

5 Diskussion

5.1 Das Tiermodell

5.1.1 Auswahl der Tierart

In den letzten Jahren hat der Einsatz von Kleintieren in experimentellen Tiermodellen deutlich zugenommen (*Piper et al., 1996*). Experimente mit Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen zeigen in finanzieller, personeller und zeitlicher Hinsicht große Vorteile im Vergleich zu den Großtieren. Auch bedarf es für ihre Haltung nur wenig Platz. Die Anschaffung und Haltung der Kleintiere ist fast überall unproblematisch. Es besteht auch die Möglichkeit viele Tiere des gleichen Geschlechts, des gleichen Stammes und des gleichen Alters zu erhalten. Eine solche Population grenzt die biologischen Variablen ein und ermöglicht eine für die Statistik wichtige Standardisierung. Entscheidend für die Tierausswahl ist, inwieweit die gewonnenen Ergebnisse der Erforschung der physiologischen und pathologischen Vorgänge beim Menschen wirklich dienen können.

Im Vergleich zur Ratte oder zum Kaninchen ist das Monitoring beim Schwein einfacher. Beispielsweise können am Schwein klinisch relevante Parameter, wie arterieller Mitteldruck, Herzzeitvolumen etc., problemlos gemessen werden. Auch ist die Blutentnahme für diagnostische Zwecke in größerem Umfang möglich, ohne dass die Hämodynamik entscheidend beeinflusst wird.

Weiterhin sind Schweine relativ kostengünstig und aufgrund vieler Schweinezuchtbetriebe deutschlandweit relativ einfach zu beziehen. Zusätzlich ist die Verfügbarkeit einer großen Anzahl gleichaltriger Tiere über einen bestimmten Zeitraum gewährleistet.

Beim Schwein sind die Nieren, das kardiovaskuläre System, die gastrointestinale Physiologie und seine Anatomie denen des Menschen sehr ähnlich, sodass diese Tierart ein sehr geeignetes Versuchstier darstellt (*Deitch, 1998*). Diese Gegebenheiten sprechen für den Einsatz des Schweines in unserem Modell.

In den Sepsismodellen existieren zwischen den Tierarten in Bezug auf die pathologischen Vorgänge große Unterschiede. Zum Beispiel reagieren Nagetiere auf die Zäkumligation und -punktion mit hohem Gehalt an Bakterien, Zytokinen und Endotoxinen im Blut. Die Letalität beläuft sich auf 50 % bis 90 % innerhalb von 36 Stunden. Im Vergleich ruft diese Manipulation bei Schweinen und Schafen nur eine milde Entzündungsantwort hervor, welche

selbst nach 8 Tagen noch nicht tödlich verläuft. Bei septischen Menschen ist der Endotoxinspiegel im Blut recht niedrig, und die letale Dosis befindet sich bereits im Mikrogrammbereich. Erst Endotoxindosen von mehreren Milligramm verursachen einen endotoxischen Schock bei Tieren (*Wichterman et al., 1980*).

5.1.2 Die „two-hit“ Modelle

Bei den meisten in der Literatur beschriebenen „two-hit“ Modellen stellt ein hämorrhagischer Schock den „first-hit“ dar, dem eine Infektion oder Sepsis als „second-hit“ folgt.

In den Kapiteln 2.2.1 und 2.2.2 sind experimentelle Untersuchungen des hämorrhagischen Schadens und der Sepsis aus monokausalen („one-hit“) Modellen eingehend beschrieben worden.

Im Folgenden soll das vorliegende „two-hit“ Modell anderen Modellen mit gleichem oder unterschiedlichem „first -“ bzw. „second-hit“ gegenübergestellt werden.

5.1.2.1 „First-hit“: Trauma und hämorrhagischer Schock

Fabian et al. (1994, 1995) führten in ihrem Modell am Schwein nach einem Weichteiltrauma am Oberschenkel (10 kg Stahlstange aus 1 m Höhe) einen 35 %igem Blutverlust durch. Die Tiere wachten danach wieder aus der Narkose auf. *Gavin et al. (1994), Turnbull et al. (1995)* und wir verzichteten auf ein Weichteiltrauma. *Gavin et al.* führten einen 40 bis 50 %igen Blutverlust innerhalb von einer Stunde durch. Dieser Zustand blieb über eine weitere Stunde bestehen. *Turnbull et al. (1995)* hielten in ihrem Modell einen mittleren arteriellen Druck (MAP) von 40 mmHg über 4 Stunden aufrecht. In der vorliegenden Studie setzte man sich einen mittleren arteriellen Druck (MAP) von 40 bis 45 mmHg über 45 min als Ziel.

Im Vergleich zu den Modellen ohne Weichteiltrauma führten *Fabian et al. (1994, 1995)* einen etwas milderen hämorrhagischen Schock durch. Dies wurde allerdings durch das vorausgegangene Trauma kompensiert.

Unter klinischen Bedingungen geht dem hämorrhagischen Schock in vielen Fällen ein bisweilen erhebliches Trauma oder Polytrauma voraus.

Wir verzichteten in unserem Modell auf das Setzen eines initialen Traumas, um insbesondere die Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks besser erfassen zu können.

Grotz et al. (1995) führten in ihrem „two-hit“ Modell am Schaf zusätzlich zum hämorrhagischen Schock eine Marknagelung am nicht frakturierten Femur durch.

In den letzten Jahren wurde in der Literatur das Modell mit der unkontrollierten Blutung (*Doucet und Hall, 1999; Novak et al., 1999; Alspaugh et al., 2000; Manning et al., 2000*) vermehrt beschrieben. Die Blutungen werden u.a. durch Inzisionen der Leber oder Milz verursacht.

Bei dem „uncontrolled-hemorrhage“ Modell stellt sich jedoch das Problem der Standardisierung. Der Blutverlust ist variabel und zudem nur schwer oder unpräzise zu bestimmen.

Trotz der Nähe der klinischen Situation ist das „uncontrolled-hemorrhage“ Modell aufgrund der mangelnden Standardisierungsmöglichkeit kritisch zu betrachten.

5.1.2.2 Stadium der Reperfusion

Fabian et al. (1994, 1995) hielten die Schockphase nach Blutentzug über eine Stunde aufrecht. Darauf folgte ein schnelle Retransfusion des entzogenen Blutes und anschließend ein weiterer Flüssigkeitsersatz in Form von Ringer-Lösung bis zum Erreichen der hämodynamischen Basalwerte. Das Volumen der Elektrolytlösung betrug das 2 bis 3-fache Volumen des Blutverlustes. *Gavin et al. (1994)* substituierten das Schwein mit einem initialen Flüssigkeitsbolus von 32 ml/kg KGW, und anschließend folgte die Retransfusion der Hälfte des entzogenen Blutes. Eine andere Versuchsgruppe erhielt innerhalb einer Stunde das dreifache Volumen des Blutverlustes in Form von Flüssigkeit ohne Bluttransfusion.

In unserem Modell erfolgte nach 45-minütiger Schockphase der Flüssigkeitsersatz in Form von Ringer-Lösung und HAES 6 % (Verhältnis 2:1, zweifaches Volumen des entzogenen Blutes).

Die Bluttransfusion schließt sich erst an die Flüssigkeitstherapie an. Kritisch zu betrachten ist die infundierte Flüssigkeitsmenge in Bezug auf die Zeitspanne. Es ist zu beachten, dass durch die Reperfusion von ischämischem Gewebe und Organen weitere Schäden verursacht werden (s. Kapitel 2.2.1; Abb. 2.2.1d).

