rccm.200809-1522ST
 67. Huang J, Kumar S, Hanna GB (2014) Investigation of C3-C10 aldehydes in the exhaled breath of healthy subjects using selected ion flow tube-mass spectrometry (SIFT-MS). *J Breath Res* 8:037104. doi: 10.1088/1752-7155/8/3/037104
 68. Hüppe T, Lorenz D, Maurer F et al (2016) Exhalation of volatile organic compounds during hemorrhagic shock and reperfusion in rats: An exploratory trial. *J Breath Res* 10:016016. doi: 10.1088/1752-7155/10/1/016016
 69. Hüppe T, Volk T, Kreuer S (2019) Developments to monitor the exhalome in organ failure in critically ill patients - A look into the future. *J Breath Res* 13:017101. doi: 10.1088/1752-7163/aae210
 70. Imai Y, Kawano T, Miyasaka K et al (1994) Inflammatory chemical mediators during conventional ventilation and during high frequency oscillatory ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 150:1550–1554. doi: 10.1164/ajrccm.150.6.7952613
 71. Imanaka H, Shimaoka M, Matsuura N et al (2001) Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF- β 1 mRNA upregulation in rat lungs. *Anesth Analg* 92:428–436. doi: 10.1213/00000539-200102000-00029
 72. Jia X, Malhotra A, Saeed M et al (2008) Risk factors for ARDS in patients receiving mechanical ventilation for > 48 h. *Chest* 133:853–861. doi: 10.1378/chest.07-1121
 73. Kallet RH, Matthay MA (2013) Hyperoxic acute lung injury. *Respir Care* 58:123–140. doi: 10.4187/respcare.01963
 74. Karpas Z (2013) Applications of ion mobility spectrometry (IMS) in the field of foodomics. *Food Res Int* 54:1146–1151. doi: 10.1016/j.foodres.2012.11.029
 75. Kawano T, Mori S, Cybulsky M et al (1987) Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J Appl Physiol* 62:27–33. doi: 10.1152/jappl.1987.62.1.27
 76. Kolobow T, Moretti MP, Fumagalli R et al (1987) Severe impairment in lung function induced by high peak airway pressure during mechanical ventilation. An experimental study. *Am Rev Respir Dis* 135:312–315. doi: 10.1164/arrd.1987.135.2.312
 77. Kristensen JH, Karsdal MA (2016) Elastin. *Biochem Collagens, Laminins Elastin Struct Funct Biomarkers* 197–201. doi: 10.1016/B978-0-12-809847-9.00030-1
 78. Kuchnicka K, Maciejewski D (2013) Ventilator-associated lung injury. *Anaesthesiol Intensive Ther* 45:164–170. doi: 10.5603/AIT.2013.0034

