

Aus dem
CharitéCentrum für Anästhesiologie, OP-Management und Intensivmedizin
Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum
Direktorin: Frau Univ.-Prof. Dr. med. C. Spies

Habilitationsschrift

Experimentelle und klinische Untersuchungen der intestinalen Zirkulation und der Inflammationsreaktion bei Sepsis und Organversagen

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Anästhesiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Jürgen Birnbaum

Eingereicht: März 2008

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Benedikt Pannen

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Gabriele Nöldge-Schomburg

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	4
1.1	Sepsis und Multiorganversagen	4
1.2	Rolle des Gastrointestinaltraktes in der Sepsis	6
1.3	Rolle der Mikrozirkulation in der Sepsis	7
1.4	Therapiestrategien bei Sepsis und Organversagen.....	8
1.4.1	Kausale Therapie.....	8
1.4.2	Supportive Therapie	8
1.4.3	Adjunktive Therapie.....	9
1.4.4	Andere supportive Therapien	9
1.4.5	Weitere Therapieansätze	9
1.4.6	Organersatztherapien.....	10
1.5	Experimentelle Endotoxinämie als Sepsismodell	12
2.	Gegenstand, Ziele und Fragestellungen der Untersuchungen.....	14
3.	Methodik der tierexperimentellen Untersuchungen.....	16
3.1	Versuchstiere	16
3.2	Anästhesie und Monitoring	16
3.3	Allgemeines Versuchsprotokoll und Endotoxinämie.....	17
3.4	Intravitalmikroskopie	17
3.4.1	Leukozyten-Endothel-Interaktion	17
3.4.2	Funktionelle Kapillardichte	18
3.4.3	Plasmaextravasation	18
3.5	Laser-Doppler-Flowmetrie.....	19
4.	Darstellung der eigenen Arbeiten.....	20
4.1	Modulation der intestinalen Blutflusssoszillationen durch den Sympathikus während experimenteller Endotoxinämie.....	20
4.2	Einfluss des Gerinnungsfaktors XIII auf die funktionelle Kapillardichte, die Leukozytenaktivierung und auf die Plasmaextravasation während experimenteller Endotoxinämie	22
4.3	Der Einfluss von Dopexamin auf die intestinale Mikrozirkulation und Leukozytenaktivierung während experimenteller Endotoxinämie	24
4.4	Der Einfluss von Dopexamin und Iloprost auf die Plasma-Disappearance- Rate von Indozyaningrün bei Patienten im septischen Schock.....	26
4.5	Iloprost bei Organversagen und Inflammation bei intensivpflichtigen Patienten im Zusammenhang mit der kontinuierlichen Nierenersatztherapie	28
5.	Diskussion	31
5.1	Modulation der intestinalen Blutflusssoszillationen durch den Sympathikus während experimenteller Endotoxinämie.....	31
5.2	Einfluss des Gerinnungsfaktors XIII auf die funktionelle Kapillardichte, die	

	Leukozytenaktivierung und auf die Plasmaextravasation während experimenteller Endotoxinämie	35
5.3	Der Einfluss von Dopexamin auf die intestinale Mikrozirkulation und Leukozytenaktivierung während experimenteller Endotoxinämie	38
5.4	Der Einfluss von Dopexamin und Iloprost auf die Plasma-Disappearance-Rate von Indozyaningrün bei Patienten im septischen Schock.....	42
5.5	Iloprost bei Organversagen und Inflammation bei intensivpflichtigen Patienten im Zusammenhang mit der kontinuierlichen Nierenersatztherapie	45
6.	Zusammenfassung.....	50
7.	Literaturverzeichnis.....	52
8.	Danksagung.....	63
9.	Erklärung.....	64

1. Einleitung

Eine der größten, wenn nicht gar die größte Herausforderung in der modernen Intensivmedizin, stellt die Behandlung der Sepsis dar.

Jährlich wird bei etwa 79 000 Patienten in Deutschland eine Sepsis neu diagnostiziert, für die schwere Sepsis liegt die Zahl bei 75 000. Dies entspricht einer Zahl von 116 bzw. 110 Patienten pro 100 000 Einwohner. Die Prävalenz der Sepsis liegt bei auf den Intensivstationen in Deutschland behandelten Patienten bei etwa 12,4%, die Prävalenz der schweren Sepsis einschließlich des septischen Schocks bei 11% [1].

Im Jahr 2007 wurden an der Charité 2348 Patienten mit einer Sepsis behandelt, das entspricht etwa 1,9% aller stationär behandelten Patienten. Während die Kosten für die Intensivtherapie in Deutschland bei etwa 791 € pro Tag und Patient liegen, steigen sie bei Patienten mit einer Sepsis im Mittel auf 1090 € [2]. Die Letalität der schweren Sepsis und des septischen Schocks liegt unverändert bei 40 bis 60 % [3].

1.1 Sepsis und Multiorganversagen

Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock werden entsprechend den Kriterien der ACCP/SCCM-Konsensus-Konferenz definiert [4].

Folgende Kriterien werden danach zur Definition der **Sepsis** herangezogen:

- Infektion (dokumentiert oder vermutet)

und einige der folgenden Kriterien:

- Allgemeine Parameter
 - Fieber (Kerntemperatur $> 38,3^{\circ}\text{C}$)
 - Hypothermie (Kerntemperatur $< 36^{\circ}\text{C}$)
 - Herzfrequenz $> 90/\text{min}$ oder > 2 SD über altersentsprechenden Normalwerten
 - Tachypnoe $> 30/\text{min}$
 - veränderter mentaler Status
 - signifikante Ödeme oder positive Flüssigkeitsbilanz (>20 ml/kg in 24 h)
 - Hyperglykämie (BZ > 110 mg/dl) ohne Vorhandensein eines Diabetes

- Inflammationsparameter
 - Leukozytose ($> 12000 /\mu\text{l}$)
 - Leukopenie ($< 4000 /\mu\text{l}$)
 - Normale Leukozytenzahl mit $> 10\%$ unreifen Leukozyten im Differentialblutbild
 - CRP > 2 SD über dem Normwert
 - Procalcitonin im Plasma > 2 SD über Normwert

- Hämodynamische Parameter
 - Arterielle Hypotension (syst. art. Blutdruck < 90 mmHg, MAP < 70 mmHg, oder systol. Druckabfall > 40 mmHg bei Erwachsenen oder < 2 SD unter altersentsprechendem Normwert)
 - gemischt-venöse $\text{SO}_2 > 70\%$
 - Herzindex $> 3,5$ l/min/m²

- Parameter der Organdysfunktion
 - arterielle Hypoxämie ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
 - Akute Oligurie (Diurese $< 0,5$ ml/kg/h oder < 45 ml in 2 h)
 - Kreatinin-Anstieg ($\geq 0,5$ mg/dl)
 - Gerinnungsstörungen (INR $> 1,5$ oder aPTT > 60 s)
 - Ileus (fehlende Darmgeräusche)
 - Thrombozytopenie ($< 100000/\mu\text{l}$)
 - Hyperbilirubinämie (Gesamtbilirubin > 4 mg/dl oder 70 mmol/l)

- Parameter der Gewebepерfusion
 - Hyperlaktatämie (> 3 mmol/l)
 - Verminderte Kapillarperfusion oder Marmorierung der Haut

Als **schwere Sepsis** wird eine Sepsis bezeichnet, bei der eine Organdysfunktion auftritt.

Vom **septischen Schock** spricht man bei einem akuten Kreislaufversagen im Zusammenhang mit der Sepsis, welches durch eine persistierende Hypotension gekennzeichnet ist, die nicht durch eine adäquate Volumentherapie behoben und nicht durch andere Ursachen erklärt werden kann.

Als Staging-System für die Sepsis wurde das PIRO-System vorgeschlagen (**P**redisposition, **I**nsult, **R**esponse, **O**rgan dysfunction).

- **Predisposition** beschreibt Faktoren wie vorbestehende Begleiterkrankungen, Alter, Geschlecht sowie kulturelle oder religiöse Besonderheiten.
- **Insult** beschreibt Art und Resistenzlage des Erregers und die Sanierbarkeit des Infektionsherdes
- **Response** beschreibt die systemische Inflammationsreaktion und andere Zeichen von Sepsis und septischem Schock (beispielsweise CRP)
- **Organ dysfunction** beschreibt die Anzahl betroffener Organsysteme oder wird mittels etablierter Scoringsysteme (z.B. Sequential Organ Failure Assessment – SOFA) charakterisiert.

Zur Etablierung dieses Konzeptes sind noch eine ausgiebige Evaluierung in der klinischen Routine und eine weitere Feinjustierung notwendig, um ein praktikables Scoringssystem für die Anwendung in der Praxis zu erhalten.

1.2 Rolle des Gastrointestinaltraktes in der Sepsis

Dem Gastrointestinaltrakt kommt in der Pathogenese der Sepsis und des Multiorganversagens eine wichtige Bedeutung zu, der Darm wird auch als „Motor“ der Multiorganversagens bezeichnet [5]. Ein gastrointestinales Versagen (gastrointestinal failure – GIF; Nahrungsintoleranz, gastrointestinale Blutungen oder Ileus) tritt bei knapp 10% der intensivtherapeutisch behandelten Patienten auf und ist mit einer deutlich höheren Mortalität (etwa 44%) im Vergleich zu Intensivpatienten ohne GIF (etwa 5%) verbunden [6].

Eine Minderperfusion des Gastrointestinaltraktes führt neben Organdysfunktionen (z.B. Leberfunktion, Darmmotorik) zu einer Schädigung der Barrierefunktion des Darmes. Die Folge ist eine Translokation von Bakterien und Bakterientoxinen in die systemische Zirkulation [7]. Somit kann ein bestehendes septisches Krankheitsbild weiter verstärkt werden [8]. Gastrointestinale Perfusionsstörungen korrelieren mit der Entwicklung eines Multiorganversagens[9], und stellen einen prädiktiven Parameter für das Auftreten eines Organversagens dar [10]. Des Weiteren führt die Freisetzung von zytotoxischen Mediatoren auch unabhängig von einer Gewebhypoxie zu einer Schädigung der Darmmukosa [11].

Auf Grund ihrer anatomischen Besonderheiten ist insbesondere die Darmschleimhaut anfällig für Mikrozirkulationsstörungen. Die zentral in den Villi gelegenen Arteriolen laufen parallel zu abführenden Kapillaren und Venolen. Diese Anordnung begünstigt auf Grund des

Gegenstromprinzips eine Reduktion des Sauerstoffgehaltes im Blut in den Arteriolen. Dies begünstigt eine Minderperfusion der Zottenspitzen mit der Folge von Epithelnekrosen und Störung der Integrität der Darmbarriere.

1.3 Rolle der Mikrozirkulation in der Sepsis

Eine gestörte Mikrozirkulation ist ein wesentlicher Pathomechanismus bei kritisch kranken Patienten [12-16]. Die gestörte Gewebsperfusion resultiert in Zell-, Gewebs- und Organschäden [13] und beeinflusst das Outcome der Patienten ungünstig [17].

Verschiedene Pathomechanismen sind ursächlich für das Entstehen von Mikrozirkulationsstörungen. Im septischen Schock kann das globale Herzzeitvolumen erhöht sein, es kommt aber zu einem „distributiven Schock“, das bedeutet zu einer Veränderung der relativen Perfusionsverhältnisse im Sinne einer Fehlverteilung des Blutflusses mit der Folge einer Minderperfusion von Kapillarstromgebieten und folgend von Geweben und Organen. Es entsteht ein deutliches Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf in einzelnen Gewebsarealen. Da dieser Mechanismus in Folge Hypoxie zu einer Zellschädigung führt und damit ein vorbestehendes septisches Krankheitsbild weiter aggraviert, sieht man diese Mikrozirkulationsstörungen auch als Motor der Sepsis an [18]. Neben der Schädigung von Endothelzellen der Gefäße spielt die gesteigerte Freisetzung von Stickstoffmonoxid über eine erhöhte Produktion von induzierbarer NO-Synthetase (iNOS) eine wichtige Rolle. Dies führt ebenfalls durch Shuntbildung zu einer Fehlverteilung des Blutflusses mit Minderperfusion diverser Areale, in anderen, normal perfundierten Gebieten erhöht sich die Sauerstoffextraktion auf Grund der Hypoxie deutlich.

Die Aktivierung insbesondere von Leukozyten hat eine Freisetzung verschiedenster Mediatoren, wie reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und proinflammatorischer Zytokine zur Folge. Dies resultiert wiederum in einer Störung der Integrität des Gefäßendothels und fördert damit die Extravasation von Plasma in das umgebende Gewebe (Ödembildung). Die Endothelzellschädigung hat ebenfalls eine Gerinnungsaktivierung und im Extremfall eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) mit Ausbildung von Mikrothromben in der gesamten Mikrostrombahn zur Folge. Somit wird die Mikrozirkulation weiter beeinträchtigt.

Die entstehenden Schäden betreffen natürlich auch die Organperfusion, was zu Organdysfunktion und zu Organversagen führt.

1.4 Therapiestrategien bei Sepsis und Organversagen

Trotz der intensiven experimentellen und klinischen Forschung auf dem Gebiet der Sepsistherapie haben in den letzten Jahren nur wenige neue Therapien, wie etwa die Anwendung von rekombinantem humanem aktiviertem Protein C (rhAPC), Einzug in die klinische Praxis gehalten [19].

Neben der Prophylaxe erstreckt sich die Sepsistherapie auf die kausale Therapie, die supportive Therapie und die adjunktive Therapie.

Diese im Folgenden dargestellten Therapiestrategien finden sich in den Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin [20] oder auch auf der Homepage der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) im Internet unter:

<http://www.awmf-online.de>

1.4.1 Kausale Therapie

Als kausale Therapien werden

- Fokussanierung und
- Antibiotikatherapie

angesehen.

