

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin,
Campus Virchow-Klinikum und Campus Charité Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Effekte von niedrig dosiertem Hydrocortison auf proinflammatorische Mediatoren bei
Patienten im septischen Schock

Ergebnisse einer prospektiven, randomisierten, doppelblinden,
Placebo-kontrollierten, monozentrischen Cross-over Studie

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Christina Maxia (geborene Schulz)

aus Frankfurt am Main

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. D. Keh
 2. Priv.-Doz. Dr. med. A. Meier-Hellmann
 3. Prof. Dr. med. J. Briegel

Datum der Promotion: 08.04.2011

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Übersicht.....	6
1.2	Definitionen.....	7
1.3	Epidemiologie und klinische Relevanz.....	9
1.4	Immunsystem und Pathogenese der Sepsis.....	11
1.5	Glukokortikoide.....	13
	1.5.1 Molekulare Wirkmechanismen der Glukokortikoide.....	13
	1.5.1.1 Genomische Wirkmechanismen.....	13
	1.5.1.2 Nicht-genomische Wirkmechanismen.....	14
	1.5.2 Immunologische Effekte.....	15
	1.5.3 Bisherige therapeutische Strategien mit Glukokortikoiden im septischen Schock.....	15
1.6	Ziel der Arbeit.....	17
2	Material und Methoden	18
2.1	Patientenkollektiv.....	18
2.2	Randomisierung und Studiendesign.....	20
2.3	Material.....	22
	2.3.1 Geräte.....	22
	2.3.2 Monoklonale Antikörper/Durchflusszytometrie.....	22
	2.3.3 Enzyme-linked immunosorbent assay/Solid-phase Radioimmunoassay.....	22
	2.3.4 Reagenzien/Puffer.....	22
	2.3.5 Ein- und Mehrwegartikel.....	23
2.4	Probenmaterial und Aufbereitung.....	24
	2.4.1 Testprinzip ELISA.....	24
	2.4.2 Arbeitsprotokoll zur Bestimmung von IL-6,IL-8 und sE-Selektin mittels ELISA.....	25
	2.4.3 Prinzip der durchflusszytometrischen Messung.....	25
	2.4.4 Arbeitsprotokoll zur Bestimmung der mittleren Fluoreszenzintensität von CD 11b auf Granulozyten.....	26
2.5	Statistische Methoden.....	28

3	Ergebnisse	29
3.1	Patientenkollektiv.....	29
3.1.1	Patientencharakteristika.....	29
3.2	Effekte von Hydrocortison auf die Cortisolkonzentration im Plasma.....	32
3.3	Lösliche Mediatoren.....	34
3.3.1	Effekte von Hydrocortison auf die Konzentration von Interleukin-6 im Plasma.....	34
3.3.2	Effekte von Hydrocortison auf die Konzentration von Interleukin-8 im Plasma.....	36
3.3.3	Effekte von Hydrocortison auf die Konzentration von löslichen E-Selektin im Plasma.....	38
3.4	Effekte von Hydrocortison auf die mittlere Fluoreszenzintensität von CD 11b auf Granulozyten.....	40
4	Diskussion	42
4.1	Studienprotokoll und Methodik.....	42
4.2	Lösliche Mediatoren.....	43
4.2.1	Interleukin-6 und Verlauf der Plasmaspiegel unter niedrig dosiertem Hydrocortison.....	43
4.2.2	Interleukin-8 und Verlauf der Plasmaspiegel unter niedrig dosiertem Hydrocortison.....	47
4.2.3	Solubles E-Selektin und Verlauf der Plasmaspiegel unter niedrig dosiertem Hydrocortison.....	48
4.3	Expression CD 11b auf Granulozyten unter niedrig dosiertem Hydrocortison.....	51
4.4	Auswirkungen des Applikationszeitpunkts von niedrig dosiertem Hydrocortison.....	54
4.5	Bewertung des Konzentrationsverlaufs proinflammatorischer Mediatoren nach Beendigung der Zufuhr von niedrig dosiertem Hydrocortison.....	54
4.6	Klinische Relevanz.....	55
4.7	Limitierende Faktoren der Studie.....	62
5	Zusammenfassung	64
6	Abkürzungsverzeichnis	65
7	Literaturverzeichnis	66
8	Anhang	84
8.1	Danksagung.....	84
8.2	Curriculum Vitae.....	85
8.3	Eidesstattliche Erklärung.....	86
8.4	Publikation.....	87

1 Einleitung

1.1 Übersicht

Die schwere Sepsis und deren Folgezustände wie der septische Schock respektive das sepsisassoziierte Multiorganversagen stellen multifaktorielle, schwer behandelbare und heterogene Krankheitsbilder dar.

Diese zählen, trotz aller medizinischer Fortschritte, auf nicht-kardiologischen Intensivstationen nach wie vor zu den häufigsten Todesursachen (Engel et al. 2007, Angus et al. 2001). Die chirurgische Fokussanierung, die antimikrobielle Therapie sowie supportive intensivmedizinische Maßnahmen lebensbedrohlicher Organdysfunktionen gehören zum Standard im klinischen Management des Patienten im septischen Schock. Hierbei ist die Beseitigung der auslösenden Ursache primäres Behandlungsziel. Spezielle Strategien, welche die Modulation des Gerinnungs- und Inflammationssystems betreffen, sind zusätzlich zur Standardtherapie wichtige ergänzende adjunktive Therapieoptionen.

Während der letzten Jahre führten verbesserte pathophysiologische Kenntnisse über die komplexen molekularen Mechanismen des Organversagens zur Weiterentwicklung immunmodulatorischer Therapiestrategien (Marshall 2003).

Die isolierte Blockade einzelner Mediatoren oder Zytokine innerhalb der Entzündungs- oder Gerinnungskaskade als adjunktive Therapieform konnte jedoch für die meisten Patientengruppen bisher nur selten einen günstigen Einfluss auf den pathophysiologischen Verlauf der Inflammation nehmen (Werdan et al. 2007, Vincent et al. 2002, Abraham et al. 2001, Reinhart et al. 2001, Boillot et al. 1995, Bone et al. 1995, Greenberg et al. 1992). Auch der therapeutische Einsatz von Glukokortikoiden als eine adjunktive Therapieoption in der Behandlung des septischen Schocks unterliegt einem veränderten Verständnis vom komplexen Zusammenspiel pro- und antiinflammatorischer Immunreaktionen. Schon seit Beginn der 1950er bis in die achtziger Jahre hinein setzte man Glukokortikoide in hoher Dosierung ein (Weitzman und Berger 1974). Dieses geschah unter der Vorstellung, ein globales Unterdrücken der Entzündungsreaktion wirke sich positiv auf die Mortalitätsentwicklung aus. Nachdem sich anhand mehrerer Studien jedoch keine Reduktion der Mortalität, vielmehr aber ein vermehrtes Auftreten infektiöser Komplikationen zeigen ließ, wurde dieses

Therapiekonzept verlassen (Bone et al. 1987, VASSCSG 1987). Abgesehen von speziellen Indikationsbereichen, lehnte man den Einsatz von Glukokortikoiden im septischen Schock generell ab.

Der Einsatz von Hydrocortison in niedriger, stress-adaptierter Dosierung (200-300 mg/d) wurde erst zu Beginn der 1990er Jahre erneut aufgegriffen und zählt derzeit zu den aktuellen und viel diskutierten Therapieansätzen innerhalb des multimodalen Behandlungskonzepts des septischen Schocks.

In der vorliegenden Arbeit werden die immunologischen Effekte einer adjunktiven Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock dargestellt und diskutiert. Es wird dabei im Besonderen auf die Beeinflussung der proinflammatorischen Immunantwort eingegangen. Die Daten wurden im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten, monozentrischen Cross-over Studie erhoben.

1.2 Definitionen

Nach der klassischen klinisch-infektiologischen Definition von Hugo Schottmüller aus dem Jahre 1914 versteht man unter **Sepsis** die systemische Einschwemmung von Mikroben oder mikrobiellen Produkten aus einem oder mehreren Infektionsherden. Als Folge kommt es zu einer Aktivierung einer Vielzahl von körpereigenen Mediatorsystemen, wie die Aktivierung von Immunzellen, die Freisetzung löslicher Mediatoren und deren komplexe Interaktionen über lösliche und zellgebundene Rezeptorsysteme mit anderen Systemen, wie etwa dem Gerinnungssystem. Es resultieren eine inadäquate Gewebepfusion und eine systemische Inflammation. Pathophysiologisch imponieren Perfusionsfehlverteilungen, Mikrothrombosierungen und ein Kapillarlecksyndrom. In der Regel resultiert eine insuffiziente Mikrozirkulation trotz erhaltener Makrozirkulation und somit eine Sauerstoffschuld in der Peripherie und auf zellulärer Ebene. Sepsis stellt demnach einen Symptomenkomplex aus systemischer Entzündungsreaktion bei gleichzeitigem Vorliegen eines lokalen Entzündungsherdes dar.

Im Rahmen der „Consensus Conference“ des American College of Chest Physicans/ Society of Critical Care Medicine im Jahre 1991 wurden für die Begriffe Sepsis, schwere Sepsis, septischer Schock und Multiorganversagen nachfolgende Definitionen

erarbeitet (Bone et al. 1992). Diese bilden bis heute, wenn auch in teilweise modifizierter Form, die Grundlage von Definitionen in klinischen Studien und aktuellen Leitlinien der Deutschen Sepsisgesellschaft zur Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis (Reinhart et al. 2010).

Einem **SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome)** liegen auf zellulärer und biochemischer Ebene diejenigen Mechanismen zugrunde, die eine Entzündung charakterisieren, jedoch ohne dass eine infektiöse Ursache vorliegen muss. Auslöser für dieses Syndrom können beispielsweise ausgedehnte Operationen, ein schweres Trauma, großflächige Verbrennungen oder generell jedes Schockgeschehen sein.

Mindestens zwei der folgenden klinischen Kriterien müssen erfüllt sein, wenn man von SIRS spricht:

Fieber ($\geq 38\text{ °C}$) oder Hypothermie ($\leq 36\text{ °C}$)
Tachykardie (Herzfrequenz $\geq 90/\text{min}$)
Tachypnoe (Frequenz $\geq 20/\text{min}$) oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 32\text{ mmHg}$)
Leukozytose ($\geq 12000/\mu\text{l}$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\mu\text{l}$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild

Wird mikrobiologisch oder klinisch eine Infektion als Ursache eines SIRS nachgewiesen, so spricht man von **Sepsis**.

Treten im Rahmen der Sepsis Zeichen der Organdysfunktion, Hypoperfusion oder Hypotension auf, bezeichnet man diesen Zustand als **schwere Sepsis**. Als septische Hypotension wird dabei das Vorliegen eines systolischen Blutdrucks $\leq 90\text{ mmHg}$ oder ein Abfall um $> 40\text{ mmHg}$ vom Ausgangswert definiert. Im Rahmen der Hypoperfusion können klinische Symptome wie eine Laktatazidose, Oligurie oder eine akute Veränderung der Bewusstseinslage auftreten.

Als **septischen Schock** bezeichnet man das mit der schweren Sepsis assoziierte Kreislaufversagen, welches trotz adäquater Volumensubstitution persistiert, mit Zeichen der Hypoperfusion und Organdysfunktion einhergeht und durch andere Ursachen nicht erklärt werden kann. Auch Patienten, die im Rahmen einer Therapie mit inotropen oder vasokonstriktiven Medikamenten normotensive Werte, aber trotzdem Zeichen der Organdysfunktion und Hypoperfusion aufweisen, befinden sich im septischen Schock.

MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome) bezeichnet die parallele oder sequentielle Funktionseinschränkung mindestens zweier Organsysteme beim Akutkranken. Dabei stellt jede einzelne Organdysfunktion für sich betrachtet eine vitale Bedrohung dar. Es ergibt sich die Notwendigkeit der intensivmedizinischen Intervention zur Aufrechterhaltung der Homöostase.

1.3 Epidemiologie und klinische Relevanz

Die schwere Sepsis und der septische Schock stellen eine der häufigsten Todesursachen außerhalb der kardiologischen und kardiochirurgischen Intensivstationen dar. In den USA treten jährlich etwa 751.000 Fälle schwerer Sepsis auf. Im Jahr 1995 betrug die Zahl der an einer schweren Sepsis verstorbenen Patienten 9,3 % aller Todesfälle. Sie entsprach etwa der Anzahl an Patienten, die infolge eines akuten Myokardinfarkts verstarben (Angus et al. 2001).

In Deutschland erkrankten 79.000 Einwohner pro Jahr an einer Sepsis, 75.000 Einwohner pro Jahr leiden an einer schweren Sepsis beziehungsweise erleiden einen septischen Schock. Septische Erkrankungen sind für etwa 60.000 Todesfälle pro Jahr verantwortlich. Sie stellen nach der koronaren Herzkrankheit und dem Myokardinfarkt die dritthäufigste Todesursache dar (Brunkhorst et al. 2005).

Trotz steter Verbesserungen im Bereich der operativen, pharmakologischen und supportiven Therapiestrategien liegt die Letalität der schweren Sepsis auf deutschen Intensivstationen bei 40 %, die des septischen Schocks bei 56 % (Engel et al. 2007). Die überlebenden Patienten leiden zum Teil unter einer beträchtlichen Einschränkung ihrer Lebensqualität etwa durch eine reduzierte physische Leistungsfähigkeit (Perl et al. 1995). Auch verkürzt sich die Lebenserwartung nach einer Sepsis im Vergleich zu nicht-septischen Patienten um vier Jahre (Quartin et al. 1997).

Die Inzidenz der schweren Sepsis steigt Untersuchungen zufolge jährlich um

etwa 1,5 % (Angus et al. 2001). Als Ursachen hierfür sind zum einen Veränderungen zu nennen, die das Patientenkollektiv betreffen. Die Überlebensrate multimorbider Patienten mit chronischen Erkrankungen, die für ein septisches Geschehen prädisponiert sind, ist angestiegen. Neuere immunkompromittierende Therapieformen finden bei Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen, Neoplasien und bei Patienten nach Organtransplantationen Anwendung. Auch die Anzahl der HIV-infizierten Patienten wird in Zukunft innerhalb der Gruppe infektionsgefährdeter Patienten weiter zunehmen.

Die Inzidenz und Letalität der schweren Sepsis steigt mit zunehmendem Alter exponentiell an. Daher ist allein aufgrund der angenommenen demographischen Entwicklung eine Zunahme der Sepsis zu erwarten. Alter stellt einen unabhängigen Prädiktor bezüglich der Letalität septischer Patienten dar (Martin et al. 2006). Zusammenfassend gilt also, dass die Zahl der primär oder sekundär immunkompromittierten Personen auch in Zukunft noch erheblich zunehmen wird (Walmrath et al. 2001). Ferner sind viele medizinische Innovationen auf dem Gebiet invasiver diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen zu verzeichnen, die zusätzliche Keimeintrittspforten darstellen.

Etwa 2-11 % der Aufnahmen in ein Krankenhaus beziehungsweise auf eine Intensivstation erfolgen aufgrund einer schweren Sepsis (Angus et al. 2001). Die Sepsis-bedingten Krankenhauskosten in den USA betragen schätzungsweise 16,7 Milliarden Dollar pro Jahr. In Deutschland werden ca. 30 % des Budgets für Intensivmedizin, etwa 1,77 Milliarden Euro, allein für die intensivmedizinische Versorgung von Patienten mit schwerer Sepsis benötigt (Brunkhorst et al. 2005). Die schwere Sepsis und der septische Schock stellen somit Krankheitsbilder von bedeutender medizinischer aber auch sozioökonomischer Relevanz dar.

Trotzdem ist die öffentliche und selbst fachöffentliche Wahrnehmung der Sepsis im Vergleich zu anderen lebensbedrohlichen Erkrankungen verhältnismäßig gering ausgeprägt. In einer aktuellen Umfrage konnten 47 % der befragten Personen den Begriff Sepsis nicht einordnen (Rubulotta et al. 2009).

1.4 Immunsystem und Pathogenese der Sepsis

Als Schutz vor allgegenwärtigen Pathogenen verfügt der menschliche Körper über verschiedenartige Abwehrmechanismen. Chemische und mechanische Barrieren sollen den Eintritt von Erregern verhindern. Das Immunsystem dient der Erkennung und Bekämpfung von Fremdartigen (Beutler und Poltorak 2001).

Aus pathophysiologischer Sicht unterteilt man die Immunantwort auf mikrobielle Pathogene in zwei Systeme zum einen das angeborene (innate) zum anderen das erworbene (adaptive) Immunsystem. Der wesentliche Unterschied beider eng miteinander verknüpften Systeme besteht im Mechanismus der Pathogenerkennung. Das angeborene Immunsystem ist phylogenetisch älter und vermittelt die primäre Abwehrreaktion auf eine Infektion. Charakteristischerweise verläuft die Aktivierung mit hoher Geschwindigkeit, ohne dass zuvor ein Pathogenkontakt stattgefunden haben muss. Dabei erkennt das innate Immunsystem eine große, heterogene Gruppe von Erregern anhand spezieller, hoch konservierter Antigenstrukturen, wie zum Beispiel bakterielle DNA, doppelsträngige RNA, Lipopolysaccharide und Peptidoglykane. Diese chemisch betrachteten sehr unterschiedlichen Moleküle bezeichnet man als sogenannte PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns). Diese invarianten Strukturen sind von essentieller Bedeutung für die Pathogenität eines Mikroorganismus und evolutionär nicht entbehrlich (Medzhitov und Janeway Jr. 2000).

Zur Erkennung dieser potenziell gefährlichen Fremdartigen und deren Abgrenzung von körpereigenen Strukturen finden sich zellgebundene Rezeptoren, sogenannte PRR (Pattern-Recognition Receptors) insbesondere auf der Zellmembran von Makrophagen, dendritischen Zellen, B-Zellen und anderen Effektorzellen des Immunsystems (Medzhitov und Janeway Jr. 1997).

Besonders hervorzuheben sind hierbei die „Toll-like-Rezeptoren“, die in den 1990er Jahren entdeckt wurden. Sie finden sich bei allen Säugetieren, aber auch bei einigen Pflanzen und Insekten. Über einen diesen Rezeptoren nachgeschalteten intrazytoplasmatischen Signalweg wird die Produktion von Zytokinen und anderen Mediatoren vermittelt. Eine Schlüsselstellung innerhalb des Signalwegs nimmt der Transkriptionsfaktor NF- κ B ein (Lien und Ingalls 2002).

Ferner spielen Zellen der angeborenen Immunabwehr eine zentrale Rolle in der Initiierung erworbener Immunprozesse. Makrophagen und dendritische Zellen

phagozytieren Antigene und präsentieren sie über sogenannte „major histocompatibility class II“- Rezeptoren den Rezeptoren „naiver“ T-Zellen. Sie induzieren hierüber die erworbene Immunantwort.

Das erworbene Immunsystem zeichnet sich durch das hochspezifische Erkennen bestimmter Antigene aus. Ferner kann eine Anpassung an antigene Strukturen erfolgen und ein sogenanntes immunologisches Gedächtnis ausgebildet werden.

Sepsis beschreibt einen klinischen Symptomenkomplex resultierend aus einer zu Beginn sinnvollen und angemessenen Abwehrreaktion des Organismus auf eine Infektion. Neben der Elimination des Fremdartigen hat der Organismus zum Ziel, die systemische Ausbreitung der Infektion zu verhindern, die Homöostase aufrecht zu erhalten sowie die Wundheilungsprozesse einzuleiten. Im Rahmen der Immunantwort kommt es zur Aktivierung sequentieller, intrazellulärer Abläufe in immunkompetenten Zellen, Endothel, Epithel und im neuroendokrinen System. Fehlgeleitete Regulationsmechanismen innerhalb dieses hochkomplexen Systems können die Schädigung körpereigener Zellen, die systemische Ausbreitung der Infektion bis hin zur Entwicklung von SIRS, Schock oder gar Multiorganversagen bedingen (Cohen 2002). Das entzündliche Geschehen wird dabei nicht ausschließlich vom auslösenden Agens, sondern von der exzessiven inflammatorischen Wirtsreaktion aufrecht erhalten (Hotchkiss und Karl 2003).

Entsprechend eines dynamischen Prozesses dominiert zu Beginn der Sepsis zunächst eine proinflammatorische Reaktion. Nach Stimulation durch spezifische Oberflächenrezeptoren wie CD14 und „Toll-like-Rezeptoren“ produzieren Makrophagen, Monozyten und neutrophile Granulozyten vermehrt proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , IL-1 β , IL-12, IFN- γ , IL-6 sowie weitere immunmodulatorische Botenstoffe, die die nachfolgenden Reaktionen des Körpers steuern. Neben Phagozytose und Degranulation kommt es zur Freisetzung reaktiver Sauerstoff- und anderer toxischer Radikale, zur Produktion von Stickstoffmonoxid sowie zu einer veränderten Zelladhäsion (Dransfield et al. 1995).

Diese Prozesse dienen der lokalen Infektabwehr und dem Versuch, eine systemische Ausbreitung des Krankheitsgeschehens zu verhindern. Bei Persistenz des septischen Bildes überwiegen in der späteren Phase antiinflammatorische Mechanismen, unter Umständen bis hin zur Immunsuppression (Hotchkiss und Karl 2003). Dabei steht die

Produktion antiinflammatorischer Mediatoren wie IL-10, sTNF- α -R (löslicher TNF- α -Rezeptor), IL-1-RA (IL-1-Rezeptor-Antagonist) und TGF (Transforming Growth Factor)- β im Vordergrund. Die Phasen der Hyper- und Hypoinflammation treten vermutlich nicht streng biphasisch auf, sondern verlaufen simultan, überlappend oder phasenhaft (Xiao et al. 2006).

1.5 Glukokortikoide

Glukokortikoide werden aufgrund ihrer immunmodulierenden und entzündungshemmenden Eigenschaften erfolgreich zur Therapie einer Vielzahl von Erkrankungen eingesetzt.

In den 1930er Jahren gelang den Biochemikern Kendell, Reichstein und Wintersteiner in unterschiedlichen, von einander unabhängigen Arbeitsgruppen der Nachweis von „Cortisol“ in der Nebennierenrinde. Im weiteren Verlauf konnten verschiedene Kortikosteroide wie Hydrocortison sowie die Mineralkortikoide isoliert werden. Der Rheumatologe Hench führte „Cortisol“ 1948 in den klinischen Alltag zur erfolgreichen Therapie der rheumatoiden Arthritis ein. Im Dezember 1950 wurden die Forschungsleistungen von Kendall, Hench und Reichstein mit dem Nobelpreis für Physiologie und Medizin honoriert (Meduri 1999).

1.5.1 Molekulare Wirkmechanismen der Glukokortikoide

Es werden verschiedene Wirkmechanismen der Glukokortikoide angenommen, wodurch sich deren unterschiedlicher Wirkungseintritt (im Bereich von Sekunden bis zu Stunden) erklären lässt.