79. Larsen, Ziegenfuß Beatmung, Indikationen - Techniken – Krankheitsbilder, 5. Auflage. doi: 10.1007/978-3-662-06010-0
80. Lee WL, Downey GP (2001) Neutrophil activation and acute lung injury. *Curr Opin Crit Care* 7:1–7. doi: 10.1097/00075198-200102000-00001
81. Levine GK, Deutschman CS, Helfaer MA, Margulies SS (2006) Sepsis-induced lung injury in rats increases alveolar epithelial vulnerability to stretch. *Crit Care Med* 34:1746–1751. doi: 10.1097/01.CCM.0000218813.77367.E2
82. Levy RJ (2011) Clinical Effects and Lethal and Forensic Aspects of Propofol. *J Forensic Sci* 56:S142-7. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01583.x
83. Lin Y, Dueker SR, Jones AD et al (1995) Protocol for collection and HPLC analysis of volatile carbonyl compounds in breath. *Clin Chem* 41:1028–1032. doi: 10.1093/clinchem/41.7.1028
84. Lorenz D, Albrecht F, Maurer F et al (2015) Pentanal – ein volatiler Biomarker für eine lungenprotektive Beatmung in der Ratte? *Anästh Intensivmed* 56:222.
85. Lorenz D, Albrecht F, Maurer F et al (2015) Pentanal – ein volatiler Biomarker für eine lungenprotektive Beatmung in der Ratte? *Anästh Intensivmed* 56:222.
86. Lorenzo AC, Caffarena ER (2005) Elastic properties, Young's modulus determination and structural stability of the tropocollagen molecule: A computational study by steered molecular dynamics. *J Biomech* 38:1527–1533. doi: 10.1016/j.jbiomech.2004.07.011
87. Loring SH, Topulos GP, Hubmayr RD (2016) Transpulmonary pressure: The importance of precise definitions and limiting assumptions. *Am J Respir Crit Care Med* 194:1452–1457. doi: 10.1164/rccm.201512-2448CP
88. Lum H, Mitzner W (1985) Effects of 10% formalin fixation on fixed lung volume and lung tissue shrinkage . A comparison of eleven laboratory species. *Am Rev Respir Dis* 132:1078–1083. doi: 10.1164/arrd.1985.132.5.1078
89. Mathieu-Costello AB, West JB (1994) Are pulmonary capillaries susceptible to mechanical stress? In: *Chest*. S 102S-107S
90. Matuschak GM, Lechner AJ (2010) Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: pathophysiology and treatment. *Mo Med* 107:252–258.
91. Maurer F, Lorenz DJ, Pielsticker G et al (2017) Adherence of volatile propofol to various types of plastic tubing. *J Breath Res* 11:016009. doi: 10.1088/1752-7163/aa567e
92. Mead J, Takishima T, Leith D (1970) Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity. *J Appl Physiol* 28:596–608. doi: 10.1152/jappl.1970.28.5.596
93. Meager A (2006) Measurement of cytokines by bioassays: Theory and application. *Methods* 38:237–252. doi: 10.1016/j.ymeth.2005.11.005

94. Mesotheliomas SH, Is I, Rizzo P et al (1999) Simian Virus 40 Is Present in Most United States Human Mesotheliomas, but It Is Rarely Present in Non-Hodgkin's Lymphoma*. *Chest* 116:470S-473S. doi: 10.1378/chest.116.suppl
95. Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GFE (2004) Diagnostic potential of breath analysis - Focus on volatile organic compounds. *Clin Chim Acta* 347:25–39. doi: 10.1016/j.cccn.2004.04.023
96. Mire-Sluis AR, Gaines-Das R, Thorpe R (1995) Immunoassays for detecting cytokines: What are they really measuring? *J Immunol Methods* 186:157–160. doi: 10.1016/0022-1759(95)00128-W
97. Mora Carpio AL, Mora JI (2019) Positive End-Expiratory Pressure (PEEP). StatPearls Publishing
98. Moriondo A, Pelosi P, Passi A et al (2007) Proteoglycan fragmentation and respiratory mechanics in mechanically ventilated healthy rats. *J Appl Physiol* 103:747–756. doi: 10.1152/jappphysiol.00056.2007
99. Muscedere JG, Mullen JBM, Gan K, Slutsky AS (1994) Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 149:1327–1334. doi: 10.1164/ajrccm.149.5.8173774
100. Negrini D, Passi A, Moriondo A (2008) The role of proteoglycans in pulmonary edema development. *Intensive Care Med* 34:610–618. doi: 10.1007/s00134-007-0962-y
101. Niwa M, Hiraishi Y, Iwasaki N, Terada K (2013) Quantitative analysis of the layer separation risk in bilayer tablets using terahertz pulsed imaging. *Int J Pharm* 452:249–256. doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.05.010
102. Tubert-Brohman I, Sherman W, Repasky M, Beuming T. Improved docking of polypeptides with Glide. *J Chem Inf Model*. 2013 Jul 22;53(7):1689-99. doi: 10.1021/ci400128m. Epub 2013 Jul 10. PMID: 23800267.
103. Obermeier J, Trefz P, Happ J et al (2017) Exhaled volatile substances mirror clinical conditions in pediatric chronic kidney disease <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0178745&type=printable>. *PLoS One* 12:e0178745. doi: 10.1371/journal.pone.0178745
104. Orhan H, Gurer-Orhan H, Vriese E et al (2006) Application of lipid peroxidation and protein oxidation biomarkers for oxidative damage in mammalian cells. A comparison with two fluorescent probes. *Toxicol Vitro* 20:1005–1013. doi: 10.1016/j.tiv.2005.12.012
105. Parameswaran K, Todd DC, Soth M (2006) Altered respiratory physiology in obesity. *Can Respir J* 13:203–210. doi: 10.1155/2006/834786
106. Pelosi P, Rocco PRM, Negrini D, Passi A (2007) The extracellular matrix of the lung and its role in edema formation. *An Acad Bras Cienc* 79:285–297. doi: 10.1590/s0001-37652007000200010