Die Fokussanierung ist dabei Grundvoraussetzung für eine effektive Therapie. Schwierig ist in der klinischen Praxis jedoch oft die Erkennung des Fokus, was zum einen Voraussetzung für die chirurgische Fokussanierung und zum anderen für eine effektive initiale kalkulierte Antibiotikatherapie ist. Dabei sollte die Antibiotikatherapie möglichst frühzeitig begonnen und auf das Risikoprofil des Patienten und die Resistenzlage der jeweiligen Station abgestimmt werden. Im Verlauf wird das Antibiotikaregime alle 2 bis 3 Tage neu evaluiert und ggf. den Ergebnissen des Erregernachweises angepasst.

1.4.2 Supportive Therapie

Als supportive Therapie werden

- Hämodynamische Stabilisierung sowie
- Airway-Management und Beatmung

angesehen.

Zum Zweck der hämodynamischen Stabilisierung werden initial im Wesentlichen kristalloide oder kolloidale Lösungen zum Volumenersatz infundiert. Bei eingeschränktem Herzzeitvolumen wird als Katecholamin der ersten Wahl Dobutamin infundiert. Ein

Vasopressor (z.B. Noradrenalin) wird appliziert, wenn durch die Volumentherapie kein adäquater arterieller Mitteldruck > 65 mmHg erreicht werden kann.

Die Indikation zur Intubation und Beatmung wird bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock großzügig gestellt. Indiziert ist die Intubation bei schwerer Tachypnoe ($AF > 35/\text{min}$), muskulärer Erschöpfung, eingeschränkter Vigilanz und einer pulsoximetrischen Sättigung von $\leq 90\%$ unter Sauerstoffinsufflation.

1.4.3 Adjunktive Therapie

Als adjunktive Therapie gemeinsam mit und zusätzlich zur Standardtherapie werden die Applikation von

- niedrig dosiertem Hydrokortison und
- rekombinantem aktiviertem Protein C (rhAPC)

angesehen.

Für die Anwendung von niedrig dosiertem Hydrokortison bei Patienten im vasopressorpflichtigen Schock konnte ein Überlebensvorteil gezeigt werden [21], ebenso konnte für die frühe Gabe von rhAPC bei Patienten mit schwerer Sepsis und einem Versagen von mindestens 2 Organen eine Letalitätssenkung nachgewiesen werden [22].

1.4.4 Andere supportive Therapien

Als weitere supportive Therapien werden in der Leitlinie

- Thromboseprophylaxe mit Heparin
- Bevorzugt enterale oder auch parenterale Ernährung
- Glutamingabe bei langfristiger, rein parenteraler Ernährung
- Intensivierte Insulintherapie
- Ulkusprophylaxe
- Bluttransfusion bei einem Hb unter 7 g/dl
- Anwendung von Sedierungsprotokollen

empfohlen.

1.4.5 Weitere Therapieansätze

In der Vergangenheit wurden verschiedenste Behandlungsstrategien und Substanzen zur Therapie der Sepsis in experimentellen und klinischen Settings untersucht. Dabei konnten oft potentiell günstige Effekte gezeigt werden, jedoch konnten diese Therapien keinen Einzug in die klinische Routine halten, weil ein deutlicher Vorteil für die Patienten insbesondere in

Bezug auf das Outcome bisher nicht nachgewiesen werden konnte.

Beispiele hierfür sind:

- Humanalbumin
- Dobutamin
- Dopexamin
- Vasopressin
- Phosphodiesterasehemmer
- Inhalatives Stickstoffmonoxid
- Antithrombin
- Immunglobuline
- Selen
- Ibuprofen
- Wachstumshormone
- Prostaglandine
- Pentoxyphyllin
- N-Acetylcystein
- Granulocyte colony stimulating factor (GCSF)
- Plasmapherese
- Hämofiltration ohne Vorliegen eines akuten Nierenversagens

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden auch solche Therapieansätze weiter untersucht.

1.4.6 Organersatztherapien

Im Zusammenhang mit Sepsis, Multiorgandysfunktion und Multiorganversagen macht sich gegebenenfalls eine Organersatztherapie erforderlich.

Die extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) beim Lungenversagen und das MARS-System (molecular adsorbent recirculating system) beim Leberversagen sind bisher keine Standardtherapien.

Etablierte und empfohlene Verfahren bei Organversagen sind die Beatmung beim Lungenversagen und die Hämofiltration beim Nierenversagen.[20]

Nicht empfohlen hingegen wird die Hämofiltration zur Elimination von Sepsismediatoren aus der systemischen Zirkulation ohne das gleichzeitige Vorliegen eines akuten Nierenversagens.

Das akute Nierenversagen tritt häufig während des septischen Multiorganversagens auf. Ursächlich dafür scheinen die veränderte Perfusionssituation und direkte toxische Wirkungen

von Sepsismediatoren zu sein. Physiologischerweise spielt die Niere eine Rolle bei der Elimination von Endprodukten des Stoffwechsels, bei der Osmoregulation, bei der Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes, des Säure-Basen-Haushaltes sowie bei der Sekretion von Hormonen und Vitaminen. Im Rahmen der Nierenersatztherapie können nicht alle diese Funktionen komplett ersetzt werden. Die Elimination harnpflichtiger Substanzen kann extrakorporal mittels einer Hämodialyse erfolgen. Die in dieses System eingebrachten Hämofilter enthalten eine semipermeable Membran, durch die Flüssigkeit und harnpflichtige Substanzen hindurch treten können. In der Intensivmedizin werden Hämofilter aus synthetischen Materialien, wie Polysulfon, Polyamid, Polyacrylnitrit, Polycarbonat und Polymethylmetacrylat eingesetzt.

Zu Grunde liegender Mechanismus bei der Hämofiltration ist die Konvektion. Dieser Mechanismus ist druckabhängig, das bedeutet, dass auf der Blutseite der semipermeablen Membran des Hämofilters gegenüber der Ultrafiltratseite ein erhöhter Druck herrscht. Dadurch werden Flüssigkeit und entsprechend der Durchlässigkeit der Membran harnpflichtige Substanzen praktisch „abgepresst“. Entsprechend der Durchlässigkeit der Filter für Flüssigkeiten wird zwischen Low-Flux-Filtern und High-Flux-Filtern unterschieden. Die kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration (continuous veno-venous hemofiltration – CVVH), die häufig in der Intensivmedizin eingesetzt wird, ist ein Beispiel für diesen Mechanismus. Der Konvektionsmechanismus wird wegen seiner besseren Elimination für mittelgroße Moleküle (Myoglobin, β_2 -Mikroglobulin und einige Zytokine) bei der Nierenersatztherapie in der Sepsis bevorzugt.

Ein weiterer bei der Nierenersatztherapie angewendeter Mechanismus ist die Diffusion. Dabei kommt es zu einem Ausgleich der Konzentration in einer Flüssigkeit gelöster Stoffe entlang eines Konzentrationsgradienten an der semipermeablen Membran. Diese Dialyse, die sich insbesondere zur Elimination von Substanzen mit kleiner Molekülgröße eignet (z.B. Kalium, Kreatinin, Harnstoff), wird in der Intensivmedizin häufig mit der Hämofiltration als so genannte Hämodiafiltration kombiniert (CVVH-D).

Die Porengröße des Hämofilters, die Anzahl der Poren und die Membranoberfläche bestimmen die Eliminationsleistung des Hämofilters. Während kleine Moleküle (Elektrolyte, Kreatinin, Harnstoff, Aminosäuren, Glucose, Bicarbonat etc.) die semipermeable Membran leicht durchdringen können, werden Substanzen mit höherem Molekulargewicht zurückgehalten, was einen relevanten Eiweißverlust verhindert.

Bei kritisch kranken Patienten werden im Wesentlichen kontinuierliche Nierenersatztherapien angewendet, da diese insbesondere bei kreislaufinstabilen Patienten besser toleriert werden.

1.5 Experimentelle Endotoxinämie als Sepsismodell

Die Sepsis ist ein sehr komplexes Krankheitsbild, viele Teile dieses riesigen Puzzles konnten bis jetzt noch nicht eingesetzt werden. Daher stellt die Aufklärung der zu Grunde liegenden Mechanismen eine große Herausforderung dar. Neben der klinischen Forschung spielt die experimentelle Sepsisforschung dabei eine große Rolle. Insbesondere tierexperimentelle Untersuchungen wurden in der Vergangenheit immer wieder herangezogen, um den Effekt einzelner Medikamente und ganzer Therapiestrategien im Zusammenhang mit der Sepsis zu evaluieren. Die dazu geschaffenen Tiermodelle widerspiegeln jedoch nur sehr bedingt die pathophysiologischen Veränderungen bei septischen Patienten und dementsprechend müssen die Schlussfolgerungen, die aus tierexperimentellen Untersuchungen gezogen werden, mit entsprechender Vorsicht interpretiert werden.

Die Vorteile dieser Modelle beruhen jedoch darauf, dass bestimmte Mechanismen einzeln beleuchtet und reproduzierbar untersucht werden können. Der Tierversuch bleibt somit ein wichtiger und unverzichtbarer Zwischenschritt zwischen In-vitro-Untersuchungen und klinischer Forschung.

Prinzipiell bestehen zwei Möglichkeiten zur Induktion von sepsisähnlichen Zuständen bei Versuchstieren. Die erste Möglichkeit ist die Verwendung von vitalen Infektionserregern als Infektionsquelle. So können Erreger in die Haut, in Weichteile oder in ein Gewebe an einem anderen Ort im Organismus eingebracht werden. Der sich entwickelnde Abszess dient als Focus für eine Sepsis. Beschreibungen eines Modells einer hyperdynamen Sepsis als Folge eines Oberschenkelabszesses sowie eines Hautabszessmodells (*Pseudomonas aeruginosa*) stammen bereits aus den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts [23;24].

Eine zweite Möglichkeit stellt Applikation von Endotoxin oder anderen Toxinen dar. Endotoxin ist ein Zellmembranbestandteil (Lipopolysaccharid – LPS) gram-negativer Bakterien (*Escherichia coli*) und ruft viele für die Infektion mit diesen Erregern typische Reaktionen hervor. Dabei spricht man korrekter Weise von einer Endotoxinämie, wenn das LPS in die systemische Zirkulation appliziert wird oder sekundär dorthin gelangt.

Die von einer Peritonitis ausgehende Sepsis ist ein häufig verwendetes Modell, wobei hier entweder vitale Erreger oder auch Endotoxin in die Bauchhöhle implantiert werden können. Ein Standardverfahren zur Auslösung einer Peritonitis ist zökale Ligatur und Punktion (cecal ligation and puncture – CLP). Dieses Modell wurde erstmals 1980 beschrieben [25] und ähnelt stärker einem klinischen Verlauf, da die Entwicklung der Symptome von Peritonitis und Sepsis nach Darmperforation längere Zeit benötigt. Zugleich ist jedoch die Auslösung einer standardisierten und gut quantifizierbaren Infektion schwierig, da nicht genau bestimmt

werden kann, welche und wie viele Erreger zu welchem Zeitpunkt in die Bauchhöhle übertreten.

Wesentliche Vorteile des intravenösen Endotoxinmodells sind die exakte Quantifizierbarkeit der Induktionsdosis und der schnelle (schon innerhalb von 30 Minuten) Eintritt Sepsis-assoziiertes Symptome. Andererseits werden hier nur Bakterienbestandteile und keine „kompletten“ Erreger verwendet, gegen welche verschiedene Spezies unterschiedlich sensibel sind.

Typische Symptome, wie sie bei freiwilligen Probanden nach Endotoxingabe auftreten [26], finden sich auch bei den Versuchstieren. Dazu gehören Anstieg der Herzfrequenz, Blutdruckabfall, Anstieg des Herzzeitvolumens, Fieber, Leukozytose und Lymphozytopenie.

2. Gegenstand, Ziele und Fragestellungen der Untersuchungen

Die Untersuchungsreihe beschäftigte sich mit der Mikro- und Makrozirkulation im Gastrointestinaltrakt sowie mit der Inflammationsreaktion bei Sepsis und Organversagen. Hierzu wurden sowohl experimentelle als auch klinische Untersuchungen durchgeführt. Einerseits sollten experimentell gewonnene Ergebnisse im klinischen Setting überprüft werden (bench-to bedside), andererseits sollten bereits in klinischen Untersuchungen eingesetzte Substanzen im Tiermodell weiter evaluiert werden. Dabei wurden die Effekte verschiedener, während der Sepsis potenziell günstiger, aber bisher noch nicht in der klinischen Routine für diese Indikation eingesetzter Substanzen auf die Mikro- und Makrozirkulation, auf Parameter der Inflammationsreaktion sowie des Organversagens untersucht.

Ein weiterer wichtiger Schwerpunkt der experimentellen Untersuchungen war die Vervollkommnung des von uns verwendeten Tiermodells. So untersuchten wir initial grundlegende Mechanismen des Sepsismodells an Ratten, wie beispielsweise die Modulation der Blutflussszillationen durch den Sympathikus während Endotoxinämie, um die Resultate der tierexperimentellen Untersuchungen besser deuten zu können. Die Testung verschiedener Substanzen in diesem Modell in aufeinander folgenden Serien führte zu einer detaillierten Verfeinerung des Studiendesigns, des speziellen Versuchsablaufes, der angewendeten Untersuchungsmethoden sowie der statistischen Auswertung bei späteren tierexperimentellen Untersuchungsreihen.