1.5.1.1 Genomische Wirkmechanismen

Nach Diffusion durch die Zellmembran bindet das lipophile Glukokortikoid zunächst an ubiquitär exprimierte zytosolische Glukokortikoidrezeptoren (cGR). Der dimerisierte und somit aktivierte Glukokortikoid-Rezeptor Komplex (GC/cGR-Komplex) transloziert in den Zellkern und bindet dort an spezifische DNA-Abschnitte, sogenannte GRE (Glucocorticoid Responsive Elements). Über diesen Mechanismus wird die Transkription je nach Zielgen aktiviert oder gehemmt (Rhen und Cidlowski 2005). Neben dieser direkten genomischen Wirkungsweise wird die Genexpression auch

indirekt, durch eine Interaktion des aktivierten GC/cGR-Komplexes mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren, wie NF- κ B und AP-1 beeinflusst (Vanden Berghe et al. 1999). In der Vermittlung der immunmodulierenden und antiinflammatorischen Wirkung von Glukokortikoiden nimmt die Hemmung des Transkriptionsfaktors NF- κ B eine Schlüsselrolle ein (De Bosscher et al. 2003). In unstimulierten Zellen ist NF- κ B im Zytosol an ein inhibitorisch wirksames Protein, I- κ B gebunden und befindet sich somit in einem inaktiven Zustand. I- κ B liegt in verschiedenen Isoformen vor, die mit unterschiedlicher Affinität und Spezifität an die NF- κ B Dimere binden. Nach entsprechender Aktivierung beispielsweise durch TNF- α , IL-1 oder LPS wird I- κ B durch schnelle Phosphorylierung abgespalten und der aktive Transkriptionsfaktor NF- κ B transloziert in den Zellkern. Dort bindet er an κ B-Motive in Promotor- und Enhancersequenzen und aktiviert spezifisch die Transkription verschiedener immunologisch relevanter Gene, einschließlich des I- κ B Gens. Dieser Effekt ist allerdings nicht in allen Zellsystemen nachweisbar (Auphan et al. 1995, Scheinman et al. 1995).

Die vermehrte Genexpression von I- κ B α führt im Rahmen eines negativen Feedbackmechanismus zur Inaktivierung von NF- κ B (Hoffmann et al. 2002, Sun et al. 1993). Nach Bindung an den Zellkern wird die mRNA-Transkription von proinflammatorisch wirksamen Zytokinen (wie TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6), von Chemokinen (wie IL-8), von Zelladhäsionsmolekülen (wie ICAM-1, E-Selektin) und anderen entzündungsassoziierten Enzymen (wie Cyclooxygenase, iNOS, PLA2) initiiert (Loop und Pahl 2003). NF- κ B nimmt somit eine zentrale Stellung in der Regulation der innate und adaptiven Immunabwehr ein (Caamaño und Hunter 2002, Janeway Jr. und Medzhitov 2002, Li und Verma 2002). Die genomischen Wirkungen sind dosisabhängig und bereits im Niedrigdosisbereich nachweisbar. Der Effekt beginnt nach ca. 30 Minuten und erreicht ein Maximum nach etwa sechs bis acht Stunden.

1.5.1.2 Nicht-genomische Wirkmechanismen

Anhand dieses Wirkprinzips lassen sich einige immunologische Effekte erklären, die bereits Sekunden bis Minuten nach der Applikation von Glukokortikoiden auftreten. Es wird angenommen, dass Glukokortikoide in sehr hohen Dosierungen zu physikochemischen Wechselwirkungen mit biologischen Membranen führen und die

Aktivität membranassoziierter Proteine beeinflussen (Buttgereit und Scheffold 2002). In niedriger Konzentration werden nicht-genomische Effekte vermutlich spezifisch über membranständige Glukokortikoidrezeptoren vermittelt, die an schnelle second messenger Systeme gekoppelt sind (Bartholome et al. 2004). Ein gut untersuchtes Beispiel für diesen Wirkmechanismus stellt die Aktivierung der eNOS (endotheliale NO-Synthase) über den Glukokortikoidrezeptor-abhängigen, aber Transkriptions-unabhängigen PI3K/Akt-Signalweg dar (Rhen und Cidlowski 2005).

1.5.2 Immunologische Effekte

Klassischerweise wird den Glukokortikoiden ein immunsuppressives, antiinflammatorisches Wirkungsspektrum zugeschrieben. Dementsprechend werden sie erfolgreich in der Therapie von Autoimmunerkrankungen, bei Erkrankungen des entzündlich-rheumatischen Formenkreises, in der Onkologie und in der Transplantationsmedizin eingesetzt (McEwen et al. 1997, Reichlin 1993).

Die inhibitorischen Effekte auf die verschiedenen, an der Immunantwort beteiligten Zelltypen wie Lymphozyten, Makrophagen und dendritische Zellen sind vielfältig. Glukokortikoide inhibieren die Synthese, Freisetzung und die Wirksamkeit von proinflammatorischen Zytokinen und anderen Mediatoren im Rahmen des entzündlichen Geschehens (Sapolsky et al. 2000).

Allerdings wird den Steroiden auch eine immunstimulatorische Wirkung, zugesprochen, so dass man zusammenfassend von einer Immunmodulation durch Glukokortikoide sprechen kann (Galon et al. 2002).

1.5.3 Bisherige therapeutische Strategien mit Glukokortikoiden im septischen Schock

In den 1990er Jahren führte man im Wesentlichen zwei große Metaanalysen zur Evaluation der Glukokortikoidtherapie im septischen Schock durch (Cronin et al. 1995, Lefering und Neugebauer 1995). Es wurden Studien zwischen 1966-1993 analysiert. Während dieses Zeitraumes entsprach der übliche Therapiestandard einer hochdosierten Glukokortikoidtherapie mit Hydrocortisonäquivalenten um 40 g. In der Analyse von Lefering ließ sich kein signifikanter Effekt der Therapie auf die Gesamtletalitätsrate belegen. Die Inzidenz unerwünschter Nebenwirkungen wie etwa Hyperglykämie oder eine Zunahme nosokomialer Infektionen war nicht erhöht.

In der Analyse von Cronin ergab sich neben einer Erhöhung der Gesamltetalitätsrate zusätzlich ein erhöhtes Risiko sekundärer Infektionen.

In einer anderen Studie ließen sich eine Verschlechterung der renalen und hepatischen Funktion sowie die Zunahme sekundärer Infektionen belegen (Slotman et al. 1993).

Abgesehen von speziellen Indikationsbereichen wurde nach diesen Ergebnissen von einem generellen Einsatz hoch dosierter Glukokortikoide im septischen Schock abgeraten. Erst die Beobachtung, dass eine schwere Sepsis mit einer relativen Nebennierenrindeninsuffizienz oder einer induzierten Glukokortikoidrezeptor-Resistenz vergesellschaftet sein könnte, verstärkte erneut das wissenschaftliche Interesse an einer Glukokortikoidtherapie in niedriger, stress-adaptierter Dosierung (Briegel et al. 1999, Molijn et al. 1995).

Nach einzelnen Fallbeobachtungen einer Schockumkehr unter Einsatz von niedrig dosiertem Hydrocortison folgten dann Ende der 90er Jahre mehrere große klinische Studien. Durch die Definitionen, die in der „Consensus Conference“ des American College of Chest Physicans/Society of Critical Care Medicine im Jahre 1991 festgelegt wurden, ließen sich Forschungsergebnisse nun besser vergleichen.

Im Wesentlichen belegten drei Studien den positiven Einfluss von niedrig dosiertem Hydrocortison auf die Schockdauer und Vasopressorenfreiheit sowie eine niedrigere Rate eines sepsisinduzierten Multiorganversagens (Annane et al. 2002, Briegel et al. 1999, Bollaert et al. 1998). Diese prospektiven, doppelblinden Studien unterscheiden sich vor allem bezüglich der Applikationsart von Hydrocortison (Bolus versus kontinuierliche Applikation), dem Zeitpunkt des Studieneinschlusses (früher versus später septischer Schock) und der Dauer der Therapie voneinander.

1.6 Ziel der Arbeit

Anhand der Messung verschiedener Mediatoren wurden immunologische Effekte einer adjunktiven Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison im Rahmen der monozentrischen, prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten, Cross-over Studie untersucht.

Dabei sind im Rahmen dieser Arbeit folgende Punkte von besonderem Interesse:

1. Der Konzentrationsverlauf von proinflammatorischen Mediatoren unter der Gabe von niedrig dosiertem Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock.
2. Der Konzentrationsverlauf von proinflammatorischen Mediatoren nach Beendigung der Zufuhr von niedrig dosiertem Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock.
3. Die Auswirkungen infolge des Applikationszeitpunktes des niedrig dosierten Hydrocortisons.

Die in-vivo-Effekte einer niedrig dosierten Hydrocortisontherapie auf verschiedene Immunparameter bei Patienten im septischen Schock wurden bisher nur selten anhand klinischer Studien untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission wurde die Studie im Zeitraum von 1997 bis 2000 auf der anästhesiologischen Intensivstation der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin der Charité, Campus-Virchow Klinikum durchgeführt. Patienten, die folgende Einschlusskriterien erfüllten und keine Ausschlusskriterien besaßen, wurden in die Studie aufgenommen.

I. Einschlusskriterien (A-C musste erfüllt sein)

A. Einverständniserklärung durch den Patienten beziehungsweise Angehörigen/gesetzlichen Vertreter

B. Vorliegen eines septischen Schocks (alle Kriterien 1-3 mussten erfüllt sein)

1. Klinisch gesicherte Infektion oder sehr hohe Wahrscheinlichkeit einer Infektion

2. SIRS-Kriterien (mindestens drei Kriterien mussten erfüllt sein)

Fieber ($\geq 38\text{ °C}$) oder Hypothermie ($\leq 36\text{ °C}$)

Tachykardie (Herzfrequenz $\geq 90/\text{min}$)

Respiratorische Insuffizienz (Atemfrequenz $> 20/\text{min}$ oder $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mmHg}$) beziehungsweise maschinelle Beatmung

Leukozytose ($\geq 12000/\mu\text{l}$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\mu\text{l}$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild

3. Septische Hypotension

(systolischer Blutdruck $\leq 90\text{ mmHg}$ oder Abfall um $> 40\text{ mmHg}$ vom Ausgangswert ohne Hinweis auf eine andere Ursache)

C. Noradrenalinbedarf: Trotz adäquater Volumensubstitution besteht Noradrenalinbedarf zur Aufrechterhaltung eines mittleren arteriellen Drucks $> 70\text{ mmHg}$.

II. Ausschlusskriterien

- Alter < 18 Jahre
- Vorbestehende Glukokortikoidtherapie (innerhalb der letzten drei Monate vor Studienbeginn)
- Einnahme immunsuppressiv wirksamer Medikamente
- Vorliegen einer hämatologischen Grunderkrankung
- Schwangerschaft
- Moribunder Status

Routinemäßig wurden zur Erfassung der Schwere des Krankheitsbildes und des klinischen Verlaufs der SAPS II (Le Gall et al. 1993) (Simplified Acute Physiology Score) - und der SOFA (Vincent et al. 1996) (Sepsis-related Organ Failure Assessment)- Score vor Studieneinschluss erhoben und im Verlauf dokumentiert.

Die Patienten wurden gemäß den üblichen Standards der Intensivstation zur Therapie von Patienten im septischen Schock behandelt. Diese haben die frühzeitige chirurgische Herdsanierung, eine kalkulierte beziehungsweise gezielte antibiotische Therapie, sowie Optimierung von Volumenhaushalt, Hämodynamik und Gerinnung zum Ziel.

Zur Steuerung von Hämodynamik und Volumentherapie wurde entsprechendes hämodynamisches Monitoring mittels arterieller Blutdruckmessung und Pulmonalkatheter veranlasst. In regelmäßigen Intervallen von acht Stunden erhob man folgende Parameter: mittlerer arterieller Druck, Herzfrequenz, zentralvenöser Druck, Herzindex, systemischer Gefäßwiderstand, mittlerer pulmonal-arterieller Druck, pulmonalarterieller Gefäßwiderstand, pulmonal-kapillärer Verschlussdruck, Vasopressorenbedarf und Körpertemperatur. Neben der differenzierten Volumentherapie kam Noradrenalin als Vasopressor zum Einsatz. Dabei wurde ein mittlerer arterieller Druck von ≥ 70 mmHg angestrebt. Die Beatmung erfolgte druckkontrolliert und mit positiv endexpiratorischem Druck. Bei gegebener Indikation wurde eine spezifische Lagerungstherapie sowie die Inhalation von Stickstoffmonoxid veranlasst. Die Analgosedierung erfolgte mit Opiaten und Benzodiazepinen. Bei

Patienten mit akutem Nierenversagen wurde eine intermittierende oder kontinuierliche Hämodialyse beziehungsweise Hämofiltration durchgeführt. Diese Standards blieben durch das Studienprotokoll unbeeinflusst.

Die Entscheidung bezüglich des Fortführens einer Hydrocortisontherapie nach beendeter Applikation der Studienmedikation oblag den behandelnden Ärzten der Intensivstation.

2.2 Randomisierung und Studiendesign

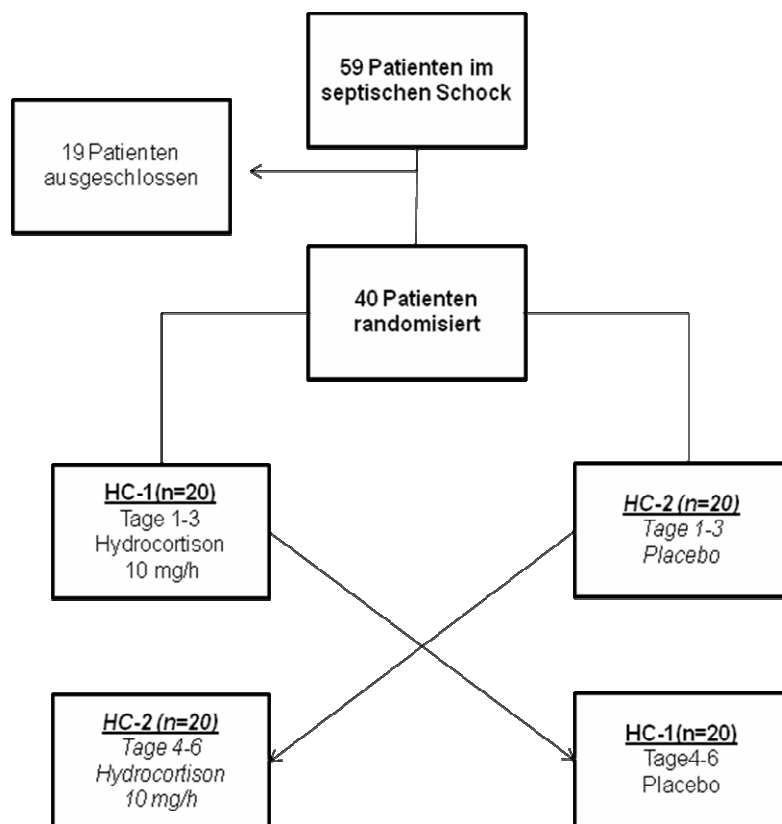


Abbildung 2.2.1 Schematische Darstellung: Screening, Randomisierung, Studiendesign

Bei der Untersuchung handelt es sich um eine prospektive, randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte, monozentrische Cross-over Studie.

Die Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten wurden in zwei Gruppen zu je 20 Personen randomisiert. Die Herstellung der Studienmedikation (50 ml Perfusorspritzen mit Hydrocortison beziehungsweise NaCl 0,9 %) erfolgte unter sterilen Kautelen durch

die zentrale Apotheke. Die verblindeten Perfusorspritzen wurden an die Intensivstation geliefert. Die Randomisierung der Patienten erfolgte durch die an der Studie beteiligten Pharmazeuten.

Zunächst wurden die Ausgangswerte der Vitalparameter der Patienten erfasst und die ersten Blutproben unter sterilen Kautelen aus einem liegenden arteriellen oder zentralvenösen Verweilkatheter entnommen. Nach der Randomisierung wurden zwei Patientengruppen unterschieden.

Ein mit HC-1 bezeichnetes Patientenkollektiv erhielt während der ersten drei Tage (Tage 1-3) der Studie Hydrocortison in einer Dosierung von 10 mg/h. Nach Ablauf des ersten Studienabschnitts verabreichte man diesen Patienten für einen weiteren Zeitraum von drei Tagen (Tage 4-6) Placebo (Natriumchlorid 0,9 %).

Das zweite, mit HC-2 bezeichnete Patientenkollektiv erhielt zunächst Placebo (Tage 1-3) und im zweiten Studienabschnitt Hydrocortison (Tage 4-6). Die Patienten beider Gruppen bekamen vor Beginn der kontinuierlichen Gabe eine sogenannte „loading-dose“ von 100 mg Hydrocortison beziehungsweise Placebo über einen Zeitraum von 30 Minuten verabreicht. Die Studienmedikation wurde über einen zentralvenösen Zugang appliziert.

Auch nach Abschluss des Untersuchungszeitraumes von sechs Tagen blieben die Patienten weiterhin klinisch erfasst etwa bezüglich einer fortbestehenden Katecholaminpflichtigkeit. Das Fortsetzen der Therapie mit Hydrocortison lag dabei im Ermessen der behandelnden Ärzte. Somit konnten eventuell auftretende Rebound-Phänomene über den eigentlichen Untersuchungszeitraum hinaus erfasst und bewertet werden.

2.3 Material

2.3.1 Geräte

FASCcan, Durchflusszytometer	Becton Dickinson, California, USA
Megafuge 1.0R, Zentrifuge	Heraeus Instruments, Berlin
Cell-Dyn 1600, Zellzähler	Abbott Instruments, Wiesbaden
Dynatech MR5000, Photometer	DPC Biermann, Bad Nauheim
Mikrotiterplatten-Waschgerät 812SW1	SLT LAB, Straßburg, Frankreich
Power MacIntosh G3	Apple Computer, USA

2.3.2 Monoklonale Antikörper/Durchflusszytometrie

Anti-CD 11b-FITC	Becton Dickinson, Heidelberg
IgG1-FITC Isotypenkontrolle	Becton Dickinson, Heidelberg

2.3.3 Enzyme-linked immunosorbent assay/Solid-phase Radioimmunoassay

Human-Interleukin-6 Immunoassay	R&D, Wiesbaden
Human-Interleukin-8 Immunoassay	BD PharMingen, Heidelberg
sE-Selektin Immunoassay	BenderMed Alexis, Wien
Cortisol solid-phase Radioimmunoassay	Biermann, Bad Nauheim

2.3.4 Reagenzien/Puffer

Aqua dest.	Braun Melsungen AG, Melsungen
Cellwash	Becton Dickinson, Heidelberg
Calibrite-Beads	Becton Dickinson, Heidelberg
FACSFlow	Becton Dickinson, Heidelberg
FACSLysing Solution	Becton Dickinson, Heidelberg
FACSRinse	Becton Dickinson, Heidelberg

FACSSafe	Becton Dickinson, Heidelberg
Natriumazid	Merck, Darmstadt
PBS-Dulbecco (w/o Ca ²⁺ /Mg ²⁺), Instamed 9,55 g/l	Seromed Biochrom KG, Berlin
Tween 20	Sigma
FBS (Fetal Bovine Serum)	Sigma
Avidin-HRP (Horseradish Peroxidase)	Sigma
TMB-Set (Tetramethylbenzidine)	Sigma
Beschichtungspuffer (Coating)	Na ₂ CO ₃ 3,56 g/NaHCO ₃ 8,4 g auf 1 Liter Aqua dest. (pH 9,5)
Waschpuffer	PBS mit 0,05 % Tween 20 (pH 7,4)
Verdünnungspuffer	PBS mit 10 % FBS (pH 7,0)
Detektionsenzym	Avidin-HRP (Horseradish Peroxidase)
Substratlösung	TMB-Set (Tetramethylenbenzidin)
Stopplösung	2N Schwefelsäure

2.3.5 Ein- und Mehrwegartikel

Mikrotiterplatten Flachboden, Maxisorp	NUNC, Thermo Fisher Scientific
Pipetten (10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl und 1000 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen (1-100 µm, 100-1000 µm)	Sarstedt, Nümbrecht
Polypropylen Röhrchen 1,5 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Polystyrol Reagenzglas 12 mm x 75 mm	Becton Dickinson, Heidelberg
Polystyrol Reagenzglas 15 ml	Becton Dickinson, Heidelberg
Polystyrol Reagenzglas EDTA K, 10 ml	Sarstedt, Nümbrecht
S-Monovette 75/ 15	Sarstedt, Nümbrecht
Monovette Li-Heparin	Sarstedt, Nümbrecht
Monovette EDTA K, 10 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Serologische Pipetten 1 ml, 5 ml, 10 ml	Becton Dickinson, Heidelberg

2.4 Probenmaterial und Aufbereitung

Die Blutentnahme erfolgte vor Studienbeginn (Tag 0) und weiterhin täglich über einen Zeitraum von sechs Tagen über einen arteriellen oder zentralvenösen Zugang. Insgesamt wurden 2,7 ml EDTA-Blut für die durchflusszytometrischen Untersuchungen, 5,5 ml Blut für Funktionstests und 10 ml Blut für die ELISA-Untersuchungen entnommen und bis zur zügigen Weiterverarbeitung auf Eis gelagert.

Zur Gewinnung von Plasmaproben führte man eine Zentrifugation über zehn Minuten mit 3000 rpm bei 4 ° C durch. Der Überstand wurde vorsichtig abpipettiert und in Eppendorf-Röhrchen aliquotiert. Die Aliquots lagerte man bei -80 ° C bis zur weiteren Analyse.

Die Cortisol-Bestimmung im Serum erfolgte im endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik der Charité mittels einem „solid-phase“ Radioimmunoassay.

Die Bestimmung der löslichen Mediatoren IL-6, IL-8 und sE-Selektin erfolgte mittels ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) vom Sandwichtyp nach Angaben des jeweiligen Herstellers im Labor der Studiengruppe.

Die mittlere Fluoreszenzaktivität von CD 11b auf Granulozyten wurde mittels durchflusszytometrischen Messungen ebenfalls im oben genannten Labor ermittelt.

2.4.1 Testprinzip ELISA

Die ELISA-Technik eignet sich zur quantitativen Bestimmung eines Antigens mittels zweier Antikörper die hochspezifisch an verschiedene Epitope des nachzuweisenden Antigens binden. Im ersten Schritt findet die Inkubation des zu untersuchenden Substrats mit einem an eine Festphase gekoppelten Antikörper statt. Überschüssige Bestandteile werden im Anschluss durch einen Reinigungsvorgang entfernt, und ein sekundärer Antikörper wird auf die Festphase aufgetragen. Dieser zweite, an ein Enzym gekoppelte Antikörper bindet nun an ein anderes Epitop des bereits durch den ersten Antikörper an die feste Phase gebundenen Proteins. Nach Zugabe einer Farbreagenz kommt es zu einer enzymatischen Farbreaktion, die durch Hinzufügen einer Säurelösung beendet wird. Die Intensität der Farbreaktion erlaubt einen Rückschluss auf die Konzentration des untersuchten Proteins und wird photometrisch bestimmt.