Ein aggressiver Flüssigkeitsersatz führt zur Hämodilution, wodurch der Hämatokrit erniedrigt wird. Die Sepsis ist mit dem mikrovaskulärem „Sludging“ verbunden, welches durch die Hämodilution und die geringere Blutviskosität teilweise unterdrückt würde. Durch Kontrolle des Hämatokrits vor der Sepsisinduktion kann dies vermieden werden.

Turnbull et al. (1995) führten am Ende der Schockphase nur eine Blutretrotransfusion durch. Das entspricht nicht den klinischen Gegebenheiten.

In allen Modellen wurde bei der Bluttransfusion dem Tier das zuvor entzogene Blut zumindest teilweise zurückgegeben. Im hämorrhagischen Schock werden vermehrt Zytokine freigesetzt, die beim Blutentzug in den sterilen Blutbeuteln gewonnen und später retransfundiert werden. In der Klinik erhalten Patienten Fremdblutkonserven.

5.1.2.3 „Second-hit“: Sepsis

In Tabelle (Tab.5.1.2a) werden die Vor- und Nachteile verschiedener Infektions- und Sepsismodelle aufgezeigt.

Die Auswahl des Bakteriums spielt im Sepsismodell eine wichtige Rolle. In manchen Tiermodellen wurden Stämme von *E. coli* (u.a. O86, O111) angewandt, die teilweise serumsensitiv und avirulent sind und sich *in vivo* nicht vermehren. Bei Anwendung dieser Stämme wurde eine entsprechend hohe Dosis gewählt, um eine septische Antwort auszulösen.

Durch hohe Dosen (10^9 bis 10^{11} CFU/kg KGW) lebender Bakterien wird eher eine Intoxikation als eine systemische Infektion verursacht. Bei Intoxikationen durch hohe Endotoxingaben sind hohe Zytokinspiegel im Plasma nachweisbar. In solchen Modellen erweist sich bereits die Zytokinblockade als effektive Therapie (*Griffin, 1998; Herbertson et al., 1995*).

Zur realistischen Nachstellung der klinischen Gegebenheiten ist die Induktion der bakteriellen Sepsis durch eine niedrige Dosis eines pathogenen Keimes wichtig.

Endotoxine sind ein wichtiger Auslöser der Sepsis, weshalb sie oft in Sepsismodellen eingesetzt wurden. Beim Menschen lösen sie viele Krankheitsmerkmale aus, die auch während der Sepsis auftreten. In der Humanmedizin korreliert der Anstieg des Endotoxingehaltes im Serum mit der Sepsisentwicklung, dem Schweregrad und der Mortalität der Erkrankung (*Wichterman et al., 1980*).

Viele Tierarten reagieren auf die Endotoxingabe nicht so sensibel wie der Mensch, sodass es in hohen Dosen verabreicht werden kann. Bei Kaninchen bewirkt eine Dosis von 5 mg LPS/kg KGW einen Abfall des Herzzeitvolumens und Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes. Bei einer Dosis von nur 1 bis 3 μ g LPS/kg KGW zeigen die Tiere eine hyperdynamische Reaktion, die auch beim septischen Patienten beobachtet wird. Das gleiche gilt für Ratten (*Fink und Heard, 1990*).

Endotoxine werden nur bei einer Infektion mit gramnegativen Bakterien freigesetzt, sodass ihr Einsatz im Tiermodell nur die Sepsis aufgrund einer Infektion mit diesen Keimen widerspiegelt. Im Endotoxikosemodell wird die Glukoneogenese unterdrückt, und es entsteht

eine Hypoglykämie. In der Sepsis geschieht das Gegenteil. Probanden entwickelten nach mehrmaliger LPS-Infusion eine Toleranz gegenüber dem Endotoxin, die nach wiederholter Verabreichung von gramnegativen Keimen nicht beobachtet werden konnte (*Fink und Heard, 1990*). So ist in einem Tiermodell der Einsatz von lebenden, klinisch relevanten Bakterien der Verabreichung von Endotoxinen vorzuziehen.

Im Vergleich zur Bakteriengabe erlaubt die LPS-Gabe eine bessere Standardisierung. Die verabreichte Dosis ist genauer zu erfassen und bleibt auch im Organismus konstant, während sich die Bakterien durch Teilung vermehren.

Tab. 5.1.2a **Infektions- und Sepsismodelle im Vergleich**

Peritonitismodell	Bakterienmodell	Endotoxinmodell
<p>Vorteile:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Erfolgreiche Anwendung in Versuchen mit kleinen und großen Tierarten 2. Initiale hyperdynamische kardiovaskuläre Antwort 3. Bakteriämie und Symptome der systemischen Sepsis 4. Zytokinantwort im Serum vergleichbar mit Antwort bei septischen Patienten in Klinik <p>Nachteile:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Anwendung des Fibrinklumpens beim Fäkal-Peritonitis-Modell nicht realitätsnah 2. Modell gibt klinischen Zustand nach einer inkompletten Behandlung einer Peritonitis wieder 3. Hohe und frühzeitige Letalität 4. Fehlende Standardisierung des Keimspektrums <p>⇒ Modelle v.a. für vorklinische Studien der Medikamentenerprobung zur Sepsistherapie sinnvoll</p>	<p>Vorteile:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Geringere Bakterienmenge über längeren Zeitraum: hyperdynamische, zirkulatorische Antwort 2. Auswahl eines bestimmten Bakteriums erlaubt gezielte Erforschung der Auswirkungen dieses speziellen Keimes und seiner Therapie <p>Nachteile:</p> <p>Die folgenden Nachteile entstehen, wenn die Gabe der Bakterien in hoher Dosis (10^9 bis 10^{10} CFU/kg KGW) in kurzer Zeit (1-4h) erfolgt:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hohe und kurze Bolusgabe entspricht nicht den klinischen Gegebenheiten 2. Deutlicher und schneller Abfall kardiovaskulärer Funktion und Herzzeitvolumens, schneller Tod der Tiere → hypodynamische Antwort 3. Bei hoher Bakteriendosis Zytokinantwort im Serum sehr kurz und ausgeprägter als in Klinik 4. Anwendung antiseptischer Mittel im Modell erfolgreich, in Klinik wirkungslos <p>⇒ Modell nur sinnvoll, wenn Bakteriengabe in angemessener Dosis und über längeren Zeitraum gegeben wird</p>	<p>Vorteile:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Einfache Applikation der Endotoxine 2. Wichtiger Auslöser der gram-neg. septischen Antwort 3. Geringe Dosen (4ng/kg KGW) verursachen beim Menschen hämodynamische, hämatologische und metabolische Veränderungen <p>Nachteile:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hohe Endotoxingaben verursachen hypodynamische Antwort 2. Dosis und biologische Aktivität der einzelnen Endotoxine ist kritischer Faktor 3. Endotoxinfreisetzung nur bei Infektion mit gram-negativen Bakterien 4. Cortisongabe nur im Tiermodell und nicht in der Klinik wirksam <p>⇒ Modelldurchführung sehr einfach, allerdings sollte auf klinirelevante Endotoxindosis, -art und Applikationsdauer geachtet werden.</p>

Patienten im septischen Schock werden große Mengen an Flüssigkeit infundiert. Zusätzlich findet eine Behandlung mit vasoaktiven Medikamenten statt. So sind die zu beobachtenden zirkulatorischen Gegebenheiten beim Menschen nicht durch das septische Geschehen alleine bedingt. Die Hämodynamik wird vor allem durch die teilweise aggressive Flüssigkeitssubstitution beeinflusst.

So sind wiederum die Endotoxikosemodelle, bei welchen den Tieren große Flüssigkeitsmengen infundiert werden, recht klinikrelevant (*Fink und Heard, 1990*).