Die folgenden wesentlichen Fragestellungen wurden in den einzelnen Teilarbeiten untersucht:

1. Die Untersuchung der Modulation der intestinalen Blutflussszillationen durch den Sympathikus im Tiermodell an der Ratte während der Endotoxinämie erfolgte, um das Verständnis des Tiermodells weiter zu erleichtern und um grundlegende Mechanismen der Sepsis möglicherweise auch beim Menschen erklären zu können.
2. In einer folgenden experimentellen Arbeit wurde der Einfluss des Gerinnungsfaktors XIII auf Parameter der intestinalen Mikrozirkulation und Leukozytenaktivierung in diesem Sepsismodell untersucht.
3. In einer weiteren experimentellen Studie untersuchten wir dann den Einfluss einer vasoaktiven Substanz, des synthetischen Katecholamins Dopexamin, auf

Parameter der intestinalen Mikrozirkulation und Inflammation (Leukozytenaktivierung, TNF- α -Spiegel) im gleichen Sepsismodell.

4. Den Einfluss des Dopexamins auf die gastrointestinale Perfusion untersuchten wir auch bei septischen Patienten. Dabei wurde zusätzlich eine weitere vasoaktive Substanz, das stabile Prostazyklinanalogon Iloprost, getestet. Iloprost hat auch einen Einfluss auf das Gerinnungssystem im Sinne einer Thrombozytenaggregationshemmung.
5. Folgend untersuchten wir den Einfluss von Iloprost auf die Inflammationsreaktion und die Filterlaufzeiten bei kritisch kranken Patienten mit akutem Nierenversagen im Zusammenhang mit einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie (CVVH).

3. Methodik der tierexperimentellen Untersuchungen

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden als prospektive, randomisierte und kontrollierte Untersuchungen in einem für diese Methode zur Verfügung stehendem Tier-OP, der mit einem Kleintierarbeitsplatz ausgestattet ist, durchgeführt.

3.1 Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht zwischen 200 und 250 Gramm und einem Alter zwischen 6 und 8 Wochen verwendet. Die Tiere wurden immer von der gleichen Tierzucht bezogen (Tierzucht Schönwalde GmbH, Schönwalde, Deutschland). Die Tiere waren vor den Untersuchungen in einem klimatisierten Tierstall untergebracht und konnten sich dort vor den Experimenten eine Woche akklimatisieren. Die Tiere wurden bei einem 12-stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus mit freiem Zugang zu Wasser über eine Trinkflasche und zu standardisiertem Rattenfutter (Altromin[®], Lage, Deutschland) gehalten. 18 Stunden vor den Experimenten wurde die Nahrung entzogen, Wasser blieb weiter zugänglich.

Die Untersuchungen wurden jeweils von der zuständigen Tierschutzbehörde des Landes Berlin genehmigt.

3.2 Anästhesie und Monitoring

Die Tiere wurden initial mit 60 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) intraperitoneal anästhesiert. Während der Präparationen, der Laparotomie und der weiteren Untersuchungen wurde die Anästhesie mit 20 mg/kg/h Pentobarbital intravenös aufrechterhalten (Pentobarbital-Mononarkose).

Die Tiere wurden in Rückenlage gebracht und auf einer Wärmeplatte fixiert, dabei wurde eine rektal gemessene Körpertemperatur zwischen 36,5°C und 37°C aufrechterhalten. Zur Sicherung der Atemwege wurden die Tiere tracheotomiert und atmeten während des Versuchs spontan Raumluft über eine in die Trachea eingeführte Kanüle.

Die linke Jugularvene und die A. carotis wurden nach Freipräparation mit einem Polyethylenkatheter (PE50, Innendurchmesser 0,58 mm, Außendurchmesser 0,96 mm; Fa. Portex, Hythe, Kent, Großbritannien) kanüliert. Der arterielle Blutdruck und die Herzfrequenz wurden kontinuierlich erfasst (Biomonitor BMT 5231, RFT, Stassfurt, Deutschland).

Die Tiere erhielten während des Versuches 7,5 ml/kg/h einer kristalloiden Lösung (Thomaejonin[®], Thomae, Biberach, Deutschland) als kontinuierliche Infusion.

3.3 Allgemeines Versuchsprotokoll und Endotoxinämie

Die Tiere wurden für die Versuche zufällig verschiedenen Untersuchungsgruppen zugeteilt (randomisiert). Üblicherweise wurden eine Kontrollgruppe (CON Gruppe) und eine Endotoxingruppe (LPS Gruppe) gebildet. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten eine intravenöse Placebo-Infusion, den Tieren der Endotoxingruppe wurden verschiedene Dosierungen Endotoxin (LPS von *Escherichia coli*, Serotyp O55B5 der Fa. Sigma, Deisenhofen, Deutschland) intravenös als Bolus verabreicht oder kontinuierlich infundiert.

Wenn die Wirkung von Medikamenten getestet wurde, wurden entsprechend zusätzlich Medikamentengruppen gebildet, in welchen den Tieren zusätzlich zum Endotoxin ein Medikament verabreicht wurde, um dessen Wirkung während Endotoxinämie zu untersuchen. Die Untersuchungen starteten üblicherweise mit dem Zeitpunkt 0 h, an dem die Endotoxinämie induziert wurde. Nach Kanülierung oder Laparotomie wurde eine Stabilisierungsperiode von 15 Minuten eingehalten, bevor die Endotoxinämie induziert wurde oder weitere Untersuchungen, wie Intravitalmikroskopie oder Laser-Doppler-Flowmetrie durchgeführt wurden.

Blutentnahmen zur Bestimmung verschiedener Laborparameter (z.B. Blutbild und Differentialblutbild, rattenspezifische Interleukine, Gerinnungsparameter, sonstige Sepsismediatoren etc.; z.B. insgesamt 0,2 ml) wurden zu definierten Zeiten vorgenommen.

Zur Durchführung der Laser-Doppler-Flowmetrie oder Intravitalmikroskopie wurde eine Laparotomie durchgeführt. Dazu wurde das Abdomen mittels eines medianen Längsschnitts geöffnet. Eine Sektion des distalen Dünndarmes wurde sorgfältig auf einer speziellen Vorrichtung platziert. Während der Intravitalmikroskopie wurde der Darm mit einer 37°C warmen Elektrolytlösung (Thomaejonin[®]) superfundiert, um ein Austrocknen zu verhindern.

Am Ende der Versuche wurden die Tiere mit einer Überdosis Pentobarbital getötet.

3.4 Intravitalmikroskopie

3.4.1 Leukozyten-Endothel-Interaktion

Zur Untersuchung der Leukozyten-Endothel-Interaktion wurden die Leukozyten durch die Injektion eines Fluoreszenzfarbstoffes (0,2 ml Rhodamin 6G 0,017 g%, MW 479; Fa. Sigma) markiert. Diese Kontrastanhebung ermöglicht die Darstellung der Zellen in der Mikrostrombahn mittels eines Fluoreszenzmikroskops. Die Gefäße in der Submukosa des Intestinums wurden entsprechend ihrer Aufzweigungen nach Gore und Bohlen klassifiziert [27]. Es wurden jeweils mehrere submukosale Sammelvenolen 3. Grades (V3) mit einem

Durchmesser von etwa 35 μm und postkapilläre Venolen 1. Grades (V1) mit einem Durchmesser von etwa 70 μm untersucht.

Der Flux temporär an der Gefäßwand adhärenter, rollender Leukozyten (Roller) wurde quantifiziert als Anzahl weißer Zellen, die sich mit einer Geschwindigkeit von weniger als zwei Fünfteln der Geschwindigkeit der Erythrozyten in der Mitte der Gefäßbahn innerhalb von 30 Sekunden durch das beobachtete Gefäßsegment bewegten.

Fest an der Gefäßwand adhärente Leukozyten (Sticker) wurden definiert als Zellen, die sich innerhalb von 30 Sekunden nicht bewegten oder vom Gefäßendothel ablösten und wurden quantifiziert als Anzahl der Zellen pro mm^2 der Gefäßoberfläche, welche anhand des Durchmessers und der Länge des Gefäßsegmentes berechnet wurde. Dabei wurde eine zylindrische Geometrie des Gefäßes vorausgesetzt. Jeweils 7 Gefäße jeder Gefäßpopulation wurden bei jedem Tier untersucht.

3.4.2 Funktionelle Kapillardichte

Zur Ermittlung der funktionellen Kapillardichte (FCD) wurden 50 mg/kg Körpergewicht mittels Fluoreszenzfarbstoff Fluoresceinisothiocyanat (FITC) markiertes bovines Serum-Albumin (BSA; Fa. Sigma) intravenös appliziert. Im Negativkontrast können so nicht markierte Erythrozyten vom markierten Serum unterschieden werden. Die Bestimmung der funktionellen Kapillardichte in der intestinalen Mukosa und in den zirkulären und longitudinalen Muskelschichten erfolgte durch eine morphometrische Bestimmung der Länge der durch Erythrozyten perfundierten Kapillaren [28]. Fünf separate Felder wurden dazu pro Schicht untersucht.

3.4.3 Plasmaextravasation

Um die Plasmaextravasation an mesenterialen Venolen zu quantifizieren, wurden 15 Minuten vor der Untersuchung 50 mg/kg Körpergewicht FITC-BSA (Sigma) intravenös injiziert. Die aufgenommenen Fluoreszenzbilder wurden digitalisiert und die von der Fluoreszenzaktivität abhängigen Grauwerte wurden innerhalb von fünf Segmenten der untersuchten Venole (lv) und von fünf zugehörigen umliegenden Regionen des perivenulären Interstitiums (lp) gemessen. Die Grauwerte reichten von 0 (schwarz) bis 255 (weiß). Die Plasmaextravasation als Maß für das endotheliale Leck wurde ausgedrückt als die Ratio lp/lv. Die Auswertung der Bilder erfolgte verblindet.

3.5 Laser-Doppler-Flowmetrie

Eine Laser-Doppler-Sonde (Durchmesser 120 μm ; Wellenlänge 810 nm) wurde mittels einer Kalibrationslösung (Lawrenz GmbH, Sulzbach, Deutschland) geeicht und an einem distalen Segment des Ileums mittels Gewebekleber (Histoacryl[®], Braun, Melsungen, Deutschland) angebracht. Dabei wurde weder eine Kompression noch eine Traktion auf den Darm ausgeübt. Die Position der Sonde wurde während der Untersuchung nicht verändert. Der Situs wurde mit einer transparenten Folie abgedeckt und mittels 37°C warmer Vollelektrolytlösung feucht gehalten. Die Messungen wurden nach einer Stabilisierungsphase von 30 Minuten begonnen. Dazu wurde die Laser-Doppler-Sonde mit einem Laser-Doppler-Blutfluss-Monitor (MBF 3 D, Moore Instruments, Axminster, Großbritannien) konnektiert. Die Flusswerte wurden nach einer Messung von Geschwindigkeit und Konzentration der Erythrozyten berechnet, die Messtiefe der Sonde betrug 1,5 mm. Die Geschwindigkeit wurde mittels des Ausmaßes des Laser-Doppler-Shifts bestimmt. Die Konzentration der Erythrozyten wurde entsprechend des am Fotodetektor gemessenen Stromes berechnet. Der Laser-Doppler-Fluss und der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wurden digitalisiert und mittels eines computerbasierten Systems über 4 Minuten mit einer Sampling-Rate von 40 Hz aufgezeichnet. Das Laser-Doppler-Signal wurde vor der Digitalisierung mittels des MBF 3 D mit einer Eckfrequenz von 0,1 Hz bei einer Sampling-Rate von 40 Hz Tiefpass-gefiltert, um Aliasing-Effekte zu vermeiden. Die Stabilität des Signals wurde visuell über eine minimale Periode von 3,5 Minuten überwacht.

4. Darstellung der eigenen Arbeiten

4.1 Modulation der intestinalen Blutflusssoszillationen durch den Sympathikus während experimenteller Endotoxinämie

Birnbaum J, Lehmann C, Stauss HM, Weber M, Georgiew A, Lorenz B, Pulletz S, Gründling M, Pavlovic D, Wendt M, Kox WJ.

Sympathetic modulation of intestinal microvascular blood flow oscillations in experimental endotoxemia.

Clin Hemorheol Microcirc. 2003;28(4):209-20.

Zusammenfassung zu 4.1 Clin Hemorheol Microcirc. 2003;28(4):209-20.

Die Störung der Mikrozirkulation stellt einen wesentlichen Mechanismus in der Pathogenese der Sepsis dar. Welche Rolle der Sympathikus bei den Endotoxin-induzierten Störungen der Mikrozirkulation spielt, untersuchten wir in einem Sepsismodell an der Ratte.

20 männliche Wistar-Ratten wurden untersucht. 10 Tiere dienten als Kontrollgruppe, 10 Tiere erhielten 5 mg/kg KG/h Endotoxin. Nach Anästhesie, Tracheotomie und Kanülierung von V. jugularis interna und A. carotis wurden nach 30 min, 2 h und 4 h arterielle Blutproben zur Bestimmung der Laktatkonzentrationen und des Hämatokrit entnommen.

In einer Kontrollserie (5 Tiere) applizierten wir nach 2 Stunden Endotoxinämie 10 µg/kg KG Clonidin (Paracefan[®], Boehringer Ingelheim, Deutschland), um die Sympathikusaktivität zu vermindern.

In einer zweiten Kontrollserie von 5 Tieren führten wir vor Endotoxinapplikation eine lokale, operative Sympathektomie durch.

Der intramukosale Blutfluss (IMBF) wurde nach Laparotomie am distalen Ileum mittels Laser-Doppler-Sonde gemessen. Der Laser-Doppler-Fluss (LDF) und die über die A. carotis gemessenen Blutdrücke wurden digital aufgezeichnet und eine Power-Spektral-Analyse wurde durchgeführt.

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) blieb in der Kontroll- und Endotoxingruppe konstant. Die mit Endotoxin behandelten Tiere entwickelten nach 2 h eine Tachykardie.