2.4.2 Arbeitsprotokoll zur Bestimmung von IL-6, IL-8 und sE-Selektin mittels ELISA

Den IL-6 (beziehungsweise IL-8, sE-Selektin) Fang-Antikörper verdünnt man mit dem Beschichtungspuffer (im Verhältnis 1:25). Die Mikrotiterplatte wird mit 100 µl der Verdünnung pro Kavität beimpft, abgeklebt und über Nacht beziehungsweise mindestens 12 Stunden bei 4 °C inkubiert. Nach Ablauf der Inkubation wird die Platte dreimal mit Waschpuffer gewaschen und ausgeklopft. Danach folgt das Auftragen von je 200 µl des Verdünnungspuffers pro Kavität. Nach Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur, findet ein erneutes dreimaliges Waschen statt. Das lyophilisierte IL-6 (beziehungsweise IL-8, sE-Selektin) wird mit einer Endkonzentration von 500 pg/ml rekonstituiert. Danach stellt man durch Zugabe des Verdünnungspuffers eine Standardreihe (250, 125, 62.5, 31.5, 15.6, 7.8, 0 pg/ml) her, die bei den Probenmessungen auf jeder Mikrotiterplatte mitgeführt wird. Die Proben werden bei Raumtemperatur aufgetaut und mit den Standards jeweils 100 µl in jede Kavität der präparierten Mikrotiterplatte pipettiert. Es folgen eine zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur und Dunkelheit sowie dreimaliges Waschen der Platte. Der biotinylierte IL-6 (beziehungsweise IL-8, sE-Selektin) Detektionsantikörper wird rekonstituiert und 15 Minuten vor Gebrauch mit dem Detektionsenzym (Avidin-HRP) versetzt. Jeweils 100 µl dieses Gemisches werden in jede Kavität pipettiert. Nach erneuter Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur und Dunkelheit wird die Platte siebenmal gewaschen und ausgeklopft. Im nächsten Schritt pipettiert man jeweils 100 µl der frisch angesetzten Substratlösung (TMB-Set) in jede Vertiefung und die Platte wird für 30 Minuten bei Raumtemperatur und Dunkelheit inkubiert. Das Aufbringen von 50 µl einer Stopplösung beendet die Enzymreaktion. Die Konzentration von IL-6 (beziehungsweise IL-8, sE-Selektin) kann nach photometrischer Messung von 450 nm gegen einen Referenzfilter von 630 nm berechnet werden. Alle Messungen führt man als Doppelbestimmungen durch. Kreuzreaktionen mit anderen Zytokinen treten laut Hersteller nicht auf.

2.4.3 Prinzip der durchflusszytometrischen Messung

Die Durchflusszytometrie ist ein zytometrisches Verfahren zur quantitativen Analyse von Zelleigenschaften. Dabei werden in einer Trägerlösung befindliche Zellen

nach hydrodynamischer Fokussierung einzeln, mittels eines fokussierten Laserstrahls untersucht und anhand der gemessenen Streulicht- und Fluoreszenzsignale identifiziert. Es findet dabei ein Argonlaser Verwendung, der Licht bei 488 nm emittiert.

Nach Auftreffen des Laserlichts auf eine Zelle entstehen charakteristische Streulichtsignale im sogenannten Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht („forward scatter“ FSC und „side scatter“ SSC). Dabei korreliert das Vorwärtsstreulicht mit dem Querschnitt der Zelle und erlaubt Rückschlüsse auf die Größe. Im Seitwärtsstreulicht können Aussagen über Granularität und äußere Form der Zelle getroffen werden. Die Darstellung beider Größen in einem Diagramm (FCC/SSC) erlaubt die Differenzierung der verschiedenen Leukozytenpopulationen.

Ferner kann man mit dem Durchflusszytometer Fluoreszenzintensitäten einzelner Zellen messen. Zur Darstellung zellgebundener Adhäsionsmoleküle in einer Zellpopulation verwendet man monoklonale Antikörper, die gegen spezifische Oberflächenproteine gerichtet und mit Fluorochromen (z.B. Fluorescein-Isothiocyant, Phycoerythrin) konjugiert sind. Durch die absorbierte Lichtenergie des Lasers werden Elektronen auf ein höheres Energieniveau angehoben. Beim Zurückspringen auf das Ursprungsniveau kommt es zur Emission eines Photons und somit zur Fluoreszenz. Dabei korreliert die Fluoreszenzintensität mit der Rezeptordichte auf der untersuchten Zelle.

Die spezifischen Streulicht- und Fluoreszenzsignale werden graphisch in Form von Punktwolken, sogenannten „Dot Plots“, dargestellt. Die Selektion spezifischer Zellpopulationen erfolgt mittels „Gating“ anhand der Messwerte für Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht. Die so ausgewählte Population kann dann bezüglich ihrer Fluoreszenzeigenschaften differenziert untersucht werden.

Die Analyse der Messwerte erfolgt nach Digitalisierung der Daten durch eine spezielle Software.

2.4.4 Arbeitsprotokoll zur Bestimmung der mittleren Fluoreszenzintensität von CD11b auf Granulozyten

Die Blutproben zur durchflusszytometrischen Untersuchung werden innerhalb von 30 Minuten nach Entnahme gemäß dem Standardprotokoll verarbeitet.

Es wird jeweils 100 µl arterielles Blut in ein Polystyrol-Röhrchen pipettiert und eine

Farbmarkierung zellgebundener Adhäsionsmoleküle durchgeführt. Hierzu fügt man den Proben jeweils 20 µl des FITC markierten spezifischen monoklonalen Antikörpers Anti-CD 11b hinzu. Die Markierung mittels 20 µl IgG1-FITC dient als Isotypenkontrolle. Die Inkubation aller Proben findet für 20 Minuten im Kühlschrank bei 4 °C statt. Als weitere Arbeitsschritte folgen die Lyse der kernlosen Zellen, ein Waschvorgang und die Fixierung der Leukozyten.

Die verwendete Lyse liegt als 10-fach-Konzentrat vor. Sie muss vor der Anwendung mit Aqua dest. verdünnt werden. In jedes Polystyrol-Röhrchen werden je 2 ml der einfach konzentrierten Lösung pipettiert. Nach sorgfältigem Mischen schließt sich eine Inkubation für 20 Minuten bei Raumtemperatur und Dunkelheit an. Danach zentrifugiert man die Proben (1200 rpm, bei 4 °C, für 5 Minuten). Nach Abgießen des Überstands werden die Zellen mit 3 ml kaltem PBS (4 °C) resuspendiert und erneut zentrifugiert (1200 rpm, bei 4 °C, für 5 Minuten). Die Lösung wird auf eine Zellzahl von 10.000 Leukozyten/µl eingestellt. Die durchflusszytometrischen Messungen führt man zügig nach der Verarbeitung der Proben durch, welche bis dahin bei 4 °C und Dunkelheit gelagert werden.

Die differenzierte Auswertung nach Zellpopulationen und Expression der Oberflächenmoleküle erfolgt mit Hilfe der CellQuest®-Software. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgt als korrelierte Zweiparameterdarstellung, in Form sogenannter „Dot Plots“ (Punktwolken). Dieser schließt sich eine statistische Auswertung mit der oben genannten Software an.

Wöchentlich erfolgt die Kalibrierung und Geräteoptimierung des Durchflusszytometers mit fluoreszenzmarkierten Latexpartikel (Calibrite-Microbeads®), die zellähnliche Eigenschaften besitzen, um die Vergleichbarkeit der Fluoreszenzmessungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu gewährleisten.

2.5 Statistische Methoden

Die statistische Datenanalyse des Versuchs im Cross-over Design erfolgte nach den Empfehlungen von Senn (Senn 1993).

Um die individuellen, Hydrocortison-abhängigen Effekte auf die untersuchten Parameter darstellen zu können, wurde ein Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben durchgeführt. Dabei verglich man den Wert eines untersuchten Parameters am dritten Tag der Verumgabe mit dem Wert am dritten Tag der Placebogabe. Bei einem Signifikanzniveau $p < 0,05$ zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Therapieverfahrens, das heißt ein Hydrocortison-abhängiger Effekt.

Der Friedman-ANOVA-Test für nicht-parametrische, gepaarte Messwiederholungen wurde zur Untersuchung von Veränderungen innerhalb eines Studienabschnitts herangezogen, um Aussagen über die Therapie zum jeweiligen Zeitpunkt treffen zu können.

Zur Darstellung Hydrocortison-unabhängiger Effekte, wie etwa ein Zeitbeziehungsweise „Carry-over“-Effekt, erfolgte für jeden Patienten die Bildung der Differenz des zu untersuchenden Parameters am dritten Tag der Hydrocortisongabe und dem entsprechenden Wert am dritten Tag der Placebogabe sowie ein anschließender Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben. Dabei diente die Zugehörigkeit zu einer randomisierten Gruppe als Gruppierungsfaktor.

Der p_{cu} -Wert beschreibt dabei den p-Wert des Hydrocortison-unabhängigen Effekts. Bei Testergebnissen mit einem Signifikanzniveau $p_{cu} < 0,02$ liegt entweder ein Zeit- oder „Carry-over“-Effekt vor. Der Zeiteffekt beschreibt, dass die durch Hydrocortisongabe erzielten Effekte während des Untersuchungszeitraums von Hydrocortison-unabhängigen Effekten (z.B. Intensivtherapie) überlagert wurden.

Der „Carry-over“-Effekt sagt aus, dass die Hydrocortisonwirkung über den Applikationszeitraum hinaus, also während der eigentlichen Placebophase, wirksam war.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Von den insgesamt 59 Patienten, die während des Untersuchungszeitraums die Kriterien des septischen Schocks erfüllten, wurden 40 von ihnen im Alter von 20 bis 77 Jahren (Median 55 Jahre) in die Studie eingeschlossen.

Zum Ausschluss der anderen 19 Patienten führten folgende Gründe: vorbestehende Glukokortikoidtherapie (13 Patienten), Vorliegen einer hämatopoetischen Grunderkrankung (ein Patient), Therapie mittels ECMO (ein Patient), Lebenserwartung geringer als 24 Stunden (zwei Patienten), sowie eine Ablehnung der Studienteilnahme durch Angehörige (zwei Patienten).

Unter den eingeschlossenen Patienten lag bei 13 von ihnen (32,5 %) ein schweres Trauma, bei 11 Patienten (27,5 %) eine maligne gastrointestinale Erkrankung, bei 9 Patienten (22,5 %) eine schwere Pneumonie und bei 7 Patienten (17,5 %) eine benigne gastrointestinale Erkrankung als Grunderkrankung vor.

Der Studieneinschluss erfolgte auf der Intensivstation innerhalb von 48 Stunden nach Entwicklung eines septischen Schocks, respektive bei Übernahme des Patienten aus anderen Krankenhäusern zum frühest möglichen Zeitpunkt.

3.1.1. Patientencharakteristika

In den Gruppen HC-1 (n=20) und HC-2 (n=20) bestand kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Alters- und Geschlechterverteilung.

Ebenso war das Ausmaß der Organfunktionsstörung, welches anhand SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) und SOFA- (Sepsis-related Organ Failure Assessment) Score vor Studieneintritt ermittelt wurde, in beiden Gruppen vergleichbar. Dies galt ebenfalls für die Vergleichbarkeit bezüglich des Zeitraums zwischen dem Auftreten des septischen Schocks und des Studieneinschlusses.

		HC-1 (n=20)	HC-2 (n=20)	p-Wert
Alter [in Jahren]		54 (46, 63)	50 (42, 58)	0.37
Geschlecht [m/w]		13/7	13/7	1.0
SAPSII [zum Einschlusszeitpunkt]		42 (35, 49)	42 (36, 48)	0.96
SOFA [zum Einschlusszeitpunkt]		9.7 (8.5, 10.9)	10.4 (9.1, 11.7)	0.42
Beginn des septischen Schocks bis Studieneinschluss [in Stunden]	> 24 h	4	4	
	24-48 h	7	10	0.52
	48-120 h	6	4	0.71
	> 120 h	3	2	

Tabelle 3.1.1 Patientencharakteristika bei Studieneinschluss (Median, CI 95 % für Alter, SAPSII, SOFA; Häufigkeiten für Geschlecht)

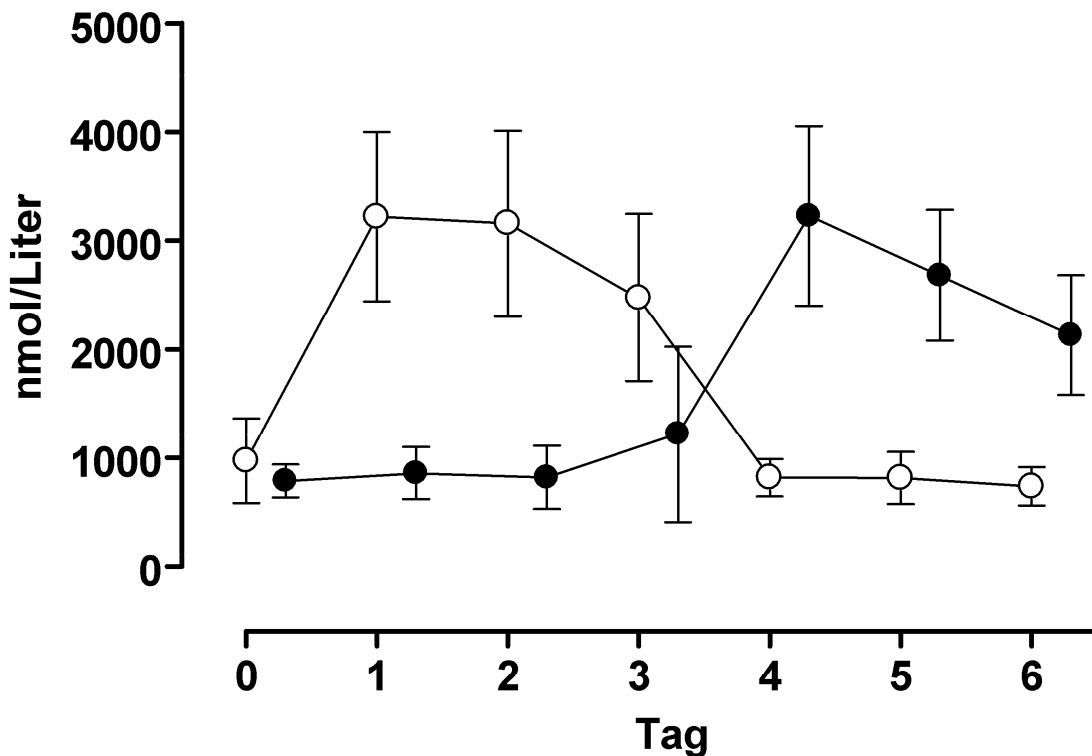
Ferner wiesen auch die Daten bezüglich der zugrunde liegenden Erkrankung, der Infektionsquelle und des Erregerspektrums keine statistisch signifikanten Unterschiede auf.

		HC-1 (n=20)	HC-2 (n=20)	p-Wert
<u>Grunderkrankung</u>				
Trauma		6	5	
Pneumonie		14	16	
ARDS		8	10	
Gastrointestinale Erkrankungen		10	8	
Sonstige		1	1	
<u>Hauptinfektionsquelle</u>				
Pulmonale Infektion		12	13	
Gastrointestinale Infektion		8	6	
Wundinfektion		/	1	
<u>Erregerspektrum</u>				
Gram-positive Bakterien		3	5	0.69
Gram-negative Bakterien		10	5	0.19
Gemischtes Erregerspektrum		3	3	
Pilzinfektion		1	/	
Nicht identifizierte Erreger		3	7	0.27

Tabelle 3.1.2 Patientencharakteristika bei Studieneinschluss (Grunderkrankung [Mehrfachnennung möglich] Infektionsort und Erregerspektrum)

Im Anschluss an die Untersuchung wurden weitere Daten bezüglich der 28-Tage-Überlebensrate und des notwendigen Fortführens der Katecholamin- und Hydrocortisontherapie erhoben. Während des Beobachtungszeitraums von sechs Tagen verstarb kein Patient. Die Krankenhaus- und Intensivstationsletalitätsrate betrug in beiden Untersuchungsgruppen jeweils 30 %.

3.2 Effekte von Hydrocortison auf die Cortisolkonzentration im Plasma



Cortisolspiegel im Plasma

X-Achse: Zeitdauer der Studierenerhebung in Tagen

Y-Achse: Cortisolkonzentration [nmol/Liter]

Tag 0: Ausgangswerte vor Applikation von ○ Hydrocortison ● Placebo

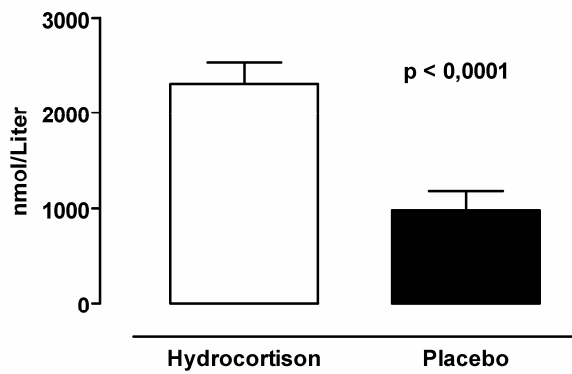
○ HC-1, ● HC-2

Mittelwerte, CI 95 %

Die basale Plasmakonzentration von Cortisol zeigte zum Ausgangszeitpunkt der Untersuchung in den beiden Untersuchungsgruppen HC-1 und HC-2 keinen statistisch signifikanten Unterschied (HC-1: 844 nmol/Liter; HC-2: 822 nmol/Liter).

In beiden Gruppen kam es nach Zufuhr von Hydrocortison zu einem signifikanten Anstieg von Cortisol im Plasma; jeweils im Mittel um den Faktor 5 (1,6-16). Der Spitzenwert wurde innerhalb von 24 Stunden nach Beginn der Applikation erreicht. Er betrug im Mittel in der Gruppe HC-1 3500 nmol/Liter, in der Gruppe HC-2 3200 nmol/Liter. Nach Beendigung der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 fielen die Cortisolwerte innerhalb von 24 Stunden auf Werte entsprechend des jeweiligen Ausgangsniveaus ab. Der Cortisolanstieg verlief dabei unabhängig von der basalen

Plasmakonzentration, dem Zeitpunkt der Cortisolgabe oder anderen Patientencharakteristika. Der Hydrocortison-abhängige Effekt war gegenüber den Hydrocortison-unabhängigen Effekten signifikant.



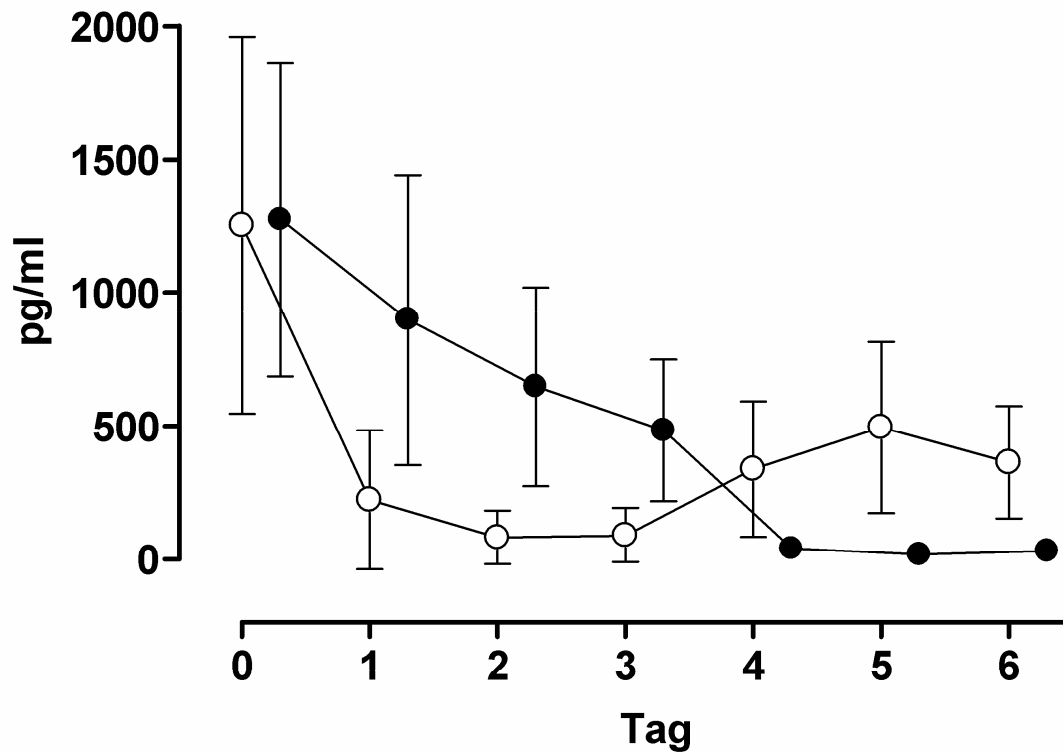
Cortisol: Hydrocortison-abhängiger Effekt

Mittelwerte; SEM

Statistik Cortisol	
<i>Friedman</i>	p
HC Tag 0-3	< 0.0001
HC Tag 3-6	< 0.0001
PL Tag 0-3	0.54
PL Tag 3-6	< 0.0001
<i>Mann-Whitney U</i>	p _{cu}
(HC-unabhängig)	0.54

3.3 Lösliche Mediatoren

3.3.1 Effekte von Hydrocortison auf die Konzentration von Interleukin-6 im Plasma



Plasmaspiegel von IL-6

X-Achse: Zeitdauer der Studierenerhebung in Tagen

Y-Achse: IL-6 Konzentration [pg/ml]

Tag 0: Ausgangswerte vor Applikation von ○ Hydrocortison ● Placebo

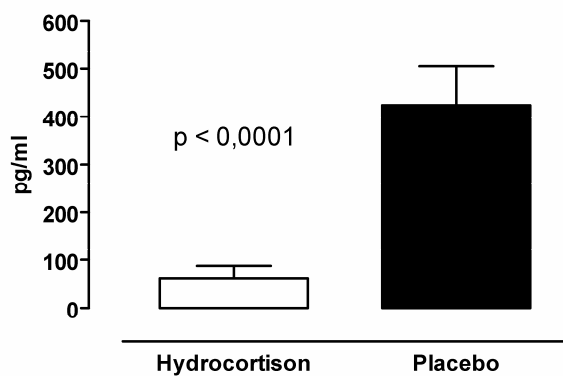
○ HC-1, ● HC-2

Mittelwerte, 95 % CI

Die basale Plasmakonzentration von Interleukin-6 zeigte zum Ausgangszeitpunkt der Untersuchung in den beiden Untersuchungsgruppen HC-1 und HC-2 keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Nach Zufuhr des Verums im Untersuchungskollektiv HC-1 kam es zu einem signifikanten Abfall der Interleukin-6-Konzentration gegenüber der Untersuchungsgruppe HC-2, die während desselben Zeitraums Placebo erhielt ($p < 0,01$). Auch innerhalb dieser Untersuchungsgruppe (HC-2) ließ sich ein signifikanter Abfall des

Interleukin-6-Spiegels verzeichnen, welcher allerdings deutlich geringer ausgeprägt war. Nach Absetzen der Hydrocortisonzufuhr in der Untersuchungsgruppe HC-1 kam es zu einem signifikanten Wiederanstieg der Interleukin-6 Spiegel, die sich jedoch bis zum Ende des Untersuchungszeitraums unterhalb der Ausgangswerte bewegten. Der Hydrocortison-abhängige Effekt war gegenüber den Hydrocortison-unabhängigen Effekten signifikant.

