

Immunphänotypisierung herzoperierter Patienten per Durchflusszytometrie hinsichtlich der Entwicklung eines Systemic Inflammatory Response Syndroms

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Enrico Ramón Sühling, geb. Kotalla

aus Köln

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Christian Bode
2. Gutachterin: PD Dr. Miriam Silaschi

Tag der Mündlichen Prüfung: 03.07.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. Marc Coburn

Meinem Großvater Karl-Heinz

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	8
1.1 Epidemiologie von Herzoperationen und dem Systemic Inflammatory Response Syndrome	9
1.1.1 Definition des Systemic Inflammatory Response Syndrome	9
1.1.2 Auftreten eines Systemic Inflammatory Response Syndrome nach Herzoperationen	10
1.2 Immunsystem	11
1.2.1 Innate Immunabwehr und dazugehörige Zellen	11
1.2.2 Adaptive Immunabwehr und dazugehörige Zellen	13
1.3 Individuelle Immunantwort	19
1.4 Fragestellung	20
2. Material und Methoden	21
2.1 Materialien	21
2.2 Antikörper und Panele	21
2.3 Software	22
2.4 Studienaufbau, Einschlussbedingungen und Gruppenbildung	23
2.5 Technik der Blutabnahme und Anfärbung der Zellen in Messgruppen	27
2.6 Auswertung der Ergebnisse der Durchflusszytometrie (FACS)	28
2.7 Statistik	32
3. Ergebnisse	33
3.1 Klinische Daten	33
3.1.1 Epidemiologie und prä- sowie intraoperative Werte	33
3.1.2 SOFA-Score	35
3.1.3 Postoperativer Verlauf	35
3.2 Ergebnisse der FACS-Messungen	38
4. Diskussion	44
4.1 Diskussion der Methodik	44
4.2 Diskussion der klinischen Ergebnisse	45
4.3 Diskussion der FACS-Ergebnisse	48

4.3.1 T-Zellen	49
4.3.2 Aktivierte T-Zellen	50
4.3.3 Tregs	51
4.3.4 CD8+- T-Zellen	52
4.3.5 TCMs/TEMs	53
5. Zusammenfassung	55
6. Abbildungsverzeichnis	56
7. Tabellenverzeichnis	57
8. Literaturverzeichnis	58
9. Danksagung	68

Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body-Mass-Index
CD	Cluster of Differentiation
cDC	Konventionelle Dendritische Zellen
CTL	Zytotoxische T-Lymphozyten
DAMPs	Damage Associated Molecluar Patterns
ECC	Extracorporal Circulation
EK	Erythrozytenkonzentrat
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FFP	Fresh Frozen Plasma
GCS	Glasgow Coma Scale
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HLM	Herz-Lungen-Maschine
ICU	Intensive Care Unit
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LT	Lymphotoxin
MAD	Mittlerer Arterieller Druck
MHC	Majorhistokompatibilitätskomplex
M1	proinflammatorische oder klassische Makrophagen
M2	nichtklassische oder alternatively activated Makrophages
NF-κB	Zellfaktor κB
NK Zellen	Natural Killer Zellen
NKT	Zellen Natürliche Killer T-Zellen
OPCAB	Off-Pump Coronary Artery Bypass
pDC	plasmazytoide Dendritische Zellen
Rpm	Rounds per Minute
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOFA	Score Sequential Organ Failure Assessment Score
TCM	Central-Memory-T-Zellen
TEM	Effective-Memory-T-Zellen
TEMRA	RA ⁺ -Effective-Memory-T-Zellen
Th	T-Helfer-Zelle
TK	Thrombozytenkonzentrat
TNF	Tumornekrosefaktor
TLR	Toll-Like-Rezeptor
Treg	Regulatorische T-Zellen
TRM	Resistent-Memory-T-Zellen
UKB	Universitätsklinikum Bonn

1. Einleitung

Die Behandlung von Patienten mit einem Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) stellt eine häufige Herausforderung auf Intensivstationen (ICU) dar, die nicht nur die Morbidität und Mortalität für die betroffenen Patienten erhöht, sondern darüber hinaus auch noch massive Kosten für das Gesundheitssystem verursacht. Erschwert wird die Behandlung dieser Patienten dadurch, dass die Therapie seit Jahren hauptsächlich symptomatisch erfolgt und bisher fast kein postulierter Therapieansatz Erfolg zeigte (Lord et al., 2014).

Im Rahmen des chirurgischen Eingriffs am offenen Herzen kommt es durch das zugefügte Trauma und den Kontakt des Blutes mit der Herz-Lungen-Maschine (HLM) zu einer hyperinflammatorischen sowie einer immunsuppressiven Phase. Diese Hyperinflammation kann zur Entwicklung eines SIRS mit im Maximalfall Multiorganversagen führen. Aufgrund des SIRS können betroffene Patienten gleichzeitig immunsupprimiert und anfälliger für Infektionen sein. Parameter zur Vorhersage, der Risikoeinschätzung des einzelnen Patienten oder die Verhinderung der Entwicklung des SIRS sind bisher nicht bekannt.

Die hier vorgelegte Doktorarbeit ist Teil einer größeren Studie der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin am Universitätsklinikum Bonn (UKB) die den Ansatz verfolgt, die Hintergründe zu der Entwicklung von SIRS besser zu verstehen, um darauf gezielt reagieren zu können.

Die zugrunde liegende Hypothese ist, dass eine Immunphänotypisierung betroffener Patienten im Vergleich zu nicht Betroffenen Schlüsselhinweise bezüglich der Entwicklung eines SIRS sowie Optionen zu personalisierter Therapie geben wird. Die hier gewählte Methode der Immunphänotypisierung war Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS), um Leukozytensubpopulationen zu untersuchen.

1.1 Epidemiologie von Herzoperationen und dem Systemic Inflammatory Response Syndrome

1.1.1 Definition des Systemic Inflammatory Response Syndrome

Eine klare Definition des SIRS ist schwierig zu formulieren, dies zeigt sich an den über die Jahrzehnte angepassten Definitionsansätzen. 1992 wurde definiert, anhand welcher Kriterien von einem SIRS zu sprechen sei. Dieser Zustand sei zu diagnostizieren, wenn zwei oder mehr der folgenden Zustände vorliegen: Eine Körpertemperatur von $>38^{\circ}\text{C}$ oder $<36^{\circ}\text{C}$, eine Herzfrequenz von $>90/\text{min}$, eine Atemfrequenz von $>20/\text{min}$ oder ein PaCO_2 von $<35\text{ mmHg}$, Leukozytenzahlen von <4.000 oder $>12.000/\text{ml}$ Blut (Singer et al., 2016).

In den Dritten Internationalen Konsensdefinitionen für Sepsis und Septischen Schock (Sepsis-3) wurde postuliert, dass SIRS eine adäquate Antwort des Immunsystems auf eine Infektion sein könnte, jedoch noch keine Organdysfunktion beinhaltet. Sepsis wurde als lebensbedrohliche Organdysfunktion in Reaktion auf eine Infektion definiert, die sich durch Veränderung des Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA-Score) von ≥ 2 im Vergleich zum Zustand vor der Infektion zeige. Die SIRS-Kriterien von 1992 seien als möglichen Hinweis auf eine Infektion zu werten, ein eigenes Krankheitsbild wurde allerdings nicht definiert (Singer et al., 2016). Teil der Immunreaktion auf SIRS wie auch auf Sepsis ist eine zunehmende endotheliale Dysfunktion mit erhöhter Permeabilität, wie auch Aktivierung des Gerinnungssystems. Letztendlich können beide Krankheitsbilder zur Organdysfunktion bzw. zum -versagen mit der Notwendigkeit für Ersatzverfahren führen (Balk, 2014). Somit ist bei beiden Gruppen ist beispielsweise bald eine positive Flüssigkeitsbilanz zu beobachten. Dass ein zur Perfusion ausreichendes Blutdruckniveau erhalten werden muss, ist allgemein bekannt. Katecholamintherapie kann dabei nur effektiv sein, wenn das über das Kapillarleck nach extravasal verschobene Volumen ersetzt wird, was entsprechende Gaben notwendig macht (Westphal und Kampmeier, 2015).

1.1.2 Auftreten eines Systemic Inflammatory Response Syndrome nach Herzoperationen

2017 haben die rund 1.000 in Deutschland tätigen Herzchirurgen 101.728 Herzoperationen vorgenommen. Davon entfielen 36.273 auf Bypassoperationen, 34.394 auf Operationen an den Herzklappen und 11.400 auf kombinierte Bypass- und Klappenoperationen. Die restlichen Operationen betrafen kongenitale Herzfehler und nicht näher spezifizierte sogenannte sonstige Eingriffe (Wick et al., 2020). Die durchschnittliche Liegedauer auf der Intensivstation nach elektiven herzchirurgischen Eingriffen betrug nach einer Studie von 2017 im Durchschnitt 1,9-2,1 Tage (Mazer et al., 2017).

Bereits seit Langem ist bekannt, dass die Durchführung einer Herzoperation unter kardiopulmonalem Bypass mit einem höheren Risiko für isolierte Organdysfunktionen wie Nierenversagen bis hin zum SIRS führen können (Greiwe et al., 2021). Es wird davon ausgegangen, dass durch Ischämie und Reperfusion ausgelöste Entzündung zu Myokardschäden führen. Dies geschieht vermutlich zu großen Teilen über die Aktivierung des Komplementsystems, des Gerinnungssystems und Zytokinkaskaden. Zusammen mit Thrombozytose führe dies zu Thrombosen, Myokardschäden und letztendlich zum Myokardinfarkt (Verrier et al., 2004).

Etwa ein Viertel aller herzoperierten Patienten entwickelt anschließend ein SIRS (Squicimarro et al., 2019) (Thangappan et al., 2016). Diese verbleiben länger auf den ICUs, benötigen längere Beatmungszeiten und zeigen erhöhte Notwendigkeit hämodynamischer Unterstützung wie den Einsatz von Katecholaminen oder Intraaortalen Ballonpumpen. Stoppelkamp et al. zeigten, dass bei SIRS-Patienten IL1 β anders als bei den später kein SIRS entwickelnden Patienten bereits direkt postoperativ signifikant erhöht war. Im Gegensatz dazu unterschieden sich Akute-Phase-Proteinen wie das C-reaktiven Protein oder Procalcitonin zwischen den beiden Gruppen von herzoperierten Patienten nicht relevant (Stoppelkamp et al., 2015). Mögliche Ursachen von SIRS sind Kontakt des Blutes mit den Oberflächen der HLM, das Gewebstrauma und der Reperfusionsschaden. Die Entwicklung eines SIRS kann zu verschiedensten postoperativen Komplikationen wie Störungen der Atmung oder Neurologie, aber auch zu Blutungen, Versagen von Leber oder Nieren bis hin zum multiplen Organversagen führen (Paparella, 2002).

Im Vergleich zu Patienten ohne SIRS konnte bei Patienten, die eines entwickeln, eine 6,9 mal höhere Mortalität innerhalb von 28 Tagen gezeigt werden (Comstedt et al., 2009). In der zitierten dänischen Studie wurde zwar nicht zwischen Patienten, die ein SIRS im Rahmen einer Sepsis und solchen die es ohne entwickeln unterschieden, dennoch zeigte sich eine 5,5 -fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für einen septischen Schock bei Patienten, die bei ihrem Eintreffen auf der ICU bereits Zeichen eines SIRS zeigten.

1.2 Immunsystem

1.2.1 Innate Immunabwehr und dazugehörige Zellen

Die Innate Immunabwehr bildet die erste Verteidigungslinie gegen Pathogene. Sie besteht aus zellulären und biochemischen Mechanismen, die bereits vor Infektionen vorhanden sind. Ihre Mechanismen werden durch Strukturen aktiviert, die Gruppen verwandter Pathogene gemeinsam haben und für diese spezifisch sind. Eine genauere Differenzierung des Pathogens als die Zugehörigkeit zu einer Gruppe findet nicht statt, und die Antwort ist bei weiteren Kontakten in der Stärke gesteigert zur Erstantwort (Włodarczyk et al., 2019). Bestandteile der humanen Immunantwort sind physische und chemische Barrieren wie die Epithelien der Haut und Schleimhäute und darauf zu findende sekretierte Stoffe wie Muzine, außerdem Proteine wie das Komplementsystem und Zytokine für die Kommunikation zwischen den Zellen. Entscheidend für das Auslösen einer Immunreaktion wie SIRS sind bestimmte Zelltypen, die im Folgenden erläutert werden.

Monozyten

Diese Zellen zirkulieren im peripheren Blut, wandern in Gewebe ein und differenzieren dort zu Makrophagen. Diese bewirken die Abwehr von Pathogenen zum einen über die Induktion und Steuerung der Entzündung (lokal und generalisiert), zum anderen über die Phagozytose von apoptotischen und nekrotischen Zellen, sowie Mikropartikeln und sonstigen körperfremden Zellen oder Material. Ursprünglich wurden Makrophagen ihrer Wirkung nach in zwei große Gruppen unterteilt: Die proinflammatorischen Makrophagen (klassische oder M1) produzieren hauptsächlich Interleukine (IL) wie IL-18, IL-12 und IL-26. Diese fördern von T-Helfer-Zellen 1 und T-Helfer-Zellen 17 (Th1 und Th17) vermittelte

Reaktionen. Die antiinflammatorischen Makrophagen (nichtklassische oder M2, auch "alternatively activated makrophages") wirken immunregulatorisch und gewebereparierend über IL-10 und Transformierender Wachstumsfaktor (Transforming Growth Factor, TGF)-beta. Zirkulierende Monozyten exprimieren Cluster of Differentiation (CD) 14, das als wichtigster Marker gilt, sowie CD13, CD33, CD18, CD4^{dim} und CD64. Als Aktivationsmarker von Monozyten ist unter anderen das Humane Leukozytenantigen (HLA) -DR etabliert. Differenzierte Monozyten exprimieren CD16 (das normalerweise zur Identifikation von Granulozyten genutzt wird) und sehr wenig bis kein CD14. Diese M2 Makrophagen, weisen eine reduzierte phagozytotische Kapazität auf, produzieren höhere Konzentrationen an Zytokinen und sind stärkere Antigenpräsentatoren sind (Lambert et al., 2017). Neben der größeren Gruppe CD14⁺⁺/CD16⁻ (M1) und den selteneren CD14⁺/CD16⁺⁺ (M2), gibt es noch die kleine Gruppe der CD14⁺/CD16⁺ Monozyten, auch genannt intermediär. Mittlerweile wird nicht mehr in die Extreme von M1 und M2 unterteilt, sondern ein weites Spektrum von Phänotypen und Zytokinproduktion, reguliert durch Transkriptionelle Reprogrammierung durch epigenetische Modifikationen, angenommen (De Winter et al., 06.07.2021). Die Leukozytose bei SIRS und Sepsis wird zu großen Teilen durch die vermehrte Zirkulation von Monozyten und Neutrophilen bedingt (Flores-Mejía et al., 2019).

Natürliche Killerzellen

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) zählen zu den ersten und am besten beschriebenen Zellen des Innaten Immunsystems. Sie wirken vor allem gegen intrazelluläre Viren und Bakterien und produzieren Interferon (IFN) - γ , dass die Fähigkeit von Makrophagen, phagozytierte Bakterien zu zerstören, steigert. NK-Zellen besitzen Granula, die wiederum Perforine erhalten, die den Eintritt anderer Stoffe, wie Granzyme, in Zellen erleichtern. Granzyme aktivieren in der Zielzelle eine Signalkaskade, die zur Apoptose führt. Identifiziert werden können sie durch die Expression von CD56 und dem Nichtvorhandensein des T-Zell-Markers CD3 (Crinier et al., 2020). Das Vorkommen in absoluten Zahlen von NK-Zellen ist bei Patienten mit SIRS oder Sepsis im Vergleich zu gesunden Probanden erniedrigt (Forel et al., 2012).

Konventionelle Dendritische Zellen

Konventionelle Dendritische Zellen (cDCs) sind die zahlreichste DC-Gruppe in lymphoiden Organen. Sie erkennen mikrobielle Antigene über ihre Toll Like Rezeptoren (TLRs), nehmen sie auf, prozessieren sie und präsentieren sie auf Haupthistokompatibilitätskomplexen (Major Histocompatibility Complex, MHCs), bevor sie in Lymphknoten einwandern und dort T-Zellen aktivieren. Unterteilt werden sie hinsichtlich Marker und Funktion weiterhin in zwei Gruppen nach ihrer Expression von BDCA-1/CD1c (starke CD4-T-Zell Antwort) oder BDCA-3 (effektive Kreuzpräsentation) (Abbas et al., 2015).

Plasmazytoide Dendritische Zellen

Plasmazytoide Dendritische Zellen (pDCs) sind nur sehr gering zur Phagozytose fähig. Ihre Hauptaufgabe ist die Sekretion großer Mengen IFN Typ I als Antwort auf virale Infektionen. Sie können ebenfalls virale Antigene virusspezifischen T-Zellen präsentieren. Sie exprimieren im Gegensatz zu cDCs kein CD11c, sondern CD303 (Abbas et al., 2015). pDCs als Teil der Inflammatorischen DCs spielen eine relevante Rolle bei der Abwehr von Inflammation oder Infektion, indem sie per Chemokinen die Rekrutierung vieler anderer Zellen initiieren. Im Steady-State eines Organismus akkumulieren sie nicht (Wu et al., 2017).

1.2.2 Adaptive Immunabwehr und dazugehörige Zellen

Hauptsächlich definierend für die Adaptive Immunabwehr ist, dass sie zwischen verschiedenen Substanzen unterscheiden, und spezifisch darauf reagieren kann. Im Folgenden werden die entsprechenden Zellgruppen erläutert.

T-Lymphozyten

T-Zellen sind die Basis der zellulären Immunität. Sie werden im Knochenmark gebildet, wandern in den Thymus und differenzieren dort zu den Subgruppen der T-Helfer-Zellen (Th), Zytotoxischen T-Zellen und den Regulatorischen T-Zellen (Tregs). Der auf allen Arten von T-Zellen vorhandene Oberflächenmarker ist CD3 (Abbas et al., 2015).