107. Perl T, Carstens E, Hirn A et al (2009) Determination of serum propofol concentrations by breath analysis using ion mobility spectrometry. *Br J Anaesth* 103:822–827. doi: 10.1093/bja/aep312
108. Plötz FB, Vreugdenhil HA, Slutsky AS et al (2002) Mechanical ventilation alters the immune response in children without lung pathology. *Intensive Care Med* 28:486–492. doi: 10.1007/s00134-002-1216-7
109. Protti A, Andreis DT, Milesi M et al (2015) Lung anatomy, energy load, and ventilator-induced lung injury. *Intensive Care Med Exp* 3:34. doi: 10.1186/s40635-015-0070-1
110. Protti A, Maraffi T, Milesi M et al (2016) Role of Strain Rate in the Pathogenesis of Ventilator-Induced Lung Edema*. *Crit Care Med* 44:e838–e845. doi: 10.1097/CCM.0000000000001718
111. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT et al (2012) Acute respiratory distress syndrome: The Berlin definition. *JAMA - J Am Med Assoc* 307:2526–2533. doi: 10.1001/jama.2012.5669
112. Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C et al (1999) Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 282:54–61. doi: 10.1001/jama.282.1.54
113. Rao R (2008) Oxidative stress-induced disruption of epithelial and endothelial tight junctions. *Front Biosci* 13:7210–7226. doi: 10.2741/3223
114. Reis A, Spickett CM (2012) Chemistry of phospholipid oxidation. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* 1818:2374–2387. doi: 10.1016/j.bbamem.2012.02.002
115. Renne R, Fouillet X, Maurer J et al (2001) Recommendation of optimal method for formalin fixation of rodent lungs in routine toxicology studies. *Toxicol Pathol* 29:587–589. doi: 10.1080/019262301317226401
116. Ricard JD, Dreyfuss D, Saumon G (2001) Production of inflammatory cytokines in ventilator-induced lung injury: A reappraisal. *Am J Respir Crit Care Med* 163:1176–1180. doi: 10.1164/ajrccm.163.5.2006053
117. Ricard JD, Dreyfuss D, Saumon G (2003) Ventilator-induced lung injury. *Eur Respir Journal, Suppl* 22:294–323. doi: 10.1164/ajrccm.157.1.9604014
118. Rimensberger PC (2002) Neonatal respiratory failure. *Curr Opin Pediatr* 14:315–321. doi: 10.1097/00008480-200206000-00006
119. Robinson BJ, Ebert TJ, O'Brien TJ et al (1997) Mechanism whereby propofol mediates peripheral vasodilation in humans: Sympathoinhibition or direct vascular relaxation? *Anesthesiology* 86:64–72. doi: 10.1097/00000542-199701000-00010
120. Rodríguez-Capote K, Manzanares D, Haines T, Possmayer F (2006) Reactive oxygen species inactivation of surfactant involves structural and functional alterations to surfactant proteins SP-B and SP-C. *Biophys J* 90:2808–2821. doi:

- 10.1529/biophysj.105.073106
121. Roper JM, Mazzatti DJ, Watkins RH et al (2004) In vivo exposure to hyperoxia induces DNA damage in a population of alveolar type II epithelial cells. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 286:L1045–L1054. doi: 10.1152/ajplung.00376.2003
 122. Rosenberg AL, Dechert RE, Park PK, Bartlett RH (2009) Review of a large clinical series: Association of cumulative fluid balance on outcome in acute lung injury: A retrospective review of the ARDSnet tidal volume study cohort. *J Intensive Care Med* 24:35–46. doi: 10.1177/0885066608329850
 123. Russell J, Slutsky A (1999) International consensus conferences in intensive care medicine: Ventilator-associated lung injury in ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 160:2118–2124. doi: 10.1164/ajrccm.160.6.ats16060
 124. Russell J, Slutsky A (1999) International Consensus Conferences in Intensive Care Medicine: Ventilator-associated Lung Injury in ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 160:2118–2124. doi: 10.1164/ajrccm.160.6.ats16060
 125. Schwingshackl A (2016) The role of stretch-activated ion channels in acute respiratory distress syndrome: Finally a new target? *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 311:L639–L652. doi: 10.1152/ajplung.00458.2015
 126. Setzer F, Oschatz K, Hueter L et al (2013) Susceptibility to ventilator induced lung injury is increased in senescent rats. *Crit Care* 17:R99. doi: 10.1186/cc12744
 127. Shasby DM, Vanbenthuysen KM, Tate RM et al (1982) Granulocytes mediate acute edematous lung injury in rabbits and in isolated rabbit lungs perfused with phorbol myristate acetate: Role of oxygen radicals. *Am Rev Respir Dis* 125:443–447. doi: 10.1164/arrd.1982.125.4.443
 128. Silva PL, Negrini D, MacÊdo Rocco PR (2015) Mechanisms of ventilator-induced lung injury in healthy lungs. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 29:301–313. doi: 10.1016/j.bpa.2015.08.004
 129. Sinclair SE, Altemeier WA, Matute-Bello G, Chi EY (2004) Augmented lung injury due to interaction between hyperoxia and mechanical ventilation. *Crit Care Med* 32:2496–2501. doi: 10.1097/01.CCM.0000148231.04642.8D
 130. Slutsky AS, Tremblay LN (1998) Multiple system organ failure: Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am J Respir Crit Care Med* 157:1721–1725. doi: 10.1164/ajrccm.157.6.9709092
 131. Stenqvist O, Grivans C, Andersson B, Lundin S (2012) Lung elastance and transpulmonary pressure can be determined without using oesophageal pressure measurements. *Acta Anaesthesiol Scand* 56:738–747. doi: 10.1111/j.1399-6576.2012.02696.x
 132. Stüber F, Wrigge H, Schroeder S et al (2002) Kinetic and reversibility of mechanical

- ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med* 28:834–841. doi: 10.1007/s00134-002-1321-7
133. Sugiura M, McCulloch PR, Wren S et al (1994) Ventilator pattern influences neutrophil influx and activation in atelectasis-prone rabbit lung. *J Appl Physiol* 77:1355–1365. doi: 10.1152/jappl.1994.77.3.1355
 134. Sutherasan Y, Antini DD, Pelosi P (2014) Advances in VALI-prevention is the target. *Expert Rev Respir Med* 8:233–248. doi: 10.1586/17476348.2014.890519
 135. Sutherasan Y, Vargas M, Pelosi P (2014) Protective mechanical ventilation in the non-injured lung: Review and meta-analysis. *Crit Care* 18:211. doi: 10.1186/cc13778
 136. Sweeney R Mac, McAuley DF (2016) Acute respiratory distress syndrome. *Lancet* 388:2416–2430. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00578-X
 137. Terragni P, Ranieri VM, Brazzi L (2015) Novel approaches to minimize ventilator-induced lung injury. *Curr Opin Crit Care* 21:20–25. doi: 10.1097/MCC.0000000000000172
 138. Tonetti T, Vasques F, Rapetti F et al (2017) A driving pressure and mechanical power: New targets for VILI prevention. *Ann Transl Med* 5:286–286. doi: 10.21037/atm.2017.07.08
 139. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP et al (1997) Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest*. doi: 10.1172/JCI119259
 140. Tsuno K, Miura K, Takeya M et al (1991) Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. *Am Rev Respir Dis* 143:1115–1120. doi: 10.1164/ajrccm/143.5_pt_1.1115
 141. Tsuno K, Prato P, Kolobow T (1990) Acute lung injury from mechanical ventilation at moderately high airway pressures. *J Appl Physiol* 69:956–961. doi: 10.1152/jappl.1990.69.3.956
 142. Umbrello M, Formenti P, Bolgiaghi L, Chiumello D (2017) Current concepts of ARDS: A narrative review. *Int J Mol Sci*. doi: 10.3390/ijms18010064
 143. Vasques F, Duscio E, Pasticci I et al (2018) Is the mechanical power the final word on ventilator-induced lung injury?-we are not sure. *Ann Transl Med* 6:395. doi: 10.21037/atm.2018.08.17
 144. Vautz W, Ingo J, Braun BB (2004) Continuous monitoring of the fermentation of beer by ion mobility spectrometry Computational Methods for Breath Metabolomics in Clinical Diagnostics View project IUPAC JCAMP-DX View project. *Int. J. Ion Mobil. Spectrom.*
 145. Vriens J, Watanabe H, Janssens A et al (2004) Cell swelling, heat, and chemical agonists use distinct pathways for the activation of the cation channel TRPV4. *Proc*