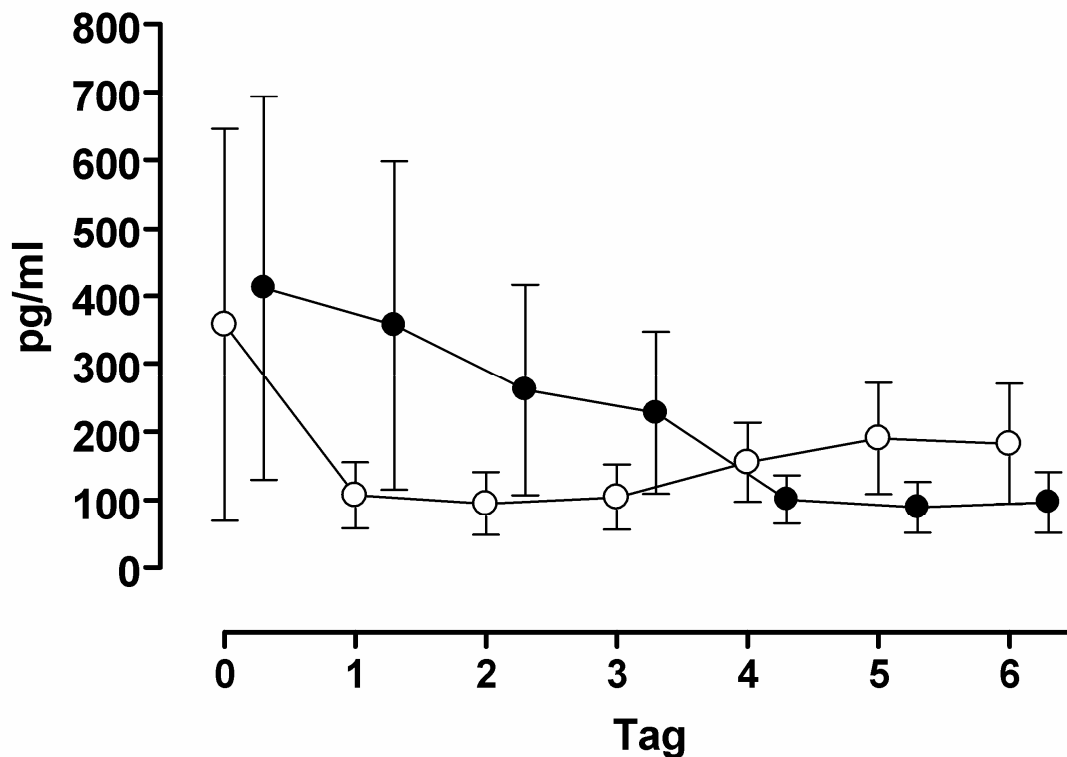


Interleukin-6: Hydrocortison-abhängiger Effekt

Mittelwerte; SEM

Statistik IL-6	
Friedman	p
HC Tag 0-3	< 0.0001
HC Tag 3-6	< 0.0001
PL Tag 0-3	< 0.0001
PL Tag 3-6	< 0.0001
Mann-Whitney U	p_{cu}
(HC-unabhängig)	0.18

3.3.2 Effekte von Hydrocortison auf die Konzentration von Interleukin-8 im Plasma



Plasmaspiegel von IL-8

X-Achse: Zeitdauer der Studierenerhebung in Tagen

Y-Achse: IL-8 Konzentration [pg/ml]

Tag 0: Ausgangswerte vor Applikation von ○ Hydrocortison ● Placebo

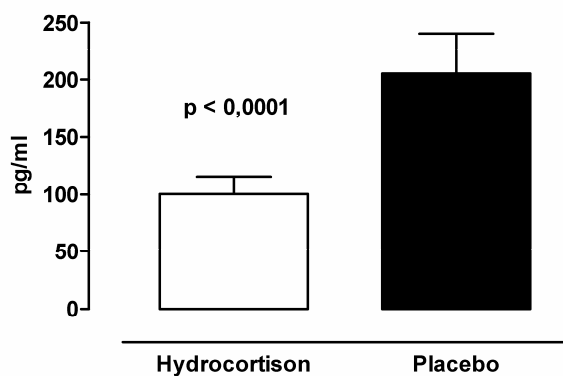
○ HC-1, ● HC-2

Mittelwert, CI 95 %

Die basale Plasmakonzentration von Interleukin-8 zeigte zum Ausgangszeitpunkt der Untersuchung in den beiden Untersuchungsgruppen HC-1 und HC-2 keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Während der Therapie mit Hydrocortison kam es in der Untersuchungsgruppe HC-1 im Vergleich zur Untersuchungsgruppe HC-2 zu einem statistisch signifikanten Abfall der Interleukin-8-Konzentration im Plasma ($p < 0.01$). Dieser konnte bereits innerhalb von 24 Stunden nach Beginn der Hydrocortisonzufuhr verzeichnet werden. Auch unter Placebozufuhr wurden gegenüber den Ausgangswerten erniedrigte Plasmaspiegel von Interleukin-8 gemessen. Diese lagen jedoch, im Vergleich zu den erhobenen Werten

der HC-1 Untersuchungsgruppe, deutlich höher. Nach dem Beginn der Hydrocortisonzufuhr im Kollektiv HC-2 gemäß dem Studienprotokoll im zweiten Studienabschnitt, ließ sich in dieser Gruppe ebenfalls ein signifikanter Abfall der IL-8-Konzentration im Plasma feststellen. Nach Beendigung der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 kam es zu einem signifikanten Wiederanstieg der Interleukin-8-Plasmaspiegel. Dabei verzeichnete man im Vergleich zu den Ausgangswerten erniedrigte Spiegel. Der Hydrocortison-abhängige Effekt war gegenüber den Hydrocortison-unabhängigen Effekten signifikant.

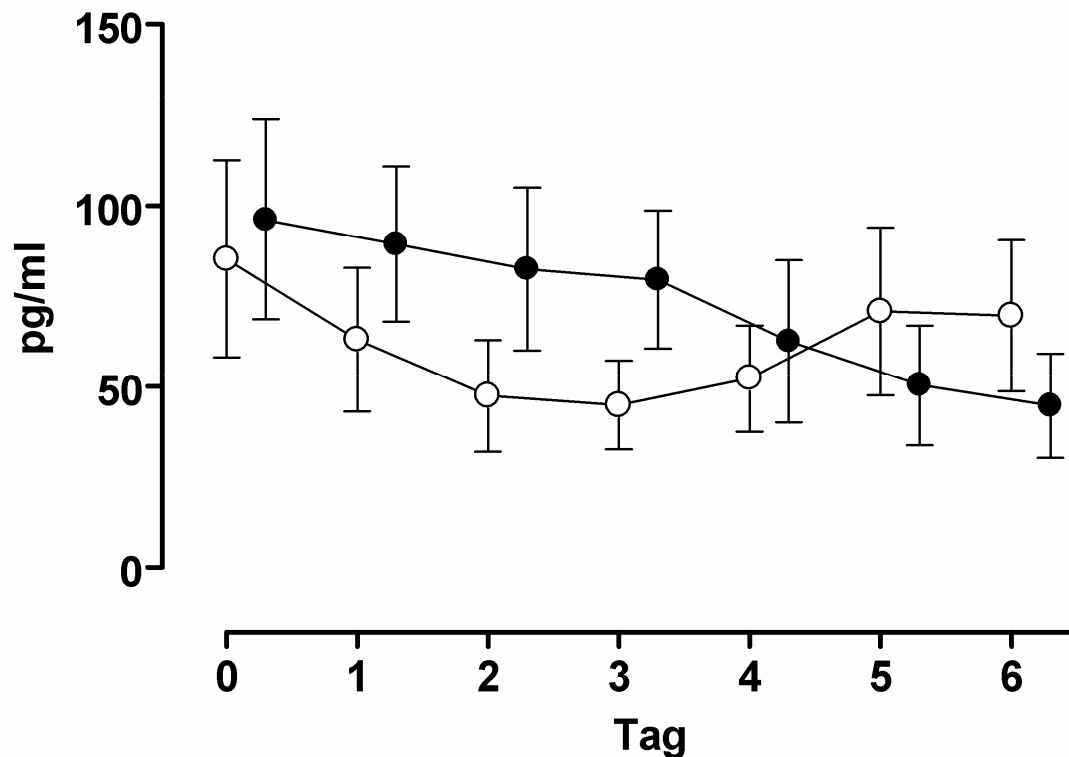


Interleukin-8: Hydrocortison-abhängiger Effekt

Mittelwerte; SEM

Statistik IL-8	
Friedman	p
HC Tag 0-3	< 0.0001
HC Tag 3-6	< 0.0001
PL Tag 0-3	0.32
PL Tag 3-6	0.001
Mann-Whitney U	p_{cu}
(HC-unabhängig)	0.035

3.3.3 Effekte von Hydrocortison auf die Konzentration von löslichen E-Selektin im Plasma



Plasmaspiegel von sE-Selektin

X-Achse: Zeitdauer der Studierenerhebung in Tagen

Y-Achse: sE-Selektin Konzentration [pg/ml]

Tag 0: Ausgangswerte vor Applikation von ○ Hydrocortison ● Placebo

○ HC-1, ● HC-2

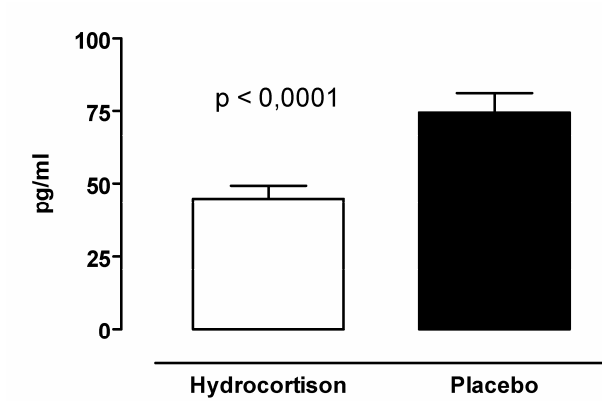
Mittelwerte, CI 95 %

Die Plasmakonzentration des löslichen Adhäsionsmoleküls E-Selektin zeigte zum Ausgangszeitpunkt der Untersuchung in den beiden Untersuchungsgruppen HC-1 und HC-2 keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Nach Beginn der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 kam es zu einem signifikanten Abfall der Konzentration von sE-Selektin im Plasma im Vergleich zur Untersuchungsgruppe HC-2.

Auch im Untersuchungskollektiv HC-2 zeigte sich nach Verumgabe ein signifikanter Abfall der Konzentration von sE-Selektin im Plasma. Nach Beendigung der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 kam es zu einem signifikanten Wiederanstieg

der Plasmaspiegel von sE-Selektin. Der Hydrocortison-abhängige Effekt war gegenüber den Hydrocortison-unabhängigen Effekten signifikant.

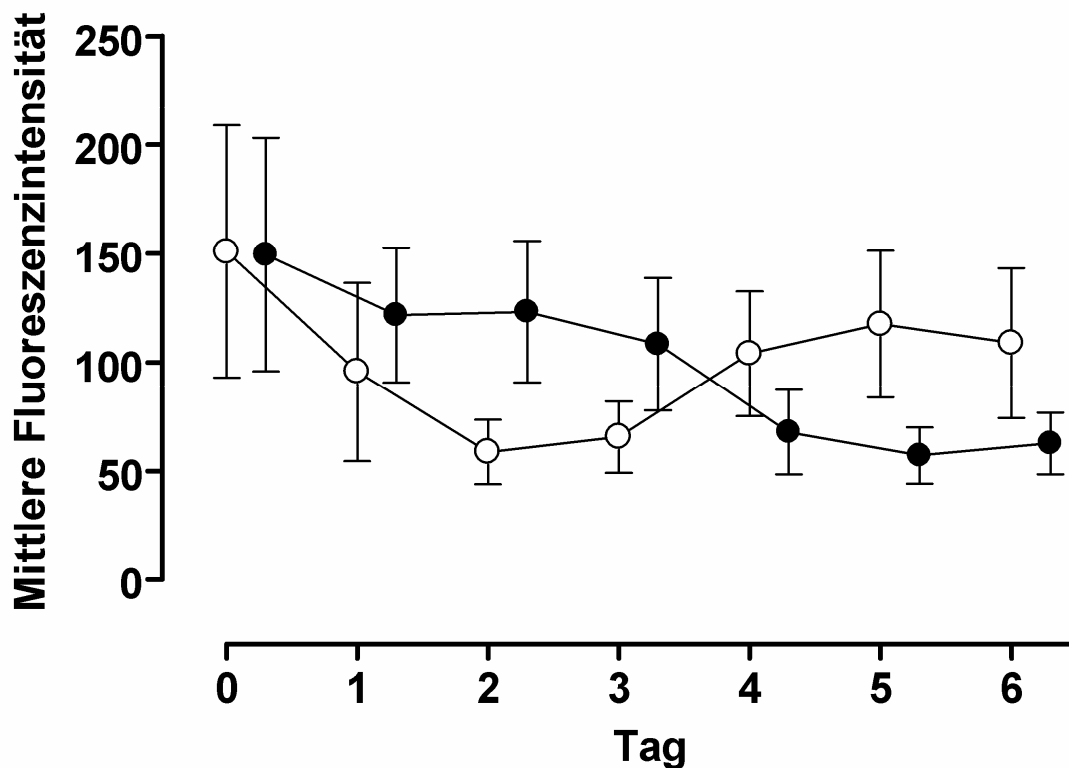


sE-Selektin: Hydrocortison-abhängiger Effekt

Mittelwerte; SEM

Statistik sE-Selektin	
Friedman	p
HC Tag 0-3	< 0.0001
HC Tag 3-6	< 0.0001
PL Tag 0-3	0.16
PL Tag 3-6	< 0.0001
Mann-Whitney U	p _{cu}
(HC-unabhängig)	0.18

3.4 Effekte von Hydrocortison auf die mittlere Fluoreszenzintensität von CD 11b auf Granulozyten



Mittlere CD 11b-Fluoreszenzintensität auf Granulozyten

X-Achse: Zeitdauer der Studierenerhebung in Tagen

Y-Achse: Mittlere Fluoreszenzintensität CD 11b Expression auf Granulozyten

Tag 0: Ausgangswerte vor Applikation von ○ Hydrocortison ● Placebo

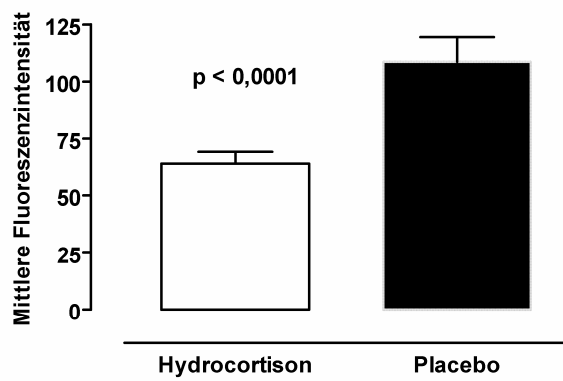
○ HC-1, ● HC-2

Mittelwerte, CI 95 %

Die mittlere Fluoreszenzintensität von CD 11b auf Granulozyten zeigte zum Ausgangszeitpunkt der Untersuchung in den beiden Untersuchungskollektiven HC-1 und HC-2 keinen statistisch signifikanten Unterschied.

In der Patientengruppe HC-1 kam es nach Beginn der Verumgabung zu einem statistisch signifikanten Abfall der mittleren Fluoreszenzintensität von CD 11b auf Granulozyten. Auch im zweiten Untersuchungsabschnitt (HC-2) wurde unter Hydrocortisonzufuhr ein signifikanter Abfall der mittleren Fluoreszenzintensität von CD 11b auf Granulozyten gemessen. Nach Absetzen der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 wurde ein signifikanter Wiederanstieg der Fluoreszenzintensität beobachtet.

Der Hydrocortison-abhängige Effekt war gegenüber den Hydrocortison-unabhängigen Effekten signifikant.



CD 11b: Hydrocortison-abhängiger Effekt

Mittelwerte; SEM

Statistik CD11b	
Friedman	p
HC Tag 0-3	< 0.0001
HC Tag 3-6	< 0.001
PL Tag 0-3	0.30
PL Tag 3-6	< 0.01
Mann-Whitney U	p _{cu}
(HC-unabhängig)	0.97

4 Diskussion

Die hämodynamischen Effekte von Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock im Sinne eines reduzierten Vasopressorenbedarfs und einer verkürzten Schockdauer sind durch verschiedene klinische Studien gut belegt (Oppert et al. 2005; 2000, Annane, 2002 et al., Briegel et al.1999).

Die Immuneffekte, die im Rahmen einer niedrig dosierten Hydrocortisontherapie auftreten, wurden dagegen nur selten mittels kontrollierter, klinischer Studien erfasst. Im Rahmen dieser Arbeit sollen unter anderem die in-vivo-Effekte einer Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison anhand ausgewählter proinflammatorischer Parameter bei Patienten im septischen Schock dargestellt und diskutiert werden.

4.1 Studienprotokoll und Methodik

Durch das Design als Cross-over Studie konnte bei allen untersuchten Patienten ein intraindividueller Vergleich während des Behandlungszeitraumes vorgenommen werden. Die Behandlungsintervalle verdoppelten sich somit. Dabei gilt zu unterstreichen, dass die supportive, intensivmedizinische Therapie während des gesamten Untersuchungszeitraums nach den allgemein gültigen Standards zur Therapie der Sepsis durchgeführt wurden. Die Patienten beider Gruppen befanden sich zum Zeitpunkt des Studienbeginns in unterschiedlichen Stadien des Sepsisgeschehens. Bezüglich des Zeitraums zwischen Beginn des septischen Schocks und Studieneinschluss bestand zwischen den Gruppen HC-1 und HC-2 jedoch kein signifikanter Unterschied. Das Studiendesign wirft die Frage auf, ob der Verlauf der gemessenen Parameter durch die Zugehörigkeit zum jeweiligen Untersuchungskollektiv beeinflusst wird.

Allerdings ermöglicht das Studiendesign, das Immungeschehen während der verschiedenen Phasen der Sepsis zu beobachten und auch eventuell auftretende Reboundeffekte nach Beendigung der Therapie zu erfassen.

ELISA und die Durchflusszytometrie sind etablierte Standardanalyseverfahren zur quantitativen Zytokindiagnostik beziehungsweise zur Messung von Oberflächenantigenen auf verschiedenen immunkompetenten Zellen und haben einen festen Stellenwert in Klinik und Forschung.

Um methodische Fehler zu vermeiden und valide Ergebnisse zu erzielen, wurden

Probeabnahme, -verarbeitung und -aufbewahrung standardisiert und zeitlich genau eingehalten. Die durchflusszytometrische Analyse erfolgte innerhalb von vier Stunden nach Blutentnahme.

4.2 Lösliche Mediatoren

4.2.1 Interleukin-6 und Verlauf der Plasmaspiegel unter niedrig dosiertem Hydrocortison

IL-6 ist ein variabel glykosyliertes Glykoprotein von 22-27 kDa, das von den unterschiedlichsten Zelltypen und Gewebearten, wie zum Beispiel Makrophagen, Monozyten, Endothel- und Epithelzellen, gebildet wird.

Als Stimulatoren für die Produktion und Freisetzung von IL-6 sind bakterielle Lipopolysaccharide, virale Nukleinsäuren, doppelsträngige DNA, und Zytokine wie IL-1 und TNF- α beschrieben worden (Reinhart et al. 2002). IL-6 besitzt ein variables Spektrum biologischer Funktionen. Es induziert unter anderem die Bildung von CRP, Fibrinogen, α -1-Glykoprotein und anderen sogenannten Akute-Phase-Proteinen in der Leber (Gauldie et al.1992). Unter Einwirkung von Glukokortikoiden wird dieser Effekt potenziert im Gegensatz zu den sonst hemmenden Eigenschaften der Glukokortikoide auf die IL-6-Produktion und Wirkung im Gewebe (Chrousos 1995).

IL-6 werden prohämatopoetische Eigenschaften sowie eine Beteiligung an der Modulation der Knochenresorption zugesprochen (Barton 1997).

Durch die Steigerung der Synthese von Fibrinogen, Faktor VIII und Von-Willebrand-Faktor initiiert IL-6 die Gerinnungsaktivierung, während antikoagulatorisch wirksame Faktoren wie Protein S und Antithrombin III in ihrer Synthese gehemmt werden (Kerr et al. 2001). Im Tiermodell konnte durch die Elimination von IL-6 eine abgeschwächte Gerinnungsaktivierung im Sepsismodell erzielt werden (van der Poll et al.1994).

Neben der Beeinträchtigung der Gerinnung trägt die septische Myokardschädigung als wesentlicher pathophysiologischer Faktor zur Entstehung des septischen Schocks und Multiorganversagens bei. In einer britischen Studie wurde bei Patienten mit einer Meningokokkensepsis die myokarddepressive Wirkung von IL-6 in vitro gezeigt.

Es stellte sich weiterhin heraus, dass die IL-6-Spiegel mit dem Ausmaß der Myokarddysfunktion und der Schwere der septischen Erkrankung korrelierten (Pathan et al. 2004).

Die Aktivierung der Genexpression von IL-6 wird durch die NF- κ B-Bindungsstelle im Promoter vermittelt (Miyamoto et al. 1994). Basierend auf der Pyrogenität und der Induktion der Akute-Phase-Reaktion galt IL-6 zunächst als ein klassisch proinflammatorisches Zytokin. Wie viele andere Zytokine besitzt IL-6 jedoch neben pro- auch antiinflammatorische Eigenschaften (Steensberg et al. 2003, Elenkov et al. 2000, Xing et al. 1998, Tilg et al. 1994).

IL-6 hemmt beispielsweise die endotoxinstimulierte IL-1 und TNF- α -Synthese (Aderka et al. 1989). Auch in neueren tierexperimentellen Studien konnte der regulierende Effekt von IL-6 auf die TNF- α -Produktion in immunkompetenten Zellen belegt werden (Diao und Kohanawa 2005, Yasukawa et al. 2003). Ferner inhibiert IL-6 die Produktion von IFN- γ (Interferon-gamma) und (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor) (Barton 1997). Interleukin-6 besitzt somit pro- und antiinflammatorische Eigenschaften und eignet sich als Indikator einer aktivierten Immunreaktion im Rahmen einer Sepsis. IL-6 wird zügig nach Gewebeerletzungen im Rahmen von Trauma oder operativen Eingriffen sowie inflammatorischen Prozessen freigesetzt (Damas et al. 1992, Hall und Desborough 1992). Bei gesunden Personen wurden bereits zwei Stunden nach Endotoxingabe die höchsten Plasmaspiegel von IL-6 gemessen (Fong et al. 1989). In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Höhe der IL-6-Spiegel mit der Schwere des septischen Erkrankungsbildes, gemessen an der Letalität, korrelieren. (Oberholzer et al. 2000, Damas et al. 1997, Casey et al. 1993).

Vor allem in der Frühphase der Sepsis dient der IL-6- Spiegel als geeigneter prognostischer Marker (Spittler et al. 2000). Es konnte auch ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Gewebeerstörung und der Höhe des Interleukin-6-Spiegels festgestellt werden (Martin et al. 1997). Erhöhte IL-6 Spiegel, die sich gemeinsam mit dem Auftreten von SIRS nach großen tumorchirurgischen Eingriffen zeigen, können als Indikator für das Entstehen einer postoperativen Sepsis gewertet werden (Mokart et al. 2005).

In einer Studie mit polytraumatisierten Patienten wurde gezeigt, dass ein erhöhter IL-6-Spiegel mit einem erhöhten Risiko der Entwicklung eines Multiorganversagens einherging (Frink et al. 2009).

Bekanntermaßen führt die hoch dosierte Gabe von Glukokortikoiden, wie etwa im Rahmen eines rheumatologischen Therapieregimes zu einer signifikant verminderten

IL-6-Konzentration im Plasma (van den Brink et al. 1994). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Applikation von Hydrocortison und Dexamethason, den durch körperliche Anstrengung hervorgerufenen Anstieg von IL-6 abschwächte (Papanicolaou et al. 1996 a).

In der vorliegenden Studie waren die IL-6-Spiegel zu Beginn des Untersuchungszeitraumes (Tag 0) in beiden Untersuchungskollektiven entsprechend des Vorliegens eines septischen Schocks deutlich erhöht.

Dies kann man als Korrelat der Hyperinflammation und Aktivierung des Immunsystems im Rahmen des septischen Geschehens werten. Der Abfall des IL-6-Spiegels unter niedrig dosiertem Hydrocortison erfolgte zügig, innerhalb von 24 Stunden nach Applikation. In der Untersuchungsgruppe HC-2 war bis Tag 3 unter der Applikation von Placebo ebenfalls ein signifikanter Abfall von IL-6 zu beobachten. Er war allerdings langsamer und geringer ausgeprägt als in der Gruppe HC-1. Dieser Abfall erklärt sich dadurch, dass alle Patienten gemäß den intensivmedizinischen Standards zur Therapie des septischen Schocks behandelt wurden. Dies führte, unabhängig von der Applikation von Hydrocortison, zu einer günstigen Beeinflussung des Immunsystems und Krankheitsverlaufs.