Bei den Kontrolltieren blieben Hämatokrit und Laktatwerte stabil. Während bei den Endotoxin-Tieren der Hämatokrit nach 4 h moderat abfiel, kam es bei den Endotoxin-Tieren zu einem signifikanten Laktatanstieg.

Es kam nach Endotoxinbelastung zu einem signifikanten Abfall des LDF, während er in der

Kontrollgruppe stabil blieb. Während die chirurgische Denervierung den Abfall des LDF komplett verhinderte, verminderte Clonidin den Abfall des LDF.

Zwei Stunden nach Endotoxinbelastung erhöhte sich die LF-Power des Laser-Doppler-Flux-Signals und des arteriellen Blutdruck-Signals bei den Tieren der Endotoxingruppe, während die Werte der Kontrolltiere unverändert blieben. Die HF-Power von IMBF und MAP blieb in beiden Gruppen konstant, in beiden Gruppen fanden sich keine Veränderungen der Spitzenfrequenzen der LF- und HF-Oszillationen. Die gleichen Spitzenfrequenzen fanden sich in den LF- und HF-Oszillationen des MAP. Clonidin bewirkte eine Reduktion des LF-Signals von IMBF und Blutdruck. Die LF-Power lag etwa im Bereich der Kontrollgruppe. Die HF-Power wurde durch Clonidin nicht beeinflusst. Die chirurgische Sympathektomie beeinflusste während der Endotoxinämie die LF- und HF-Power von IMBF und Blutdruck nicht. Die HF-Spektral-Power von IMBF und Blutdruck blieben nach Clonidingabe und nach Sympathektomie ebenfalls unverändert.

Der intestinale vaskuläre Widerstand (Verhältnis von MAP und IMBF) verminderte sich nach chirurgischer Denervierung.

Zusammenfassend konnten wir mittels Laser-Doppler-Flowmetrie zeigen, dass die Änderungen des Power-Spektrums des arteriellen Blutdruckes während der Endotoxinämie mit den Änderungen in der intestinalen Mikrozirkulation korrelieren. Die Änderungen der Spektral-Power können mit Clonidin verhindert werden. Die Variabilität des IMBF folgt offenbar passiv der Variabilität des Blutdruckes, da die operative Sympathektomie den Anstieg LF-Power des IMBF nicht verhindern kann.

4.2 Einfluss des Gerinnungsfaktors XIII auf die funktionelle Kapillardichte, die Leukozytenaktivierung und auf die Plasmaextravasation während experimenteller Endotoxinämie

Birnbaum J, Hein OV, Lührs C, Rückbeil O, Spies C, Ziemer S, Gründling M, Usichenko T, Meissner K, Pavlovic D, Kox WJ, Lehmann C.

Effects of coagulation factor XIII on intestinal functional capillary density, leukocyte adherence and mesenteric plasma extravasation in experimental endotoxemia.

Crit Care. 2006 Feb;10(1):R29.

Zusammenfassung zu 4.2 Crit Care. 2006 Feb;10(1):R29.

Einen wichtigen Pathomechanismus während der Sepsis stellt die Störung der Mikrozirkulation und der endothelialen Integrität dar. Der Darm spielt in diesem Geschehen eine wichtige Rolle. Eine Schädigung der Mukosabarriere des Darmes hat eine Translokation von Bakterien und Bakterientoxinen zur Folge [5;29]. Infolge der Störung der Integrität der Gefäßwand kommt es während der Sepsis zu einer erhöhten Permeabilität der Gefäßwände für Makromoleküle, in deren Folge sich ein parazelluläres Ödem bildet, diese Ödembildung stellt ein klassisches diagnostisches Kriterium der Sepsis dar. [4].

Der Gerinnungsfaktor XIII (FXIII) wirkt als fibrinstabilisierender Faktor. Die aktive Form FXIIIa ist eine Transglutaminase und vermittelt Bindungen zwischen den Peptidketten des Fibrins und schützt es vor dem Angriff fibrinolytischer Enzyme und trägt somit zur Stabilisierung des Fibrinlots bei [30].

Neben seiner gerinnungsaktiven Wirkung hat der FXIII noch andere, während der Sepsis potenziell günstige Wirkungen. So spielt er eine Rolle im Zusammenhang mit der Zelladhäsion und -migration [31], stabilisiert die Endothelbarriere und vermindert damit die Ödembildung [32-34]. Die zytoplasmatische Expression von FXIIIa in Makrophagen steht im Zusammenhang mit der phagozytotischen Aktivität und somit mit der Leukozytenaktivierung [35]. Neben dem Einfluss auf die Knochen- und Wundheilung [36-38] wird dem FXIII auch ein protektiver Effekt auf die während Inflammation alterierte Darmmukosa zugeschrieben [39-41].

Während der Sepsis können die FXIII-Spiegel erniedrigt sein [42;43], eine niedrige FXIII-Aktivität ist mit der Schwere der Erkrankung und Organschädigung assoziiert [43].

Der Gerinnungsfaktor XIII hat somit einige potenziell günstige Wirkungen während Sepsis und Inflammation, wie Verminderung der Leukozytenaktivierung, Verminderung der

Zelladhäsion und -migration, Verminderung der Ödembildung und Protektion der Darmintegrität.

Ziel der Untersuchung war es, diese Hypothesen in einem experimentellen Setting im Tierversuch zu stützen.

Wir untersuchten 42 männliche Wistar-Ratten in drei Gruppen in einer prospektiven, randomisierten Studie. Die Gruppe 1 diente als Kontrollgruppe (CON). Die Tiere der Gruppe 2 (LPS) und der Gruppe 3 (FXIII) erhielten 2,5 mg/kg KG Endotoxin (LPS von *E. coli*). Bei den Tieren der FXIII-Gruppe wurden 50 U/kg KG FXIII appliziert. Bei jeweils der Hälfte der Tiere wurden die funktionelle Kapillardichte als Maß der Kapillarperfusion sowie die Leukozytenadhärenz am Venenendothel der intestinalen Submukosa mittels intravitale Fluoreszenzmikroskopie gemessen. Die andere Hälfte der Tiere wurde einer Messung der Plasmaextravasation (Fluoreszenzmikroskopie unter Verwendung von FITC-markiertem Albumin) als Maß für die Schädigung der Gefäßwandintegrität unterzogen. Die FXIII-Aktivität wurde bestimmt.

Während Endotoxinämie kam es zu einer Verschlechterung der Perfusion in der intestinalen Mukosa, die sich in einem Abfall der gemessenen FCD zeigte. Bei den mit FXIII behandelten Tieren zeigte sich eine signifikant höhere FCD im Vergleich zu den Tieren der LPS-Gruppe. Die durch die Endotoxinämie erhöhte Leukozyten-Endothel-Interaktion wurde nicht durch FXIII beeinflusst. Auch die Plasma-Extravasation wurde nicht durch FXIII beeinflusst. Die FXIII-Aktivität war während der Endotoxinämie erwartungsgemäß erniedrigt und wurde durch die Substitution deutlich angehoben.

In diesem Sepsismodell konnten wir einen protektiven Effekt von FXIII während Endotoxinämie auf die mukosale Perfusion der Darmschleimhaut der Ratte zeigen.

4.3 Der Einfluss von Dopexamin auf die intestinale Mikrozirkulation und Leukozytenaktivierung während experimenteller Endotoxinämie

Birnbaum J, Klotz E, Spies CD, Lorenz B, Stuebs P, Hein OV, Gründling M, Pavlovic D, Usichenko T, Wendt M, Kox WJ, Lehmann C.

Effects of dopexamine on the intestinal microvascular blood flow and leukocyte activation in a sepsis model in rats.

Crit Care. 2006;10(4):R117.

Zusammenfassung zu 4.3 Crit Care. 2006;10(4):R117.

Da der Störung der hepato-splanchnischen Perfusion im Gastrointestinaltrakt eine entscheidende Bedeutung in der Pathogenese der Sepsis zukommt [5], ist die Aufrechterhaltung oder Wiederherstellung der gastrointestinalen Perfusion ein wichtiger Bestandteil der Sepsistherapie. Neben der Volumentherapie spielt die differenzierte Katecholamintherapie dabei eine große Rolle. Neben anderen Katecholaminen war insbesondere das synthetische Katecholamin Dopexamin im Zusammenhang mit der Verbesserung der Perfusion im Magen-Darm-Trakt in der Vergangenheit immer wieder Gegenstand verschiedener experimenteller [44-48] und klinischer Untersuchungen [49-51].

Zusätzlich scheint Dopexamin auch antiinflammatorische Wirkungen zu haben [52].

Ziel der Untersuchung war es, den Einfluss von Dopexamin auf verschiedene Parameter der gastrointestinalen Perfusion und auf die Inflammationsreaktion in einem Sepsismodell zu testen.

In einer prospektiven, randomisierten Studie untersuchten wir 42 männliche Wistar-Ratten. Die Untersuchung erfolgte in drei Gruppen. Die erste Gruppe diente als Kontroll-Gruppe (CON). Die Tiere der zweiten Gruppe (LPS) und die Tiere der dritten Gruppe (DPX) erhielten 20 mg/kg KG Endotoxin (LPS von *E. coli*) über 15 Minuten. Die Tiere der DPX-Gruppe erhielten zusätzlich 0,5 µg/kg/min Dopexamin i.v. über 4 Stunden. Bei der Hälfte der Tiere erfolgte eine Untersuchung des intestinalen mikrovaskulären Blutflusses (IMBF) mittels Laser-Doppler-Flowmetrie. Bei der anderen Hälfte der Tiere wurde die funktionelle Kapillardichte der zirkulären und longitudinalen Muskelschichten der intestinalen Mukosa untersucht. Zusätzlich wurden die TNF- α -Plasma-Spiegel bestimmt.

Der deutliche Abfall des IMBF während der Endotoxinämie konnte durch die Applikation von Dopexamin verhindert werden, die Werte lagen etwa auf Kontrollniveau. Die in Folge der Endotoxinämie verschlechterte Mukosaperfusion (gemessen an der FCD) in beiden

Muskelschichten wurde durch die Dopexamininfusion ebenfalls günstig beeinflusst. Die erhöhte Leukozytenadhärenz in den V1-Venolen wurde ebenfalls durch die Dopexamininfusion vermindert. Nach einer Stunde Endotoxinämie zeigte sich auch eine Verminderung der TNF- α -Spiegel im Plasma im Vergleich zu den stark erhöhten Werten bei den Tieren der LPS-Gruppe.

Die Dopexamininfusion führte in dem Sepsismodell zu einer Verbesserung der intestinalen Mikrozirkulation sowie zu einer Reduktion der Leukozytenadhärenz und der TNF- α -Spiegel als Marker der Inflammationsreaktion.

4.4 Der Einfluss von Dopexamin und Iloprost auf die Plasma-Disappearance-Rate von Indozyaningrün bei Patienten im septischen Schock

Birnbaum J, Lehmann C, Taymoorian K, Krausch D, Wauer H, Gründling M, Spies C, Kox WJ.

Einfluss von Dopexamin und Iloprost auf die Plasma-Disappearance-Rate von Indozyaningrün bei Patienten im septischen Schock
Anaesthesist. 2003 Nov;52(11):1014-9.

Zusammenfassung zu 4.4 Anaesthesist. 2003 Nov;52(11):1014-9.

Da der Hypoperfusion der intestinalen Mukosa eine wichtige Rolle bei der Pathogenese einer Organdysfunktion zukommt [29], ist ein wesentliches Ziel der Therapie von kritisch kranken Patienten die Aufrechterhaltung einer ausreichenden Perfusionssituation im Gastrointestinaltrakt. Katecholamine, aber auch andere vasoaktive Substanzen spielen hier eine wichtige Rolle. Die potenziellen protektiven Effekte des Dopexamins wurden bereits erwähnt. Durch ihren Einfluss auf die Vasomotorik könnten auch Prostaglandine als Therapieoption in Betracht kommen. Dass das stabile Prostazyklinanalogon Iloprost im Tiermodell unter Endotoxinämie die Mikrozirkulation verbessern und die Leukozytenaktivierung vermindern kann, konnte unsere Arbeitsgruppe in vorangehenden Untersuchungen zeigen [53].

Ziel der Untersuchung war es, die Wirkungen von Dopexamin und Iloprost auf die Perfusionssituation im Gastrointestinaltrakt bei Patienten im septischen Schock zu untersuchen. Als Parameter für die gastrointestinale Perfusion bzw. Leberfunktion wurde die Plasmaverschwinderate (Plasma-Disappearance-Rate-PDR) des Farbstoffes Indozyaningrün (ICG) verwendet [54].

Bei 40 Patienten im septischen Schock wurde in die A. femoralis ein fiberoptischer Katheter eingeführt, mit dessen Hilfe nach intravenöser Injektion der Abfall der ICG-Konzentration über die Zeit gemessen werden konnte (COLD-System). Den Patienten wurde entweder Dopexamin (0,5 µg/kg/min oder Iloprost (1 ng/kg/min) über 24 Stunden intravenös verabreicht. Die PDR, der Herzindex und das intrathorakale Blutvolumen (ITBV) wurden ermittelt. Der routinemäßig ermittelte intramukosale pH-Wert der Magenschleimhaut (pH_i) wurde erfasst.

Sowohl bei der Gabe von Dopexamin als auch bei der Gabe von Iloprost erhöhte sich die PDR von ICG deutlich, ein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert zeigte sich bereits

eine Stunde nach Infusionsbeginn von Iloprost. Eine Stunde nach Ende der Infusion der Substanzen lag die PDR wieder auf Ausgangsniveau. Herzindex, ITBV und pH_i blieben im Beobachtungszeitraum unverändert.