Es kann unterschieden werden zwischen α/β T-Zellen und γ/δ T-Zellen. α/β T-Zellen sind zunächst mit $CD4^+$ und $CD8^+$ doppelpositiv, differenzieren im Verlauf aber zu reifen $CD4^+$ oder $CD8^+$ -T-Zellen. γ/δ -T-Zellen bleiben mit $CD4^+$ und $CD8^+$ doppelpositive Lymphozyten, die statt dem klassischen α/β -Rezeptor einen anderen exprimieren, bestehend aus einer γ und δ Kette. Ihre Funktionen sind aktuell noch Gegenstand intensiver Forschung. Klar ist bisher, dass sie einerseits in verschiedenen Gewebearten eine wichtige Rolle bei Defektreparatur und Protektion gegen Prozesse wie Fibrosierung bieten. Zusätzlich sind sie aber in der Lage, Pathogene zu erkennen und nicht nur Neutrophile zu rekrutieren und Phagozyten zu aktivieren, sondern auch selbst Zellen zu töten (Ribot et al., 2021).

Naive $CD4^+$ -T-Zellen

$CD4^+$ -T-Zellen stimulieren B-Zellen zur Produktion von Antikörpern, aktivieren Zytotoxische T-Zellen, regulieren die Funktionen von Makrophagen und dirigieren allgemein die Reaktionen des Immunsystems. $CD4^+$ -T-Zellen, die vor Kurzem aus dem Thymus emigrierten, exprimieren $CD31$ und die Protein-Thyrosin-Kinase 7 (van den Broek et al., 2018). Exprimieren $CD4^+$ -Zellen (unabhängig von ihrer $CD31$ -Expression) $cD25^{dim}$ deutet dies Stimulation und Proliferation an. Es wurde gezeigt, dass T-Helfer-Zellen (Th) in verschiedene Gruppen unterteilt werden können. $CD4^+$ -Ths differenzieren zu verschiedenen Subtypen wie Th1, Th2, Th17, Tregs und Follikulären Ths (Bunte und Beikler, 2019).

T-Helfer-Zellen

Th1-Zellen produzieren $IFN-\gamma$ und Lymphotoxine als ihre Signaturproteine. Die Aufgabe der Lymphotoxine ist unter sowohl die Zerstörung von Zellen als auch (beispielsweise im Thymus) ihre Migration. Hierzu bindet beispielsweise Lymphotoxin α ($LT\alpha$) an den Tumornekrosefaktor (TNF) -Rezeptor 1 oder 2 zur Aktivierung der entsprechenden Signalkaskade (Borelli und Irla, 2021). Die Bindung an TNFR1 führt zur Transkription des Zellfaktors- κB ($NF-\kappa B$) und weiterer Kaskaden von Kinasen, an deren Ende Inflammation und Apoptose stehen. Im Gegensatz dazu führt TNFR2 Zur Proliferation und Migration von Zellen (Apostolaki et al., 2010). Viele Ths produzieren außerdem IL-2 und $TNF-\alpha$. Ihre Hauptaufgabe ist, Makrophagen zur Phagozytose von Mikroben zu aktivieren.

Th2-Zellen produzieren vor allem IL-4, IL-5 und IL-13 (Zhu et al., 2010). Sie sind die Mediatoren der phagozytoseunabhängigen Immunantwort, vor allem durch Mastzellen und Eosinophile, welche vor allem bei Infektionen durch Parasiten, die zu groß für Phagozytose sind, zum Einsatz kommen. Th2 produzieren IL-4 und IL-13 (steigert die Sekretion von Geweben und rekrutiert Leukozyten) sowie IL-5 (aktiviert Eosinophile) (Abbas et al., 2015). Es wurde gezeigt, dass Th1-Zellen im Fall von Traumata in Ihrer Aktivität herabregulieren, die Th2-Aktivität jedoch steigt (Miller et al., 2007).

Natürliche Killer T-Zellen

Eine kleine Gruppe von T-Zellen exprimiert Marker wie CD56, der eigentlich auf NK-Zellen gefunden wird. Diese Zellen werden NKT-Zellen genannt. Sie können IL-4 und TNF- γ produzieren und B-Zellen der Marginalzonen dabei helfen, Antikörper zu produzieren. Möglicherweise haben sie auch eine regulatorische Funktion (Abbas et al., 2015). NKT-Zellen als pluripotente Lymphozytenuntergruppe sind in der Lage, die Aktivität von Neutrophilen und Makrophagen zu modulieren und sind beteiligt an der Abwehr vieler Pathogene. Im Fall von Sepsis beispielsweise steigt ihr Vorkommen signifikant an (Young et al., 2015).

Zytotoxische T-Lymphozyten

CD8⁺-Effektorzellen werden als Zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) bezeichnet. Sie werden aktiviert durch Antigenpräsentation mittels MHC I sowie oft kostimulierenden Faktoren. Zur vollen Aktivierung sind oft noch Zytokine (zum Beispiel IL-2) von CD4⁺-Th nötig. CTL erkennen infizierte Zellen, die die gleichen Antigene auf ihren MHC I tragen, über die die Zelle aktiviert wurde, und binden sie. Über diese sehr enge Bindung, Synapse genannt, sekretieren sie Granula mit Granzymen und Perforinen in die infizierte Zelle und lösen so in dieser Apoptose aus (Abbas et al., 2015). Das Vorkommen von CTLs scheint sich zwischen SIRS-Patienten und gesunden Probanden nicht signifikant zu unterscheiden (Hua et al., 2014).

Naive CD8⁺-T-Zellen

Diese Zellen zirkulieren kontinuierlich durch den Körper. Wenn sie ihrem spezifischen Antigen begegnen, führen molekulare Veränderungen zu einem aktivierten Status und zur

Differenzierung in eine der Subpopulationen. Sie durchlaufen im Rahmen ihrer Differenzierung drei Phasen: 1. Klonale Expansion und Ausbildung der Effektorfunktionen, 2. Reduktion der Populationsgröße der Effektorzellen durch induzierte Apoptose und dem Übrigbleiben einer Memorypopulation, 3. Weitere Ausdifferenzierung der Memorypopulation. Die Ausdifferenzierung (3.) kann auch ohne die apoptosebedingte Selektion (2.) stattfinden. Naive CD8⁺-T-Zellen exprimieren CD45RA⁺ und CCR7⁺ (Samji und Khanna, 2017). Eine Reduktion von naiven T-Zellen nach Trauma konnte gezeigt werden (Kasten et al., 2010).

Effector T-Zellen

Effector T-Zellen (TEFFs) sind antigenspezifische CD8⁺-T-Zellen, die in großer Zahl innerhalb weniger Tage nach einer Infektion in lymphoiden Organen zu finden sind. Sie sind CD45RA⁺, CCR7⁻, CD27⁻, CD26L⁻, CD11a⁺, CD18⁺, CD49d⁺, CD95⁺ und sezernieren IFN- γ und TNF- α . Auch ohne Stimulation weisen sie konstant hohe zytolytische Aktivität auf, was sie von den Memory T-Zellen unterscheidet (Samji und Khanna, 2017).

Memory T-Zellen

Hierbei handelt es sich um einen Oberbegriff für antigenspezifische Zellen, die auch lange nach der ausgeheilten Infektion zu finden sind. Sie haben gesteigerte Fähigkeiten, viraler Replikation bei Zweitkontakt zu widerstehen, und lassen sich in verschiedene Subpopulationen (TCM, TEM, RA⁺ TEMs, TRM) unterscheiden. Interessanterweise bleiben die nicht-zirkulierenden Memory T-Zellen im Gegensatz zu den zirkulierenden von zytotoxischer Chemotherapie weitgehend unbeeinträchtigt, was erklärt, warum so behandelte Patienten seltener opportunistische Infektionen erleiden, als man das beim Verlust der zirkulierenden Memory T-Zellen erwarten würde. Sie sind durch die Oberflächenmarker CD45RA⁻, CCR7⁺, CD27⁺, CD95⁺, CD11a⁺, CD18⁺, CD29⁺ charakterisiert und sezernieren IL-2 und IFN- γ (TEM und TCM sind in der Regel CD69⁻ und CD103⁻) (Samji und Khanna, 2017). Memory T-Zellen, unabhängig von ihren Spezifikationen, sind häufiger in von SIRS und Sepsis betroffenen Patienten zu finden. Ihr gehäuftes Vorkommen ist mit einer höheren Mortalität assoziiert (Huang et al., 2019).

Central Memory T-Zellen

TCMs sind CD45RA⁻, CCR7⁺ und CD27⁺. Hauptsächlich sind sie in lymphoiden Organen nachweisbar, können aber auch zirkulieren. Es zeigte sich, dass sie länger als TEMs brauchen, um zytolytische Aktivität zu beginnen. Sie produzieren, solange sie noch nicht zu Effector T-Zellen differenziert sind, IL-2 (Samji und Khanna, 2017). Es wurde nachgewiesen, dass die prozentualen Anteile von TCMs, naiven T-Zellen und RA⁺-Effector Memory T-Zellen (s.u.) sich zwischen Sepsis-Patienten und gesunden Probanden nicht unterscheiden (Xie et al., 2019).

Effector Memory T-Zellen

Bei TEMs handelt sich hierbei um zirkulierende Zellen, die schneller mit zytolytischer Aktivität nach Aktivierung beginnen als TCMs. Sie sind CD45RA⁻, CCR7⁻ und CD27⁻ (Samji und Khanna, 2017).

RA⁺-Effector Memory T-Zellen

Neu entdeckt wurde vor einigen Jahren die Subpopulation der RA⁺-TEMs, die als TEMRA bezeichnet werden. Ihre genaue Funktion ist bisher noch unklar, beschrieben wurde aber bereits die Expansion der Populationen nach Infektionen mit dem Zytomegalievirus oder dem Denguevirus. Vermutlich aus diesem Grund variieren die Ausmaße der Population in gesunden Individuen deutlich zwischen 0,3 und 18% der CD4⁺-Population (Tian et al., 2017).

Resident Memory T-Zellen

Die Subpopulation der TRMs wurde erst in den letzten Jahren entdeckt. Ihre Zellen bleiben permanent in Geweben, da sie unfähig sind zu zirkulieren. Im Gegensatz zu TEM und TCM sind sie CD69⁺ CD103⁺ doppelpositiv (Samji und Khanna, 2017). In Fällen einer moderat oder mittelschwer verlaufender Sepsis (in Bezug auf die Mortalität) bleibt die Gesamtzahl der TRMs im Verlauf konstant. In Fällen schwerer Sepsis sinkt sie jedoch, was anschließend zu einer höheren Infektanfälligkeit zu führen scheint (Moioffer et al., 2021).

Regulatorische T-Zellen

Tregs sind CD4⁺-T-Zellen, die Immunreaktionen regulieren und die Selbsttoleranz des Systems gewährleisten. Sie produzieren größtenteils die α -Kette des IL-2-Rezeptors (CD25), wohingegen der IL-7-Rezeptor (CD127) nicht bis nur sehr wenig vorkommt. Tregs differenzieren als selbsterkennende T-Zellen im Thymus sowie als Selbsterkenner und Erkennen von Fremdartigen in peripheren Lymphorganen. Ihre regulatorische Funktion üben Tregs über die Produktion verschiedener Zytokine aus. TGF- β supprimiert die Funktion verschiedener Zellen wie Makrophagen, Neutrophiler, Endothelzellen sowie Th1 und Th2. IL-10 inhibiert aktivierte Makrophagen und DCs. Durch die große Menge an CD25 auf der Zelloberfläche können Tregs IL-2 aus ihrer Umgebung aufnehmen und so die Stimulation anderer Zellpopulationen reduzieren (Abbas et al., 2015). Tregs lassen sich weiter in aktivierte und ruhende Tregs unterscheiden. Während die aktivierten CD45RA⁻ sind, exprimieren die ruhenden CD45RA. Aktivierte Tregs produzieren deutlich geringere Mengen an IL-2, TNF- α und IFN- γ als ruhende Tregs und wirken so als stärkere Suppressoren des Immunsystems. Bezüglich Immunität gegenüber Tumoren zeigten Lin et al., dass in der Umgebung von Metastasen kolorektaler Carcinome aktivierte Tregs in großer Zahl vorkommen, was auf einen entsprechenden Zusammenhang hindeutet (Lin et al., 2013). Die Anzahl der Tregs zeigt sich in Sepsis-Patienten (1,75 %) sowohl im Vergleich zu gesunden Probanden (1,07 %), als auch zu SIRS-Patienten (1,08 %), erhöht (Leng et al., 2013).

B-Lymphozyten

Sie reifen im Knochenmark zu antikörperproduzierenden Zellen. Sie bilden so die Grundlage des humoralen Abwehrsystems. Naiv produzieren sie IgD und IgM, nach ihrer Ausreifung zu Effector- oder Memory-B-Zellen ändert sich dies zu IgA, IgG oder IgE. Memory-B-Zellen sind besonders gut durch die Expression von CD27 zu identifizieren (Abbas et al., 2015). Am Mausmodell konnte belegt werden, dass B-Zellen bei der Sepsis protektiv in Bezug auf assoziierte Erkrankungen wie die akute Lungenschädigung wirken (Aziz et al., 2018).

1.3 Individuelle Immunantwort

Unterschiede in den Immunreaktionen bestehen nicht nur zwischen Einzelpersonen. Bereits zwischen den Geschlechtern konnten signifikante Unterschiede identifiziert werden. Es konnte gezeigt werden, dass Frauen stärkere innate, zellvermittelte und humorale Reaktionen auf Pathogene aufweisen (Ruggieri et al., 2016). Dies führt zwar schneller zu einer Elimination besagter Pathogene, die höhere Aktivität des Immunsystems scheint jedoch auch das Auftreten von Autoimmunkrankheiten zu begünstigen. Dieser Aktivitätsunterschied konnte bereits auf Ebene der Geninduktion, führend zu verstärkter Transkription von Rezeptoren und schließlich höherer Produktion von beispielsweise von IFNs. Bereits vor über 10 Jahren wurde nachgewiesen, dass Patienten, die einen septischen Schock erlitten (und damit auch die SIRS-Kriterien erfüllten), eigene Muster von Genexpression im Vergleich zu sowohl zu Kontrollprobanden als auch zu Patienten, die an Sepsis ohne Schock litten, aufwiesen (Atreya und Wong, 2019). Die Identifikation solcher Genmuster kann ein Bestandteil personalisierter Medizin sein, die auf zwei Arten sogenannten Enrichments mit beruht. Dabei geht es zum einen um die Wahrscheinlichkeit, dass eine Patientengruppe auf bestimmte Art auf eine Krankheit reagiert, zum Beispiel hinsichtlich Überlebens (Prognostic Enrichment). Für die Pädiatrie wurde das Pediatric Sepsis Biomarker Risk Model PERSEVERE entwickelt, das die Messung verschiedener Serumproteine innerhalb von 24 Stunden nach Stellung einer Sepsis-Diagnose kombiniert, um die Überlebenschancen vorher zu sagen (Wong, 2022). Therapeutisch relevant ist die Vorhersage, ob eine Patientengruppe auf eine Therapie besser oder schlechter ansprechen wird (Predictive Enrichment). Dies führte beispielsweise zur Entwicklung und dem Einsatz Monoklonaler Antikörper gegen Tumorerkrankungen, die bestimmte Epitope aufweisen (Stanski und Wong, 2020).

Passenderweise konnte beobachtet werden, dass phänotypische Faktoren, die im Allgemeinen mit subjektiv einem bestimmten Outcome assoziiert werden, nicht in die erwartete Richtung deuten müssen. Squicciarro et al. zeigten, dass das Auftreten von SIRS beeinflussenden Faktoren nicht mit denen für schlechteres Outcome übereinstimmen: Patienten mit SIRS waren in ihrer Studie jünger und litten seltener an arterieller Hypertonie oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit. Außerdem belegten bereits diese Autoren, dass die Zeiten für Extracorporeal Circulation (ECC) und die Aortenklammzeit keinen

Einfluss auf die Entwicklung eines SIRS haben. Jedoch unterzogen sich SIRS entwickelnde Patienten eher nach Einschätzung der New York Heart Association als belastend angesehenen Operationen (Squicciarro et al., 2019).

1.4 Fragestellung

Verschiedene Versuche, immunmodulatorisch prospektiv die Entwicklung von SIRS zu verhindern oder abzuschwächen waren ohne relevanten Erfolg (Balk, 2014). Warum jedoch einzelne Patienten auf ein vergleichbares Trauma wie eine Operation am offenen Herzen mit SIRS reagieren, während andere nach wenigen Stunden der Überwachung auf periphere Stationen verlegt werden können, konnte bisher nicht zufriedenstellend beantwortet werden. Es konnte nicht nur widerlegt werden, dass ein ausgeprägteres Gewebstrauma wahrscheinlicher zu SIRS führt, im Gegenteil wurde beobachtet, dass das gehäufte Auftreten freier DNA (beispielsweise durch Gewebsschaden) nicht automatisch zu SIRS führt (Stoppelkamp et al., 2015). Erhöhte Morbidität, Mortalität und die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Infektion hängen zusätzlich mit der Gabe von Blutkomponenten zusammen. Dieser Effekt steigt mit der Zahl der transfundierten Konserven. Insbesondere Erythrozytenkonzentrate (EKs) können zu Leukozytendysfunktion und dem Ansteigen immunsuppressiver Zellpopulationen führen, was wiederum vom individuellen Immunstatus abhängt (Nacionales et al., 2012).

