

Aus der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Einfluss von Tirilazad Mesylat und N-acetylcystein auf die intestinale
Mikrozirkulation bei experimenteller Endotoxinämie“

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katja Pfüller, geb. Mallin

aus Magdeburg

Gutachter/in: 1. Priv.-Doz. Dr. med. J. Birnbaum
 2. Priv.-Doz. Dr. med. M. Hensel
 3. Priv.-Doz. Dr. med. H. Kern

Datum der Promotion: 18.11.2011

1. EINLEITUNG	6
1.1 SEPSIS	6
1.1.1 <i>Geschichte</i>	6
1.1.2 <i>Definitionen</i>	7
1.1.3 <i>Inzidenz und Mortalität</i>	10
1.1.4 <i>Bedeutung des Intestinums</i>	11
1.1.5 <i>Ätiologie der Sepsis</i>	12
1.1.5.1 <i>Endotoxin und Endotoxinrezeptoren</i>	13
1.1.6 <i>Pathogenese der Sepsis</i>	16
1.1.6.1 <i>Zytokine</i>	16
1.1.6.2 <i>Gerinnungssystem</i>	17
1.1.6.3 <i>Reaktive Sauerstoffspezies</i>	19
1.1.6.4 <i>Komplementsystem</i>	22
1.1.6.5 <i>Arachidonsäuremetaboliten</i>	22
1.1.7 <i>Leukozyten und Leukozyten-Endothel-Interaktion</i>	22
1.2 THERAPEUTISCHE OPTIONEN	26
1.2.1 <i>Kausale Therapie</i>	27
1.2.2 <i>Supportive Therapie</i>	27
1.2.3 <i>Adjunktive Therapie</i>	27
1.2.4 <i>Andere supportive Therapien</i>	28
1.2.5 <i>Weitere Therapieansätze</i>	28
1.3 N-ACETYL-CYSTEIN	30
1.3.1 <i>Allgemeines</i>	30
1.3.2 <i>Pharmakokinetik</i>	30
1.3.3 <i>Pharmakodynamik</i>	30
1.3.4 <i>Klinische Anwendung</i>	31
1.3.5 <i>Ergebnisse bisheriger Untersuchungen</i>	31
1.4 TIRILAZAD MESYLAT	32
1.4.1 <i>Allgemeines</i>	32
1.4.2 <i>Pharmakokinetik</i>	33
1.4.3 <i>Pharmakodynamik</i>	33
1.4.4 <i>Klinische Anwendung</i>	33
1.4.5 <i>Ergebnisse bisheriger Untersuchungen</i>	33
2. HERLEITUNG DER AUFGABENSTELLUNG	35
3. MATERIAL UND METHODEN	36
3.1 TIERE UND TIERHALTUNG	36
3.2 GRUPPENEINTEILUNG	36

3.3	NARKOSEFÜHRUNG UND MONITORING	36
3.4	OPERATIVE TECHNIKEN	37
3.5	ENDOTOXINMODELL	39
3.6	INTRAVITALMIKROSKOPIE	39
3.6.1	<i>Leukozyten-Endothel-Interaktion</i>	42
3.6.1.1	<i>Temporär adhärenente Leukozyten</i>	42
3.6.1.2	<i>Fest adhärenente Leukozyten</i>	42
3.6.2	<i>Funktionelle Kapillardichte</i>	43
3.7	LABORPARAMETER	44
3.8	STATISTIK	44
4.	ERGEBNISSE	46
4.1	INTRAVITALMIKROSKOPIE	46
4.1.1	<i>Leukozytenadhärenz</i>	46
4.1.1.1	<i>Temporär adhärenente Leukozyten (Roller) in Venolen 1. Grades</i>	46
4.1.1.2	<i>Temporär adhärenente Leukozyten (Roller) in Venolen 3. Grades</i>	47
4.1.1.3	<i>Fest adhärenente Leukozyten (Sticker) in Venolen 1. Grades</i>	48
4.1.1.4	<i>Fest adhärenente Leukozyten (Sticker) in Venolen 3. Grades</i>	49
4.1.2	<i>Funktionelle Kapillardichte</i>	50
4.1.2.1	<i>Funktionelle Kapillardichte in den Villi intestinales der Mukosa</i>	50
4.1.2.2	<i>Funktionelle Kapillardichte in der longitudinalen Muskularisschicht</i>	51
4.1.2.3	<i>Funktionelle Kapillardichte in der zirkulären Muskularisschicht</i>	52
4.2	LABORPARAMETER	53
4.2.1	<i>Leukozyten im peripheren Blut</i>	53
4.2.2	<i>Antithrombin-III-Aktivität</i>	54
4.3	VITALPARAMETER	55
4.3.1	<i>Mittlerer arterieller Blutdruck</i>	55
4.3.2	<i>Herzfrequenz</i>	56
4.3.3	<i>Atemfrequenz</i>	57
4.3.4	<i>pH-Wert</i>	58
4.3.5	<i>Sauerstoffpartialdruck</i>	59
5.	DISKUSSION	60
5.1	DISKUSSIONSGRUNDLAGEN	60
5.2	METHODIK	60
5.3	INTRAVITALMIKROSKOPIE	63
5.3.1	<i>Leukozytenadhärenz</i>	63
5.3.1.1	<i>Temporär adhärenente Leukozyten</i>	63
5.3.1.2	<i>Fest adhärenente Leukozyten</i>	65
5.3.1.3	<i>Einfluss antioxidativer Substanzen</i>	65
5.3.2	<i>Funktionelle Kapillardichte</i>	67

5.3.2.1	<i>Einfluss antioxidativer Substanzen</i>	69
5.4	LABORPARAMETER	70
5.4.1	<i>Leukozyten im peripheren Blut</i>	70
5.4.2	<i>Antithrombin III</i>	71
5.5	VITALPARAMETER	73
5.5.1	<i>Mittlerer arterieller Druck</i>	73
5.5.2	<i>Herzfrequenz</i>	74
5.5.3	<i>Atemfrequenz und arterielle Blutgasanalyse</i>	75
6.	ZUSAMMENFASSUNG	76
7.	LITERATURVERZEICHNIS	78
8.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	91
	DANKSAGUNG	95
	LEBENS LAUF	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	PUBLIKATIONEN	97
	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	98

1. Einleitung

1.1 Sepsis

1.1.1 Geschichte

Schon im Jahre 400 v.Chr. wurde von Hippokrates ein Krankheitsbild beschrieben, das innerhalb von 7-14 Tagen nach einer Verwundung mit Fieber als Symptom beginnt und häufig mit dem Tode endet. Er stellte die Hypothese auf, dass dies durch eine Fäulnis (Sepsis stammt aus dem Griechischen und bedeutet soviel wie Gärung oder Fäulnis) der Gewebe geschehe und dadurch Gifte freigesetzt werden. Diese These blieb als pathophysiologische Erklärung bis zur Mitte des 19. Jahrhunderts bestehen.[1]

1847 führte Semmelweis die Händedesinfektion mit Chlorwasser ein, durch die die Kindbettsterblichkeit erheblich gesenkt werden konnte. Auch er ging davon aus, dass durch die Desinfektion die Übertragung eines putriden Giftes verhindert werden könnte.[1,2]

Erst als Pasteur und Koch um 1860 der Nachweis von Bakterien gelang, war die Grundlage für eine rationale Erklärung der Sepsis gegeben. Bereits 1885 wurde von Ziegler in seinem Lehrbuch der Pathologie, die Sepsis als eine Vergiftung des Organismus durch Toxine, Toxalbumine, Fermente und andere Produkte bakteritischer Zersetzung beschrieben.[1]

Bekannt wurde die Passage eines Vortrags von Schottmüller anlässlich der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin 1914: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem aus konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Kreislauf gelangen, derart, dass durch diese Invasion subjektiv oder objektiv Krankheitserscheinungen ausgelöst werden.“ Er wies schon damals darauf hin, dass eine adjuvante Sepsistherapie nötig sei: „Eine Therapie hätte sich also nicht gegen die im Blut kreisenden Bakterien, sondern gegen die immer und immer wieder frei werdenden Bakterientoxine zu richten.“ Zur damaligen Zeit stand jedoch noch kein gegen die Sepsis wirksames Therapeutikum zur Verfügung.[3]

Als Fleming 1928 das Penizillin entdeckte, war dies der erste wesentliche Fortschritt in der Behandlung von Infektionskrankheiten und die Prognose von Patienten mit bakteriellen Infektionen konnte erheblich verbessert werden.[1]

Weitere Antibiotika folgten und führten aufgrund der breiten Anwendung in den 70er und 80er Jahren zu einem Selektionsdruck auf das Spektrum der Krankenhauskeime und in Verbindung mit den noch unzureichenden Hygienemaßnahmen zu einem gehäuften Auftreten nosokomialer gram-negativer Sepsisfälle.[1]

Das intensivmedizinische Monitoring verbesserte sich und adjuvante Therapieverfahren wurden entwickelt.

1987 veröffentlichte Bone die Ergebnisse zweier Multicenter-Studien, in denen der Einsatz von Methylprednisolon als adjuvante Sepsistherapie geprüft worden war. In der nachfolgenden Diskussion wurde deutlich, dass die Studienergebnisse, wie zum Beispiel die beobachtete Mortalität, sehr stark von den verwendeten Einschlusskriterien abhängig waren. Dies führte zu der Schlussfolgerung, dass einheitliche und enger gefasste Definitionen der Sepsis für eine größere Vergleichbarkeit der Studien notwendig wurden.[4,5]

Die Arbeitsgruppe von Bone beschäftigte sich mit der Symptomatologie septischer Krankheitsbilder und veröffentlichte 1991 einen Vorschlag zur Definition der Sepsis, in welcher vier unterschiedliche Schweregrade dieses Krankheitsbildes beschrieben wurden:

- Sepsis
- Sepsis-Syndrom
- Septischer Schock
- Therapierefraktärer septischer Schock

Die systemische Reaktion auf eine Infektion stellte in seinen Ausführungen die Basis des Syndroms dar. Dabei wurde jedoch nicht berücksichtigt, dass auch nicht infektiös bedingte Erkrankungen zu einem der Sepsis sehr ähnlichen Krankheitsbild führen können.[6]

1.1.2 Definitionen

1992 wurde auf der Consensus Conference zur Definition der Sepsis der amerikanischen „Society of Critical Care Medicine“ (SCCM) und des „American College of Chest Physicians“ (ACCP) der Begriff SIRS (systemic inflammatory response syndrome) zur Beschreibung der systemischen inflammatorischen Reaktion im Organismus eingeführt. Dieses Akronym bot eine neue allgemeiner gefasste Begrifflichkeit für die komplexen Befunde, die aus einer systemischen Reaktion des

Immunsystems resultieren. Es kann sowohl durch infektiöse, als auch nicht infektiöse Ursachen ausgelöst werden und ohne zugrunde liegende Infektion, zum Beispiel bei Patienten mit Verbrennungen oder Pankreatitis, auftreten.

Auf der Sepsis-Definitions-Konferenz 2001 der SCCM, der ACCP, der European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), der American Thoracic Society (ATS) und der Surgical Infection Society (SIS) wurde ein Schema entwickelt, das Klinikern ermöglichen sollte, Patienten mit infektionsbedingtem SIRS frühzeitig zu erkennen und zu therapieren.

Tabelle 1: Diagnostische Kriterien für eine Sepsis entsprechend den ACCP/SCCM Konsensus-Konferenz Kriterien [7] :

I. Nachweis der Infektion	Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien
II. Severe inflammatory host response (SIRS) (mind. 2 Kriterien)	<ul style="list-style-type: none"> • Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) bestätigt durch eine rektale oder intravasale oder – vesikale Messung • Tachykardie: Herzfrequenz ≥ 90 /min • Tachypnoe (Frequenz ≥ 20/min) o. Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 4.3$ kPa/ ≤ 33 mmHg) • Leukozytose ($\geq 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\text{mm}^3$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild
III. Akute Organdysfunktion (mind. 1 Kriterium)	<ul style="list-style-type: none"> • Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium. • Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30% innerhalb von 24 Stunden oder Thrombozytenzahl $\leq 100.000/\text{mm}^3$. Eine Thrombozytopenie durch akute Blutung oder immunologische Ursachen muss ausgeschlossen sein. • Arterielle Hypoxämie: $\text{PaO}_2 \leq 10$ kPa (≤ 75 mmHg) unter Raumluft oder ein $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$-Verhältnis von ≤ 33 kPa (≤ 250 mmHg) unter

	<p>Sauerstoffapplikation. Eine manifeste Herz- oder Lungenerkrankung muss als Ursache der Hypoxämie ausgeschlossen sein.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Renale Dysfunktion: Eine Diurese von ≤ 0.5 ml/kg/h für wenigstens 2 Stunden trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins $> 2\times$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches. • Metabolische Azidose: Base Excess ≤ -5 mmol/l oder eine Laktatkonzentration $> 1,5\times$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches.
--	--

Von einer *Sepsis* spricht man bei Vorliegen einer Infektion und begleitendem SIRS. Bei einer *schweren Sepsis* besteht zusätzlich eine Organdysfunktion. Beim *septischen Schock* liegt eine Sepsis vor, sowie für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck ≤ 90 mmHg, bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck ≤ 65 mmHg oder notwendiger Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck ≥ 90 mmHg oder den arteriellen Mitteldruck $= 65$ mmHg zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.

Treten beim akut Kranken Zeichen einer Organdysfunktion im Sinne einer Insuffizienz in mehreren Organsystemen auf, wird dieses als Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS) bezeichnet. Aus diesem kann sich ein Multiorganversagen (MOV) entwickeln, das durch das gleichzeitige oder in rascher zeitlicher Abfolge auftretende Versagen zweier oder mehr vitaler Organsysteme gekennzeichnet ist. Als primäres MOV definiert man ein direkt im Rahmen eines Traumas mit Gewebeerstörung oder nach Schockzuständen entstandenes Multiorganversagen.[8] Das sekundäre MOV entwickelt sich nach einer stabilen Phase durch einen zweiten Insult, wie z.B. eine bakterielle Infektion („two-hit“ - Modell).[9]

Während der Sepsis können verschiedene Aktivierungszustände des Immunsystems laborchemisch unterschieden werden. Überwiegen inflammatorische Mediatoren, bezeichnet man dies als SIRS, das Überwiegen antiinflammatorischer Mediatoren wird als „compensatory antiinflammatory response syndrome“ (CARS) charakterisiert. Wechseln sich die Aktivierungszustände ab, kommt es zum gemischten antagonistischen

Reaktionssyndrom (mixed antagonistic response syndrome, MARS). Die systemische inflammatorische Antwort auf eine Infektion ist Folge einer unphysiologischen Verschiebung des Gleichgewichts.[5]

Um Patienten besser nach ihrem Risiko einteilen zu können, wurde in Anlehnung an die TNM-Klassifikation maligner Tumoren ein neues Klassifikationsschema, das sogenannte PIRO-System eingeführt. Dieses Stagingverfahren bewertet die Prädisposition (P) der Patienten im Sinne von Vorerkrankungen und genetischen Polymorphismen, die Infektion (I) durch Erregernachweis, die inflammatorische Reaktion (R) anhand der SIRS-Kriterien, Sepsiszeichen und eine Erhöhung des C-reaktiven Proteins sowie die Organdysfunktion (O) nach Scores wie z.B. dem sequential organ failure assessment (SOFA) und dem logistic organ dysfunction system (LODS).[7]

1.1.3 Inzidenz und Mortalität

Sepsis als bedeutendes Problem auf Intensivtherapiestationen ist verbunden mit hoher Morbidität, Mortalität und auch mit immensen Krankenhauskosten.[10]

In den letzten Jahren ist die Inzidenz der Sepsis deutlich angestiegen, was auf z.B. zunehmende immunsuppressive Behandlungen, wie auch die vermehrte Anwendung diagnostischer und therapeutisch invasiver Prozeduren zurückzuführen ist.[11,12] Desweiteren erhöhte sich die Zahl älterer multimorbider Patienten aufgrund der höheren Lebenserwartung in den Industrienationen. Auch die verbesserten Überlebensraten bei für eine Sepsis prädisponierten Patientengruppen, wie z.B. Frühgeborenen, waren dafür ausschlaggebend.

Ungefähr 10% aller Intensivtherapiepatienten erleiden eine Sepsis, 6% eine schwere Sepsis und 2-3% einen septischen Schock. Die Letalität ist trotz großer medizinischer Fortschritte unverändert hoch bei 30-40% und steigt bei Patienten im septischen Schock sogar auf mehr als 70% an.[11,13]

In Deutschland führte das vom Bundesministerium für Forschung geförderte Kompetenznetzwerk Sepsis (SepNet) vom 15.01.2003-14.01.2004 auf 454 Intensivtherapiestationen (ITS) in 310 Krankenhäusern eine prospektive Querschnittsstudie durch. Von den genannten Krankenhäusern waren 3% Universitätskliniken, 34% akademische Lehrkrankenhäuser und 56% allgemeine Krankenhäuser. Ziel war es, die Prävalenz, Letalität, anteilige Kosten, sowie die Diagnose und Therapiepraktiken bei der Sepsis zu ermitteln. 3877 ITS-Patienten über

18 Jahre wurden auf das Vorhandensein der ACCP/SCCM Sepsis-Kriterien von erfahrenen Intensivmedizinern des SepNets gescreent. Die Prävalenz der Infektion betrug 34,7%. Eine Sepsis ohne infektionsortfernes Organversagen hatten 12% und eine schwere Sepsis bzw. einen septischen Schock hatten 11% aller beurteilten Patienten. Auf Deutschland hochgerechnet bedeutet dies, dass pro Jahr 79000 Patienten an einer Sepsis und 75000 an einer schweren Sepsis erkranken. Damit stellen die septischen Erkrankungen die siebenthäufigste Krankenhausentlassungsdiagnose unter den lebensbedrohlichen Erkrankungen dar. Die 90-Tage-Sterblichkeit von Patienten mit schwerer Sepsis betrug 54%. Mit 60000 Todesfällen sind septische Erkrankungen die dritthäufigste Todesursache nach dem akuten Myokardinfarkt, aber vor der Herzinsuffizienz, in Deutschland. In Übereinstimmung mit epidemiologischen Studien aus den USA und Europa sind Atemwegsinfektionen mit 63% gefolgt von intraabdominalen Infektionen mit 25,3% der häufigste Infektionsfokus bei Patienten mit schwerer Sepsis.[14]

Allein die Kosten für die intensivmedizinische Behandlung von Patienten mit schwerer Sepsis liegen bei ca 1,77 Milliarden Euro. Damit werden 30% des Budgets für Intensivmedizin in die Behandlung der Sepsis investiert.[14]

Diese Aspekte verleihen der Therapie der Sepsis eine große klinische und sozioökonomische Relevanz.

1.1.4 Bedeutung des Intestinums

Führt eine Sepsis zum Multiorganversagen, kommt es zur Zentralisation des Kreislaufs mit einer Perfusionsumverteilung zugunsten der Vitalorgane Gehirn und Herz. Dieser zunächst sinnvolle Schritt kann bei längerem Fortbestehen zur Schädigung des Gesamtorganismus führen. Das Intestinum mit einer hohen Konzentration an α -1-Rezeptoren gehört in kritischen Situationen aufgrund der sympathikoadrenergen Reaktion zu den primär minderperfundierten Organen. Durch die folgende Ischämie wird die Integrität der natürlichen Darmbarriere gestört, was wiederum negative Auswirkungen auf das Multiorganversagen haben kann.[15] Aufgrunddessen betrachtet man den Darm heutzutage als Motor des Multiorganversagens.[16,17] Im Bereich der Mukosa, die eine sehr effektive Barriere gegen enterale Mikroorganismen darstellt, besteht ein Gegendiffusionsprinzip. Die zentrale Villusarteriole verzweigt sich erst an der Zottenspitze und zu ihr parallel verläuft das abführende kapillär-venöse System. Es kommt bereits an der Zottenbasis aufgrund des hohen Gradienten zu einem starken

pO₂-Abfall im arteriellen Blut. Der septische Schock mit Blutdruckabfall führt durch die Minderversorgung der Zottenspitze zur selektiven ischämischen Schädigung dieser „letzten Wiese“ mit einem nachfolgenden Ödem der Lamina propria und letztendlich Epithelnekrosen.[18] Durch diese Läsionen steigt die Permeabilität der Darmmukosa und die Barrierefunktion ist gestört. Histologisch spricht man vom durchlässigen Darm – „leaky-gut“.[15,19] Die daraus resultierende Ausbreitung von Bakterien wird als bakterielle Translokation bezeichnet. Das Intestinum fungiert nun als „undrained abscess“.[20,21] Durch die gestörte Barrierefunktion wird das Darm-assoziierte lymphatische Gewebe („gut-associated lymphatic tissue“, GALT) als eines der umfangreichsten lymphatischen Gewebe im menschlichen Organismus aktiviert. Es resultiert eine Aggravation des Sepsisgeschehens in Form einer „Mediatorexplosion“ durch das massive Einwirken der antigenen Strukturen, die positive Rückkopplung der humoralen und zellulären Systeme, sowie durch die Beeinträchtigung der Kontrollmechanismen.[9,15]

Bei einer Reperfusion des Darms wird mit der Anlieferung von Sauerstoff über eine Aktivierung der Xanthinoxidase Xanthin zu Hypoxanthin umgewandelt. Dabei entstehen Sauerstoffradikale, die zu einer weiteren Schädigung der Darmmukosa führen.[22,23]

1.1.5 Ätiologie der Sepsis

Zu einer Sepsis kommt es, wenn der Körper systemisch auf eine zugrundeliegende Infektion durch Bakterien, Viren, Pilze oder auch Parasiten reagiert. Eine systemische inflammatorische Reaktion ohne Infektherd bezeichnet man als SIRS, diese wird durch Ereignisse wie z.B. Trauma, Reperfusion, hypovolämischen/hämorrhagischen Schock, Pankreatitis und extrakorporale Zirkulation hervorgerufen.[8]

Da sich die Sepsis und das SIRS in pathogenetischer und ätiologischer Hinsicht kaum unterscheiden, werden die pathophysiologischen Vorgänge exemplarisch anhand einer durch gramnegative Erreger ausgelösten Sepsis erläutert. Auch in unserem tierexperimentellen Modell wurde zur Auslösung der Sepsis ein Toxin des gramnegativen Erregers *Escherichia coli* (*E. coli*), genannt Lipopolysaccharid (LPS), eingesetzt.

Gramnegative Infektionen spielten in den 60er und 70er Jahren eine bedeutende Rolle. In den letzten Jahren nahmen die grampositiven Infektionen, die zu einer Sepsis führten zu, so dass man heutzutage von einem 50:50 Verhältnis ausgeht.[24]

1.1.5.1 Endotoxin und Endotoxinrezeptoren

Endotoxin, synonym wird auch der Begriff Lipopolysaccharid (LPS) verwendet, wurde Ende des 19. Jahrhunderts als Zellwandbestandteil gramnegativer Bakterien, wie z.B. E. coli und Salmonellen, entdeckt. Nach Lyse der Bakterien durch immunkompetente Zellen oder bakterizide Antibiotika kommt es zur Freisetzung des Endotoxins. Durch Bindung an spezifische Endotoxinrezeptoren werden Signalkaskaden aktiviert, die zur erhöhten Produktion und Freisetzung proinflammatorischer Zytokine führen. Obwohl auch antiinflammatorische Zytokine in verstärktem Ausmaß sezerniert werden, kommt es insgesamt zu einem Überwiegen der proinflammatorischen Mediatorwirkung und zu einer systemischen Entzündungsreaktion mit nachfolgender Störung der Makro- und Mikrozirkulation.[25]

Der Grundaufbau des LPS stimmt bei vielen gramnegativen Bakterien überein. Man kann es in 3 Regionen unterteilen, den biologisch aktiven und endotoxisch wirksamen, stark hydrophoben Lipid A-Teil, der über die Core-Region mit einem O-Polysaccharid-Teil (O-Antigen) verbunden ist.

Das O-Antigen variiert zwischen den Bakterienstämmen und -spezies stark. Die sich wiederholenden Einheiten des O-Antigens bestehen aus einem bis zu acht Glykosyl-Resten und unterscheiden sich z.B. in der Art der enthaltenen Zuckerreste, deren Sequenz und Anordnung. Das O-Antigen ist der äußere Teil des LPS-Moleküls. und wird von den Bakterien an deren Oberfläche präsentiert. Dieser Bestandteil des Endotoxins wird im Rahmen einer Infektion des Organismus zum Ziel serotypspezifischer Antikörper, die zur Opsonierung und Phagozytose des Bakteriums führen (serotypspezifische Immunantwort). Aufgrund der hohen O-Antigen-Spezifität der Antikörper kann auch eine Typisierung der verschiedenen Bakterien vorgenommen werden („fingerprint“). Außerdem spielt der O-Polysaccharid-Teil bei der Aktivierung und Hemmung des Komplementsystems eine Rolle. Das O-Antigen ist jedoch, wenn es in Abwesenheit von Lipid A Tieren verabreicht wird, wenig toxisch.[26,27]

Die Core-Region als Verbindungsglied kann ihrerseits noch in einen inneren, proximal dem Lipid A, und einen äußeren, der Bakterienoberfläche zugewandten, Teil untergliedert werden. Die Molekularstruktur dieser Region ist unter verschiedenen Bakterienspezies relativ identisch. Zur Veranschaulichung: es gibt zur Zeit 160 identifizierte O-Serotypen allein für Escheria coli, aber nur 5 unterschiedliche Core-Strukturen wurden bisher entdeckt.[26]

Durch die Entwicklung von synthetischem Lipid A konnte festgestellt werden, dass auch die alleinige Gabe, ohne die O-Antigen- und Core-Komponente, einen Großteil der pathophysiologischen Veränderungen im septischen Geschehen hervorruft.[28] Die Lipidkomponente des LPS ist essentiell für die Bindung durch immunkompetente Zellen. Das Lipid A als endotoxisches Zentrum des LPS wird beim nativen Bakterium vom O-Antigen verdeckt und erst bei Zerstörung, oder Wachstum der Bakterien freigesetzt [29] Es besteht aus einem β -D-GlcN-(1-6)- α -D-GlcN-Disaccharid, der am höchsten konservierten Struktur der verschiedenen LPS-Einheiten, das in den Positionen 1 und 4' Phosphorylgruppen trägt und mit bis zu 4 Acylketten substituiert ist. An diese Ketten können Fettsäuren angehängt sein, welche die Substitution von bis zu 3 weiteren Acylgruppen ermöglichen. Die Anzahl der Acylketten und der Phosphorylgruppen hat maßgeblichen Einfluss auf die Endotoxizität der verschiedenen Bakterien. *Escherichia coli* (*E. coli*) hat in Position 1 und 4' eine Phosphatgruppe und ist 1000fach stärker endotoxisch wirksam als *Bacteroides fragilis* mit nur 1 Phosphatgruppe. Desweiteren hat *E. coli* 6 (4+2) Acylketten und damit eine höhere Endotoxizität als z.B. *Pseudomonas aeruginosa* mit 5 (3+2) Acylketten. [26,30] Durch die spezielle Struktur des *E. coli*-Lipid A ist dieses Bakterium in der Lage, bei Säugetieren seine volle endotoxische Wirkung zu entfalten.[26]

Wenn Endotoxin in den menschlichen Organismus gelangt, werden eine Reihe von Signalerumproteinen aktiviert, die mit LPS eine Bindung eingehen und zur Aktivierung von Entzündungszellen (PMN/Makrophagen) führen und damit zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren.[31] Es gibt Serumproteine, die durch Bindung von Endotoxin dessen Wirkung neutralisieren und die Toxizität herabsetzen können. Als Beispiele seien das High Density Lipoprotein (HDL) und das Bactericidal Permeability Increasing Protein (BPI) genannt. Werden große Mengen LPS im Intravasalraum freigesetzt, wird aus neutrophilen Granulozyten vermehrt BPI sezerniert, das serotypunabhängig den Lipid A-Teil des LPS binden und so die durch das Endotoxin ausgelöste Immunreaktion beschränken kann. In einer experimentellen Studie an Mäusen, Ratten und Kaninchen konnte durch eine BPI-Applikation vor, während und auch nach LPS-Gabe eine protektive Wirkung verzeichnet werden. Dennoch sind die physiologisch vorkommenden LPS-abschwächenden Proteine nicht in der Lage, eine systemische Inflammationsreaktion abzuwenden, da dem eine unzureichende Regulation proinflammatorischer Mediatoren im Wege steht.[32]

Desweiteren existiert im Plasma das LPS-bindende Protein (LBP), ein Akutphase-Protein, das mit LPS einen Komplex bildet und dessen Bindung an den LPS-Rezeptor, das CD14-Glykoprotein, katalysieren kann.[31] Der LPS/LPB-Komplex induziert in Alveolarmakrophagen von Kaninchen eine 100fach höhere TNF- α Produktion als LPS alleine. Auch am Transport vom LPS zum endotoxinneutralisierenden HDL ist das LBP beteiligt.[32]

Das membranständige CD14 (mCD14) ist auf der Oberfläche aktivierter Monozyten, Makrophagen und Granulozyten zu finden, an denen es über einen Glycophosphatidylinositol-Anker (GPI) haftet. Das CD14-Protein existiert auch in gelöster Form (sCD14), entweder durch eine Abspaltung von der Membran entstanden, oder als GPI-freies CD14-Molekül gebildet. Es ist in der Lage direkt mit LPS in Verbindung zu treten. Diese Reaktion läuft aber deutlich langsamer ab, als unter dem katalytischen Einfluss von LBP. Der sCD14/LPS-Komplex kann auch an CD14 negative Zellen, wie z.B. Endothelzellen und einige Epithelzellen binden, diese für LPS sensibilisieren und deren Cytokinproduktion induzieren.[33] Bei hohen LPS-Mengen wird dem sCD14 ebenso wie dem LBP eine neutralisierende Wirkung zugeschrieben. Durch Bindung von LPS an erhöhte Mengen sCD14 wird eine überschießende Reaktion mCD14-positiver Zellen verhindert.[32]

Um bei Endotoxinämie die Signaltransduktion in die Zelle zu gewährleisten, sind Transmembranrezeptoren, die sogenannten Toll-Rezeptoren notwendig. Toll-Rezeptoren („toll-like receptor“, TLR) gehören zur Familie der IL1-Rezeptoren (IL-1Rs). Sie vermitteln eine angeborene bzw. in der frühen Entwicklung erworbene Immunität („innate immunity“) und richten sich gegen Strukturen auf der Oberfläche von Bakterien, genannt „pathogen associated molecular patterns“ (PAMPs).[34] Toll-Rezeptoren haben eine hochkonservierte cytoplasmatische Region, die Toll/IL-1R-Region (TIR), die aus etwa 200 Aminosäuren besteht, die auf 3 Domänen aufgeteilt sind. Die extrazelluläre Domäne besitzt sich wiederholende leucinreiche Regionen (leucin rich repeats).[35] LPS sendet seine Signale über den Toll-like-Receptor 4 (TLR4) und seinen Kofaktor MD2, mit dem es indirekt über eine Assoziation mit zCD14 interagiert.[34,36,37] Durch die Bindung von LPS an den extrazellulären Anteil des TLR wird die TIR-Domäne dazu veranlasst, an ein Adaptorprotein (MyD88) zu binden, das ebenfalls eine TIR-Domäne besitzt, und es zu aktivieren. MyD88 hat eine weitere Domäne, die sogenannte Todesdomäne, die Protein-Protein-Wechselwirkungen vermittelt. Über diese Dömäne kann MyD88 mit der Todesdomäne der IL-1R-assoziierten Kinase (IRAK) interagieren.

Dadurch wird eine Kinase-Aktivierungskaskade in Gang gesetzt, die schlussendlich dazu führt, dass NF- κ B in den Zellkern eindringen und Gene aktivieren kann, die am Schutz des Wirtes gegen eine Infektion beteiligt sind.[38,39]

Wie schon erwähnt, können diese Toll-like-4-Rezeptoren die Pathogene jedoch nicht direkt erkennen und sind auf das Glykoprotein CD14, den Makrophagenrezeptor für LPS und auf MD2 angewiesen. Die extrazelluläre Domäne des mCD14 bindet über eine leucinreiche Region an den TLR4- MD2-Komplex. MD2 ist ein gesondertes Molekül, das mit TLR4 ebenfalls über eine extrazelluläre Domäne interagiert und für die Signaltransduktion essentiell ist.[31]

LPS ist auch in der Lage in Abwesenheit von CD14 eine Reaktion im Organismus durch zusätzliche CD14-unabhängige Endotoxin-Signal-Übermittlungswege auszulösen, dabei spielen z.B. die leukozytären LPS-Rezeptoren der Familie der CD11b/CD18-Glykoproteine, auch β 2-Integrin oder Mac-1 Antigen genannt, eine Rolle.[40,41] Auch sogenannte Scavenger-Rezeptoren auf Makrophagen können LPS erkennen und zu dessen Neutralisierung führen. Die Bindung an diese Rezeptoren führt jedoch zu keiner Aktivierung der Makrophagen und Monozyten.[42,43,44]

1.1.6 Pathogenese der Sepsis

Wenn der Körper auf die Anwesenheit von Endotoxin im Organismus reagiert, kommt es zu einer Aktivierung verschiedener Kaskadensysteme. Beispiele sind die Ausschüttung von Zytokinen, Produktion reaktiver Sauerstoffspezies, Aktivierung der Gerinnungskaskade, Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und Granulozyten, Aktivierung des Komplementsystems, Freisetzung von Arachidonsäuremetaboliten und Vasodilatoren.[32,45] Im Normalfall findet eine adäquate Immunreaktion statt und die Infektion wird beseitigt. Eine überschießende Antwort des Immunsystems wie im septischen Geschehen führt zur Schädigung des Organismus bis hin zum Tode.[46]

1.1.6.1 Zytokine

Zytokine sind eine heterogene Gruppe von kleinen Proteinen (ca. 5-30 kDa) mit einer Vielzahl biologischer Einzelwirkungen, die wie Hormone als humorale Regulatorsubstanzen schon in kleinsten Konzentrationen wirken. Die Expression der meisten Zytokine unterliegt einer strikten Kontrolle, sie werden gewöhnlich nur von

aktivierten Zellen (z.B. Makrophagen) als Antwort auf ein Induktionssignal gebildet. Viele Zytokine zeigen stimulierende und inhibierende Aktivitäten und können sowohl synergistisch als auch antagonisierend auf die Wirkung anderer Faktoren Einfluss nehmen. Zytokine wirken im Normalfall nur lokal, um z.B. als Entzündungsmediatoren einen Infektionsherd einzudämmen.[47] Wenn sich eine lokal begrenzte Infektion jedoch zu einer Sepsis entwickelt, kommt es zu einer starken Reaktion des Organismus mit systemischer Freisetzung von Zytokinen und fatalen Folgen. Zu den proinflammatorischen Zytokinen, die bei der Sepsis eine Rolle spielen, gehören Tumornekrosefaktor α (TNF- α), das synergistisch zu TNF- α wirkende Interleukin-1 β (IL-1 β), desweiteren z.B. Interleukin-6 und -8 (IL-6, IL-8), sowie Interferon- γ (IFN- γ). Zu den antiinflammatorischen Interleukinen gehört Interleukin-10 (IL-10), das bei durch Endotoxin aktivierten Makrophagen die Freisetzung von TNF α , IL-1 und IL-6 hemmt.[45] TNF- α rekrutiert und aktiviert Monozyten und Makrophagen und stimuliert so die eigene und auch die Freisetzung weiterer proinflammatorischer Zytokine und Akutphase-Proteine. Es entfaltet seine Wirkung über spezielle Rezeptoren, die unter anderem auf der Zelloberfläche von Leukozyten und Endothelzellen zu finden sind. Dort induziert TNF- α die Expression von Adhäsionsmolekülen, regt Leukozyten zur Bildung von Radikalen an und hat einen prokoagulatorischen Einfluss.[32,48,49]

1.1.6.2 Gerinnungssystem

Bei Patienten mit Sepsis findet man häufig laborchemische Veränderungen der Gerinnungsparameter. Zu nennen sind eine verlängerte Prothrombinzeit bzw. verminderte Quick-Werte, hohe und in schweren Fällen auch niedrige Fibrinogenkonzentrationen, eine verminderte Konzentration von Antithrombin und Protein C. Weiterhin kommt es zu Zeichen einer Gerinnungsaktivierung, z.B. erhöhtes D-Dimer-Antigen sowie eine niedrige Thrombozytenkonzentration und gestörte Funktion der Thrombozyten.