Sowohl das synthetische Katecholamin Dopexamin als auch als auch das stabile Prostazyklinanalogon Iloprost hatten einen positiven Effekt auf die PDR von ICG bei Patienten im septischen Schock und wirkten somit protektiv auf die gastrointestinale Perfusion bzw. auf die Leberfunktion.

4.5 Iloprost bei Organversagen und Inflammation bei intensivpflichtigen Patienten im Zusammenhang mit der kontinuierlichen Nierenersatztherapie

Birnbaum J, Spies CD, Klotz E, Hein OV, Morgera S, Schink T, Ziemer S, Grund MS, Saalman R, Kox WJ, Lehmann C.

Iloprost for additional anticoagulation in continuous renal replacement therapy - a pilot study. *Ren Fail.* 2007;29(3):271-7.

Zusammenfassung zu 4.5 Ren Fail. 2007;29(3):271-7.

Im Zusammenhang mit einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie (Continuous Renal Replacement Therapy – CRRT) bei kritisch kranken Patienten mit Organversagen ist eine adäquate Antikoagulation zur Verhinderung thromboembolischer Komplikationen und zur Verhinderung einer frühen Filterokklusion notwendig. Goldstandard war bisher als Antikoagulation das Heparin, zunehmend wird aber auch routinemäßig die regionale Zitrat-Antikoagulation eingesetzt [55]. Eine mögliche Alternative ist der zur Standardheparinisierung additive Einsatz von thrombozytenaggregationshemmenden Prostaglandinen [56]. Zusätzlich zur gerinnungshemmenden Wirkung der Prostaglandine könnten bei Patienten mit Organversagen noch andere protektive Wirkungen der Prostaglandine von Vorteil sein, wie der günstige Einfluss auf die gastrointestinale Perfusion bzw. die Leberfunktion, die Verbesserung der Mikrozirkulation oder die Verminderung der Leukozytenaktivierung im Sinne einer antiinflammatorischen Wirkung [53].

Nachdem unsere Arbeitsgruppe bereits im experimentellen Sepsismodell bei Ratten diese antiinflammatorische und zirkulationsverbessernde Wirkung von Iloprost nachweisen konnte [53] und nachdem wir auch im klinischen Setting bei septischen Patienten positive Effekte auf die gastrointestinale Perfusion bzw. auf die Leberfunktion nachweisen konnten [57], schien es indiziert, diese Substanz auch bei kritisch kranken Patienten im Zusammenhang mit der Anwendung eines Nierenersatzverfahrens zu testen.

Ziel der Studie war es, neben dem Einfluss des stabilen Prostazyklinanalogons Iloprost auf die Filterlaufzeiten auch den Einfluss dieser Substanz auf die Inflammationsreaktion während der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration (Continuous veno-venous hemofiltration – CVVH) bei Patienten im akuten Nierenversagen zu untersuchen.

In einer prospektiven, randomisierten Pilotstudie wurden 20 Patienten mit akutem Nierenversagen, die sich einer CVVH unterziehen mussten, untersucht. Die Untersuchung erfolgte in 2 Gruppen. Die Patienten der Heparin-Gruppe erhielten eine

Standardheparinisierung. Die Patienten der Iloprost-Gruppe erhielten additiv zur Standardheparinisierung 1 ng/kg/min Iloprost. Primärer Zielparameter war die Filterlaufzeit. Durch die Iloprost-Applikation konnte die Filterlaufzeit signifikant verlängert werden. Der relative Abfall der Thrombozytenzahl war in der Iloprost-Gruppe vermindert. Es traten unter der Therapie keine Blutungskomplikationen auf. Es fand sich kein Unterschied in den Thrombozyten-Funktions-Assays zwischen den Gruppen. Ein Einfluss der Iloprost-Therapie auf die gemessenen Inflammationsparameter (IL-6, sCD-14) konnte nicht nachgewiesen werden.

Zusammenfassend führt die zur Standardheparinisierung zusätzliche Applikation von Iloprost während CVVH bei Patienten im akuten Nierenversagen zu einer signifikanten Verlängerung der Filterlaufzeiten bei gleichzeitig protektiver Wirkung auf die Thrombozyten.

5. Diskussion

5.1 Modulation der intestinalen Blutflusssoszillationen durch den Sympathikus während experimenteller Endotoxinämie

Eine Minderperfusion im Gastrointestinaltrakt spielt in der Pathogenese der Sepsis und des Multiorganversagens eine entscheidende Rolle [29]. Deshalb kommt der Ergründung der zugrunde liegenden Pathomechanismen eine wichtige Rolle zu. Ziel unserer experimentellen Arbeit war es, den Einfluss des Sympathikus auf den intestinalen mikrovaskulären Blutfluss und den arteriellen Blutdruck in einem Sepsismodell an der Ratte zu untersuchen. In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass in der Sepsis eine Vasokonstriktion mit konsekutiver Hypoperfusion als Reaktion auf das Eindringen von Bakterien in die systemische Zirkulation eine wichtige Rolle spielt [58-61]. Diese Hypoperfusion zu Ungunsten des Gastrointestinaltraktes kann bei erniedrigtem, aber auch bei stabilem [60] oder sogar bei erhöhtem Herzzeitvolumen [62] entstehen. Auch eine Umverteilung des Blutflusses innerhalb der Schichten der Darmwand kann ursächlich für eine Minderperfusion einzelner Areale sein [63].

Ziel der Untersuchung war die Evaluierung verschiedener Messmethoden zur Untersuchung des Blutflusses und seiner Änderung sowie zugrunde liegender Mechanismen in einem experimentellen Sepsismodell.

Die Laser-Doppler-Flowmetrie ist ein häufig eingesetztes Verfahren zur relativen Messung der Gewebepfusion in experimentellen [45;53] und klinischen Settings [51;64;65]. Zwar können mit dieser Technik keine absoluten Blutflüsse gemessen werden, jedoch ist es eine gut geeignete Technik, um relative Veränderungen des Blutflusses schnell und reproduzierbar zu erfassen. Die Laser-Doppler-Sonden können klinisch überall dort eingesetzt werden, wo das Gewebe mit der Sonde erreicht werden kann, wie zum Beispiel auf der Haut [66], endoluminal mittels Sonden beispielsweise im Magen [49], oder klinisch bei Patienten intraoperativ im Situs [67] und auch experimentell nach Freilegung der entsprechenden Organe im Tierversuch [68].

Mittels der Spektralanalyse des Laser-Doppler-Signals können phasenhafte Schwankungen des mikrovaskulären Blutflusses erfasst werden. Diese oszillatorischen Flussmuster scheinen die Modulation der vasomotorischen Aktivität der Arteriolen durch den Sympathikus widerzuspiegeln [69]. Somit ergibt sich eine gute Möglichkeit, den Einfluss des autonomen Nervensystems auf die Mikrozirkulation während der Sepsis zu untersuchen. Erhöhte

Oszillationsfrequenzen in der Mikrozirkulation der Haut nach einem ischämischen Stimulus können bei kritisch kranken Patienten ein ungünstiger prognostischer Parameter im Sinne eines verschlechterten Outcomes sein [66].

Die Endotoxin-Belastung führte in unserer Untersuchung wie erwartet zu einer Abnahme des mittels Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen Blutflusses in der Darmwand des distalen Ileums der Versuchstiere. Diese Verminderung des Flusses stand im Zusammenhang mit der Verminderung der Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten. Wegen der gleichen Hämatokritwerte in den Gruppen konnten wir einen Einfluss sinkender Hämatokritwerte auf den gemessenen Fluss ausschließen. Dieser Abfall der Konzentration von Erythrozyten, wie man ihn in der Sepsis finden kann, kann ebenfalls zur niedrigeren mittels Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen Flusswerten führen [63;70]. Eine Erniedrigung des systemischen Blutdruckes scheidet ebenfalls als Ursache für den erniedrigten Laser-Doppler-Fluss aus, da die Blutdruckwerte während der Untersuchung stabil waren. Insgesamt fand sich eine eher hyperdynamische Kreislauftsituation mit erhöhten Herzfrequenzen und erhöhten Laktatwerten, welche Ausdruck der Hypoperfusion sein könnten. Diese erhöhten Laktatwerte könnten zu einer Verschlechterung der rheologischen Eigenschaften der roten Blutzellen beitragen und somit ebenfalls den Blutfluss verschlechtern [71;72].

Eine akute splanchnische Denervierung führte in unserem Experiment zu einem vorübergehenden systemischen Blutdruckabfall und einer Reduktion des intramukosalen Blutflusses. Nach weniger als 5 Minuten stellten sich jedoch wieder Blutdruck- und Flusswerte ein, die auf dem Ausgangsniveau lagen. Die chirurgische Denervierung konnte den durch die Endotoxinämie ausgelösten Abfall des intramukosalen Blutflusses vollständig aufheben. Somit scheint die Verminderung des intramukosalen Blutflusses durch eine sympathikusvermittelte Vasokonstriktion ausgelöst zu werden.

Die Variabilität der Laser-Doppler-Signale enthält sowohl rhythmische als auch nicht rhythmische Komponenten. Mittels computergestützter Analyse der Blutdrucksignale und der Herzfrequenzsignale können hochfrequente (high frequency - HF) und niederfrequente (low frequency - LF) sowie sehr niederfrequente (very low frequency - VLF) Oszillationen erfasst werden [73]. Während des Experiments fanden wir bei allen Tieren LF-Oszillationen mit Frequenzen um 0,4 Hz, die sich jedoch nicht einer entsprechenden Schicht der Darmwand, wie beispielsweise Mukosa, Submukosa, Muskularis oder Serosa, zuordnen lassen. Diese LF-Komponente des Blutdruckes wird der sympathischen Modulation des Gefäßtonus zugeschrieben, weil sie durch eine Sympathikusblockade aufgehoben werden kann [74]. Die schnelle Vasokonstriktion von größeren, stark innervierten Arteriolen im Intestinum scheint

dabei hauptsächlich vom Sympathikus reguliert zu werden, während die Vasokonstriktion kleinerer Arteriolen langsamer abläuft und eher durch humorale Stimuli sowie die Freisetzung von lokalen Vasokonstriktoren, wie Leukotriene und Endothelin, beeinflusst wird [75]. Eine erhöhte sympathische Modulation des Gefäßtonus findet sich in der hyperdynamen Phase der Sepsis und spiegelt sich in einer Erhöhung der LF-Power wider [60].

Die Gabe von Clonidin verminderte den Anstieg der LF-Power des Laser-Doppler-Flusses und des arteriellen Blutdruckspektrums während der Endotoxinämie. Im Wesentlichen wirkt Clonidin als postsynaptischer α_2 -Rezeptor-Agonist in der Medulla oblongata, dort agiert der Nucleus tractus solitarii als Depressorregion des vasomotorischen Zentrums der Medulla oblongata. Eine Stimulation dieser Rezeptoren führt zu einer Inhibition der peripheren Wirkung des Sympathikus. Entsprechend zeigt sich auch im Tierversuch nach Clonidingabe eine deutliche Reduktion der LF-Power. Neben der Verminderung des peripheren Sympathikotonus verstärkt Clonidin dabei auch den Baroreflexbogen mit der Folge einer verminderten Blutdruckvariabilität, die wiederum zu einer Reduktion der LF-Power führt [76]. Die Oszillationen des intramukosalen Blutfluss-Signals können in Folge der Oszillationen des Blutdrucks als direkter Zusammenhang zwischen Blutdruck und Blutfluss auftreten. Da die chirurgische splanchnische Denervierung den Anstieg der LF-Power nach Endotoxinbelastung nicht signifikant unterdrücken konnte, scheint dieser Mechanismus in unserer Untersuchung auch an der Generierung der LF-Variabilität des intramukosalen Blutflusses beteiligt zu sein. Folglich reduzierte Clonidin die LF-Komponente des intramukosalen Blutflusses über seinen systemischen Effekt auf die Variabilität des Blutdruckes. Somit verhinderte die chirurgische Denervierung auch nicht den Anstieg der LF-Variabilität, weil die systemische Modulation des Sympathikotonus nicht durch die lokale Denervierung beeinflusst wurde. Die LF-Variabilität des Blutdruckes löste also Fluktuationen des intramukosalen Blutflusses aus.

Lokale Mechanismen in der Gefäßwand können ebenfalls das Power-Spektrum beeinflussen und müssen so bei der Beurteilung der Mechanismen mit in Betracht gezogen werden. So spielt lokales Stickstoffmonoxid (NO) bei der Regulation der Blutdruckvariabilität eine Rolle [77]. Die Änderungen des Blutdruckes können über eine Beeinflussung des Scherstresses in den Gefäßen zu einer Freisetzung von NO aus dem Gefäßendothel führen [78]. Dieses endogene NO kann die Blutdruck-Variabilität abdämpfen [79]. In unserer Untersuchung könnte somit eine Verminderung des Blutflusses zu einer Verminderung der NO-Freisetzung durch das Endothel und somit zu einer Abschwächung der möglichen dämpfenden Wirkung des Endothels auf die Blutdruck-Variabilität geführt haben. Dies kann zu einer Erhöhung der LF-

Variabilität des Blutdruckes führen. Auch andere Mechanismen, welche die Mikrozirkulation beeinflussen, sind denkbar. Bei niedrigen NO-Konzentrationen erhöht sich die Rigidität der Erythrozyten mit der Folge verschlechterter rheologischer Eigenschaften, was sich negativ auf die Mikrozirkulation auswirken kann [80].

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass die Endotoxinämie in einer systemischen Erhöhung des Sympathikotonus resultiert, was sich durch eine Erhöhung der LF-Power des Blutdruckspektrums zeigt. Änderungen des arteriellen Power-Spektrums während der Endotoxinämie sind von korrespondierenden Änderungen der intestinalen Mikrozirkulation begleitet und können medikamentös durch die Applikation von Clonidin geblockt werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung helfen somit, die Resultate vergangener und folgender experimenteller Arbeiten bei Endotoxinämie zu deuten und das verwendete Tiermodell weiter zu vervollkommen.