- Natl Acad Sci U S A 101:396–401. doi: 10.1073/pnas.0303329101
146. Webb HH, Tierney DF (1974) Experimental pulmonary edema due to intermittent positive pressure ventilation with high inflation pressures. Protection by positive end expiratory pressure. *AmerRevRespDis* 110:556–565. doi: 10.1164/arrd.1974.110.5.556
 147. Westhoff M, Litterst P, Freitag L et al (2009) Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: Results of a pilot study. *Thorax* 64:744–748. doi: 10.1136/thx.2008.099465
 148. Westhoff M, Litterst P, Freitag L et al (2009) Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: Results of a pilot study. *Thorax* 64:744–748. doi: 10.1136/thx.2008.099465
 149. Whitehead T, Slutsky AS (2002) The pulmonary physician in critical care · 7: Ventilator induced lung injury. *Thorax* 57:635–642. doi: 10.1136/thorax.57.7.635
 150. Wilson HK (1986) Breath analysis. Physiological basis and sampling techniques. *Scand J Work Environ Heal* 12:174–192. doi: 10.5271/sjweh.2159
 151. Wilson MR, Choudhury S, Goddard ME et al (2003) High tidal volume upregulates intrapulmonary cytokines in an in vivo mouse model of ventilator-induced lung injury. *J Appl Physiol* 95:1385–1393. doi: 10.1152/jappphysiol.00213.2003
 152. Wirtz LM, Kreuer S, Volk T, Hüppe T (2019) Modern breath analysis. *Medizinische Klin - Intensivmed und Notfallmedizin* 114:655–660. doi: 10.1007/s00063-019-0544-0
 153. Wolf A, Baumbach JI, Kleber A et al (2014) Multi-capillary column-ion mobility spectrometer (MCC-IMS) breath analysis in ventilated rats: A model with the feasibility of long-term measurements. *J Breath Res* 8:016006. doi: 10.1088/1752-7155/8/1/016006
 154. Wolfgang Oczenski (2017) *Atmen - Atemhilfen, Atemphysiologie und Beatmungstechnik*, 10. überarbeitete und erweiterte Auflage. doi: 10.1055/b-004-140689
 155. Yoshino K, Sano M, Fujita M, Tomita I (1991) Production of Aliphatic Aldehydes on Peroxidation of Various Types of Lipids. *Chem Pharm Bull* 39:1788–1791. doi: 10.1248/cpb.39.1788
 156. Zamora MR, Davis RD, Keshavjee SH et al (1999) Complement inhibition attenuates human lung transplant reperfusion injury: A multicenter trial. *Chest* 116:46S–54S. doi: 10.1378/chest.116.suppl_1.46S
 157. Zucker AR, Holm BA, Crawford GP et al (1992) PEEP is necessary for exogenous surfactant to reduce pulmonary edema in canine aspiration pneumonitis. *J Appl Physiol* 73:679–686. doi: 10.1152/jappl.1992.73.2.679
 158. (1967) Respirator lung syndrome. *Minn Med* 50:1693–1705.