Die dieser Arbeit zugrunde liegende Hypothese ist, dass postoperative SIRS-Patienten bereits vor einer Herzoperation einen veränderten Immunstatus aufweisen. Diese Arbeit konzentriert sich dabei auf die Zusammensetzung der Leukozytensubpopulationen, um für die Erkennung und Genese des postoperativen SIRS besser zu verstehen. Das Ziel besteht somit darin, einen Beitrag zu einem tieferen Verständnis immunologischer Prädisposition zu leisten und die Entwicklung eines SIRS patientenspezifisch vorhersagen zu können. Das FACS ist dabei eine Methode, die mindestens an allen Universitätskliniken vorhanden ist und somit zumindest für diese Operationszentren in die Regelversorgung integriert werden könnte. Sollte ein Teil der hinweisenden Konstellation auf einen Angriffspunkt für personalisierte Therapieformen hinweisen, könnte dies Mortalität und Morbidität der betroffenen Patienten möglicherweise positiv beeinflussen.

2. Material und Methoden

2.1 Materialien

Tab. 1: Materialien zur Bearbeitung der Blutproben

Materialart	Materialname	Bezugsunternehmen
Zentrifuge	Varifuge 3.OR	Heraeus Sepatech
Pipetten	1000µl Pipette, 100µl Pipette, 10µl Pipette	Eppendorf
Monovetten	S-Monovette Hirudin 75x13mm, 2,7ml	Sarstedt AG&Co
Lysispuffer	Red Blood Cell Lysis Solution	Miltenyi Biotec
Zellpuffer	MACS® Separation Buffer	Miltenyi Biotec
Zellpuffer	Attune Focusing Fluid	ThermoFisher
Probenhalter	Chill 5 Rack	Miltenyi Biotec
Zytometer	MACS Quant Analyzer 10	Miltenyi Biotec
	LSR II	Becton, Dickinson and Company
	Attune NXT	ThermoFisher

2.2 Antikörper und Panele

Tab. 2: Antikörper und Klone des Tcell-Panels

Antikörper	Klon	Hersteller
CD8	REA 734	Miltenyi Biotec
CD3	REA 613	Miltenyi Biotec
CD38	REA 671	Miltenyi Biotec
PD1	PD1.3.1.3	Miltenyi Biotec
CD4	REA 623	Miltenyi Biotec
CCR7	REA 546	Miltenyi Biotec
CD45RA	REA 562	Miltenyi Biotec
CD27	REA 499	Miltenyi Biotec

Tab. 3: Antikörper und Klone des Treg-Panels

Antikörper	Klon	Hersteller
CD8	REA 734	Miltenyi Biotec
CD3	REA 613	Miltenyi Biotec
HLA-DR	REA 332	Miltenyi Biotec
CD25	REA 570	Miltenyi Biotec
CD4	REA 623	Miltenyi Biotec
$\gamma\delta$ TCR4	11F2	Miltenyi Biotec
CD127	REA 614	Miltenyi Biotec
CD45RA	REA 562	Miltenyi Biotec

Tab. 4: Antikörper und Klone des 7 Colour-Panels

Antikörper	Klon	Hersteller
CD45	HI30	Miltenyi Biotec
CD14	61D3	Miltenyi Biotec
CD16	CB16	Miltenyi Biotec
CD56	NCAM	Miltenyi Biotec
CD4	SK-3	Miltenyi Biotec
CD19	SJ25C1	Miltenyi Biotec
CD3	OKT3	Miltenyi Biotec
CD8	RPA-T8	Miltenyi Biotec

2.3 Software

Tab. 5: Software zur Darstellung und Auswertung

Programmart	Programmname	Hersteller
Darstellungsprogramm	FlowJo Version 10	Tree Star
Auswertungsprogramm	Microsoft Office Excel 16	Microsoft
Auswertungsprogramm	Graph Pad	Prism
Auswertungsprogramm	REDCap	Vanderbilt University

2.4 Studienaufbau, Einschlussbedingungen und Gruppenbildung

Die Patientenauswahl sowie die Datenerhebung erstreckte sich von Dezember 2016 bis Juli 2019. Die ausgewählten Patienten unterzogen sich in diesem Zeitraum einem elektiven offenen kardiochirurgischen Eingriff (Klappenersatz, Klappenrekonstruktion, Bypassoperation oder Kombinationseingriff) mittels extrakorporaler Zirkulation am UKB und wurden anschließend auf der kardiochirurgischen ICU behandelt. Untersucht wurde somit ein Patientenkollektiv vorrangig kardiologisch erkrankter Patienten, die alle dem ausgeprägten chirurgischen Trauma einer der oben genannten Operationen an einer HLM ausgesetzt waren.

Einschlusskriterien:

- Alter >18 Jahre
- Aufklärung und Einwilligung
- Operation mit HLM (Bypass und/oder Klappenersatz/-rekonstruktion)

Ausschlusskriterien:

- Alter <18 Jahre
- Fehlende Aufklärung und Einwilligung
- Infektion (Leukozytose >12G/l; Leukopenie), PCT >0,5 ng/ml
- Nierenversagen (GFR<30ml/min)
- Leberversagen (Bilirubin >1,2mg/dl)
- Neurodegenerative Erkrankung
- Maligne Erkrankung
- Immuntherapie

Für jeden Patienten können über 6 Zeitpunkte der Blutentnahme 3 Phasen (präoperativ, perioperativ, postoperativ) in der Studie zeitlich unterschieden werden (s.u.). In einer RED-Cap-Datenbank wurden verschiedene, folgend aufgeführte demografische und klinische Parameter erhoben.

Präoperative Phase:

- Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Rauchverhalten, Allergien
- Das Vorliegen von Vorhofflimmern sowie Diabetes Mellitus, Zustand nach Herzinfarkt
- Laborwerte: Hämoglobin, Leukozyten, Erythrozyten, AST, γ GT, Troponin, Creatinkinase, Creatinkinase-MB, Kreatinin, Thrombozyten, Bilirubin sowie C-reaktivem Protein und Procalcitonin dokumentiert.

Perioperative Phase:

- Operationsdauer, ECC-Zeit, Aortenklammzeit, Reperfusionzeit, minimale Körpertemperatur, gesamte Infusionsmenge, Flüssigkeitsbilanz, Urinmenge, mit MAD $<60\text{mmHg}$
- Laborwerte: niedrigster Hämoglobinwert, höchstes Laktat, Nummer an Erythrozytenkonzentraten
- Medikamente: EKs, TKs, FFP, Humanalbumin, Heparin, Protamin, Tranexamsäure, Dauer, Menge an gegebenem Aterenol und Dobutamin

Postoperative Phase:

- Es wurde jeweils der SOFA-Score und die dafür relevanten Parameter erhoben: GCS, Katecholaminnotwendigkeit, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, Kreatinin, Bilirubin, Thrombozyten
- Weiterhin wurden erhoben die Flüssigkeitsbilanz, Dialysenotwendigkeit, Antibiotische Therapie, Nummer an EKs, TKs und FFPs
- Dauer des ICU-Aufenthaltes, Dauer des Krankenhausaufenthaltes, Mortalität im Krankenhaus

Blutentnahmezeitpunkte:

Zeitpunkt 1:	Präoperativ (Anlage Zentraler Venenkatheter)
Zeitpunkt 2:	Postoperativ (Hautnaht)
Zeitpunkt 3:	6 Std Postoperativ
Zeitpunkt 4:	24 Std Postoperativ
Zeitpunkt 5:	3 Tage postoperativ
Zeitpunkt 6:	7 Tage postoperativ

Gruppenbildung:

Die oben erwähnten Kriterien zum Ein- und Ausschluss von Patienten bezogen sich auf die Studie im Allgemeinen. Für die statistische Analyse wurde die Mehrzahl der 113 initial eingeschlossenen Patienten nicht mehr berücksichtigt, da sie in ihrem Verlauf keiner der beiden gebildeten Gruppen SIRS und NON-SIRS klar zuzuordnen waren.

Für die Zuordnung zur SIRS-Gruppe wurde der SOFA-Score herangezogen. Der SOFA-Score wurde in den frühen 1990er Jahren entwickelt, um die akute Morbidität kritisch kranker Patienten besser einschätzen zu können. Eine Veränderung des SOFA-Score von ≥ 3 gilt als definierendes Charakteristikum des Sepsis-Syndrom. Der SOFA-Score umfasst 6 Bereiche (Tabelle 6), in denen bis zu jeweils bis zu 0-4 Punkte vergeben werden können. Diese sind die Vigilanz (unter Rückgriff auf die Glasgow Coma Scale (GCS)), die Lungenfunktion, Kreislauffunktion, die Anzahl der Thrombozyten, sowie die Funktionen von Leber und Niere (Lambden et al., 2019).

Tab. 6: Übersicht über den Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA-Score), modifiziert nach Lambden et al.

PaO₂/FiO₂ in mmHg, Mittlerer arterielle Druck in mmHg, Katecholaminmengen in µg/kg Körpergewicht/min, Thrombozyten in Anzahl x10³ /ml, Bilirubin und Kreatinin in mg/dl

Organsystem	Parameter	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	4 Punkte
Vigilanz	Glasgow Coma Scale	GCS 13-14	GCS 12-10	GCS 6-9	GCS <9
Lungen	PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	<400	<300	<200 mit Beatmung	<100 mit Beatmung
Blutdruck	Mittlerer Arterieller Druck oder benötigte Katecholamine µg/kg/mi	MAD <70 mmHg	Dopamin ≤ 5 oder Dobutamin (dosisunabhängig)	Dopamin >5 oder Epinephrin ≤ 0.1 oder Norepinephrin ≤ 0.1	Dopamin > 15 oder Epinephrin > 0.1 oder Norepinephrin > 0.1
Gerinnung	Thrombozyten x10 ³ /ml	<150	<100	<50	<20
Leber	Bilirubin mg/dl	1.2-1.9	2-5.9	6.0-11.9	>12.0
Nieren	Kreatinin mg/dl	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	>5.0

Für die Eingruppierung in die Gruppe der SIRS-Patienten wurde eine Grenze von einem veränderten SOFA-Score von ≥ 3 24 Std nach Operation festgelegt. Nach dieser klinischen Definition wurden 14 Patienten für die SIRS-Gruppe identifiziert. Außerdem wurden 14 Patienten als Kontrollen ausgewählt, die „unauffällige“ Verläufe mit Verlegung auf die Normalstation am 1. postoperativen Tag, SOFA-Scores von <3 nach 24 Std und sonst keine Auffälligkeiten zeigten. Sie bilden die Gruppe NON-SIRS. Als Definitionszeitpunkt wurde 24 Std postoperativ gewählt, da nach 6 Std der SOFA-Score entweder durch die noch nicht beendete Narkose verfälscht wurde oder Patienten teilweise das SIRS erst im

Laufe der ersten Nacht entwickelten. Zeitpunkt 4 (24 Std) wurde somit als hinreichend robust angesehen.

2.5 Technik der Blutabnahme und Anfärbung der Zellen in Messgruppen

Im Labor wurden das Vollblut für die Durchflusszytometrie mit vorbereiteten Mischungen (Panels) zur Immunphänotypisierung gefärbt. Die Mischungen waren zunächst ausgerichtet auf T-Zellen, Tregs sowie als drittes eine breite Menge verschiedener Zellen (als „7-Colour“ fertig erhältlich). Nach 62 Patienten stand das zuvor genutzte Durchflusszytometer vom Typ MACS Quant 10 nicht mehr zur Verfügung. Übergangweise wurden 9 Patientenproben auf einem LSR II gemessen, bevor ein Attune NXT verfügbar war. Bei der Umstellung auf das LSR II wurden die 3 Panels aufgrund der veränderten Detektoren- und Spiegelanordnung auf 2 neue reduziert. (Panel A und B)

Bei 3 Panels:

Je 3 x 100 µl (später 3 x 50 µl) Vollblut wurden 72 µl (später 36 µl) Fluorochrom-Mischung für Tcells oder Treg cells, beziehungsweise 10 µl (später 5 µl) Fluorochrom-Mischung für die 7-Colour-Immunphänotypisierung hinzugegeben. Die Mischungen wurden 1 Sekunde gevortext und dann 10 Min im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Anschließend wurden je 500 µl (später 250µl) 1:10 verdünnten Red Blood Cell Lysis Solution und 1500 µl (später 750 µl) MACS Quant Storage Solution zugegeben. Die Proben wurden 3 Sek gevortext und dann 8 Min im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Anschließend wurden sie nochmal 1 Sekunde gevortext und 2 Min im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Die Messungen erfolgten aus einem bei 4 °C gekühltem Chill-Rack. Gemessen wurden je 450 µl Suspension im Modus High-Flow-Rate.

Bei 2 Panels:

Je 2 x 50 µl Vollblut wurde 15 µl Fluorochrom-Mischung hinzugegeben und anschließend für 10 Min bei 4 °C unter Lichtabschluss inkubiert.

Danach wurde 1,5 ml Lysispuffer zur Lyse der Erythrozyten hinzugegeben, und 15 Min bei Raumtemperatur ebenfalls unter Lichtabschluss inkubiert. Im Anschluss an die Inkubation wurden die Proben bei 2500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, der Überstand

abdekantiert und das Pellet in 500 μ l Attune Focusing Fluid gelöst. Hiervon wurden 250 μ l bei 25 μ l/min gemessen.

2.6 Auswertung der Ergebnisse der Durchflusszytometrie (FACS)

Die gezeigten Abbildungen sind Messungen auf dem MACS Quant Analyzer 10 entnommen. Die Auswertung wurde mit dem Programm FlowJo (Version 10) vorgenommen. In allen Panels wurde zunächst Side Scatter (Seitwärtsstreulicht, zur Auftrennung nach Granularität) gegen Forward Scatter (FSC, Vorwärtsstreulicht, zur Auftrennung nach Größe) aufgetragen, um Zelltrümmer auszuschließen. Anschließend wurde weiterhin in allen Panels FSC-Hight gegen FSC-Area aufgetragen, um anhand des Zellvolumens Zelldubletten auszuschließen.

Im Tcell-Panel wurde daraufhin SSC gegen CD3 aufgetragen, um die niedriggranulären CD3⁺-T-Zellen zu identifizieren. Diese Population wurde CD4 gegen CD8 aufgetragen, um die Populationen der CD8⁺-T-Zellen und der CD4⁺-T-Zellen darzustellen. Die Population der CD8⁺-Zellen wurde dann CD27 gegen CD38 aufgetragen, um die aktivierten T-Zellen (CD27⁻/CD38⁺) darzustellen, sowie CD45-RA gegen CCR7, um TEM-RA (Effector Memory Cells, (CD45-RA⁺/CCR7⁻), naive T-Zellen (CD45-RA⁺/CCR7⁺), TEM (Effector Memory Cells (CD45-RA⁻/CCR7⁻) und TCM (Central Memory Cells, (CD45-RA⁻/CCR7⁺) darzustellen (Abbildung 1).

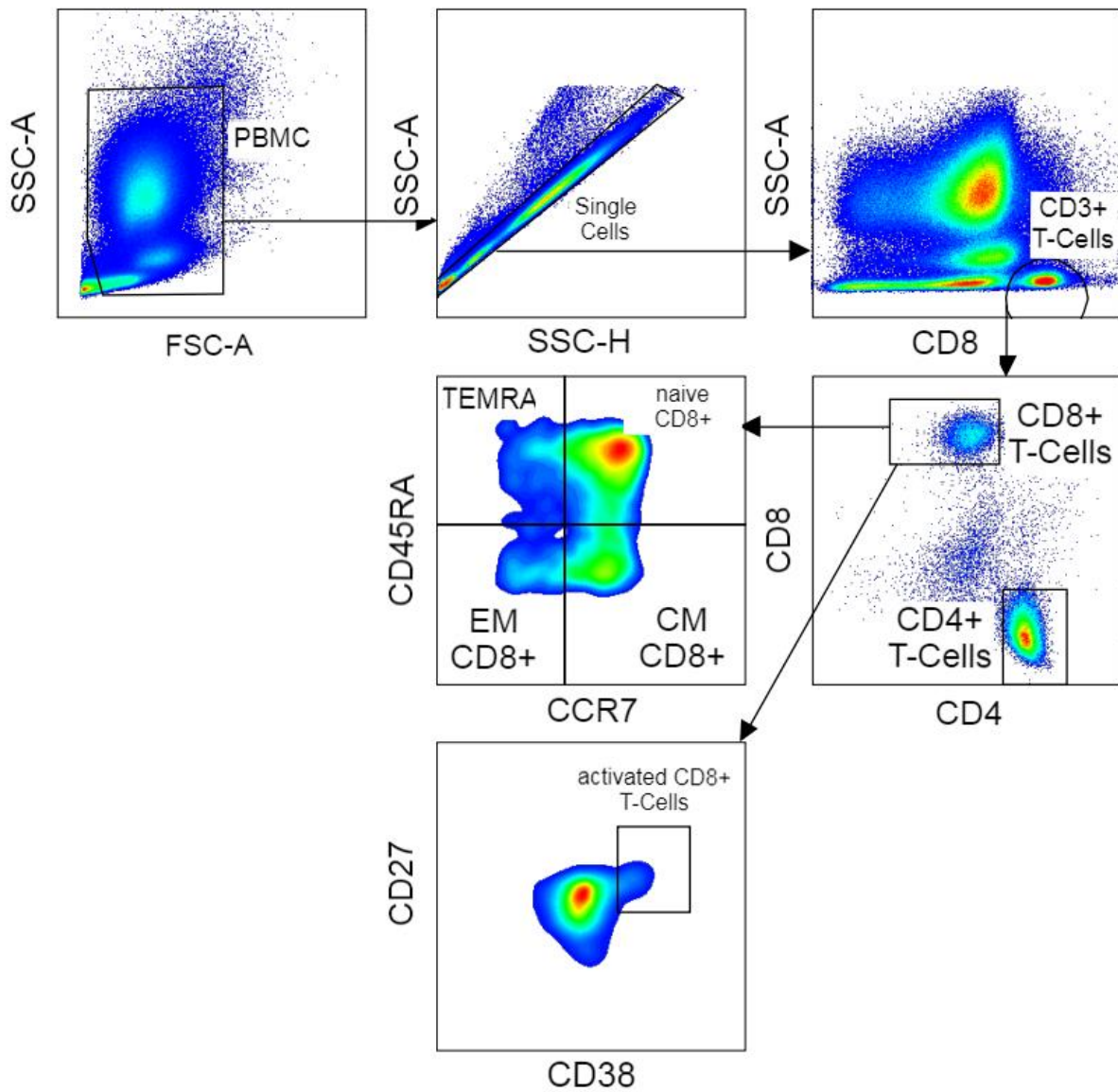


Abb. 1: Darstellung der Gatingstrategie im Tcell-Panel

Im Treg-Panel wurden die Single Cells wie im Tcell-Panel SSC gegen CD3 aufgetragen, und die niedriggranulären $CD3^+$ -T-Zellen wurden auch hier CD8 gegen CD4 aufgetragen. Die $CD8^-/CD4^+$ -Zellen wurden CD127 gegen CD25 aufgetragen, um die Regulatorischen T-Zellen (Treg, $CD127^-/CD25^+$) zu definieren. Diese Population wurde dann CD45-RA gegen CD127 aufgetragen, um die Unterteilung der Tregs in ruhende Tregs ($CD45-RA^+/CD127^-$) und aktivierte Tregs ($CD45-RA^-/CD127^-$) zu treffen (Abbildung 2).