Unter Berücksichtigung weiterer in dieser Untersuchung erhobener Daten ist der IL-6-Verlauf unter Hydrocortison Ausdruck einer supprimierten proinflammatorischen Reaktion und vermutlich positiv zu bewerten. Studien belegen, dass vor allem über einen längeren Zeitraum erhöhte IL-6-Werte bei septischen Patienten mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet sind (Spittler et al. 2000, Pinsky et al. 1993).

In einer Studie von Yende et al. wurden die aufgrund einer ambulant erworbenen Pneumonie hospitalisierten Patienten über einen Zeitraum von einem Jahr nachverfolgt. Am Tag der Krankenhausentlassung, also nach klinischer Genesung, wurde unter anderem der IL-6-Spiegel der Patienten bestimmt. Die Langzeitdaten zeigten, dass bei Entlassung persistierend erhöhte IL-6-Spiegel, gewertet als Ausdruck einer subklinischen Infektion, mit einer höheren Sterblichkeit während der darauffolgenden drei Monate assoziiert waren (Yende et al. 2008).

Die Ergebnisse unserer Studie decken sich mit Daten in der Literatur. In einer Versuchsreihe mit gesunden Personen zeigten sich nach Gabe von niedrig dosiertem Hydrocortison und Endotoxinstimulation gesenkte Spiegel

proinflammatorischer Zytokine (Barber et al. 1993).

Auch andere klinische Studien mit Patienten im septischen Schock kamen zu ähnlichen Ergebnissen (Oppert et al. 2005, Briegel et al. 2001) und brachten die Reduktion der proinflammatorischen Immunantwort in Zusammenhang mit einer verbesserten Organfunktion. In beiden prospektiven Studien wurden ausschließlich Patienten im hyperdynamen, septischen Schock eingeschlossen und ein paralleles Studiendesign verwendet. In der Untersuchung von Oppert et al. wurde zur Diagnose einer relativen Nebennierenrindeninsuffizienz bei allen Patienten zu Beginn der Untersuchung ein ACTH-Test durchgeführt. Die Effekte von Hydrocortison auf die Immunantwort erfasste man unter anderem durch die Messung der IL-6- und IL-10-Spiegel im Plasma. In der Studie von Briegel et al. wurden zur Untersuchung der proinflammatorischen Immunantwort, neben IL-6 zusätzlich IL-8- und TNF α -Spiegel gemessen.

In einer älteren Studie mit Patienten im septischen Schock beziehungsweise mit schwerer Sepsis berücksichtigte man weniger spezifische inflammatorische Mediatoren wie CRP und soluble Phospholipase A2. Bereits hier zeigte sich der inhibitorische Effekt von niedrig dosiertem Hydrocortison (Briegel et al. 1994).

In der Pathophysiologie der Sepsis spielt die frühe, proinflammatorische Phase eine wichtige Rolle. Es wird angenommen, dass die Beeinflussung der inflammatorischen Antwort zu einem geeigneten Therapiezeitpunkt das Outcome verbessern könnte (Hotchkiss und Karl 2003, Cohen 2002).

Als klinischer Parameter der inflammatorischen Reaktion wurde in der Studie, die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegt (Keh et al. 2003) unter anderem die Körpertemperatur erfasst. Diese fiel ebenfalls unter Hydrocortisontherapie signifikant ab.

Nach Beendigung der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 kam es innerhalb von 24 Stunden zu einem Wiederanstieg von IL-6, entsprechend eines Reboundeffekts etwa auf das Niveau der Kontrollgruppe HC-2 am dritten Tag der Untersuchung. Ebenso kam es zu einem Wiederanstieg der Körpertemperatur. Diese Daten belegen, dass die Hydrocortisonwirkung auf IL-6 und Körpertemperatur reversibel und wegen der Halbwertszeit von Hydrocortison von acht Stunden nur auf die Dauer der Therapie begrenzt ist.

4.2.2 Interleukin-8 und Verlauf der Plasmaspiegel unter niedrig dosiertem Hydrocortison

IL-8 ist ein nicht glykosiliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 8-14 kDA aus der Familie der CXC-Chemokine. Eine Vielzahl von Zellen wie beispielsweise Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Endothel- und Epithelzellen produzieren IL-8 (Schönbeck et al. 1995, Baggiolini et al. 1989). Nach entsprechender Stimulation durch IL-1, TNF- α , LPS oder Immunkomplexe erfolgt die Sezernierung von IL-8 jedoch hauptsächlich durch Monozyten und Makrophagen, wobei bereits nach zwei Stunden Maximalspiegel messbar sind (Martich et al. 1991).

Als primäre Zielzellen fungieren neutrophile Granulozyten, die besonders viele IL-8-Rezeptoren an ihrer Zelloberfläche aufweisen. Hierüber ergibt sich auch eine wichtige biologische Wirkung von IL-8. Es handelt sich um die Mobilisierung, Aktivierung und Steuerung der Degranulation von neutrophilen Granulozyten, sowie um die Hemmung von deren Apoptose (Clark-Lewis et al. 1991). Dies erklärt die zum Teil sehr ausgeprägte Gewebeeinfiltration von Neutrophilen in akut entzündetes Gewebe (Harada et al. 1994).

Ferner induziert IL-8 die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle, reguliert die Interaktion zwischen basophilen Granulozyten und Endothelzellen (Bacon et al. 1994) und greift regulierend in das Wachstum von epidermalen Zellen sowie in die Angiogenese ein (Strieter et al. 1995).

Interleukin-8 spielt aufgrund seiner chemotaktischen Eigenschaften eine wesentliche Rolle bei der Abwehr bakterieller pulmonaler Infekte (Standiford et al. 1996). Die hohe Resistenz gegenüber Azidität, Proteolyse und Hitze bedingt, dass IL-8 im akut entzündeten Gewebe auch noch längere Zeit nachweisbar ist (Remick 2005). Es konnte ein Zusammenhang zwischen erhöhten IL-8 Konzentrationen in der bronchoalveolären Lavage und der Entwicklung eines ARDS bei Patienten mit einem erhöhten Sepsisrisiko hergestellt werden (Donnelly et al. 1993).

Desweiteren lassen sich erhöhte IL-8-Spiegel als Marker der dominierenden proinflammatorische Immunantwort in der Frühphase der Sepsis interpretieren.

Man konnte anhand verschiedener Studien darstellen, dass die Höhe des Plasmaspiegels mit der Schwere des Erkrankungsbildes korreliert. In einigen Studien erwiesen sich hohe Plasmaspiegel von IL-8 als prädiktiv für das Auftreten von

Multiorganversagen und höherer Letalität (Bozza et al. 2007, Rodriguez-Gaspar et al. 2001, Fujishima et al. 1996, Marty et al. 1994). Dabei scheint IL-8 dasjenige Zytokin zu sein, das am besten mit dem Auftreten klinischer Symptome der Sepsis wie Lactatämie, schwere Hypoxämie und disseminierte intravasale Gerinnung korreliert (Damas et al. 1997).

Klinisch wird die Bestimmung von IL-8 beispielsweise zur Überwachung von Patienten nach einer Organtransplantation eingesetzt (Pirenne et al. 1994). Auch in der Diagnostik neonataler bakterieller Infektionen besitzt die Bestimmung von IL-8- sowie IL-6-Plasmaspiegeln einen festen Stellenwert (Büscher et al. 2000).

Unter der Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison zeigte sich in den Untersuchungen, die der vorliegenden Arbeit zugrunde liegen, signifikant erniedrigte IL-8-Plasmaspiegel. Das war innerhalb von 24 Stunden nach Beginn der Applikation der Fall. Nach Beendigung der Therapie in der Gruppe HC-1 stieg die Plasmakonzentration von IL-8 auf die Ausgangswerte, im Sinne eines Rebounds, an. Dieses Ergebnis deckt sich mit einer Studie von Briegel (Briegel et al. 2001), in der sich ebenfalls ein signifikanter Abfall der IL-8-Plasmakonzentration 24 Stunden nach Hydrocortisongabe nachweisen ließ. Die signifikant niedrigeren IL-8-Spiegel sind als Ausdruck einer supprimierten Inflammation zu bewerten. Patienten, die im Sepsisverlauf ein Multiorganversagen entwickeln, weisen gegenüber Patienten mit einem Multiorganversagen nicht-inflammatorischer Ursache deutlich erhöhte IL-8 Konzentrationen auf (Marty et al. 1994). Niedrigere IL-8-Spiegel könnten sich somit positiv auf den weiteren Krankheitsverlauf, vor allem hinsichtlich der Entwicklung eines Multiorganversagens auswirken.

4.2.3 Solubles E-Selektin und Verlauf der Plasmaspiegel unter niedrig dosiertem Hydrocortison

Selektine sind kohlenhydratbindende Adhäsionsmoleküle, die membrangebunden und löslich vorkommen. Sie wurden in den 1980er Jahren entdeckt und charakterisiert. Die Namensgebung der L-, P- und E-Selektine erfolgte nach den Zelltypen (leucocyte, platelet, endothelial), auf denen sie zuerst beschrieben wurden (Lasky 1995, Bevilacqua et al. 1991). Selektine spielen eine übergeordnete Rolle im Signalprozess, der die Leukozyten- Endothelzell- Thrombozyten-Interaktion während inflammatorischer

Prozesse reguliert.

Funktionell vermitteln sie das sogenannte „tethering“ und „rolling“ in der frühen Phase der Leukozytenadhäsion. „Tethering“ beschreibt die initiale Kontaktaufnahme zwischen fließenden Leukozyten und vaskulären Endothelzellen. Es entstehen anfangs nur sehr schwach affine Bindungen zwischen den Leukozyten und den Rezeptoren, die zunächst noch häufig reißen und sich dann erneut bilden. Durch diese Bindungen wird die Fließgeschwindigkeit der Leukozyten verlangsamt und die Zellen rollen am Endothel entlang. Diese Rollbewegung bereitet die spätere, feste Endothelbindung vor.

E-Selektin (CD62E, ELAM-1) ist ein etwa 115 kDa großes, transientes Glykoprotein, das nach vorangegangener Aktivierung durch Zytokine wie IL-1 und TNF- α mit einer Latenz von vier bis acht Stunden ausschließlich von Endothelzellen synthetisiert und exprimiert wird. Es eignet sich deshalb hervorragend als Marker der endothelialen Aktivierung. Unaktiviert präsentieren die Zellen nur wenig oder kein E-Selektin (Ferrero et al. 1996, Adams und Shaw 1994, Bevilacqua et al. 1989). Die transkriptionelle Regulation von E-Selektin erfolgt unter anderem durch den Transkriptionsfaktor NF- κ B (Rünegeler et al. 1999).

Die lokale Aktivierung des Endothels ist von entscheidender Bedeutung für die effektive Infektabwehr. Sie stellt einen physiologischen, adaptiven Prozess dar. Wenn jedoch eine überschießende Endothelaktivierung vorliegt, dann werden strukturelle und funktionelle Veränderungen eingeleitet, die in eine gestörte mikrovaskuläre Permeabilität, Leukozytenadhäsion und -migration, endotheliale Apoptose und eine Minderung antikoagulatorischer Faktoren münden (Peters et al. 2003). Das stimulierte Endothel nimmt aufgrund seiner Barrierefunktion und seinem Vorkommen in allen Organsystemen, sowie wegen seiner antikoagulatorischen Oberfläche eine Schlüsselstellung in der Pathogenese der schweren Sepsis und dem assoziierten Multiorganversagen ein (Hack und Zeerleder 2001).

Erhöhte Spiegel von sE-Selektin als Ausdruck der endothelialen Aktivierung können im Rahmen verschiedener Krankheitsprozesse gemessen werden. Im Tierversuch ließ sich darstellen, dass im Rahmen eines septischen Schocks eine deutlich ausgeprägtere Expression stattfindet als im hypovolämischen Schock (Redl et al. 1991).

Auch beim Menschen werden im Fall von Sepsis und septischen Schock signifikant höhere Spiegel gemessen als beispielsweise nach operativen Eingriffen, einem Trauma

oder einem Schockgeschehen einer anderen Genese (Boldt et al. 1996).

In einer Studie von Cummings wurden intensivpflichtige Patienten untersucht. Bei allen ließen sich erhöhte sE-Selektin-Spiegel nachweisen. Die höchsten Plasmaspiegel wurden bei Patienten mit positivem Infektionsnachweis in der Blutkultur erhoben und zwar unabhängig vom Ausmaß der hämodynamischen Beeinträchtigung dieser Erkrankten. Darüberhinaus fanden sich bei allen Patienten, die nicht überlebten, höhere sE-Selektin-Spiegel als bei denen, die überlebten allerdings ohne statistische Signifikanz (Cummings et al. 1997).

Auch andere Studien belegen den Zusammenhang von erhöhten Plasmaspiegeln mit der Schwere der Erkrankung sowie dem Auftreten von Schock und Multiorganversagen (Kayal et al. 1998, Endo et al. 1995).

In vitro-Daten belegen, dass Dexamethason die durch LPS stimulierte E-Selektin-Expression inhibiert (Brostjan et al. 1997, Ray et al. 1997, Cronstein et al. 1992). Hierbei konnte NF- κ B als der primäre Angriffspunkt der Glukokortikoid-vermittelten Hemmung von E-Selektin identifiziert werden (Brostjan et al. 1997).

In der hier dargestellten Untersuchung zeigte sich unter der Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison in beiden Untersuchungskollektiven eine signifikante Reduktion des solublen E-Selektins. Dieser Effekt war nach Absetzen von Hydrocortison in der Gruppe HC-1 reversibel.

Eine sequentielle Studie von Leone und Mitarbeitern untersuchte die modulierenden Eigenschaften von Hydrocortison auf verschiedene Zelladhäsionsmoleküle (sICAM, sVCAM, sE-Selektin, sP-Selektin) bei Patienten im septischen Schock (Leone et al. 2004). Die Untersucher stellten einen differenzierten Einfluss von Hydrocortison fest, der durch den Abfall von sE-Selektin-, den Anstieg von sICAM- und unveränderte sP-Selektin- beziehungsweise sVCAM-Plasmaspiegel dokumentiert ist. Auch diese Daten unterstützen die Annahme, dass die Reduktion von sE-Selektin unter Hydrocortison als gehemmte endotheliale Aktivierung interpretiert werden kann.

NF- κ B nimmt eine zentrale Rolle in der Modulation der Sepsis und des Sepsis-assoziierten Organversagens ein (Abraham 2003). Bei septischen Patienten kann eine gesteigerte Aktivierung von NF- κ B nachgewiesen werden (Arnalich et al. 2000). Dabei korrelieren die Mortalitätsrate und das klinische Outcome mit dem Ausmaß und der Dauer der Aktivierung. Im Vergleich mit dem APACHE II Score lässt sich die

Mortalitätswahrscheinlichkeit anhand des Anstiegs von NF- κ B ähnlich präzise vorhersagen (Arnalich et al. 2000, Böhler et al. 1997).

Neuere tierexperimentelle Daten belegen ebenfalls den Stellenwert der endothelialen NF- κ B-Aktivität als Vermittler des septischen Multiorganversagens (Ye et al. 2008). Die im Rahmen des septischen Schocks unkontrollierte Zunahme der Leukozyten-Endothel-Interaktion kann zu Gewebe- und Gefäßschäden auch im primär nicht geschädigten Gewebe führen. So trägt der Verlust der Barrierefunktion auch wesentlich zur Entwicklung des ARDS bei (Fein und Calalang-Colucci 2000).

RhAPC (rekombinantes humanes aktiviertes Protein C) hat einen festen Stellenwert in der adjunktiven Therapie der schweren Sepsis. Hierbei profitieren vor allem Patienten mit einem APACHE-Score > 25. Neben antikoagulatorischer und profibrinolytischer Wirkungen besitzt rhAPC auch antiinflammatorische und antiapoptotische Eigenschaften (Brueckmann et al. 2004, Joyce et al. 2001, Esmon 2000). RhAPC vermittelt modulatorische Effekte auf endotheliales NF- κ B und vermindert auf diesem Weg die pathologisch gesteigerte Endothel-Leukozyteninteraktion (Weigand et al. 2003, Joyce und Grinnell 2002).

Die durch Hydrocortison verursachte Reduktion von E-Selektin könnte Ausdruck einer limitierten endothelialen Aktivierung sein und würde damit eventuell protektiv in die Entwicklung eines Multiorganversagens eingreifen. Dieser Effekt könnte zumindest teilweise durch die Abschwächung der NF- κ B-Aktivität erklärt werden (De Bosscher et al. 2000, Simoncini et al. 2000).

4.3 Expression von CD 11b auf Granulozyten unter niedrig dosiertem Hydrocortison

Integrine sind heterodimere, transmembranäre Glykoproteine, die an verschiedenste zelluläre und extrazelluläre Liganden wie etwa Kollagen, Fibrinogen, Faktor X, Fibronectin u.a. binden. Diese Ligandenvielfalt erklärt die Einbindung der Integrine in viele wichtige biologische Funktionen. Dazu gehören etwa die Zellmigration im Rahmen von Inflammation und Trauma, die Angiogenese und die Hämatopoese.

Chemisch gesehen bestehen Integrine aus zwei nicht kovalent gebundenen Untereinheiten (α - und β -Untereinheit). Bisher sind 24 Integrine bekannt, die sich aus Kombinationen der verschiedenen α - (insgesamt 18) und β -Untereinheiten

(insgesamt 8) zusammensetzen und sich so bezüglich ihrer Ligandenspezifität unterscheiden. Die Klassifikation in Integrin-Subfamilien erfolgt anhand der β -Untereinheit. Die $\beta 2$ -Integrine finden sich auf Leukozyten und nehmen hinsichtlich einer Vielzahl immunologischer Vorgänge eine Schlüsselrolle ein. Sie setzen sich aus CD18 als β -Untereinheit, assoziiert mit einer variablen α -Untereinheit (CD11a, CD11b, CD11c und CD11d) zusammen. Die Liganden können zur Unterscheidung der Leukozytenpopulation herangezogen werden. Das Integrin CD11b/CD18 wird auch als Mac-1 (Macrophage-1 antigen) oder CR3 (Complement receptor 3) bezeichnet und wird von Monozyten und Granulozyten exprimiert. Es ist in viele biologische Prozesse wie Phagozytose, Endotheladhäsion und -migration, Regulierung von Apoptose und Degranulation eingebunden (Springer 1990). Die Integrinbindung initiiert den festen Kontakt zwischen Leukozyten und Endothel im Rahmen der Adhäsionskaskade. Nach der Aktivierung durch inflammatorische Mediatoren erfolgt eine Konformationsänderung, die eine qualitative Änderung des niedrig affinen in den hoch affinen Zustand des Integrins CD11b bedingt (Diamond und Springer 1993, Hynes 1992). Es kommt zur Interaktion zwischen CD11b und dem Endothelzellrezeptor ICAM-1. Hierdurch wird nach dem gefestigten Kontakt zwischen Leukozyten und vaskulärem Endothel die Diapedese eingeleitet.

$\beta 2$ -Integrine befinden sich auf der Oberfläche ruhender Leukozyten in inaktiver Form und können nach entsprechender Stimulation zügig aktiviert werden. Durch diesen Mechanismus kann die Inflammation vermieden und eine funktionierende Immunabwehr gewährleistet werden (Hynes 2002).

Die wichtige biologische Funktion der Integrine zeigt sich bei Patienten mit einer Punktmutation der $\beta 2$ -Integrinuntereinheit (CD18) wodurch die Assoziation von CD18 mit der α -Untereinheit verhindert wird (Arnout 1990). Die Expression der $\beta 2$ -Integrine ist nicht oder kaum nachweisbar, die feste Adhäsion und Transmigration der Leukozyten ist gestört und sie gelangen nicht mehr zum Infektionsherd. Klinisch äußert sich dieses als LAD (Leukozytenadhäsionsdefizienz) bezeichnete Krankheitsbild durch eine Leukozytose und schwerwiegende persistierende Infektionen (Nelson et al. 1992).

Neben den mechanischen Funktionen agieren Integrine auch als Signaltransduktoren, die Signale vom Zellinneren nach außen („inside-out-signaling“) aber auch von der Zelloberfläche ins Innere der Zelle („outside-in-signaling“) vermitteln.

Die Bindung des Liganden an ein Integrin kann eine Zelldifferenzierung, -proliferation und -aktivierung, sowie Genexpression auslösen.

Verschiedene Studien belegen, dass bei septischen Patienten eine erhöhte Expression von CD11b auf Granulozyten messbar ist (Takala et al. 1999, Lin et al. 1993). Gemeinsam mit der Bestimmung von IL-8 eignet sich die CD11b Bestimmung auf Granulozyten zum frühzeitigen Erkennen einer neonatalen Sepsis (Nupponen et al. 2001).

Während die Zahl der neutrophilen Granulozyten sich in der hier diskutierten Untersuchung unter der Applikation von niedrig dosiertem Hydrocortison nicht signifikant veränderte, konnte eine verminderte Expression von CD11b auf den Zellen nachgewiesen werden. Dieses war in beiden Untersuchungskollektiven der Fall und nach Beendigung der Hydrocortisonzufuhr in der Gruppe HC-1 vollständig reversibel.

Im Rahmen einer lokalen Infektion ist die endotheliale-leukozytäre Interaktion von herausragender Wichtigkeit für deren Begrenzung und die Aufrechterhaltung der Homöostase. Die unter Umständen exzessive Leukozytenaktivierung in der frühen Phase der Inflammation kann dazu führen, dass auch entfernte Organsysteme in den inflammatorischen Prozess eingebunden werden. Hinsichtlich der Pathogenese eines ALI (Acute Lung Injury) spielt die Endothelschädigung durch Granulozyten eine übergeordnete Rolle (Lee und Downey 2001). Die Inaktivierung von CD11b in transgenen Mäusen bewirkt eine reduzierte Endothelpermeabilität der Lungengefäße und die verminderte Sequestration von Granulozyten ins Gewebe nach Induktion einer E.coli-Sepsis (Gao et al. 2005). In einer weiteren tierexperimentellen Studie konnte belegt werden, dass im Rahmen einer polymikrobiellen, abdominellen Sepsis die Applikation von Mac-1 blockierenden Antikörpern den Sepsis-induzierten Gewebeschaden und ein Sepsis-induziertes Lungenödem deutlich minimierten (Asaduzzaman et al. 2008).

Die reduzierte Expression des granulozytären CD11b in unserer Untersuchung kann als Ausdruck einer limitierten granulozytären Aktivierung gewertet werden, die sich potentiell positiv auf den Krankheitsverlauf auswirkt.

4.4 Auswirkungen des Applikationszeitpunkts von niedrig dosiertem Hydrocortison

In einer Subgruppenanalyse verdeutlichte sich, dass 11 Patienten Hydrocortison in einer frühen (< 48 Stunden) Phase, 29 Patienten in einer späten Phase (> 48 Stunden) des septischen Schocks erhalten hatten. Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der immunologischen Parameter nach drei Tagen der Verumgabe.