7. Publikationen / Vorträge & Danksagung

Projektbezogen:

Durchführung experimenteller Studien im Centre of Breath Research der Uniklinik des Saarlandes

Vortrag auf dem Forschungskolloquium der Universität des Saarlandes, 2019

Maximilian A. Floss, Lukas M. Wirtz, Felix Maurer, Beate Wolf, Thomas Volk; Tobias Fink; Sascha Kreuer

Exhaled Pentanal: A Biomarker for Ventilator Induced Lung Injury in Rats, ASA

Anesthesiology 2018, San Francisco, USA

Daniel Kiefer, Lukas M. Wirtz, Felix Maurer, Maximilian A. Floss, Beate Wolf, Thomas Volk

Standardisierte Ausatemluftanalytik bei beatmeten Ratten

Vortrag auf dem 12. IMS-Anwendertreffen in Reutlingen, 2018

Maximilian A. Floss, Lukas M. Wirtz, Felix Maurer, Beate Wolf, Thomas Volk; Tobias Fink; Sascha Kreuer

Sonstiges:

Exhaled Propofol Concentrations Correlate With Plasma and Brain Tissue

Concentrations in Rats, *Anesthesia & Analgesia: 01/2021*

Lukas M. Müller-Wirtz, Felix Maurer, Timo Brausch, Daniel Kiefer, Maximilian Floss, Jonas Doneit, Thomas Volk, MD, Daniel I. Sessler, Tobias Fink, Thorsten Lehr, Sascha Kreuer

Die Propofol-Atemluft-Konzentration korreliert in vergleichbarem Ausmaß mit der Hirngewebe- wie mit der Plasma-Konzentration bei Ratten, *DAC 2019, Leipzig, Germany*

Lukas Martin Wirtz; Felix Maurer; Daniel Kiefer; Maximilian A. Floss; Jonas Doneit; Beate Wolf; Thomas Volk; Tobias Fink; Sascha Kreuer

Geplante Publikationen:

Volutrauma increases exhaled pentanal in rats: a biomarker for ventilator-induced lung injury?

Daniel Kiefer, Lukas M. Müller-Wirtz, Felix Maurer, Maximilian A. Floss, Tobias Hüppe, Beate Wolf, Daniel I. Sessler, Thomas Volk, Sascha Kreuer, Tobias Fink

Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Fink sowie dem Leiter des Centre of Breath Research Homburg Herrn Professor Dr. Kreuzer für die Bereitstellung des Promotionsthemas, die fortwährende Unterstützung während der Promotionsphase und das entgegengebrachte Vertrauen. Ein großer Dank auch an den Direktor der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums des Saarlandes Herrn Prof. Dr. Volk.

Weiterhin möchte ich meinem Betreuer Dr. Lukas Müller-Wirtz sehr danken für die fortwährende Supervision und die tolle Zusammenarbeit auch in anspruchsvollen Zeiten. Sein Engagement und seine Unterstützung haben entscheidend zu dieser Dissertation beigetragen.

Auch möchte ich jedem einzelnen Mitarbeiter des CBR sowie meinen Mitdoktoranden Jonas Doneit und Joschua Knauf für die tolle Zusammenarbeit und die fortwährende Unterstützung danken. Jeder einzelne war wichtig für die Durchführung der Studie und Auswertung der Daten. Besonders möchte ich hier auch Beate Wolf, Dr. rer. nat. Felix Maurer, Dr. Daniel Kiefer und Dr. Tobias Hüppe erwähnen, die einem zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite standen und ohne die dieses Projekt auch nicht möglich gewesen wäre. Ich erinnere mich hier trotz der vielen Arbeit gerne an die vielen Stunden im Labor zurück. Auch ein großer Dank an Pia Zürn für die Organisation im CBR.

Abschließend ein sehr großer Dank an meine Eltern Ute und Günter Floß sowie an meine Familie. Danke für eure immerwährende Unterstützung!

8. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion:

13. Dezember 2021

Dekan:

Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter:

Prof. Dr. Tobias Fink

Prof. Dr. Michael Zemlin