Auslöser der Gerinnungsaktivierung im Rahmen einer Sepsis ist meist die Expression von Gewebsthromboplastin („tissue factor“, TF) auf Monozyten und Neutrophilen als Reaktion auf Endotoxin, bakterielle Peptidoglykane oder proinflammatorische Mediatoren, wie TNF- α und IL-1.[45,50] Die Produktion von TF wird durch NF- κ B hochreguliert, es kommt zur Aktivierung des extrinsischen Gerinnungssystems, woraus die Freisetzung von Thrombin und Bildung von Fibrin aus Fibrinogen resultiert.[51] TF

wird in den α -Granula und dem kanalikulären System von Thrombozyten gespeichert, bei Thrombozytenaktivierung auf der Zelloberfläche exponiert und aus thrombozytären Mikrovesikeln freigesetzt. Endothelzellen binden Thrombozyten und inflammatorische Zellen und können so ebenfalls eine Gerinnungsaktivierung begünstigen.[50]

Auf jede prokoagulatorische Reaktion folgt auch eine antikoagulatorische. Der „tissue factor pathway inhibitor“ (TFPI) kontrolliert hierbei den extrinsischen Gerinnungszweig. Antithrombin III (ATIII) neutralisiert die Serinproteasen FII sowie FXa der Gerinnungskaskade und hat hemmenden Einfluss auf den Gewebsthromboplastin/Faktor VIIa-Komplex.[52,53] Desweiteren werden für ATIII eigenständige antiinflammatorische Eigenschaften, wie die Verminderung der Biosynthese von TNF- α in Monozyten, die Reduktion der Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren aus Neutrophilen und die Hemmung der Leukozytenadhärenz an Endothelzellen beschrieben.

Der Thrombomodulin (TM)/Protein-C-Mechanismus inaktiviert die Kofaktoren Va und VIIIa, eine Reaktion, die durch den Kofaktor Protein S beschleunigt wird.[54] Die Aktivierung des hepatisch gebildeten Proenzym Protein C zur gerinnungshemmenden Serinprotease geschieht durch Abspaltung eines Peptids. Diese Aktivierung findet auf intakten Endothelzellen im Gefolge des in Spuren gebildeten Thrombins statt. Dabei bindet Thrombin an den endothelialen Rezeptor Thrombomodulin und der entstehende Thrombin-TM-Komplex aktiviert Protein C. Die Bildung von aktiviertem Protein C (APC) wird durch den endothelialen Protein-C-Rezeptor (EPCR) etwa 20fach beschleunigt.[54] Dadurch, dass TM mit dem Thrombin eine Verbindung eingeht, kann dieses weniger prokoagulatorische Effekte auf Fibrinogen oder auch Thrombozyten ausüben.[53] Verschiedene Mechanismen bewirken eine direkte antiinflammatorische Wirkung von Protein C. Dies betrifft z.B. die verminderte TNF- α -Bildung in Monozyten, die Synthese des Migrationsinhibitionsfaktors (MIF), die gehemmte Leukozytenadhäsion an endothelialen Selektinen, die Apoptosehemmung von Endothelzellen und auch die Inhibition der Transkription und Synthese von proinflammatorischen Mediatoren.[54] Plasmin zersetzt Fibrin und es entstehen D-Dimere.

Im Zustand der Homöostase besteht zwischen dem pro- und dem antikoagulatorischen System ein fein abgestimmtes Gleichgewicht, das im Falle der Sepsis dahingehend gestört ist, dass die Spiegel von ATIII und Protein C herabgesetzt sind, die Fibrinolyse beeinträchtigt ist und TF vermehrt exprimiert wird.[51] Es kommt zur disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC).[45] Dabei ist die Entwicklung einer manifesten DIC durch

die Dysregulation sowohl des plasmatischen Gerinnungssystems, des thrombozytären Systems, der Fibrinolyse und der endothelialen Funktion gekennzeichnet.[18]

Bei den meisten septischen Patienten ist eine Fibrinolyseaktivierung nachweisbar. Wenn eine hohe Fibrinogenkonzentration mit Fibrinolyseaktivierung einhergeht, zeigt dies ein Ungleichgewicht zwischen prokoagulatorischer Kapazität und Fibrinolyse an. Nicht niedrige, sondern hohe Fibrinogenspiegel weisen bei Patienten mit DIC auf eine ungünstige klinische Prognose hin.[50]

Die Serinproteasen der Gerinnungskaskade sind auch in der Lage, über proteaseabhängige Rezeptoren auf der Oberfläche von Monozyten und Endothelzellen diese zu aktivieren und so zur weiteren Freisetzung von Entzündungsmediatoren zu führen. Ein solcher Mediator wäre z.B. das proinflammatorische Interleukin-6, das wiederum zu steigender Thrombozytenproduktion führt.[55]

Auch zu nennen ist der Gerinnungsfaktor IIa (Thrombin), der an der Änderung der Form, der Permeabilität und der Proliferation von Endothelzellen beteiligt ist. Diese Änderungen kommen durch eine von Thrombin induzierte vermehrte Expression von membranständigen Selektinen (E-Selektin und P-Selektin), dem interzellulären Adhäsionsmolekül 1 (ICAM-1) sowie dem „vascular cell adhesion molecule 1“ (VCAM-1) zustande. Zusätzlich induziert Thrombin in Endothelzellen z.B. die Bildung von „von Willebrand-Faktor“ (VWF), die vermehrte Expression von proteaseaktiviertem Rezeptor 1 (PAR-1) und die Freisetzung von „platelet activating factor“ (PAF).[56] Der PAF ist ein potenter Vasodilatator im Großteil des Gefäßbetts. An den pulmonalen, renalen und koronaren Gefäßen wirkt er jedoch als Vasokonstriktor. Außerdem erhöht er die Gefäßwandpermeabilität und führt zur Aggregation von Thrombozyten und auch Neutrophilen. Durch die Neutrophilendegranulation kommt es wiederum zur Ausschüttung von Leukotrienen und zur Superoxidproduktion.[45]

Durch die Stimulation des Faktors XII durch Endotoxin wird die intrinsische Gerinnungskaskade in Gang gesetzt, die schlussendlich zur Bradykininfreisetzung führt. Das Kinin wirkt dilatierend auf die Blutgefäße und steigert die Gefäßwandpermeabilität, dies kann durch die folgende Hypotension zum septischen Schock führen.[45]

1.1.6.3 Reaktive Sauerstoffspezies

Die reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sind weitere wichtige Mediatoren im Sepsisgeschehen, die aufgrund der vorgeschalteten Aktivierungsvorgänge zu den sekundären inflammatorischen Mediatoren gezählt werden.[32] In diese Gruppe

gehören freie Sauerstoffradikale wie Superoxidradikale und Hydroxyradikale, aber auch oxidierende Substanzen ohne Radikalcharakter, z.B. Wasserstoffperoxid, Singulett-Sauerstoff, Hypochlorit, Ozon und Stickstoffmonoxid (NO).[57]

Unter einem freien Radikal versteht man ein Atom oder Molekül, das ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzt. Freie Radikale sind sehr reaktiv und bestrebt, ihre Elektronenhülle aufzufüllen und damit einen stabilen Zustand zu erreichen. Die Umwandlung von molekularem Sauerstoff zu einem toxischen Sauerstoffradikal erfolgt mittels Übertragung eines Elektrons in der mitochondrialen bzw. mikrosomalen Elektronentransportkette oder durch oxidative Enzymsysteme wie die Xanthinoxidase, die Aldehydoxidase, die Flavindehydrogenase, die Aminooxidase, die Cyclooxygenase (COX), die Lipoxygenase, das Cytochrom P-450 und die NADPH-Oxidase.[57]

Während der Endotoxinämie entstehen in großem Ausmaß freie Sauerstoffradikale in Neutrophilen, Eosinophilen, Monozyten und vor allem Makrophagen.[58] Deren Aktivierung führt zu einer bis auf das 80fache gesteigerten Sauerstoffaufnahme, ein Phänomen, das man „respiratory burst“ nennt. Dieser Sauerstoff wird durch die NADPH-Oxidase umgesetzt, die die schnelle Reduktion von Sauerstoff zum Superoxidanion ($O_2^{\cdot-}$) katalysiert. Dieses Enzym befindet sich in der Zellmembran der Leukozyten und wird nach deren Aktivierung stimuliert.[48] Im Normalfall wirkt das Superoxidradikal in Phagozytenvakuolen an der Zerstörung eingeschlossener Bakterien mit. Es kann aber auch an den Extrazellulärraum abgegeben werden. Die Superoxiddismutase (SOD) wandelt den größten Teil der Superoxidanionen in Wasserstoffperoxid (H_2O_2) um. $O_2^{\cdot-}$ und H_2O_2 haben selbst nur geringe antibakterielle Wirkungen, stellen aber Vorläufer wirksamerer Verbindungen dar. In der durch freies Eisen katalysierten Haber/Weiss-Fenton-Reaktion werden $O_2^{\cdot-}$ und H_2O_2 zum Hydroxylradikal und Singulett-Sauerstoff umgesetzt.[57]

Hydroxylradikal und Singulett-Sauerstoff reagieren sofort nach ihrer Entstehung mit zahlreichen organischen Molekülen und können gewebschädigende Prozesse, wie die Lipidperoxidation, initiieren. Bei der Lipidperoxidation kommt es durch Wasserstoffabspaltung von einem Fettsäuremolekül und Anlagerung eines Sauerstoffmoleküls zur Bildung von Lipoxy- und Alkyloxyradikalen. Außerdem kommt es während des Lipidperoxidationsprozesses auch zur Bildung von Singulett-Sauerstoff, der seinerseits wiederum zur Fortsetzung der radikalischen Kettenreaktion in den Lipiden führt. H_2O_2 kann auch direkt toxisch auf Endothelzellen wirken, oder mit Cl⁻ durch das Enzym Myeloperoxidase zu der langlebigen hypochlorigen Säure (HOCL)

verstoffwechselt werden. Die Hypochlorige Säure ist sehr reaktiv und besitzt bakterizide Wirkung.[48,57]

Beim sogenannten Ischämie-Reperfusionssyndrom kommt es zu einer initialen massiven Reduktion oder zu einer totalen Unterbrechung des Blutstroms. Dadurch wird die Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr unterbrochen und in der Folge akkumulieren Stoffwechselendprodukte im betroffenen Gewebe. Solche Vorgänge auf Ebene der Mikrozirkulation werden auch in endotoxämischen und septischen Zuständen beobachtet.[59] Bei der Reoxygenierung im Rahmen der Reperfusion des betroffenen ischämischen Gewebes gelangt molekularer Sauerstoff in dieses Gebiet. Durch die initiale Ischämie kommt es in den Endothelzellen zu einem vermehrten Anfall der Purinprodukte Hypoxanthin und Xanthin, die das Xanthinoxidase (XO)-Xanthindehydrogenase (XD)-System aktivieren. Die XO-Domäne katalysiert die Reaktion von Hypoxanthin und molekularem Sauerstoff zu Harnsäure. Da als Nebenprodukt Superoxidradikale entstehen, stellt das XO-XD-Enzymsystem eine weitere wichtige Quelle für die Entstehung von Sauerstoffradikalen dar.[57]

Die Sauerstoffradikale haben eine bedeutende bakterizide Wirkung und wirken bei der Gewebserneuerung mit. Werden sie jedoch im Überfluss produziert, kommt es auch zu einer Reihe negativer Wirkungen. Sie induzieren die Hydrolyse von Kohlenhydraten, bewirken Funktions- und Strukturänderungen von Proteinen, können zur Oxidation von Nukleinsäuren führen und so die „Desoxyribonukleinsäure“-Reparationsmechanismen stören. Über eine Stimulierung der Lipidperoxidation können sie Membranen destabilisieren und so zu einem Kapillarleck („capillary leak syndrome“) führen.[57]

Stabile Reaktionsprodukte wie das Malondialdehyd, das durch Lipidoxidation entsteht, können auch fernab von ihrem Entstehungsort Toxizität vermitteln.[60]

Durch den oxidativen Stress kommt es durch „stress response“-Gene zur Aktivierung von Kinasekaskaden, Inaktivierung von Protein-Tyrosin-Phosphatasen und auch zur Aktivierung des NF- κ B-Pathways. Dadurch werden wiederum Zytokine, Antioxidantien und Sauerstoffradikale abbauende Enzyme freigesetzt. Dies kann entweder zur Reparatur von Zellschäden oder bei einer systemischen Entzündungsreaktion zum gerichteten Zelltod führen.[32] Durch die anhaltende Freisetzung von Mediatoren werden im Sinne eines „circulus vitiosus“ erneut Leukozyten aktiviert.[61]

1.1.6.4 Komplementsystem

Die Komplementsystemaktivierung ist ursächlich für eine gesteigerte Freisetzung von TNF- α und IL-1.[62] Desweiteren kommt es zur Aktivierung der proinflammatorischen Komplementfaktoren C5a und C3a.[63] Diese stimulieren die Adhäsion und Degranulation von Lymphozyten.[64,65] Daraus folgt wiederum die Freisetzung von Sauerstoffradikalen. In Tiermodellen konnte die Antagonisierung von C5a mit spezifischem anti-C5a die Überlebensrate bei der Sepsis erhöhen.[10]

1.1.6.5 Arachidonsäuremetaboliten

Die Phagozytose von Mikroorganismen durch Makrophagen und Monozyten leitet zum einen den Cyclooxygenaseweg mit Bildung von Prostaglandinen (PG) und Thromboxanen (TX) und zum anderen den Lipoxygenaseweg mit Bildung von Leukotrienen ein. Diese Produkte werden zusammen nach ihrer chemischen Grundstruktur auch als Eicosanoide bezeichnet. PGE₂ spielt als Vasodilatator bei der Hypotension während der Sepsis eine Rolle. Es hemmt aber auch die Thrombozytenaggregation. TXA₂ verursacht eine pulmonale Gefäßkonstriktion und fördert die Thrombozytenaggregation. Leukotrien B₄ wirkt chemotaktisch und aktivierend auf polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMNs) und führt so zur Bildung von Superoxiden.[62]

1.1.7 Leukozyten und Leukozyten-Endothel-Interaktion

Während der Sepsis kommt es zu qualitativen und quantitativen Veränderungen des zirkulierenden Leukozytenpools. Dabei kann die Leukozytenzunahme Folge einer Mobilisierung ruhender wandständiger Leukozyten sein, aber auch auf einer vermehrten Freisetzung von teilweise unreifen Granulozyten aus dem Knochenmark durch z.B. Interleukine beruhen. Vermutlich kommt es unter dem Einfluss von Endotoxin und proinflammatorischen Zytokinen auch zur verzögerten Apoptose der Leukozyten. Eine Leukozytopenie hingegen kann Ausdruck einer gesteigerten Leukozytenadhäsion am Endothel, einer Migration ins Gewebe oder einer Beeinträchtigung der Stammzellreifung im Knochenmark sein.[25]

Die Mobilisierung von aktivierten Leukozyten zu Infektionsherden ist eine der wichtigsten Funktionen der angeborenen Immunität. Diese Mobilisierung ist Teil der Entzündungsreaktion und wird durch Chemokine vermittelt. Nachdem die Leukozyten

per Chemokingradient zum Ort der Entzündung gelockt wurden, kommt es zu einer durch Zelladhäsionsmoleküle hervorgerufenen Leukozyten-Endothel-Interaktion (LEI). Die Expression der Zelladhäsionsmoleküle an der Oberfläche des lokalen Blutgefäßendothels wird durch LPS, Zytokine und freie Radikale induziert.[65,66,67] Die Leukozyten-Endothel-Interaktion umfasst eine Sequenz von Vorgängen, die die Leukozytenmarginierung aus der Strommitte, die temporäre Interaktion der Leukozyten mit dem Endothel („Rolling“), die feste Leukozytenadhärenz („Sticking“) sowie die Diapedese der Leukozyten durch das Endothel und Migration in das umliegende Gewebe beinhaltet.[68,69] Entzündungsmediatoren (Sauerstoffradikale und Proteasen) dieser adhärierenden oder ins Gewebe migrierten Leukozyten, werden für die Endotoxin-induzierten Gewebeschäden verantwortlich gemacht.[18] Neben einer verstärkten LEI sind bei der Sepsis auch Störungen, z.B. der Migrationsfähigkeit der aktivierten Leukozyten beschrieben.[70] Durch die Akkumulation aktivierter Leukozyten kommt es neben einer mechanischen Flussbehinderung zur Freisetzung zytotoxischer Mediatoren und infolgedessen zur Schädigung des Gefäßendothels, dies kann zu Störungen der Mikrozirkulation und in Folge dessen zum konsekutiven Organversagen führen.[18,71]

Das temporäre Interagieren der Leukozyten mit dem Endothel („Rolling“) als einer der ersten Schritte der Leukozytenextravasation wird durch Selektine vermittelt. Die Selektine sind membranständige Glykoproteine mit einer distalen lektinähnlichen Domäne, die spezifische Kohlenhydratgruppen bindet. Vertreter dieser Familie werden auf aktiviertem Endothel exprimiert und lösen Wechselwirkungen zwischen Endothel und Leukozyten aus, indem sie an fucosylierte Oligosaccharidliganden auf vorbeikommenden Leukozyten binden.

L-Selektin (= Leukozyten-Selektin, Syn.: LECAM-1, LM:1, CD62L) ist das kleinste der Selektine und wird auch ohne Stimulation auf den meisten der zirkulierenden Leukozyten exprimiert. Es besitzt gleichzeitig sowohl Liganden- als auch Rezeptorfunktion. Zum einen kann es wie alle Selektine sLe^x-enthaltende Liganden binden und zum anderen präsentiert es selbst sLe^x-enthaltende Epitope.[72] Es besitzt Funktionen bei der Extravasation von Neutrophilen zum Inflammationslokus, sowie beim Lymphozytenhoming in periphere Lymphknoten.[73] Dabei ist das Haften der Leukozyten an „high endothelial venules“ ein physiologischer Prozess in den lymphatischen Organen und nicht Zeichen einer Entzündungsreaktion.[72,74]

P-Selektin (= Plättchen-Selektin, Syn.: PADGEM, CD62P) liegt in Endothelzellen und Thrombozyten in Granula, den sogenannten Weibel-Pallade-Körperchen, vor.[73,75,76] Es erscheint innerhalb weniger Minuten nach Stimulation des Endothels durch LPS, TNF- α , oder Wasserstoffperoxid auf aktivierten Endothelzellen.[77] Es ist das größte der bekannten Selektine und ragt ungefähr 40 nm aus der Endothelzelle heraus.[78] Vorrangig in der frühen Phase des Leukozyten-Rollings scheint dem P-Selektin eine bedeutende Rolle zuzukommen. Bei Mäusen mit P-Selektin-Expressionsdefizit konnte im Tierexperiment ein im Vergleich zu Wildtypmäusen verspätetes und auch geringeres Leukozyten-Rolling nach Auslagerung des Mesenteriums nachgewiesen werden.[73]

E-Selektin (= Endothel-Selektin, Syn.: ELAM-1, CD62E) wird ausschließlich auf der Oberfläche von aktivierten Endothelzellen gefunden. Das Ansteigen der E-Selektin-Expression beruht auf einer „de novo“-Proteinsynthese nach Cytokin-Stimulation, mit einem Maximum nach 4-6 Stunden.[76] Dieses E-Selektin kann von Granulozyten, Monozyten und einigen T-Zellsubpopulationen gebunden werden. Bei der Granulozytenmigration durch aktivierte Endothelzellen wird dem E-Selektin eine wichtige Funktion zugeschrieben. Allerdings werden hier noch alternative Mechanismen vermutet, da der Migrationsprozess länger anhält, als das E-Selektin exprimiert wird.[72]

Alle drei Selektine erkennen die sulfatisierte Sialyl-Lewis_x-Einheit (sLe^x, sialyl-CD15) von bestimmten Glykoproteinen der zirkulierenden Leukozyten. Die Sialyl-Lewis_x-Einheit dient vor allem als Ligand für Endothelzellen, an deren Oberfläche E- und P-Selektine exprimiert werden.[79] Ein weiterer potentieller Ligand für P- und L-Selektine ist das Glykolipid Sulfatid.[72] Die Wechselwirkung mit diesen Glykoproteinen und/oder Glykolipiden führt zu einer reversiblen Anheftung, die dann unmittelbar in eine rollende Bewegung übergeht, wobei dieses Rollen durch eine Vielzahl repetitiver Bindungen, bei denen die Scherkraft überwiegt, zustande kommt, so dass sich zirkulierende Leukozyten an Endothelien, die zuvor Kontakt mit inflammatorischen Zytokinen hatten, entlang der Flussrichtung bewegen. Diese Adhäsion ermöglicht die stärkeren Interaktionen beim nächsten Schritt der Leukozytenwanderung.[73,76]

Im entzündlichen Geschehen folgt auf das Leukozyten-Rolling fast regelmäßig die feste Adhärenz. Dabei besteht eine adhäsive Interaktion mit hoher Affinität zwischen Leukozyten und Endothel. Die meist gebrauchte Definition für einen adhären

Leukozyten (= Sticker) ist das stationäre Verharren für mindestens 30 Sekunden in postkapillären Venolen.[80]

Für eine festere Adhäsion der Leukozyten sind die interzellulären Adhäsionsmoleküle (ICAM) auf dem Endothel verantwortlich, die an Integrine auf den Leukozyten binden. Sie gehören zu einer Superfamilie der Immunglobuline, da sie den Immunglobulinen ähnlich gestaltete Domänen aufweisen.[71] Das Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1, CD54) wird in großem Ausmaß nach Einwirkung von Entzündungsmediatoren auf dem Endothel und einer Vielzahl anderer Zellen exprimiert. Ohne vorherige Stimulation durch z.B. TNF- α ist es nur auf wenigen Zellen zu finden.[78,80] Das ICAM-2 ist in geringen Mengen auf ruhendem Endothel in allen Blutgefäßen zu finden. Durch eine Entzündungsreaktion wird dessen Synthese nicht gesteigert. Es interagiert nur mit dem β 2-Integrin LFA-1 und spielt eine Rolle bei der Lymphozyten-Rezirkulation.[78] Ein anderes bedeutendes Adhäsionsmolekül für die mukosale Leukozyten Rezirkulation ist das „mucosal addressin cell adhesion molecule-1“ (MAdCAM-1). Es hat eine duale Funktion, da es neben Integrinen auch mit L-Selektin eine Bindung eingeht und somit auch das Leukozyten-Rolling vermitteln kann.[74]

Die Integrine sind heterodimere Glykoproteine, die aus einer α - und β -Untereinheit bestehen. Beide Einheiten sind Transmembranproteine, die ihren Hauptteil extrazellulär präsentieren. Bedeutende Subfamilien sind die β 1-(CD29), β 2-(CD18) und die β 3-(CD61) Integrine. Sie bestehen aus einer jeweils variablen α -Kette (CD11a-c) und einer allen Vertretern gemeinsamen β -Kette.[81] Auch die Integrine der β 2-Subfamilie enthalten alle die gleiche β -Kette (CD18), welche mit verschiedenen α -Untereinheiten verknüpft ist. Man unterscheidet das „lymphocyte function associated antigen-1“ (LFA-1, CD11a/CD18) - das β 2-Integrin auf Lymphozyten, den Mac-1 Rezeptor (CD11b/CD18) und zusätzlich das p150.95 /CD11c/CD18) - die β 2-Integrine auf Granulozyten und Monozyten.[25,78] Ein Fehlen dieser Integrine aufgrund eines genetischen Defektes äußert sich als Krankheitsbild mit dem Namen „Leukozyte Adhesion Deficiency Syndrome“. Es kommt zu rezidivierenden Infektionen, weil die Leukozyten nicht am Endothel anhaften und daher nicht zum Entzündungsfokus gelangen können.[79,82]

β 2-Integrine werden im wesentlichen auf allen ruhenden Leukozyten exprimiert und zeigen normalerweise nur eine schwache Adhäsivität durch Bindung an ICAM-1 und ICAM-2. Inflammatorische Mediatoren, wie Chemokine sind jedoch in der Lage durch G-Proteine eine intramolekulare Konformationsänderung von LFA-1 und Mac-1 auf dem

rollenden Leukozyten zu induzieren, wodurch sich die Adhäsionskapazität stark erhöht und die Leukozyten fest am Endothel haften.[74]

VCAM-1 (vascular-cell-adhesion-molecule-1) ist ein endothelialer Hauptligand für das β 1-Integrin VLA-4 (very-late-antigen-4). VCAM-1 wird auf zytokinstimulierten Endothelzellen, in einer Kinetik ähnlich der des ICAM-1, exprimiert und stellt einen zweiten Lymphozyten/Endothel-Adhäsionsmechanismus dar.[76] Auch beim Durchqueren der Leukozyten durch das Endothel spielen wieder LFA-1 und Mac-1 eine Rolle, sowie ein weiterer Adhäsionsmechanismus, an dem das „platelet endothelial cell adhesion molecule-1“ (PECAM-1, CD31) beteiligt ist. PECAM-1 wird sowohl auf Leukozyten, als auch an den Verbindungsstellen zwischen den Endothelzellen („tight junctions“) exprimiert. Es erlaubt den Leukozyten, sich durch diese hindurchzuzwängen und daraufhin mithilfe proteolytischer Enzyme die Basalmembran zu durchstoßen, um ins Gewebe zu gelangen. Die Passage durch die Gefäßwand wird als Diapedese bezeichnet. Schlussendlich wandern die Leukozyten unter dem Einfluss von Chemokinen durch das Gewebe.[71,83]

1.2 Therapeutische Optionen

Der Therapieerfolg ist vor allem von der frühzeitigen Diagnosestellung und Behandlung abhängig.

Im Jahre 2004 wurde die sogenannte „Surviving Sepsis Campaign“ (SSC) gegründet, eine Gruppe aus anfangs 30 internationalen Experten zum klinischen Umgang mit Sepsis. Das Ziel war, einheitliche therapeutische Richtlinien für das Management der schweren Sepsis und den septischen Schock zusammenzustellen und das Outcome septischer Patienten zu verbessern. Im Laufe der Jahre erhöhte sich die Expertenzahl und die Gruppe traf sich jährlich um die Richtlinien zu aktualisieren und dem neuesten Stand der Forschung anzupassen.[84]

In Deutschland wurden durch die Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI), dem deutschen Gesundheitssystem angepasste S2-Leitlinien erstellt.[85] Die im folgenden dargestellten Therapiestrategien sind in diesen Leitlinien enthalten und finden sich z.B. auf der Homepage der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) im Internet unter: <http://www.awmf-online.de> Die wesentlichen Inhalte sind in den Abschnitten 1.2.1 – 1.2.5 zusammengefasst.

1.2.1 Kausale Therapie

Zu den kausalen Therapien gehört die Fokussuche und –sanierung sowie eine frühe und adäquate Antibiotikatherapie. Dabei ist die Fokussanierung Grundvoraussetzung für eine effektive Therapie. Die antimikrobielle Medikation sollte auf das Risikoprofil des Patienten abgestimmt und an die Resistenzlage der jeweiligen Station angepasst werden.[86]

1.2.2 Supportive Therapie

Als supportive Therapie werden die hämodynamische Stabilisierung (z.B. durch differenzierte Volumen- und Katecholamingabe) sowie Airwaymanagement und Beatmung empfohlen, um eine adäquate zelluläre Sauerstoffversorgung aufrecht zu erhalten. Als hämodynamische Zielkriterien gelten hierbei:

- ZVD ≥ 8 bzw. ≥ 12 mmHg unter mechanischer Beatmung
- MAP ≥ 65 mmHg
- Diurese $\geq 0,5$ ml/kg/h
- zentralvenöse Sauerstoffsättigung (ScvO₂) $\geq 70\%$
- Laktat $\leq 1,5$ mmol/l bzw. Abfall des Laktats

Bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock wird die Indikation zur Intubation und Beatmung großzügig gestellt. Bei schwerer Tachypnoe (AF > 35/min), muskulärer Erschöpfung, Vigilanzminderung und bei einer pulsoxymetrischen Sättigung $\leq 90\%$ unter Sauerstoffinsufflation ist die Intubation indiziert. [87,88]

1.2.3 Adjunktive Therapie

Eine adjunktive Therapie ist eine Behandlung gemeinsam mit und zusätzlich zur kausalen und supportiven Therapie der Sepsis.

Rekombinantes humanes Protein C als adjuvantes Sepsistherapeutikum hat bei Patienten mit schwerer Sepsis und MOV bereits zu einer ersten statistisch signifikanten Senkung der 28-Tage-Gesamtletalität geführt.[89] Da jedoch das Blutungsrisiko erhöht werden kann, wird die Gabe zusätzlich zur Standardtherapie nur unter Beachtung der Kontraindikationen und bei Patienten mit Versagen von mindestens zwei Organen empfohlen.[89] Seit 2002 ist dieses Medikament zur Sepsistherapie zugelassen. Patienten mit einem niedrigen Schweregrad der schweren Sepsis sollten nicht mit rhAPC therapiert werden, da sich in einer weiterführenden Analyse der PROWESS-

(Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis) Studiendaten eine erhöhte 1-Jahres-Letalität zeigte.[29]

Grundsätzlich wird die Verabreichung von niedrig dosiertem Hydrocortison in einer Dosierung von 200-300 mg/d nach den aktuellen Leitlinien nicht mehr empfohlen, da es unter der Therapie neben einer Zunahme von Superinfektionen auch zu einer erhöhten Rate von Hypoglykämien und –natriämien kam. Lediglich bei Patienten mit therapierefraktärem septischen Schock kann die Gabe von niedrig dosiertem Hydrocortison noch erwogen werden.

Ebenfalls nur als adjunktive Therapie in Erwägung zu ziehen, bei Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock, sind:

- eine intensivierete Insulintherapie zur Senkung erhöhter Glukosespiegel (Schwellenwert von > 150 mg/dl)
- IMG-angereicherte Immunglobuline (ivIgGAM) bei Erwachsenen
- Selen

1.2.4 Andere supportive Therapien

Als weitere supportive Therapien werden in der Leitlinie empfohlen:

- Eine Thromboseprophylaxe, da Patienten mit schwerer Sepsis oder mit septischem Schock nur eine geringe kardiopulmonale Reserve für thromboembolische Komplikationen hat [90]
- Bevorzugt enterale, aber auch parenterale Ernährung [91]
- Glutamin bei kritisch Kranken, die langfristig ausschließlich parenteral ernährt werden
- Ulkusprophylaxe
- Bluttransfusionen bei einem Hb unter 7g/dl
- Anwendung von Sedierungsprotokollen

1.2.5 Weitere Therapieansätze

Viele verschiedene Substanzen und Behandlungsstrategien zur Sepsistherapie wurden in der Vergangenheit in experimentellen und klinischen Studien untersucht. Obwohl sich zum Teil günstige Effekte zeigten, konnte durch diese Therapien ein Vorteil für die Patienten in Bezug auf das Outcome bisher nicht nachgewiesen werden.

Beispiele hierfür sind:

Ibuprofen, Wachstumshormone, Prostaglandine, Pentoxifyllin, hoch dosiertes N-acetylcystein, hoch- und niedrig dosiertes Hydrocortison, Granulozyte colony stimulating factor (G-CSF), Immunonutrition, Bikarbonate bei Laktatazidose, Erythropoetin und Fresh Frozen Plasma (FFP)

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auch solche Therapieansätze weiter untersucht.