4.5 Bewertung des Konzentrationsverlaufs proinflammatorischer Mediatoren nach Beendigung der Zufuhr von niedrig dosiertem Hydrocortison

In der Langzeitanwendung von hoch dosierten Glukokortikoiden, etwa zur Therapie rheumatischer Erkrankungen oder im Rahmen der Transplantationsmedizin stellt die Beendigung der Glukokortikoidtherapie ein bekanntes Problem dar (Hricik et al. 1994, Gulanikar et al. 1991). Neben dem Wiederaufflammen des primär behandelten Erkrankungsbildes beziehungsweise der Transplantatabstoßung können vielfältige, zum Teil sehr unspezifische Symptome eines Glukokortikoidentzugs auftreten. Neben Appetitlosigkeit, Müdigkeit, Fieber, Übelkeit und Erbrechen imponieren Arthralgien, Myalgien, Cephalgien und Hypotension (George und Robertson 1987, Dixon und Christy 1980). Diese klinischen Zeichen sind typisch für das Vorliegen einer Nebennierenrindeninsuffizienz nach Glukokortikoidtherapie in supraphysiologischer Dosierung (Hochberg et al. 2003).

Bei Patienten mit Morbus Cushing wurden in einer Studie IL-6, TNF- α und IL-1-Spiegel vor und nach einem chirurgischen Eingriff zur Therapie der Grunderkrankung gemessen. Dabei zeigte sich in der postoperativen Phase bei Patienten, die sich in einem hypocortisolämischen Zustand befanden, ein signifikanter Anstieg von IL-6 gegenüber den präoperativ gemessenen Werten. Ferner zeigten sich klinisch bei diesen Erkrankten die typischen Symptome eines akuten Glukokortikoidentzugs. Bei Patienten dagegen, die postoperativ keine Hypocortisolämie aufwiesen, wurden weder ein Zytokinanstieg noch die entsprechenden klinischen Symptome beobachtet. Die Untersucher stellten die Frage, ob die erhöhten IL-6-Spiegel eine Erklärung für die Symptome des Glukokortikoidentzugs darstellen könnten, da die exogene Zufuhr von IL-6 ähnliche Symptome hervorrufen kann (Papanicolaou et al. 1996 b). Andere Studien

wiederum belegen, dass die Infusion von rekombinanten IL-6 keine Veränderungen der Hämodynamik herbeiführt (Christman et al. 1995) und sich die klinischen Symptome demnach nicht durch die erhöhten IL-6 Spiegel erklären ließen.

Zur Vermeidung von Komplikationen nach Glukokortikoidentzug hat sich der langsame, ausschleichende Entzug der Medikation, sogenanntes „tapering off“ als Standardverfahren nach Zufuhr supraphysiologischer Dosierungen durchgesetzt (Hochberg et al. 2003).

In der Studie von Keh et al. zeigte sich unter der Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison eine signifikante hämodynamische Stabilisierung der Patienten im septischen Schock und eine deutlichere Reduktion des Noradrenalinbedarfs im Vergleich zur Placebogruppe. Nach Beendigung der Studienmedikation kam es zu einer Verschlechterung der hämodynamischen Situation. Rund 30 % der Patienten, die zunächst Vasopressoren-frei waren, benötigten erneut Noradrenalin (Keh et al. 2003). Bei den im Kontext der vorliegenden Arbeit besprochenen Parametern IL-6, IL-8, sE-Selektin und CD 11b zeigte sich nach Beendigung der niedrig dosierten Hydrocortisontherapie ein signifikanter Wiederanstieg der Parameter. Das belegt die vollständige Reversibilität der Hydrocortisonwirkung. Auch nach relativ kurzer Anwendung von Glukokortikoiden in niedriger Dosierung ließen sich demnach immunologische und hämodynamische Reboundphänomene nach abrupter Beendigung der Glukokortikoidzufuhr nachweisen. Die aktuellen Empfehlungen zum Einsatz von niedrig dosiertem Hydrocortison zur Therapie der Kortikosteroidinsuffizienz bei kritisch Kranken sehen, nicht zuletzt auf Grund der Ergebnisse unserer Studie, zur Vermeidung dieser Reboundphänomene ein langsames Ausschleichen der Medikation vor (Marik et al. 2008). Dies wird auch in den aktuellen S2k-Leitlinien der DSG und DIVI zur Therapie der Sepsis empfohlen (Reinhart et al. 2010).

4.6 Klinische Relevanz

Der Einsatz von niedrig dosiertem Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock ist vor allem unter hämodynamischen Gesichtspunkten Gegenstand vieler klinischer Studien. Belegt ist dabei die stabilisierende Wirkung auf den Gefäßtonus und die schnellere Schockumkehr (Minneci et al. 2009).

Die Studie, die dieser Arbeit zugrunde liegt, diente unter anderem zur Erfassung der

immunologischen Veränderungen als Korrelat dieser klinischen Beobachtungen .

Dabei zeigte sich eine signifikante Reduktion einer Reihe von proinflammatorischen Mediatoren und belegt somit die antiinflammatorische Wirkung von niedrig dosiertem Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock.

Das im Rahmen der Inflammation aktivierte, komplexe System aus pro- und antiinflammatorischen Mediatoren ist, wie bereits erwähnt, nicht nur an der Entstehung der Sepsis beteiligt, sondern bestimmt maßgeblich den weiteren Verlauf und die Prognose. Dabei ist der ungünstige Einfluss übersteigerter proinflammatorischer Zytokinspiegel in der Frühphase der Sepsis auf den Krankheitsverlauf durch Studien belegbar (Pinsky et al. 1993, Fisher et al. 1993, Damas et al. 1992; 1989).

In frühen Erklärungsmodellen der Sepsispathogenese stellte man eine überschießende proinflammatorische Immunantwort in den Mittelpunkt der Überlegungen. Folgerichtig schlossen sich Therapieversuche mit dem Ziel der isolierten Blockade proinflammatorischer Zytokine an (Remick 2007). Diese aus heutiger Sicht einseitige Betrachtungsweise wurde nach dem Scheitern der genannten Therapieansätze und zusätzlichen pathophysiologischen Kenntnissen von der Vorstellung eines phasenhaften Sepsisverlaufs abgelöst. Das Sepsiskonzept nach Bone beschreibt einen zweiphasigen, zum Teil überlappenden Ablauf von Hyper- und Antiinflammation (SIRS und CARS) und verdeutlicht somit das Problem therapeutischer Optionen (Bone 1996, Bone et al. 1997). Die Therapie sollte entsprechend dem Krankheitsstadium erfolgen, in dem sich der Patient mutmaßlich befindet. Idealerweise müsste vor Therapiebeginn eine Diagnose des aktuellen immunologischen Funktionszustands sowie eine Analyse der infektionsspezifischen Immunreaktion durchgeführt werden. Der Einsatz antiinflammatorisch wirksamer Stoffe ist also mitunter zeitlich sehr eng einzugrenzen und der ideale Therapiezeitpunkt ist schwierig zu ermitteln.

Verschiedene antiinflammatorische Therapiestrategien wurden in den letzten Jahrzehnten erforscht. Untersuchungen am Tiermodell stellen dabei ein wichtiges und unabdingbares Hilfsmittel zum Verständnis der grundlegenden molekularen und genetischen Mechanismen von SIRS und Sepsis dar. Die Versuchsanordnungen reflektieren jedoch nur unzureichend die Komplexität und Interdependenz der Entstehung und Aufrechterhaltung der humanen Sepsis. Wichtige Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht, Begleiterkrankungen und genetische Polymorphismen können in

diesen Untersuchungen nicht oder nur unzureichend abgebildet werden (Rittirsch et al. 2007). Dies könnte erklären, dass zum Teil Erfolg versprechende tierexperimentelle Untersuchungen (Gérard et al. 1993, Ohlsson et al. 1990) sich leider nicht auf klinische Studien übertragen ließen.

Fraglich ist auch, inwieweit die isolierte Blockade einzelner Mediatoren im komplexen System der Zytokinaktivierung mit überlappenden und redundanten Aktivierungswegen geeignet ist, die systemische Reaktion positiv zu beeinflussen.

Randomisierte, kontrollierte Studien zur Blockade von TNF- α erbrachten keinen Benefit für das untersuchte Kollektiv (Abraham et al. 2001; 1995, Cohen und Carlet 1996, Fisher et al. 1996). Klinische Untersuchungen zur Wirksamkeit von Interleukin-1-Rezeptor-Antagonisten, Bradykinin-Antagonisten, Elastase-Inhibitoren und Ibuprofen bei septischen Patienten brachten ebenfalls keine positiven Ergebnisse hervor (Bernard et al. 1997, Fein et al. 1997, Fisher et al. 1994).

In einer Analyse verschiedener präklinischer und klinischer Studien ließ sich jedoch herausarbeiten, dass eine Subgruppe von Patienten mit besonders schwerem Krankheitsverlauf und einem hohen Sterberisiko von dem frühen Einsatz Mediator-spezifischer antiinflammatorischer Substanzen profitieren könnte (Eichacker et al. 2002).

Die Gabe von niedrig dosiertem Hydrocortison beeinflusst im Vergleich zu einer isolierten Blockade einzelner Mediatoren ein breites Spektrum der Faktoren, die an der inflammatorischen Antwort beteiligt sind. Hydrocortison wirkt immunregulativ, das heißt antiinflammatorisch ohne eine Verstärkung einer Immunsuppression (Keh et al. 2003, Briegel et al. 2001). Die Steroidwirkung wird unter anderem über die Modulation des Transkriptionsfaktors NF- κ B vermittelt. NF- κ B spielt in den Prozessen zur Steuerung der Immunantwort und in der Pathogenese vieler Erkrankungen eine entscheidende Rolle. Es greift regulierend in die Koordination der innaten und adaptiven Immunabwehr im Rahmen der Sepsis ein, indem es nach Translokation in den Zellkern die Expression von Genen für Zytokine, Chemokine, Adhäsionsmoleküle, Integrine und andere die Immunantwort betreffende Proteine reguliert (Zingarelli et al. 2003). Dabei können bestimmte, durch NF- κ B regulierte Entzündungsmediatoren ihrerseits die Aktivität von NF- κ B steigern und somit das Ausmaß und die Dauer der inflammatorischen Antwort beeinflussen (Caamaño und Hunter 2002). Sowohl in tierexperimentellen

Sepsismodellen als auch bei septischen Patienten konnte in verschiedenen Organsystemen eine erhöhte NF- κ B-Aktivität nachgewiesen werden (Arnalich et al. 2000, Schwartz et al. 1996).

Naturgemäß hat das Interesse an therapeutischen Optionen bezüglich der Modulation und Blockade der NF- κ B-Aktivität in den letzten Jahren stetig zugenommen. Dabei wurden verschiedene pharmakologische und natürliche Verbindungen, wie etwa NSAIDs, Glukokortikoide, Proteasom-Inhibitoren, Gelbwurzfarbstoff und Teepolyphenole auf ihre Wirksamkeit getestet (Zingarelli et al. 2003).

Tierexperimentelle Untersuchungen haben verdeutlicht, dass viele der Sepsis-induzierten Organdysfunktionen durch eine Blockade von NF- κ B korrigiert werden konnten. Allerdings zeigte sich ebenfalls, dass diese Blockade, die Fähigkeit des Wirts zur Bakterienabwehr stark beeinträchtigt (Liu und Malik 2006, Sha et al. 1995). Wünschenswert sind demnach therapeutische Ansätze, die modulierend auf den Transkriptionsfaktor einwirken, ohne dessen balancierenden Einfluss auf die verschiedenen Immunfunktionen zu beeinträchtigen. Eine zellspezifische Therapie, wie die isolierte Blockade von endothelialem NF- κ B, stellt ebenfalls eine viel versprechende Therapieoption dar (Ye et al. 2008).

Ebenso wie Hydrocortison werden die antiinflammatorischen Eigenschaften von rhAPC unter anderem durch die funktionelle Hemmung von NF- κ B und die nachfolgend gehemmte Transkription und Synthese proinflammatorischer Mediatoren vermittelt (Joyce und Grinnell 2002). Innerhalb des multimodalen Behandlungskonzepts des septischen Schocks ist der Einsatz von rhAPC eine adjunktive Therapieoption. Dabei ist der Umstand gesichert, dass vor allem schwer erkrankte Patienten von einer Therapie profitieren (Deans et al. 2004, Bernard et al. 2001). Von einem Einsatz bei Patienten mit einem APACHE-II-Score < 25 wird dagegen derzeit abgeraten, da diese Erkrankten eine höhere Ein-Jahres-Letalitätsrate aufwiesen, nachdem sie rhAPC erhalten hatten (Abraham et al. 2005).

Der Einsatz von Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock wurde in den letzten Jahren nach neuer Studienlage wiederholt kontrovers diskutiert.

Die Therapieempfehlungen basierten zunächst im Wesentlichen auf den Ergebnissen einer französischen Multicenterstudie, die einen positiven Einfluss von Hydrocortison bei Patienten mit einer relativen Nebennierenrindeninsuffizienz belegt (Annane et al.

2002). Bei den Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, führte man zunächst einen ACTH-Test zur Analyse des funktionellen Zustands der Nebennierenrinde durch. Es erfolgte je nach Cortisolanstieg eine Einteilung in sogenannte „Responder“ und „Non-Responder“. Die Patienten der Interventionsgruppe erhielten über einen Zeitraum von sieben Tagen Bolusgaben von Hydrocortison (50 mg alle 6 h i.v.) sowie zusätzlich täglich 50 µg Fludrocortison (p.o.). Bei den „Non-Respondern“, die Hydrocortison erhalten hatten, ließ sich eine Reduktion der 28-Tage-Sterblichkeit nachweisen (von 63 % auf 53 %). Wesentliche negative Nebeneffekte einer Hydrocortisontherapie, wie etwa eine Zunahme sekundärer Infektionen, traten nicht auf.

Um die Effektivität und Sicherheit des Einsatzes von Hydrocortison anhand einer größeren Patientenzahl zu ermitteln, wurde eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Multicenterstudie (CORTICUS-Studie) durchgeführt (Sprung et al. 2008). Auch in dieser Studie nahm man zu Beginn eine Einteilung der Patienten in „Responder“ und „Non-Responder“ anhand eines ACTH-Tests vor. Die Applikation der Studienmedikation erfolgte bolusweise (50 mg Hydrocortison alle 6 h i.v.). Im Ergebnis zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der 28-Tage-Sterblichkeit zwischen Patienten der Hydrocortisongruppe und der Placebogruppe unabhängig vom Vorliegen einer relativen Nebennierenrindeninsuffizienz. Allerdings konnte bei allen mit Hydrocortison behandelten Patienten, unabhängig vom Ergebnis des ACTH-Tests, die Vasopressorentherapie früher beendet werden.

Es gibt verschiedene Erklärungsansätze für die differierenden Ergebnisse der Annane- und CORTICUS-Studie. Im Vergleich zur Studie von Annane waren die Patienten der CORTICUS-Studie weniger schwer erkrankt (28-Tage-Mortalität im Placebo Arm 61 % versus 31,5 %). Die Therapie nach Auftreten der Schocksymptomatik initiierte man in der Studie von Annane innerhalb von acht Stunden. In die CORTICUS-Studie dagegen wurden auch Patienten mit einer Schockdauer bis zu 72 Stunden eingeschlossen. Auch die Therapiedauer unterschied sich voneinander. In der Studie von Annane wurde die Hydrocortisontherapie über sieben Tage durchgeführt. Die Patienten der CORTICUS-Studie erhielten Hydrocortison zunächst für einen Zeitraum von fünf Tagen und danach in ausschleichender Dosierung über weitere sechs Tage. Des Weiteren wurde in der Annane-Studie zusätzlich

Fludrocortison verabreicht. Eine kürzlich veröffentlichte Studie ließ jedoch keinen Unterschied erkennen bezüglich der Krankenhaus-Sterblichkeit zwischen Patienten mit septischem Schock, die nur Hydrocortison verabreicht bekamen oder Patienten, die zusätzlich Fludrocortison erhielten (Annane et al. 2010).

Führt man Subgruppenanalysen von CORTICUS-Patienten durch, können Erkrankte näher betrachtet werden, die die Einschlusskriterien der Annane-Studie erfüllen. Innerhalb dieses Kollektivs zeigten sich ähnliche Therapieeffekte von Hydrocortison wie in der Annane-Studie. Dabei besaß die Hydrocortisongruppe einen Überlebensvorteil. Dies stützt die Hypothese, dass insbesondere Patienten mit einem hohen Sterberisiko von einer Therapie mit Glukokortikoiden profitieren und dass ein früher Therapiebeginn dabei eine entscheidende Rolle spielt (Marik et al. 2008).

Die Ergebnisse der CORTICUS-Studie haben die Diskussion belebt, ob auch eine niedrig dosierte Hydrocortisontherapie das Risiko sekundärer Infektionen erhöht. In der Hydrocortisongruppe zeigte sich eine höhere Inzidenz an Superinfektionen. Darunter wurden auch Zweitepisoden einer Sepsis und eines septischen Schocks subsummiert. Es ist fraglich, inwieweit die Zweitepisoden der Sepsis durch immunologische Reboundphänomene nach Absetzen der Glukokortikoidtherapie erklärt werden könnten, oder ob tatsächlich eine neue Infektion mit einem anderen Erreger vorlag. Dabei ist zu bemerken, dass bisher in keiner anderen Studie eine erhöhte Rate an Infektionen durch moderat dosierte Glukokortikoidgabe signifikant belegt ist (Keh et al. 2008). Auch bei längerfristiger Anwendung (bis zu 32 Tagen) von niedrig bis moderat dosierten Glukokortikoiden im Rahmen der Behandlung von ALI und ARDS zeigte sich kein Anstieg von Infektionen (Tang et al. 2009).

Die Daten der CORTICUS-Studie legen in jedem Fall eine differenzierte Betrachtungsweise des Einsatzes von Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock nahe. Die Ergebnisse sind in die aktuellen Sk2-Leitlinien der DSG und der DIVI (Reinhart et al. 2010) sowie in die internationalen Guidelines der „Surviving Sepsis Campaign“ eingeflossen (Dellinger et al. 2008). Gemäß der derzeitigen Empfehlung ist der Einsatz von niedrig dosiertem Hydrocortison nur bei Patienten zu erwägen, die sich trotz adäquater Volumen- und Vasopressortherapie weiterhin im therapierefraktären septischen Schock befinden.

Endogene Glukokortikoide unterstützen die innate und adaptive Immunabwehr bei der Elimination von Toxinen und anderen Pathogenen und helfen so bei der Limitierung von Gewebeschäden (Sapolsky et al. 2000, Chrousos 1995). In der frühen Phase des septischen Schocks liegt häufig eine überschießende proinflammatorische Immunantwort vor, die maßgeblich an der Entwicklung des weiteren Krankheitsverlaufs beteiligt ist. Die Beeinflussung der systemischen Inflammation ist eine wichtige therapeutische Option im Rahmen der Sepsistherapie (Galon et al. 2002).

Die in dieser Arbeit dargestellten Daten unterstreichen das günstige Wirkprofil von Hydrocortison insbesondere in dieser Krankheitsphase bei Patienten im septischen Schock.

Es stellt sich jedoch die Frage, warum trotz der nachweisbaren Hemmung der Inflammation durch Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock die Studienlage keinen sicheren Nachweis eines Überlebensvorteils erbringen konnte. Eine aktuelle Registerstudie, in der mehr als 12.000 Patienten mit schwerer Sepsis untersucht wurden, ergab sogar eine erhöhte Mortalität unter Hydrocortisontherapie (Beale et al. 2010). Die Untersuchung war ursprünglich zur Evaluation des Einsatzes von rhAPC im klinischen Alltag konzipiert worden. Die Aussagen hinsichtlich des Einsatzes von Hydrocortison sind aus verschiedenen Gründen kritisch zu betrachten. Informationen bezüglich des Therapiebeginns und der Therapiedauer sowie der exakten Dosierung der Glukokortikoide sind nicht bekannt. Auch sollte man bei der Interpretation einer retrospektiven Observationsstudie gegenüber randomisierten, kontrollierten Studien generell zahlreiche „Störfaktoren“ berücksichtigen.

Im Folgenden werden Erklärungsmöglichkeiten für das Ausbleiben eines sicheren Überlebensvorteils durch Hydrocortison diskutiert.

Ein wichtiger Hinweis ergibt sich durch Untersuchungen, die den Einsatz von niedrig dosierten Glukokortikoiden zur Therapie von ALI und ARDS zum Gegenstand haben. Anhand einiger randomisierter Studien ließ sich neben einer signifikanten Reduktion inflammatorischer Marker auch eine Senkung der Mortalität belegen (Meduri et al. 2007, Annane et al. 2006, Confalonieri et al. 2005, Meduri et al. 1998). Dabei gilt es hervorzuheben, dass in den Studien von Meduri et al. die Steroide über einen wesentlich längeren Zeitraum (bis zu 32 Tagen) angewendet wurden. Eventuell ist eine längere Therapiedauer mitverantwortlich für die besseren Ergebnisse.

Auch Unterschiede bezüglich des Therapiebeginns könnten differierende Studienergebnisse erklären. In der Studie von Annane et al. wurde schon in der sehr frühen Phase des septischen Schocks mit der Glukokortikoidtherapie begonnen. In die CORTICUS-Studie hingegen wurden auch Patienten eingeschlossen, die sich in einer späteren Phase des Krankheitsgeschehens befanden. Möglicherweise kommen die hemmenden Effekte von Hydrocortison auf die überschießende Inflammation in einer späteren Phase des Sepsisgeschehens nicht mehr positiv zum Tragen und werden durch andere Effekte innerhalb des dynamischen Prozesses mit Phasen der Hyper- und Hypoinflammation überlagert.

Ein weiterer wichtiger Ansatzpunkt ergibt sich durch die Interpretation der CORTICUS-Daten hinsichtlich des kontrovers diskutierten Anstiegs sekundärer Infektionen in der Hydrocortisongruppe. Es stellt sich die Frage, inwieweit die positiven Effekte der Hydrocortisontherapie, etwa in Bezug auf die Stabilisierung der Hämodynamik, durch das Auftreten einer neuen Infektion überlagert sein könnten. Zu den sekundären Infektionen in der Verumgruppe wurde auch das Auftreten eines neuen septischen Schocks gezählt. Eine längere Therapie mit Hydrocortison könnte sich eventuell positiv hinsichtlich des Auftretens eines erneuten Schockgeschehens auswirken. Im Kontrast zu diesen Ergebnissen der CORTICUS-Studie stehen die Ergebnisse einer aktuellen Metaanalyse (Annane et al. 2009), anhand derer kein erhöhtes Infektionsrisiko unter Hydrocortisontherapie nachgewiesen wurde.

Die klinisch entscheidende Frage, ob das Risiko eines erhöhten Infektionsrisikos den Nutzen einer Schockreduktion überwiegt, kann anhand der derzeitigen Datenlage nicht abschließend beantwortet werden.

Weitere Studien hinsichtlich der Evaluation immunologischer Effekte von Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock sind wünschenswert.

4.7 Limitierende Faktoren der Studie

Aussagen darüber inwieweit sich die beobachteten immunologischen Veränderungen unter der Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison positiv auf das Outcome auswirken, können aufgrund des Studiendesigns als Cross-over Studie nicht getroffen werden. Ebenso gilt es zu bedenken, dass der relativ kurze Untersuchungszeitraum von nur drei Tagen keine Aussagen über die Auswirkungen einer prolongierten Therapie mit

Hydrocortison auf das Immunsystem zulässt.

Desweiteren wurde bei den Patienten kein ACTH-Test durchgeführt, um eine relative Nebennierenrindeninsuffizienz zu diagnostizieren. Bei normaler Nebennierenrindenfunktion wäre es von besonderem Interesse gewesen, wie sich die niedrig dosierte Hydrocortisontherapie, über die Substitution eines relativen Steroidmangels hinaus, auf das Immunsystem auswirkt.

Allerdings ist der Stellenwert des ACTH-Tests bei Patienten mit Sepsis oder septischen Schock Gegenstand kontroverser Diskussionen. Bezüglich der Festlegung eines Cortisol-Schwellenwerts zur Diagnose einer relativen Nebennierenrindeninsuffizienz bei Patienten im septischen Schock herrscht Uneinigkeit (Siraux et al. 2005).