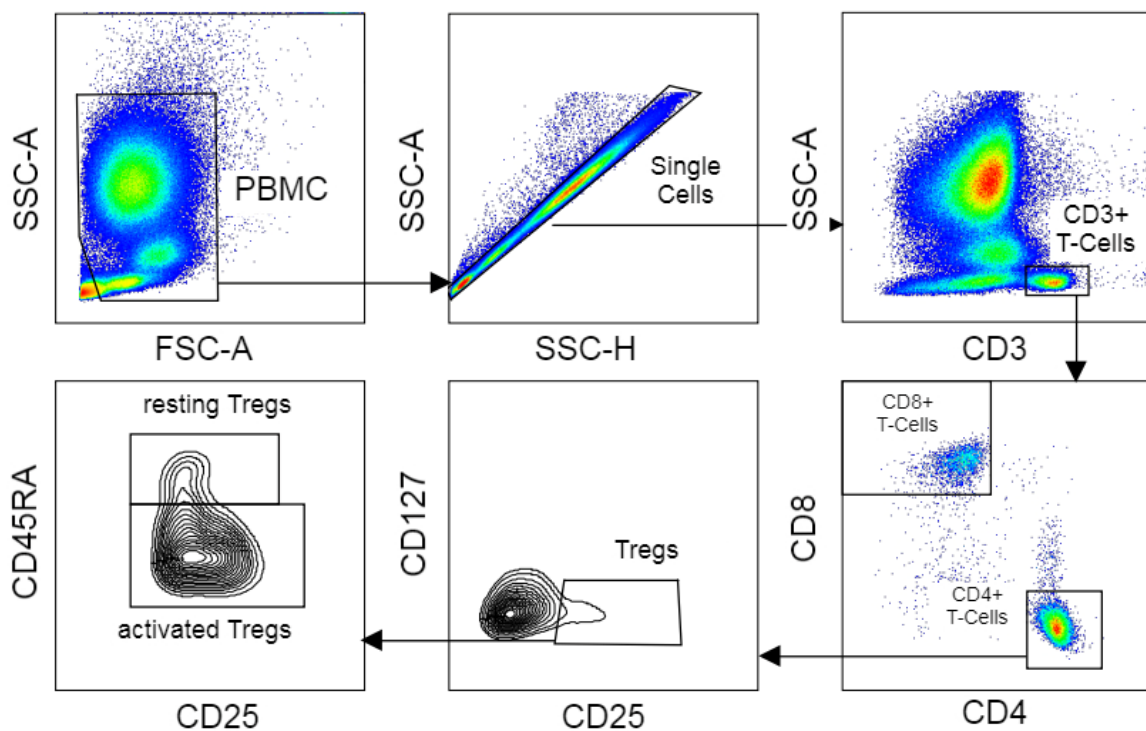


Abb. 2: Darstellung der Gating-Strategie im Treg-Panel

Im 7colour-Panel wurden aus den Single Cells mit einer Auftragung von SSC gegen CD45 alle $CD45^+$ -Zellen als Leukozyten definiert. Die $CD45^+$ -Zellen wurden mittels FSC-A und SSC-A in drei Gruppen separiert (Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten). Die Granulozyten wurden SSC-A gegen CD56/CD16 aufgetragen und die $CD56^+/CD16^+$ -Granulozyten separiert. Die Monozyten wurden CD56/CD16 gegen CD14 aufgetragen, um mit die $CD14^-/CD56^-/CD16^-$ -Zellen auszuschließen. Die Lymphozyten wurden CD56/CD16 gegen CD3 aufgetragen, um NK-Zellen ($CD56^+/CD16^+/CD3^-$), NKT-Zellen ($CD56^+/CD16^+/CD3^+$), B-Zellen ($CD56^-/CD16^-/CD3^-$) und T-Zellen ($CD56^-/CD16^-/CD3^+$) zu differenzieren.

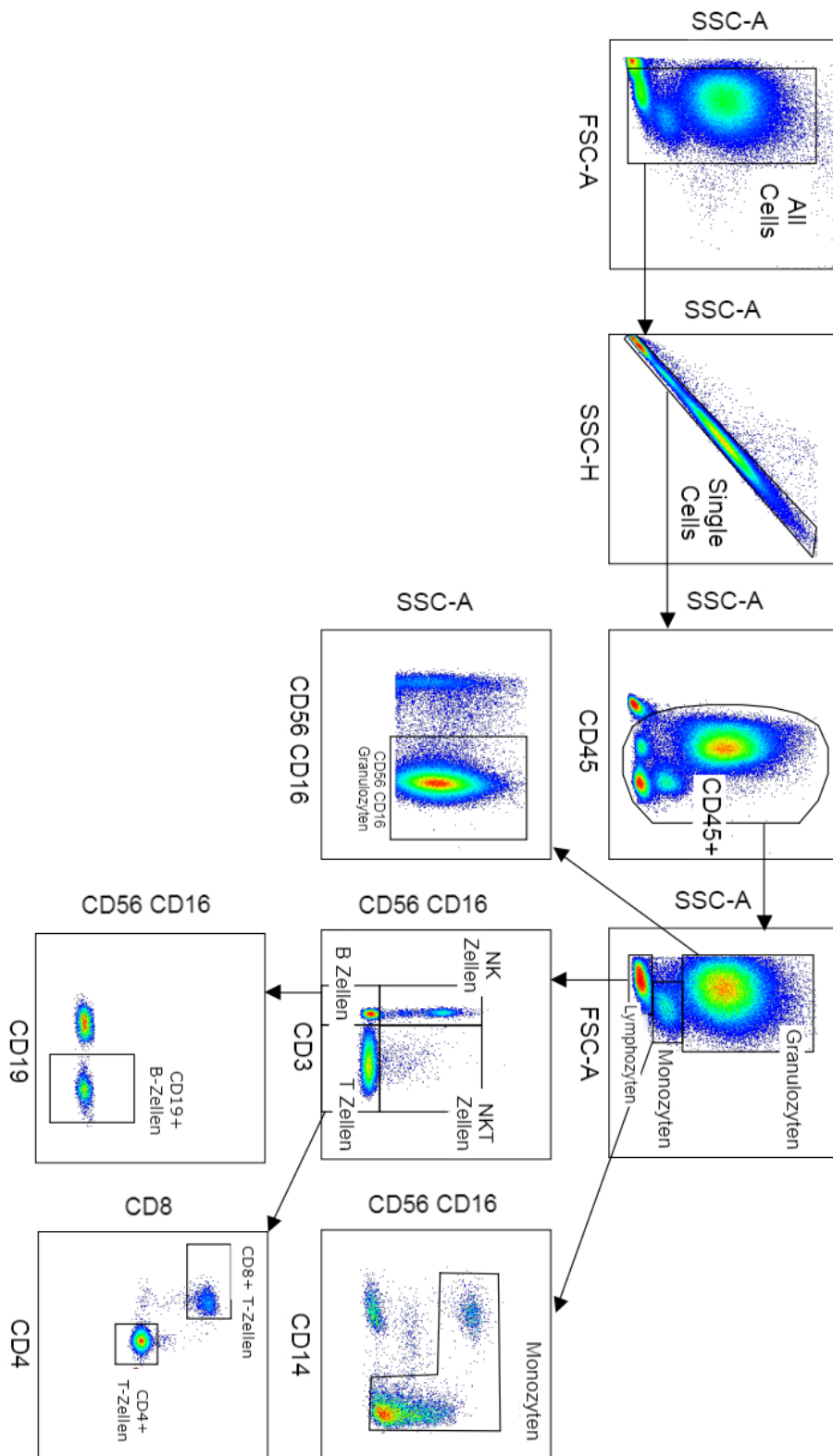


Abb. 3: Darstellung der Gatingstrategie im 7-Colour-Panel

2.7 Statistik

Die Statistische Auswertung wurde unter Beratung und Anleitung durch Dr. rer. nat. Christian Staerk (Institut für Medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie - UKB) und in einem zweiten Schritt Alexandru Odainic M.Sc. (Institut für angeborene Immunität - UKB) erstellt. Die statistische Auswertung und die Graphen der klinischen Daten wurden mit Hilfe der Programme Microsoft Office Excel und Prism erstellt. Die Auswertung der FACS-Daten erfolgte ebenfalls mithilfe von Prism. Als Signifikanz anzeigenden p-Wert wurde grundsätzlich $p < 0,05$ gewählt. Verwandt wurde der Mann-Whitney-U-Test, da aufgrund des kleinen Patientenkollektivs keine Normalverteilung angenommen werden konnte.

3. Ergebnisse

3.1 Klinische Daten

3.1.1 Epidemiologie und prä- sowie intraoperative Werte

Nachdem die Gruppen eingeteilt wurden war der erste Schritt zu beweisen, dass diese Einteilung keine unterschiedlichen Ausgangslagen verglich. Dazu wurde in allen Analysen der zweiseitige p-Wert betrachtet. Die H_0 -Hypothese war dementsprechend, dass die Gruppen sich nicht voneinander unterscheiden, also klinisch und epidemiologisch keine Prädisposition abzuleiten war (Tabelle 7).

Tab. 7: Vergleich der Epidemiologischen Parametern zwischen SIRS- und Kontrollpatienten. SIRS n=14, NON-SIRS n=14. Angegeben sind der Mittelwert (Standardabweichung) bzw. das Vorhandensein bei binär verteilten Variablen.

	SIRS	NON-SIRS
Alter	68 (66-73)	64 (54,5-72,25)
Geschlecht (w)	5 (35,71 %)	2 (14,29 %)
Allergie	3 (21,43 %)	2 (14,29 %)
Diabetes Mellitus	4 (28,75 %)	1 (7,14 %)
Z.n. Myokardinfarkt	1 (7,14 %)	2 (14,29 %)
Vorhofflimmern	2 (14,29 %)	3 (21,43 %)
Body Mass Index (BMI)	28	27,28

Tab. 8: Vergleich verschiedener Laborwerte präoperativ. SIRS n=14, NON-SIRS n=14. Angegeben sind stets der Mittelwert (Standardabweichung).

	SIRS	NON-SIRS
Hämoglobin (Hb) (g/dl)	13,67 (\pm 1,79)	14,67 (\pm 1,66)
Leukozyten (G/l)	7,31 (\pm 1,75)	7,4 (\pm 1,43)

Außerdem wurden die präoperativen Hb- und sowie Leukozytenwerte verglichen (Tabelle 8). Bei allen binären Variablen wurde Fishers Exakter Test verwandt, hier war jeweils keine Signifikanz nachweisbar und von vergleichbaren Gruppen konnte weiter ausgegangen werden. Für alle oben genannten stetigen Variablen wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Es konnte bei fehlender Signifikanz von vergleichbaren Gruppen ausgegangen werden.

Tab. 9: Vergleich intraoperativer Werte. SIRS n=14, NON-SIRS n=14. Angegeben sind der Mittelwert (Standardabweichung) bzw. das Vorhandensein der Gaben.

	SIRS	NON-SIRS	
OP Dauer (min)	333,6±107,49)	271,36 (±68,43)	p=0,18
ECC-Dauer (min)	150,93 (±57,62)	131,86 (±54,43)	p=0,223
Klemmzeit (min)	94,86 (±35,25)	85,14 (±29,46)	p=0,312
Temperatur minimal	33,49 (±1,1)	33,65 (±0,72)	p=0,610
Hb minimal (g/dl)	9,55 (±1,29)	9,8 (±1,53)	p=0,643
MAD<60 (min)	98,36 (±65,48)	96,79 (±38,56)	p=0,659
Noradrenalin (µg/kg/min)	0,1 (±0,1)	0,07 (±0,04)	p=0,722
Dobutamin (µg/kg/min)	0,84 (±0,5)	0,91 (±0,54)	p=0,643
Erythrozytenkonzentrate	6 (42,9 %)	1 (7,14 %)	p=0,08
Fresh Frozen Plasma	2 (14,3 %)	1 (7,14 %)	p=0,5
Thrombozytenkonzentrate	2 (14,3 %)	1 (7,14 %)	p=0,5

Anschließend wurden die perioperativen Daten verglichen, um auch hier mögliche operationsbedingte Gründe für die Entwicklung eines SIRS ausschließen zu können. Auch kam für alle stetigen Variablen der Mann-Whitney-U-Test zu Einsatz. Für keine der oben aufgeführten Variablen zeigte sich in einem der Tests ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Für die binären Variablen wurde erneut Fishers Exakter Test bemüht. Auffälligster Parameter der perioperativen Daten war dabei die OP-Dauer, die sich auf den

ersten Blick mit im Mittelwert 333 min (SIRS) gegen 271 min (NON-SIRS) unterschied. Der Mann-Whitney-U-Test ergab jedoch einen p-Wert von 0,18. Bei keinem der eingeschlossenen Patienten kam es darüber hinaus zu relevanten, intraoperativen Komplikationen wie unerwünschten Myokardverletzungen oder größeren Gefäßperforationen.

3.1.2 SOFA-Score

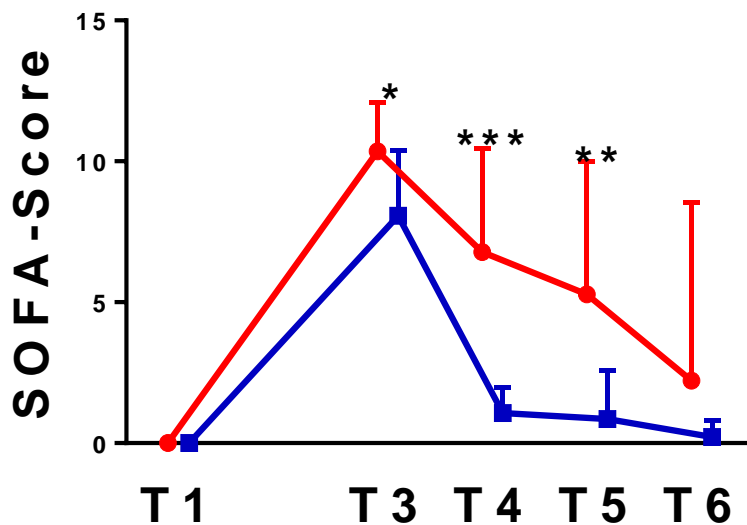


Abb. 4: Darstellung des SOFA-Scores (Mittelwerte) über die Zeit. SIRS n=14, rot, Punkte, NON-SIRS n=14, blau, Quadrate. Für jeden Zeitpunkt vertikal dargestellt ist die Standardabweichung.

Signifikanz * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,005$, *** = $p < 0,001$

Der SOFA-Score diene als objektives Kriterium für ein SIRS. Zum Vergleich der SOFA-Scores zwischen SIRS- und Kontrollpatienten wurden der Mann-Whitney-U-Test verwendet. An T1 hatten alle Patienten einen Score von 0, an T2 wurde kein SOFA-Score erhoben, da alle Patienten noch intubiert und beatmet waren. Es zeigte sich für T3 (SOFA-Score 10 (SIRS) vs. 8 (NON-SIRS), $p=0,009$), T4 (SOFA-Score 7 (SIRS) vs. 1 (NON-SIRS), $p < 0,001$) und T5 (SOFA-Score 5 (SIRS) vs. 1 (NON-SIRS), $p < 0,001$) ein signifikanter Unterschied (Abbildung 4).

3.1.3 Postoperativer Verlauf

Postoperativ wurde die Notwendigkeit der Transfusion von EKs, FFP und TKs im Verlauf der ersten 7 Tage nach der Operation per Fisher Test verglichen. Die Transfusion von

Blutkomponenten, insbesondere EKs, ist mit einer Verschlechterung des Outcomes (s.o.) assoziiert. Es zeigte sich, dass sich die Anzahl von Patienten, die postoperativ EKs erhielten ($p=0,04$), anders als intraoperativ signifikant zwischen den Gruppen unterschied (Tabelle 10).

Tab. 10: Vergleich der Gabe von Blutkonserven in den ersten 7 Tagen postoperativ. SIRS $n=14$, NON-SIRS $n=14$.

	SIRS	NON-SIRS	
Erythrozytenkonzentrate im Verlauf	8	2	$p=0,046$
Fresh Frozen Plasma im Verlauf	2	1	$p=1,0$
Thrombozytenkonzentrate im Verlauf	2	1	$p=1,0$

Im Weiteren wurden folgende Laborwerte, soweit sie während des Klinikaufenthaltes erhoben wurden, an den Zeitpunkten T3 bis T6 verglichen: Troponin T, Creatinkinase (CK), CK-MB sowie Leukozyten. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zeigte sich lediglich für die Leukozytenzahlen an T4 (12,53 vs. 9,86, $p=0,043$, nicht dargestellt).

Für die Dauer des gesamten Krankenhausaufenthaltes wie auch für die Aufenthaltstage auf der Intensivstation zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Im Krankenhaus verbrachten SIRS-Patienten im Mittel 18,8 Tage gegenüber den Kontrollpatienten 15,4 Tage ($p=0,046$), auf der ICU standen 3,7 Tagen (SIRS) 1,3 Tage (NON-SIRS) gegenüber ($p=<0,0001$, Abbildung 5).