5.2 Einfluss des Gerinnungsfaktors XIII auf die funktionelle Kapillardichte, die Leukozytenaktivierung und auf die Plasmaextravasation während experimenteller Endotoxinämie

Ziel der Untersuchung war es, verschiedene, während der Endotoxinämie pathologisch veränderte Parameter, wie die verringerte funktionelle Kapillardichte, die erhöhte Leukozyten-Endothel-Interaktion und die erhöhte Plasmaextravasation durch die Applikation des potenziell protektiv wirkenden Gerinnungsfaktors XIII günstig zu beeinflussen. Der Abfall der FCD im Vergleich zu den Tieren in der Endotoxingruppe konnte durch die Applikation von FXIII verhindert werden, während sich kein Einfluss der Substanz auf die Leukozyten-Endothel-Interaktion fand.

Die höhere FCD bei den Tieren der FXIII-Gruppe im Vergleich zu den unbehandelten Tieren in der LPS-Gruppe ist ein Ausdruck einer protektiven Wirkung von FXIII auf die Kapillarperfusion in diesem Modell. Erwartungsgemäß fanden wir bei den Tieren der LPS-Gruppe einen Abfall der F-XIII-Aktivität. Diesen Abfall kann man auch bei septischen Patienten finden, er ist mit der Schwere der Erkrankung und Organschäden assoziiert [43]. Dementsprechend scheint es sinnvoll, FXIII zu substituieren, um wieder physiologische Werte zu erreichen. Die F-XIII-Werte lagen in unserer Untersuchung bei den substituierten Tieren über den Werten der LPS-Gruppe. Dabei lagen sie nach 1,5 Stunden über und am Ende des Versuches auf Kontrollniveau. Die zu Grunde liegenden Mechanismen für eine Verbesserung der Perfusion in den Kapillaren durch die Applikation von FXIII können in unserem Modell nicht untersucht werden. Bekannte pro-angiogenetische Effekte, die nach F-XIII-Applikation in einem Ratten-Cornea-Modell zu einer Neovaskularisation geführt haben [81], können in unserem Kurzzeitmodell keine Rolle gespielt haben, da dies eher Langzeiteffekte sind. Da der Gerinnungsfaktor XIII eine pro-koagulative Substanz ist, welche in der letzten Phase die Vernetzung von Fibrin-Monomeren ermöglicht und das Fibrin-Gerinnel stabilisiert, hätte auch eine Verschlechterung der Kapillarperfusion infolge einer verstärkten Fibrinbildung und Thrombosierung die Folge der F-XIII-Applikation sein können. So konnte in einem Sepsis-Modell in Ratten gezeigt werden, dass FXIII eine LPS-induzierte disseminierte intravasale Gerinnung auch begünstigen kann [82].

Obwohl die Plasmaextravasation in der LPS-Gruppe zu höheren Werten im Vergleich zu den anderen Gruppen tendierte, führte die Endotoxinämie in unserem Modell zumindest an den mesenterialen Venolen nicht zu der erwarteten statistisch signifikanten Erhöhung der Plasmaextravasation. Folgend konnten wir auch keine Verminderung der Plasmaextravasation durch die Applikation von FXIII zeigen. Welche Rolle die Plasmaextravasation

möglicherweise in der intestinalen Mukosa gespielt hat, konnten wir in unserem Modell ebenfalls nicht untersuchen. Denkbar ist auch, dass eine relevante Ödembildung in der Mukosa die mikrovaskuläre Perfusion beeinträchtigt. Bei dem Einsatz einer höheren Endotoxindosis oder der Testung einer größeren Tierzahl könnte die Plasmaextravasation am Mesenterium sowohl durch Endotoxin als auch durch FXIII, möglicherweise bei erhöhter F-XIII-Dosis, signifikant beeinflusst werden. In jedem Fall sollte die Mikrozirkulation auch im Zusammenhang mit der Extravasation und Ödembildung während der Endotoxinämie diskutiert werden. Der protektive Effekt von FXIII auf die Funktion und Integrität der Endothelbarriere wurde schon in mehreren Arbeiten untersucht [32-34;83-85]. In einem Tiermodell konnte gezeigt werden, dass die Endothelzell-Läsion durch ein Endothelzell-Antiserum vermindert werden konnte, wenn FXIII beigemischt wurde, bevor dieses Antiserum intradermal in die Rückenhaut von Guinea-Schweinen injiziert wurde. Nach vorangegangener systemischer Injektion wurde dazu die Menge von Evans-Blau an der Injektionsstelle in der Haut bestimmt. Dabei hatte FXIII sowohl auf die Farbstoff-Leckage als auch auf die Schwellung einen vermindernenden Einfluss. Die Autoren deuteten das als einen antiinflammatorischen Effekt von FXIII. Durch einen antiinflammatorischen Effekt könnte FXIII auch zu einer verbesserten Kapillarperfusion beitragen. Im *in-vitro*-Versuch mit kultivierten aortalen Endothelzellen vom Schwein und isoliert perfundierten Ratten-Herzen führte FXIII zu einer Reduktion der Permeabilität der Endothelzellschicht für Albumin und der myokardiale Wassergehalt war nach einem Ischämie-Reperfusion-Versuch vermindert. Dies deutet darauf hin, dass aktivierter FXIII die endotheliale Permeabilität verringert.

In unserer Untersuchung zeigte sich nach Endotoxin-Belastung eine deutliche Erhöhung der Leukozytenadhärenz am Endothel von V1- und V3-Venolen der Submucosa des Dünndarmes. Bei den mit F-XIII behandelten Tieren zeigte sich tendenziell eine Verminderung der Werte, jedoch wurde ebenfalls keine statistische Signifikanz erreicht. Auch hier könnte eine Erhöhung der F-XIII-Dosis zum Erfolg führen, denn F XIII scheint eine Rolle bei der Vermittlung der Adhärenz zwischen Leukozyten und Endothelzellen zu spielen. FXIIIa und Gewebstransglutaminase finden sich auf der Oberfläche von monozytischen Zellen und können die Adhäsion von monozytischen Zellen zu Fibronectin beeinflussen. *In vitro* begünstigte FXIIIa die Ausbreitung und die Adhäsion verschiedener Zellen (humane Leberzellen, humane Leukämiezellen, humane Melanomzellen und tierische Endothelzellen der Aorta) an mit F XIII beschichtete Oberflächen. Dies deutet darauf hin, dass F XIII selbst die Zellinteraktion vermittelt. *In vitro* vermittelt FXIIIa die Adhäsion von Endothelzellen und bindet in Lösung selbst an sie [86].

Des Weiteren sind einige Integrine (wie z. B. $\alpha_4\beta_1$ und $\alpha_9\beta_1$) Liganden für FXIII [87]. Integrine sind Schlüsselmoleküle für die Vermittlung der Zellinteraktion zwischen Leukozyten und Endothelzellen. Durch einen antiinflammatorischen Effekt könnte FXIII auch zu einer verbesserten Kapillarperfusion beitragen.

Zusammenfassend schützt FXIII in diesem Sepsismodel bei Ratten die mukosale Kapillarperfusion vor Endotoxin-induzierten Schädigungen. Einige bekannte, potenziell protektive Effekte rechtfertigen eine weitere Untersuchung dieser Substanz in weiteren experimentellen und klinischen Studien.

5.3 Der Einfluss von Dopexamin auf die intestinale Mikrozirkulation und Leukozytenaktivierung während experimenteller Endotoxinämie

Da es während der Sepsis zu einer Störung der Vasomotion und in der Folge zu einer Störung der globalen und regionalen Perfusion kommt, ist es nahe liegend, diese Störungen mit vasoaktiven Substanzen zu behandeln, die Aufrechterhaltung der globalen und regionalen Perfusion während der Sepsis mittels vasoaktiven Substanzen und insbesondere mittels Katecholaminen gehört zu den etablierten Therapieregimen. Der Einsatz von Katecholaminen erfolgt dann, wenn mittels Volumengabe alleine keine ausreichende Kreislaufstabilisierung erreicht werden kann. Als Katecholamin der ersten Wahl wird in den aktuellen Leitlinien Dobutamin empfohlen, kann keine ausreichende Stabilisierung erreicht werden, wird Noradrenalin als Vasopressor empfohlen.

Verschiedene Katecholamine, wie Dopamin, Dobutamin, Adrenalin und Noradrenalin und auch das synthetische Katecholamin Dopexamin lagen im Zusammenhang mit Sepsis und Inflammation im Fokus klinischer und experimenteller Untersuchungen [45;48;48;49;51;88-90]. Bei diesen Untersuchungen spielte insbesondere der Einfluss der Substanzen auf die gastrointestinale Perfusion eine Rolle [44;46-51;88;90-92]. Zum anderen scheinen auch antiinflammatorische Effekte im Zusammenhang mit dem Einsatz beispielsweise von Dopexamin in der Sepsis eine Rolle zu spielen. So vermindert Dopexamin im Tiermodell die Leukozytenaktivierung [93] und wirkt antiinflammatorisch bei Patienten nach kardiopulmonalem Bypass [94].

Ziel unserer experimentellen Untersuchung war es, weitere Informationen zur Wirkung des synthetischen Katecholamins Dopexamin im Zusammenhang mit dem von uns benutzten Sepsismodell zu erhalten. Zum einen wurden Parameter der gastrointestinalen Perfusion (Laser-Doppler-Fluss, funktionelle Kapillardichte) und zum anderen Inflammationsparameter (Leukozytenaktivierung, TNF- α -Spiegel im Plasma) unter Endotoxin-Belastung gemessen.

Erwartungsgemäß führte die Endotoxinämie zu einem deutlichen Abfall des intramukosalen Blutflusses in der Darmwand des distalen Ileums der Ratten. Dies entspricht den Ergebnissen der vorangegangenen Untersuchung am gleichen Tiermodell [95]. Die Applikation von Dopexamin führte zu einem deutlichen Anstieg des intramukosalen Blutflusses. Dies entspricht den Ergebnissen anderer experimenteller [91] und klinischer Untersuchungen [49;92;96], die ebenfalls einen Einfluss von Dopexamin auf den mittels Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen Blutfluss im Gastrointestinaltrakt zeigen konnten. So erhöhte Dopexamin in einem Herz-Lungen-Bypass-Modell unter milder Hypothermie bei Kaninchen den mittels Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen Blutfluss im Jejunum und Ileum [91]. In

einem Schweinmodell beeinflusste Dopexamin den mukosalen Blutfluss während intestinaler Hypotension zwar nicht, jedoch führte Dopexamin zumindest zu einer intestinalen Vasodilatation [46]. Bei postoperativen kardiochirurgischen Patienten nach Herz-Lungen-Maschine führte die Dopexamin-Applikation zu einem Anstieg der mittels endoluminaler Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen mukosalen Perfusion im Jejunum [51]. Auch bei Patienten im septischen Schock konnte gezeigt werden, dass die Kombination von Dopexamin mit Noradrenalin den mittels Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen Blutfluss der Magenschleimhaut stärker erhöht, als die alleinige Behandlung mit Adrenalin. Dies zeigt, dass entsprechend der aktuellen Situation der Patienten eine Kombination verschiedener Katecholamine durchaus sinnvoll ist. Insgesamt sind die Daten zum Dopexamin allerdings widersprüchlich. So konnte Dopexamin beispielsweise während großer Baueingriffe bei Patienten den intramukosalen Kohlendioxid-Partialdruck als Parameter der Perfusion der Magenschleimhaut nicht verbessern [50]. In einer weiteren klinischen Untersuchung während Eingriffen an der Bauchorta fand sich kein günstiger Effekt auf die Gewebeoxygenierung und die hämodynamische Situation durch Dopexamin [97]. Bisher hat Dopexamin keinen Eingang in die aktuellen Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin zur Therapie der Sepsis [20] gefunden.

In unserer Untersuchung führte die Endotoxin-Belastung, ebenfalls wie erwartet, zu einer Beeinträchtigung der funktionellen Kapillardichte in den longitudinalen und zirkulären Muskelschichten der Submukosa als Parameter für die Mikrozirkulation. Diese Mikrozirkulationsstörungen konnten durch die Dopexamin-Applikation abgeschwächt werden. Allerdings fand sich kein Einfluss durch die Endotoxin-Belastung oder die Dopexamin-Applikation auf die FCD in der Mukosa. Obwohl die FCD in der Mukosa unverändert blieb, führte die Endotoxin-Belastung zu einem Abfall der mittels Laser-Doppler-Flowmetrie gemessenen Perfusion in der Darmwand. Dieses Phänomen lässt sich dadurch erklären, dass

die Laser-Doppler-Flowmetrie durch ihre Eindringtiefe von 1-2 mm den Fluss in der gesamten Darmwand erfasst und die FCD der Mukosa sich nur auf den mukosalen Anteil der Perfusion fokussiert. Methodenbedingt verringert sich die FCD auch nicht bei einem geringeren Fluss durch die Kapillaren, sondern erst, wenn die Perfusion in einzelnen Kapillaren komplett sistiert. Auch eine Redistribution des Blutflusses innerhalb der Darmwand kommt als Erklärung in Frage.