Es wurde der Einfluss zweier Antioxidantien auf die Mikrozirkulation bei Endotoxinämie untersucht. Es handelt sich um die kombinierte Gabe der Antioxidantien N-acetylcystein (NAC) und Tirilazad Mesylat (TM). N-acetylcystein als adjuvantes Therapeutikum wird von der Deutschen Sepsis-Gesellschaft nicht empfohlen, da bisher noch keine Behandlungsvorteile für diesen Therapieansatz nachgewiesen werden konnten.[92] Aus diesem Grund stellt unsere Untersuchung einen weiteren Beitrag dar, den im Pathomechanismus der Sepsis sinnvollen Einsatz der antioxidativ wirksamen Medikamente N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat zu untersuchen.

Die Aktion freier Radikale wird im Normalfall durch die antioxidativen Schutzsysteme des Körpers gehemmt. Der Organismus schützt sich einerseits durch Radikalfänger in Form von sauerstoffradikalabbauenden Enzymen, wie der Superoxiddismutase, der Katalase oder der Glutathionperoxidase, oder andererseits durch nichtenzymatische Radikalfänger wie z.B. Vitamin E, Vitamin C, β -Carotin und Vitamin A. Die Superoxiddismutase katalysiert die Bildung von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Sauerstoff aus dem Superoxidradikal. H_2O_2 wird anschließend über die Atmung direkt ausgeschieden oder durch die Enzyme Katalase und Glutathionperoxidase zu Wasser und Sauerstoff weitermetabolisiert. Die Glutathionperoxidase wandelt reduziertes Glutathion und Wasserstoffperoxid in oxidiertes Glutathion um. Vitamin E schützt als fettlösliches Antioxidans vor allem die Zellmembranen vor einer gesteigerten Lipidperoxidation. Vitamin C neutralisiert als wasserlösliches Antioxidans eine Reihe von Sauerstoffradikalmetaboliten. β -Carotin kann rasch oxidiert werden und so die Oxidation anderer Substanzen verhindern. Die antioxidative Wirksamkeit von Vitamin A liegt in der Reduktion der Lipidperoxidation.[48,57] Wenn es wie im Falle der Sepsis aber zu einer massiven Bildung von freien Radikalen kommt, sind die endogenen Schutzsysteme überlastet und es kommt zur Schädigung des Gewebes. Weiterhin ist bei septischen Patienten die Plasmakonzentration der antioxidativen Vitamine A, C, E und β -Carotin erniedrigt. Daneben zeigte sich ein Konzentrationsabfall der protektiven Enzymsysteme im Muskelgewebe. Im Plasma und in Erythrozyten von septischen Patienten wurden erhöhte Spiegel von Katalase und SOD festgestellt.[57]

Um die radikalische Belastung des Organismus zu verhindern, kann man zum einen versuchen, die Radikalbildung zu vermindern, zum anderen können Radikalfänger („radical scavenger“) in Form von sauerstoffradikalabbauenden Substanzen eingesetzt werden.[57]

Ein Beispiel für die erste Option ist das N-acetylcystein, über den zweiten Weg wirkt das Tirilazad Mesylat.

1.3 N-acetylcystein

1.3.1 Allgemeines

N-acetylcystein (NAC) ist ein Derivat der natürlich in Lebensmitteln vorkommenden Aminosäure L-cystein und wird in der täglichen Praxis als Mukolytikum bei bronchialen Infekten und als Antidot bei Vergiftungen mit Paracetamol eingesetzt.[93,94] Die Entdeckung, das NAC als Antidot gegen eine Vergiftung mit Acetaminophen (Paracetamolmetabolit), gab den ersten Hinweis auf die Wichtigkeit des NAC als Antioxidans.[95]

1.3.2 Pharmakokinetik

Bei oraler Verabreichung wird NAC schnell und vollständig resorbiert. Im Organismus findet man es vor allem in der Leber, den Nieren und den Lungen über Disulfidbrücken reversibel an Plasmaproteine gebunden und teilweise in freier Form. NAC wird in der Darmwand und bei der ersten Leberpassage zu Cystein deacetyliert. Die Hauptmetabolite sind Cystin und Cystein, daneben auch kleine Mengen Taurin und Sulfat. Die Ausscheidung erfolgt zu ca. 30% renal. Über den Mechanismus nicht-renaler Elimination liegen keine Untersuchungen vor.[94]

1.3.3 Pharmakodynamik

NAC ist in der Lage die zellulären antioxidativen Abwehrmechanismen wiederherzustellen, indem es über das Cystein als essentiellen Vorläufer der Glutathion-Synthese die intrazelluläre Glutathionkonzentration erhöht. Dem Glutathion kommt eine wichtige Rolle an den nukleophilen und antioxidativen Wirkmechanismen des menschlichen Organismus zuteil.[96,97] Es kann die bei bestimmten Intoxikationen entstehenden toxischen, reaktiven, elektrophilen Metabolite durch Bildung von inerten Komplexen inaktivieren. Die Inaktivierung der elektrophilen Verbindungen erfolgt durch

Konjugation, die Neutralisation der oxidierenden Substanzen durch Reduktion.[94] Im septischen Schock ist die Glutathionkonzentration erniedrigt.[96,97]

NAC, Cystein und Glutathion enthalten Schwefel-Hydryl-Gruppen, welche die Eigenschaft haben, die Disulfidbrücken der Mukoproteine des Schleimes zu reduzieren und so die Schleimviskosität zu verringern.[98] NAC kann durch seine reaktive SH-Gruppe auch direkt als Radikalfänger wirken und so dem oxidativen Stress entgegenwirken.[57,97] Außerdem reduziert NAC die NF- κ B-Aktivierung und damit die Genexpression von Zytokinen (z.B. TNF α , IL-8) und Adhäsionsmolekülen. In vitro und in vivo mindert NAC die Leukozytenadhärenz und Chemotaxis und verringert die Gefäßpermeabilität.[96,97,99,100,101]

1.3.4 Klinische Anwendung

Neben der Anwendung als Mykolytikum bei der Behandlung akuter und chronischer Erkrankungen des Respirationstraktes wird NAC als Antidot bei der Behandlung der akuten Paracetamol-Vergiftung und bei Leberversagen nach einer Paracetamolüberdosierung eingesetzt.[100,102] Paracetamol wird über das hepatische Cytochrom-P-450-System metabolisiert, wobei ein toxischer Metabolit entsteht, der mit Glutathion reagiert. Nach Umwandlung in ein Mercaptursäurekonjugat wird dieser Metabolit renal eliminiert. Werden sehr hohe Mengen von Paracetamol eingenommen, wird ein weiterer sonst ungenutzter Stoffwechselweg mit Arylierung von Zellproteinen in der Leberzelle eingeschlagen. Dosisabhängig kommt es zur Schädigung der Leberzelle, bis hin zur Leberzellnekrose. NAC kann, wenn es rechtzeitig appliziert wird, diesen pathologischen Vorgang durch seine pharmakodynamischen Eigenschaften verhindern oder aufhalten.[98] Auch bei Vergiftungen mit Acrylnitril, Methacrylnitril und Methylbromid ist NAC als Antidot wirksam.[102]

1.3.5 Ergebnisse bisheriger Untersuchungen

Tierexperimentelle Studien zeigten, das NAC bei endotoxämischen Tieren die Leukozytenadhäsion und die vaskuläre Permeabilität in postkapillären Venolen des Mesenteriums von Ratten, im Vergleich zu den Tieren die kein NAC erhielten, verringerte.[103] Bei septischen Schafen wurde durch NAC eine Inhibierung der Granulozytenaggregation erreicht.[95] In verschiedenen Tierexperimenten verminderte NAC die Ausschüttung inflammatorischer Mediatoren, wie z.B. TNF- α . [96,100,104] NAC konnte bei septischen Ratten die durch den oxidativen Stress bedingte Dysfunktion des

Nervus phrenikus günstig beeinflussen.[105] In klinischen Studien zeigte sich neben der antioxidativen Wirkung von NAC mit einer erhöhten Antioxidantienkapazität und einem verminderten Oxidationsstress auch die Inhibierung der Chemotaxis von Monozyten und humaner Neutrophiler.[100] Bei septischen Patienten mit einem „acute respiratory distress syndrome“ (ARDS) führte die Gabe von NAC zu einer Verbesserung der pulmonalen Hypertension, des Herzindex und der Sauerstoffanlieferung.[57] Spies et al. konnten in einer randomisierten prospektiven doppelblinden Studie mit 58 septischen Patienten eine Verbesserung der Gewebsoxygenation, ein Ansteigen des intramukosalen intestinalen pH-Wertes (pH_i), einen verminderten venös-arteriellen pCO_2 sowie eine erhöhte Überlebensrate von 69% bei den Patienten beobachten, die NAC erhielten und auch auf dieses reagierten (NAC-Responder). 55% der Studienpatienten, die das Medikament erhielten, waren NAC-Nonresponder. Bei den NAC-Nonrespondern zeigte sich kein signifikanter Unterschied der klinischen Parameter im Vergleich zu den Patienten der Placebogruppe, was zu der Vermutung führte, das NAC scheinbar nur in der frühen Phase der Sepsis wirkt, bevor es zu Störungen der Mikrozirkulation kommt.[106] In zwei weiteren klinischen Untersuchungen konnte durch die Gabe von NAC eine Verbesserung der Leberperfusion und -funktion erreicht werden.[97,107]

1.4 Tirilazad Mesylat

1.4.1 Allgemeines

In dem Bestreben Substanzen zu finden, die antioxidative Eigenschaften mit antiinflammatorischen Effekten verbinden und deshalb von Nutzen in der Sepsistherapie sein können, wurde die Aufmerksamkeit auf die erst kürzlich entwickelte Gruppe der Lazaroide gelenkt. In diese gehört auch Tirilazad Mesylat (TM), U74006F. Die Lazaroide sind Steroide, die am Kohlenstoffatom 21 mit einer Aminogruppe substituiert sind. Man nennt sie daher auch 21-Aminosteroid. Durch diese Aminogruppe können Lazaroide nicht an den Glukokortikoidrezeptor binden und haben daher keine glukokortikoide oder mineralokortikoide Wirkung.[108,109] Dadurch, dass sie keinen Effekt auf die Mitogen-stimulierende Zytokinstimulation haben, können sie auch keine rezeptorvermittelte Immunsuppression bewirken.[110]

1.4.2 Pharmakokinetik

Bei gesunden Patienten ist das TM zu 99% an Plasmaproteine gebunden. TM wird hepatisch metabolisiert. Die zwei entstehenden Metabolite (U-89678 und U-87999) werden dann zu ca. 80% biliär/ fäkal eliminiert.[111]

1.4.3 Pharmakodynamik

Lazaroide wirken an verschiedenen Membransystemen sehr effektiv als Fänger von Peroxyl- und Hydroxylradikalen, indem sie diese binden und so zu einer starken Hemmung der Lipidperoxidation führen. Aufgrund der hohen Affinität von Tirilazad Mesylat zu vaskulärem Endothel werden besonders die Endothelzellfunktionen vor einer Zerstörung durch Sauerstoffradikale geschützt. Durch die Inaktivierung von Radikalen verbessern Lazaroide die Mikrozirkulation, sie vermindern die Aktivierung von PMN-Leukozyten und die Stimulation von NF- κ B.[109,112] Außerdem trägt Tirilazad Mesylat dazu bei, dass der Zellmembrangehalt an Vitamin E, dem wichtigsten endogenen lipidlöslichen Antioxidans erhalten bleibt.[110] Lazaroide wie Tirilazad Mesylat bewirken eine Membranstabilisierung im Sinne einer verminderten Membranfluidität, sie nehmen innerhalb der Membran definierte Positionen in bestimmter Orientierung ein und verhindern durch diese Stabilisierung wiederum ein Voranschreiten der Lipidperoxydation.[113]

1.4.4 Klinische Anwendung

Tirilazad Mesylat wird in der Klinik bei aneurysmal bedingten Subarachnoidalblutungen eingesetzt, da es in der Lage ist, durch sein pharmakologisches Wirkungsprofil das Ausmaß sekundärer Gewebeschäden zu begrenzen und die Häufigkeit sowie die Stärke zerebraler Vasospasmen zu mindern. Die Zulassung als Therapeutikum bei Subarachnoidalblutung beschränkt sich auf männliche Patienten, da sich bei weiblichen Patienten, mit gleicher Dosierung (6 mg/kg/Tag), kein Benefit zeigte.[111,113]

1.4.5 Ergebnisse bisheriger Untersuchungen

In verschiedenen tierexperimentellen Studien konnten für die Lazaroide positive Effekte im septischen Schock und im Ischämie-/Reperusionsmodell nachgewiesen werden. Sie haben eine protektive Wirkung auf das Endothel und sind in der Lage die Leukozytenakkumulation im Gewebe zu reduzieren.[114,115,116,117] Zhang et al. beobachteten im Tierexperiment mit endotoxämischen Hunden eine Supprimierung der

Synthese von Inflammationsmediatoren durch TM [112] In einem Sepsismodell mit Ratten wurde durch TM eine verbesserte Überlebensrate nach 72 Stunden erreicht.[118]

Im Rahmen der klinischen „National Acute Spinal Cord Injury“-Studie (NASCIS III) wurde an Patienten mit akuter Rückenmarksverletzung die erwiesene Wirksamkeit der therapeutischen Gabe von Methylprednisolon mit der Gabe von TM verglichen. Als Ergebnis wurde festgestellt, dass wenn das Lazaroid in einem Zeitraum von 0-3 Stunden nach Trauma verabreicht wird, die Ergebnisse der therapeutischen Wirkung von TM mit der des Methylprednisolons vergleichbar sind.[113] In experimentellen und auch klinischen Studien zeigte TM protektive Effekte bei der Behandlung von zerebralen Ischämien. Bei der Behandlung von Subarachnoidalblutungen kam es bei Männern durch die Gabe von TM in einer Dosierung von 6mg/kg/Tag zu einer Begrenzung des Ausmaßes sekundärer zerebraler Gewebeschäden. Bei weiblichen Patienten zeigte das Medikament vermutlich aufgrund metabolischer Gegebenheiten in dieser Dosierung keine Wirksamkeit.[113] Klinische Studien zum Einsatz von TM bei Patienten mit Sepsis liegen bisher nicht vor.

2. Herleitung der Aufgabenstellung

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand die Untersuchung der intestinalen Mikrozirkulation unter Endotoxineinfluss, da es zahlreiche Anhaltspunkte gibt, dass den Splanchnikusorganen eine zentrale Rolle bei der Genese des septischen Multiorganversagens zukommt.

Freie Radikale stellen wichtige Mediatoren in der Pathogenese der Sepsis dar, sie sind auf verschiedenen Ebenen in die Vermittlung eines Gewebeschadens involviert. Die medikamentöse Entsorgung oder Inhibition der Bildung dieser toxischen Substanzen scheint daher ein sinnvoller Therapieansatz zu sein.

In Voruntersuchungen unserer Arbeitsgruppe wurden zunächst die Substanzen N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat bei gleichem Versuchsaufbau in Einzelgabe getestet. Veröffentlichte Studien liegen noch nicht vor, die Untersuchungen lassen aber auf positive Effekte vor allem auf die Leukozyten-Endothel-Interaktion der intestinalen Mikrozirkulation schließen. In Anlehnung an diese Ergebnisse und auch aufgrund der beschriebenen klinischen Studien wurden diese Substanzen in unserem Versuchsaufbau in Kombination gegeben. Im Fokus dieser Untersuchung stand der protektive Nutzen der Kombinationsgabe N-acetylcysteins und des Tirilazad Mesylat in Bezug auf die Mikrozirkulation der intestinalen Mukosa. In der verfassten Arbeit sollten in einem subletalen Endotoxinmodell folgende Fragen beantwortet werden:

1. In welchem Ausmaß verändert sich durch die Therapie mit der Medikamentenkombination N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat die Leukozytenadhärenz und die funktionelle Kapillardichte während der Endotoxinämie?
2. Hat die Gabe der Medikamentenkombination N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat einen Einfluss auf die Leukozytenzahl und die Antithrombin-III-Aktivität im peripheren Blut?
3. Welchen Einfluss haben die verwendeten Antioxidantien N-acetylcystein kombiniert mit Tirilazad Mesylat auf hämodynamische und laborchemische Parameter unseres Modells?
4. Welche hämodynamischen und biochemischen Veränderungen werden durch die Applikation einer subletalen Dosis Endotoxin im gewählten Versuchsmodell induziert?

3. Material und Methoden

3.1 Tiere und Tierhaltung

In dieser Studie wurden 30 männliche Wistarratten im Alter von 6-7 Wochen und einem Gewicht von 200-250 Gramm verwendet. Die Versuche fanden in dem Zeitraum von August 2002 bis Januar 2003 statt und orientierten sich an den Richtlinien zur Durchführung von Tierversuchen nach §2 sowie §8 des Tierschutzgesetzes. Sie wurden vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt. Die Tiere wurden im 12-stündigen Hell/Dunkelrhythmus in Standardkäfigen auf entstaubter Holzgranulatstreu gehalten. Die Raumtemperatur betrug 27°C und die Luftfeuchtigkeit ca. 60%. Sie hatten freien Zugang zu Wasser und Standardnahrung (Altromin® Pellets, Lage, Deutschland). Eine Woche nach Anlieferung wurden die Tiere den Versuchen zugeführt, nachdem ihnen zirka 9-18 Stunden vor Operationsbeginn die feste Nahrung entzogen wurde. Der Darm wurde präoperativ nicht dekontaminiert. Vor den Experimenten konnten bei keinem Tier klinische Zeichen einer Infektion festgestellt oder andere pathologische Befunde erhoben werden.

3.2 Gruppeneinteilung

Es erfolgte eine randomisierte Einteilung in 3 Untersuchungsgruppen à 10 Tiere pro Gruppe:

Tabelle 2: Gruppeneinteilung

Gruppe	LPS	N-acetylcystein	Tirilazad Mesylat
Kontrollgruppe	-	-	-
Endotoxingruppe	10 mg/kg KG	-	-
NAC/TM-Gruppe	10 mg/kg KG	150 mg/kg KG	10 mg/kg KG

3.3 Narkoseführung und Monitoring

Die Einleitung der Narkose erfolgte durch eine intraperitoneale Applikation von 60 mg/kg KG Pentobarbital (Pentobarbital Natrium, Synopharm GmbH, Barsbüttel, Deutschland). Die gewünschte Narkosetiefe galt als erreicht, wenn weder Corneal- noch Beugereflex nach Kneifen in den Schwanz auslösbar waren.[119,120] Ca. 10 min nach Verabreichung der Narkose wurden die Tiere mittels Klebestreifen an den Pfoten in Rückenlage auf eine Wärmeplatte fixiert. Die Wärmeplatte diente zur Aufrechterhaltung einer Körpertemperatur von $37 \pm 0,5$ °C, welche kontinuierlich rektal

gemessen wurde (Thermistorsonde, W233, RFT; Stassfurt, Deutschland). Alle Tiere wurden tracheotomiert und mit einem Plastikröhrchen (14G Braunüle, Braun, Melsungen, Deutschland) intubiert, um eine Verlegung der oberen Atemwege zu vermeiden. Die Tiere atmeten spontan Raumluft. Polyethylenkatheter (PE 50, ID 0,58 mm, OD 0,96 mm, Portex, Hythe, Kent, GB) wurden sowohl in die linke Vena jugularis externa und linke Arteria carotis communis eingebracht und fixiert. Es erfolgte ein kontinuierliche Monitoring von mittlerem arteriellen Blutdruck (MAP) und Herzfrequenz (Hf). Mittels eines Infrarotsensors wurde die Atemfrequenz über einen Monitor (BMT Biomotor 5231, Druckmesswandler W112, RFT, Strassfurt, Deutschland) ständig kontrolliert. Über den arteriellen Zugang erfolgte die Volumensubstitution mit einer Vollelektrolytlösung 7,5 ml/kg /h (Thomaejonin[®], Thomae, Biberach, Deutschland). Über den zentralvenösen Zugang erfolgte bei Atemfrequenzen über 90/min oder wenn der Beugereflex nach Kneifen in den Schwanz positiv war, eine Bolusgabe mit 20 mg/kg KG/h Pentobarbital. Desweiteren die Zufuhr von Pharmaka:

- LPS von E. coli 10mg/kg KG (Sigma-AG, Deisenhofen, Deutschland)
- Antioxidantien
- Fluoresceinisothiocyanat-(FITC)- Albumin (Sigma-Aldrich Chemie-GmbH, Taufkirchen, Deutschland)
- Rhodamin-6G ((Sigma-Aldrich Chemie-GmbH, Taufkirchen, Deutschland)

3.4 Operative Techniken

Nach Rasur der linken Halsseite wurde die Haut mittels eines Elektrokauters (BCH 50, TUR, Dresden, Deutschland) über 2 cm von kranial nach kaudal inzidiert und die proximale Trachea dargestellt, welche mit einer Mikroschere unterhalb des 6.-8. Ringknorpels ca. 2-3 mm quer eröffnet und mit Hilfe eines Kunststoffubus intubiert wurde. Danach wurde die Vena jugularis sinistra dargestellt und nach distaler Ligatur und proximaler Abklemmung des Gefäßes mittels Mikroclip in Venae-section-Technik katheterisiert. Der Katheter wurde mit Haltefäden fixiert und der Mikroclip anschließend entfernt. Analog wurde mit der Arteria carotis communis sinistra verfahren. Die gesamte Präparationsdauer betrug etwa 30 min. Den Tieren wurde eine Erholungsphase von 15 min vor Endotoxininduktion gewährt. Eine Stunde nach LPS-Applikation erfolgte nach Rasur eine mediane Laparotomie des Unterbauches mit einer Länge von 3 cm. Es wurde ein 5 cm langes Stück des terminalen Ileums proximal der Ileocaecalklappe in

no-touch-Technik ausgelagert und auf eine spezielle Haltevorrichtung (Stage) gebracht. Ein Deckgläschen (21x26 mm, Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland) diente als transparente und plane Abdeckung der Mikroskopierkammer (Abb.2: Versuchsaufbau). Auf diese Weise wurde ein Darmabschnitt von zirka 1 cm² von serosal mikroskopisch zugänglich. Eine Stunde nach Darmauslagerung wurde die Endotoxininfusion abgestellt und die intravitalmikroskopischen Untersuchungen wurden durchgeführt. Für die Untersuchung der Mukosa wurde der Darm von antimesenterial mit einem Elektrokauter eröffnet. Vorhandener Darminhalt wurde mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung herausgespült. Nicht zu untersuchende Darmregionen wurden mit Gaze abgedeckt und kontinuierlich mit auf 37°C angewärmter Thomaejonin-Elektrolytlösung (pH = 7,4) superfundiert, um eine Exposition gegenüber Raumluft sowie eine Austrocknung zu vermeiden. Um möglichst störungsfreie Aufnahmen zu erhalten, wurde der ausgelagerte Darm mit einer 10⁻⁸ g/ml Isoproterenollösung zur Hemmung der Peristaltik superfundiert. Im Anschluss an die Intravitalmikroskopie erfolgte die Tötung der Tiere mit einer Überdosis Pentobarbital.

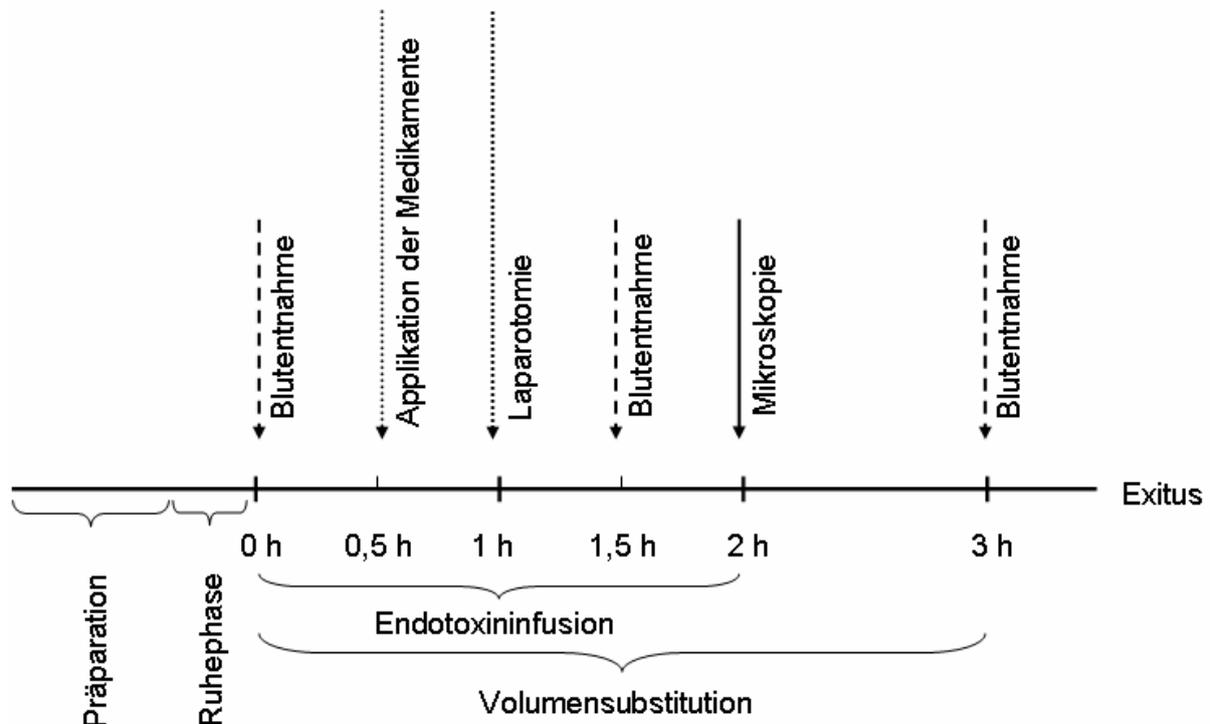


Abb. 1: Versuchsablauf

3.5 Endotoxinmodell

Die Endotoxinämie wurde nach Präparation des zentralvenösen Zugangs durch eine intravenöse Dauerinfusion von 5 mg/kg/h Lipopolysaccharid von *E. coli* über einen Zeitraum von 2 Stunden induziert. Die Gesamtdosis belief sich somit auf 10 mg/kg KG. Die Kontrollgruppe erhielt dementsprechend eine Volumensubstitution mit Vollelektrolytlösung (Thomaejonin®). 30 Minuten nach Beginn der Endotoxingabe erfolgte die Verabreichung der Medikamente bzw. des Placebos (physiologische Kochsalzlösung) als Bolusgabe.

3.6 Intravitalmikroskopie

Die intravitalmikroskopische (IVM) Untersuchung erfolgte unter folgenden technischen Voraussetzungen:

Mikroskopie:	Epifluoreszenzmikroskop (Axiotech Vario, Carl Zeiss Jena GmbH, Deutschland)
Lichtquelle:	HBO 50, Osram, Berlin, Deutschland
Okulare:	10 x, Zeiss
Objektive:	10 x/0,5; Fluar, Zeiss (Übersichtsaufnahmen) 20 x/0,5; Achroplan, Zeiss (Detailaufnahmen)
Filter:	Filtersatz Nr. 20, Zeiss (Anregung: BP 546-12; Frequenzteiler: 560); Emission: BP 575-640) für Beobachtungen mit Rhodamin 6G Filtersatz Nr. 10, Zeiss (Anregung: BP 450-490; Frequenzteiler: 510); Emission: BP 515-565) für Beobachtungen mit FITC-Dextran
Videokamera:	Pieper FK 6990 IQ (Pieper GmbH, Berlin, Deutschland)
Videorecorder:	Panasonic S-VHS, AG-7355 E, Matsushita Electric Ind., Tokyo, Japan
Monitor:	Philips LDH 2106/00, Philips Electronics, Eindhoven, Niederlande
Videotimer:	VTG-22, For-A-Company, Tokyo, Japan

Mit der beschriebenen Ausrüstung wurde eine 250-500fache Monitorvergrößerung erreicht.

Der Versuchsaufbau ist in der folgenden Grafik schematisch dargestellt:

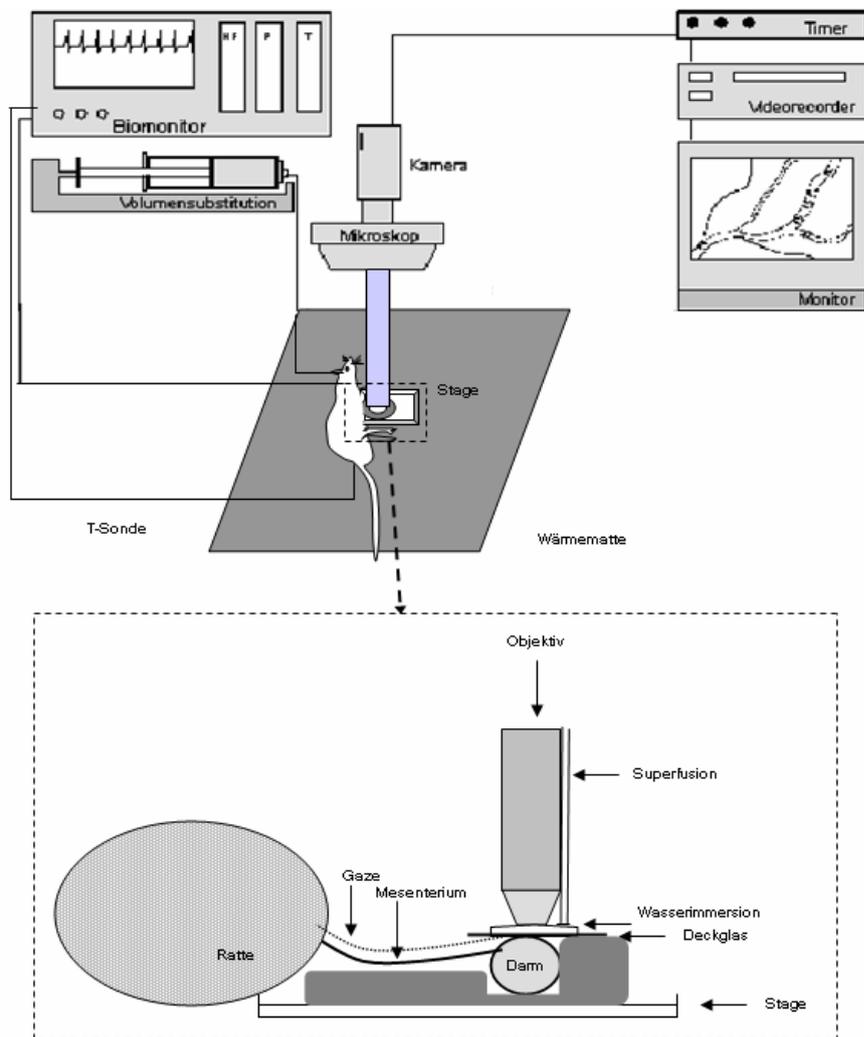


Abb. 2: Versuchsaufbau

Wir begannen die intravitalmikroskopischen Untersuchungen an der Submukosa. Die Markierung der Leukozyten erfolgte mittels einer 0,017%igen Rhodamin 6G Lösung (Lösungsmittel: 0,9% NaCl). Um die Darstellung der Leukozyten zu optimieren, injizierten wir 2 Boli zu je 200 μ l der Rhodaminlösung intravenös ca. 20 min vor Beginn der Intravitalmikroskopie. 10 min vor Mikroskopierbeginn wurden noch 200 μ l einer 5%igen FITC-Dextran-Lösung (in 0,9% NaCl) verabreicht, um durch eine Kontrastanhebung des Plasmas eine Beurteilung des Kapillarstrombettes zu ermöglichen.

Im ersten Mikroskopierabschnitt wurden jeweils 5 Videosequenzen für ca. 30-60 s aufgezeichnet:

- von Venolen mit einem Durchmesser 25-40 μm (Venolen 3. Grades = V3)
- von Venolen mit einem Durchmesser 40-75 μm (Venolen 1. Grades = V1),
immer in Begleitung von Arteriolen

Die Dauer der Mikroskopie für diesen Abschnitt betrug etwa 20 min.

Im zweiten Abschnitt wurde das Kapillarbett desselben Darmabschnittes untersucht. Es wurden jeweils 5 Sequenzen für 30 s aufgezeichnet:

- von Kapillaren der longitudinalen Muskulatur
- von Kapillaren der zirkulären Muskulatur

Die Dauer der Mikroskopie für diesen Abschnitt betrug etwa 10 min.

Anschließend wurde das Darmlumen in einer Anlehnung an Bohlen et al. antimesenterial in einer Länge von ca. 2 cm mit einem Mikrokauter eröffnet.[121] Es wurden gefüllte Segmente bevorzugt, um einer Hitzealteration der gegenüberliegenden Darmwand entgegenzuwirken.[122] Der Darminhalt wurde entfernt. Nach Spülung mit körperwarmer Elektrolytlösung (Thomaejonin[®]) wurde der Darm erneut auf eine Haltevorrichtung gebracht. Es wurden diejenigen Mukosaabschnitte untersucht, die den mesenterialen Gefäßarkaden direkt anliegen. Somit wurde die größtmögliche Entfernung zu den Schnitträndern gewählt und Hitzeschäden am unwahrscheinlichsten. Es wurden 5 Videosequenzen von 30 s aufgezeichnet:

- der Mukosakapillaren

Die Mikroskopierdauer betrug etwa 10 min.

Die effektive Gesamtmikroskopierzeit belief sich somit auf ca. 40 min. Die Auswertung der Sequenzen erfolgte offline am Videomonitor.

3.6.1 Leukozyten-Endothel-Interaktion

Es wurden unverzweigte, gestreckt verlaufende submuköse Venolen 3. Grades mit einem Durchmesser von 20-40 μm und Venolen 1. Grades mit einem Durchmesser von 40-75 μm ausgewertet.