Die Sepsisinduktion in den „two-hit“ Modellen mit hämorrhagischem Schock erfolgte überwiegend durch die LPS-Gabe von *E. coli* (*Fabian et al., 1994 und 1995; Gavin et al., 1994; Turnbull et al., 1995*). Im vorliegenden Experiment wurde die Sepsis durch die Gabe von *Pseudomonas aeruginosa* (Stamm 1) induziert. Das entspricht auch am ehesten den klinischen Gegebenheiten. *Pseudomonas aeruginosa* gehört zu den typischen Krankenhauskeimen, an denen immungeschwächte Patienten erkranken.

Walsh et al. (1991), Carey et al. (1992) und Windsor et al. (1994) verabreichten Schweinen über eine Stunde eine Dosis von $4,5 \times 10^8$ CFU/kg KGW/h an *Pseudomonas aeruginosa*. *Haberstroh et al. (1998)* hingegen infundierten Schweinen über 120 Stunden *Pseudomonas aeruginosa* in einer Dosis von 8×10^7 CFU/kg KGW/h. Allerdings erstellten alle 4 Autoren ein reines Sepsismodell.

In unserem „two-hit“ Modell wurde die infundierte Menge an *Pseudomonas aeruginosa* reduziert. Die verabreichte Dosis an *Pseudomonaden* lag während der ersten 24 Stunden bei $1,6 \times 10^6$ CFU/kg KGW/h und wurde in den folgenden 24 Stunden um eine Zehnerpotenz reduziert. Danach wurde die Keimgabe beendet.

Ob ein Patient an einer Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* erkrankt, ist von seinem Immunstatus abhängig. Bei immungeschwächten Menschen können schon geringe Bakterienmengen eine Infektion auslösen. Die zunächst recht hohe Keimdosis über einen Tag gefolgt von der Dosisreduzierung um eine Zehnerpotenz für weitere 24 Stunden in unserem Modell, gibt die klinische Realität gut wieder. Eine Infusion der Keime über einen kürzeren Zeitraum, z.B. nur über eine Stunde, erscheint unrealistisch. Oft weisen die betroffenen Patienten einen Infektionsherd auf, der kontinuierlich die Bakterien in den Körperkreislauf streut. Wie schnell nun dieser Herd eliminiert werden kann, ist individuell sehr unterschiedlich und kann in einem Tiermodell nicht verallgemeinert zusammengefasst werden.

In unserem Modell zeigten die Tiere die typischen Symptome einer Sepsis, sodass uns die im Vergleich mit anderen Modellen niedrigere Keimdosis trotzdem als ausreichend erschien.

Auch der Infektionsweg des Keimes variiert von Patient zu Patient. Er kann über Dauerkatheter bzw. über Wunden als Eintrittspforte, wie auch bei Intensivpatienten über das Beatmungsgerät erfolgen.

Die in dem vorliegenden Modell gewählte intravenöse Bakterieninfusion über einen Zeitraum von 48 Stunden mit diskontinuierlich abnehmender Keimdosierung sollte einen systemisch streuenden Bakterienherd simulieren.

5.1.2.4 Abstand zwischen den beiden Schädigungen

In den Tiermodellen variierten die Zeitabstände zwischen hämorrhagischem Schock und der Sepsisinduktion. Die Spanne belief sich von einem Tag (unser Modell) bis zu 4 Tagen (*Gavin et al., 1994*). Der genaue Zeitpunkt, an dem sich ein Schockpatient mit einem Bakterium infiziert, ist in der Klinik schwer zu erfassen. Auch der zeitliche Ausbruch der Sepsis ist von Fall zu Fall verschieden. Unterschiedliche Faktoren spielen hierbei eine Rolle. Dazu zählen u.a. die Pathogenität des Keimes, die Immunkompetenz des Patienten, die Verweildauer der Katheter am Patienten, seine antibiotische Abdeckung etc.. *Gavin et al. (1994)* legten die Zeitspanne zwischen hämorrhagischem Schock und Sepsis willkürlich fest. Allerdings orientierten sie sich an der klinischen Beobachtung, dass bei traumatisierten Intensivpatienten Anzeichen einer Sepsis erst ein paar Tage später auftreten.

Es stellt sich die Frage, wieviele Tage die Auswirkungen des Schocks das nachfolgende Krankheitsgeschehen beeinflussen.

Gavin et al. (1994) vermuteten, dass die Symptome infolge der LPS-Gabe in Abhängigkeit von dem zeitlichen Abstand zum hämorrhagischen Schock potenziert oder abgemildert würden. In ihrem Modell stellten sie keine Unterschiede beim mittleren arteriellen und pulmonalarteriellen Blutdruck während der LPS-Gabe zwischen der Gruppe, welcher zusätzlich 4 Tage zuvor ein hämorrhagischer Schock unterzogen wurde, und der Kontrollgruppe fest. In unserem Modell ist beim arteriellen Mitteldruck während und nach der Keimgabe ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu verzeichnen.

Im Vergleich mit unserem Modellaufbau und unseren Ergebnissen scheinen die 4 Tage zwischen hämorrhagischem Schock und Sepsisinduktion bei den Schweinen eine Regeneration vom Schockgeschehen zu bewirken. Allerdings ist diese Schlussfolgerung kritisch anzusehen, denn im Gegensatz zu unserem Modell erfolgte bei *Gavin et al. (1994)* die Sepsisinduktion durch die Gabe von LPS und nicht durch *Pseudomonas aeruginosa*.

Turnbull et al. (1995) wählten zwischen hämorrhagischem Schock und Sepsis eine Zeitspanne von 3 Tagen. Sie setzten sich als Ziel, bei beiden Gruppen (Gruppe mit zuvor durchlittenem Schock und Kontrollgruppe) vor Sepsisinduktion gleiche Basalwerte zu messen, welches ihnen durch diese Zeitspanne auch gelang. Bei unserem Modell zeigt die Schockgruppe einen Tag nach dem hämorrhagischen Schock im Vergleich zur Kontrollgruppe, welcher bis zu diesem Zeitpunkt noch keine Schädigung widerfuhr, in Bezug auf den MAP und Herzfrequenz keine signifikanten Differenzen mehr. Der Abstand von einem Tag nach dem hämorrhagischen Schock reicht folglich, um wieder Basalwerte dieser Parameter zu gewinnen.

Allerdings sind bei der Schockgruppe im Vergleich zu der Kontrollgruppe die Körpertemperatur vor Bakteriengabebeginn signifikant erniedrigt und der APACHE-Score deutlich erhöht. *Turnbull et al. (1995)* erfassten in ihrem Modell diese Parameter nicht.

5.1.2.5 Reihenfolge der beiden Schädigungen

„Two-hit“ Modelle, bei denen zunächst der „first-hit“ in Form einer Sepsis erfolgte und der hämorrhagische Schock anschließend stattfand, wurden von *Melton et al. (1999)*, *Lyden et al. (1998)* und *Patton et al. (1998)* beschrieben. Bei allen drei Modellen wurde die polymikrobielle Infektion durch eine Zäkumligation mit anschließender Inzision (*Lyden et al., 1998; Patton et al., 1998*) bzw. Punktion (*Melton et al., 1999*) verursacht.

So wurde folgende Situation nachgestellt: Ein Patient erleidet eine Bauchtrauma, welches eine perforierende Darmverletzung zur Folge hat. Aufgrund dieser und eventuell noch weiteren Schädigungen kommt es zusätzlich zu starken Blutungen und nachfolgend zum hämorrhagischen Schock. So ist es bei diesem Modellaufbau wichtig, dass der Blutverlust unmittelbar nach der perforierenden Verletzung stattfindet.