Bei der Interpretation von Ergebnissen, die aus Tiermodellen gewonnen werden, müssen die

Limitationen dieser Modelle selbstverständlich immer berücksichtigt werden. Neben den generellen Limitationen von Tiermodellen und deren begrenzter Übertragbarkeit auf die Situation bei Patienten finden sich auch spezielle, aus dem jeweiligen Setting resultierende Limitationen. So kam es in unserer Untersuchung neben einem Anstieg der Herzfrequenz auch zu einem Abfall des Blutdruckes bei den Tieren unter Endotoxinämie. Die Tiere erhielten während der Untersuchung eine Infusion von 7,5 ml/kg Körpergewicht einer Vollelektrolytlösung. Trotzdem könnte eine bei den septischen Tieren auftretende Hypovolämie die Untersuchungsergebnisse beeinflusst haben. Andererseits ist eine Hypovolämie eine typische Situation, wie sie auch während der klinischen Sepsis auftritt. Zusätzliche Messungen, beispielsweise des Herzzeitvolumens oder der globalen Perfusion des Gastrointestinaltraktes, könnten zusätzliche Informationen liefern, die die Interpretation der Ergebnisse erleichtern.

Die Dopexamin-Applikation führte im Vergleich zu den nicht behandelten Endotoxin-Tieren zu einer signifikanten Reduktion der Anzahl der fest am Endothel adhärenen Leukozyten im Sinne einer Reduktion der Leukozytenaktivierung und damit einer antiinflammatorischen Wirkung. In einem ähnlichen Tiermodell konnte ebenfalls eine Verringerung der Leukozytenadhärenz durch Dopexamin bei Ratten gezeigt werden [93]. Die Leukozytenaktivierung ist ein mehrstufiger Prozess, der von einer Margination der Leukozyten aus dem Blutstrom an den Rand des Gefäßes über eine temporäre Adhärenz der Zellen am Endothel als förmliches Rollen der Leukozyten über die Gefäßwand bis zur festen Adhärenz (Sticking) am Endothel führt [98;99]. Die aktivierten Leukozyten setzen verschiedene Mediatoren frei (z.B. freie Sauerstoffradikale, Elastase, Kollagenase, Myeloperoxidase), welche das Endothel schädigen können. Eine Gewebsschädigung des Endothels ist somit eine Folge der Leukozytenaktivierung [100-102]. Eine Störung der Integrität mit erhöhter Durchlässigkeit des Endothels für Makromoleküle ist die Konsequenz und weitere Kaskadensysteme werden aktiviert [103-105]. Ein therapeutischer Ansatz könnte somit die Verminderung oder Blockierung der Leukozytenadhärenz am Gefäßendothel sein. Allerdings haben klinische Studien zu diesem Thema bisher keinen Durchbruch gebracht [106]. Die verminderte Leukozytenadhärenz könnte auch durch eine Verminderung der Radikalbildung im Xanthin-Oxidase-Weg bedingt sein. So war die Produktion von Harnsäure während experimenteller Endotoxinämie nach Applikation von Dopexamin verringert [107]. Neben der Inflammation beeinflusst auch die lokale Perfusionssituation die Leukozytenadhärenz. Ein wichtiger Faktor dabei ist der Scherstress innerhalb des Blutflusses im Gefäß. So kann eine Verbesserung des lokalen Blutflusses die Leukozytenadhärenz

vermindern [103]. Betrachtet man in unserer Untersuchung die Verbesserung des Laser-Doppler-Flusses nach Dopexamin-Applikation, könnte dieser Mechanismus ursächlich für die Verminderung der Leukozytenadhärenz sein.

Ein typischer initialer Marker der Inflammation während der Sepsis ist der Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α), der während der experimentellen Endotoxinämie innerhalb weniger Minuten nachweisbar ist und innerhalb von 1 bis 2 Stunden abhängig von der Endotoxindosis ansteigt [108;109]. Somit ist der TNF- α -Spiegel auch ein guter Indikator der Sepsisinduktion in experimentellen Settings. In unserem Modell fanden wir nach einer Stunde TNF- α -Spitzenspiegel, die eine suffiziente Induktion einer septischen Situation nahe liegen lassen. Nach 2 Stunden fielen die Spiegel etwa auf die Hälfte der Spitzenspiegel, nach 4 Stunden waren sie im Vergleich zu den Ausgangswerten noch erhöht. Das Ausmaß der TNF- α -Freisetzung in unserer Studie war mit dem anderer Studien vergleichbar [110-112]. Die Dopexamin-Applikation reduzierte die TNF- α -Freisetzung signifikant um 47% im Maximum eine Stunde nach Beginn der Endotoxinämie. Eine Verringerung der TNF- α -Freisetzung durch Dopexamin konnte auch bei Patienten nach kardiopulmonalem Bypass gezeigt werden [94].

Wir verwendeten in unserem Modell eine Dosierung von Dopexamin von 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. Möglicherweise existiert eine Dosis-Wirkungs-Beziehung bei den beobachteten Effekten, die nur durch die Testung verschiedener Dopexamin-Dosierungen nachgewiesen werden kann. Dies wäre ein Ansatzpunkt für weitere experimentelle und klinische Untersuchungen.

Zusammenfassend konnten wir in unserer Untersuchung in einem Sepsismodell bei Ratten zeigen, dass das synthetische Katecholamin Dopexamin den intestinalen mikrovaskulären Blutfluss verbessert und die Leukozytenadhärenz in den Venolen der intestinalen Submukosa vermindert. Dies ist ebenso wie die Verminderung der TNF- α -Freisetzung als antiinflammatorische Wirkung zu interpretieren.

5.4 Der Einfluss von Dopexamin und Iloprost auf die Plasma-Disappearance-Rate von Indozyaningrün bei Patienten im septischen Schock

Einen wesentlichen Pathomechanismus bei der Entwicklung von Mikrozirkulationsstörungen in der Sepsis stellt die Störung der Vasomotion dar. Nahe liegend ist es daher, mittels vasoaktiven Substanzen Einfluss auf die gestörten Perfusionsverhältnisse zu nehmen.

In unserer Untersuchung verwendeten wir dazu bei Patienten im septischen Schock zum einen das synthetische Katecholamin Dopexamin sowie das ebenfalls vasoaktive, stabile Prostazyklinanalogon Iloprost.

Um die Wirkungen der beiden Substanzen auf die gastrointestinale Perfusion zu charakterisieren, wurde die Plasmaverschwinderate des Farbstoffes Indozyaningrün als Globalparameter herangezogen. Diese wurde mittels des bettseitig einsetzbaren COLD-Systems ermittelt. Mit der Hilfe dieses Systems können auch weitere relevante Parameter, wie Herzindex, arterielle Sauerstoffsättigung, extravaskuläres Lungenwasser und weitere abgeleitete Parameter erfasst werden [113].

Bei der Infusion von Iloprost fand sich bereits eine Stunde nach Infusionsbeginn eine gegenüber dem Ausgangswert erhöhte PDR, bei der Applikation von Dopexamin war die PDR zum Messzeitpunkt 6 Stunden gegenüber der Baseline erhöht. Maximale Werte fanden sich für beide Substanzen nach 24 Stunden, jeweils 1 Stunde nach Beendigung der 24-stündigen Infusionen lagen die Werte wieder auf Ausgangsniveau.

Dopexamin ist eine Substanz, die klinisch im Wesentlichen zur Therapie der akuten Herz- und Kreislaufinsuffizienz eingesetzt wird. Bei Dosierungen $> 1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ wird neben einer Vasodilatation eine Erhöhung der Inotropie induziert, diese Wirkungen werden über β_1 - und β_2 -Rezeptoren vermittelt [114]. Bei Dosierungen unter $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ spielen die Wirkungen auf den Herzindex keine relevante Rolle, wie wir auch in unserer Studie zeigen konnten, denn der Herzindex blieb im Verlauf der Untersuchung bei der Anwendung beider Substanzen stabil. Bei den Patienten der Dopexamin-Gruppe konnte die zur Stabilisierung des Kreislaufes notwendige Noradrenalinosis reduziert werden. Die ist möglicherweise die Folge einer Wiederaufnahme-Hemmung von Noradrenalin im synaptischen Spalt, welche durch Dopexamin vermittelt wird [115].

Während der Untersuchung wurde der Volumenstatus der Patienten mittels der Messung des ZVD und insbesondere mittels der Bestimmung des intrathorakalen Blutvolumens (ITBV) genau überwacht. Da das ITBV während der Untersuchung konstant war, können die beobachteten Effekte von Dopexamin und Iloprost auf die PDR nicht das Resultat einer Volumentherapie sein.

Die PDR des Farbstoffes ICG ist im Wesentlichen von zwei Mechanismen abhängig. Da der Farbstoff exklusiv von der Leber aus dem Blutstrom extrahiert wird und kein relevanter extrahepatischer Eliminationsmechanismus existiert [116;117] ist die Extraktion direkt abhängig vom Blutfluss durch die Leber, der auf Grund der seriellen Anordnung des Blutflusses im Magen-Darm-Trakt der gastrointestinalen Perfusion gleichgesetzt werden kann. Vorausgesetzt wird dabei eine stabile Leberfunktion, deren Änderung ebenfalls die PDR beeinflussen kann. Eine Umverteilung des Blutflusses zum Gastrointestinaltrakt wäre eine Erklärung für die gesteigerte PDR bei stabilem HZV. Eine Erhöhung des Blutflusses im Gastrointestinaltrakt durch Dopexamin konnte in verschiedenen Untersuchungen gezeigt werden [118-120]. Aber auch eine Verbesserung der Leberfunktion hätte eine Erhöhung der absoluten ICG-Extraktion und damit eine Erhöhung der PDR zur Folge [120]. Welcher der zugrunde liegenden Mechanismen in unserer Untersuchung ursächlich für die Erhöhung der PDR war, konnten wir in unserer Studie nicht differenzieren. Da der intramukosale pH der Magenschleimhaut (pH_i) während der Untersuchung unverändert blieb, könnte darauf hindeuten, dass die Perfusion im Magen-Darm-Trakt ebenfalls unverändert war. Jedoch widerspiegelt der pH_i nur die Perfusionssituation in einer eng begrenzten Region des Magen-Darm-Traktes, nämlich der der Magenschleimhaut. Zudem wurden die Werte im Rahmen des Routinemonitorings der Patienten erfasst und der pH_i war kein primärer Zielparameter unserer Studie. Hinzu kommt, dass der pH_i in bestimmten Fällen die Stoffwechselsituation der Schleimhaut nicht exakt wiedergeben kann und somit keine exakten Ergebnisse in Bezug auf die Perfusionssituation erzielt werden können [121]. Bei Patienten im septischen Schock konnte gezeigt werden, dass Dopexamin den Leberblutfluss verbessert [118]. Die Messungen wurden dazu mittels eines Lebervenen-Katheters durchgeführt und können somit als valide betrachtet werden. Dabei hatte Dopexamin keinen Einfluss auf verschiedene Stoffwechselfparameter der Leber, wie den hepatosplanchnischen Umsatz von Laktat, Pyruvat, Alanin und Glutamin sowie auf die endogene Glukoseproduktion. Daraus könnte geschlossen werden, dass Dopexamin die Leberfunktion nicht beeinflusst und die Erhöhung der PDR alleinige Folge einer verbesserten Leberperfusion war.

Auch bei der Verbesserung der PDR durch Iloprost kann ein Volumeneffekt aufgrund des konstanten ITBV während der Untersuchung ausgeschlossen werden.

Iloprost wirkt als Vasodilatator, in experimentellen Untersuchungen konnte dessen perfusionssteigernde Wirkung im Gastrointestinaltrakt bereits belegt werden [122-124]. In einer klinischen Studie stand die Erhöhung des Blutflusses im Gastrointestinaltrakt allerdings im Gegensatz zu unseren Ergebnissen mit einer Erhöhung des Herzzeitvolumens im

Zusammenhang [118].

Im septischen Schock kommt es zur Freisetzung von TNF- α , welcher die Leberfunktion negativ beeinflussen kann [125]. Die TNF- α -Synthese kann cAMP-vermittelt durch Iloprost inhibiert werden. Dieser Umstand und auch der verzögerte Effekt nach Beginn der Iloprost-Infusion könnten auf eine Verbesserung der während der Sepsis beeinträchtigten Leberfunktion hindeuten. Der schnelle Abfall der PDR nach dem Ende der Iloprost-Infusion könnte wiederum auf einen Perfusionseffekt hindeuten. Auch können beide Effekte gemeinsam eine Rolle spielen.

Während der Untersuchung lagen die ermittelten pH_i-Werte im Bereich normaler Werte und blieben im Beobachtungszeitraum stabil. Auf die limitierte Aussagekraft dieser Werte wurde bereits eingegangen.

Iloprost wirkt über Rezeptoren an den Thrombozyten cAMP-vermittelt reversibel antiaggregatorisch auf die Thrombozyten. Bei den Patienten unserer Studie sind während des Beobachtungszeitraumes keine Blutungskomplikationen aufgetreten. Es ist fraglich ob es unter der relativ niedrigen Dosierung von Iloprost (1 ng/kg/min) zu einer relevanten Hemmung der Thrombozyten-Aggregationsfähigkeit kommt. In einer klinischen Studie bei Patienten mit Nierenversagen fanden wir unter kontinuierlicher Nierenersatztherapie zumindest keine relevante Beeinflussung der Thrombozyten-Funktionsassys bei gleicher Iloprost-Dosierung [126].

Zusammenfassend konnten wir in dieser klinischen Studie zeigen, dass die vasoaktiven Substanzen Dopexamin und Iloprost die PDR von ICG während des septischen Schockes erhöhen und sich somit protektiv auf die Perfusionssituation im Gastrointestinaltrakt bzw. auf die Leberfunktion auswirken.