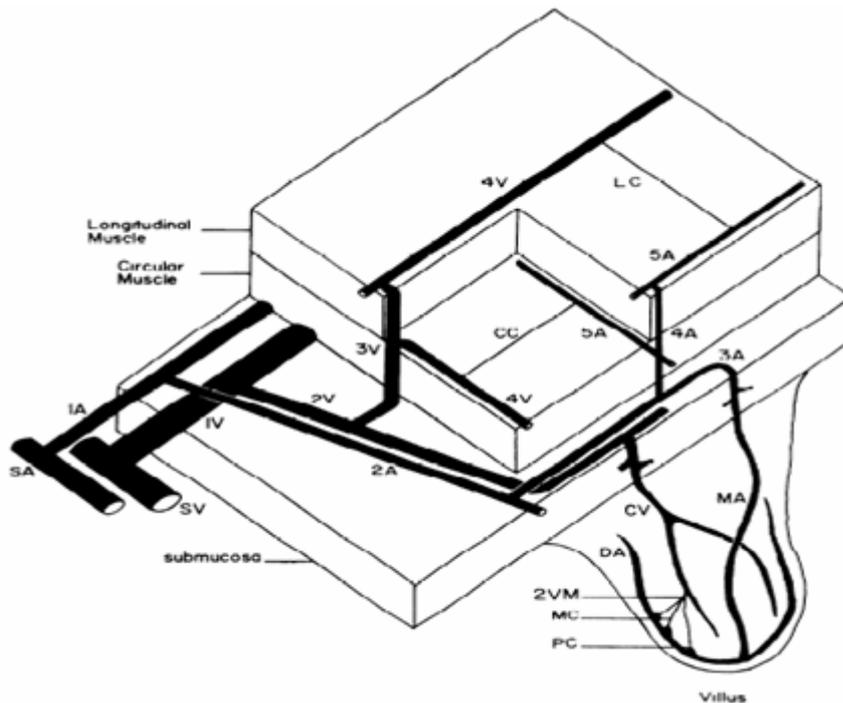


Abb. 3: Schema des Darmwandaufbaus nach Gore

Wesentliche Aufzweigungen der Arteriolen (1A-5A) und Venolen (1V-4V), Kapillaren der zirkulären (CC) und longitudinalen (LC) Muskulatur. MA: zentrale Villusarteriole mit Aufzweigung in zwei Verteilungsarteriolen (DA); PC: präkapilläre Sphinkteren, MC: Mukosakapillaren, 2VM: mukosale Venolen 2. Ordnung, CV: Villussammelvenole.[122]

3.6.1.1 Temporär adhärente Leukozyten

Definition: Anzahl von Leukozyten, die in einem Zeitraum von 30 s einen selektierten Gefäßdurchmesser rollend passieren. Die Geschwindigkeit rollender Leukozyten liegt typischerweise bei 50 $\mu\text{m/s}$. [72]. Aufgrund der temporären Interaktion mit dem Endothel „rollen“ sie an der Gefäßwand entlang. Ermittelt wurde die Anzahl der Roller pro Minute, ausgedrückt als: Roller-Flow [n/min].

3.6.1.2 Fest adhärente Leukozyten

Definition: Anzahl der Leukozyten, die im Beobachtungszeitraum für mindestens 30 s an einer umschriebenen Endothelstelle haften. Für die Berechnung der Endotheloberfläche wird eine Zylinderstruktur des Gefäßes angenommen.

Zylinderfläche: $A = l \cdot U$

Zylinderumfang: $U = \pi \cdot d$

d = Gefäßdurchmesser

l = Länge des Gefäßes

Die Anzahl der fest adhärennten Leukozyten wurde als Sticker [n/mm^2] ausgedrückt.

Unter Zuhilfenahme eines Objektivmikrometers konnte am Monitor eine maßstabgerechte Größen- und Längenbestimmung derjenigen Gefäße, in denen Leukozyten/Endothel- Interaktionen (LEI) ausgewertet wurden, vorgenommen werden.

3.6.2 Funktionelle Kapillardichte

Definition: Die funktionelle Kapillardichte (FCD) errechnet sich aus der Länge der Kapillaren mit sichtbarer Erythrozytenperfusion (erkennbar als Hell-(FITC-Dextran-markiertes Plasma) Dunkel-(Erythrozyten) Kontrast) im Verhältnis zur Fläche. Funktionslose Kapillaren sind Gefäße ohne sichtbare Perfusion und Gefäße mit sichtbar stehenden Erythrozyten über einen Beobachtungszeitraum von mindestens 30 Sekunden.

Die Auswertung erfolgte in den Schichten

1. Lamina muscularis longitudinalis
2. Lamina muscularis circularis
3. Lamina mucosae

Angewendet wurde hierbei die im folgenden dargestellte manuelle Methode nach Schmidt-Schoenbein et al. unter Nutzung einer quadratischen Gitterschablone am Bildschirm [123]. Sie ermöglichte die Ermittlung der FCD über die Ermittlung von Schnittpunkten in einer „region of interest“. Die FCD wird als Kapillarlänge je Gitterkästchen LK ausgedrückt.

$$FCD (L_K) = k \cdot N/L [cm^{-1}]$$

$$L = 2 P_M \cdot d$$

L = Länge des Gittersystems

d = Kantenlänge der Kästchen (in μm = Originallänge)

P_M = Anzahl der Kästchen

N = Anzahl der Kreuzungen von perfundierten Kapillaren mit den Gitterlinien

k = Konstante, die durch $\pi/2$ beschrieben wird

Jeweils 5 Regionen der Muskularisschichten mit einer Ausdehnung von 400-500 µm sowie 5 mukosale Kapillargebiete (Villi) mit einer Ausdehnung von 100 x 150 µm wurden ausgewertet. Für Videosequenzen von Kapillaren der Muskularis wurde ein Gitter der Kantenlängen 50 µm und für die Mukosa von 12,5 µm gewählt.

3.7 Laborparameter

Für die Bestimmung der Leukozytenzahl wurden zu den Zeitpunkten 0 h, 1,5 h und 3 h 50 µl Blut in eine EDTA-Kunststoffkapillare abgefüllt und im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Die laborchemische Analyse erfolgte innerhalb von 12 Stunden nach Entnahme. Für die Bestimmung von Antithrombin III wurde ebenfalls zu den Zeitpunkten 0 h, 1,5 h und 3 h 500 µl Blut in ein Eppendorfgefäß mit 50 µl Citrat (Verhältnis 10:1) abgenommen. Das Blut wurde über 10 min mit 400 Umdrehungen zentrifugiert. Anschließend wurde der Serumüberstand von 200 µl abpipettiert und mit 200 µl NaCl 0,9% (Verhältnis 1:2) verdünnt. Nach wiederholtem Zentrifugieren wurden die Proben bei -84°C eingefroren und nach Beendigung der Versuchsreihe untersucht.

3.8 Statistik

Aufgrund der kleinen Fallzahlen wurde keine Normalverteilung angenommen. Aus diesem Grund wurden zur Darstellung und Auswertung der Daten nichtparametrische Maßzahlen und Methoden verwendet. Unterschiede von $p < 0,05$ wurden als signifikant definiert.

Für die Beurteilung von Veränderungen zwischen und in den Gruppen im Zeitverlauf (wie z.B. bei den Vitalparametern) wurde die nichtparametrische Multivarianzanalyse nach E. Brunner, S. Domhof und F. Langer herangezogen (Statistikprogramm SAS 8.2). Bei Messungen zu bestimmten Zeitpunkten (Roller, Sticker, FCD, Labor) erfolgte die Prüfung auf Signifikanz im Gruppenvergleich mit der Varianzanalyse nach Mann-Whitney-U.

Die Daten wurden mit Hilfe der Statistikpakete SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) und Sigma Plot 5.0 (Systat Software Inc., Point Richmond, USA) dargestellt. Die Leukozyten-Endothel-Interaktion, die FCD, der Hämatokrit und die Blutgasanalyse sind in Form von Boxplots als Median mit der 25. und 75. Perzentile, Minimum, Maximum und Ausreißern abgebildet. Die Verlaufsdaten der Vitalparameter (MAP, HF, AF), Leukozytenzahl und AT III sind zu den verschiedenen Messzeiten grafisch als Median mit der 25. und 75. Perzentile dargestellt. In den Abbildungen wurden die Ergebnisse zu

den festen Zeitpunkten minimal zeitlich verrückt, um die Daten der verschiedenen Gruppen besser veranschaulichen zu können.

4. Ergebnisse

4.1 Intravitalmikroskopie

4.1.1 Leukozytenadhärenz

4.1.1.1 Temporär adhärenente Leukozyten (Roller) in Venolen 1. Grades

Zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten (Roller) in den Venolen 1. Grades der intestinalen Submukosa bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 35 (7-66)/min.

In den mit Endotoxin belasteten Gruppen war eine tendenziell niedrigere Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten in den V1-Venolen gegenüber der Kontrollgruppe zu beobachten. Diese Veränderungen waren jedoch nicht signifikant. Auch zwischen den Werten der Endotoxingruppe mit 8 (3-15)/min und der NAC/TM-Gruppe mit 10 (5-17)/min temporär adhärenierenden Leukozyten ergaben sich keine signifikanten Differenzen.

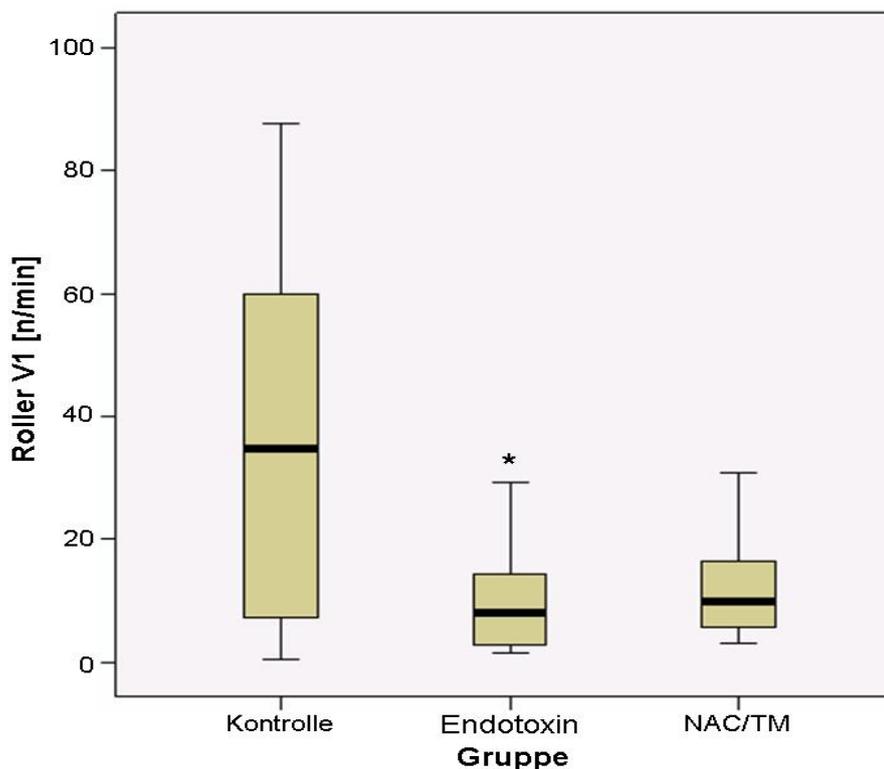


Abb. 4: Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten in den Venolen 1. Grades der intestinalen Submukosa zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; * Ausreisser; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe(nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.1.1.2 Temporär adhärenente Leukozyten (Roller) in Venolen 3. Grades

Zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten (Roller) in den Venolen 3. Grades der intestinalen Submukosa bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 27 (14-40)/min. Die Anzahl der Roller in der Endotoxingruppe war im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant niedriger bei 7 (3-10)/min. Die Werte der NAC/TM-Gruppe waren mit 9 (7-13)/min ebenfalls signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Zwischen der Endotoxingruppe und der NAC/TM-Gruppe bestand kein signifikanter Unterschied.

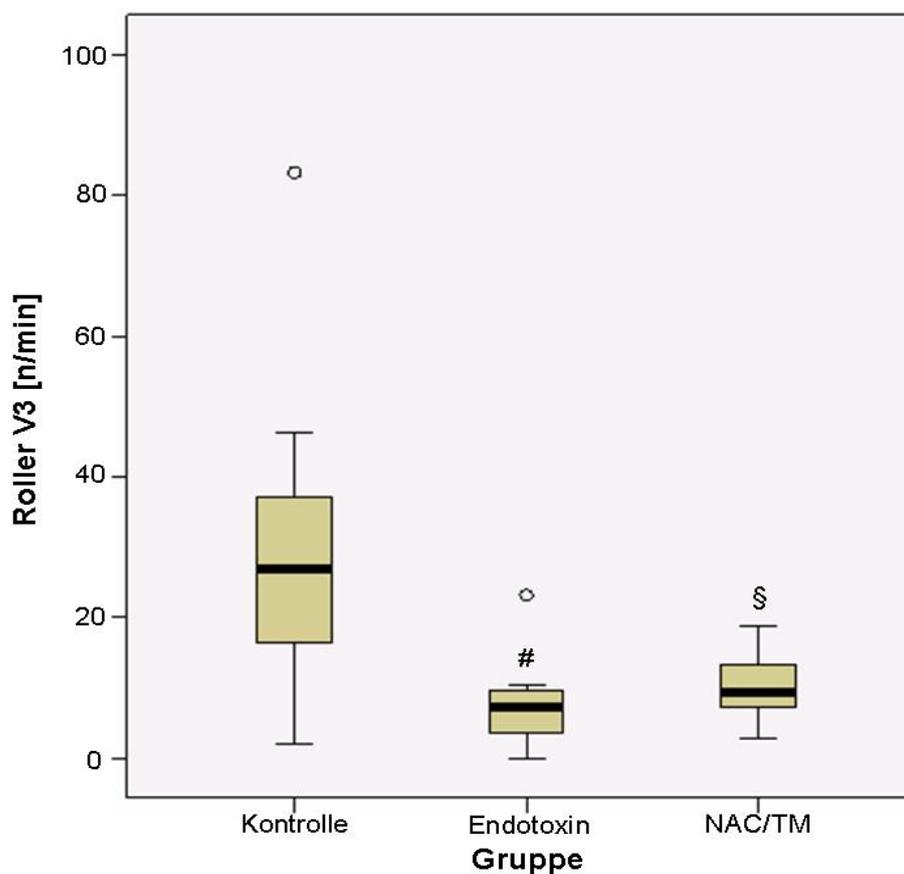


Abb. 5: Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten in den Venolen 3. Grades 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; ° Ausreisser; # $p = 0,005$ Kontrolle vs. Endotoxin, § $p = 0,02$ Kontrolle vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.1.1.3 Fest adhärenente Leukozyten (Sticker) in Venolen 1.Grades

Zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die Anzahl der fest adhärenente Leukozyten (Sticker) in den Venolen 1. Grades der intestinalen Submukosa bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 55 (16-131)/mm². Die Anzahl der fest adhärenierende Leukozyten in der Endotoxingruppe lag signifikant höher bei 368 (306-475)/mm² gegenüber der Kontrollgruppe. Die Werte der fest adhärenente Leukozyten in der NAC/TM-Gruppe waren mit 270 (216-308)/mm² ebenfalls signifikant höher gegenüber der Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied bestand auch zwischen den mit Endotoxin belasteten Gruppen. In der NAC/TM-Gruppe war die Anzahl der fest adhärenente Leukozyten signifikant niedriger als in der Endotoxingruppe.

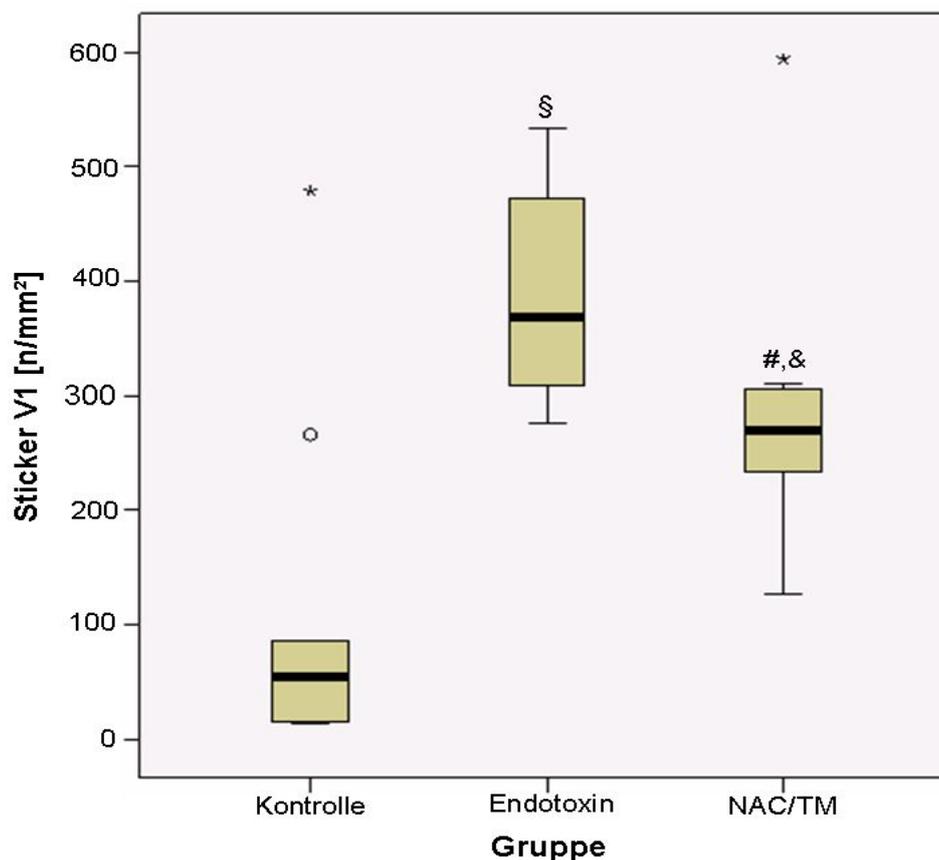


Abb. 6: Anzahl der fest adhärenente Leukozyten in den Venolen 1. Grades der intestinalen Submukosa 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; ° und * Ausreißer; § $p < 0,05$ Kontrolle vs. Endotoxin; # $p < 0,05$ Kontrolle vs. NAC/TM; & $p < 0,05$ Endotoxin vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.1.1.4 Fest adhärenente Leukozyten (Sticker) in Venolen 3.Grades

Zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die Anzahl der fest adhärenente Leukozyten (Sticker) in den Venolen 3. Grades der intestinalen Submukosa bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 69 (17-160)/mm². Die Anzahl der fest adhärenende Leukozyten in der Endotoxingruppe lag signifikant höher bei 635 (556-814)/mm² gegenüber der Kontrollgruppe. Die Werte der fest adhärenente Leukozyten in der NAC/TM-Gruppe waren mit 403 (309-572)/mm² ebenfalls signifikant höher gegenüber der Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied bestand auch zwischen den mit Endotoxin belasteten Gruppen. Die Zahl der fest adhärenente Leukozyten war in der NAC/TM-Gruppe im Vergleich zur Gruppe, die nur Endotoxin erhielt, signifikant niedriger.

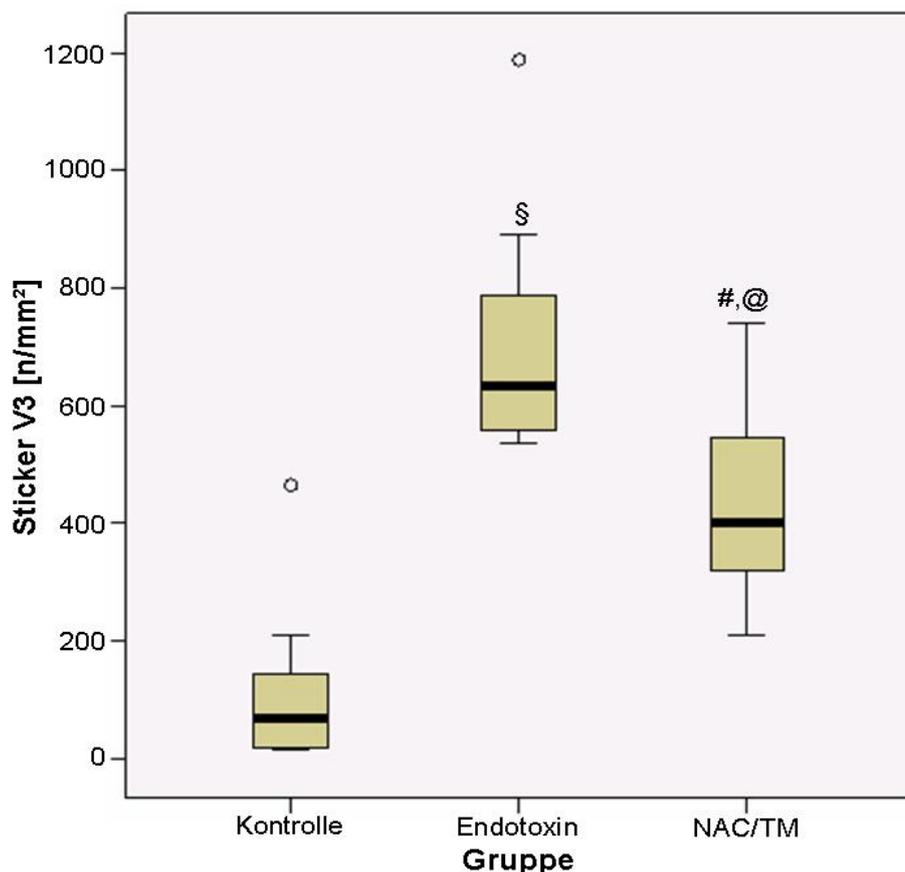


Abb. 7: Anzahl der fest adhärenente Leukozyten in den Venolen 3. Grades der intestinalen Submukosa 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; ° Ausreisser; § p<0,05 Kontrolle vs. Endotoxin, # p<0,05 Kontrolle vs. NAC/TM, @ p<0,05 Endotoxin vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.1.2 Funktionelle Kapillardichte

4.1.2.1 Funktionelle Kapillardichte in den Villi intestinales der Mukosa

120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die FCD in den Villi intestinales der Mukosa bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 688 (646-737)/cm. In den mit Endotoxin behandelten Gruppen war eine tendenziell höhere funktionelle Kapillardichte nachweisbar. Diese war in der NAC/TM-Gruppe am höchsten. Statistisch nachweisbare Unterschiede zwischen den Gruppen wurden jedoch nicht beobachtet.

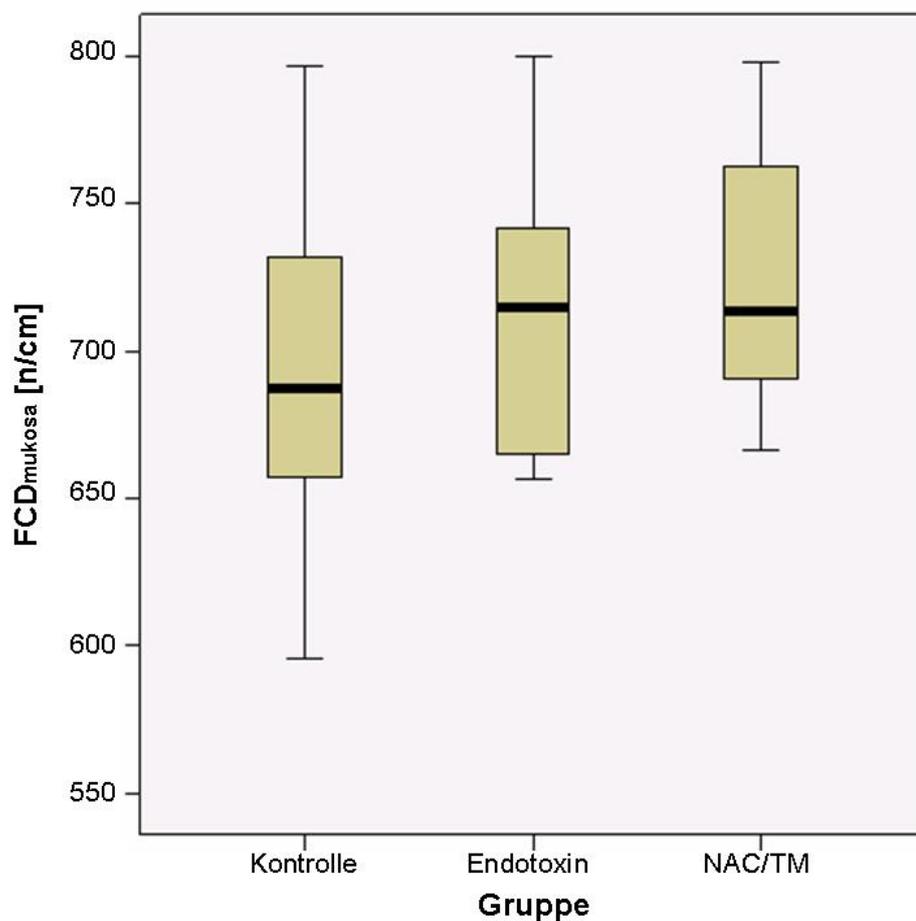


Abb. 8: Funktionelle Kapillardichte der Villi intestinales zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.1.2.2 Funktionelle Kapillardichte in der longitudinalen Muskularisschicht

120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die FCD in der longitudinalen Muskularisschicht bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 173 (152-177)/cm. Signifikante Differenzen zwischen den Gruppen wurden nicht beobachtet.

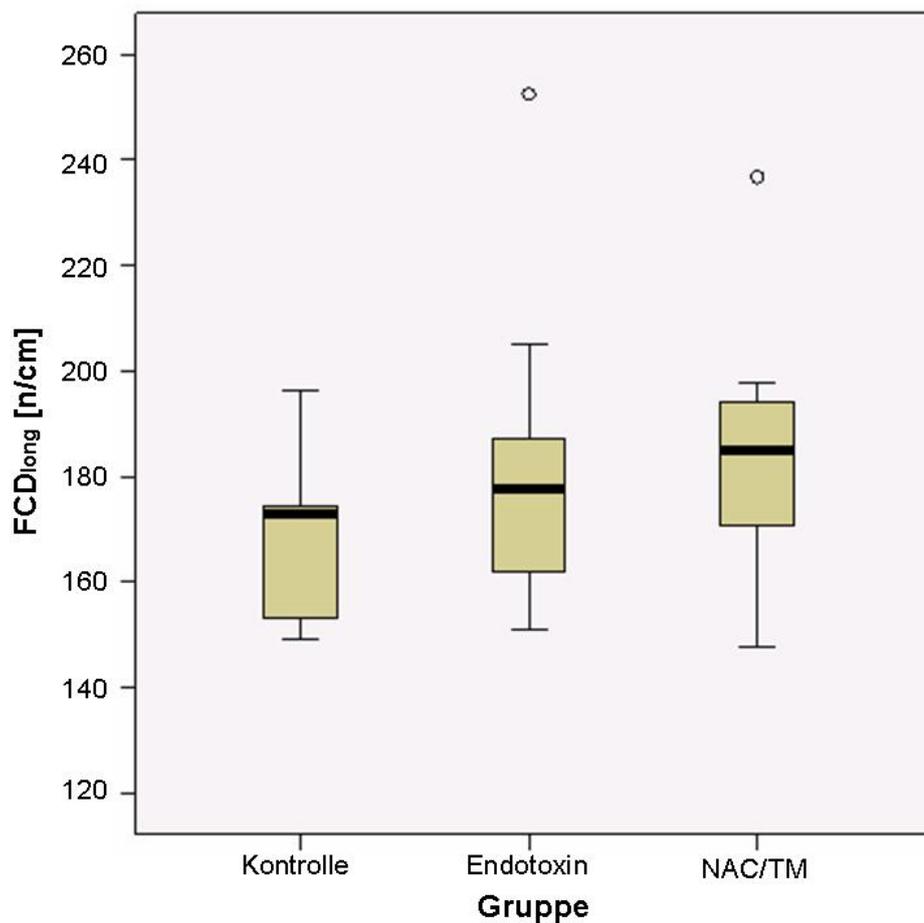


Abb. 9: Funktionelle Kapillardichte der longitudinalen Dünndarmmuskulatur zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; ° Ausreisser; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.1.2.3 Funktionelle Kapillardichte in der zirkulären Muskularisschicht

120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion lag die FCD in der zirkulären Muskularisschicht bei den Tieren der Kontrollgruppe bei 203 (179-214)/cm. Die FCD in der Endotoxingruppe lag signifikant höher bei 226 (216-234)/cm. Die Werte der NAC/TM-Gruppe lagen auf dem Niveau der Endotoxingruppe bei 223 (205-276)/cm und waren im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls signifikant höher. Zwischen der Endotoxingruppe und der NAC/TM-Gruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

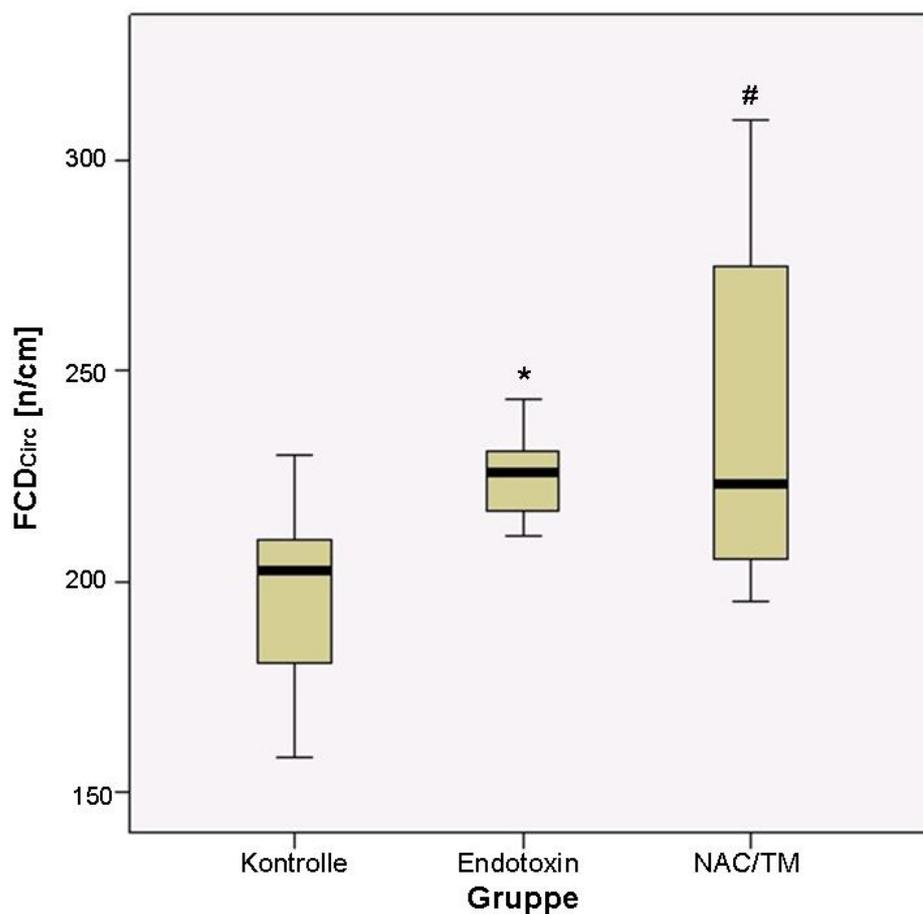


Abb. 10: Funktionelle Kapillardichte der zirkulären Dünndarmmuskulatur zum Zeitpunkt 120 min nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; * $p < 0,05$ Kontrolle vs. Endotoxin; # $p < 0,05$ Kontrolle vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.2 Laborparameter

4.2.1 Leukozyten im peripheren Blut

Die Bestimmung der Leukozytenzahl im peripheren Blut erfolgte zu den Messzeitpunkten 0 Stunden, 1,5 Stunden und nach 3 Stunden. Im Versuchsverlauf kam es bei der Endotoxingruppe und bei der NAC/TM-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einem signifikanten Abfall der Leukozyten im peripheren Blut. Dabei unterschieden sich die Endotoxingruppe und die NAC/TM-Gruppe nicht voneinander. Die Kontrollgruppe zeigte gegensätzlich zu den Gruppen, die Endotoxin erhalten hatten, sogar einen leicht aufsteigenden Trend der Leukozyten.

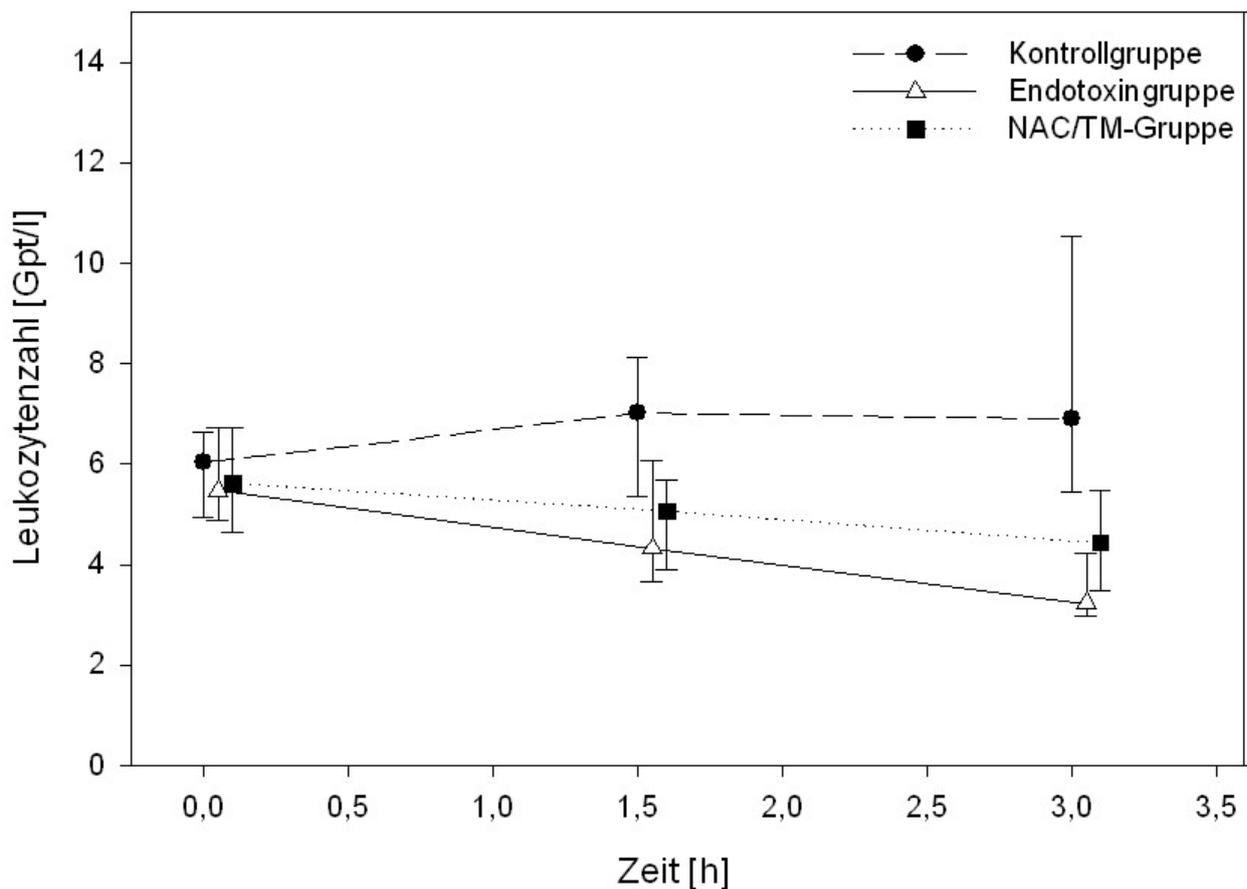


Abb. 11: Leukozytenzahl im peripheren Blut zu den Messzeitpunkten 0h; 1,5h und 3h nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion; $p < 0,05$ Kontrolle vs. Endotoxin; $p < 0,05$ Kontrolle vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); nichtparametrische Varianzanalyse nach Brunner für Daten mit Messwiederholung über den gesamten Verlauf.