Patton et al. (1998) und *Lyden et al. (1998)* führten beide direkt anschließend einen 35 %igen Blutverlust durch. Bei *Melton et al. (1999)*, welche das Zäkum nur punktierten, wurde den Schweinen anschließend 45 % bis 47 % ihres Blutvolumens entzogen.

Mit unserem Modell wurde angestrebt, die Situation eines Menschen mit großem Blutverlust darzustellen, welcher später zusätzlich an einer bakteriellen Sepsis erkrankt. Somit erklärt sich auch die Reihenfolge der Schädigungen (1. hämorrhagischer Schock und 2. bakterielle Sepsis) unseres Modells.

5.1.2.6 Versuchsdauer

Bei den bisher vorgestellten „two-hit“ Modellen erstreckten sich die jeweiligen Beobachtungszeiten von 2 Tagen (*Melton et al., 1999*) bis zu 7 Tagen (*Lyden et al., 1998*). Zur genauen Erfassung des gesamten Krankheitsverlaufes ist eine möglichst lange Versuchsdauer notwendig.

Um so länger ein Tierversuch dauert, desto größer ist der personelle, finanzielle und zeitliche Aufwand. Oft werden den Tieren zur Erfassung der Hämodynamik, zur Blutentnahme etc. Dauerkatheter angelegt, welche im Laufe der Zeit eine zusätzliche Infektionsquelle darstellen. Das gilt vor allem bei Schweinen, die sich begrenzt im Stall bewegen können. Auch kommt es im Laufe des Versuches aufgrund der regelmäßigen Blutentnahmen zum Absinken des Hämatokrits, welches die Hämodynamik und Hämatologie beeinflussen kann.

Grotz et al. (1995) erstellten ein standardisiertes Großtiermodell für ein Multiorganversagen nach schwerem Trauma. Die Versuchsdauer erstreckte sich über 10 Tage. Dies diente vor allem zur Nachstellung und folglich Erfassung der Schädigung des polytraumatisierten Patienten in der Frühphase (erste 5 Tage), aus der sich im weiteren Verlauf ein irreversibles, sich verselbständigendes Versagen mehrerer Organe in der Spätphase (ab Tag 6) entwickelte. Die Versuchsdauer ist immer von der Zielsetzung der Modellerstellung abhängig.

Mit Hilfe unseres Modells soll in einer nachfolgenden Untersuchung die Wirkung eines passiven Impfstoffes gegen *Pseudomonas aeruginosa* untersucht werden. Ein Beobachtungszeitraum von 96 Stunden nach Beginn der Bakterieninfusion erscheint für die Beurteilung der Protektivität des Impfstoffes ausreichend zu sein.

Nach Ablauf der Versuchsdauer zeigten weder Tiere der Kontroll- noch der Schockgruppe Anzeichen einer vollständigen Regeneration; die Basalwerte der untersuchten Parameter wurden größtenteils nicht mehr erreicht. Vor allem im Blut der Tiere mit hämorrhagischem Schock ist ein Anstieg der Bakterienanzahl in Phase III zu verzeichnen (s. Graphik 4.5.1).

Allerdings ist für die anschließende Impfstoffprobung die ausbleibende Regeneration der Tiere wünschenswert, denn so ist eine bessere Beurteilung des Impfstoffes möglich.

5.1.2.7 Zusätzliche Therapien

Bei vielen „two-hit“ Modellen wurde nach dem hämorrhagischen Schock ein großes Flüssigkeitsvolumen infundiert. Das Ausmaß des Reperfusionsschadens muss in diesem Zusammenhang kritisch diskutiert werden (s. Kapitel 2.2.1).

In vielen Tiermodellen wurden vor Beginn des hämorrhagischen Schocks die Tiere heparinisiert, um die Thrombenbildung an den Kathetern zu verhindern und so ihre Durchlässigkeit zu garantieren. Das entspricht nicht der klinischen Realität. Die Gabe von Heparin im Tiermodell ist daher kritisch zu sehen.

In einer Studie von *Rana et al. (1992)* wurde der Einfluss des Heparins an einem „fixed-pressure“ Modell untersucht. Eine protektive Wirkung des Heparins auf das Gefäßsystem wurde anhand der Untersuchung der Mikrozirkulation in der Leber, in der Milz und in der Niere festgestellt. Seine Durchlässigkeit wurde erhalten. Es stellt sich die Frage, ob bei nicht mit Heparin vorbehandelten Patienten nach hämorrhagischem Schock die Gefäßdurchlässigkeit noch so vorhanden ist, dass das tierexperimentell erprobte Medikament auch wirklich das Zielgewebe erreicht.

Neben der Koagulationshemmung beeinflusst Heparin durch folgende Wirkungen den Krankheitsverlauf:

Der entzündungshemmende Effekt von Heparin ist auf die Freisetzung der das Histamin abbauende Diaminoxidase zurückzuführen. Heparin reduziert ferner die Triglyzeride im Plasma und hat eine protektive Wirkung auf die Gefäßendothelien. *Devereux et al. (1977)* zeigten, dass Heparin die Noradrenalin-Konzentration im Blut im endotoxischen Schock unterdrückt.

Der hämorrhagische Schock wurde unter Narkose durchgeführt, weshalb der Einfluss der Anästhetika auf die Messwerte berücksichtigt werden muss. So gilt es Medikamente einzusetzen, die z.B. die Hämodynamik wenig beeinflussen. *Fabian et al. (1994)* kamen zu dem Ergebnis, dass eine Anästhesie mit Pentobarbital eher eine Tachykardie und Vasokonstriktion als der Einsatz von Fentanyl bewirkt.

In den „two-hit“ Modellen wurde überwiegend auf eine postoperative Antibiotikaphylaxe verzichtet. Unsere Schweine erhielten jedoch eine Antibiose mit Cefotiam, um Sekundärinfektionen infolge des invasiven Monitorings über Dauerkatheter zu verhindern.

Der verwendete *Pseudomonas aeruginosa* (Stamm 1) war im Antibiogramm gegen Cefotiam unempfindlich.

Bei der Auswahl eines Antibiotikums ist seine Wirkungsweise zu berücksichtigen. In vielen experimentellen Studien mit gramnegativer Sepsis bewirkte eine Therapie mit bakteriziden Antibiotika eine Endotoxinfreisetzung, welche mit der Verschlechterung der Hämodynamik und Steigerung der Mortalität im Zusammenhang stand. Polymyxin B hingegen, welches die Endotoxine bakteriostatisch bindet, reduzierte in den Experimenten die Sepsissymptome und die Todesrate. Aufgrund seiner Nephro- und Neurotoxizität wird Polymyxin jedoch in der Klinik kaum eingesetzt.

Grotz et al. (1995) verabreichten den Schafen in ihrem „two-hit“ Modell nach dem hämorrhagischen Schock parallel zur Endotoxingabe zusätzlich alle 12 Stunden 20 ml Zymosan-aktiviertes Plasma (ZAP) über 5 Tage. Zymosan ist ein unlöslicher Polysaccharidkomplex und Bestandteil der Zellmembran von Hefen. Zymosan aktiviert die Komplementkaskade und trägt über eine Freisetzung von Prostaglandinen und Leukotrienen zur inflammatorischen Reaktion bei. Die wiederholte Gabe von ZAP führt zu einer kontinuierlichen Komplementaktivierung, wie sie bei polytraumatisierten Patienten durch Weichteil- und Knochen trauma diskutiert wird. Zusätzlich kommt es zur Stimulierung der Makrophagen und des retikuloendothelialen Systems. Bei anderen Sepsismodellen wurde Zymosan in Öl suspendiert und intraperitoneal im Sinne eines kontinuierlichen, inflammatorischen Stimulus verabreicht.