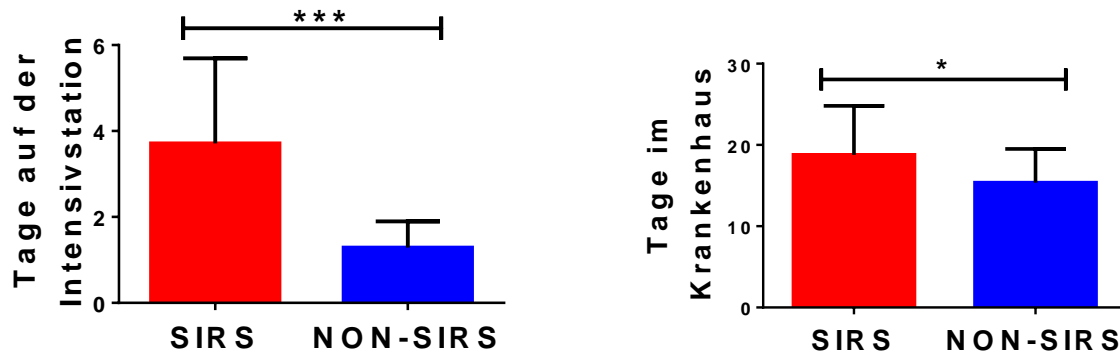


Abb. 5: Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation und im Krankenhaus. SIRS n=14, NON-SIRS n=14. Dargestellt sind die Mittelwerte mit der Standardabweichung. Signifikanz * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,005$, *** = $p < 0,001$

Für Patienten mit SIRS sind positive Flüssigkeitsbilanzen belegt (Westphal und Kampmeier, 2015). Entsprechend zeigte sich bei der Flüssigkeitsbilanz ebenfalls ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$, 4311 vs. 1655ml, Abbildung 6).

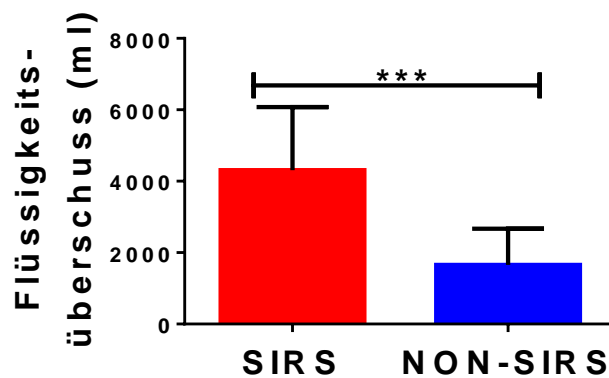


Abb. 6: Die Flüssigkeitspositivbilanz nach 24 Std. SIRS n=14, NON-SIRS n=14. Dargestellt sind die Mittelwerte mit der Standardabweichung. Signifikanz * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,005$, *** = $p < 0,001$

Die Mortalität zwischen den Gruppen unterschied sich bei einem Todesfall in Gruppe SIRS gegen 0 Fälle in Gruppe NON-SIRS in Fishers Exaktem Test nicht signifikant ($p=0,5$).

3.2 Ergebnisse der FACS-Messungen

Von besonderem Interesse war die Verteilung der Leukozytensubpopulationen zu Zeitpunkt T1. Vorrangiges Ziel dieser Studie war, anhand dieser Verteilungsmuster bereits präoperativ das individuelle Risiko hinsichtlich der Entwicklung eines SIRS einschätzen zu können. Weiterhin war ein Ziel, die Entwicklung der Anteile der Subpopulationen zu beobachten, um mögliche Korrelationen mit klinischem Outcome aufzeigen zu können.

Für die Auswertung der FACS-Daten wurden stets prozentuale Werte, in Bezug auf die Gesamtheit der einzelnen Zellen errechnet, zwischen den Gruppen SIRS und NON-SIRS verglichen. Da sich im Nachhinein herausstellte, dass die Messungen der verschiedenen FACS-Geräte aufgrund technischer Unterschiede schwer miteinander kombinierbar waren, wurden die hier vorgestellten Ergebnisse auf die auf dem MACS-Quant 10 gemessenen Daten beschränkt, auf dem auch die meisten der ausgewählten Patienten gemessen worden waren. Die mangelnde Vergleichbarkeit der FACS-Geräte zeigte sich in der Auswertung darin, dass die Populationen deutlich pro Gerät Cluster bildeten, jedoch unabhängig von einer Gruppenzugehörigkeit. Dies reduzierte die Gruppen auf 8 (SIRS) beziehungsweise 11 (NON-SIRS) Patienten. Die folgende Tabelle zeigt die üblichen Prozentwerte, mit denen die untersuchten Zellen im Blut zirkulieren.

Tab. 11: Normwerte im Blut zirkulierender Immunzellen in Prozent. Modifiziert nach STEMCELL (STEMCELL Technologies Inc.)

Zelltyp	Monozyten	NK-Zellen	cDCs	pDCs	T-Zellen
Prozent der Leukozyten	2-12 %	1-6 %	0,3-0,9 %	0,2-0,6 %	7-24 %
Zelltyp	Tregs	B-Zellen	CD8 ⁺ -T-Zellen	naive CD8 ⁺ -T-Zellen	CD4 ⁺ -T-Zellen
Prozent der Leukozyten	0,1-0,7 %	1-7 %	2-11 %	0,4-2,6 %	4-20 %

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten sich präoperativ (T1) für die CD19⁺-B-Zellen (SIRS 5,1 % vs. NON-SIRS 3,2 %, Abbildung 7), für den postoperativen Zeitpunkt T2 für NK-Zellen (SIRS 3,9% vs. NON-SIRS 2,5 %, Abbildung 8) und Monozyten (SIRS 5,4 % vs. NON-SIRS 2,9 %, Abbildung 8). Zu anderen Zeitpunkten oder für andere Zellpopulationen war zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied nachzuweisen.

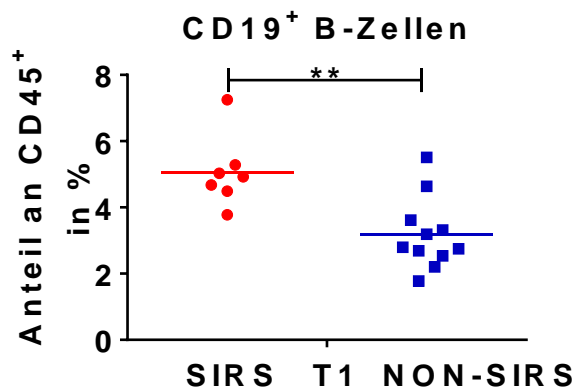


Abb. 7: CD19⁺-B-Zellen an Zeitpunkt T1. SIRS n=7, rot, NON-SIRS n=11, blau. Dargestellt ist der Anteil an den CD45⁺-Zellen in Prozent. Signifikanz * = p<0,05, ** = p<0,005, *** = p<0,001

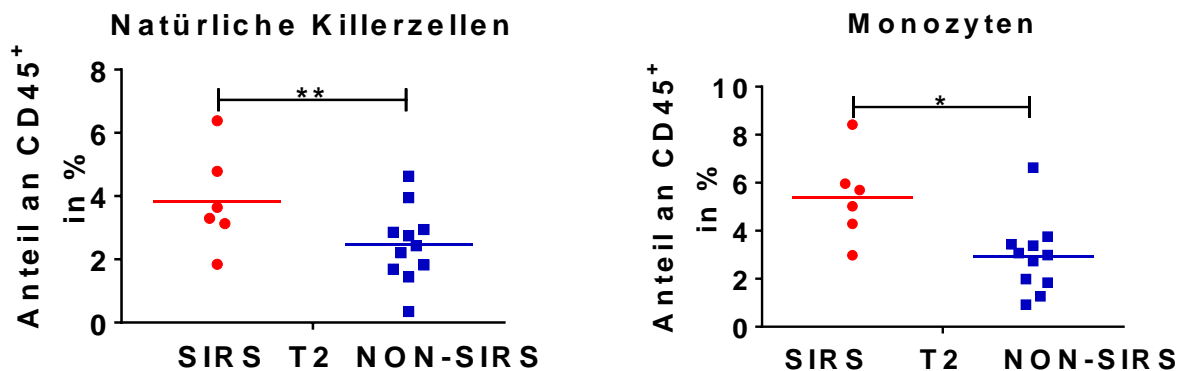


Abb. 8: NK-Zellen und Monozyten an Zeitpunkt T2. SIRS n=6, rot, NON-SIRS n=11, blau. Dargestellt ist der Anteil an den CD45⁺-Zellen in Prozent. Signifikanz * = p<0,05, ** = p<0,005, *** = p<0,001

In Betrachtung der beiden Testgruppen über die Zeit fielen mehr signifikante Unterschiede auf:

Bei SIRS- (als auch NON-SIRS-) Patienten zeigte sich eine generelle Reduktion CD19⁺-B-Zellen von T1 vs. T2 (T1 5,1 % vs. T2 3,1 %) unabhängig vom Auftreten eines SIRS, wobei sich die Population der B-Zellen ab T3 auf das Maß der Werte vor OP annäherte (Tabelle 12).

Für Monozyten konnte im Vergleich in beiden Kohorten eine sinkende Anzahl an T2 gegenüber T1 beobachtet werden. An T2 waren insbesondere die Anzahl der Monozyten in der Kontrollgruppe signifikant reduziert gegenüber der Gruppe der SIRS-Patienten (SIRS 5,4 % vs. NON-SIRS 3 %, Abbildung 8). Für beide Patientenkohorten konnte ein Ansteigen der Monozyten Population ab T3 beobachtet werden (Tabelle 12).

Auch NK-Zellen fielen bei NON-SIRS-Patienten von T1 (3,2 %) an kontinuierlich (T3 1,4 %, T4 1,3 %, T6 1,1 %), wobei SIRS-Patienten einen ähnlichen Trend an verringerter Häufigkeit von NK-Zellen aufwiesen, jedoch begann dieser Trend erst ab T3 (Tabelle 12).

Eine deutlich gegenläufige Dynamik zeigte die Population der Granulozyten im peripheren Blut von NON-SIRS-Patienten über einen zeitlichen Verlauf von 7 Tagen (T1 – T6, Tabelle 13): Die Anzahl der CD56⁺/CD16⁺-Granulozyten stieg von T1 (65,12 %) bis T4 zunächst an (T2 72,67 %, T3 74,53 %, T4 80,93 %) um zu T5 (77,03 %) und T6 (78,73 %) weiter erhöht zu bleiben, stets signifikant verändert zu T1. Einen ähnlichen Trend (jedoch nicht signifikant zu den T1 und auf deutlich geringerem Niveau) wies die Granulozytenhäufigkeit im peripheren Blut von SIRS-Patienten auf.

Tab. 12: Darstellung der Mittelwerte von CD19⁺-B-Zellen, Monozyten und NK-Zellen über die Zeit in Prozent

	Mittelwerte	T1	T2	T3	T4	T5	T6
CD19 ⁺ -B-Zellen	SIRS	5,1	3,1	2,5	3,7	3	3,4
	NON-SIRS	3,2	2	1,8	1,8	2,4	1,8
Monozyten	SIRS	7,6	5,4	8,4	10,2	5,9	6
	NON-SIRS	8,2	3	7,7	6,8	6	7,6
NK-Zellen	SIRS	3,8	3,8	2,5	2	1,9	2,3
	NON-SIRS	3,2	2,5	1,4	1,3	1,8	1,1

Die Häufigkeit der T-Zellen reduzierte sich von T1 (11,8 %) zu T4 (4 5,81 %), der Anteil der CD4⁺-T-Zellen stieg von 4,27 % (T1) auf 7,04 % (T6). Hingegen reduzierte sich der Anteil der CD8⁺-T-Zellen, an T1 (3,17 %) lag dieser noch in der Norm (Tabelle 11), zu späteren Zeitpunkten jedoch stets signifikant niedriger (T4 0,61 %, T5 0,75 %, T6 0,55 %). Diese Reduktion zirkulierender Zellen lässt sich bei den CD8⁺-T-Zellen auch von T2 (2,49 %) zu T4 und T6 beobachten (T4 0.61 %, T6 0,55 %). Die Anzahl aktivierter T-Zellen sank von T1 zu T5 (1,19 % zu 0,21 %). Die Häufigkeit von Central Memory T-Zellen waren an T1 noch mit 5,81 % nachweisbar, zu T2 nur noch mit 4,42 % und zu T5 mit 1,92 %. Der Anteil von Effector Memory T-Zellen schrumpfte ebenfalls im Vergleich zwischen T1 (2,79 %) zu T5 und T6 (0,79 % und 0,57 %), sowie von T2 (2,18 %), verglichen mit T6 (alle genannten Tabelle 13).

Der Anteil Tregs stieg von T1 auf T3 (0,60 % auf 1,67 %, Tabelle 13).

Tab. 13: Mittelwerte weiterer Zellpopulationen (Anteil an Leukozyten in Prozent)

	Mittelwerte	T1	T2	T3	T4	T5	T6
CCD56 ⁺ /CD16 ⁺ -Granulozyten	SIRS	57	67	71,9	71	76,1	63,8
	NON-SIRS	65,1	72,7	74,5	80,1	77	78,7
T-Zellen	SIRS	18,2	13,3	7,7	7,6	6,5	12,4
	NON-SIRS	11,9	13,8	8,1	5,8	8,8	6,4
CD4 ⁺ -T-Zellen	SIRS	12,5	9,1	5,4	5,2	4,2	9,1
	NON-SIRS	7,3	10,5	6,2	5	7,7	5,6
CD8 ⁺ -T-Zellen	SIRS	4,5	3,4	2	2,1	2	2,9
	NON-SIRS	3,2	2,5	1,4	0,6	0,8	0,6
aktivierte T-Zellen	SIRS	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6
	NON-SIRS	1,2	0,5	1,3	1,1	0,2	0,5
Central Memory T-Zellen	SIRS	8,1	7	6,1	5,7	7,5	6,4
	NON-SIRS	5,8	4,4	4	3,5	1,9	2,8
Effector Memory T-Zellen	SIRS	3,4	2,8	2,5	2,6	2,7	3,2
	NON-SIRS	2,8	2,2	2,3	1,2	0,8	0,6
regulatorische T-Zellen	SIRS	0,4	0,5	0,7	0,2	0,3	0,6
	NON-SIRS	0,6	1	1,7	0,6	0,4	1,1

Lediglich folgende Populationen zeigten zu bestimmten Zeitpunkten dabei Abweichungen zur normalen Vorkommensspanne in gesunden Patienten:

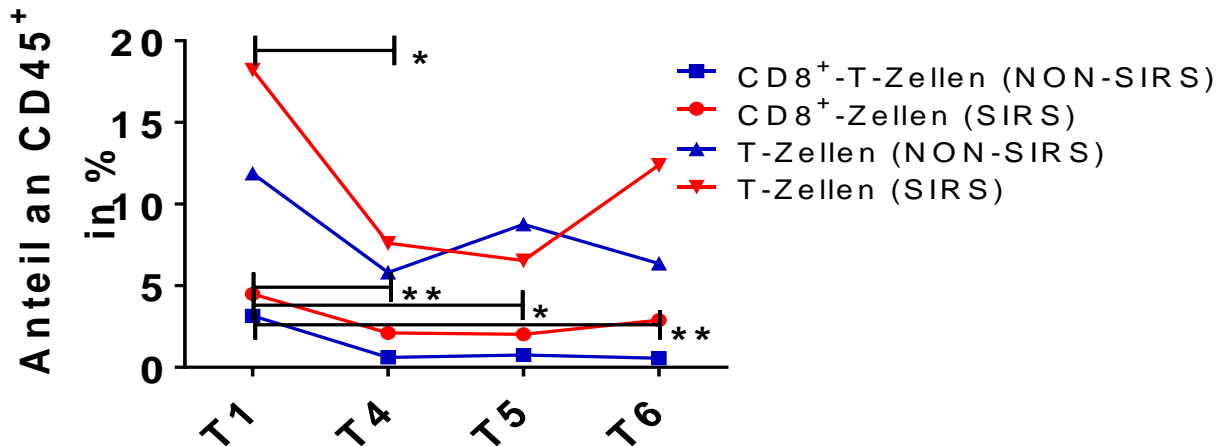


Abb. 9: T-Zellen und CD8⁺-T-Zellen über die Zeit, die Zeitpunkte T4, T5, T6 im Vergleich zu T1. Dargestellt ist der Anteil an den CD45⁺-Zellen in Prozent. Signifikanz * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,005$, *** = $p < 0,001$

T-Zellen (Norm 7-24 %, Tabelle 11) kamen bei SIRS-Patienten an Zeitpunkt T5 unter der Norm (6,5 %) vor, bei NON-SIRS-Patienten an den Zeitpunkten T4 und T6 (5,8 % und 6,4 %). CD8⁺-T-Zellen (Norm 2-11%, Tabelle 11) waren bei NON-SIRS-Patienten an den Zeitpunkten T3-6 seltener als in der Norm vorkommend (T3 1,4 %, T4 0,6 %, T5 0,8 %, T6 0,6 %, Abbildung 9). Bei NON-SIRS-Patienten war der Anteil Tregs (Norm 0,1-0,7 %) an CD3⁺-Zellen an T2 (1 %), T3 (1,7 %) und T6 (1,1 %) über die Norm erhöht. Bei allen anderen Zellpopulationen, auch am präoperativen Zeitpunkt, zeigten sich die Mittelwerte der Zellpopulationen innerhalb der normwertigen Vorkommen.