4.2.2 Antithrombin-III-Aktivität

Die Bestimmung der Antithrombin-III-Aktivität im peripheren Blut erfolgte zu den Messzeitpunkten 0 Stunden, 1,5 Stunden und nach 3 Stunden. Im Versuchsverlauf beobachteten wir bei den Gruppen, die mit LPS behandelt wurden, eine signifikante Abnahme der Antithrombin-III-Aktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe. Zwischen der Endotoxingruppe und der NAC/TM-Gruppe ergaben sich keine statistischen Differenzen.

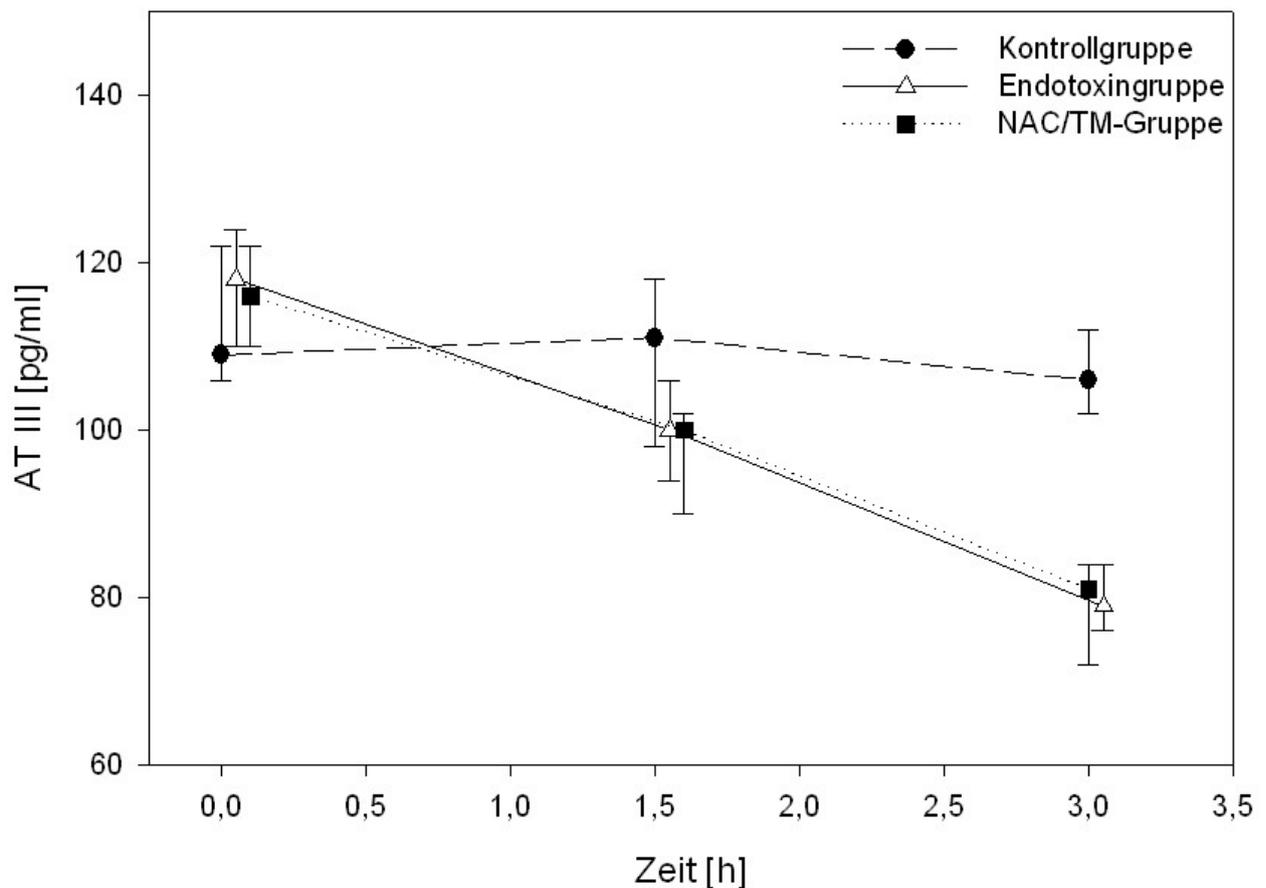


Abb. 12: Antithrombin-III-Aktivität im peripheren Blut zu den Messzeitpunkten 0h; 1,5h und 3h nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion, $p < 0,05$ Kontrolle vs. Endotoxin; $p < 0,05$ Kontrolle vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); nichtparametrische Varianzanalyse nach Brunner für Daten mit Messwiederholung über den gesamten Verlauf.

4.3 Vitalparameter

4.3.1 Mittlerer arterieller Blutdruck

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wurde über den gesamten Versuchszeitraum kontinuierlich gemessen. In der Kontrollgruppe lag der mittlere arterielle Blutdruck zum Zeitpunkt 0 bei 111 (99-133)mmHg und blieb im Verlauf weitestgehend stabil. Der MAP in der NAC/TM-Gruppe war im Verlauf signifikant erniedrigt im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Bei der Endotoxingruppe zeigte sich im Vergleich mit der Kontrollgruppe und mit der NAC/TM-Gruppe keine signifikante Veränderung.

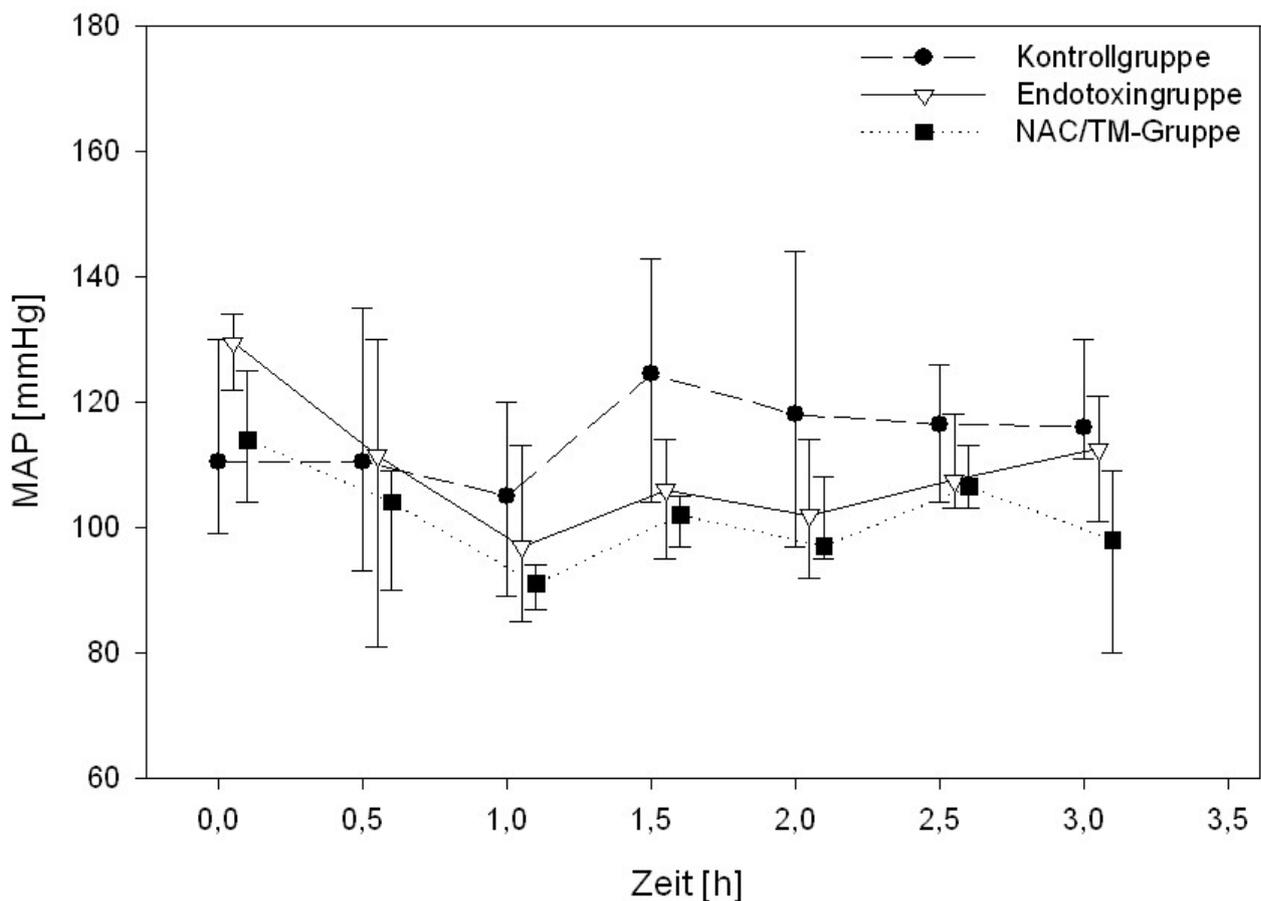


Abb. 13: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) über den gesamten Versuchszeitraum gemessen; $p < 0,05$ Kontrollgruppe vs. NAC/TM-Gruppe; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); nichtparametrische Varianzanalyse nach Brunner für Daten mit Messwiederholung über den gesamten Verlauf.

4.3.2 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz lag in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 0 bei 377 (343-394)/min und blieb im Verlauf weitestgehend stabil. Die Herzfrequenz in der NAC/TM-Gruppe war im Verlauf signifikant erhöht gegenüber der Kontrollgruppe. In der NAC/TM-Gruppe war im Verlauf eine ebenfalls signifikant erhöhte Herzfrequenz im Vergleich zur Kontrollgruppe zu beobachten. Zwischen den mit Endotoxin belasteten Gruppen zeigte sich keine statistisch signifikante Änderung der Herzfrequenz.

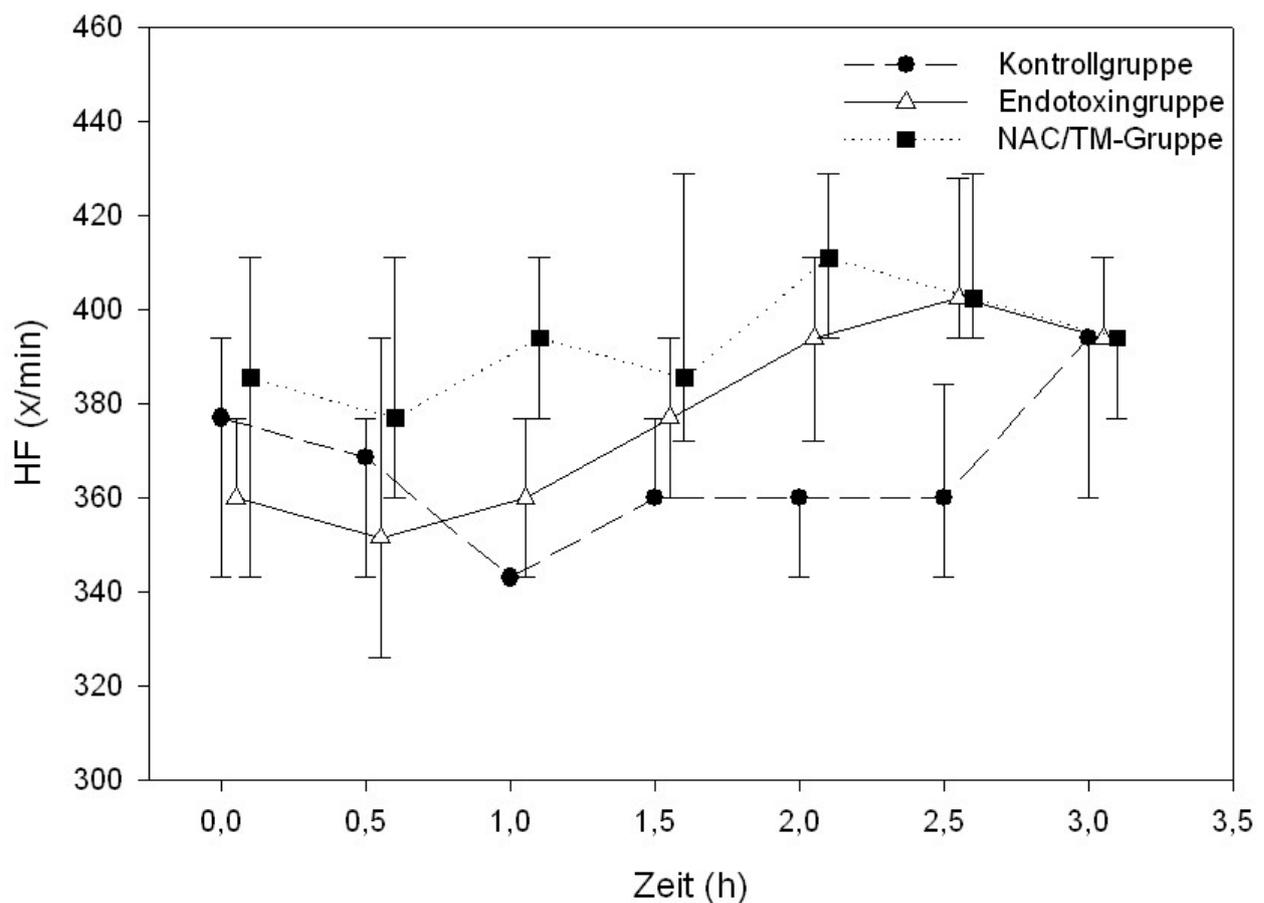


Abb. 14: Herzfrequenz (HF) über den gesamten Versuchszeitraum gemessen; $p < 0,05$ Kontrolle vs. Endotoxin; $p < 0,05$ Kontrolle vs. NAC/TM; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); nichtparametrische Varianzanalyse nach Brunner für Daten mit Messwiederholung über den gesamten Verlauf.

4.3.3 Atemfrequenz

Die Atemfrequenz der spontan atmenden Tiere wurde über den gesamten Versuchszeitraum kontinuierlich gemessen. Im Verlauf zeigten sich in den 3 Gruppen keine statistisch nachweisbaren Differenzen in Bezug auf die Atemfrequenz.

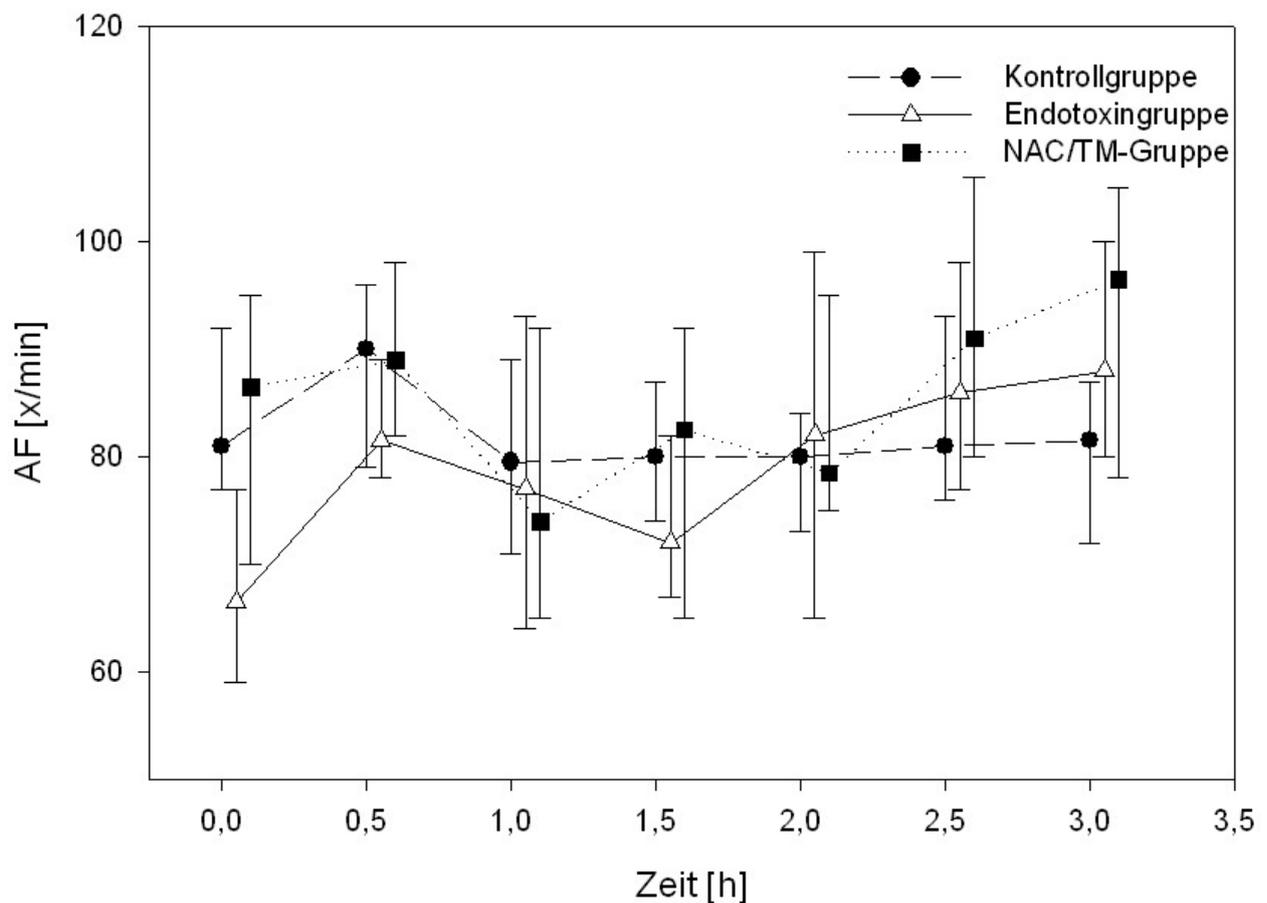


Abb. 15: Atemfrequenz (AF) über den gesamten Versuchszeitraum gemessen; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); nichtparametrische Varianzanalyse nach Brunner für Daten mit Messwiederholung über den gesamten Verlauf.

4.3.4 pH-Wert

Die Blutgasanalyse erfolgte 3 Stunden nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion am Versuchsende. In den mit Endotoxin behandelten Gruppen konnten tendenziell höhere pH-Werte nachgewiesen werden, wobei der pH-Wert der NAC/TM-Gruppe in der Tendenz höher war, als der pH-Wert der Endotoxingruppe. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

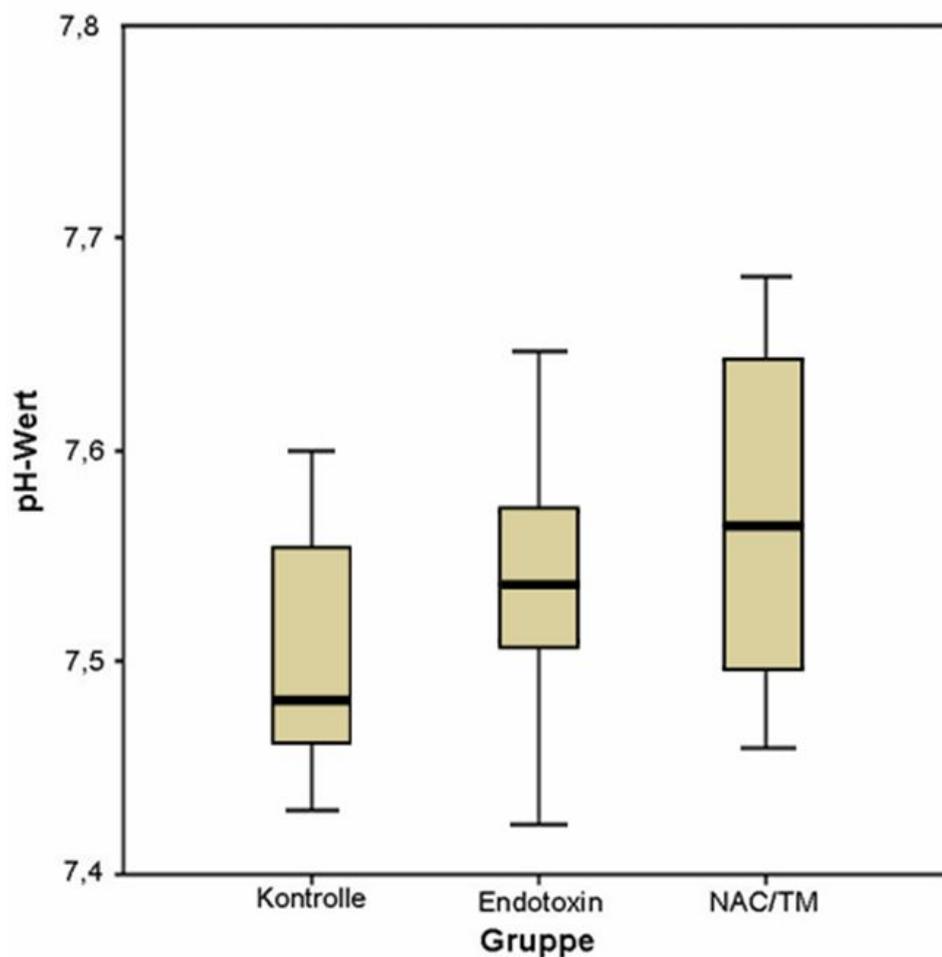


Abb. 16: pH-Wert 3 h nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion am Versuchsende; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

4.3.5 Sauerstoffpartialdruck

Die Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes erfolgte 3 Stunden nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion am Versuchsende. Signifikante Unterschiede hinsichtlich des Sauerstoffpartialdruckes zwischen den Gruppen wurden nicht beobachtet.

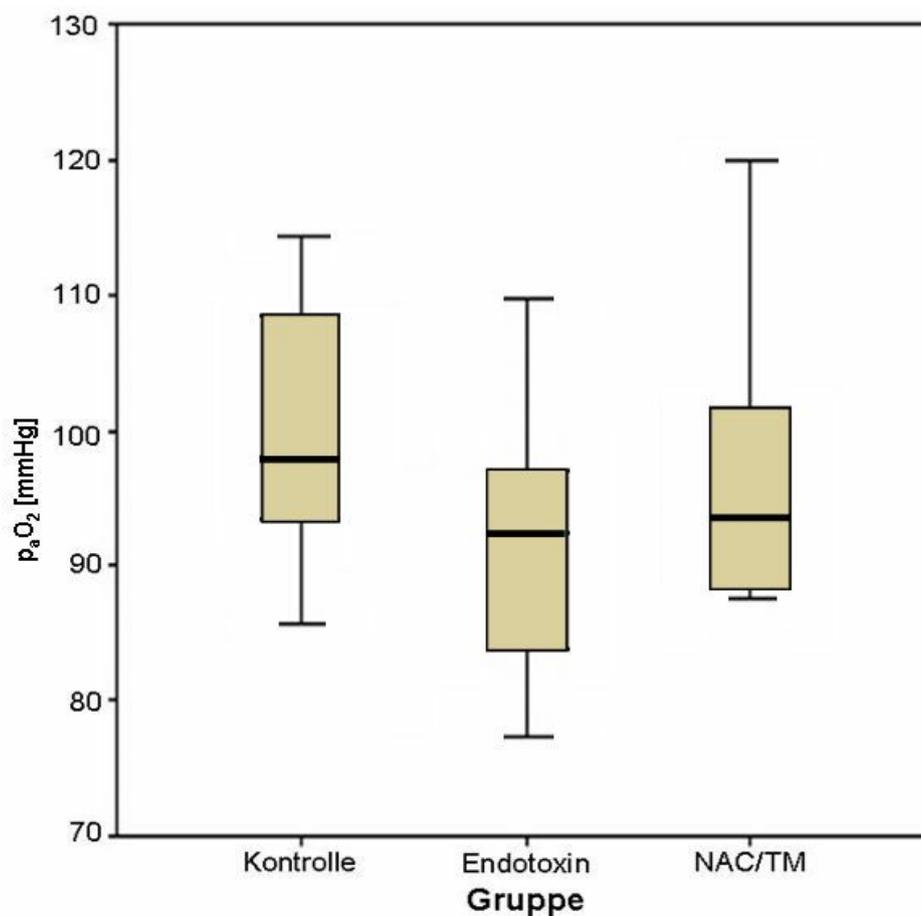


Abb. 17: Sauerstoffpartialdruck 3 h nach Beginn der Endotoxin- bzw. Placeboinfusion am Versuchsende; Kontrolle: Kontrollgruppe, Endotoxin: Endotoxingruppe (nur LPS); NAC/TM: NAC/TM-Gruppe (LPS plus NAC plus TM); Mann-Whitney-U-Test.

5. Diskussion

5.1 Diskussionsgrundlagen

In dieser Arbeit galt das Interesse dem Einfluss der Kombinationsgabe von N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat in Bezug auf die Pathomechanismen der Sepsis. Die Aufmerksamkeit galt besonders der Störung der intestinalen Mikrozirkulation durch die gesteigerte Leukozyten-Endothel-Interaktion, da diese eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der Sepsis einnimmt.[16] Die Versuche wurden an Ratten durchgeführt und experimentelle Grundlage war das frühe normotensive Sepsismodell mit einer kontinuierlichen Infusion von Endotoxin.

5.2 Methodik

Das Sepsissyndrom ist ein komplexer pathophysiologischer Prozess und die Darstellung der klinischen Situation im experimentellen Tiermodell erweist sich bis heute als sehr schwierig. Es gibt in der aktuellen Literatur im Wesentlichen 4 verschiedene Tiermodelle, die das septische Krankheitsbild mit den klinischen und laborchemischen Symptomen wiedergeben. Die Implantation von Fäkalien bzw. lebenden Organismen in den Peritonealraum, die Erzeugung von Abszessen sowie die am häufigsten verwendeten Modelle mit dem Cecal Ligation and Puncture-Modell (CLP-Modell) auf der einen und die intravenöse Applikation von lebenden Organismen oder Endotoxin auf der anderen Seite.[124]

Werden im Tierversuch Fäkalien oder auch lebende Organismen in den Peritonealraum implantiert, führt das sehr häufig zu einer durch eine Peritonitis ausgelösten Sepsis. Der Krankheitsverlauf ist verzögert und beginnt mit einer hyperdynamen Phase, das klinische Bild kann gut simuliert werden.[125,126] Um die hyperdynamen Sepsisabläufe genauer zu untersuchen, hat sich auch die Induktion einer Sepsis durch Erzeugung von Hautabszessen nach Einbringen von lebenden Organismen (z.B. *Pseudomonas aeruginosa*) in das Weichteilgewebe bewährt.[124]

Viele Autoren, die sich mit experimentell hervorgerufener Sepsis beschäftigen, bevorzugen das CLP-Modell. Durch eine Ligierung des Zökums unterhalb der Ileozökalklappe und anschließender Punction kommt es zu einer bakteriellen Mischinfektion mit der nativen Darmflora und nachfolgend zu einer Peritonitis. Die

Entwicklung der Sepsissymptomatik über einen längeren Zeitraum ähnelt stark dem Verlauf im Krankenhaus.[127,128]

Nachteilig an dem CLP-Modell sind die langen Anwart- und somit Versuchszeiten. Neben der schlechten Definierbarkeit der exakten Dosis und der Art sepsisauslösender Mikroorganismen, ist auch der genaue Zeitpunkt des Entstehens der Sepsis nur schlecht vorhersehbar.[129]

Beim Endotoxinmodell wird durch die Verabreichung von LPS oder anderer Toxine eine Endotoxinämie ausgelöst. LPS ist in der Lage eine Vielzahl von Pathomechanismen zu induzieren, die letztendlich klinische Symptome, biochemische Veränderungen und Organdysfunktionen hervorrufen, wie sie auch bei der Sepsis zu beobachten sind.[40,130] Klinisch unterscheidet sich die intravenöse Gabe von LPS nicht von den intraperitonealen Infektionsmodellen. Abhängig von Art und Dauer der Applikation können chronische oder akute sepsisähnliche Zustände hervorgerufen werden.[131,132,133] Vorteile des Endotoxinmodells sind die exakte Festlegung der Sepsis auslösenden Endotoxindosis und der gut reproduzierbare Symptom-Zeitverlauf. Durch die schnelle Ausbildung der sepsisähnlichen Symptome im Gegensatz zum CLP-Modell sind die Versuchszeiten deutlich verkürzt. Bereits nach 30-45 Minuten können erste pathophysiologische Veränderungen, die denen septischer Patienten entsprechen, hervorgerufen werden.[134] Aufgrund dieser Vorteile findet auch das Endotoxinmodell in der einschlägigen Literatur häufig Anwendung.[135,136] Nachteile des Endotoxinmodells im Vergleich zum CLP-Modell sind neben der Tatsache, dass kein vollwertiges Bakterium sondern nur LPS als Agens dient, die nachgewiesenen Sensitivitätsunterschiede verschiedener Tierspezies gegenüber Endotoxin und auch gegenüber verschiedener Versuchsdesigns.[92,96,132,133] Des Weiteren muss beachtet werden, dass selbst zwischen den einzelnen Chargen des Serotyps Lipopolysaccharid Wirkunterschiede auftreten können.[137]

Aufgrund der genannten Vorteile wählten wir das Endotoxinmodell für unsere Studie und verwendeten ausschließlich das LPS von *E. coli* Serotyp O111:B4 ein und derselben Charge. Dieser Serotyp wird in der Literatur sehr häufig eingesetzt.[138,139,140,141,142,143] Ebenfalls von Bedeutung ist die Art der LPS-Applikation.[124] Bolusgaben von Endotoxin hatten in vorangehenden Studien regelmäßig zu hypotensiven Zuständen geführt.[136,144] Außerdem simuliert eine kontinuierliche Applikation von Endotoxin am besten die „physiologische“ Endotoxinfreisetzung beim septischen Patienten. Wir verabreichten das Endotoxin als

intravenöse Dauerinfusion, da sich diese Methode am besten eignet, um in kurzer Abfolge verschiedene Sepsis-Phasen zu induzieren. In geringer Dosierung führt das Endotoxin bei Ratten zu einem hyperdynamen Sepsisbild, wohingegen höhere kontinuierliche Infusionen von Endotoxin ein hypodynames Bild mit erhöhten peripheren Widerständen und erniedrigten Herzzeitvolumina zur Folge haben. Man spricht dabei von einer „biphasischen Dosis-Antwort“.[145,146] Leukozytopenie, Tachykardie und Tachypnoe sind weitere Kriterien, die zur Diagnose der Sepsis herangezogen werden.[8]

Während einer Sepsis nimmt der Darm, welcher zu den primär minderperfundierten Organen gehört, eine Schlüsselrolle ein.[15] Durch die Ischämie kommt es zu einem Verlust der Darmbarriere, was zu einer systemischen Translokation von Bakterien bzw. ihrer Toxine führen kann.[20] Experimentell wurde das Konzept der „bakteriellen Translokation“ in traumaassoziierten Tiermodellen, wie dem hämorrhagischen Schock [147], der Verbrennungsverletzung [148,149], nach Gabe von Endotoxin [150] oder dem Weichteiltrauma [151] bestätigt. Durch die gestörte Barrierefunktion wird das Darm-assoziierte lymphatische Gewebe (GALT) aktiviert. Es resultiert eine Aggravierung des Sepsisgeschehens in Form einer „Mediatorexplosion“ durch das massive Einwirken der antigenen Strukturen, die positive Rückkopplung der humoralen und zellulären Systeme sowie durch die Beeinträchtigung der Kontrollmechanismen.[9,15] In der Literatur wird der Darm deshalb auch als „Motor der Sepsis“ bezeichnet.[16,17]

Verschiedene Autoren führten Untersuchungen an den Mesenterialgefäßen durch, wobei eine geringe Alteration des zu untersuchenden Gewebes und weniger Störfaktoren, wie z.B. die Peristaltik, von Vorteil waren. Im Vordergrund unserer Untersuchung standen die Veränderung der Mikrozirkulation direkt in den einzelnen Darmwandschichten.

Ebenfalls von Bedeutung für die Untersuchung septischer Veränderungen im Tiermodell ist die Wahl des Narkoseverfahrens, da z.B. Fentanyl und Ketamin im Gegensatz zu Pentobarbital die Leukozyten-Endothel-Interaktion beeinflussen.[144,152] Wir wählten für unsere Untersuchungen Pentobarbital als Narkotikum, da es weder auf den Blutfluss noch auf das Interagieren von Leukozyten mit dem Endothel Auswirkungen hat.[142,153]

Kontrovers wird der Einsatz von Markersubstanzen wie Rhodamin-6G und der Fluoreszenzmikroskopie diskutiert, da es bei langer Bestrahlung mit fluoreszierendem Licht und bei Langzeitinkubation mit Rhodamin zu einer Beeinflussung der Leukozyten-

Endothel-Interaktion kommen kann. In der von uns praktizierten Handhabung (Fluoreszenzmikroskopie mit Rhodamin-6G) werden in der Literatur keine signifikanten Veränderungen der LEI beschrieben.[108,154,155]

5.3 Intravitalmikroskopie

Die Intravitalmikroskopie an der Ratte bietet eine hervorragende Möglichkeit zur Untersuchung der Mikrozirkulation *in vivo*. [129,156] Während statistische Laborparameter oder histologische Schnitte nur Momentaufnahmen der Situation wiedergeben, macht die IVM eine Beurteilung der mikrohämodynamischen Verhältnisse, wie die Leukozyten-Endothel-Interaktion und die Kapillarperfusion, im septischen Geschehen möglich.