Die Wirkungsweise von Zymosan ist tierartlich unterschiedlich. Mit Zymosan vorbehandelte Rhesusaffen zeigten eine erhöhte Widerstandskraft gegenüber zahlreichen, schädigenden Einflüssen. Bei anderen Tierversuchen stellte man nach Zymosanapplikation zunächst eine verminderte Widerstandsfähigkeit fest, die im weiteren Verlauf in eine verstärkte Abwehr übergeht (*Steinegger und Hänsel, 1988*).

Unneberg et al. (1996) erstellten ein „two-hit“ Modell, welches in seinem Aufbau deutlich von den anderen Modellen abweicht. Nach chirurgischen Trauma und einer Infusion mit lebenden *E. coli* entzogen sie den Schweinen 4 Stunden später bis zum Herzstillstand Blut. Das Ziel ihrer Studie war die Untersuchung der Wirkung des Wachstumshormons (GH) im hämorrhagischen Schock nach Trauma und Sepsis. *Unneberg et al. (1996)* räumten ein, dass dieses Modell eine extreme Situation wiedergibt, die nicht klinikrelevant ist. Auch wenn sich die Untersuchung der GH-Wirkung vor allem auf die Phase des hämorrhagischen Schocks

bezieht, wäre doch vor allem deren Effekte im weiteren Krankheitsverlauf sehr interessant, denn nur dann könnten die Vor- und Nachteile einer GH-Applikation kritisch abgewägt werden.

5.2 Pathologische Veränderungen

5.2.1 Klinische und hämodynamische Veränderungen

Aufgrund des zuvor stattgefundenen hämorrhagischen Schocks zeigen die Tiere aus der Schockgruppe vor Keimgabebeginn eine signifikant niedrigere **Körperinnentemperatur** (s. Graphik 4.1.2) als die Kontrolle. Durch den hohen Blutverlust kommt es zur Zentralisation des Blutkreislaufes. Trotz der anschließenden Volumensubstitution und Blutretrotransfusion bleibt die Körpertemperatur zu Beginn der Keimgabe unter dem Ausgangsniveau. Während des Schockgeschehens wird als Antwort auf die bestehende Hypovolämie in dem Hypophysenhinterlappen das Hormon Adiuretin ausgeschüttet, welches fiebersenkende Wirkung besitzt. Dieses Hormon ist mitverantwortlich für die niedrigere Körperinnentemperatur nach dem hämorrhagischen Schock. Während der Keimgabe steigt die Körpertemperatur bei den Tieren mit hämorrhagischem Schock im Vergleich zur Kontrollgruppe zunächst langsamer an und erreicht den maximalen Wert erst in Phase II. Fieber ist das typische Anzeichen eines systemischen Entzündungsgeschehen, welches durch zytokinvermittelte Freisetzung von Prostaglandinen über den Hypothalamus ausgelöst wird (*Marino, 1991*).

Aufgrund des vorhergegangenen Stresses in Form des Schocks findet bei den betroffenen Tieren dieser Mechanismus zeitlich verzögert statt.

Die Basalwerte der **Herz-** wie auch der **Atemfrequenz** (s. Graphiken 4.1.3 und 4.1.4) sind bei der Schockgruppe im Vergleich zur Kontrolle niedriger. Dies wird mit dem vorausgegangenen Schockgeschehen und der auch niedrigeren Körpertemperatur in Zusammenhang gebracht. Im Verlauf der Sepsis steigt die Atemfrequenz an, und der **Sauerstoffpartialdruck** (s. Graphik 4.4.1) nimmt signifikant ab. Durch die Bakteriämie wird das Komplementsystem aktiviert und bewirkt die Ansammlung neutrophiler Granulozyten in der pulmonalen Mikrozirkulation. Im Folgenden heften sich diese Leukozyten an das Kapillarendothel und setzen toxische Substanzen frei, welches zur Endothelschädigung führt. Die Ansammlung von *Pseudomonas aeruginosa* im Lungenparenchym stellt einen weiteren Faktor dar, welcher zur Beeinträchtigung der Lungenfunktion beiträgt.

Der signifikant erniedrigte **Kohlendioxidpartialdruck** (s. Graphik 4.4.2) bei beiden Gruppen in Phase I im Vergleich zum Basalwert steht im Zusammenhang mit der erhöhten Atemfrequenz, denn die deutlich ausgeprägte Hyperventilation bewirkt seinen Abfall. Der im

Gruppenvergleich signifikant erhöhte Kohlendioxidpartialdruck der Tiere mit hämorrhagischem Schock in Phase I verdeutlicht die pathologischen Schädigungen der Lunge infolge des Schockgeschehens.

Der **pulmonale vaskuläre Widerstandsindex (PVRI)** (s. Graphik 4.3.3) der Gruppe mit hämorrhagischem Schock ist in Phase II im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht. Die Lunge wird durch das hämorrhagische Schockgeschehen vorgeschädigt. Bis zum Versuchsende kann sich die Lunge nicht von den Auswirkungen des Schocks regenerieren. Aufgrund der Sepsisinduktion kommt es zusätzlich zu Gefäßwandschädigungen, welches zu einem weiteren Anstieg des PVRI führt. Die Kontrollgruppe erreicht in Phase II bereits annähernd den Basalwert.

Die Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks auf die Lunge wird auch anhand der hoch signifikanten Erhöhung des **pulmonalarteriellen Drucks** (s. Graphik 4.2.2) in den Phasen II und III in der Schockgruppe deutlich.

Die Lungenbeeinträchtigung infolge des hämorrhagischen Schocks und der bakteriellen Sepsis ist viel schwerwiegender als die Schädigung infolge der Sepsis alleine.

Der **arterielle Mitteldruck** (s. Graphik 4.2.1) ist bei den Tieren mit hämorrhagischem Schock im Vergleich zur Kontrolle in allen drei Phasen signifikant tiefer. Dies spricht für eine anhaltende, systemische Vasodilatation.

Turnbull et al. (1995) verabreichten in ihrem „two-hit“ Modell Schweinen erst 3 Tage nach dem hämorrhagischen Schock über eine halbe Stunde intravenös LPS von *E. coli*. Vor Endotoxingabebeginn zeigten die Schweine mit hämorrhagischem Schock und die Kontrollgruppe ähnliche Werte der Herzfrequenz, des arteriellen Mitteldrucks und des zentral-venösen Drucks.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Turnbull et al. (1995)* ist in der vorliegenden Studie die Herzfrequenz der Kontrollgruppe in der Phase I signifikant erhöht. Die längere Schockphase (4 Stunden) und der zweitägige Intervall zwischen Schock und Sepsisinduktion schränken die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von *Turnbull et al. (1995)* mit unseren Resultaten ein. Es ist denkbar, dass die längere Pause zwischen den Schädigungen die längere Schockphase ausgeglichen hat. Durch die unterschiedliche Sepsisinduktion bei den Modellen spielen jedoch auch andere wichtige Faktoren eine Rolle, die die Parameter beeinflussen.

Das Frühstadium der Sepsis ist durch Tachykardie sowie arterielle und venöse Vasodilatation gekennzeichnet. Die Tachykardie bewirkt den Anstieg des Herzzeitvolumens (HZV). Die systemische Vasodilatation führt zum Abfall des systemischen Gefäßwiderstandes (SVR) (*Marino, 1991*).