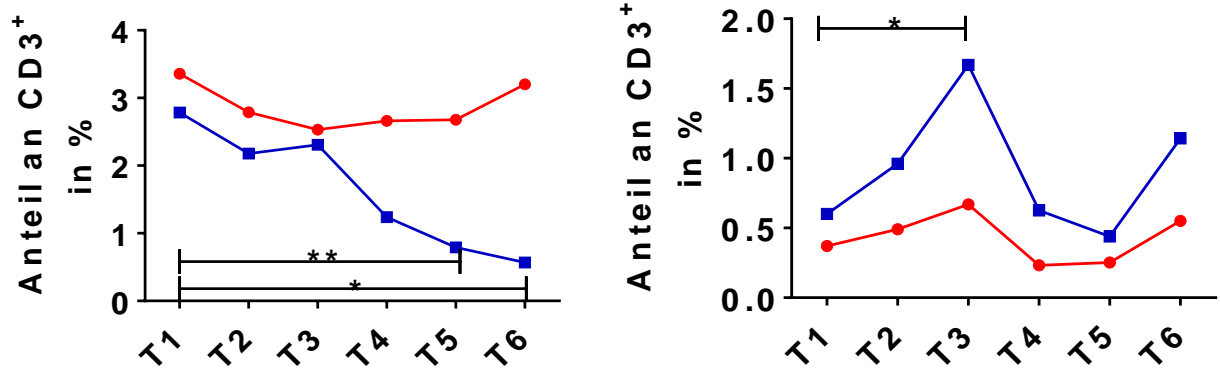


Abb. 10: EMs (links) und Tregs (rechts) über die Zeit. Dargestellt ist der jeweilige Anteil an den CD3⁺-Zellen in Prozent. SIRS = rot, NON-SIRS = blau
 Signifikanz * = p<0,05, ** = p<0,005, *** = p<0,001

4. Diskussion

4.1 Diskussion der Methodik

Die für das Kollektiv ausgewählten Patienten unterzogen sich elektiven Operationen am offenen Herzen unter Einsatz der HLM. Aufgrund der Operationsdauer, dem Kontakt des Blutes mit den Kanülen der HLM und der daher notwendigen Antikoagulation gelten diese Operationen als die größten Traumata, die routinemäßig Patienten zugemutet werden. Die genannten Faktoren begünstigen die Entwicklung von Organdysfunktionen, hämodynamischer Instabilität und Inflammation (Murphy und Angelini, 2004). Explizit wurde daher auch auf die Inklusion von Patienten verzichtet, die ohne HLM mittels Off-Pump-Coronary Artery Bypass (OPCAB) operiert wurden, da sich für dieses Verfahren ein geringeres Trauma mit entsprechend geringerem Transfusionsbedarf und kürzerem Intensivaufenthalt zeigen ließ (Ascione et al., 2000). So wurde versucht, die Operationen vergleichbar belastend zu halten. Gewebstraumata bewirken die Abgabe von Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs) in die Blutbahn, wobei die Schwere der Gefäßverletzung mit der abgegebenen Menge an DAMPs korreliert, und diese wiederum mit der Stärke der Immunreaktion (Vourc'h et al., 2018).

Es wurde weiterhin versucht, den präoperativen Immunstatus der Patienten vergleichbar zu halten. Da davon ausgegangen wurde, dass Erkrankungen autoimmuner oder maligner Art eine Vergleichbarkeit erschwerende Immunprädisposition hervorrufen würden, wurden so diagnostizierte Patienten nicht berücksichtigt. Diese Annahme wird unterstützt von der Beobachtung, dass Patienten mit Malignomen ein höheres Risiko für eine systemische Immunreaktion haben. Dies scheint abhängig von der Art des Malignoms und Faktoren wie dem Grad der Metastasierung zu sein (Zhang et al., 2021). Hinsichtlich der Entwicklung eines postoperativen SIRS von Patienten mit Autoimmunerkrankungen liegen bisher kaum Daten vor. Ob somit davon ausgegangen werden kann, dass ein potentiell höheres Risiko auch für die Entwicklung eines SIRS besteht, ist dennoch bisher unklar.

Zur Einschätzung des Krankheitsverlaufes der Patienten wurde der SOFA-Score gewählt. Die SIRS-Kriterien alleinig sind zur Einschätzung nicht ausreichend, da die durch sie bewerteten Organfunktionskriterien durch die Operation und den ICU-Aufenthalt moduliert

werden (müssen). Sowohl die Körpertemperatur als auch die Leukozytenzahlen sind grundsätzlich nach Operationen an der HLM verändert (Börgermann et al., 12/29/2020 12:36:45), die Atemfrequenz wird bei beatmeten Patienten vorgegeben und die Herzfrequenz durch Katecholamine, Infusionstherapie und ggf. Herzschrittmacher beeinflusst. Somit ist dieser Maßstab nicht geeignet. Es existieren neben dem SOFA-Score alternative Tests zur Einschätzung einer Organdysfunktion wie APACHE II/III oder SAPS. In ihrer nicht auf SIRS zentrierten Übersichtsarbeit zeigten Minne et al., dass zur Mortalitätsprädiktion hier keine relevanten Unterschiede zwischen den Tests bestehen. Außerdem zeigten sie, dass der SOFA-Score im Allgemeinen ein zur Prädiktion von Mortalität auf Intensivstationen ein geeignetes Instrument ist. Der Score wurde in den untersuchten Studien jedoch nicht nur auf herzoperierte Patienten angewandt, sondern allgemein auf Patienten, die auf Intensivstationen verlegt wurden (Minne et al., 2008). In den Sepsis-3 Kriterien wurde der SOFA-Score bei einer Änderung von 2 oder mehr als Hinweis gewertet, dass Organdysfunktion vorliege (Singer et al., 2016). Diese bezogen sich allerdings wie oben beschrieben auf Sepsis-Patienten, da SIRS als eigenes Krankheitsbild nicht mehr genannt wurde. Aus diesen beiden Gründen wurde der SOFA-Score unter den möglichen Evaluationssystemen für die Studie ausgewählt. Allerdings kann argumentiert werden, dass auch bei einem sterilen SIRS der SOFA-Score anwendbar ist, unabhängig vom Auslöser der bestehenden Organdysfunktion.

4.2 Diskussion der klinischen Ergebnisse

Grundlegende Annahme für die übergeordnete Studie war, dass die Entwicklung eines SIRS mehr von der individuellen Immunreaktivität des Patienten abhängig ist als vom Ausmaß der durchgeführten Herzoperation und der Zeit an der HLM. Trotz der längeren OP-Dauer von im Mittel ca. 1 Std. (SIRS 333 vs. NON-SIRS 271 min, Tabelle 9) war diese letztlich nicht signifikant. Eine vergleichbare Beobachtung machten bereits Walker et al., die ebenfalls keinen Unterschied in der OP-Dauer zwischen SIRS-Patienten und der Kontrollgruppe feststellen konnten (Walker et al., 2020).

Der SOFA-Score als wichtigster trennender Parameter zeigte sich zwischen den Gruppen zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedlich, postoperativ ab 6 Std. bis zum 3. Tag signifikant. Dies unterstützt erneut die in dieser Studie gewählte Gruppeneinteilung. Der

SOFA-Score zeigte in anderen Arbeiten jedoch auch prognostischen Wert. Li et al. zeigten, dass sich Patienten nach Herzoperationen bereits in dem während der Aufnahmeuntersuchung erhobenen SOFA-Score unterschieden, wobei die Gruppen in später Überlebende und nicht Überlebende eingeteilt wurden (Li et al., 2018). Jiang et al. untersuchten 2018 ebenfalls, wie veränderte SOFA-Scores mit Mortalität zusammenhängen. Aus verschiedenen Studien berechneten sie ein Mortalitätsrisiko von 4,6% bei einem SOFA-Score von ≥ 2 , wobei die Spanne zwischen 3,9 % und 14,6 % betrug (Jiang et al., 2018). Im Falle der in dieser Arbeit untersuchten Patientengruppen gab es unter den SIRS-Patienten einen Todesfall während des Krankenhausaufenthaltes (1 von 14, 7,1 %). Aufgrund der geringen Zahl der betrachteten Patienten ($n=28$) sind diese Zahlen mit denen der oben genannten zitierten Studien ($n=879 - 24.154$) kaum zu vergleichen. Insgesamt kann der Anteil von SIRS an der Mortalität auf ICUs nicht unterschätzt werden. Taniguchi et al. verglichen die Mortalitäten von SIRS- gegenüber NON-SIRS-Patienten auf einer gemischt internistisch-chirurgischen ICU und errechneten eine Mortalität von 16,9 vs. 8,1 % (Taniguchi et al., 2017). Über 3/4 ($n=95/125$) der Todesfälle in ihrer Studie betrafen SIRS-Patienten

In der hier vorgelegten Dissertation wurde ein deutlicher Unterschied ($p<0,001$) zwischen der Aufenthaltsdauer der Patienten auf der Intensivstation von 3.5 Tagen (SIRS) und 1.0 Tagen (NON-SIRS) identifiziert. Dieser Zusammenhang von erhöhtem SOFA-Score und der längeren Aufenthaltsdauer wurde bereits von Raith et al. beschrieben, die eine Übersichtsarbeit mit Daten von 182 Intensivstationen aller Fachrichtungen vorlegten (Raith et al., 2017). Bei einem Unterschied im SOFA-Score von mindestens 2 Punkten stieg die Wahrscheinlichkeit für einen um 3 Tage längeren Aufenthalt auf der ICU an. Auch Lindman et al. beobachteten einen längeren Aufenthalt herzoperierter SIRS-Patienten auf der ICU und im Krankenhaus generell (Lindman et al., 2015). Sie zeigten außerdem die häufigere Notwendigkeit für den Einsatz einer intraaortalen Ballonpumpe und das gehäufte Auftreten akuten Nierenversagens. Die Aufenthaltsdauer auf der ICU ist von klinischer Relevanz: Bereits vor über 25 Jahren konnte belegt werden, dass mit längerem Aufenthalt die Rate nosokomialer Infektionen ansteigt (Vincent et al., 1995). Bereits nach 24 Std. haben bis zu 20 % der ICU-Patienten eine auf der ICU erworbene Infektion. Dabei die

häufigsten sind Pneumonien, Infektionen des Urogenitaltraktes und Infektionen der Blutbahn. Diese können selbst die Mortalität erhöhen und ziehen weitere Therapien nach sich, die wiederum die Aufenthaltszeit verlängern können.

Zur festgestellten Bilanzdifferenz zwischen SIRS- und NON-SIRS-Patienten finden sich in der Literatur ähnliche Beobachtungen zwischen herzoperierten Patienten, danach verglichen ob sie den stationären Aufenthalt überlebten, wie in dieser Studie. In einer Arbeit von 2018 mit 567 Patienten hatten Überlebende 24 Std. postoperativ ebenfalls eine negativere Flüssigkeitsbilanz (Minusbilanz), im Rahmen des stationären Aufenthaltes verstorbene Patienten wiesen zum gleichen Zeitpunkt eine Plusbilanz auf (Li et al., 2018). Dies war auch für ihre Flüssigkeitsbilanzen über ihren gesamten Intensivaufenthalt so und galt auch allgemein für Patienten mit systemischer Inflammation. Sowohl Sepsis-Patienten als auch kritisch Kranke im Allgemeinen weisen in den ersten Tagen nach Bilanzierungsbeginn auf der ICU eine positive Flüssigkeitsbilanz auf (Vincent et al., 2006) .

In der hier vorgelegten Studie fiel auf, dass SIRS-Patienten mehr EKs intraoperativ im Vergleich zur Kontrollgruppe erhielten ($p=0,04$). Die Datenlage zur Immunaktivierung durch EKs ist jedoch uneindeutig. Es wird vermutet, dass Bluttransfusionen die Immunbalance eher hin zu einer Th2-Reaktion verlagern, wodurch ein immunsuppressives Übergewicht entstehe, was wiederum protektiv gegen die Entwicklung eines SIRS wirke (Brand, 2000). Jedoch wird davon ausgegangen, dass Infektionen so wahrscheinlicher werden. In einer Studie zum Vergleich liberaler und restriktiver Handhabung von Transfusionen, gemessen am Hb-Wert, zeigten Hébert et al. eine erhöhte Mortalität bei Transfusion von mehr EKs (Hébert et al., 1999). Es konnte außerdem beobachtet werden, dass Patienten, die EKs erhielten, eine höhere Mortalität aufwiesen, wenn diese zwar ohne Buffy Coat, aber nicht darüber hinaus gefiltert waren. Es wurde postuliert, dass dies mit der Reaktion der verbleibenden Leukozyten in bereits aktivierter Inflammation zu tun habe, da die Blutkonserven eher zum Ende der Operation transfundiert werden (van de Watering et al., 1998).

4.3 Diskussion der FACS-Ergebnisse

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob verschiedene Immunzellpopulationen des peripheren Blutes in Patienten, die in Folge einer OP am offenen Herzen, zu einem präoperativen Zeitpunkt eine von der Norm abweichende Häufigkeit aufweisen. Sollte diese Arbeitshypothese zutreffen, könnte ein präoperatives Immunmonitoring zur Prädiktion eines SIRS herangezogen werden.

Signifikante Unterschiede der Leukozyten- und Lymphozytenpopulationen präoperativ zeigten sich in dieser Arbeit zu einem präoperativen Untersuchungszeitpunkt (T1) nicht. Arbeiten anderer Wissenschaftler konnten jedoch zuvor präoperative Unterschiede in Leukozyten- und Lymphozytenzahlen bei Patienten, die nach ECC ein SIRS entwickelten, beobachten (Litmathe et al., 2011). Allerdings ist bei der zitierten Studie anzumerken, dass die präoperativen Unterschiede in den Frequenzen der Immunzellpopulationen, bei dem eher mit der Entwicklung eines SIRS gerechnet wurde, auch Unterschiede bei Kreatinin und der Alkalischen Phosphatase sowie Adhäsionsmoleküle einschloss, also nicht alleinig auf Zellpopulationen begrenzt war. Diese Parameter wurden in der hier vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Außerdem ist zu erwähnen, dass von 107 in Litmathes Arbeit untersuchten Patienten, bei denen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für ein SIRS genannt wurde, lediglich 12 tatsächlich eines entwickelten, was die Aussagekraft der genannten Kombination aus Faktoren in Frage stellt.

Viele der bislang publizierten Studien konzentrieren sich auf eine Zellpopulation, schließen bei Messungen dann jedoch auch die von ihnen exprimierten Zytokine mit ein (Tilly et al., 2017), (Liu et al., 2022). Leng et al. konnten in Bezug auf Tregs keinen signifikanten Unterschied zwischen SIRS-Patienten und Kontrollprobanden weder auch prozentualer noch in der absoluten Zellzahl feststellen, obwohl ein signifikanter Unterschied zwischen Sepsis-Patienten und SIRS-Patienten bzw. Kontrollpatienten beobachtet wurde (Leng et al., 2013). Nach großen Operationen wurde bisher beobachtet, dass sowohl weniger Lymphozyten, insbesondere T-Zellen, im peripheren Blut, sowie eine geringere Expression von HLA auf Monozyten nachweisbar sind. (Rudensky et al., 2010). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass der Anteil an Lymphozyten postoperativ eher abnimmt, was be-

sonders CD3⁺- und NK-Zellen betrifft (Daix et al., 2018). Während nachfolgend noch gezielt auf Untersuchungsergebnisse zu den Populationen der Monozyten und T-Zellen noch genauer eingegangen wird, kann bereits gesagt werden, dass für die meisten dieser Populationen in der vorliegenden Arbeit keine Auffälligkeiten bestanden.

Zwar zeigten sich in der hier vorliegenden Arbeit die Anteile der CD19⁺-B-Zellen in der SIRS-Gruppe präoperativ (T1) erhöht, jedoch für beide Gruppen innerhalb Referenzwerte (Tabelle 11). Direkt postoperativ (T2) waren jeweils in der SIRS-Gruppe NK-Zellen und Monozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe häufiger vorkommend, jedoch auch hier wieder innerhalb der entsprechenden Norm.

Da bei T-Zellen, CD8⁺-T-Zellen und Tregs Mittelwerte außerhalb der Normen auffielen, werden die entsprechenden Ergebnisse tiefer diskutiert. Da für die Untergruppen der Memory-T-Zellen keine Normwerte für peripheres Blut vorliegen, werden auch jene Ergebnisse weiter diskutiert.

4.3.1 T-Zellen

T-Zellen zeigten sich bei NON-SIRS-Patienten an T4 mit im Mittel nur noch 5,8% vorkommend. Dass nach Operationen im Allgemeinen ein Absinken der T-Zell-Zahl im Blut T-Zell-Populationen abfallen, wurde oben bereits beschrieben (Rudensky et al., 2010). Das Absinken und eine Wiederanstieg Erholung an Tag 3 wurden, genau wie in dieser Arbeit beobachtet, bereits vor Jahren beschrieben, wobei dieser Effekt mit zunehmendem Patientenalter stieg (Rinder et al., 1997). Ein möglicher Erklärungsansatz von Rinder et al. war die mit dem Alter ebenfalls zunehmende Zahl an verabreichten Blutprodukten, sowie ein möglicherweise hämodilutorischer Effekt, wobei dies weder bewiesen noch ausgeschlossen wurde (Rinder et al., 1997). Rudensky et al. verglichen herzoperierte Patienten nicht hinsichtlich der Entwicklung eines SIRS, aber der Art der Operation (Klappenersatz vs. Bypass). Postoperativ zeigten sich in beiden Gruppen reduzierte Lymphozytenzahlen in beiden Gruppen, verstärkt jedoch in der Klappengruppe, vorrangig bedingt durch kleinere T-Zell-Populationen (Rudensky et al., 2010). Eine solche weitere Unterteilung ist in der vorliegenden Arbeit aufgrund der ohnehin kleinen Patientengruppe nicht mehr sinnvoll. Außerdem wären viele Patienten keiner Gruppe zuzuordnen gewesen, da sie sich einer kombinierten Operation unterzogen. Ein interessantes Ergebnis publizierten Deng

et al. in einer älteren Arbeit. Sie stellten einen Zusammenhang zwischen schlechterer Ventrikelfunktion und erniedrigten T-Zellen fest. Ihre Arbeit bezog sich dabei auf herztransplantierte Patienten, bei denen T-Zellen im Rahmen der transplantatschützenden Immunsuppression supprimiert waren. Die klassische Hypothese, weniger T-Zellen bedeute weniger Inflammationsmediatoren bedeute weniger Einschränkung der Organfunktionen, erweiterten sie. Postuliert wurde ein Zusammenhang zwischen höherer Infektanfälligkeit (durch T-Zell-Abwesenheit) und Organdysfunktion (Deng et al., 1998). Letzteres Ergebnis würde gegen die hier gezeigte Auffälligkeit sprechen, da der T-Zell-Abfall in der Kontrollgruppe ohne höhere Infekte oder Immunreaktion gezeigt wurde. In der SIRS-Gruppe konnte keine signifikante Veränderung nachgewiesen werden.