5.3.1 Leukozytenadhärenz

5.3.1.1 Temporär adhärente Leukozyten

Unter dem Begriff der Leukozyten-Endothel-Interaktion lassen sich eine Reihe von Vorgängen subsummieren. Der Margination der Leukozyten aus der Blutstrommitte folgt das temporäre Interagieren mit dem Endothel (Rolling). Anschließend kommt es zur festen Adhärenz am Endothel (Sticking) und schlussendlich zur Diapedese der Leukozyten.[72] Der erste Schritt ist durch einen hämodynamischen Effekt bedingt. Die folgenden Sequenzen sind mediatorabhängig. Wenn es zu einer Aktivierung von Leukozyten kommt, setzen diese Mediatoren frei (z.B. Sauerstoffradikale und Proteasen), welche das Endothel angreifen und zu einer Schädigung führen können. Dabei beeinflussen sich die Leukozyten und das aktivierte Endothel gegenseitig.[68,71,157]

Das Rollen von Leukozyten wird auch unter physiologischen Bedingungen im intakten Gewebe beobachtet. Dabei kann der Anteil der rollenden Leukozyten („rolling pool“) bis zu 45% der Gesamtleukozytenzahl ausmachen. Mayrovitz et al. und auch Janssen et al. wiesen intravitalmikroskopisch spontan rollende Leukozyten in Hautvenolen von Mäusen nach, ohne dass ein Trauma oder eine Entzündung voranging. Dieses Phänomen wurde als ständige Bereitschaft der Leukozyten für eine jederzeitige Aktivierung der Immunabwehr interpretiert. Dauerhaft adhärente Leukozyten werden unter Normalbedingungen (Wachheit, Stressfreiheit, Abwesenheit von Pathogenen oder Testsubstanzen) nicht beobachtet.[158,159]

Die Aussagen zum physiologischen Leukozytenrolling haben im engeren Sinn nur für noninvasiv zugängliche Gewebe (z.B. Nagelbett, Haut, Auge) eine Relevanz, da jedes operative Trauma zu einer sofortigen Leukozytenaktivierung führt.

Fiebig et al. führten Untersuchungen an Kaninchen durch. Bereits 5 Minuten nach Auslagerung des Mesenteriums wurde ein verstärktes Leukozyten-Rolling beobachtet. Diese Akkumulation temporär adhärenter Granulozyten war bis zu 30 Minuten nach der Präparation ansteigend.[160] Die Arbeitsgruppe von Scalia fand am ausgelagerten Darm von Mäusen nach Gewährung einer postoperativen Stabilisierungsphase von 20 Minuten ein Baseline-rolling von 15-20 Leukozyten pro Minute.[161]

Wir begannen mit den intravitalmikroskopischen Untersuchungen ca. 60 Minuten nach Auslagerung des Darmes und dessen Aufbringen auf die Haltevorrichtung. Trotz aller von uns durchgeführten supportiven Maßnahmen wie Superperfusion mit kalibrierter und gewärmter Elektrolytlösung, bestmögliche Vermeidung von Manipulationen am zu untersuchenden Darmausschnitt und minimal dosierter Belichtung mit Fluoreszenzlicht muss dieser Eingriff als drastische Veränderung des physiologischen Milieus angesehen werden, was die Anzahl von 35 temporär adhärenten Leukozyten pro Minute in den V1-Venolen und 27 Leukozyten pro Minute in den V3-Venolen in der Kontrollgruppe erklären könnte.

Nach zwei Stunden Endotoxinämie kam es sowohl in der Endotoxin- als auch in der NAC/TM-Gruppe zu einer Reduktion der Anzahl nur temporär mit dem Gefäßendothel interagierender Leukozyten. Im Gegensatz zu den V1-Venolen war diese Verminderung in den V3-Venolen im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant. Parallel zu diesem beobachteten Phänomen verzeichneten wir in den Gruppen, die Endotoxin erhielten, eine höhere Anzahl fest adhärenter Leukozyten, so dass anzunehmen ist, dass die Anzahl der temporär adhärenten Leukozyten niedriger war, weil die Leukozyten fest mit dem Endothel interagierten. Schmidt et al. machten ähnliche Beobachtungen, als sie Ratten nach Applikation von LPS intravitalmikroskopisch untersuchten. Sie beschrieben eine Reduktion temporär adhärenter Leukozyten, während sich zeitgleich die Zahl fest adhärenter Leukozyten erhöhte.[162]

Andere Gruppen, wie die um Han et al. (Ratten mit 2 mg/kg KG LPS) und Ishii et al. (Mäuse mit einer intraperitonealen Gabe von 0,5 mg LPS) verzeichneten nach ca. 15 Minuten Endotoxinämie, eine Zunahme der rollenden Leukozyten.[163,164] Als Ursache für die verschiedenen Messergebnisse sind in erster Linie die früheren

Messzeitpunkte anzunehmen. Auch die unterschiedliche Dosierung sowie die Art der LPS-Applikation können eine Rolle spielen.

5.3.1.2 Fest adhärenente Leukozyten

In den mit LPS belasteten Gruppen kam es in unserer Versuchsanordnung, ebenso wie bei Schmidt et al., zu einem signifikanten Anstieg fest am Endothel haftender Leukozyten, so dass kaum noch rollende Leukozyten beobachtet werden konnten.

Auch Guo et al. wiesen 30 Minuten nach LPS-Belastung bei Ratten eine signifikante Zunahme der fest adhärenenten Leukozyten in den Gefäßen der mesenterialen Mikrozirkulation nach.[165] Zu vergleichbaren Resultaten kamen Baatz et al., die die Leukozyten-Endothel-Interaktion an Gefäßen der Uvea von Ratten untersuchten. Zwei Stunden nach intraperitonealer Injektion von 0,1 mg LPS, kam es zu einem Anstieg der fest adhärenenten Sticker bei gleichzeitigem Abfall des Leukozytenrollings um 30% und einem Abfall der Leukozytenzahl im peripheren Blut. Die Zahl der Leukozyten im peripheren Blut stieg erst wieder 6 Stunden nach der LPS-Injektion vermutlich durch Aktivierung der Granulopoese an.[166]

Erklärbar ist dieses Phänomen damit, dass es zu einer Verschiebung in der Anzahl temporär adhärenenter Leukozyten zugunsten der fest adhärenenten Leukozyten gekommen ist. Diese Annahme wird dadurch gestützt, dass im peripheren Blut unserer mit LPS behandelten Versuchstiere die Zahl der Leukozyten gleichzeitig zurückgegangen ist.

Zwischen der Kontroll- und der Endotoxingruppe gab es zum Mikroskopierzeitpunkt keinen signifikanten Unterschied im mittleren arteriellen Blutdruck, weshalb wir davon ausgehen, dass die vermehrte Leukozytenadhärenenz nicht auf hämodynamische Veränderungen zurückzuführen ist. Die Zahl der fest adhärenenten Leukozyten unserer nicht beeinflussten Kontrollgruppe ist mit den in der einschlägigen Literatur beschriebenen Ergebnissen vergleichbar.[167,168,169] Sie lässt sich auf die bereits erwähnte Theorie der Gewebetraumatisierung zurückführen.

5.3.1.3 Einfluss antioxidativer Substanzen

Die Antioxidantien, die in unserer Studie Verwendung fanden, haben unterschiedliche Wirkmechanismen und Angriffspunkte. Sie können sich in ihrer Wirkungsweise ergänzen, was sich bei einer Kombinationsgabe in Bezug auf den radikalischen Stress während einer Endotoxinämie als protektiv herausstellte. Die kombinierte Gabe der Medikamente NAC und Tirilazad Mesylat hatte zwar keinen statistisch nachweisbaren

Einfluss auf das durch Endotoxin hervorgerufene Leukozytenrolling. Die feste Adhärenz der Leukozyten wurde aber signifikant in den V1- und auch in den V3-Venolen vermindert. Dieses Phänomen konnte beobachtet werden, obwohl zum Mikroskopierzeitpunkt bei der NAC/TM-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ein signifikant erniedrigter mittlerer arterieller Blutdruck festgestellt werden konnte, weshalb wir annehmen, dass die Leukozytenadhärenz durch diese hämodynamische Veränderung nicht maßgeblich beeinflusst wurde.

NAC ist in der Lage den endogenen Antioxidantienstatus anzuheben, oxidative Enzyme zu hemmen und auch direkt als Radikalfänger zu wirken. NAC reduziert die NF- κ B-Aktivierung und damit die Genexpression von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen.[96,97] Schmidt et al. stellten weiterhin fest, dass NAC bei endotoxämischen Ratten die Leukozytenadhäsion und die vaskuläre Permeabilität in postkapillären Venolen des Mesenteriums von Ratten verringerte, im Vergleich zu den Tieren die kein NAC erhielten.[103] Auch bei septischen Schafen wurde durch NAC eine Verminderung der Granulozytenaggregation erreicht.[95]

Tirilazad Mesylat bewirkt eine Membranstabilisierung im Sinne einer verminderten Membranfluidität, indem es innerhalb der Membran definierte Positionen in bestimmter Orientierung einnimmt und durch diese Stabilisierung wiederum ein Voranschreiten der Lipidperoxydation verhindert.[110] Das Lazaroid Tirilazad Mesylat hemmt auch direkt die Entstehung der Lipidperoxide, wodurch eine chemotaktische Wirkung dieser Radikale auf Granulozyten verhindert wird.[71,170] Des Weiteren wirkt Tirilazad Mesylat sehr effektiv als Fänger von Peroxyl- und Hydroxylradikalen, indem es diese bindet und so zu einer starken Hemmung der Lipidperoxydation führt. Aufgrund der hohen Affinität von Tirilazad Mesylat zu vaskulärem Endothel werden besonders die Endothelzellfunktionen vor einer Zerstörung durch Sauerstoffradikale geschützt. Durch die Inaktivierung von Radikalen verbessern Lazaroide die Mikrozirkulation, sie vermindern die Aktivierung von PMN-Leukozyten und die Stimulation vom Transkriptionsfaktor NF- κ B, der für die Synthese von verschiedenen Adhäsionsmolekülen verantwortlich ist, wird verringert.[109,112] Außerdem trägt Tirilazad Mesylat dazu bei, dass der Zellmembrangehalt an Vitamin E, dem wichtigsten endogenen lipidlöslichen Antioxidans, erhalten bleibt.[110] Die durch das Tirilazad Mesylat hervorgerufenen protektiven Effekte spiegeln sich auch in unseren Ergebnissen wieder, in denen eine Abnahme der Zahl fest adhärenter Leukozyten beobachtet werden konnte. Auch in anderen Studien an endotoxämischen Ratten wurde eine

Reduktion der Leukozytenadhärenz durch die Therapie mit diesem Lazaroid beobachtet.[171]

Trotzdem noch ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe bestand, erscheint eine antioxidative Therapie mit diesen NAC und Tirilazad Mesylat in Kombination sinnvoll und effektiv.

5.3.2 Funktionelle Kapillardichte

Werden die intestinalen Gefäße minderperfundiert, kann daraus eine Schädigung der Barrierefunktion des Darmes resultieren. Im Lumen des Gastrointestinaltraktes befindet sich eine hohe Anzahl verschiedener Keime und entsprechender bakterieller Toxine, die daraufhin in die Blutbahn gelangen können. Im Bereich des von uns untersuchten terminalen Ileums ist von etwa 10^4 Keimen pro ml Darminhalt auszugehen.

Die existierenden Untersuchungen zur Kapillarperfusion in der Darmwand bei Endotoxinämie sind zum Teil sehr widersprüchlich. Es gibt Arbeitsgruppen, die die Hypothese einer endotoxininduzierten Minderperfusion, vor allem der Mukosa, unterstützen. Theuer et al. konnten bei einer normotensiven Bakteriämie an Ratten eine Vasokonstriktion von 30% in intestinalen A1- und A3-Arteriolen nachweisen, während es zu einem 40%igen Abfall der Mukosaperfusion kam.[172] Die Gruppe um Schmidt bestätigte intravitalmikroskopisch eine um 35% verminderte villöse Perfusion bei Endotoxinämie.[136] Auch Rose und Martin beobachteten an Ratten, bei denen durch CLP eine Sepsis hervorgerufen wurde, eine villöse Minderperfusion.[173] Ebenso konnten die Arbeitsgruppen von Lendemans und Schäper bei endotoxämischen Ratten eine verminderte funktionelle Kapillardichte zeigen.[174,175]

Auf der anderen Seite gibt es Autoren, wie Nevière et al., die in einem Pseudomonas-Sepsis-Modell an Ratten keine verminderte Kapillardichte finden konnten.[153] Zu ähnlichen Ergebnissen kam die Gruppe um VanderMeer, sie sahen keine mukosale Hypoperfusion, wenngleich eine intramukosale Azidose messbar war.[176]

Mittels Mikrosphärentechnik wiesen Revelly et al. an Schweinen im Endotoxinschock eine Umverteilung der Durchblutung in der Darmwand zu Gunsten der Mukosa und zum Nachteil der Muskularis nach, wobei der Gesamtfluss in der Studie konstant blieb. Die mukosale Hyperperfusion korrelierte invers mit dem Mukosa-pH.[177] Normalerweise steht die Verteilung der intestinalen Blutmenge in dem Verhältnis Muskularis 30% und Mukosa 70% zueinander.[122]

Bei der Erkennung von Veränderungen der Kapillarperfusion in der Darmwand spielen offenbar die gewählten Versuchsmodelle und die Methodik eine bedeutende Rolle. Die Annahme, dass eine minderperfundierte Mukosa von pathogenetischer Relevanz für eine gestörte Darmbarriere ist, wird durch viele tierexperimentelle Studien gestützt, die eine erhöhte Darmpermeabilität in genau den Abschnitten mit einer mukosalen Perfusionsminderung zeigten.[134,150] Diese gestörte Mikrozirkulation scheint aber nicht alleiniger Auslöser der erhöhten intestinalen Permeabilität zu sein. Die Arbeitsgruppe von Fink verglich zwei Gruppen von Schweinen, von denen die eine Gruppe Endotoxin erhielt und infolge dessen ein erniedrigter MAP mit mesenterialer Hypoperfusion zu beobachten war. Bei der zweiten Gruppe wurde die intestinale Minderperfusion durch eine mechanische Verringerung des Blutflusses hervorgerufen. Bei der Gruppe von Tieren, die kein Endotoxin erhielt, wurde keine Störung der mukosalen Permeabilität beobachtet.[132] Eine durch Endotoxin hervorgerufene mukosale Azidose kann sogar ohne Nachweis einer Ischämie des Intestinums auftreten.[176]

Letztendlich scheint das Zusammenspiel verschiedener pathogener Faktoren für die Entstehung einer Endotoxin-induzierten Störung der Darmbarriere verantwortlich zu sein.

Im Gegensatz zu den bisherigen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe kam es bei unseren Versuchen, trotz Anwendung der gleichen Methode, sowohl in der Mukosa als auch in den aufgezeichneten Abschnitten der longitudinalen Schicht der Muskularis unter Endotoxinbelastung nicht zu einer Verminderung der funktionellen Kapillardichte. Kritisch betrachtet werden muss die signifikante Zunahme der funktionellen Kapillardichte in der zirkulären Muskularis nach LPS-Applikation. Mögliche Gründe für diese unerwarteten Veränderungen können die im Vergleich zu den vorherigen Arbeitsgruppen unterschiedlichen Endotoxinchargen oder auch die individuell unterschiedlichen Präparations- und Mikroskopierweisen sein. Sollten sich solche Ergebnisse in der Zukunft wiederholen, wäre es sicher sinnvoll den pH-Wert der Mukosa zu bestimmen, um einschätzen zu können, ob die Endotoxinämie zu einer mukosalen Azidose geführt hat.

5.3.2.1 Einfluss antioxidativer Substanzen

Als Ursache für die Verbesserung der Kapillarperfusion durch Antioxidantien wird in erster Linie die reduzierte Freisetzung vasokonstriktiver Mediatoren (Leukotrien, Thromboxan und Noradrenalin) im Rahmen der Beeinflussung des inflammatorischen Gesamtgeschehens gesehen. Sowohl tierexperimentell als auch in klinischen Studien konnte nach Endotoxingabe die Freisetzung von Noradrenalin und Endothelin beobachtet werden.[178,179] Diese Substanzen sind starke endogene Vasokonstriktoren, die zu einer intestinalen Minderperfusion führen können.[180,181] Durch die Gabe des antioxidativ wirksamen Coenzym Q₁₀ konnte im Tierexperiment die Adrenalin- und Noradrenalinausschüttung während des septischen Schocks signifikant reduziert werden.[182] Bei der Gruppe um Arvidsson jedoch führte der Einsatz des Antioxidans SOD/Katalase nicht zu einer Verbesserung der Mukosaperfusion.[183] Krysztolik et al. beobachteten durch die Therapie mit dem Lazaroid U-74389G eine Verbesserung der intestinalen Perfusion. Intravitalmikroskopisch sahen sie eine Reduktion der Vasokonstriktion in den A1- und A3-Arteriolen mit einer Blutflussverbesserung um 21%. [184] Nakayama et al. testeten an Minischweinen, während einer durch *Pseudomonas aeruginosa* hervorgerufenen Sepsis, den Einfluss der alleinigen Gabe von Tirilazad Mesylat auf die hämodynamischen Parameter. Sie konnten jedoch keinen positiven Effekt nachweisen.[185]

Ebenfalls von Bedeutung scheint das Gleichgewicht der beiden Mediatorkomplexe ROS und NO zu sein. Entzieht man diesem System die vasokonstriktorisch wirksamen ROS, kann es zu einem Überwiegen der Vasodilatation durch NO kommen und umgekehrt.[168,186]

NAC hat in den letzten Jahren, gestützt durch vielfältige tierexperimentelle und klinische Studien, in der Sepsistherapie an Bedeutung gewonnen. Es hat antioxidative, zytoprotektive und positive mikrozirkulatorische Effekte. In vitro und in vivo minderte NAC die Leukozytenadhärenz und Chemotaxis und verringerte die Gefäßpermeabilität.[96,97,99,103] Weiterhin stimuliert NAC den endothelium-derived relaxing factor (ERDF, NO) und verbessert so die Mikrozirkulation.[97] Zhang et al. konnten bei endotoxämischen Hunden durch die Gabe von NAC eine Verbesserung des Blutflusses in den mesenterialen Gefäßen erreichen.[99]

In unseren Versuchsreihen kam es unerwarteter Weise zu einer Zunahme der FCD in den Gruppen, die mit Endotoxin behandelt wurden, so dass eine Aussage über den

positiven Einfluss der Kombinationsgabe NAC mit TM auf die intestinale Mikrozirkulation nur eingeschränkt möglich ist. Statistisch gesehen wurde durch die Therapie NAC kombiniert mit Tirilazad Mesylat keine signifikante Verbesserung der funktionellen Kapillardichte im Vergleich zur Endotoxingruppe erreicht.

5.4 Laborparameter

5.4.1 Leukozyten im peripheren Blut

Während der Sepsis kommt es im Rahmen der inflammatorischen Reaktion durch Chemotaxis und das Zusammenspiel von Selektinen und Integrinen erst zu einer temporären und später zur festen Adhäsion der Leukozyten am Endothel. Diese Vorgänge leiten die Emigration der Leukozyten zum Entzündungsort ein.[187,188]

Die Leukozytopenie (<4000/ml) oder die Leukozytose (>12000/ml) zählen per definitionem zu den Symptomen einer Sepsis. In experimentellen Modellen kommt es in der Regel zunächst zu einer ausgeprägten Leukozytopenie.[183,189,190] Sie wird als Indikator der Sepsis-Induktion angesehen.[162] Als Ursache für diesen Leukozytensturz wird die endotoxininduzierte Leukozytenadhärenz in der Endstrombahn verschiedener Organe (Venolen des terminalen Ileums, Lungenstrombahn) angenommen. Dieser initialen Leukozytopenie kann sich bei längerer Beobachtungszeit ein reaktiver Anstieg der Leukozyten anschließen. Dieser Leukozytose liegt eine verzögerte Freisetzung von neu gebildeten Leukozyten aus dem Knochenmark zugrunde. Die Anzahl der im peripheren Blut vorhandenen Leukozyten spiegelt ein Gleichgewicht zwischen den jeweils neu gebildeten und den in der Mikrozirkulation fest adhärennten Leukozyten wieder.[189]

In unserer Versuchsreihe nahm die Anzahl der fest am Endothel haftenden Leukozyten in den Gruppen, die mit Endotoxin behandelt wurden, zu. Diese Beobachtung korreliert mit der Tatsache, dass die Zahl der im peripheren Blut nachweisbaren Leukozyten in diesen Gruppen im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant abnahm. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch andere Arbeitsgruppen. Schmidt et al. untersuchten am Endotoxinmodell an Ratten den Einfluss von LPS auf die Leukozyten-Endothel-Interaktion und bestimmten die Anzahl der Leukozyten im peripheren Blut. Auch sie sahen wiederholt eine signifikante Abnahme der Leukozyten im Blut sowie eine signifikante Zunahme der fest adhärennten Leukozyten.[191,192] Der Trend der leicht ansteigenden Leukozyten in der Kontrollgruppe lässt sich dadurch erklären, dass

bereits durch das operative Trauma eine Aktivierung des Immunsystems stattgefunden hat. Trotz supportiver Maßnahmen wird der Organismus einem Stress ausgesetzt, welcher dann zu einer vermehrten Freisetzung von Leukozyten aus den Lymphknoten, der Milz und dem Knochenmark führt. Diese Freisetzung aus den Leukozytenreservoirs ist jedoch begrenzt und führt nach längerer Versuchsdauer wieder zu einem leichten Abfall der Leukozytenzahl im Blut, da die Zellen für die Abwehrreaktion in das Gewebe emigrieren.

5.4.2 Antithrombin III

Antithrombin III (AT III) ist ein in der Leber synthetisiertes Glykoprotein, das als Serinproteaseinhibitor (Serpine) vor allem Komponenten des plasmatischen Gerinnungssystems (insbesondere Thrombin und Faktor Xa) kontrolliert. Der Normwert beträgt 0,19-0,31 g/l. Das Inhibitionsspektrum ist abhängig von der Konzentration. Durch Heparine und heparinähnliche Glykosaminoglykane (GAGs) auf der Oberfläche von Endothelzellen, wird das Inhibitionspotenzial von AT III deutlich verstärkt und auf andere Serinproteasen erweitert. Hohe Dosen von AT III können auch den TF(tissue factor)-Faktor-VIIa-Komplex hemmen.[54]

Während der Sepsis kommt es hauptsächlich durch den vermehrten Verbrauch von AT III zu einer Erniedrigung des Antithrombin-Spiegels.[193] Außerdem kommt es in septischen Tieren zu einer dramatischen Verkürzung der Halbwertszeit von 48 h auf 3 h, trotz einer erhöhten hepatischen Synthetisierung von AT III. Die von aktivierten Leukozyten freigesetzte Elastase führt zusätzlich zur frühzeitigen Inaktivierung von AT III.[194] Klein et al. fanden zudem heraus, dass die Konzentration der heparinähnlichen Moleküle durch inflammatorisch wirksame Mediatoren abnahm.[195]

In unseren Versuchen fanden wir ebenfalls signifikant niedrigere AT III-Plasmaspiegel in den Gruppen, die Endotoxin erhielten, was sich durch die oben genannten Effekte erklären lässt. Zwischen der Endotoxingruppe und der NAC/TM-Gruppe waren keine Unterschiede zu verzeichnen.

Mammen et al. untersuchten die Korrelation zwischen der AT III-Plasmakonzentration und der Sterblichkeit von Patienten mit disseminierter intravaskulärer Koagulation aufgrund von Sepsis, Verbrennungen und schweren Traumata. Die niedrigsten Level von AT III im Plasma, mit 65 % (normal 75-120%), fanden sie bei Patienten mit fortgeschrittener schwerer Sepsis. Wobei Level von <70% mit einer Mortalität von 90% und Level von < 60% mit einer Mortalität von 100% assoziiert waren.[196]

Die Gabe von AT III konnte in verschiedenen experimentellen Studien die Überlebensrate von septischen Tieren deutlich verbessern.[197,198,199,200] Dabei waren die positiven Effekte nicht allein durch das antikoagulatorische Wirkungsprofil von AT III erklärbar. So konnten Triantaphyllopoulos et al. an einem Sepsismodell mit Kaninchen die Sterblichkeit reduzieren, obwohl die in der Sepsis hervorgerufene Koagulopathie durch die AT III-Medikation nicht beeinflusst wurde.[201]

Das antiinflammatorische Potenzial von AT III beruht auf der Fähigkeit, durch die Interaktion mit den auf der Zelloberfläche sitzenden GAGs, die Freisetzung von Prostazyklin (PGI_2) aus Endothelzellen zu fördern.

Uchiba et al. konnten in einer Studie mit septischen Ratten durch die Medikation mit AT III in der Dosierung 250U/kg die Akkumulation von aktivierten Leukozyten und die Schädigung von pulmonalen Gefäßen reduzieren.[202] Eine andere Arbeitsgruppe wirkte durch die AT III-Gabe einer LPS-abhängigen Hypotension in der Lunge entgegen.[203] In einem Ischämie/Reperusionsmodell an Ratten konnte nach AT III-Applikation eine geringere Schädigung der hepatischen Mikrozirkulation durch ein Ansteigen des PGI_2 beobachtet werden.[204] Neviere et al. untersuchten die Leukozyten-Endothel-Interaktion an mesenterialen Gefäßen in mit 10 mg/kg KG LPS behandelten Ratten und den Einfluss von AT III. Die gesteigerte Leukozytenadhärenz in den endotoxinbelasteten Tieren konnte durch die Gabe von AT III und die infolgedessen gesteigerte Freisetzung von PGI_2 signifikant gemindert werden.[205]

PGI_2 hemmt die Aggregation von Blutplättchen und induziert eine Vasodilatation, was sich positiv auf die Mikrozirkulation auswirkt. Da PGI_2 außerdem in der Lage ist, durch die Hemmung der endotoxininduzierten Produktion von monozytärem $\text{TNF-}\alpha$, die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine und die Aktivierung der Stickstoffmonoxid Synthase (NOS) und damit die Radikalbildung durch Neutrophile einzudämmen, wirkt AT III auf diesem Wege einer Endothelzellschädigung in der Sepsis entgegen.[203,206]

In einer klinischen Phase III - Studie am Menschen, der sogenannten KyberSept-Studie, in der an 2314 Patienten mit Sepsis die 28-Tages-Sterblichkeit untersucht wurde, zeigte sich nach der intravenösen Verabreichung von 30 000 IU Antithrombin über 96 Stunden jedoch kein Unterschied im Vergleich zur Placebogruppe. Unter Antithrombintherapie wurden sogar vermehrt größere Blutungen beobachtet, was sich durch die bekannte antikoagulatorische Wirkungssteigerung von Antithrombin in Kombination mit Heparin erklären lässt. Allerdings fand man nach 90 Tagen eine niedrigere Mortalität bei den Patienten, die parallel zur Studienmedikation kein Heparin erhielten.[207] Da die

begleitend zur AT III Therapie erfolgte Heparinmedikation bei den Patienten mit Sepsis unkontrolliert erfolgte, lässt sich eine Identifizierung von individuellen Patienten mit schwerer Sepsis, die von einer Antithrombintherapie ohne zusätzliche Heparin-gabe profitierten, aus den Studienergebnissen nicht ableiten. Die Etablierung einer körpfergewichtsbezogenen Dosierung könnte das Wirkungs-/Nebenwirkungsverhältnis eventuell positiv beeinflussen.[54]

5.5 Vitalparameter

5.5.1 Mittlerer arterieller Druck

Das Krankheitsbild der Sepsis geht mit Veränderungen der Hämodynamik einher. So ist z.B. der septische Schock als eine Hypotonie definiert, die sich trotz adäquater Volumensubstitution nur mit vasokonstriktiv wirksamen Substanzen therapieren lässt.[8] In dieser Arbeit lag der Fokus auf der Beurteilung der Mikrozirkulation während des septischen Geschehens. Da die Veränderungen der Leukozyten-Endothel-Interaktion in der Endstrombahn beurteilt werden sollten, war eine Abgrenzung von makrohämodynamischen Veränderungen, wie der Hypotension, notwendig.[166] Es mussten besondere Ansprüche an das hämodynamische Profil des Studiendesigns gestellt werden. Der mittlere arterielle Blutdruck beeinflusst die Blutflussgeschwindigkeit, welche nach der Newtonschen Formel die Scherkräfte bestimmt. Diese Scherkräfte wiederum haben einen maßgeblichen Einfluss auf die Interaktion der Leukozyten mit dem Endothel.[208] Wir wählten ein Versuchsdesign, bei dem während der Gabe von Endotoxin und bei adäquater Volumensubstitution im Wesentlichen ein normotensiver Zustand aufrecht erhalten werden sollte.

In unseren Versuchen kam es nach Applikation des Endotoxins in den betroffenen Gruppen zu einem tendenziellen Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks. In der Endotoxingruppe stieg der Blutdruck 90 Minuten nach LPS-Gabe wieder an und stabilisierte sich auf einem Niveau von ca. 90 bis 115 mmHg. Zwischen den mit Endotoxin belasteten Gruppen gab es keine statistisch nachweisbaren Unterschiede. Bei der NAC/TM-Gruppe waren während des Versuches im Gruppenvergleich die niedrigsten Messwerte zu verzeichnen. Das zeigte sich in einem signifikanten Abfall des mittleren arteriellen Druckes in der NAC/TM-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. In der Literatur sind unterschiedliche Beobachtungen hinsichtlich des Einflusses von Antioxidantien auf die Hämodynamik beschrieben. Die Arbeitsgruppe von Schmidt

stellte in einem Versuchsmodell, das unserem sehr ähnelt, nach alleiniger Gabe von Tirilazad Mesylat einen leichten Blutdruckabfall fest, der aber nicht signifikant war.[171] Die gleiche Gruppe testete den Einfluss von NAC im Sepsismodell an Ratten. In ihren Versuchen kam es, wie auch bei uns zu beobachten, zu einem signifikanten Blutdruckabfall in den mit Endotoxin belasteten Gruppen, welcher sich am ausgeprägtesten in der Gruppe zeigte, die zusätzlich zum Endotoxin mit NAC behandelt wurde.[191] Zhang et al. wiederum konnten an endotoxämischen Hunden einen positiven Effekt des Lazaroids auf den MAP feststellen, nicht aber für NAC.[99,112] Hsu et al. konnten im Tierversuch an endotoxinbelasteten Ratten durch die Gabe von NAC den Blutdruckabfall vermindern.[104] Die Gruppen um Spapen und Rank untersuchten in klinischen Studien einen möglichen Nutzen von NAC in der Sepsistherapie. Sie konnten keinen signifikanten Einfluss von NAC auf den MAP feststellen.[97,101]

5.5.2 Herzfrequenz

Per definitionem steigt die Herzfrequenz des Menschen in der Sepsis auf über 90 Schläge pro Minute an.[8] In unserem Modell diente die Veränderung der Herzfrequenz als Kontrolle für die Induktion einer Endotoxinämie.

In der Literatur sind zahlreiche Untersuchungen an Tieren beschrieben, die nach Endotoxin-Gabe einen Anstieg der Herzfrequenz verzeichneten.[189] Xu et al. beschrieben an Ratten nach Applikation von 5 mg/kg KG LPS ein erhöhtes Herzzeitvolumen sowie eine erhöhte Herzfrequenz und wiesen damit eine hyperdynamische Kreislaufsituation nach.[134] Bei Versuchen mit höheren Dosierungen von bis zu 40 mg/kg KG Endotoxin kam es zu hyperdynamischen Kreislaufzuständen.[144,145] Bei geringeren Bolusgaben stellte sich initial eine hyperdynamische Phase ein, die erst nach ca. 4 Stunden in eine hypodynamische Kreislaufsituation überging.[162]

Wir konnten nach der Gabe von 5 mg/kg/h Endotoxin eine ansteigende Herzfrequenz beobachten. In der Gruppe, die nur Endotoxin erhielt, war nach 120 Minuten eine signifikant erhöhte Herzfrequenz von ca. 390/min im Vergleich zur Kontrollgruppe erkennbar. In der Gruppe, die zusätzlich zum LPS mit einer Kombination aus NAC/TM behandelt wurde, war die Herzfrequenz im Vergleich zur Kontrollgruppe und auch zur Endotoxingruppe bereits nach 60 Minuten signifikant auf Werte um ca. 390/min erhöht. Dabei hatte die Kontrollgruppe bereits zum Messzeitpunkt 0 Stunden einen erhöhten Ausgangswert (385/min) gegenüber der Kontrollgruppe (377/min) und auch der Endotoxingruppe (360/min).

Auch Hsu et al. fanden bei einer durch *Klebsiella pneumoniae* ausgelösten Sepsis an einem Modell mit Ratten nach Behandlung mit NAC einen Anstieg der Herzfrequenz.[104] Im Gegensatz dazu konnten die Gruppen um Schmidt und Zhang keinen Einfluss der Antioxidantien NAC oder Tirilazad Mesylat auf die Herzfrequenz während einer Sepsis feststellen.[96,99,112,171,191]

5.5.3 Atemfrequenz und arterielle Blutgasanalyse

Die Leukozyten-Endothel-Interaktion während einer Endotoxinämie führt zu Veränderungen der pulmonalen Mikrozirkulation, was zu Perfusionsstörungen und Störungen im alveolar-kapillären Gasaustausch führen kann. Die Compliance der Lunge sinkt und die Atemarbeit steigt an. Folge ist eine akute respiratorische Insuffizienz, welche sogar die häufigste Komponente des Multiorganversagens darstellt.[71]

Neben der oben beschriebenen erhöhten Herzfrequenz sind Tachypnoe und Hypokapnie weitere Definitionskriterien für eine Sepsis.[209] Normalerweise wird dadurch der in der Sepsis anfallende Überschuss saurer Metabolite respiratorisch ausgeglichen.