Die Cortisolbestimmung im Serum septischer Patienten erschwert sich durch eine hohe Inter-Assay-Varianz (Briegel et al. 2009). Die Durchführung eines ACTH-Tests vor Beginn einer Therapie mit niedrig dosiertem Hydrocortison im septischen Schock wird derzeit nicht empfohlen (Reinhart et al. 2010).

Methodisch gilt zu hinterfragen, inwieweit mittels der quantitativen Bestimmung löslicher Mediatoren durch ELISA die tatsächliche biologische Aktivität der Zytokine abgebildet werden kann. Auch gilt anzumerken, dass die Halbwertszeit vieler Zytokine im Plasma sehr kurz ist.

5 Zusammenfassung

Die dieser Arbeit zugrunde liegende Studie hatte zum Ziel, die immunologischen Effekte einer niedrig dosierten Hydrocortisontherapie bei Patienten im septischen Schock zu untersuchen und darzustellen.

Im Rahmen der prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten Cross-over Studie erhielten 40 Patienten im septischen Schock eine adjunktive, niedrig dosierte Hydrocortisontherapie über einen Zeitraum von drei Tagen.

Anhand von ELISA erfolgte unter anderem die Messung der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8, sowie sE-Selektin als Marker der Endothelaktivierung. Zur Darstellung der Granulozytenaktivierung erfolgte die durchflusszytometrische Bestimmung von CD 11b auf Granulozyten.

Im Ergebnis zeigt sich, dass die Gabe von niedrig dosiertem Hydrocortison zu signifikanten Immuneffekten bei Patienten im septischen Schock führt. Es lässt sich eine zügige, signifikante Reduktion der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8 nachweisen. Das belegt die antiinflammatorische Wirkung von niedrig dosiertem Hydrocortison bei Patienten im septischen Schock.

Ferner lässt sich eine reduzierte Endothel- und Granulozytenaktivierung anhand des signifikanten Abfalls von sE-Selektin und Expression von CD11b auf Granulozyten belegen. Dadurch wird die systemische Ausbreitung inflammatorischer Prozesse gehemmt und der Entwicklung von Organdysfunktionen entgegengewirkt.

Der Zeitpunkt der Hydrocortisongabe, also früh oder spät im Schock, wirkt sich nicht auf den Konzentrationsverlauf der untersuchten Parameter während des Untersuchungszeitraums aus. Die immunologischen Effekte der niedrig dosierten Hydrocortisontherapie sind während unterschiedlicher Phasen des Schockgeschehens nachweisbar.

Die Beendigung der Glukokortikoidgabe führt zu einem schnellen Wiederanstieg aller im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Parameter. Die durch Hydrocortison hervorgerufenen Veränderungen sind also vollständig reversibel. Der Wiederanstieg ist als immunologisches Reboundphänomen zu werten und unterstreicht den Sinn eines ausschleichenden Entzugs auch nach einer niedrig dosierten Glukokortikoidtherapie.

6 Abkürzungsverzeichnis

ALI	Acute Lung Injury
AP-1	Activating Protein 1
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
CARS	Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome
CI	Konfidenzintervall
cGR	zytosolischer Glukokortikoidrezeptor
CRP	C-reaktives Protein
CR3	Complement Receptor 3
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECMO	Extracorporale Membranoxygenation
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FSC	Forward scatter/Vorwärtsstreulicht
GC	Glucocorticoid
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
GRE	Glucocorticoid Response Element
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IFN	Interferon
I-κB	Inhibitor kappaB
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
kDa	Kilodalton
LAD	Leukozytenadhäsionsdefizienz
LPS	Lipopolysaccharid
Mac-1	Macrophage-1 antigen
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome
NF-κB	Nuclear Factor kappaB
NSAID	Non Steroidal Anti Inflammatory Drug
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Pattern
PE	Phycoerythrin
PI3K	Phosphatidyl-Inositol 3 Kinase
PLA2	Phospholipase A2
PRR	Pattern-Recognition Receptor
rhAPC	rekombinantes humanes aktiviertes Protein C
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
SAPS	Simplified Acute Physiology Score
SEM	Standard error of the mean
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOFA	Sepsis-related Organ Failure Assessment
SSC	Sidescatter/Seitwärtsstreulicht
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule

7 Literaturverzeichnis

Abraham E , Wunderink R, Silverman H, Perl TM, Nasraway S , Levy H, Bone R, Wenzel RP, Balk R, Allred R et al. (1995): *Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome: A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial.* JAMA 273 (12) 934-941.

Abraham E, Laterre PF, Garbino J, Pingleton S, Butler T, Dugernier T, Margolis B, Kudsk K, Zimmerli W, Anderson P, Reynaert M, Lew D, Lesslauer W, Passe S, Cooper P, Burdeska A, Modi M, Leighton A, Salgo M, van der Auwera P; Lenercept Study Group (2001): *Lenercept (p55 tumor necrosis factor receptor fusion protein) in severe sepsis and early septic shock: A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter phase III trial with 1342 patients.* Crit Care Med 29 (3): 503-510.

Abraham E (2003): *Nuclear factor κ B and its role in sepsis-associated organ failure.* J Infect Dis 187 (Suppl 2): S364-S369.

Abraham E, Laterre PF, Garg R, Levy H, Talwar D, Trzaskoma BL, François B, Guy JS, Brückmann M, Rea-Neto A, Rossaint R, Perrotin D, Sablotzki A, Arkins N, Utterback BG, Macias WL; Administration of Drotrecogin Alfa (Activated) in Early Stage Severe Sepsis (ADDRESS) Study Group et al. (2005): *Drotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death.* N Engl J Med 353 (13):1332-41.

Adams DH und Shaw S (1994): *Leucocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration.* Lancet 343: (8901) 831-836.

Aderka D, Le JM, Vilcek J (1989): *IL-6 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor production in cultured human monocytes, U937 cells, and in mice.* J Immunol 143 (11): 3517-3523.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR (2001): *Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care.* Crit Care Med 29 (7): 1303–1310.

Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Chapellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troché G, Chaumet-Riffaut P, Bellissant E (2002): *Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock.* JAMA 288 (7): 862-871

Annane D, Sébille V, Bellissant E (2006): *Effect of low doses of corticosteroids in septic shock patients with or without early acute respiratory distress syndrome.* Crit Care Med 34: 22-30.

Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Confalonieri M, De Gaudio R, Keh D, Kupfer Y, Oppert M, Meduri GU (2009): *Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review.* JAMA 301(22): 2362-2375.

Annane D, Cariou A, Maxime V, Azoulay E, D'honneur G, Timsit JF, Cohen Y, Wolf M, Fartoukh M, Adrie C, Santré C, Bollaert PE, Mathonet A, Amathieu R, Tabah A, Clec'h C, Mayaux J, Lejeune J, Chevret S.COITISS Study Investigators (2010): *Corticosteroid treatment and intensive insulin therapy for septic shock in adults. A randomized controlled trial.* JAMA 303 (4): 341-348.

Arnalich F, Garcia-Palomero E, Lopez J, Jimenez M, Madero R, Renart J, Vazquez JJ, Montiel C (2000): *Predictive value of nuclear factor κ B activity and plasma cytokine levels in patients with sepsis.* Infect Immun 68: 1942-1945.

Arnaut MA (1990): *Leukocyte adhesion molecules deficiency: its structural basis, pathophysiology and implications for modulating the inflammatory response.* Immunol Rev 114: 145–180.

Asaduzzaman M, Zhang S, Lavasani S, Wang Y, Thorlacius H (2008): *LFA-1 and MAC-1 mediate pulmonary recruitment of neutrophils and tissue damage in abdominal sepsis.* Shock 30 (3): 254-259.

Auphan N, Di Donato JA, Rosette C, Helmberg A, Karin M (1995): *Immunosuppression by glucocorticoids: Inhibition of NF- κ B activity through induction of I κ B synthesis.* Science 270: 286-290.

Bacon KB, Flores-Romo L, Aubry JP, Well TN and Power CA (1994): *Interleukin-8 and RANTES induce the adhesion of the human basophilic cell line KU-812 to human endothelial cell monolayers.* Immunology 82: 473-481.

Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL (1989): *Neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils.* J Clin Invest 84 (4): 1045-1049.

Barber AE, Coyle SM, Marano MA, Fischer E, Calvano SE, Fong Y, Moldawer LL and Lowry SF (1993): *Glucocorticoid therapy alters hormonal and cytokine responses to endotoxin in man.* J Immunol 150 (5): 1999-2006.

Bartholome B, Spies CM, Gaber T, Schuchmann S, Berki T, Kunkel D, Bienert M, Radbruch A, Burmester GR, Lauster R, Scheffold A, Buttgereit F (2004): *Membrane glucocorticoid receptors (mGCR) are expressed in normal human peripheral blood mononuclear cells and up-regulated after in vitro stimulation and in patients with rheumatoid arthritis.* FASEB J 18 (1): 70-80.

Barton BE (1997): *IL-6: Insights into novel biological activities*. Clin Immunol Immunopathol 85 (1): 16-20.

Bernard GR, Wheller AP, Russell JA, Schein R, Summer WR, Steinberg KP, Fulkerson WJ, Wright PE, Christman BW, Dupont WD, Higgins SB, Swindell BB (1997): *The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen Study Group*. N Engl J Med 336 (13) 912-918.

Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ Jr.; Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group (2001): *Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis*. N Engl J Med 344 (10): 699-709.

Beale R, Janes JM, Brunkhorst FM, Dobb G, Levy MM, Martin GS, Ramsay G, Silva E, Sprung CL, Vallet B, Vincent JL, Costigan TM, Leishman AG, Williams MD, Reinhart K (2010): *Global utilization of low-dose corticosteroids in severe sepsis and septic shock: a report from the PROGRESS registry*. Crit Care 14 (3): R102.

Beutler B and Poltorak A (2001): *Sepsis and evolution of the innate immune response*. Crit Care Med 29 (Suppl 7): S2-S6.

Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA Jr, Seed B (1989): *Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins*. Science 243 (4895): 1160-1165.

Bevilacqua MP, Butcher E, Furie B, Furie B, Gallatin M, Gimbrone M, Harlan J, Kishimoto K, Lasky LA, McEver R et al. (1991): *Selectins: a family of adhesion receptors*. Cell 67 (2): 233.

Böhrer H, Qiu F, Zimmermann T, Zhang Y, Jilmer T, Männel D, Böttiger BW, Stern DM, Waldherr R, Saeger HD, Ziegler R, Bierhaus A, Martin E, Nawroth P (1997): *Role of NF- κ B in the mortality of sepsis*. J Clin Invest 100: 972-985.

Boillot A, Capellier G, Racadot E, Wijdenes J, Herve P, Barale F (1995): *Pilot clinical trial of an anti-TNF alpha monoclonal antibody for the treatment of septic shock*. Clin Intensive Care 6 (2): 52-56.

Boldt J, Müller M, Kuhn D, Linke LC und Hempelmann G (1996): *Circulating adhesion molecules in the critically ill: A comparison between trauma and sepsis patients*. Intensive Care Med 22 (2): 122-128.

Bollaert PE, Charpentier C, Levy B, Debouverie M, Audibert G, Larcan A (1998): *Reversal of late septic shock with supraphysiologic doses of hydrocortisone*. Crit Care Med 26 (4): 645-650.

Bone RC, Fisher CJ Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA und Balk RA (1987): *A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock.* N Engl J Med 317 (11): 653-658.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ (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 101 (6): 1644-1655.

Bone RC, Balk RA, Fein AM, Perl TM, Wenzel RP, Reines HD, Quenzer RW, Iberti TJ, Macintyre N, Schein RM (1995): *A second large controlled clinical study of E5, a monoclonal antibody to endotoxin: Results of a prospective, multicenter randomized, controlled trial.* The E5 Sepsis Study Group. Crit Care Med 23 (6): 994-1006.

Bone R C (1996): *Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS.* Crit Care Med 24 (7): 1125-1128.

Bone RC, Grodzin CJ and Balk RA (1997): *Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process.* Chest 112: 235-243.

Bozza FA, Salluh JI, Japiassu AM, Soares M, Assis EF, Gomes RN, Bozza MT, Castro-Faria-Neto HC, Bozza PT (2007): *Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis.* Crit Care 11 (2): R49.

Briegel J, Kellermann W, Forst H, Haller M, Bittl M, Hoffmann GE, Büchler M, Uhl W, Peter K and Phospholipase A2 Study Group (1994): *Low-dose hydrocortisone infusion attenuates the systemic inflammatory response syndrome.* Clin Invest 72 (10): 782-787.

Briegel J, Forst H, Haller M, Schelling G, Kilger E, Kuprat G, Hemmer B, Hummel T, Lenhart A, Heyduck M, Stoll C and Peter K (1999): *Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: a prospective, randomized, double-blind, single-center study.* Crit Care Med 27 (4): 723-732.

Briegel J, Jochum M, Gippner-Steppert C, Thiel M (2001): *Immunomodulation in septic shock: Hydrocortisone differentially regulates cytokine response.* J Am Soc Nephrol 12 Suppl. 17: S70-S74.

Briegel J, Sprung CL, Annane D, Singer M, Keh D, Moreno R, Möhnle P, Weiss Y, Avidan A, Brunkhorst FM, Fiedler F, Vogeser M; CORTICUS Study Group (2009): *Multicenter comparison of cortisol as measured by different methods in samples of patients with septic shock.* Intensive Care Med 35 (12) 2151-2156.

- Brostjan C, Anrather J, Csizmadia V, Natarajan G und Winkler H (1997):** *Glucocorticoids inhibit E-selectin expression by targeting NF- kappa B and not ATF/c-Jun.* J Immunol 158 (8): 3836-3844.
- Brueckmann M, Hoffmann U, De Rossi L, Weiler HM, Liebe V, Lang S, Kaden JJ, Borggreffe M, Haase KK, Huhle G (2004):** *Activated protein C inhibits the release of macrophage inflammatory protein-1-alpha from THP-1 cells and from human monocytes.* Cytokine 26 (3): 106-113.
- Brunkhorst FM, Engel C, Reinhart K, Bone H-G, Brunkhorst R, Burchardi H, Eckhardt K-U, Forst H, Gerlach H, Grond S, Gründling M, Huhle G, Oppert M, Olthoff D, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Seeger W, Stüber F, Weiler N, Welte T, and Loeffler M for the German Competence Network Sepsis (SepNet) (2005):** *Epidemiology of severe sepsis and septic shock in Germany: results from the German 'Prevalence' study.* Crit Care Med 9 (Suppl 1): 83.
- Büscher U, Chen F, Pitzen A, Menon R, Vogel M, Obladen M, Dudenhausen JW (2000):** *IL-1 beta, IL-6, IL-8 and G-CSF in the diagnosis of early-onset neonatal infections.* J Perinat Med 28 (5): 383-388.
- Buttgereit F and Scheffold A (2002):** *Rapid glucocorticoid effects on immune cells.* Steroids 67 (6): 529-534.
- Caamaño J and Hunter CA (2002):** *NF-kappaB family of transcription factors: Central regulators of innate and adaptive immune functions.* Clin Microbiol Rev 15 (3): 414-429.
- Casey LC, Balk RA and Bone RC (1993):** *Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome.* Ann Intern Med 119 (8): 771-778.
- Chrousos GP (1995):** *The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation.* N Engl J Med 322 (20): 1351-1362
- Christman JW, Holden EP, Blackwell TS (1995):** *Strategies for blocking the systemic effects of cytokines in the sepsis syndrome.* Crit Care Med 23 (5): 955-963
- Clark-Lewis I, Moser B, Walz A, Baggiolini M, Scott GJ, Aebbersold R (1991):** *Chemical synthesis, purification, and characterization of two inflammatory proteins, neutrophil activating peptide 1 (interleukin-8) and neutrophil activating peptide.* Biochemistry 30 (12): 3128-3135.
- Cohen J and Carlet J (1996):** *INTERSEPT: An international, multicenter, placebo-controlled trial of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor-alpha in patients with sepsis.* Crit Care Med 24 (9):1431-1440.
- Cohen J (2002):** *The immunopathogenesis of sepsis.* Nature 420 (6917): 885-91.

Confalonieri M, Urbino R, Potena A, Piattella M, Parigi P, Puccio G, Della Porta R, Giorgio C, Blasi F, Umberger R, Meduri GU (2005): *Hydrocortisone infusion for severe community-acquired pneumonia: A preliminary randomized study*. Am J Respir Crit Care Med 171: 242-248.

Cronin L, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King D, Lansang MA, Fisher CJ Jr. (1995): *Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and metaanalysis of the literature*. Crit Care Med 23 (8): 1430-1439.

Cronstein BN, Kimmel SC, Levin RI, Martiniuk F, Weissmann G (1992): *A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leucocyte adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1*. Proc Natl Acad Sci USA 89: 9991-9995.

Cummings CJ, Sessler CN, Beall LD, Fisher BJ, Best AM and Fowler AA III (1997): *Soluble E-Selectin Levels in Sepsis and Critical illness. Correlation with Infection and Hemodynamic Dysfunction*. Am J Respir Crit Care Med 156: 431-437.

Damas P, Reuter A, Gysen P, Demonty J, Lamy M, Franchimont P (1989): *Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during sepsis in humans*. Crit Care Med 17 (10): 975-978.

Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, de Groote D, Franchimont P, Lamy M (1992): *Cytokine serum level during severe sepsis in human, IL-6 as a marker of severity*. Ann Surg 215 (4): 356-362.

Damas P, Canivet JL, De Groote D, Vrindts Y, Albert A, Franchimont, Lamy M (1997): *Sepsis and serum cytokine concentrations*. Crit Care Med 25 (3): 405-412

Diamond MS, Springer TA (1993): *A subpopulation of Mac-1 (CD11b/CD18) molecules mediates neutrophil adhesion to ICAM-1 and fibrinogen*. J Cell Biol 120 (2): 545-556.

Diao H and Kohanawa M (2005): *Endogenous Interleukin-6 plays a crucial role in streptococcal toxic shock syndrome via suppression of tumor necrosis alpha production*. Infect Immun 73 (6): 3745-3748.

Dixon RB and Christy NB (1980): *On the various forms of corticosteroid withdrawal syndrome*. American Journal of Medicine 68 (2): 224-230.

Deans KJ, Minneci PC, Eichacker PQ, Natason C (2004): *The efficacy of drotrecogin alfa depends on severity of illness*. Crit Care Med 32 (11): 2347.

De Bosscher K, Vanden Berghe W, Vermeulen L, Plaisance S, Boone E and Haegemann G (2000): *Glucocorticoids repress NF-kappaB-driven genes by disturbing the interaction of p65 with the basal transcription machinery, irrespective of coactivators levels in the cell.* Proc Natl Acad Sci USA 97 (8): 3919-3924.

De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G (2003): *The Interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-(kappa) B or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression.* Endocr Rev 24: 488-522.

Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL (2008): *Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008.* Crit Care Med 36 (1): 296-327.

Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, Grant IS, Pollok AJ, Haslett C (1993): *Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups.* Lancet 341: 643-647.

Dransfield I, Stocks SC, Haslett C (1995): *Regulation of cell adhesion molecule expression and function associated with neutrophil apoptosis.* Blood 85 (11): 3264-3273.

Eichacker PQ, Parent C, Kalil A, Esposito C, Cui X, Banks SM, Gerstenberger EP, Fitz Y, Danner RL, Natanson C (2002): *Risk and efficacy of antiinflammatory agents: retrospective and confirmatory studies of sepsis.* Am J Respir Crit Care Med 166 (9): 1197-1205.

Elenkov I, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES (2000): *The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system.* Pharmacol Rev 52 (4): 595-638.

Endo S, Inada K, Kasai T, Takakuwa T, Yamada Y, Koike S, Wakabayashi G, Niimi M, Taniguchi S, Yoshida M (1995): *Levels of soluble adhesion molecules and cytokines in patients septic multiple organ failure.* J Inflamm 46: (4) 212-219.

Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S, Mayer K, Oppert M, Olthoff D, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Stuber F, Weiler N, Welte T, Bogatsch H, Hartog C, Loeffler M, Reinhart K et al. (2007): *Epidemiology of sepsis in Germany: Results from a national prospective multicenter study.* Intensive Care Med 33 (4): 606-618.

Esmon CT (2000): *The anticoagulant and anti-inflammatory roles of the protein C anticoagulant pathway.* J Autoimm 15 (2): 113-116.

Fein AM, Bernard GR, Criner GJ, Fletcher EC, Good JT Jr, Knaus WA, Levy H, Matuschak GM, Shanies HM, Taylor RW, Rodell TC et al. (1997): *Treatment of severe systemic inflammatory response syndrome and sepsis with a novel bradykinin antagonist, deltibant (CP-0127). Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CP-0127 SIRS and Sepsis Study Group. JAMA 277 (6): 482-487.*

Fein AM and Calalang-Colucci, MG (2000): *Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in sepsis and septic shock. Crit Care Clin 16 (2): 289-317.*

Ferrero E, Villa A, Ferrero ME, Toninelli E, Bender JR, Pardi R, Zocchi MR (1996): *Tumor necrosis factor alpha-induced vascular leakage involves PECAM1 phosphorylation. Cancer Res 56 (14): 3211-3215.*

Fisher CJ Jr., Opal SM, Dhainaut JF, Stephens S, Zimmerman JL, Nightingale P, Harris SJ, Schein RM, Panacek EA, Vincent JL, et al. (1993): *Influence on an anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis: The CB0006 Sepsis Syndrome Study Group. Crit Care Med 21: 318-327.*

Fisher CJ Jr., Dhainaut JF, Opal SM, Pribble JP, Balk RA, Slotman GJ, Iberti TJ, Rackow EC, Shapiro MJ, Greenman RL, et al. (1994): *Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. JAMA 271 (23): 1836-1843.*

Fisher CJ Jr., Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Schein RM, Benjamin E (1996): *Treatment of septic shock with tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Study Group. N Engl J Med 334 (26): 1697-1702.*

Fong Y, Moldawer LL, Marano M, Wei H, Tatter SB, Clarick RH, Santhanam U, Sherris D, May LT, Sehgal PB, et al. (1989): *Endotoxemia elicits increased circulating beta 2-IFN/IL-6 in man. J Immunol 142 (7): 2321-2324.*

Frink M, van Griensven M, Kobbe P, Brin T, Zeckey C, Vaske B, Krettek C, Hildebrand F (2009): *IL-6 predicts organ dysfunction and mortality in patients with multiple injuries. Scand J Trauma Resusc Emerg Med 17 (1): 49.*

Fujishima S, Sasaki J, Shinozawa Y, Takuma K, Kimura H, Suzuki M, Kanazawa M, Hori S und Aikawa N (1996): *Serum MIP-1 alpha and IL-8 in septic patients. Intensive Care Med 22 (11): 1169-1175.*

Galon J, Franchimont D, Hiroi N, Frey G, Boettner A, Ehrhart-Bornstein M, O'Shea JJ, Chrousos GP, Bornstein SR (2002): *Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. FASEB 16 (1): 61-71.*

- Gao XP, Liu Q, Broman M, Predescu D, Frey RS and Malik AB** (2005): *Inactivation of CD11b in a mouse transgenic model protects against sepsis-induced lung PMN infiltration and vascular injury*. *Physiol Genomics* 21 (2): 230–242.
- Gauldie J, Richards C and Baumann H** (1992): *IL6 and the acute phase reaction*. *Res Immunol* 143: 755-759.
- George CF and Robertson D** (1987): *Clinical consequences of abrupt drug withdrawal*. *MedToxicol and Adverse Drug Exp* 2 (5): 367-382.
- Gérard C, Bruyns C, Marchant A, Abramowicz D, Vandenameele P, Delvaux A, Fiers W, Goldmann M, Velu T** (1993): *Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia*. *J Exp Med* 177 (2): 547-550.
- Greenberg RN, Wilson KM, Kunz AY, Wedel NI, Gorelick KJ** (1992): *Observations using antiendotoxin antibody (E5) as adjuvant therapy in humans with suspected, serious, gram-negative sepsis*. *Crit Care Med* 20 (6):730-735.
- Gulanikar AC, Belitsky P, MacDonald AS, Cohen A, Bitter-Suermann H** (1991): *Randomized controlled trial of steroids versus no steroids in stable cyclosporine – treated renal graft recipients*. *Transplant Proc* 23: 990-991.
- Hack CE and Zeerleder S** (2001): *The endothelium in sepsis: source of and a target for inflammation*. *Crit Care Med* 29 (7 Suppl): 21-27.
- Hall GM, Desborough JP** (1992): *Interleukin-6 and the metabolic response to surgery*. *Brit J Anaesth* 69 (4): 337-338.
- Harada A, Sekido N, Akahoshi T, Wada T, Mukaida N and Matsushima K** (1994): *Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute Inflammation*. *J Leukoc Biol* 56 (5): 559-564.
- Hochberg Z, Pacak K and Chrousos GP** (2003): *Endocrine Withdrawal Syndromes*. *Endocrine Reviews* 24 (4): 523-538.
- Hricik DE, Almawi WY, Strom TB** (1994): *Trends in the use of glucocorticoids in renal transplantation*. *Transplantation* 57 (7): 979-989.
- Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, Baltimore D** (2002): *The I κ B-NF- κ B signaling module: Temporal control and selective gene activation*. *Science* 298 (5596): 1241–1245.
- Hotchkiss RS and Karl IE** (2003): *The pathophysiology and treatment of sepsis*. *N Engl J Med* 348 (2):138-150

Hynes RO (1992): *Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion*. Cell 69 (1): 11-25.