4.3.2 Aktivierte T-Zellen

Die Zellzahl der aktivierten T-Zellen sank bei NON-SIRS-Patienten von T1 zu T5 (Mittelwerte 1,2 % zu 0,2 %). Das Verhalten aktivierter T-Zellen hinsichtlich der postoperativen Entwicklung eines SIRS, insbesondere in der Kardiochirurgie, ist bisher wenig untersucht worden.

In der Kardiologie wurde ein Zusammenhang mit Vorhofflimmern identifiziert. Das Vorkommen aktivierter T-Zellen war bei Patienten mit Vorhofflimmern signifikant höher als bei Kontrollprobanden. In Nachuntersuchungen 3 Monate nach Kardioversion später zeigten sich bei Patienten mit weiterhin bestehendem Sinusrhythmus signifikant reduzierte Niveaus an aktivierten T-Lymphozyten, während bei Patienten mit Rezidiv kein Unterschied festzustellen war. (Liu et al., 2012) Dies wird als Bestätigung der Hypothese, dass Vorhofflimmern durch eine systemische Entzündung (mit-)bedingt wird, gesehen. Hier zeigt sich eine Parallele zu der Hypothese, dass spätere SIRS-Patienten eine präoperative Aktivierung des Immunsystems zeigen. In der vorliegenden Arbeit gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich Vorhofflimmerns bei späteren SIRS- und NON-SIRS-Patienten (Tabelle 7), weshalb dies nur begrenzt bewertet werden kann.

Bansal et al. wiesen im Mausmodell nach, dass T-Zell-Aktivierung ein wichtiger Bestandteil für kardiales Remodeling nach Myokardschäden ist, ein reduzierte CD4⁺-T-Zell-Population dahingegen protektiv zu sein scheint. (Bansal et al., 2017) Dies kann als indirekte

Bestätigung der Beobachtung weniger aktivierter T-Zellen bei Patienten mit unkompliziertem Verlauf gewertet werden.

Hio et al. untersuchten die Genexpressionen in Leukozyten bei Traumapatienten. Es wurde gezeigt, dass Gencluster (beispielsweise GUCY1B1, BCL11B, HMMR) für T-Zell-Aktivierung deutlich verstärkt transkribiert wurden. Sowohl für SIRS- als auch für Sepsis-Patienten fanden sie die Hochregulation dieser Cluster, welche außerdem prognostisch günstig für ein Überleben nach Sepsis waren (Huo et al., 2021). Bei Kontrollpatienten ließ sich dies nicht nachweisen. Es kann also argumentiert werden, dass dies als indirekte Bestätigung zu werten ist (verstärkte Transkription T-Zell-aktivierender Gene bei SIRS-Patienten führt zu Zellanstieg), wobei Genexpression und Zellzahl natürlich nur bedingt vergleichbar sind. Eine stärkere Vergleichsaussage zum vorliegenden Ergebnis wäre gegeben, hätte man eine Suppression der Cluster nachgewiesen, da die vorliegende Arbeit nur dies (weniger aktivierte T-Zellen bei NON-SIRS-Patienten) zu zeigen vermag.

4.3.3 Tregs

Die Anzahl der Tregs stieg bei NON-SIRS-Patienten T1 auf T6 Mittelwerte 2,67 % zu 7,04 %). Huang et al. verglichen die Subgruppe der CD39⁺-Tregs, da diese unter den Treg-Subgruppen vergleichsweise stärker immunsupprimierend ist. Der Anteil dieser CD39⁺-Tregs bei Ankunft auf der ICU war höher in SIRS- als auch in Sepsis-Patienten, verglichen mit gesunden Kontrollpatienten. Zwischen SIRS und Sepsis allein war eine deutliche Erhöhung bei Sepsis festzustellen. Es wurde der Schluss gezogen, dass die Immunsuppression bei Sepsis überschießend ist und mit zur Infektion beziehungsweise deren mangelhafter Bekämpfung beigetragen hat (Huang et al., 2015). Dieses Ergebnis steht entgegen dem hier gezeigten Anstieg nur bei NON-SIRS-Patienten. Allerdings liegen bisher kaum Daten zu Anteilen beispielsweise von CD39⁺ an der Treg-Population insgesamt vor, es handelt sich wahrscheinlich um eine kleinere Untergruppe, die Aussagekraft ist daher beschränkt (Timperi und Barnaba, 2021).

In Bezug auf die Entwicklung eines akuten Lungenversagens (Acute Respiratory Distress Syndrome) nach Herzoperationen konnten Liu et al. zeigen, dass präoperativ bereits bei Patienten, die später pulmonale Probleme zeigten, Tregs insgesamt reduziert waren. Da IL-10 und TFG- β von Tregs sekretiert werden, führten sie die niedrigeren Serumspiegel

von IL-10 und TFG- β auf eine Funktionseinschränkung der vorhandenen Tregs zurück. Verlaufsuntersuchungen führten sie nicht durch (Liu et al., 2022). Besonderes Interesse erfahren Tregs aktuell in der Transplantatforschung. Nakagiri et al. wiesen nach Lungentransplantation bessere Lungenfunktion sowohl nach 3 Wochen als auch nach 3 Monaten nach, je mehr Tregs im peripheren Blut der Patienten nachweisbar waren (Nakagiri et al., 2012) . Diese Ergebnisse können als Bestätigungen des in der vorliegenden Arbeit gezeigten häufigeren Vorkommens von Tregs bei NON-SIRS-Patienten gewertet werden. Boer et al. zeigten, dass in Myokardbiopsien herztransplantierte Patienten Tregs häufiger vorkamen, wenn dieser Patient später eine Abstoßungsreaktion zeigte. Sie postulierten, dass dies für einen unerfolgreichen Suppressionsversuch des Empfängerimmunsystems spreche, bevor es selbst die Abstoßungsreaktion auslöst. Ein relevantes Einwandern von Tregs in Patienten mit guter Organakzeptanz wiesen sie nicht nach (Boer et al., 2015) . Dieses Ergebnis ist ambivalent zur vorliegenden Arbeit zu bewerten, da aufgrund des Treg-Anstiegs bei NON-SIRS-Patienten ebenfalls bei Patienten guter Organakzeptanz mehr Tregs zu erwarten gewesen wären. Andererseits konnte eine Reaktion des Immunsystems in modulierender Art gezeigt werden. Allerdings ist zu beachten, dass Organkompatibilität und Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie je Patient unterschiedlich sind. Bei annähernd perfekter Kompatibilität ist wahrscheinlich keine relevante Immunreaktion zu beobachten.

4.3.4 CD8⁺- T-Zellen

CD8⁺- T-Zellen waren bei NON-SIRS-Patienten an T4 bis T6 unter die Norm erniedrigt.

Neben den oben angesprochenen aktivierten T-Zellen wurden auch proinflammatorische CD8⁺- T-Zellen häufiger im Blut von Patienten mit erstdiagnostiziertem Vorhofflimmern als in dem von Patienten mit Sinusrhythmus, aber vergleichbarem kardiovaskulärem Risikoprofil, nachgewiesen. Außerdem konnte ein Zusammenhang zwischen dem häufigeren Vorkommen der CD8⁺-T-Zellen und Kardiomyopathie festgestellt werden (Friebel et al., 2022). Wie in Tabelle 7 gezeigt wurde im Patientenkollektiv dieser Arbeit kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit von Vorhofflimmern gesehen. Das Vorkommen post- oder intraoperativem Vorhofflimmern wurde nicht erfasst, weshalb leider keine Aussage möglich ist. Dies könnte in Zukunft dezidiert untersucht werden.

In Patienten mit septischem Schock zirkulierten über die Zeit weniger CD8⁺-T-Zellen, während sie in Patienten mit besserem Zustand nach 5 Tagen anstieg (Chen et al., 2022). Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass die verbleibenden CD8⁺-T-Zellen in Patienten mit Sepsis und septischem Schock eine reduzierte Zytotoxizität aufweisen (Jin et al., 2019). Trotz leicht eingeschränkter Vergleichbarkeit (Sepsis- anstatt SIRS-Patienten) sind diese Ergebnisse gegensätzlich zu den hier gefundenen hinsichtlich der Zellzahl, die Zytotoxizität wurde nicht untersucht.

Rao et al. untersuchen das Vorkommen von CD8⁺-T-Zellen in den explantierten Organen herztransplantierte Patienten. Sie wiesen ein gehäuftes Vorkommen bei diesen herzinsuffizienten Patienten nach, außerdem wiesen die gefundenen Zellen proinflammatorische Signaturen (beispielsweise Expression von KLRD1, KLRC1, CXCR3) auf. Es wurde gezeigt, dass zytotoxische T-Zellen sich im Myokard letztendlich erschöpfen. Da CD8⁺-T-Zellen teilweise als autoreaktiv anzusehen seien, wurde dies als möglicherweise vorteilhaft für die spätere Myokardfunktion gesehen (Rao et al., 2021). Die absolute Häufigkeit im peripheren Blut beschrieben sie nicht. Eine ähnliche Arbeit mit (annähernd) herzgesunden Patienten zur besseren Vergleichbarkeit durchzuführen wäre natürlich sehr schwierig, eine Datenlage ist daher kaum vorhanden. Dennoch kann man ableiten, dass bessere Herzfunktion und die fehlende Entwicklung eines SIRS mit geringeren Niveaus zytotoxischer T-Zellen korrelieren könnte.

4.3.5 TCMs/TEMs

Bei NON-SIRS-Patienten zeigten sich verglichen mit T1 Central Memory T-Zellen zu T5 und Effector Memory T-Zellen zu T5 und T6 in geringerer Häufigkeit. Eine Beurteilung, ob prä- oder postoperativ dabei Abweichungen im Vorkommen im peripheren Blut bestanden, ist ob kaum vorhandener Normwerte seriös nicht möglich. Dies liegt vor allem daran, dass T-Zell-Subpopulationen fast nur im Gewebe vorkommen, jedoch kaum zirkulieren. Dies führte bereits zu der These, TEMs seien vielleicht keine eigene Population, sondern nur sterbende Überreste von Effector T-Zellen. Kämen sie im Gewebe vor handele es sich eigentlich um Tissue-Resident Memory T-Zellen (TRM) (Mueller et al., 2013)

Dezidiert untersuchten Rao et al. diese Gruppen bei Herztransplantierten: Innerhalb der CD8⁺-T-Zellen wurden naive T-Zellen, TCM, TEM, TEFF, TEMRA erschöpfte T-Zellen

(TEX) identifiziert (Rao et al., 2021). Während TCM und TEFF praktisch nur im peripheren Blut nachweisbar waren, fand man TEMRA und TEX nur im Myokard. Rao et al. zeigten, dass TEFF ins Herz migrierten und dort stark expandierten. Da sie identische TCRs aufwiesen wurde postuliert, dass TEFF sich im Myokard in TEMRA und später TEM entwickelten, die sich später erschöpfen und als TEX endeten. Bei allen Gruppen zeigte sich eine abnehmende zytotoxische Signatur mit zunehmendem Zellzyklusarrest. Somit wurde die zytotoxische Funktion der CD8⁺-Population herabreguliert und die weitere Migrationskapazität nahm deutlich ab. Die Selbsttoleranz, gemessen an Transkriptionsfaktoren, nahm zu.

Die Genese von Kardiomyopathien ist komplex und die Ursachen sind vielfältig. Für die Gruppe der bislang idiopathisch genannten Fälle kann eine Inflammation jedoch angenommen werden, dabei könnten die weiter differenzierten CD8⁺-T-Zellen eine Rolle spielen und niedrigere Werte wie in der vorliegenden Arbeit protektiv sein. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion wurde in der vorliegenden Arbeit nicht erhoben, eine Korrelation mit Vorkommen der beispielsweise CD8⁺-T-Zellen ist somit leider nicht möglich.

5. Zusammenfassung

SIRS als schwere systemische Inflammation tritt oft im Zusammenhang mit ausgeprägten Traumata auf. Zu den größten Traumata zählt die Operation am offenen Herzen unter Einsatz der HLM. Hierbei werden durch die traumatische Freisetzung von DAMPs sowie durch den Kontakt des Blutes mit den Oberflächen der HLM immunologische Prozesse initiiert, die zur Pathogenese des SIRS maßgeblich beitragen. Die dieser Arbeit zugrunde liegende Hypothese ist, dass postoperative SIRS-Patienten bereits vor einer Herzoperation einen veränderten Immunstatus aufweisen. Diese Arbeit konzentriert sich dabei auf die Zusammensetzung der Leukozytensubpopulationen, um die Erkennung und Genese des postoperativen SIRS besser zu verstehen. Verglichen wurden 14 Patienten mit SIRS gegenüber 14 Kontrollpatienten. Die Patienten hatten vergleichbare Grunderkrankungen und Operationen, so dass nicht-immunologische Auslöser eines SIRS minimiert wurden. Die Vergleichbarkeit beider Gruppen wurde bestätigt, indem demographische und epidemiologische Werte verglichen, und keine Auffälligkeiten festgestellt wurden. Postoperativ erhielten SIRS-Patienten signifikant mehr EKs, postoperativ ebenfalls signifikant erhöht waren die Tage auf der ICU sowie im Krankenhaus und die Flüssigkeitsbilanz nach 24 Std. Präoperativ zeigte sich lediglich ein Unterschied bei CD19⁺-B-Zellen, für den postoperativen Zeitpunkt T2 für NK-Zellen und Monozyten. Für (aktivierte) T-Zellen sowie Subpopulationen (CD8⁺, TEMs und CMs) sowie Tregs wurden signifikante und normabweichende Veränderungen über die Zeit beobachtet. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass auf Zellanteilebene geringe Unterschiede zwischen SIRS- und Kontrollpatienten bereits vor dem Trauma bestehen, außerdem, dass sich die Dynamiken postoperativ teilweise deutlich unterscheiden. Diese Ergebnisse können helfen, die individuellen präoperativen Immunphänotypen von herzchirurgischen Patienten besser zu verstehen, um präoperativ mittels personalisierter Therapie die Genese eines postoperativen SIRS zu verhindern.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der Gatingstrategie im Tcell-Panel	29
Abbildung 2: Darstellung der Gatingstrategie im Treg-Panel	30
Abbildung 3: Darstellung der Gatingstrategie im 7-Colour-Panel	31
Abbildung 4: Darstellung des SOFA-Scores über die Zeit	35
Abbildung 5: Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation und im Krankenhaus	37
Abbildung 6: Die Flüssigkeitspositivbilanz nach 24 Std.....	37
Abbildung 7: CD19 ⁺ -B-Zellen an Zeitpunkt T1	39
Abbildung 8: NK-Zellen und Monozyten an Zeitpunkt T2	39
Abbildung 9: T-Zellen und CD8 ⁺ -T-Zellen über die Zeit, die Zeitpunkte T4, T5, T6 im Vergleich zu T1.	42
Abbildung 10: EMs und Tregs über die Zeit	43

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Materialien zur Bearbeitung der Blutproben	21
Tabelle 2: Antikörper und Klone des Tcell-Panels.....	21
Tabelle 3: Antikörper und Klone des Treg-Panels.....	22
Tabelle 4: Antikörper und Klone des 7 Colour-Panels.....	22
Tabelle 5: Software zur Darstellung und Auswertung	22
Tabelle 6: Übersicht über den SOFA-Score.....	26
Tabelle 7: Vergleich der Epidemiologischen Parametern zwischen SIRS- und Kontrollpatienten	33
Tabelle 8: Vergleich verschiedener Laborwerte präoperativ	33
Tabelle 9: Vergleich intraoperativer Werte	34
Tabelle 10: Vergleich der Gabe von Blutkonserven postoperativ.....	36
Tabelle 11: Normwerte im Blut zirkulierender Immunzellen in Prozent	38
Tabelle 12: Darstellung der Mittelwerte von CD19 ⁺ -B-Zellen, Monozyten und NK-Zellen über die Zeit in Prozent	40
Tabelle 13: Mittelwerte weiterer Zellpopulationen (Anteil an Leukozyten in Prozent).....	41

8. Literaturverzeichnis

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Baker DL. Cellular and molecular immunology. Philadelphia, Pa.: Elsevier Saunders 2015

Apostolaki M, Armaka M, Victoratos P, Kollias G. Cellular mechanisms of TNF function in models of inflammation and autoimmunity. *Curr Dir Autoimmun* 2010; 11: 1–26

Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Lotto AA, Pitsis AA, Angelini GD. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 1198–1204

Atreya MR, Wong HR. Precision medicine in pediatric sepsis. *Curr Opin Pediatr* 2019; 31: 322–327

Aziz M, Ode Y, Zhou M, Ochani M, Holodick NE, Rothstein TL, Wang P. B-1a cells protect mice from sepsis-induced acute lung injury. *Mol Med* 2018; 24: 26

Balk RA. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? *Virulence* 2014; 5: 20–26

Bansal SS, Ismahil MA, Goel M, Patel B, Hamid T, Rokosh G, Prabhu SD. Activated T Lymphocytes are Essential Drivers of Pathological Remodeling in Ischemic Heart Failure. *Circ Heart Fail* 2017; 10: e003688