Der **systemisch vaskulären Widerstandsindex (SVRI)** (s. Graphik 4.3.2) der Schockgruppe ist in der Phase III im Vergleich zur Kontrollgruppe hoch signifikant erniedrigt. Bei der Kontrollgruppe ist zum Versuchsende hin ein Anstieg des SVRI zu verzeichnen, welches für eine Aufhebung der generalisierten Vasodilatation spricht.

Der **Herzindex (CI)** (s. Graphik 4.3.1) korreliert mit der Herzfrequenz. So ist vor allem die Tachykardie für die zunehmenden Werte beim Herzindex verantwortlich. Anhand der Resultate ist auszuschliessen, dass sich die Tiere den Zustand eines septischen Schocks nähern. In diesem Fall würden diese Werte, bedingt durch eine Verschlechterung der Herzfunktion, unter den Basalwerten liegen.

Anhand des **APACHE II-Klassifizierungssystems** (s. Graphik 4.6) wird der schlechtere Allgemeinzustand der Tiere einen Tag nach dem hämorrhagischen Schock deutlich. Bis zum Versuchsende bleibt der Gesundheitszustand der Schockgruppe im Gruppenvergleich schlechter.

Die durch einen hämorrhagischen Schock induzierte Immunsuppression ist als Folge der Adrenalinausschüttung zu verstehen. Infolge der lokalen Vasokonstriktion wird das Einströmen von Leukozyten, Oponinen und Komplementfaktoren in die mit Bakterien infizierte Region verringert. Eine Abtötung der eindringenden Keime durch die körpereigenen Abwehrmechanismen wird erschwert (*Sabiston, 1997*).

Ayala et al. (1990) konnten weitere pathologischen Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks an Mäusen nachweisen. Nach Blutverlust und adäquatem Flüssigkeitsersatz nimmt die Fähigkeit peritonealer Makrophagen, Fc- oder C3b-Rezeptoren zu präsentieren, ab. Diese verminderte Expression wurde spätestens 24 Stunden nach Schockinduktion deutlich und hält bis zu 72 Stunden an. Diese Abnahme der Rezeptorpräsentation kann teilweise die Unterdrückung der phagozytotischen Immunantwort erklären, wodurch die Infektionsanfälligkeit nach einem hämorrhagischen Schock steigt. Die verminderte Expression der Rezeptoren könnte durch Zytokine verursacht werden. TNF- α , Il-1, Il-6 werden u.a. im hämorrhagischen Schockgeschehen durch die Makrophagen vermehrt

produziert und freigesetzt. Auch Endotoxine, welche im Stadium der Hypotension freigegeben werden, scheinen hier eine wichtige Rolle zu spielen.

Ertel et al. (1991) untersuchten an Mäusen den genauen Mechanismus der beeinträchtigten Antigen-Präsentation der Makrophagen nach Blutungen. Sie zeigten, dass nicht die Fähigkeit der Makrophagen zur Präsentation der Antigene infolge eines Blutverlustes beeinträchtigt wird, sondern dass der Abbau dieser Fremdkörper eingeschränkt ist. Sie vermuteten, dass dies das Resultat eines signifikanten Verlustes an Adenosintriphosphat (ATP) ist, welches für viele metabolische Prozesse in der Zelle unentbehrlich ist. *Meldrum et al. (1991)* wiesen an Zellen der Milz nach, dass nach einer Blutung durch die Gabe von ATP-MgCl₂ der ATP-Spiegel in den Splenozyten wieder erhöht wurde. In der Kontrollgruppe, welcher anstatt von ATP-MgCl₂ eine Kochsalzlösung verabreicht wurde, stellte man neben dem deutlich erniedrigten ATP-Spiegel auch eine verminderte Fähigkeit der Proliferation und der Synthese von Il-2 und Il-3 fest. Auch in den Lymphozyten wurde nach einem hämorrhagischen Schock ein verminderter ATP-Spiegel festgestellt.

Stephan et al. (1987) wiesen an Mäusen nach, dass Blutungen ohne begleitende Gewebsverletzungen eine Immunsuppression auslösen. Eine deutliche Unterdrückung des Immunsystems wurde am 1.Tag nach dem Blutverlust registriert. In diesem Versuchsmodell wurde ferner festgestellt, dass die Medikation mit Heparin und Äther wie auch die Retransfusion des entzogenen Blutes nicht für die Immunsuppression verantwortlich waren. Kortikosteroide, Adrenalin und Prostaglandine werden als Verursacher der Immunsuppression gesehen.

In einem anderen Mäuseversuch mit hämorrhagischem Schock zeigten *Ertel et al. (1990)* dass der Kalziumkanalblocker Diltiazem signifikant die Antigen-Präsentation der peritonealen Makrophagen steigert. Das gleiche gilt für die Expression des 1a-Rezeptors und Synthese von Il-1. Eine Erhöhung der Il-6-Produktion konnte nur durch hohe Gaben von Diltiazem erreicht werden. Zusätzlich kam es zu einer verminderten TNF- α Synthese. Diltiazem verbessert somit die Makrophagenfunktion nach einem hämorrhagischen Schock. Ein zu hoher Anstieg des intrazellulären Kalziumspiegels scheint so in Folge der schockbedingten Gewebshypoxie zu einer Zellfunktionsstörung beizutragen. Die vermehrte Translokation des Kalziums durch die Zellmembran wird vermutlich durch die erhöhte Permeabilität der Membran als Folge des Schocks ermöglicht.

Yano et al. (1987) wiesen nach, dass der erhöhte intrazelluläre Kalziumspiegel erst durch die ansteigende Verfügbarkeit an Sauerstoffradikalen infolge der Reperfusion des ischämischen Gewebes verursacht wird.

Turnbull et al. (1995) untersuchten anhand ihres Schweinmodells die „two-hit“ Theorie inbezug auf die Entstehung des MODS. Der initiale Schaden in Form der Hämorrhagie begünstigt die bakterielle Translokation.

Gelingt es dem Körper die Entzündung zu unterdrücken, kann sich die Darmmukosabarriere bald von dem initialen Schaden erholen. Die Bakterien werden aus den Lymphknoten eliminiert. Durch eine zweite Schädigung allerdings wird dieser Mechanismus der Wiederherstellung unterbrochen, und es kommt zur Dysregulation der Entzündungsantwort und folglich zu Organfunktionsstörungen.

Die Funktion der Darmmukosaschranke bleibt eingeschränkt, sodass sich die Bakterientranslokation weiter vollzieht. Die Lymphknoten werden stärker mit Erregern überschwemmt, welche sich dann über die Blutzirkulation systemisch ausbreiten können.

In dem Modell von *Turnbull et al. (1995)* stellte der Darm sowohl das Ursprungs- wie auch Zielorgan dar.

Nach *Turnbull et al. (1995)* bewirkte der „first-hit“ in Form eines hämorrhagischen Schocks eine gesteigerte Empfänglichkeit für die Manifestation einer Sepsis. Sie kamen u.a. zu dem Resultat, dass es zu einer veränderten Antwort auf Endotoxine nach einem Blutverlust führt. Es werden Veränderungen u.a. bei den Lymphozyten- und Makrophagenfunktionen registriert. Es kommt zum „**Priming**“ dieser Zellen.

Bei den neutrophilen Granulozyten tritt das „Priming“ als das Ergebnis einer subzellulären Transformation auf, welche bei der Zelle eine Überreaktion bewirkt. Entzündungszellen besitzen membrangebundene Rezeptorsysteme, welche im Rahmen des „Priming“ eine Rolle spielen.