Hynes RO (2002): *Integrins: bidirectional allosteric signaling machines*. Cell 110 (6): 673-687.

Janeway CA Jr. and Medzhitov R (2002): *Innate immune recognition*. Annu Rev Immunol 20: 197-216.

Joyce DE, Gelbert L, Ciaccia A, DeHoff B, Grinnell BW (2001). *Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis*. J Biol Chem 276 (14): 1199-203.

Joyce DE and Grinnell BW (2002): *Recombinant human activated protein C attenuates the inflammatory response in endothelium and monocytes by modulating nuclear factor-(κ)B*. Crit Care Med 30 (5 Suppl): 288-293.

Kayal S, Jais JP, Aguiñi N, Chaudière J, Labrousse J (1998): *Elevated circulating E-selectin, intercellular molecule 1, and von Willebrand factor in patients with severe infection*. Am J Respir Crit Care Med 157: 776-786.

Keh D, Boehnke T, Weber-Carstens S, Schulz C, Ahlers O, Bercker S, Volk HD, Doecke WD, Falke KJ, Gerlach H (2003): *Immunologic and hemodynamic effects of "low-dose" hydrocortisone in septic shock: a double-blind, randomized, placebo-controlled, crossover study*. Am J Respir Crit Care Med 167 (4): 512-520.

Keh D, Weber-Carstens S and Ahlers O (2008): *Adjunctive therapies in severe sepsis and septic shock: Current place of steroids*. Curr Infect Dis Rep 10 (5): 354-361.

Kerr R, Stirling D and Ludlam CA (2001): *Interleukin 6 and haemostasis*. Br J Haematol 115 (1): 3-12.

Lasky LA (1995): *Selectin-carbohydrate interactions and the initiation of the inflammatory response*. Annu Rev Biochem 64: 113-39.

Lee WL, Downey GP (2001): *Neutrophil activation and acute lung injury*. Curr Opin Crit Care 7 (1): 1-7.

Lefering R, Neugebauer EAM (1995): *Steroid controversy in sepsis and septic shock: a metaanalysis*. Crit Care Med 23 (7): 1294-1303.

Le Gall JR, Lemeshow S and Saulnier F (1993): *A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study*. JAMA 270 (24): 2957-2963.

Leone M, Boutière- Albanèse B, Valette S, Camoin-Jau L, Barrau K, Albanèse J, Martin C, Dignat-George F (2004): *Cell adhesion molecules as a marker reflecting the reduction of endothelial activation induced by glucocorticoids*. Shock 21 (4): 311-314.

Li Q and Verma IM (2002): *NF-kappaB regulation in the immune system*. Nat Rev Immunol 2 (10): 725-734.

Lien E and Ingalls RR (2002): *Toll-like receptors*. Crit Care Med 30 (Suppl1): S1-S11.

Lin RY, Astiz ME, Saxon JC, Rackow EC (1993): *Altered leukocyte immunophenotypes in septic shock*. Studies of HLA-DR, CD11b, CD14, and IL-2R expression. Chest 104: 847-853.

Liu SF and Malik AB (2006): *NF-kappa B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation*. 290 (4): L622-L645.

Loop T and Pahl H (2003): *Activators and target genes of Rel/NF-kB transcription factors - from bench to bedside*. In: Beyaert R: Nuclear Factor kB-Regulation and role in disease. Kluwer Academic Publishing Group 1-49.

Marik PE, Pastores SM, Annane D, Meduri GU, Sprung CL, Arlt W, Keh D, Briegel J, Beishuizen A, Dimopoulou I, Tsagarakis S, Singer M, Chrousos GP, Zaloga G, Bokhari F, Vogeser M (2008): *Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: Consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine*. Crit Care Med 36 (6) 1937-1949.

Marshall JC (2003): *Such stuff as dreams are made on: mediator-directed therapy in sepsis*. Nat Rev Drug Discov 2 (5): 391-405.

Martich GD, Danner RL, Ceska M, Suffredini AF (1991): *Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of antiinflammatory agents*. J Exp Med 173 (4): 1021-1024.

Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL (1997): *Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma*. Crit Care Med 25 (11): 1813–1819.

Martin GS, Mannino DM, Moss M (2006): *The effect of age on the development and outcome of adult sepsis*. Crit Care Med 34 (1): 15-21.

Marty C, Misset B, Tamion F, Fitting C, Carlet J, Cavillon JM (1994): *Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin*. Crit Care Med 22 (4): 673-679.

McEwen BS, Biron CA, Brunson KW, Bulloch K, Chambers WH, Dhabhar FS, Goldfarb RH, Kitson RP, Miller AH, Spencer RL, Weiss JM (1997): *The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: Neural endocrine and immune interactions.* Brain Res Rev 23 (1-2): 79–133.

Meduri GU, Headley S, Golden E, Carson SJ, Umberger RA, Kelso T, Tolley EA (1998): *Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: A randomized controlled trial.* JAMA 280 (2): 159-165.

Meduri GU (1999): *An historical review of glucocorticoid treatment in sepsis. Disease pathophysiology and the design of treatment investigation.* Sepsis 3 (1): 21-38.

Meduri GU, Golden E, Freire AX, Taylor E, Zaman M, Carson SJ, Gibson M, Umberger R (2007): *Methylprednisolone infusion in patients with early severe ARDS: Results of a randomized trial.* Chest 131: 954-963.

Medzhitov R and Janeway CA Jr. (1997): *Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition.* Cell 91 (3): 295-298.

Medzhitov R and Janeway CA Jr. (2000): *Innate Immunity.* N Engl J Med 343 (5):338-344).

Minneci PC, Deans KJ, Eichcker PQ and Natason C (2009): *The effects of steroids during sepsis depend on dose and severity of illness: an updated meta-analysis.* Clin Microbiol Infect 15: 308-318

Miyamoto S, Schmitt MJ, Verma IM (1994): *Qualitative changes in the subunit composition of kappa B-binding complexes during murine B-cell differentiation.* Proc Natl Acad Sci USA 91 (11): 5056-5060.

Mokart D, Merlin M, Sannini A, Brun JP, Delpero JR, Houvenaeghel G, Moutardier V, Blache JL (2005): *Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery.* Br J Anaesth 94 (6): 767-773.

Molijn GJ, Koper JW, van Uffelen CJ, de Jong FH, Brinkmann AO, Bruining HA, Lamberts SW (1995): *Temperature-induced down regulation of the glucocorticoid receptor in peripheral blood mononuclear leucocyte in patients with sepsis or septic shock.* Clin Endocrinol 43 (2): 197-203.

Nelson C, Rabb H, Arnaout MA (1992): *Genetic cause of leucocyte adhesion molecule deficiency. Abnormal splicing and missense mutation in a conserved region of CD18 impair cell surface expression of beta 2 integrins.* J Biol Chem 267 (5): 3351-3357.

Nupponen I, Andersson S, Järvenpää AL, Kautiainen H, Repo H (2001): *Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early-onset neonatal sepsis.* Pediatrics 108 (1): E12.

Oberholzer A, Oberholzer C and Moldawer LL (2000): *Cytokine signaling-regulation of the immune response in normal and critically ill states.* Crit Care Med 28 (4 Suppl): N3-12.

Ohlsson K, Björk P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompson RC (1990): *Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock.* Nature 348 (6301): 550-552.

Oppert M, Reinicke A, Gräf KJ, Barckow D, Frei U, Eckardt KU (2000): *Plasma cortisol levels before and during 'low-dose' hydrocortisone therapy and their relationship to hemodynamic improvement in patients with septic shock.* Intensive Care Med 26 (12): 1747-1755.

Oppert M, Schindler R, Husung C, Offermann K, Gräf KJ, Boenisch O, Barkow D, Frei U, Eckardt KU (2005): *Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduced cytokine levels in early hyperdynamic septic shock.* Crit Care Med 33 (11): 2457-2464.

Pathan N, Hemingway CA, Alizadeh AA, Stephens A, Boldrick J, Oragui E, McCabe C, Welch S, Whitney A, O'Gara P (2004): *Role of interleukin 6 in myocardial dysfunction of meningococcal septic shock.* Lancet 363: 203-209

Papanicolaou DA, Petrides JS, Tsigos C, Bina S, Kalogeras KT, Wilder R, Gold PW, Deuster PA, Chrousos GP (1996 a): *Exercise stimulates interleukin-6 secretion: inhibition by glucocorticoids and correlation with catecholamines.* Am J Physiol 271: E 601-605.

Papanicolaou DA, Tsigos C, Oldfield EH, Chrousos GP (1996 b): *Acute glucocorticoid deficiency is associated with plasma elevations of interleukin-6: does the latter participate in the symptomatology of the steroid withdrawal syndrome and adrenal insufficiency?* J Clin Endocrinol Metab 81 (6): 2303-2306.

Perl TM, Dvorak L, Hwang T, Wenzel RP (1995): *Long-term survival and function after suspected gram-negative sepsis.* JAMA 27 (4): 338-345.

Peters K, Unger RE, Brunner J and Kirkpatrick CJ (2003): *Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis.* Cardiovasc Res 60 (1): 49 – 57.

Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, Alegre M, Kahn RJ, Dupont E (1993): *Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality.* Chest 103 (2): 556-575.

Pirenne J, Pirenne-Noizat F, de Groote D, Vrindts Y, Lopez M, Gathy R, Jacquet N, Meurisse, Honore P, Franchimont P (1994): *Cytokines and organ transplantation - a review*. Nucl Med Biol 21 (3): 545-555.

Quartin AA, Schein RM, Kett DH, Peduzzi PN (1997): *Magnitude and duration of the effect of sepsis on survival. Department of Veterans Affairs Systemic Sepsis Cooperative Studies Group*. JAMA 277 (13): 1058-1063.

Ray KP, Farrow S, Daly M, Talabot F und Searle N (1997): *Induction of the E-selectin promoter by interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha, and inhibition by glucocorticoids*. Biochem J 328: 707-715.

Redl H, Dinges HP, Buurmann WA, van der Linden CL, Pober JS, Cotran RS and Schlag G (1991): *Expression of endothelial leucocyte adhesion molecule-1 in septic but not traumatic/hypovolemic shock in the baboon*. Am J Pathol 139 (2): 461-466.

Reichlin S (1993): *Neuroendocrine-immune interactions*. N Engl J Med 329 (17): 1246–1252.

Reinhart K, Menges T, Garlund B, Harm Zwaveling J, Smithes M, Vincent JL, Tellado JM, Salgado-Remigio A, Zimlichman R, Withington S, Tschaikowsky K, Brase R, Damas P, Kupper H, Kempeni J, Eiselstein J, Kaul M (2001): *Randomized, placebo-controlled trial of the anti-tumor necrosis factor antibody fragment afelimomab in hyperinflammatory response during severe sepsis: The RAMSES Study*. Crit Care Med 29 (4): 765-769.

Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F, Meisner M (2002): *Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis*. Crit Care Med 30 (5 Suppl): S302-S312.

Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone H-G, et al. (2010): *Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis. Erste Revision der S2k-Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI)*. Anaesthesist 59: 347-370.

Rhen T and Cidlowski JA (2005): *Antiinflammatory action of glucocorticoids-new mechanisms for old drugs*. N Engl J Med 353 (16): 1711-1723

Remick DG (2005): *Interleukin-8*. Crit Care Med 33(12 Suppl): S466-467.

Remick DG (2007): *Pathophysiology of sepsis*. Am J Pathol 170 (5): 1435-1444.

Rittirsch D, Hoesel LM, Ward PA (2007): *The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis*. J Leukoc Biol 81(1): 137-143.

Rodriguez-Gaspar M, Santolaria F, Jarque-Lopez A, Gonzalez-Reimers E, Milena A, de la Vega M J, Rodriguez-Rodriguez E, Gomez-Sirvent JL (2001): *Prognostic value of cytokines in SIRS general medical patients*. Cytokine 15 (4): 232-236.

Rünegeler P, Lyß G, Merfort I (1999): *Transkriptionsfaktor NF-kB: Zentraler Mediator im Immunsystem und Entzündungsgeschehen*. Pharm. Ztg. 144, Nr. 2: 100-108.

Rubulotta FM, Ramsay G, Parker MM, Dellinger RP, Levy MM, Poeze M, Surviving Sepsis Campaign Steering Committee; European Society of Intensive Care Medicine; Society of Critical Care Medicine (2009): *An international survey: Public awareness and perception of sepsis*. Crit Care Med 37 (1): 167-170.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU (2000): *How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative Actions*. Endocrine Reviews 21 (1): 55-89.

Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS Jr (1995): *Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids*. Science 270 (5234): 283-286.

Schönbeck U, Brandt E, Petersen F, Flad HD, Loppnow H (1995): *IL-8 specifically binds to endothelial but not to smooth muscle cells*. J Immunol 154 (5): 2375-2383.

Schwartz MD, Moore EE, Moore FA, Shenkar R, Moine P, Haenel JB, Abraham E (1996): *Nuclear factor-kappa B is activated in alveolar macrophages from patients with acute respiratory distress syndrome*. Crit Care Med 24 (8): 1285–1292.

Senn S (1993): *Cross-over trials in clinical research. Statistics in practice*. J Wiley & Sons Ltd., The Atrium . Southern Gate, Chichester, England.

Sha WC, Liou HC, Tuomanen EI, Baltimore D (1995): *Targeted disruption of the p50 subunit of NF-kappa B leads to multifocal defects in immune responses*. Cell 80 (2): 321–330.

Simoncini T, Maffei S, Basta G, Barsacchi G, Genazzani AR, Liao JK, De Caterina R (2000): *Estrogens and glucocorticoids inhibit endothelial vascular cell adhesion molecule-1 expression by different transcriptional mechanisms*. Circ Res 87(1): 19-25.

Siroux V, De Backer D, Yalavatti G, Mélot C, Gervy C, Mockel J, Vincent JL (2005): *Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: Comparison of low-dose and conventional corticotrophin tests*. Crit Care Med 33 (11): 2479-2486.

- Slotman GJ, Fisher CJ Jr., Bone RC, Clemmer TP, Metz CA** (1993): *Detrimental effects of high-dose methylprednisolone sodium succinate on serum concentrations of hepatic and renal function indicators in severe sepsis and septic shock. The Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group.* Crit Care Med 21 (2): 191-195.
- Spittler A, Razenberger M, Kupper H, Kaul M, Hackl W, Boltz-Nitulescu G, Fugger R, Roth E** (2000): *Relationship between interleukin-6 plasma concentration in patients with sepsis, monocyte phenotype, monocyte phagocytic properties, and cytokine production.* Clin Infect Dis 31 (6): 1338-1342.
- Springer TA** (1990): *Adhesion receptors of the immune system.* Nature 346: 425-434.
- Sprung C, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H, Laterre PF, Reinhart K, Cuthbertson BH, Payen D, Briegel J for the CORTICUS Study Group** (2008): *Hydrocortisone therapy for patients with septic shock.* N Engl J Med 358 (2): 111-124.
- Standiford T, Kunkel SL, Greenberger MJ, Laichalk LL, Strieter R** (1996): *Expression and regulation of chemokines in bacterial pneumonia.* J Leukoc Biol 59 (1): 24-28.
- Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK** (2003): *IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans.* Am J Physiol Endocrinol Metab 285: E433-E437.
- Strieter RM, Polverini PJ, Kunkel SL, Arenberg DA, Burdick MD, Kasper J, Dzuiba J, Van Damme J, Walz A et al.** (1995): *The functional role of the ELR motif in CXC chemokine-mediated angiogenesis.* J Biol Chem 270 (45): 27348-27357.
- Sun SC, Ganchi PA, Ballard DW, Greene WC** (1993): *NF-kappaB controls expression of inhibitor I kappa B alpha: evidence for an inducible autoregulatory pathway.* Science 259 (5103): 1912-1915.
- Tang BMP, Craig JC, Eslick GD, Seppelt I, McLean AS** (2009): *Use of corticosteroids in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: A systematic review and meta-analysis.* Crit Care Med 37(5): 1594-1603.
- Takala A, Jousela I, Jansson SE, Olkkola KT, Takkunen O, Orpana A, Karonen SL, Repo H** (1999): *Markers of systemic inflammation predicting organ failure in community-acquired septic shock.* Clin Sci 97 (5): 529-538.
- Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW** (1994): *Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55.* Blood 83 (1): 113-118.

Vanden Berghe W, Francesconi E, De Bosscher K, Resche-Rigon M, Haegeman G (1999): *Dissociated glucocorticoids with anti-inflammatory potential repress interleukin-6 gene expression by a nuclear factor-kappaB-dependent mechanism.* Mol Pharmacol 56(4): 797-806.

van den Brink HR, Van Wijk MJ, Geertzen RG, Bijlsma JW (1994): *Influence of corticosteroid pulse therapy on the serum levels of soluble interleukin 2 receptor, interleukin 6 and interleukin 8 in patients with rheumatoid arthritis.* J Rheumatol 21 (3): 430-434.

van der Poll T, Levi M, Hack CE, ten Cate H, van Deventer SJ, Eerenberg AJ, de Groot ER, Jansen J, Gallati H, Büller HR et al. (1994): *Elimination of interleukin 6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees.* J Exp Med 179 (4): 1253-1259.

The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperation Study Group (VASSCSG) (1987): *Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis.* N Engl J Med 317 (11): 659-665.

Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG (1996): *The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine.* Intensive Care Med 22 (7): 707-710.

Vincent JL, Sun Q, Dubois MJ (2002): *Clinical trials of immunomodulatory therapies in severe sepsis and septic shock.* Clin Infect Dis 34 (8): 1084-93.

Walmrath D, Grimminger F, Seeger W (2001): *Schwere Sepsis - neue Therapieverfahren.* Internist 42 (12): 1619-1620.

Weigand MA, Bardenheuer HJ, Böttiger BW (2003): *Klinisches Management bei Patienten mit Sepsis.* Der Anaesthesist 52 (1): 3-22

Weitzman S and Berger S (1974): *Clinical trial design studies of corticosteroids for bacterial infections.* Ann Intern Med 81 (1): 36-42.

Werdan K, Pilz G, Bujdoso O, Fraunberger P, Neeser G, Schmieder RE, Viell B, Marget W, Seewald M, Walger P, Stuttmann R, Speichermann N, Peckelsen C, Kurowski V, Osterhues HH, Verner L, Neumann R, Müller-Werdan U; for the Score-Based Immunoglobulin Therapy of Sepsis (SBITS) Study Group (2007): *Score-based immunoglobulin G therapy of patients with sepsis: The SBITS study.* Crit Care Med 35(12): 2693-2701.

Xiao H, Siddiqui J, Remick DG (2006): *Mechanisms of mortality in early and late sepsis*. Infect Immun 74(9): 5227–5235.

Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK (1998): *IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses*. J Clin Invest 101 (2): 311-320.

Yasukawa H, Ohishi H, Mori M, Murakami T, Chinen D, Aki T, Hanada K, Takeda S, Akira M, Hoshijima M, Hirano T, Chieu KR, Yoshimura A (2003): *IL-6 induces an antiinflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages*. Nat Immunol 4 (6): 551-556.

Ye X, Ding J, Zhou X, Chen G, Liu SF (2008): *Divergent roles of endothelial NF- κ B in multiple organ injury and bacterial clearance in mouse models of sepsis*. J Exp Med 205 (6):1303-1215.

Yende S, D'Angelo G, Kellum JA, Weissfeld L, Fine J, Welch RD, Kong L, Carter M, Angus DC; GenIMS Investigators (2008): *Inflammatory markers at hospital discharge predict subsequent mortality after pneumonia and sepsis*. Am J Respir Crit Care Med 177: 1242-1247

Zingarelli B, Sheehan M, Wong HR (2003): *Nuclear factor-kappaB as a therapeutic target in critical care medicine*. Crit Care Med 31: (1Suppl): S105-S111.

8 Anhang

8.1 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Didier Keh für die freundliche Überlassung des interessanten Themas, für die umfangreiche, fachliche Unterstützung sowie für die konstruktive Durchsicht der Arbeit. Seine Beharrlichkeit und Geduld haben wesentlich zur Fertigstellung der Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. med. Herwig Gerlach danke ich herzlich für die umfangreiche Unterstützung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie.

Bei dem Pflegepersonal und den ärztlichen Mitarbeitern der operativen Intensivstation bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung.

Danken möchte ich auch Frau Pettersson, die mit ihrer stets hilfsbereiten, aufmunternden Art wesentlich zu dem guten Arbeitsklima in unserem Labor beigetragen hat.

Herrn Dr. med. Olaf Ahlers danke ich besonders für seine Hilfestellung bezüglich statistischer Fragen.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern, die mich immer liebevoll und selbstlos unterstützt und in schwierigen Zeiten umsorgt haben. Ohne ihre tatkräftige Hilfe hätte ich diese Arbeit nicht fertigstellen können.

Meinem Mann, Fabio danke ich für seine Geduld, seine moralische Unterstützung und seinen unerschütterlichen Glauben an mich.

8.2 Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

8.3 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Christina Maxia, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Effekte von niedrig dosiertem Hydrocortison auf proinflammatorische Mediatoren bei Patienten im septischen Schock - Ergebnisse einer prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten, monozentrischen Cross-over Studie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, 21.09.2010

Christina Maxia

8.4 Publikation

Keh D, Boehnke T, Weber-Carstens S, Schulz C, Ahlers O, Bercker S, Volk HD, Doecke WD, Falke KJ, Gerlach H (2003): *Immunologic and hemodynamic effects of "low-dose" hydrocortisone in septic shock: a double-blind, randomized, placebo-controlled, crossover study.* Am J Respir Crit Care Med 167 (4): 512-520.

Die Publikation erhielt 2003 den Roger-Bone-Preis verliehen durch die Deutsche Sepsis Gesellschaft e.V.