In unseren Versuchen atmeten die Tiere spontan. Wir konnten keine signifikanten Veränderungen der Atemfrequenz in den einzelnen Gruppen und auch zwischen den Gruppen beobachten. Jedoch schwankte die Atemfrequenz während des Versuchszeitraums in allen Versuchsgruppen erheblich, so dass sich kaum konkrete Aussagen formulieren lassen.

Die Blutgasanalyse erfolgte 3 Stunden nach LPS-Gabe am Versuchsende. Die Messung der arteriellen pH-Werte ergab keine statistisch nachweisbare Veränderung zwischen den Gruppen. Offensichtlich gelang es den Tieren mit der respiratorischen Kompensation, eine systemische Verschiebung des pH-Wertes abzapuffern. Diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen anderer Autoren bei Endotoxinämie.[210,211]

Bei der Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes zeigte sich die Tendenz eines geringeren p_aO_2 , der mit LPS belasteten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Für die Medikamentengruppe ergab sich ein höherer p_aO_2 als für die Gruppe, die nur Endotoxin erhielt. Diese Veränderungen waren jedoch nicht signifikant. Oxygenierungsstörungen sahen wir in unserem experimentellen Modell nicht.

6. Zusammenfassung

Die Inzidenz der septischen Erkrankungen ist in Deutschland in den letzten Jahren deutlich angestiegen. Sie stellen hierzulande mittlerweile die siebenthäufigste Krankenhausentlassungsdiagnose unter den lebensbedrohlichen Erkrankungen dar und sind mit 60000 Todesfällen pro Jahr die dritthäufigste Todesursache.[14]

Zu den möglichen Komplikationen einer Sepsis zählt das Multiorgandysfunktionssyndrom, das durch Störungen der Mikrozirkulation hervorgerufen wird. Wenn es in der Sepsis zu einer Aktivierung von Leukozyten kommt, setzen diese Mediatoren, wie z.B. Sauerstoffradikale und Proteasen frei, die das Endothel angreifen und zu dessen Schädigung führen können. Dabei beeinflussen sich die Leukozyten und das aktivierte Endothel gegenseitig.

Im Rahmen der adjunktiven Therapie, versucht man die Wirkung der schädigenden Mediatoren abzuschwächen, um die Belastung des Organismus durch Radikale zu vermindern. Die beiden Antioxidantien N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat, die durch unterschiedliche Wirkmechanismen der oxidativen Schädigung von Organen entgegenwirken, haben bereits in mehreren Studien positive Effekte auf die Mikrozirkulation gezeigt. Sie werden derzeit in den AWMF-Leitlinien jedoch nicht empfohlen, da bisher noch keine Behandlungsvorteile durch eine Gabe dieser Medikamente nachgewiesen werden konnten.

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand die Untersuchung der intestinalen Mikrozirkulation unter Endotoxineinfluss, da es zahlreiche Anhaltspunkte gibt, dass den Splanchnikusorganen eine zentrale Rolle bei der Genese des septischen Multiorganversagens zukommt.

Da die Erfassung mikrozirkulatorischer Störungen unter klinischen Bedingungen nur eingeschränkt möglich ist, wurde tierexperimentell mit einer subletalen Dosis Lipopolysaccharid (10 mg/kg KG) an der Ratte untersucht, inwiefern die Kombinationsgabe N-acetylcystein mit Tirilazad Mesylat einen protektiven Einfluss auf die funktionelle Kapillardichte und die Leukozyten-Endothel-Interaktion hat.

Des Weiteren wurde der Effekt auf die Plasmaspiegel des gerinnungshemmend und proinflammatorisch wirkenden Mediators Antithrombin III und der Leukozytenzahl im peripheren Blut untersucht.

Die Beurteilung der Leukozytenadhärenz und der funktionellen Kapillardichte erfolgte mittels Intravitalmikroskopie. Das Ausmaß der Leukozytenadhärenz am Endothel wurde

als Maß für die Leukozytenaktivierung herangezogen und die funktionelle Kapillardichte zur Einschätzung der mukosalen Mikrozirkulation.

Nach zweistündiger Endotoxinämie kam es in der NAC/TM-Gruppe im Vergleich zur LPS-Gruppe zu einer signifikanten Reduktion der Anzahl der fest am Endothel haftenden Leukozyten. Trotzdem die Zahl der fest adhärierenden Leukozyten auch in der NAC/TM-Gruppe im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant höher war, erscheint eine antioxidative Therapie mit diesen Medikamenten in Kombination sinnvoll und effektiv, um während einer Sepsis der pathologisch aktivierten Leukozyten-Endothel-Interaktion entgegenzuwirken.

Im Vergleich zu den bisherigen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe kam es in dieser Versuchsreihe unerwarteter Weise zu einer Zunahme der FCD in den Gruppen, die mit Endotoxin behandelt wurden, so dass eine Aussage über den positiven Einfluss der Kombinationsgabe NAC mit TM auf die intestinale Mikrozirkulation nur eingeschränkt möglich ist. Statistisch gesehen wurde durch die Gabe von N-acetylcystein kombiniert mit Tirilazad Mesylat keine signifikante Verbesserung der funktionellen Kapillardichte im Vergleich zur Endotoxingruppe ohne Therapie erreicht.

Durch die kombinierte Gabe von NAC und TM konnte die endotoxininduzierte Erniedrigung von AT III und die endotoxinbedingte Leukozytopenie nicht signifikant beeinflusst werden.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die kombinierte Gabe der Antioxidantien N-acetylcystein und Tirilazad Mesylat einer pathologisch gesteigerten Leukozyten-Endothel-Interaktion im Rahmen einer Sepsis entgegenwirkt, so dass weitere experimentelle Untersuchungen zur Wirksamkeit dieser Medikamentenkombination in der Sepsistherapie in anderen Dosierungen sinnvoll erscheinen.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Kreymann, G. und Wolf, M. (1996): Geschichte und Definition der Sepsis-Brauchen wir eine neue Terminologie?, *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie: AINS* (Band 31), Nr. 1, Seite 9-14
- [2] Ziegler, Ernst (1905): *Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie*, G. Fischer, Jena
- [3] Schottmüller, H. (1914): *Wesen und Behandlung der Sepsis* (Band Verhandl dt Kongress Inn Med), Nr. 31, Seite 257
- [4] Bone, R. C. (1996): Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation, *Crit Care Med* (Band 24), Nr. 1, Seite 163-72
- [5] Bone, R. C.; Fisher, C. J.; Clemmer, T. P.; Slotman, G. J.; Metz, C. A. und Balk, R. A. (1987): A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock, *N Engl J Med* (Band 317), Nr. 11, Seite 653-8
- [6] Bone, R. C. (1991): The pathogenesis of sepsis, *Ann Intern Med* (Band 115), Nr. 6, Seite 457-69
- [7] Levy, M. M.; Fink, M. P.; Marshall, J. C.; Abraham, E.; Angus, D.; Cook, D.; Cohen, J.; Opal, S. M.; Vincent, J. L. und Ramsay, G. (2003): 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, *Crit Care Med* (Band 31), Nr. 4, Seite 1250-6
- [8] Bone, R. C.; Balk, R. A.; Cerra, F. B.; Dellinger, R. P.; Fein, A. M.; Knaus, W. A.; Schein, R. M. und Sibbald, W. J. (1992): Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine, *Chest* (Band 101), Nr. 6, Seite 1644-55.
- [9] Deitch, E. A. (1992): Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy, *Ann Surg* (Band 216), Nr. 2, Seite 117-34.
- [10] Vincent, J. L. (2008): EPIC II: sepsis around the world, *Minerva Anestesiol* (Band 74), Nr. 6, Seite 293-6
- [11] Schoenberg, M. H.; Weiss, M. und Radermacher, P. (1998): Outcome of patients with sepsis and septic shock after ICU treatment, *Langenbecks Arch Surg* (Band 383), Nr. 1, Seite 44-8
- [12] Angus, D. C. und Wax, R. S. (2001): Epidemiology of sepsis: an update, *Crit Care Med* (Band 29), Nr. 7 Suppl, Seite S109-16
- [13] Angus, D. C.; Linde-Zwirble, W. T.; Lidicker, J.; Clermont, G.; Carcillo, J. und Pinsky, M. R. (2001): Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care, *Crit Care Med* (Band 29), Nr. 7, Seite 1303-10
- [14] Brunkhorst, F. M. (2006): Epidemiologie, Ökonomie und Praxis - Ergebnisse der deutschen Prävalenzstudie des Kompetenznetzwerkes Sepsis (SepNet), *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* (Band 41), Nr. 1, Seite 43-4
- [15] Grotz, M.; Regel, G.; Bastian, L.; Weimann, A.; Neuhoff, K.; Stalp, M. und Tscherne, H. (1998): Der Darm als zentrales Organ in der Entwicklung de Multiorganversagens (MOV) nach schwerem Trauma-Pathophysiologie und therapeutische Ansätze, *Zentralbl Chir* (Band 123), Nr. 3, Seite 205-17
- [16] Carrico, C. J.; Meakins, J. L.; Marshall, J. C.; Fry, D. und Maier, R. V. (1986): Multiple-organ-failure syndrome, *Arch Surg* (Band 121), Nr. 2, Seite 196-208

- [17] Marshall, J. C.; Christou, N. V. und Meakins, J. L. (1993): The gastrointestinal tract. The "undrained abscess" of multiple organ failure, *Ann Surg* (Band 218), Nr. 2, Seite 111-9
- [18] Bauer, M.; Brunkhorst, F.; Welte, T.; Gerlach, H. und Reinhart, K. (2006): Sepsis. Aktuelle Aspekte zu Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie., *Anaesthesist* (Band 55), Nr. 8, Seite 835-45
- [19] Fink, M. P. (1990): Leaky gut hypothesis: a historical perspective, *Crit Care Med* (Band 18), Nr. 5, Seite 579-80
- [20] Berg, R. D. (1995): Bacterial translocation from the gastrointestinal tract, *Trends Microbiol* (Band 3), Nr. 4, Seite 149-54.
- [21] Luther, B.; Burger, K.; Paul, D.; Lehmann, C. und Buchali, K. (1990): Zur Pathophysiologie der intestinalen Blutzirkulation, *Angio*, Nr. 12(5), Seite 173-184
- [22] Granger, D. N.; Richardson, P. D.; Kvietys, P. R. und Mortillaro, N. A. (1980): Intestinal blood flow, *Gastroenterology* (Band 78), Nr. 4, Seite 837-63.
- [23] Granger, D. N.; McCord, J. M.; Parks, D. A. und Hollwarth, M. E. (1986): Xanthine oxidase inhibitors attenuate ischemia-induced vascular permeability changes in the cat intestine, *Gastroenterology* (Band 90), Nr. 1, Seite 80-4
- [24] Bochud, Pierre-Yves und Calandra, Thierry (2003): Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment, *BMJ* (Band 326), Nr. 7383, Seite 262
- [25] Bauer, M. (1996): Pathophysiologie der Sepsis. Aktuelle Konzepte., *Anaesthesist* (Band 45), Nr. 4, Seite 312-22
- [26] Erridge, C.; Bennett-Guerrero, E. und Poxton, I. R. (2002): Structure and function of lipopolysaccharides, *Microbes Infect* (Band 4), Nr. 8, Seite 837-51
- [27] Kayser, Fritz H.; Bienz, Kurt A. und Eckert, Johannes (1993): *Medizinische Mikrobiologie*, Thieme Georg Verlag, ISBN: 3134448084
- [28] Ulevitch, R. J. und Tobias, P. S. (1995): Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin, *Annu Rev Immunol* (Band 13), Seite 437-57
- [29] Adam, D. und Gerlach, B. (1994): *Antibacterial Treatment of Sepsis, Sepsis - current perspectives in pathophysiology and therapy* Seite 247, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York
- [30] Rietschel, E. T.; Kirikae, T.; Schade, F. U.; Mamat, U.; Schmidt, G.; Loppnow, H.; Ulmer, A. J.; Zahringer, U.; Seydel, U.; Di Padova, F. und et al. (1994): Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function, *Faseb J* (Band 8), Nr. 2, Seite 217-25
- [31] Schilling, J. D.; Martin, S. M.; Hunstad, D. A.; Patel, K. P.; Mulvey, M. A.; Justice, S. S.; Lorenz, R. G. und Hultgren, S. J. (2003): CD14- and Toll-like receptor-dependent activation of bladder epithelial cells by lipopolysaccharide and type 1 pilated *Escherichia coli*, *Infect Immun* (Band 71), Nr. 3, Seite 1470-80
- [32] Werdan, Karl und Schuster, Hans-Peter (2000): *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen*, Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K, ISBN: 3540644520
- [33] Frey, E. A.; Miller, D. S.; Jahr, T. G.; Sundan, A.; Bazil, V.; Espevik, T.; Finlay, B. B. und Wright, S. D. (1992): Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide, *J Exp Med* (Band 176), Nr. 6, Seite 1665-71
- [34] Netea, Mihai G.; Van Der Graaf, Chantal A. A.; Vonk, Alieke G.; Verschueren, Ineke; Van Der Meer, Jos W. M. und Kullberg, Bart Jan (2002): The role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the host defense against disseminated candidiasis, *J Infect Dis* (Band 185), Nr. 10, Seite 1483-9
- [35] Shimazu, R.; Akashi, S.; Ogata, H.; Nagai, Y.; Fukudome, K.; Miyake, K. und Kimoto, M. (1999): MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4, *J Exp Med* (Band 189), Nr. 11, Seite 1777-82

- [36] Pridmore, A. C.; Jarvis, G. A.; John, C. M.; Jack, D. L.; Dower, S. K. und Read, R. C. (2003): Activation of toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4/MD2 by *Neisseria* is independent of capsule and lipooligosaccharide (LOS) sialylation but varies widely among LOS from different strains, *Infect Immun* (Band 71), Nr. 7, Seite 3901-8
- [37] Miller, S. I.; Ernst, R. K. und Bader, M. W. (2005): LPS, TLR4 and infectious disease diversity, *Nat Rev Microbiol* (Band 3), Nr. 1, Seite 36-46
- [38] Medzhitov, R. und Janeway, C., Jr. (2000): The Toll receptor family and microbial recognition, *Trends Microbiol* (Band 8), Nr. 10, Seite 452-6
- [39] Muzio, M.; Polntarutti, N.; Bosisio, D.; Prahladan, M. K. und Mantovani, A. (2000): Toll like receptor family (TLT) and signalling pathway, *Eur Cytokine Netw* (Band 11), Nr. 3, Seite 489-90
- [40] Bruin, K. F.; von der Mühlen, M. A. M. und van Deventer, D. J. H. (1994): Endotoxemia and Sepsis: Important Roles for Lipopolysaccharide Binding Protein and CD14 in Endotoxin Signal Transduction, *Sepsis - current perspectives in pathophysiology and therapy* Seite 53, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York
- [41] Das, U. N. (2000): Critical advances in septicemia and septic shock, *Crit Care* (Band 4), Nr. 5, Seite 290-6.
- [42] Dunzendorfer, Stefan; Lee, Hyun-Ku; Soldau, Katrin und Tobias, Peter S. (2004): TLR4 is the signaling but not the lipopolysaccharide uptake receptor, *J Immunol* (Band 173), Nr. 2, Seite 1166-70
- [43] Fenton, M. J. und Golenbock, D. T. (1998): LPS-binding proteins and receptors, *J Leukoc Biol* (Band 64), Nr. 1, Seite 25-32
- [44] Hampton, R. Y.; Golenbock, D. T.; Penman, M.; Krieger, M. und Raetz, C. R. (1991): Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors, *Nature* (Band 352), Nr. 6333, Seite 342-4
- [45] Vincent, Jean-Louis; Sakr, Yasser; Reinhart, Konrad; Sprung, Charles L.; Gerlach, Herwig und Ranieri, V. Marco (2005): Is albumin administration in the acutely ill associated with increased mortality? Results of the SOAP study, *Crit Care* (Band 9), Nr. 6, Seite 745-54
- [46] Bone, R. C. (1996): Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS), *Ann Intern Med* (Band 125), Nr. 8, Seite 680-7
- [47] Volk, H. D. und Döcke, W. D. Skripte begleitend zur Immunologievorlesung 1. klinisches Semester Humanmedizin, Institut für medizinische Immunologie, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin, Seite 25
- [48] Goode, H. F. und Webster, N. R. (1993): Free radicals and antioxidants in sepsis, *Crit Care Med* (Band 21), Nr. 11, Seite 1770-6.
- [49] Schoenberg, M. H.; Nussler, A. K. und Beger, H. G. (1995): Sauerstoffradikale und Stickstoffmonoxid in der Sepsis., *Chirurg* (Band 66), Nr. 1, Seite 18-26
- [50] Dempfle, C. E. (2005): Gerinnungsstörungen bei Sepsis., *Hamostaseologie* (Band 25), Nr. 2, Seite 183-9
- [51] Aird, W. C. (2003): The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome, *Blood* (Band 101), Nr. 10, Seite 3765-77
- [52] Ostermann, H. (2002): Antithrombin III in Sepsis. New evidences and open questions, *Minerva Anesthesiol* (Band 68), Nr. 5, Seite 445-8
- [53] Schouten, M.; Wiersinga, W. J.; Levi, M. und van der Poll, T. (2008): Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis, *J Leukoc Biol* (Band 83), Nr. 3, Seite 536-45
- [54] Loew, A. und Riess, H. (2005): Gerinnungstherapeutische Ansätze bei Sepsis, *Hamostaseologie* (Band 25), Nr. 2, Seite 191-9

- [55] Esmon, C. T. (2005): The interactions between inflammation and coagulation, *Br J Haematol* (Band 131), Nr. 4, Seite 417-30
- [56] Borgel, D.; Bornstain, C.; Reitsma, P. H.; Lerolle, N.; Gandrille, S.; Dali-Ali, F.; Esmon, C. T.; Fagon, J. Y.; Aiach, M. und Diehl, J. L. (2007): A comparative study of the protein C pathway in septic and nonseptic patients with organ failure, *Am J Respir Crit Care Med* (Band 176), Nr. 9, Seite 878-85
- [57] Roth, E.; Manhart, N. und Punz, A. (1998): Role of Antioxidants in Sepsis, *Intensivmedizin*, Nr. 35(2), Seite 95-105
- [58] Jones, O. T. (1994): The regulation of superoxide production by the NADPH oxidase of neutrophils and other mammalian cells, *Bioessays* (Band 16), Nr. 12, Seite 919-23
- [59] Bone, H. G.; Sielenkamper, A. und Booke, M. (1999): Sauerstoffangebot in der Sepsis. Seit 10 Jahren mehr Fragen als Antworten., *Anaesthesist* (Band 48), Nr. 2, Seite 63-79
- [60] Kretzschmar, M. (1994): Role of oxygen free radicals in the pathophysiology of sepsis, In Reinhart K, Eyrich K., eds. *Sepsis - current perspectives in pathophysiology and therapy*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York
- [61] Lentsch, A. B. und Ward, P. A. (1999): Activation and regulation of NFkappaB during acute inflammation, *Clin Chem Lab Med* (Band 37), Nr. 3, Seite 205-8.
- [62] Vincent, J. L. und De Backer, D. (2001): Pathophysiology of Septic Shock, *Advances in Sepsis*, Nr. 1(3)
- [63] Ward, P. A. (2004): The dark side of C5a in sepsis, *Nat Rev Immunol* (Band 4), Nr. 2, Seite 133-42
- [64] DiScipio, R. G.; Daffern, P. J.; Jagels, M. A.; Broide, D. H. und Sriramarao, P. (1999): A comparison of C3a and C5a-mediated stable adhesion of rolling eosinophils in postcapillary venules and transendothelial migration in vitro and in vivo, *J Immunol* (Band 162), Nr. 2, Seite 1127-36
- [65] Jagels, M. A.; Daffern, P. J. und Hugli, T. E. (2000): C3a and C5a enhance granulocyte adhesion to endothelial and epithelial cell monolayers: epithelial and endothelial priming is required for C3a-induced eosinophil adhesion, *Immunopharmacology* (Band 46), Nr. 3, Seite 209-22
- [66] Cerwinka, W. H.; Cooper, D.; Krieglstein, C. F.; Ross, C. R.; McCord, J. M. und Granger, D. N. (2003): Superoxide mediates endotoxin-induced platelet-endothelial cell adhesion in intestinal venules, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (Band 284), Nr. 2, Seite H535-41
- [67] Thompson, R. D.; Wakelin, M. W.; Larbi, K. Y.; Dewar, A.; Asimakopoulos, G.; Horton, M. A.; Nakada, M. T. und Nourshargh, S. (2000): Divergent effects of platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 and beta 3 integrin blockade on leukocyte transmigration in vivo, *J Immunol* (Band 165), Nr. 1, Seite 426-34
- [68] Harlan, J. M. (1985): Leukocyte-endothelial interactions, *Blood* (Band 65), Nr. 3, Seite 513-25
- [69] Tonnesen, M. G. (1989): Neutrophil-endothelial cell interactions: mechanisms of neutrophil adherence to vascular endothelium, *J Invest Dermatol* (Band 93), Nr. 2 Suppl, Seite 53-58
- [70] Wagner, J. G. und Roth, R. A. (1999): Neutrophil migration during endotoxemia, *J Leukoc Biol* (Band 66), Nr. 1, Seite 10-24
- [71] Thiel, M.; Zourelidis, C. und Peter, K. (1996): Die Rolle der polymorphkernigen Leukozyten in der Pathogenese des akuten Lungenversagens (ARDS), *Anaesthesist* (Band 45), Nr. 2, Seite 113-130
- [72] Ley, K. (1992): Leukocyte adhesion to vascular endothelium, *J Reconstr Microsurg* (Band 8), Nr. 6, Seite 495-503.

- [73] Ley, K. und Tedder, T. F. (1995): Leukocyte interactions with vascular endothelium. New insights into selectin-mediated attachment and rolling, *J Immunol* (Band 155), Nr. 2, Seite 525-8
- [74] Springer, T. A. (1994): Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm, *Cell* (Band 76), Nr. 2, Seite 301-14.
- [75] Harlan, J. M. und Winn, R. K. (2002): Leukocyte-endothelial interactions: clinical trials of anti-adhesion therapy, *Crit Care Med* (Band 30), Nr. 5 Suppl, Seite S214-9
- [76] Repo, H. und Harlan, J. M. (1999): Mechanisms and consequences of phagocyte adhesion to endothelium, *Ann Med* (Band 31), Nr. 3, Seite 156-65
- [77] Ley, K. (1994): Histamine can induce leukocyte rolling in rat mesenteric venules, *Am J Physiol* (Band 267), Nr. 3 Pt 2, Seite 1017-23
- [78] Springer, T. A. (1990): Adhesion receptors of the immune system, *Nature* (Band 346), Nr. 6283, Seite 425-34.
- [79] von Andrian, U. H.; Berger, E. M.; Ramezani, L.; Chambers, J. D.; Ochs, H. D.; Harlan, J. M.; Paulson, J. C.; Etzioni, A. und Arfors, K. E. (1993): In vivo behavior of neutrophils from two patients with distinct inherited leukocyte adhesion deficiency syndromes, *J Clin Invest* (Band 91), Nr. 6, Seite 2893-7
- [80] Granger, D. N. und Kubes, P. (1994): The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion, *J Leukoc Biol* (Band 55), Nr. 5, Seite 662-75.
- [81] Hynes, R. O. (1992): Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion, *Cell* (Band 69), Nr. 1, Seite 11-25.
- [82] Anderson, D. C. und Springer, T. A. (1987): Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1, and p150,95 glycoproteins, *Annu Rev Med* (Band 38), Seite 175-94
- [83] Lee, S. C.; Brummet, M. E.; Shahabuddin, S.; Woodworth, T. G.; Georas, S. N.; Leiferman, K. M.; Gilman, S. C.; Stellato, C.; Gladue, R. P.; Schleimer, R. P. und Beck, L. A. (2000): Cutaneous injection of human subjects with macrophage inflammatory protein-1 alpha induces significant recruitment of neutrophils and monocytes, *J Immunol* (Band 164), Nr. 6, Seite 3392-401
- [84] Dellinger, R. P.; Levy, M. M.; Carlet, J. M.; Bion, J.; Parker, M. M.; Jaeschke, R.; Reinhart, K.; Angus, D. C.; Brun-Buisson, C.; Beale, R.; Calandra, T.; Dhainaut, J. F.; Gerlach, H.; Harvey, M.; Marini, J. J.; Marshall, J.; Ranieri, M.; Ramsay, G.; Sevransky, J.; Thompson, B. T.; Townsend, S.; Vender, J. S.; Zimmerman, J. L. und Vincent, J. L. (2008): Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008, *Crit Care Med* (Band 36), Nr. 1, Seite 296-327
- [85] Reinhart, K.; Brunkhorst, F.; Bone, H.; Gerlach, H.; Grundling, M.; Kreymann, G.; Kujath, P.; Marggraf, G.; Mayer, K.; Meier-Hellmann, A.; Peckelsen, C.; Putensen, C.; Quintel, M.; Ragaller, M.; Rossaint, R.; Stuber, F.; Weiler, N.; Welte, T. und Werdan, K. (2006): Diagnose und Therapie der Sepsis. S2-Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI)., *Internist (Berl)* (Band 47), Nr. 4, Seite 356, 358-60, 362-8, passim
- [86] Koperna, T. und Schulz, F. (2000): Relaparotomy in peritonitis: prognosis and treatment of patients with persisting intraabdominal infection, *World J Surg* (Band 24), Nr. 1, Seite 32-7
- [87] Rivers, E.; Nguyen, B.; Havstad, S.; Ressler, J.; Muzzin, A.; Knoblich, B.; Peterson, E. und Tomlanovich, M. (2001): Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock, *N Engl J Med* (Band 345), Nr. 19, Seite 1368-77

- [88] Meier-Hellmann, A. (2000): Katecholamintherapie in der Sepsis, *Anaesthesist* (Band 49), Nr. 12, Seite 1069-76
- [89] Bernard, G. R.; Vincent, J. L.; Laterre, P. F.; LaRosa, S. P.; Dhainaut, J. F.; Lopez-Rodriguez, A.; Steingrub, J. S.; Garber, G. E.; Helterbrand, J. D.; Ely, E. W. und Fisher, C. J. (2001): Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis, *N Engl J Med* (Band 344), Nr. 10, Seite 699-709
- [90] Perez, J. und Dellinger, R. P. (2001): Other supportive therapies in sepsis, *Intensive Care Med* (Band 27 Suppl 1), Seite S116-27
- [91] Kreymann, K. G.; Berger, M. M.; Deutz, N. E.; Hiesmayr, M.; Jolliet, P.; Kazandjiev, G.; Nitenberg, G.; van den Berghe, G.; Wernerman, J.; Ebner, C.; Hartl, W.; Heymann, C. und Spies, C. (2006): ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Intensive care, *Clin Nutr* (Band 25), Nr. 2, Seite 210-23
- [92] Deitch, E. A.; Specian, R. D. und Berg, R. D. (1991): Endotoxin-induced bacterial translocation and mucosal permeability: role of xanthine oxidase, complement activation, and macrophage products, *Crit Care Med* (Band 19), Nr. 6, Seite 785-91
- [93] Emet, S.; Memis, D. und Pamukcu, Z. (2004): The influence of N-acetyl-L-cystein infusion on cytokine levels and gastric intramucosal pH during severe sepsis, *Crit Care* (Band 8), Nr. 4, Seite R172-9
- [94] Arzneimittelinformation, Flumucil® Inpharzam, Schweiz, 2570
- [95] Bernard, G. R.; Lucht, W. D.; Niedermeyer, M. E.; Snapper, J. R.; Ogletree, M. L. und Brigham, K. L. (1984): Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function, *J Clin Invest* (Band 73), Nr. 6, Seite 1772-84
- [96] Zhang, H.; Spapen, H.; Nguyen, D. N.; Benlabeled, M.; Buurman, W. A. und Vincent, J. L. (1994): Protective effects of N-acetyl-L-cysteine in endotoxemia, *Am J Physiol* (Band 266), Nr. 5 Pt 2, Seite H1746-54
- [97] Rank, N.; Michel, C.; Haertel, C.; Lenhart, A.; Welte, M.; Meier-Hellmann, A. und Spies, C. (2000): N-acetylcysteine increases liver blood flow and improves liver function in septic shock patients: results of a prospective, randomized, double-blind study, *Crit Care Med* (Band 28), Nr. 12, Seite 3799-807
- [98] Küttler, T. (1994): *Pharmakologie und Toxikologie*, Jungjohann Verlagsgesellschaft, Neckarsulm Stuttgart
- [99] Zhang, H.; Spapen, H.; Nguyen, D. N.; Rogiers, P.; Bakker, J. und Vincent, J. L. (1995): Effects of N-acetyl-L-cysteine on regional blood flow during endotoxic shock, *Eur Surg Res* (Band 27), Nr. 5, Seite 292-300
- [100] Ortolani, O.; Conti, A.; De Gaudio, A. R.; Moraldi, E.; Cantini, Q. und Novelli, G. (2000): The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock, *Am J Respir Crit Care Med* (Band 161), Nr. 6, Seite 1907-11
- [101] Spapen, H.; Zhang, H.; Demanet, C.; Vleminckx, W.; Vincent, J. L. und Huyghens, L. (1998): Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest* (Band 113), Nr. 6, Seite 1616-24
- [102] Arzneimittelinformation Flumucil®, Antidot Zambon GmbH, 50170 Kerpen, Deutschland, 3520
- [103] Schmidt, W.; Walther, A.; Gebhard, M. M.; Martin, E. und Schmidt, H. (1998): Influence of N-acetylcysteine treatment on endotoxin-induced microcirculatory disturbances, *Intensive Care Med* (Band 24), Nr. 9, Seite 967-72
- [104] Hsu, B. G.; Lee, R. P.; Yang, F. L.; Harn, H. J. und Chen, H. I. (2006): Post-treatment with N-acetylcysteine ameliorates endotoxin shock-induced organ damage in conscious rats, *Life Sci* (Band 79), Nr. 21, Seite 2010-6

- [105] Atis, S.; Nayci, A.; Ozge, A.; Comelekoglu, U.; Gunes, S. und Bagdatoglu, O. (2006): N-acetylcysteine protects the rats against phrenic nerve dysfunction in sepsis, *Shock* (Band 25), Nr. 1, Seite 30-5
- [106] Spies, C. D.; Reinhart, K.; Witt, I.; Meier-Hellmann, A.; Hannemann, L.; Bredle, D. L. und Schaffartzik, W. (1994): Influence of N-acetylcysteine on indirect indicators of tissue oxygenation in septic shock patients: results from a prospective, randomized, double-blind study, *Critical Care Medicine* (Band 22), Nr. 11, Seite 1738-46
- [107] Hein, Ortrud Vargas; Ohring, Renate; Schilling, Andreas; Oellerich, Michael; Armstrong, Victor W.; Kox, Wolfgang J. und Spies, Claudia, (2004): N-acetylcysteine decreases lactate signal intensities in liver tissue and improves liver function in septic shock patients, as shown by magnetic resonance spectroscopy: extended case report, *Crit Care* (Band 8), Nr. 2, Seite 66-71
- [108] Lehmann, C.; Georgiew, A.; Weber, M.; Birnbaum, J. und Kox, W. J. (2001): Reduction in intestinal leukocyte adherence in rat experimental endotoxemia by treatment with the 21-aminosteroid U-74389G, *Intensive Care Med* (Band 27), Nr. 1, Seite 258-63
- [109] Fukuma, K.; Marubayashi, S.; Okada, K.; Yamada, K.; Kimura, A. und Dohi, K. (1999): Effect of lazaroide U-74389G and methylprednisolone on endotoxin-induced shock in mice, *Surgery* (Band 125), Nr. 4, Seite 421-30
- [110] Buttgereit, F.; Hiepe, F. und Burmester, G. R. (1997): Das therapeutische Potential der Lazaroide (21-Aminosteroide). Eine aktuelle Bestandsaufnahme., *Dtsch Med Wochenschr* (Band 122), Nr. 44, Seite 1363-7
- [111] Arzneimittelinformation Freedox®, mg Pharmacia & Upjohn AG, 8600 Dübendorf, Deutschland, 11418
- [112] Zhang, H.; Spapen, H.; Manikis, P.; Rogiers, P.; Metz, G.; Buurman, W. A. und Vincent, J. L. (1995): Tirilazad mesylate (U-74006F) inhibits effects of endotoxin in dogs, *Am J Physiol* (Band 268), Nr. 5 Pt 2, Seite H1847-55
- [113] Buttgereit, F.; Brink, I.; Thiele, B.; Burmester, G. R.; Hiepe, F. und Hall, E. D. (1995): Effects of methylprednisolone and 21-aminosteroids on mitogen-induced interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production in human peripheral blood mononuclear cells, *J Pharmacol Exp Ther* (Band 275), Nr. 2, Seite 850-3
- [114] Chen, H.; Xu, D.; Qi, S.; Aboujaoude, M.; Senechal, J. und Daloze, P. (1994): 21-Aminosteroid lipid peroxidation inhibitor U74389G protects the small bowel in the rat against warm and cold ischemia damage, *Transplant Proc* (Band 26), Nr. 3, Seite 1483-4
- [115] Eversole, R. R.; Smith, S. L.; Beuving, L. J. und Hall, E. D. (1993): Protective effect of the 21-aminosteroid lipid peroxidation inhibitor tirilazad mesylate (U74006F) on hepatic endothelium in experimental hemorrhagic shock, *Circ Shock* (Band 40), Nr. 2, Seite 125-31
- [116] Horton, J. W. und Walker, P. B. (1993): Oxygen radicals, lipid peroxidation, and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion, *J Appl Physiol* (Band 74), Nr. 4, Seite 1515-20
- [117] Semrad, S. D.; Rose, M. L. und Adams, J. L. (1993): Effect of tirilazad mesylate (U74006F) on eicosanoid and tumor necrosis factor generation in healthy and endotoxemic neonatal calves, *Circ Shock* (Band 40), Nr. 4, Seite 235-42
- [118] Powell, R. J.; Machiedo, G. W.; Rush, B. F., Jr. und Dikdan, G. S. (1991): Effect of oxygen-free radical scavengers on survival in sepsis, *Am Surg* (Band 57), Nr. 2, Seite 86-8
- [119] Ammons, W. S. und Kung, A. H. (1993): Recombinant amino terminal fragment of bactericidal/permeability-increasing protein prevents hemodynamic responses to endotoxin, *Circ Shock* (Band 41), Nr. 3, Seite 176-84