Die neutrophilen Leukozyten besitzen den N-formyl Peptid-Rezeptor und den Plättchen-aktivierende Faktor-Rezeptor. Durch Signaltransduktion regen beide Rezeptoren die Leukozyten zur Produktion von Sauerstoffmetaboliten und zur Degranulation an. Durch „Priming“ wird innerhalb kurzer Zeit (Minuten bis Stunden) eine veränderte Zellantwort bewirkt. Dies kann durch Zunahme der Rezeptordichte wie auch durch eine veränderte Affinität zu den Liganden erfolgen. Der N-formyl Peptid-Rezeptor weist durch „Priming“ eine niedrigere Affinität auf, sodass die Liganden schneller wieder von ihm gelöst werden. Dies hat eine gesteigerte Stimulationsfähigkeit zur Folge. Der Plättchen-aktivierende Faktor

(PAF) regt Zellen und Organe für eine geänderte Antwort auf folgende Stimulanzen an. Das „Priming“ des PAF führt zu einer gesteigerten Produktion von Superoxiden durch die neutrophilen Granulozyten, welches Endothelschäden fördert (*Anderson und Harken, 1990*).

Lyden et al. (1998) untersuchten anhand eines Schweinemodells die Auswirkungen der vorübergehenden Blockade der CD18-abhängigen Leukozytenfunktion nach Blutung und polymikrobieller Sepsis. Die CD18-Rezeptorblockade während der Flüssigkeitssubstitution steigerte nicht die Empfänglichkeit auf endogene Pathogene, weil die vorübergehende Blockade der Adhäsion der neutrophilen Leukozyten durch folgende Mechanismen ausgeglichen wurde:

- Gesteigerte Freisetzung oxidativer Sauerstoffmetaboliten („oxidativer burst“)
- Vermehrte Freisetzung proteolytischer Enzyme (Degranulation)
- Produktion von TNF in den zirkulierenden Zellen in der späten Erholungsphase

Als Folge des hämorrhagischen Schocks machten *Coimbra et al. (1997)* die verminderte Zytokinsekretion (v.a. Il-2 und Il-3) und die induzierte Freisetzung anderer Mediatoren (Prostaglandine, PAF) für die Entwicklung der Immunsuppression verantwortlich. Zusammenfassend stellten sie folgende, immunsuppressive Veränderungen durch die Hypoxie nach einem hämorrhagischen Schock vor:

- Abnahme des zellulären ATP-Spiegels
- Eingeschränkte Funktion der Darmbarriere
- Beeinträchtigte Kalziumhomeostase
- Unterdrückte Funktion des RES (Retikuloendotheliale System)
- Zelldysfunktionen

Garrison et al. (1998) postulierten, dass bei Ratten der hämorrhagische Schock gefolgt von einer Bakteriämie (*E. coli*) in einer geänderten Dilatationskontrolle der mikrovaskulären Endothelzellen und des Blutflusses resultiert. Der hämorrhagische Schock oder die bakterielle Sepsis für sich führten zu in einer generellen Konstriktion des intestinalen Gefäßsystems. Ein initialer Stress (Hämorrhagischer Schock) änderte die nachfolgende Antwort des

mikrovaskulären Blutflusses auf eine systemische Entzündung. Ein Teil der Gefäße („First-order arterioles“) zeigten vermehrte Dilatation, während andere („Third-order vessels“) vermehrt kontrahierten. *Spain et al. (1999)* knüpften mit ihren Untersuchungen an den Versuch von *Garrison et al. (1998)* an. Sie stellten fest, dass eine vorherige Blutung mit Flüssigkeitsersatz am intestinalen, mikrovaskulären System eine geänderte Antwort auf einen folgenden Stress bewirkte. Dieser Effekt hielt länger als 72 Stunden nach der Hämorrhagie an. Der „second-hit“ verursachte eine deutlich herabgesetzte Gefäßantwort auf Noradrenalin. Diese Änderungen in der Kontrolle des mikrovaskulären Tonus können zu der geänderten Hämodynamik in der Sepsis, dem beeinträchtigten Blutfluss in der Mukosa und zur Entwicklung des MODS beitragen.

In der vorliegenden Studie wurde ein hoch signifikant erniedrigter SVRI der Schockgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt. Die Abnahme des vaskulären Widerstandes im großen Kreislauf spricht für eine vermehrte Vasodilatation der Gefäße.

Jiang et al. (1997) untersuchten die erhöhte Sensibilität auf Endotoxin, die durch einen hämorrhagischen Schock induziert wurde. Sie führten Versuche mit einem hämorrhagischen Schock und anschließender Gabe von Lipopolysacchariden (LPS) an Kaninchen, Ratten und Mäusen durch und kamen zu dem Ergebnis, dass die gesteigerte Sensibilität auf Endotoxin vermutlich durch die schockbedingte erhöhte Expression des LPS-bindenden Proteins und der CD-14 mRNA in den peritonealen Makrophagen bewirkt wird.

Mileski et al. (1992) führten ein „two-hit“ Modell an Kaninchen durch und stellten fest, dass der hämorrhagische Schock mit nachfolgender Flüssigkeitssubstitution zu einem proinflammatorischen Stadium 24 Stunden nach dem Schock führte. Sie sahen darin die Ursache für die gesteigerte Sensibilität auf die folgende Endotoxingabe.

Zervos et al. (1999) untersuchten an Ratten die Auswirkung des Blutverlustes auf eine nachfolgende Sepsis. Sie kamen zu dem Resultat, dass Blutungen eine frühe Il-1- und TNF- α -Genexpression induzieren, welches dann bei Endotoxingabe den erwarteten hohen Anstieg dieser Zytokine dämpft. Aufgrund dieses Mechanismus wurde auf eine immunmodulierte protektive Wirkung des Blutverlustes geschlossen.

Schon zuvor hatten *Zervos et al. (1997)* an Mäusen gezeigt, dass subletale Hämorrhagien protektiv gegen letale, intraperitoneale Dosen von Endotoxinen wirkten. Die protektive Wirkung wurde auf eine abgeschwächten Antwort von Il-1 auf LPS zurückgeführt. Diese

Ergebnisse sind kritisch zu betrachten, da dieser immunmodulierte Effekt bis dato nur an Ratten und Mäusen nach Endotoxingabe nachgewiesen wurde, welches nur eingeschränkt die Bakteriämie imitiert. Auch die intraperitoneale Applikation des LPS ist umstritten. In beiden Studien erfolgte keine Flüssigkeitssubstitution.

In unseren Schweinmodell wird die anhand von Mäusen und Ratten aufgestellte These von *Zervos et al. (1997, 1999)*, dass ein zuvor stattgefundenener Schock das Krankheitsgeschehen der Sepsis mildert, nicht bestätigt. Wir konnten keine protektive Effekte des initialen hämorrhagischen Schocks auf den septischen Krankheitsverlauf feststellen. Vielmehr weist die gegenüber der Kontrollgruppe initial und in der Phase III stark erhöhte Punktzahl des APACHE II-Klassifizierungssystems der Schockgruppe auf einen genau gegenteiligen Effekt hin.

Neben dem hämorrhagischen Schock stellen die **Reperfusion** und die anschließende **Bluttransfusion** wichtige Faktoren dar. Auf die Auswirkungen der Reperfusion wurde schon in Kapitel 2.2.1 eingegangen.