Boer K, Caliskan K, Peeters AMA, van Groningen MC, Samsom JN, Maat APWM, Betjes MGH, Weimar W, Baan CC. Thymus-Derived Regulatory T Cells Infiltrate the Cardiac Allograft Before Rejection. *Transplantation* 2015; 99: 1839–1846

Borelli A, Irla M. Lymphotoxin: from the physiology to the regeneration of the thymic function. *Cell Death Differ* 2021; 28: 2305–2314

Börgermann et al... Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Restores Decreased Monocyte HLA-DR Expression after Cardiopulmonary Bypass. Verfügbar unter <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/s-2006-924621> (Zugriffsdatum: 12/29/2020 12:36:45)

Brand A. Immunological aspects of blood transfusions. *Blood reviews* 2000; 14: 130–144

Bunte K, Beikler T. Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci* 2019; 20

Chen R, Qin S, Zhu H, Chang G, Li M, Lu H, Shen M, Gao Q, Lin X. Dynamic monitoring of circulating CD8+ T and NK cell function in patients with septic shock. *Immunol Lett* 2022; 243: 61–68

Comstedt P, Storgaard M, Lassen AT. The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in acutely hospitalised medical patients: a cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2009; 17: 67

Crinier A, Narni-Mancinelli E, Ugolini S, Vivier E. SnapShot: Natural Killer Cells. *Cell* 2020; 180: 1280-1280.e1

Daix T, Guérin E, Tavernier E, Marsaud J-P, Hacan A, Gauthier F, Piccardo A, Vignon P, Feuillard J, François B. Immature Granulocytes: A Risk Factor of Infection after Cardiac Surgery. *Cytometry B Clin Cytom* 2018; 94: 887–894

De Winter et al... Transcriptional and epigenetic regulation of macrophages in atherosclerosis. Verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7770754/> (Zugriffsdatum: 06.07.2021)

Deng MC, Erren M, Roeder N, Dreimann V, Günther F, Kerber S, Baba HA, Schmidt C, Breithardt G, Scheld HH. T-cell and monocyte subsets, inflammatory molecules, rejection, and hemodynamics early after cardiac transplantation. *Transplantation* 1998; 65: 1255–1261

Flores-Mejía LA, Cabrera-Rivera GL, Ferat-Osorio E, Mancilla-Herrera I, Torres-Rosas R, Boscó-Garate IB, López-Macías C, Isibasi A, Cébulo-Vazquez A, Arriaga-Pizano LA. Function is Dissociated From Activation-Related Immunophenotype on Phagocytes From Patients With SIRS/Sepsis Syndrome. *Shock* 2019; 52: e68-e75

Forel J-M, Chiche L, Thomas G, Mancini J, Farnarier C, Cognet C, Guervilly C, Daumas A, Vély F, Xéridat F, Vivier E, Papazian L. Phenotype and functions of natural killer cells in critically-ill septic patients. *PloS one* 2012; 7: e50446

Friebel J, Witkowski M, Wegner M, Blöbaum L, Lammel S, Schencke P-A, Jakobs K, Puccini M, Reißner D, Steffens D, Moos V, Schutheiss H-P, Landmesser U, Rauch U. Cytotoxic CD8+ T Cells Are Involved in the Thrombo-Inflammatory Response during First-Diagnosed Atrial Fibrillation. *Cells* 2022; 12

Greiwe G, Moritz E, Amschler K, Poppe A, Sarwari H, Nierhaus A, Kluge S, Reichen-spurner H, Zoellner C, Schwedhelm E, Daum G, Tampe B, Winkler MS. Dynamics of Vascular Protective and Immune Supportive Sphingosine-1-Phosphate During Cardiac Surgery. *Front Immunol* 2021; 12: 761475

Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, Tweeddale M, Schweitzer I, Yetisir E. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *NEJM* 1999; 340: 409–417

Hua R, Zhang Y, Chen F, Zhou Z, Li X, Shao B, Wang S, Zhang Y, Lv X. Decreased levels of perforin-positive lymphocytes are associated with posttraumatic complications in patients with major trauma. *Injury* 2014; 45: 2089–2095

Huang H, Wang S, Jiang T, Fan R, Zhang Z, Mu J, Li K, Wang Y, Jin L, Lin F, Xia J, Sun L, Xu B, Ji C, Chen J, Chang J, Tu B, Song B, Zhang C, Wang F-S, Xu R. High levels of circulating GM-CSF+CD4+ T cells are predictive of poor outcomes in sepsis patients: a prospective cohort study. *Cell Mol Immunol* 2019; 16: 602–610

Huang H, Xu R, Lin F, Bao C, Wang S, Ji C, Li K, Jin L, Mu J, Wang Y, Li L, Sun L, Xu B, Zhang Z, Wang F-S. High circulating CD39(+) regulatory T cells predict poor survival for sepsis patients. *Int J Infect Dis* 2015; 30: 57–63

Huo J, Wang L, Tian Y, Sun W, Zhang G, Zhang Y, Liu Y, Zhang J, Yang X, Liu Y. Gene Co-Expression Analysis Identified Preserved and Survival-Related Modules in Severe

Blunt Trauma, Burns, Sepsis, and Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Int J Gen Med* 2021; 14: 7065–7076

Jiang J, Yang J, Mei J, Jin Y, Lu Y. Head-to-head comparison of qSOFA and SIRS criteria in predicting the mortality of infected patients in the emergency department: a meta-analysis. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2018; 26

Jin B, Liang Y, Liu Y, Zhang L-X, Xi F-Y, Wu W-J, Li Y, Liu G-H. Notch signaling pathway regulates T cell dysfunction in septic patients. *Int Immunopharmacol* 2019; 76: 105907

Kasten KR, Goetzman HS, Reid MR, Rasper AM, Adediran SG, Robinson CT, Cave CM, Solomkin JS, Lentsch AB, Johannigman JA, Caldwell CC. Divergent adaptive and innate immunological responses are observed in humans following blunt trauma. *BMC Immunol* 2010; 11: 4

Lambden S, Laterre PF, Levy MM, Francois B. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. *Crit Care* 2019; 23: 374

Lambert C, Preijers FWMB, Yanikkaya Demirel G, Sack U. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2017; 92: 180–188

Leng F-Y, Liu J-L, Liu Z-J, Yin J-Y, Qu H-P. Increased proportion of CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells during early-stage sepsis in ICU patients. *J Microbiol Immunol Infect* 2013; 46: 338–344

Li C, Wang H, Liu N, Jia M, Zhang H, Xi X, Hou X. Early negative fluid balance is associated with lower mortality after cardiovascular surgery. *Perfusion* 2018; 33: 630–637

Lin Y-C, Mahalingam J, Chiang J-M, Su P-J, Chu Y-Y, Lai H-Y, Fang J-H, Huang C-T, Chiu C-T, Lin C-Y. Activated but not resting regulatory T cells accumulated in tumor microenvironment and correlated with tumor progression in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2013; 132: 1341–1350

Lindman BR, Goldstein JS, Nassif ME, Zajarias A, Novak E, Tibrewala A, Vatterott AM, Lawler C, Damiano RJ, Moon MR, Lawton JS, Lasala JM, Maniar HS. Systemic inflammatory response syndrome after transcatheter or surgical aortic valve replacement.

Heart 2015; 101: 537–545

Litmathe J, Boeken U, Bohlen G, GURSOY D, Sucker C, Feindt P. Systemic inflammatory response syndrome after extracorporeal circulation: a predictive algorithm for the patient at risk. Hellenic J Cardiol 2011; 52

Liu L, Lee J, Fu G, Liu X, Wang H, Zhang Z, Zheng Q. Activation of peripheral blood CD3(+) T-lymphocytes in patients with atrial fibrillation. nt Heart J 2012; 53: 221–224

Liu Y, Yue L, Song X, Gu C, Shi X, Wang Y. Dysfunction of peripheral regulatory T cells predicts lung injury after cardiopulmonary bypass. Biosci Trends 2022; 15: 374–381

Lord JM, Midwinter MJ, Chen Y-F, Belli A, Brohi K, Kovacs EJ, Koenderman L, Kubes P, Lilford RJ. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. Lancet 2014; 384: 1455–1465

Mazer CD, Whitlock RP, Fergusson DA, Hall J, Belley-Cote E, Connolly K, Khanykin B, Gregory AJ, Médicis É de, McGuinness S, Royse A, Carrier FM, Young PJ, Villar JC, Grocott HP, Seeberger MD, Fremes S, Lellouche F, Syed S, Byrne K, Bagshaw SM, Hwang NC, Mehta C, Painter TW, Royse C, Verma S, Hare GMT, Cohen A, Thorpe KE, Jüni P, Shehata N. Restrictive or Liberal Red-Cell Transfusion for Cardiac Surgery. NEJM 2017; 377: 2133–2144

Miller AC, Rashid RM, Elamin EM. The "T" in trauma: the helper T-cell response and the role of immunomodulation in trauma and burn patients. J Trauma 2007; 63: 1407–1417

Minne L, Abu-Hanna A, Jonge E de. Evaluation of SOFA-based models for predicting mortality in the ICU: A systematic review. Crit. Care 2008; 12: R161

Moioffer SJ, Danahy DB, van de Wall S, Jensen IJ, Sjaastad FV, Anthony SM, Harty JT, Griffith TS, Badovinac VP. Severity of Sepsis Determines the Degree of Impairment Observed in Circulatory and Tissue-Resident Memory CD8 T Cell Populations. *J Immunol* 2021; 207: 1871–1881

Mueller SN, Gebhardt T, Carbone FR, Heath WR. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 137–161

Murphy GJ, Angelini GD. Side effects of cardiopulmonary bypass: what is the reality? *J Card Surg* 2004; 19: 481–488

Nacionales DC, Cuenca AG, Ungaro R, Gentile LF, Joiner D, Satoh M, Lomas-Neira J, Ayala A, Bihorac A, Delano MJ, Ang DN, Efron PA. The acute immunological response to blood transfusion is influenced by polymicrobial sepsis. *Shock* 2012; 38: 598–606

Nakagiri T, Warnecke G, Avsar M, Thissen S, Kruse B, Kühn C, Ziehme P, Knöfel A-K, Madrahimov N, Okumura M, Sawa Y, Gottlieb J, Simon AR, Haverich A, Strüber M. Lung function early after lung transplantation is correlated with the frequency of regulatory T cells. *Surg Today* 2012; 42: 250–258

Paparella D. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002; 21: 232–244

Raith EP, Udy AA, Bailey M, McGloughlin S, MacIsaac C, Bellomo R, Pilcher DV. Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SIRS Criteria, and qSOFA Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care Unit. *JAMA* 2017; 317: 290

Rao M, Wang X, Guo G, Wang L, Chen S, Yin P, Chen K, Chen L, Zhang Z, Chen X, Hu X, Hu S, Song J. Resolving the intertwining of inflammation and fibrosis in human heart failure at single-cell level. *Basic Res Cardiol* 2021; 116: 55

Ribot JC, Lopes N, Silva-Santos B. $\gamma\delta$ T cells in tissue physiology and surveillance. *Nat Rev Immunol* 2021; 21: 221–232

Rinder CS, Mathew JP, Rinder HM, Tracey JB, Davis E, Smith BR. Lymphocyte and monocyte subset changes during cardiopulmonary bypass: effects of aging and gender. *J Lab Clin Med* 1997; 129: 592–602

Rudensky B, Yinnon AM, Shutin O, Broide E, Wiener-Well Y, Bitran D, Raveh DP. The cellular immunological responses of patients undergoing coronary artery bypass grafting compared with those of patients undergoing valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 37: 1056–1062

Ruggieri A, Anticoli S, D'Ambrosio A, Giordani L, Viora M. The influence of sex and gender on immunity, infection and vaccination. *Annali dell'Istituto superiore di sanita* 2016; 52: 198–204

Samji T, Khanna KM. Understanding memory CD8+ T cells. *Immunol. Lett* 2017; 185: 32–39

Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche J-D, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent J-L, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315: 801–810

Squicciarro E, Labriola C, Malvindi PG, Margari V, Guida P, Visicchio G, Kounakis G, Favale A, Dambruoso P, Mastrototaro G, Lorusso R, Paparella D. Prevalence and Clinical Impact of Systemic Inflammatory Reaction After Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2019; 33: 1682–1690

Stanski NL, Wong HR. Prognostic and predictive enrichment in sepsis. *Nat Rev Nephrol* 2020; 16: 20–31

STEMCELL Technologies Inc... WA10006-Frequencies_Cell_Types_Human_Peripheral_Blood

Stoppelkamp S, Veseli K, Stang K, Schlensak C, Wendel HP, Walker T. Identification of Predictive Early Biomarkers for Sterile-SIRS after Cardiovascular Surgery. *PloS one* 2015; 10: e0135527

Taniguchi LU, Pires EMC, Vieira JM, Azevedo LCP de. Critérios para síndrome de resposta inflamatória sistêmica e predição de mortalidade hospitalar em pacientes críticos: estudo retrospectivo de coorte. *Rev Bras Ter Intensiva* 2017; 29: 317–324

Thangappan K, Cavarocchi NC, Baram M, Thoma B, Hirose H. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) after extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): Incidence, risks and survivals. *Heart Lung* 2016; 45: 449–453

Tian Y, Babor M, Lane J, Schulten V, Patil VS, Seumois G, Rosales SL, Fu Z, Picarda G, Burel J, Zapardiel-Gonzalo J, Tennekoon RN, Silva AD de, Premawansa S, Premawansa G, Wijewickrama A, Greenbaum JA, Vijayanand P, Weiskopf D, Sette A, Peters B. Unique phenotypes and clonal expansions of human CD4 effector memory T cells re-expressing CD45RA. *Nat Commun* 2017; 8: 1473

Tilly G, Doan-Ngoc T-M, Yap M, Caristan A, Jacquemont L, Danger R, Cadoux M, Bru-neau S, Giral M, Guerif P, Nicol B, Garcia A, Laplaud D-A, Brouard S, Pecqueur Hell-man C, Degauque N. IL-15 Harnesses Pro-inflammatory Function of TEMRA CD8 in Kidney-Transplant Recipients. *Front Immunol* 2017; 8: 778

Timperi E, Barnaba V. CD39 Regulation and Functions in T Cells. *Int J Mol Sci* 2021; 22

van de Watering LM, Hermans J, Houbiers JG, van den Broek PJ, Bouter H, Boer F, Harvey MS, Huysmans HA, Brand A. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. *Circulation* 1998; 97: 562–568

van den Broek T, Borghans JAM, van Wijk F. The full spectrum of human naive T cells. *Nat Rev Immunol* 2018; 18: 363–373

Verrier ED, Shernan SK, Taylor KM, van de Werf F, Newman MF, Chen JC, Carrier M, Haverich A, Malloy KJ, Adams PX, Todaro TG, Mojcik CF, Rollins SA, Levy JH. Terminal complement blockade with pexelizumab during coronary artery bypass graft surgery requiring cardiopulmonary bypass: a randomized trial. *JAMA* 2004; 291: 2319–2327

Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995; 274: 639–644

Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall J-R, Payen D. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit. Care. med* 2006; 34: 344–353

Vourc'h M, Roquilly A, Asehnoune K. Trauma-Induced Damage-Associated Molecular Patterns-Mediated Remote Organ Injury and Immunosuppression in the Acutely Ill Patient. *Front Immunol* 2018; 9

Westphal M, Kampmeier T. The race against the "septic shark". *Crit. Care* 2015; 19 Suppl 3: S11

Wick A, Beckmann A, Nemeth A, Conradi L, Schäfer A, Reichenspurner H, Schlensak C. Cardiac surgery residents training in Germany-Status quo and future prospects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2020; 159: 579–587

Włodarczyk M, Druszczyńska M, Fol M. Trained Innate Immunity Not Always Amicable. *Int J Mol Sci* 2019; 20

Wong HR. Pediatric sepsis biomarkers for prognostic and predictive enrichment. *Pediatr Res* 2022; 91: 283–288

Wu D-D, Li T, Ji X-Y. Dendritic Cells in Sepsis: Pathological Alterations and Therapeutic Implications. *J Immunol Res* 2017; 2017: 3591248

Xie J, Chen C-W, Sun Y, Laurie SJ, Zhang W, Otani S, Martin GS, Coopersmith CM, Ford ML. Increased attrition of memory T cells during sepsis requires 2B4. *JCI insight* 2019; 4

Young JS, Monaghan SF, Chung CS, Cioffi WG, Ayala A, Heffernan DS. Divergent invariant natural killer T-cell response to sepsis of abdominal vs. non-abdominal origin in human beings. *Surg Infect* 2015; 16: 29–35

Zhang K, Ping L, Ou X, Bazhabayi M, Xiao X. A Systemic Inflammation Response Score for Prognostic Prediction of Breast Cancer Patients Undergoing Surgery. *J Pers Med* 2021; 11

Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations (*). *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 445–489

9. Danksagung

Abschließend möchte ich all jenen danken, die an der Fertigstellung dieser Arbeit beteiligt waren.

Insbesondere gilt mein Dank meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Christian Bode für die Überlassung des Themas und seine fortwährende Unterstützung bei der Anfertigung dieser Dissertation. Ein ebensolcher Dank gilt PD Dr. med. Folkert Steinhagen als Co-Arbeitsgruppenleiter. Dr. med. Marcus Thudium und Dr. med. Konrad Peukert danke ich für die Unterstützung bei der Rekrutierung von Patienten, Mario Fox für die Vorbereitung vieler Experimente.

Bei Dr. rer. nat. Susanne Schmidt möchte ich mich bedanken für die langjährige experimentelle Unterstützung und Beratung, sowie bei Prof. Dr. med. Eike Latz und PD Dr. rer. nat. Stilla Frede für die Zurverfügungstellung von Laboratorien und Gerätschaften. Alexandru Odainic M.Sc. und Dr. rer. nat. Christian Staerk danke ich für die Beratung zur statistischen Auswertung.

Schlussendlich gilt mein Dank meiner Laborpartnerin Dr. med. Janina Louisa Kolb, die mit mir durch alle Höhen und Tiefen dieses Projektes gegangen ist.