- [120] van Lambalgen, A. A.; Rasker, M. T.; van den Bos, G. C. und Thijs, L. G. (1988): Effects of endotoxemia on systemic plasma loss and hematocrit in rats, *Microvasc Res* (Band 36), Nr. 3, Seite 291-304
- [121] Bohlen, H. G. und Gore, R. W. (1976): Preparation of rat intestinal muscle and mucosa for quantitative microcirculatory studies, *Microvasc Res* (Band 11), Nr. 1, Seite 103-110
- [122] Gore, R. W. und Bohlen, H. G. (1977): Microvascular pressures in rat intestinal muscle and mucosal villi, *Am J Physiol* (Band 233), Nr. 6, Seite H685-93
- [123] Schmid-Schoenbein, G. W.; Zweifach, B. W. und Kovalcheck, S. (1977): The application of stereological principles to morphometry of the microcirculation in different tissues, *Microvasc Res* (Band 14), Nr. 3, Seite 303-17
- [124] Wichterman, K. A.; Baue, A. E. und Chaudry, I. H. (1980): Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal, *J Surg Res* (Band 29), Nr. 2, Seite 189-201
- [125] Ahrenholz, D. H. und Simmons, R. L. (1980): Fibrin in peritonitis. I. Beneficial and adverse effects of fibrin in experimental *E. coli* peritonitis, *Surgery* (Band 88), Nr. 1, Seite 41-7
- [126] Browne, M. K. und Leslie, G. B. (1976): Animal models of peritonitis, *Surg Gynecol Obstet* (Band 143), Nr. 5, Seite 738-40
- [127] Villa, P.; Sartor, G.; Angelini, M.; Sironi, M.; Conni, M.; Gnocchi, P.; Isetta, A. M.; Grau, G.; Buurman, W.; van Tits, L. J. und et al. (1995): Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin, *Clin Diagn Lab Immunol* (Band 2), Nr. 5, Seite 549-53
- [128] Altavilla, D.; Squadrito, F.; Campo, G. M.; Squadrito, G.; Arlotta, M.; Urna, G.; Sardella, A.; Quartarone, C.; Saitta, A. und Caputi, A. P. (1999): The lazaroïd, U-74389G, inhibits inducible nitric oxide synthase activity, reverses vascular failure and protects against endotoxin shock, *Eur J Pharmacol* (Band 369), Nr. 1, Seite 49-55
- [129] Fink, M. P. und Heard, S. O. (1990): Laboratory models of sepsis and septic shock, *J Surg Res* (Band 49), Nr. 2, Seite 186-96.
- [130] Quezado, Z. M. N.; Natanson, C. und Hoffmann, W. D. (1994): Endotoxin in Septic Shock, cIn Reinhart K, Eyrich K., eds. *Sepsis - current perspectives in pathophysiology and therapy*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York
- [131] Deitch, E. A.; Ma, L.; Ma, W. J.; Grisham, M. B.; Granger, D. N.; Specian, R. D. und Berg, R. D. (1989): Inhibition of endotoxin-induced bacterial translocation in mice, *J Clin Invest* (Band 84), Nr. 1, Seite 36-42
- [132] Fink, M. P.; Antonsson, J. B.; Wang, H. L. und Rothschild, H. R. (1991): Increased intestinal permeability in endotoxic pigs. Mesenteric hypoperfusion as an etiologic factor, *Arch Surg* (Band 126), Nr. 2, Seite 211-8
- [133] Schneider, J.; Friderichs, E.; Heintze, K. und Flohe, L. (1990): Effects of recombinant human superoxide dismutase on increased lung vascular permeability and respiratory disorder in endotoxemic rats, *Circ Shock* (Band 30), Nr. 2, Seite 97-106
- [134] Xu, D.; Qi, L.; Guillory, D.; Cruz, N.; Berg, R. und Deitch, E. A. (1993): Mechanisms of endotoxin-induced intestinal injury in a hyperdynamic model of sepsis, *J Trauma* (Band 34), Nr. 5, Seite 676-3
- [135] Kuebler, W. M.; Borges, J.; Sckell, A.; Kuhnle, G. E.; Bergh, K.; Messmer, K. und Goetz, A. E. (2000): Role of L-selectin in leukocyte sequestration in lung capillaries in a rabbit model of endotoxemia, *Am J Respir Crit Care Med* (Band 161), Nr. 1, Seite 36-43
- [136] Schmidt, H.; Secchi, A.; Wellmann, R.; Bach, A.; Bohrer, H.; Gebhard, M. M. und Martin, E. (1996): Effect of endotoxemia on intestinal villus microcirculation in rats, *J Surg Res* (Band 61), Nr. 2, Seite 521-6

- [137] de Carvalho, H.; Matos, J. A.; Bouskela, E. und Svensjo, E. (1999): Vascular permeability increase and plasma volume loss induced by endotoxin was attenuated by hypertonic saline with or without dextran, *Shock* (Band 12), Nr. 1, Seite 75-80
- [138] Abu-Amarah, I.; Ajikobi, D. O.; Bachelard, H.; Cupples, W. A. und Salevsky, F. C. (1998): Responses of mesenteric and renal blood flow dynamics to acute denervation in anesthetized rats, *Am J Physiol* (Band 275), Nr. 5 Pt 2, Seite R1543-52
- [139] Bouvier, C.; Guc, M. O.; Furman, B. L. und Parratt, J. R. (1994): Platelet activating factor impairs pressor responses to noradrenaline in the anaesthetized rat but does not mediate endotoxin-induced hyporeactivity, *Circ Shock* (Band 42), Nr. 1, Seite 14-9
- [140] Fukumura, D.; Miura, S.; Kurose, I.; Higuchi, H.; Suzuki, H.; Ebinuma, H.; Han, J. Y.; Watanabe, N.; Wakabayashi, G.; Kitajima, M. und Ishii, H. (1996): IL-1 is an important mediator for microcirculatory changes in endotoxin-induced intestinal mucosal damage, *Dig Dis Sci* (Band 41), Nr. 12, Seite 2482-92
- [141] Harris, N. R.; Russell, J. M. und Granger, D. N. (1994): Mediators of endotoxin-induced leukocyte adhesion in mesenteric postcapillary venules, *Circ Shock* (Band 43), Nr. 4, Seite 155-60
- [142] Miura, S.; Tsuzuki, Y.; Kurose, I.; Suematsu, M.; Shigematsu, T.; Kimura, H.; Higuchi, H.; Serizawa, H.; Yagita, H.; Okumura, K.; Granger, D. N. und Ishii, H. (1996): Endotoxin stimulates lymphocyte-endothelial interactions in rat intestinal Peyer's patches and villus mucosa, *Am J Physiol* (Band 271), Nr. 2 Pt 1, Seite 282-92
- [143] Salvemini, D.; Riley, D. P.; Lennon, P. J.; Wang, Z. Q.; Currie, M. G.; Macarthur, H. und Misko, T. P. (1999): Protective effects of a superoxide dismutase mimetic and peroxynitrite decomposition catalysts in endotoxin-induced intestinal damage, *Br J Pharmacol* (Band 127), Nr. 3, Seite 685-92
- [144] Schmidt, H.; Ebeling, D.; Bauer, H.; Bach, A.; Bohrer, H.; Gebhard, M. M. und Martin, E. (1995): Ketamine attenuates endotoxin-induced leukocyte adherence in rat mesenteric venules, *Crit Care Med* (Band 23), Nr. 12, Seite 2008-14
- [145] Brackett, D. J.; Schaefer, C. F.; Tompkins, P.; Fagraeus, L.; Peters, L. J. und Wilson, M. F. (1985): Evaluation of cardiac output, total peripheral vascular resistance, and plasma concentrations of vasopressin in the conscious, unrestrained rat during endotoxemia, *Circ Shock* (Band 17), Nr. 4, Seite 273-84
- [146] Johnston, T. D.; Hampton, W. W. und Fry, D. E. (1989): Septic hemodynamics produced by infusion of endotoxin, *Curr Surg* (Band 46), Nr. 2, Seite 101-3
- [147] Baker, J. W.; Deitch, E. A.; Li, M.; Berg, R. D. und Specian, R. D. (1988): Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut, *J Trauma* (Band 28), Nr. 7, Seite 896-906
- [148] Maejima, K.; Deitch, E. und Berg, R. (1984): Promotion by burn stress of the translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of mice, *Arch Surg* (Band 119), Nr. 2, Seite 166-72
- [149] Maejima, K.; Deitch, E. A. und Berg, R. D. (1984): Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury, *Infect Immun* (Band 43), Nr. 1, Seite 6-10
- [150] Navaratnam, R. L.; Morris, S. E.; Traber, D. L.; Flynn, J.; Woodson, L.; Linares, H. und Herndon, D. N. (1990): Endotoxin (LPS) increases mesenteric vascular resistance (MVR) and bacterial translocation (BT), *J Trauma* (Band 30), Nr. 9, Seite 1104-5
- [151] Deitch, E. A. und Bridges, R. M. (1987): Effect of stress and trauma on bacterial translocation from the gut, *J Surg Res* (Band 42), Nr. 5, Seite 536-42
- [152] Janssen, G. H.; Tangelder, G. J.; oude Egbrink, M. G. und Reneman, R. S. (1997): Different effects of anesthetics on spontaneous leukocyte rolling in rat skin, *Int J Microcirc Clin Exp* (Band 17), Nr. 6, Seite 305-13

- [153] Nevriere, R. R.; Pitt-Hyde, M. L.; Piper, R. D.; Sibbald, W. J. und Potter, R. F. (1999): Microvascular perfusion deficits are not a prerequisite for mucosal injury in septic rats, *Am J Physiol* (Band 276), Nr. 4 Pt 1, Seite G933-40
- [154] Nolte, D.; Hecht, R.; Schmid, P.; Botzlar, A.; Menger, M. D.; Neumueller, C.; Sinowatz, F.; Vestweber, D. und Messmer, K. (1994): Role of Mac-1 and ICAM-1 in ischemia-reperfusion injury in a microcirculation model of BALB/C mice, *Am J Physiol* (Band 267), Nr. 4 Pt 2, Seite 1320-8
- [155] Yuan, Y. und Fleming, B. P. (1990): A method for isolation and fluorescent labeling of rat neutrophils for intravital microvascular studies, *Microvasc Res* (Band 40), Nr. 2, Seite 218-29
- [156] Warner, A.; Bencosme, A.; Healy, D. und Verme, C. (1995): Prognostic role of antioxidant enzymes in sepsis: preliminary assessment, *Clin Chem* (Band 41), Nr. 6 Pt 1, Seite 867-71
- [157] Volk, T.; Hensel, M.; Schuster, H. und Kox, W. J. (2000): Secretion of MCP-1 and IL-6 by cytokine stimulated production of reactive oxygen species in endothelial cells, *Mol Cell Biochem* (Band 206), Nr. 1-2, Seite 105-12
- [158] Janssen, G. H.; Tangelder, G. J.; Oude Egbrink, M. G. und Reneman, R. S. (1994): Spontaneous leukocyte rolling in venules in untraumatized skin of conscious and anesthetized animals, *Am J Physiol* (Band 267), Nr. 3 Pt 2, Seite 1199-204
- [159] Mayrovitz, H. N. (1992): Leukocyte rolling: a prominent feature of venules in intact skin of anesthetized hairless mice, *Am J Physiol* (Band 262), Nr. 1 Pt 2, Seite 157-61
- [160] Fiebig, E.; Ley, K. und Arfors, K. E. (1991): Rapid leukocyte accumulation by "spontaneous" rolling and adhesion in the exteriorized rabbit mesentery, *Int J Microcirc Clin Exp* (Band 10), Nr. 2, Seite 127-44
- [161] Scalia, R.; Armstead, V. E.; Minchenko, A. G. und Lefer, A. M. (1999): Essential role of P-selectin in the initiation of the inflammatory response induced by hemorrhage and reinfusion, *J Exp Med* (Band 189), Nr. 6, Seite 931-8
- [162] Schmidt, H. (1997): Tierexperimentelle Untersuchungen zur intestinalen Mikrozirkulation und zum intestinalen Purinstoffwechsel bei Endotoxinämie, Habilitation. Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 9880
- [163] Han, J. Y.; Horie, Y.; Miura, S.; Akiba, Y.; Guo, J.; Li, D.; Fan, J. Y.; Liu, Y. Y.; Hu, B. H.; An, L. H.; Chang, X.; Xu, M.; Guo, D. A.; Sun, K.; Yang, J. Y.; Fang, S. P.; Xian, M. J.; Kizaki, M.; Nagata, H. und Hibi, T. (2007): Compound Danshen injection improves endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat mesentery, *World J Gastroenterol* (Band 13), Nr. 26, Seite 3581-91
- [164] Ishii, N.; Tsuzuki, Y.; Matsuzaki, K.; Miyazaki, J.; Okada, Y.; Hokari, R.; Kawaguchi, A.; Nagao, S.; Itoh, K. und Miura, S. (2004): Endotoxin stimulates monocyte-endothelial cell interactions in mouse intestinal Peyer's patches and villus mucosa, *Clin Exp Immunol* (Band 135), Nr. 2, Seite 226-32
- [165] Guo, J.; Sun, K.; Wang, C. S.; Fang, S. P.; Horie, Y.; Yang, J. Y.; Liu, Y. Y.; Wang, F.; Liu, L. Y.; Fan, J. Y.; Hibi, T. und Han, J. Y. (2008): Protective effects of dihydroxyphenyl lactic acid and salvianolic acid B on LPS-induced mesenteric microcirculatory disturbance in rats, *Shock* (Band 29), Nr. 2, Seite 205-11
- [166] Baatz, H.; Pleyer, U.; Thiel, H. J. und Hammer, C. (1995): In vivo study of leukocyte-endothelium interaction in endotoxin-induced uveitis, *Invest Ophthalmol Vis Sci* (Band 36), Nr. 10, Seite 1960-7
- [167] Arndt, H.; Palitzsch, K. D.; Anderson, D. C.; Rusche, J.; Grisham, M. B. und Granger, D. N. (1995): Leucocyte-endothelial cell adhesion in a model of intestinal inflammation, *Gut* (Band 37), Nr. 3, Seite 374-9

- [168] Kubes, P.; Grisham, M. B.; Barrowman, J. A.; Gaginella, T. und Granger, D. N. (1991): Leukocyte-induced vascular protein leakage in cat mesentery, *Am J Physiol* (Band 261), Nr. 6 Pt 2, Seite 1872-9
- [169] Seiffge, D.; Bissinger, T.; Kremer, E.; Laux, V. und Schleyerbach, R. (1995): Inhibitory effects of pentoxifylline on LPS-induced leukocyte adhesion and macromolecular extravasation in the microcirculation, *Inflamm Res* (Band 44), Nr. 7, Seite 281-6
- [170] Hall, E. D.; McCall, J. M. und Means, E. D. (1994): Therapeutic potential of the lazaroids (21-aminosteroids) in acute central nervous system trauma, ischemia and subarachnoid hemorrhage, *Adv Pharmacol* (Band 28), Seite 221-68.
- [171] Schmidt, H.; Schmidt, W.; Muller, T.; Bohrer, H.; Bach, A.; Gebhard, M. M. und Martin, E. (1997): Effect of the 21-aminosteroid tirilazad mesylate on leukocyte adhesion and macromolecular leakage during endotoxemia, *Surgery* (Band 121), Nr. 3, Seite 328-34
- [172] Theuer, C. J.; Wilson, M. A.; Steeb, G. D. und Garrison, R. N. (1993): Microvascular vasoconstriction and mucosal hypoperfusion of the rat small intestine during bacteremia, *Circ Shock* (Band 40), Nr. 1, Seite 61-8
- [173] Rose, J. und Martin, C. (2006): Tissue bioenergetics and microvascular perfusion are impaired in rat ileal mucosa in normotensive sepsis, *Microcirculation* (Band 13), Nr. 1, Seite 49-56
- [174] Lendemans, S.; Peszko, A.; Oberbeck, R.; Schmitz, D.; Husain, B.; Burkhard, M.; Schade, F. U. und Flohe, S. (2008): Microcirculatory alterations of hepatic and mesenteric microcirculation in endotoxin tolerance, *Shock* (Band 29), Nr. 2, Seite 223-31
- [175] Schaper, J.; Ahmed, R.; Schafer, T.; Elster, A.; Enigk, F.; Habazettl, H.; Mousa, S.; Schafer, M. und Welte, M. (2008): Volume therapy with colloid solutions preserves intestinal microvascular perfusion in endotoxaemia, *Resuscitation* (Band 76), Nr. 1, Seite 120-8
- [176] VanderMeer, T. J.; Wang, H. und Fink, M. P. (1995): Endotoxemia causes ileal mucosal acidosis in the absence of mucosal hypoxia in a normodynamic porcine model of septic shock, *Crit Care Med* (Band 23), Nr. 7, Seite 1217-26
- [177] Revelly, J. P.; Ayuse, T.; Brienza, N.; Fessler, H. E. und Robotham, J. L. (1996): Endotoxic shock alters distribution of blood flow within the intestinal wall, *Crit Care Med* (Band 24), Nr. 8, Seite 1345-51
- [178] Jones, S. B. und Romano, F. D. (1989): Dose- and time-dependent changes in plasma catecholamines in response to endotoxin in conscious rats, *Circ Shock* (Band 28), Nr. 1, Seite 59-68
- [179] Richardson, R. P.; Rhyne, C. D.; Fong, Y.; Hesse, D. G.; Tracey, K. J.; Marano, M. A.; Lowry, S. F.; Antonacci, A. C. und Calvano, S. E. (1989): Peripheral blood leukocyte kinetics following in vivo lipopolysaccharide (LPS) administration to normal human subjects. Influence of elicited hormones and cytokines, *Ann Surg* (Band 210), Nr. 2, Seite 239-45
- [180] Immink, W. F.; Beijer, H. J. und Charbon, G. A. (1976): Hemodynamic effects of norepinephrine and isoprenaline in various regions of the canine splanchnic area, *Pflugers Arch* (Band 365), Nr. 2-3, Seite 107-18
- [181] Pawlik, W. W.; Shepherd, A. P.; Mailman, D.; Shanbour, L. L. und Jacobson, E. D. (1976): Effects of dopamine and epinephrine on intestinal blood flow and oxygen uptake, *Adv Exp Med Biol* (Band 75), Seite 511-6
- [182] Lelli, J. L.; Drongowski, R. A.; Gastman, B.; Remick, D. G. und Coran, A. G. (1993): Effects of coenzyme Q10 on the mediator cascade of sepsis, *Circ Shock* (Band 39), Nr. 3, Seite 178-87

- [183] Arvidsson, S.; F.,lt, K.; Marklund, S. und Haglund, U. (1985): Role of free oxygen radicals in the development of gastrointestinal mucosal damage in Escherichia coli sepsis, *Circulatory Shock* (Band 16), Nr. 4, Seite 383-93
- [184] Krysztolik, R. J.; Bentley, F. R.; Spain, D. A.; Wilson, M. A. und Garrison, R. N. (1997): Lazaroid improves intestinal blood flow in the rat during hyperdynamic bacteraemia, *Br J Surg* (Band 84), Nr. 12, Seite 1717-21
- [185] Nakayama, M.; Hasegawa, N.; Oka, Y.; Lutzke, B.; McCall, J. M. und Raffin, T. A. (1998): Effects of the lazaroïd, tirilazad mesylate, on sepsis-induced acute lung injury in minipigs, *Crit Care Med* (Band 26), Nr. 3, Seite 538-47
- [186] Bautista, A. P. und Spitzer, J. J. (1990): Superoxide anion generation by in situ perfused rat liver: effect of in vivo endotoxin, *Am J Physiol* (Band 259), Nr. 6 Pt 1, Seite G907-12
- [187] Kurose, I.; Anderson, D. C.; Miyasaka, M.; Tamatani, T.; Paulson, J. C.; Todd, R. F.; Rusche, J. R. und Granger, D. N. (1994): Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage, *Circ Res* (Band 74), Nr. 2, Seite 336-43
- [188] Suzuki, M.; Suematsu, M.; Miura, S.; Oshio, C.; Oda, M. und Tsuchiya, M. (1988): Microcirculatory disturbances in endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation. The effects of heparin and gabexate mesilate on locomotive and metabolic changes of neutrophils, *Adv Exp Med Biol* (Band 242), Seite 135-41
- [189] Barroso-Aranda, J.; Schmid-Schonbein, G. W.; Zweifach, B. W. und Mathison, J. C. (1991): Polymorphonuclear neutrophil contribution to induced tolerance to bacterial lipopolysaccharide, *Circ Res* (Band 69), Nr. 5, Seite 1196-206
- [190] Grisham, M. B.; Everse, J. und Janssen, H. F. (1988): Endotoxemia and neutrophil activation in vivo, *Am J Physiol* (Band 254), Nr. 5 Pt 2, Seite 1017-22
- [191] Schmidt, H.; Schmidt, W.; Muller, T.; Bohrer, H.; Gebhard, M. M. und Martin, E. (1997): N-acetylcysteine attenuates endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo, *Crit Care Med* (Band 25), Nr. 5, Seite 858-63
- [192] Schmidt, W.; Schmidt, H.; Bauer, H.; Gebhard, M. M. und Martin, E. (1997): Influence of lidocaine on endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo, *Anesthesiology* (Band 87), Nr. 3, Seite 617-24
- [193] Emerson, T. E., Jr.; Fournel, M. A.; Redens, T. B. und Taylor, F. B., Jr. (1989): Efficacy of antithrombin III supplementation in animal models of fulminant Escherichia coli endotoxemia or bacteremia, *Am J Med* (Band 87), Nr. 3B, Seite 27S-33S
- [194] Fourier, F.; Jourdain, M.; Tournois, A.; Caron, C.; Goudemand, J. und Chopin, C. (1995): Coagulation inhibitor substitution during sepsis, *Intensive Care Med* (Band 21 Suppl 2), Seite S264-8
- [195] Klein, N. J.; Shennan, G. I.; Heyderman, R. S. und Levin, M. (1992): Alteration in glycosaminoglycan metabolism and surface charge on human umbilical vein endothelial cells induced by cytokines, endotoxin and neutrophils, *J Cell Sci* (Band 102 (Pt 4)), Seite 821-32
- [196] Mammen, E. F. (1998): Antithrombin: its physiological importance and role in DIC, *Semin Thromb Hemost* (Band 24), Nr. 1, Seite 19-25
- [197] Minnema, M. C.; Chang, A. C.; Jansen, P. M.; Lubbers, Y. T.; Pratt, B. M.; Whittaker, B. G.; Taylor, F. B.; Hack, C. E. und Friedman, B. (2000): Recombinant human antithrombin III improves survival and attenuates inflammatory responses in baboons lethally challenged with Escherichia coli, *Blood* (Band 95), Nr. 4, Seite 1117-23
- [198] Hauptmann, J. und Bruggener, E. (1988): Influence of hirudin on the consumption of antithrombin III in experimental DIC, *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* (Band 115), Nr. 1-2, Seite 83-7

- [199] Mammen, E. F.; Miyakawa, T.; Phillips, T. F.; Assarian, G. S.; Brown, J. M. und Murano, G. (1985): Human antithrombin concentrates and experimental disseminated intravascular coagulation, *Semin Thromb Hemost* (Band 11), Nr. 4, Seite 373-83
- [200] Redens, T. B.; Leach, W. J.; Bogdanoff, D. A. und Emerson, T. E., Jr. (1988): Synergistic protection from lung damage by combining antithrombin-III and alpha 1-proteinase inhibitor in the E. coli endotoxemic sheep pulmonary dysfunction model, *Circ Shock* (Band 26), Nr. 1, Seite 15-26
- [201] Triantaphyllopoulos, D. C. (1984): Effects of human antithrombin III on mortality and blood coagulation induced in rabbits by endotoxin, *Thromb Haemost* (Band 51), Nr. 2, Seite 232-5
- [202] Uchiba, M.; Okajima, K.; Murakami, K.; Okabe, H. und Takatsuki, K. (1996): Attenuation of endotoxin-induced pulmonary vascular injury by antithrombin III, *Am J Physiol* (Band 270), Nr. 6 Pt 1, Seite L921-30
- [203] Isobe, H.; Okajima, K.; Uchiba, M.; Harada, N. und Okabe, H. (2002): Antithrombin prevents endotoxin-induced hypotension by inhibiting the induction of nitric oxide synthase in rats, *Blood* (Band 99), Nr. 5, Seite 1638-45
- [204] Harada, N.; Okajima, K.; Kushimoto, S.; Isobe, H. und Tanaka, K. (1999): Antithrombin reduces ischemia/reperfusion injury of rat liver by increasing the hepatic level of prostacyclin, *Blood* (Band 93), Nr. 1, Seite 157-64
- [205] Nevriere, R.; Tournoys, A.; Mordon, S.; Marechal, X.; Song, F. L.; Jourdain, M. und Fourrier, F. (2001): Antithrombin reduces mesenteric venular leukocyte interactions and small intestine injury in endotoxemic rats, *Shock* (Band 15), Nr. 3, Seite 220-5
- [206] Uchiba, M. und Okajima, K. (1997): Antithrombin III (AT III) prevents LPS-induced pulmonary vascular injury: novel biological activity of AT III, *Semin Thromb Hemost* (Band 23), Nr. 6, Seite 583-90
- [207] Warren, B. L.; Eid, A.; Singer, P.; Pillay, S. S.; Carl, P.; Novak, I.; Chalupa, P.; Atherstone, A.; Penzes, I.; Kubler, A.; Knaub, S.; Keinecke, H. O.; Heinrichs, H.; Schindel, F.; Juers, M.; Bone, R. C. und Opal, S. M. (2001): Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial, *Jama* (Band 286), Nr. 15, Seite 1869-78
- [208] Moazzam, F.; DeLano, F. A.; Zweifach, B. W. und Schmid-Schonbein, G. W. (1997): The leukocyte response to fluid stress, *Proc Natl Acad Sci U S A* (Band 94), Nr. 10, Seite 5338-43
- [209] Bone, R. C.; Sprung, C. L. und Sibbald, W. J. (1992): Definitions for sepsis and organ failure, *Crit Care Med* (Band 20), Nr. 6, Seite 724-6
- [210] Taniguchi, T.; Shibata, K.; Yamamoto, K.; Kobayashi, T.; Saito, K. und Nakanuma, Y. (1996): Lidocaine attenuates the hypotensive and inflammatory responses to endotoxemia in rabbits, *Crit Care Med* (Band 24), Nr. 4, Seite 642-6
- [211] Rackow, E. C.; Astiz, M. E.; Mecher, C. E. und Weil, M. H. (1994): Increased venous-arterial carbon dioxide tension difference during severe sepsis in rats, *Crit Care Med* (Band 22), Nr. 1, Seite 121-5

8. Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
AF	Atemfrequenz
APC	aktiviertes Protein C
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ATIII	Antithrombin III
ATS	American Thoracic Society
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BPI	Bactericidal Permeability-Increasing Protein
CARS	Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome
CD	Cluster of Differentiation
Cl ⁻	Chlorid
CLP-Modell	Cecal Ligation and Puncture-Modell
COX	Cyclooxygenase
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation
DIVI	Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin
DSG	Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V.
E. coli	Escheria coli
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbet Assays
EPCR	Endothelialer Protein-C-Rezeptor
ESICM	European Society of Intensive Care Medicin
EPCR	Endothelzell-Protein-C-Rezeptor
ERDF	Endothelium-Derived Relaxing Factor, Syn.: NO
E-Selektin	Endothel-Selektin, Syn.: ELAM-1, CD62E
FCD	Funktionelle Kapillardichte
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
GAGs	Heparinähnliche Glykosaminoglykane
GALT	Gut Associatet Lymphatic Tissue
GPI	Glycophosphatidylinositol
h	Stunde

HDL	High Density Lipoprotein
HF	Herzfrequenz
HOCL	Hypochlorige Säure
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IFN	Interferon
IL-1Rs	IL1-Rezeptoren
IL	Interleukin
IRAK	IL-1R-assoziierte Kinase
ITS	Intensivtherapiestation
IVM	Intravitalmikroskopie
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LBP	LPS-Binding Protein
LEI	Leukozyten-Endothel-Interaktion
LFA	Lymphocyte Function Associated Antigen
LODS	Logistic Organ Dysfunction System
LPS	Lipopolysaccharid
L-Selektin	Leukozyten-Selektin, Syn.: LECAM-1, LM:1, CD62L
MARS	Mixed Antagonistic Response Syndrome
MAdCAM	Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule
MAP	Mean Arterial Blood Pressure
mCD14	Membranständiger CD14
MIF	Migration Inhibition Factor
min	Minute
mmHG	Millimeter Quecksilbersäule
MODS	Multi Organ Dysfunction Syndrom
MOV	Multiorganversagen
NAC	N-acetylcystein
NASCIS III	National Acute Spinal Cord Injury-Studie
NADPH	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NF- κ B	Nukleärer Faktor kappa B
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid Synthase

O ₂	Sauerstoff
O ₂ ^{-o}	Superoxidanion
PAF	Platelet Activating Factor
PAMPs	Pathogen Associated Molecular Patterns
PAR-1	Proteaseaktivierter Rezeptor 1
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PECAM-1	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1, Syn.: CD31
PG	Prostaglandin
PGI ₂	Prostazyklin
pHi	intramukosaler intestinaler pH-Wert
PNM	Polymorphnuclear Neutrophils
P-Selektin	Plättchen-Selektin, Syn.: PADGEM, CD62P
PROWESS	Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis
rhAPC	Rekombinantes aktiviertes Protein C, Syn.: Drotrecogin
ROS	Reactive Oxygen Species
s	Sekunde
SCCM	Society of Critical Care Medicine
sCD14	Soluble CD14
SepNet	Kompetenznetzwerk Sepsis
Serpin	Serinproteaseinhibitor
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SIS	Surgical Infection Society
sLex	sulfatisierte Sialyl-Lewisx-Einheit , sialyl-CD15
SOD	Superoxiddismutase
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
SSC	Surviving Sepsis Campaign
TbM	Thrombomodulin
TF	tissue factor, Gewebsthromboplastin
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor
TIR	Toll/IL-1R-Region
TLR	Toll-Like Receptor
TM	Tirilazad Mesylat
TNF-α	Tumornekrosefaktor alpha
TX	Thromboxanen

VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1
VLA-4	Very-Late-Antigen-4
VWF	von Willebrand-Faktor
XD	Xanthindehydrogenase
XO	Xanthinoxidase

Danksagung

Hiermit möchte ich allen danken, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren.

Für die Überlassung des Themas und die Förderung der wissenschaftlichen Arbeit bedanke ich mich sehr herzlich bei Herrn PD Dr. Jürgen Birnbaum.

Mein ganz besonderer Dank geht an Professor Dr. Christian Lehmann und Fr. Dr. Edda Klotz, die konstruktive Kritik und Hilfestellung bei der Abfassung dieser Arbeit leisteten.

Des Weiteren geht ein großer Dank an Frau Dr. Tania Schink und Herrn Prof. Wernicke für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse. Besonders möchte ich Frau Barbara Egerer für ihre Hilfe bei der biochemischen Bestimmung der Laborparameter danken.

Ebenso danke ich recht herzlich meiner Kollegin Dr. Renata Kawka, ohne die die Durchführung der tierexperimentellen Abschnitte nicht in dieser Qualität und Kürze möglich gewesen wäre. Im Weiteren gilt mein Dank Alexander Blume und Florian Jubin für die Einarbeitung in die Methodik und in die operativen Techniken. Darüber hinaus danke ich dem Team der Tierpfleger für die sorgsame Betreuung der Versuchstiere.

Meinem Mann Caspar, meinen Kindern Georg und Henriette sowie meinen Eltern Angelika und Uwe Mallin gilt ein besonderer Dank. Sie haben mich immer unterstützt und an mich geglaubt. Durch ihre Hilfe war es mir möglich, das für mich sehr wichtige Ziel der Promotion in greifbare Nähe zu rücken. Ich bin sehr dankbar für das große Verständnis, die Unterstützung und die stetige Motivation, die ich durch meine Familie erfahren habe.

Ich möchte meinen Eltern auch dafür danken, dass sie mir das Medizinstudium mit allen nötigen Vorausbildungen ermöglichten und mir durch ihre liebevolle Erziehung viel Kraft gegeben haben.

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

Publikationen

1. R. Kawka, J. Birnbaum, K. Mallin, C. Spies, Ch. Lehmann, W. J. Kox: „Einfluss einer Kombination von Tirilazad Mesylat und N-acetylcystein bzw. C1-Esterase-Inhibitor und Faktor XIII auf die intestinale Leukozyten-Endothel-Interaktion bei experimenteller Endotoxinämie“ Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung, Ausgabe 2-2003
2. J. Birnbaum, E. Klotz, C.D. Spies, O.V. Hein, K. Mallin, R. Kawka, S. Ziemer, C. Lehmann: “The combinations C1-esterase inhibitor with coagulation factor XIII and N-acetylcysteine with tirilazad mesylate reduce the leukocyte adherence in an experimental endotoxemia in rats” Clinical hemorheology and microcirculation, 2008; 40 (3):167-76.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Katja Pfüller, geb. Mallin, erkläre, das ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss von Tirilazad Mesylat und N-acetylcystein auf die intestinale Mikrozirkulation bei experimenteller Endotoxinämie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe“

Datum

Unterschrift