Waymack und Yurt (1988) wiesen in Studien an Ratten nach, dass die allogene Bluttransfusion signifikante Änderungen im Immunsystem bewirkt. Als Antwort auf eine chemisch verursachte Peritonitis kommt es u.a. zu einer erniedrigten zellvermittelten Immunantwort und einer verminderten peritonealen Migration der mononukleären Zellen. Im Vergleich zu Ratten, welche keine oder syngene Bluttransfusionen erhielten, wiesen die Makrophagen der Tiere mit einer Fremdblutgabe einen 150 % Anstieg der Produktionsrate von Prostaglandin E auf. Aufgrund der Hemmung der Lymphozytenproliferation, der Interleukin-2 Produktion und der Aktivität der natürlichen Killerzellen wirkt dieser Metabolit der Arachidonsäure stark immunsuppressiv. Es folgt eine Reduktion der Phagozytose der Bakterien durch die Makrophagen.

Shelby (1987) und *Waymack et al. (1986)* wiesen die immunsuppressive Wirkung von Fremdblut nach. *Waymack und Yurt (1988)* zeigten anhand ihres Modells die beeinträchtigte, bakterizide Wirkung der Makrophagen nach Gabe von Fremdblut. Zusätzlich wurde auch ein Anstieg der Produktion von Glukokortikoiden verzeichnet, welche immunsuppressiv sind.

Galandiuk et al. (1990) verabreichten männlichen Lewis-Ratten entweder syngenes oder allogenes Blut von ACI-Ratten. Einem Teil der Tiere wurden sofort oder eine Woche später Bakterien verabreicht. Die Keimgabe fand entweder in Form von einer Oberschenkel drainage mit *Klebsiella pneumoniae* (monomikrobielle Infektion) oder als Zäkumligation und -punktion (polymikrobielle Infektion) statt. Ziel dieser vergleichenden Studie war die

Untersuchung der Auswirkungen einer allogenen und einer syngenesis Bluttransfusion. Die Infusion von Fremdblut bei sofortiger Keimgabe zeigte eine deutliche Beeinträchtigung des Immunsystems. Bei der syngenesis Bluttransfusion konnten ebenfalls erhöhte Bakterienspiegel im Blut festgestellt werden, welche niedriger als bei der Gruppe mit Fremdblut waren. *Galandiuk et al. (1990)* gingen davon aus, dass diese gewonnenen Ergebnisse nicht vollständig durch spezifische immunologische Prozesse ausgelöst wurden, denn in diesem Fall wäre die Reaktion durch die Unterschiede zwischen den Haupthistokompatibilitäts-Komplexen (MHC) der beiden Rattenrassen verursacht worden.

Galandiuk et al. (1990) stellten zwei Hypothesen für die Erklärung der unspezifischen Effekte der Transfusion auf:

- Die Bluttransfusion beinhaltet eine große Menge an nicht mehr lebensfähigen Erythrozyten und Mikroaggregaten, welche durch die Zellen des Monozyten-Makrophagenkomplexes beseitigt wurden. Das wiederum resultiert in einer gesteigerten Produktion der immunsuppressiven Metaboliten der Arachidonsäure, u.a. Prostaglandin E₂.
- Nach einer länger andauernden Transfusion ist das retikuloendotheliale System durch die Beseitigung der nicht mehr voll funktionsfähigen Erythrozyten in Anspruch genommen, sodass es nicht mehr die Vernichtung der Bakterien ausführen kann.

Diese Hypothesen treffen auch auf die Retransfusion des entzogenen, also syngenesis Blutes in unserem Modell zu. So können wir davon ausgehen, dass es zur Beeinflussung des Immunsystems kam.

Vamvakas und Moore (1994) zogen bei der Betrachtung der allogenen Bluttransfusion und der postoperativen septischen Komplikationen u.a. auch die Übertragung von Viren (u.a. HIV) und Bakterien mit dem Fremdblut in Erwägung. Diese Möglichkeit muss aufgrund der Retransfusion des eigenen Blutes in unserem Modell nicht berücksichtigt werden.

Cue et al. (1992) diskutierten die Bedeutung der Immunsuppression durch eine Bluttransfusion an Ratten und verglichen die Wirkungen des hämorrhagischen Schocks und der Bluttransfusion auf das Immunsystem. Die Behandlung des hämorrhagischen Schocks erfolgte entweder in Form der Zurückgabe des entzogenen Blutes, welches die Kontrolle bildete, oder der Transfusion von allogenen oder syngenesis Blut. Einem Teil der Tiere wurde

anschließend intradermal *Staphylococcus aureus* injiziert. Die daraus resultierende Abzessbildung wurde nach 2 Tagen genau dokumentiert. Zwischen den Ratten, welchen nur allo- oder syngenes Blut infundiert wurde, konnte kein Unterschied in der Abzessgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden.

Allerdings wurde bei den Gruppen, welche einem hämorrhagischen Schock erlitten, eine Zunahme des Abzessumfanges festgehalten. *Cue et al. (1992)* kamen zu dem Resultat, dass der hämorrhagische Schock und nicht die Bluttransfusion den entscheidenden Faktor für das Ausmaß von Infektionen darstellt.

Zahlreiche Studien (*Stephan et al., 1987; Chaudry und Ayala, 1993; Coimbra et al., 1997*) zeigten, dass die Hypovolämie das Infektionsrisiko steigert.

Viele dieser Ergebnisse wurden an Mäusen oder Ratten gewonnen, sodass die Resultate weiter kritisch zu bewerten sind und ein Vergleich der Resultate beim Schwein nur eingeschränkt möglich ist.

5.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*-Nachweis im Blut und in den Organen

Bei den Tieren mit hämorrhagischem Schock nimmt die Anzahl der nachgewiesenen *Pseudomonaden* bis zum Versuchsende hin durchwegs zu. Das Immunsystem scheint bis zum Versuchsende nicht in der Lage zu sein, die Bakterien aus dem Blut effektiv zu eliminieren. Bei den Tieren der Kontrollgruppe ist zunächst von einem gut funktionierende Immunsystem auszugehen, welches aber im Verlauf der bakteriellen Sepsis beeinträchtigt wird. Bakterielle Infektionen führen zunächst zum Anstieg der Granulozyten im Blut und zur vermehrten Freisetzung der unreifer Formen aus dem Knochenmark (Linksverschiebung). Das vermehrte Auftreten unreifer Formen und eine vorübergehende Leukopenie führen vermutlich zu einer eingeschränkten Bakterienvernichtung.

Eine Abnahme der nachgewiesenen Keime im Blut der Kontrollgruppe zur Phase III lässt demzufolge auf ein wieder intaktes Immunsystem schließen.

Koch et al. (1993) untersuchten die Bedeutung des retikuloendothelialen Systems im Sepsisgeschehen nach Blutungen und Hypoxie. Sie fanden heraus, dass durch den Blutverlust die Eliminierung der Bakterien aus dem Blut beeinträchtigt ist und die Bakterien länger im Blut nachzuweisen sind. In der vorliegenden Studie waren in den Organen der Tiere der

Schockgruppe höhere Keimzahlen im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe nachweisbar.

Beim Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* in den Organen fällt in unserem Modell die deutliche höhere Keimanzahl in der Lunge der Tiere mit hämorrhagischem Schock im Vergleich zur Kontrolle auf. Die Keime wurden über den proximalen Schenkel des Swan Ganz[®] Thermodilutionskatheter in den rechten Vorhof verabreicht. Von dort gelangten sie über den rechten Ventrikel und die Pulmonalarterie in die Lunge, die als erstes Organ eine Filterfunktion übernahm. So weisen auch beide Gruppen in der Lunge ihre jeweils höchsten Bakterienanzahlen auf. Bei den Tieren mit hämorrhagischem Schock scheinen im Vergleich zur Kontrolle lokal wandernde Makrophagen nicht in der Lage gewesen zu sein, die *Pseudomonaden* aus den Lungenalveolen zu eliminieren. Das spricht für eine Schädigung der Lunge durch den zuvor stattgefundenen hämorrhagischen Schock.