5.5 Iloprost bei Organversagen und Inflammation bei intensivpflichtigen Patienten im Zusammenhang mit der kontinuierlichen Nierenersatztherapie

In vorausgegangenen Untersuchungen konnten wir bereits zeigen, dass das stabile Prostazyklinanalogon Iloprost verschiedene antiinflammatorische und perfusionsverbessernde Wirkungen hat, die bei kritisch kranken Patienten potenziell günstig sind [53;127]. Deshalb schien es nahe liegend, diese Substanz, die auch eine antiaggregatorische Wirkung auf die Thrombozyten hat, im Zusammenhang mit einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie einzusetzen. Primäres Ziel dabei war eine Verlängerung der Filterlaufzeiten der CVVH. Ein weiteres Ziel war die Untersuchung des Einflusses von Iloprost auf inflammatorische bzw. durch die Inflammationsreaktion beeinflussbare Parameter, wie IL-6, sCD-14, Leukozytenzahl, CRP, AT III, Fibrinogen und Thrombozytenzahl. Die Untersuchung schien insbesondere deswegen gerechtfertigt, weil Prostaglandine bereits zur Antikoagulation bei extrakorporaler Zirkulation eingesetzt wurden [56] und für Prostazyklin bereits eine Verlängerung der Filterlaufzeiten an der CVVH nachgewiesen werden konnte [128]. Durch die längere Halbwertszeit von Iloprost von 20 bis 30 Minuten im Vergleich zu der Halbwertszeit des Prostazyklins von nur etwa 2 bis 3 Minuten [129] könnte hieraus eine verbesserte Anwendbarkeit in der Klinik ergeben, da die Wirkung der Substanz keinen großen Schwankungen beispielsweise bei Spritzenwechseln oder anderen kurzen Unterbrechungen der Infusion unterworfen ist. Zudem hat Iloprost eine geringere vasodilatatorische und damit blutdrucksenkende Wirkung als in Bezug auf die Thrombozytenaggregationshemmung äquivalente Dosen Prostazyklin [129]. Dies könnte ebenfalls die klinische Anwendbarkeit verbessern.

Der zur Standardheparinisierung zusätzliche Einsatz von Iloprost führte in unserer klinischen Studie bei intensivpflichtigen Patienten mit akutem Nierenversagen zu einer signifikanten Verlängerung der Filterlaufzeiten der CVVH im Vergleich zu den Filterlaufzeiten bei den Patienten, deren Antikoagulationsregime aus einer alleinigen Heparinabgabe bestand. Des Weiteren führte die Iloprostgabe zu einer Verminderung des relativen Abfalls der Thrombozytenzahl im Sinne eines Thrombozyten-Schutzes im Vergleich zu den Patienten, bei denen kein Iloprost appliziert wurde.

In unserer Untersuchung waren die Filterlaufzeiten in beiden Untersuchungen relativ kurz (Mediane in der Iloprost-Gruppe 14 Stunden und in der Heparin-Gruppe 10 Stunden). Trotz vergleichbarer Werte für die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) waren die Filterlaufzeiten in der Heparin-Gruppe kürzer als in anderen Studien, in denen die Filterlaufzeiten zwischen 14 und 24 Stunden lagen [130-132]. Für diese kurzen Laufzeiten in

unserer Untersuchung gibt es verschiedene Erklärungen. Zum einen sind die kurzen Laufzeiten methodisch bedingt. In die Auswertung wurden die Filterlaufzeiten aller Filter jedes eingeschlossenen Patienten einbezogen. Insbesondere die Filter, die nicht den geplanten Endpunkt der Untersuchung erreicht haben, wurden mitbetrachtet. Dies war beispielsweise der Fall, wenn Patienten zu einer CT-Untersuchung transportiert wurden und dazu die CVVH gestoppt wurde. Dies war bei nur drei Filtern in der Heparin-Gruppe aber bei 10 Filtern in der Iloprost-Gruppe der Fall. Entsprechend lagen die Mediane der Filterlaufzeiten in diesen Fällen von „akzidentell“ verkürzten Filterlaufzeiten bei 10 (7-13) Stunden in der Heparin-Gruppe und bei 5 (2-11) Stunden in der Iloprost-Gruppe. Infolge dessen waren insbesondere die Filterlaufzeiten in der Iloprost-Gruppe durch die artifizielle Laufzeitverkürzung ebenfalls verkürzt.

Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Einschätzung der Filterlaufzeiten ist die Betrachtung der Studienpopulation. Bei der Planung der Studie wählten wir ein eher konservatives Antikoagulationsregime mit einer Ziel-aPTT im Bereich von 40 bis 50 Sekunden. Hintergrund war die erwartete Patientenpopulation von postoperativen, häufig kardiochirurgischen Patienten mit einem potenziell erhöhten Blutungsrisiko, bei denen mit Iloprost zusätzlich eine weitere antikoagulatorisch wirksame Substanz eingesetzt werden sollte. Zudem stellt auch die in unserer Studie untersuchte Patientenpopulation in sofern eine Besonderheit dar, als dass in den Gruppen 70 bzw. 80% der Patienten postoperative kardiochirurgische Patienten waren. Möglicherweise führt die Inflammationsreaktion nach der extrakorporalen Zirkulation an der Herz-Lungen-Maschine postoperativ zu einem verstärkten Filter-Clotting und damit zu verkürzten Filterlaufzeiten [133].

Eine Alternative zur Steuerung der Heparintherapie stellt das Monitoring mittels der aktivierten Gerinnungszeit (activated clotting time – ACT) dar. Die ACT-Steuerung der Heparintherapie in einer ebenfalls in unserer Einrichtung durchgeführten Studie resultierte in längeren ACT-Werten und längeren Filterlaufzeiten im Vergleich zu unserer Studie [132]. Die aPTT-Werte unserer Patienten waren dabei vergleichbar mit anderen in unserer Einrichtung durchgeführten Untersuchungen [132;134].

Trotz aller dieser potenziellen Limitationen der Untersuchung führte die Applikation von Iloprost zu einer signifikanten Verlängerung der Filterlaufzeiten. Interessant dabei ist, dass sich kein Unterschied zwischen den Gruppen in Bezug auf die bestimmten Gerinnungsparameter ergab. Insbesondere die ACT-Werte und die aPTT-Werte unterschieden sich nicht. Somit kann eine unterschiedliche Heparinwirkung in den Gruppen als Grund für die verlängerten Filterlaufzeiten ausgeschlossen werden.

Obwohl die primäre Hypothese war, dass die thrombozytenaggregationshemmende Wirkung von Iloprost der relevante Mechanismus ist, der zu einer Verlängerung der Filterlaufzeiten führen könnte, fanden wir keine Unterschiede in den Thrombozyten-Funktions-Assays (platelett function assay – PFA) zwischen den Gruppen. Dies wäre jedoch zu erwarten gewesen, wenn die Iloprost-Applikation zu einer relevanten Hemmung der Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten geführt hätte. Im Vergleich zur in unserer Studie verwendeten Dosis von 1 ng/kg/min müssen zur kompletten Aufhebung der Thrombozyten-Aggregationsfähigkeit beispielsweise bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie (HIT II) bei gleichzeitiger Gabe von Heparin an der Herz-Lungen-Maschine bis zu 24 ng/kg/min [135] oder gar bis zu 48 ng/kg/min [136] Iloprost appliziert werden.

Möglicherweise spielt jedoch bei der Verlängerung der Filterlaufzeiten ein anderer Mechanismus im Zusammenhang mit der Iloprost-Wirkung eine wichtige Rolle. Unabhängig von der Aktivierung der Gerinnungskaskade scheinen die rheologischen Eigenschaften insbesondere der Erythrozyten eine wichtige Rolle bei der Blockade der Dialysefilter zu spielen. So kann eine verminderte Verformbarkeit der Erythrozyten zu einer Bildung von Zellkonglomeraten und in der Folge zur Filterokklusion führen. Dieses so genannte „Clogging“ kann durch die Verbesserung der rheologischen Eigenschaften des Blutes beispielsweise durch die Anwendung von kolloidalen Lösungen reduziert werden [137].

Insbesondere bei kritisch kranken und septischen Patienten finden sich häufig durch verschiedene Stressoren ausgelöste Störungen der rheologischen Eigenschaften des Blutes, wie beispielsweise eine verminderte Verformbarkeit der Erythrozyten [138;139]. Diese Erythrozyten-Verformbarkeit kann durch Iloprost verbessert werden [140;141]. Somit ergibt sich hier möglicherweise ein komplett neuer Therapieansatz zur Verhinderung einer Filterokklusion bei der CVVH.

Möglicherweise könnte der beobachtete Effekt auf die Filterlaufzeiten verstärkt werden, wenn eine höhere Dosis von Iloprost, beispielsweise von 2 ng/kg/min oder mehr, eingesetzt werden würde. Bei höheren Dosierungen von Iloprost ist andererseits auch verstärkt mit möglichen Nebenwirkungen zu rechnen. So führt Iloprost über eine Vasodilatation zur Blutdrucksenkung, jedoch hatte die niedrige Dosierung von 1 ng/kg/min Iloprost in unserer Studie keinen relevanten Einfluss auf die Kreislaufsituation unserer Patienten, dies deckt sich auch mit den Ergebnissen unserer Studie bei Patienten im septischen Schock [142]. Die im Vergleich zu Prostazyklin geringere vasodilatatorische Wirkung wurde bereits erwähnt.

Bei den Patienten der Studie traten keine Blutungskomplikationen auf. In diesem Zusammenhang scheint die verwendete Dosis sicher zu sein, jedoch wäre für eine genaue

Beurteilung die Untersuchung einer größeren Patientenzahl nötig. Die Ergebnisse der PFA-Untersuchungen legen eine unwesentliche Blockierung der Thrombozyten-Aggregationsfähigkeit nahe. Trotzdem fand sich in der Iloprost-Gruppe ein geringerer relativer Abfall der Thrombozytenzahlen im Vergleich zur Heparin-Gruppe auch bei dieser relativ niedrigen Dosierung. Dies kann als protektive Wirkung auf die Thrombozyten gewertet werden. Trotzdem sollte Iloprost bei Patienten mit schwerer Thrombozytopenie vorsichtig eingesetzt werden. Eine exakt definierte Grenze für den Einsatz von Iloprost bei Thrombozytopenie existiert bisher nicht. In der klinischen Praxis haben wir bisher Iloprost bei Patienten mit einer Thrombozytenzahl von $<30/\text{nl}$ nicht mehr eingesetzt. Entsprechend wurde die Iloprost-Infusion bei einem Studienpatienten bei einer Thrombozytenzahl von $16/\text{nl}$ gestoppt, obwohl auch gerade durch die Iloprost-Infusion ein protektiver Effekt auf die Thrombozyten denkbar wäre.

Bei einem Patienten wurde die Iloprost-Infusion wegen einem Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes ($p_a\text{O}_2$) vorsichtshalber unterbrochen. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Iloprost-Infusion und dem $p_a\text{O}_2$ -Abfall konnte nicht hergestellt werden, jedoch bestand zumindest ein zeitlicher Zusammenhang. Die intravenöse Infusion von Iloprost kann zu einer Erhöhung der intrapulmonalen Shuntfraktion führen [143]. Die Applikation niedriger Dosen Iloprost, vergleichbar derer, die in unserer Studie verwendet wurden, führt nicht notwendiger Weise zu einem Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung, weil dabei die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung ansteigen kann [144]. Obwohl wir in unserer Untersuchung keinen Unterschied zwischen den Gruppen im retrospektiv bestimmten Oxygenierungsindex ($p_a\text{O}_2/\text{F}_i\text{O}_2$) fanden, können wir einen Einfluss von Iloprost auf die Oxygenierung nicht ausschließen. Dazu bedarf es der Planung dieses oder eines entsprechenden Parameters als primären Endpunkt, um eine sichere Aussage tätigen zu können.

In unserer Untersuchung fanden wir keine Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die Kreatinin- und Harnstoffwerte und somit auf die Effizienz des Nierenersatzverfahrens. Ein solcher Einfluss wäre theoretisch durch eine bessere Freihaltung der Filtermembranen denkbar gewesen.

Wie schon erwähnt, hat Iloprost auch antiinflammatorische Eigenschaften. Iloprost kann die Leukozytenaktivierung reduzieren [53], welche über eine erhöhte Adhärenz am Gefäßendothel auch zu einer Migration der Leukozyten in den perivaskulären Raum führen kann. Die Folge ist eine Reduktion der Leukozytenzahl im peripheren Blut. In unserer Untersuchung sahen wir keinen Unterschied in den Leukozytenzahlen zwischen den Gruppen.

Auch andere Inflammationsparameter, wie CRP, IL-6 und sCD14 waren nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen.

Zusammenfassend konnten wir in unserer klinischen Untersuchung bei kritisch kranken Patienten im akuten Nierenversagen zeigen, dass die Applikation von Iloprost zusätzlich zur Standardheparinisierung zu einer signifikanten Verlängerung der Filterlaufzeiten führt und den Abfall der Thrombozytenzahlen vermindert. Zieht man die potenziell günstigen Effekte von Iloprost bei kritisch kranken Patienten in Betracht (Verbesserung der Mikrozirkulation, Verbesserung der rheologischen Eigenschaften von Blutzellen, Verminderung der Leukozytenaktivierung), könnte der Einsatz bei diesem Patientengut beim Einsatz der CVVH von Vorteil sein. Insbesondere die regionale Zitrat-Antikoagulation führt mittlerweile in der klinischen Routine zu einer deutlichen Verlängerung der Filterlaufzeiten [55]. Jedoch könnten beispielsweise Patienten mit Kontraindikationen gegen die regionale Zitrat-Antikoagulation und erhöhtem Blutungsrisiko (beispielsweise schweres Leberversagen) von einer Iloprost-Applikation profitieren. Dazu sind jedoch weitere klinische Untersuchungen notwendig. Eine bessere Planung der Kontrollgruppe (beispielsweise mit einer höheren Ziel-aPTT) und möglicherweise eine höhere Iloprost-Dosierung könnten zu besseren Ergebnissen führen.

6. Zusammenfassung

In unseren experimentellen und klinischen Studien wurden sowohl grundlegende Mechanismen als auch therapeutische Ansatzmöglichkeiten bei Sepsis und Organversagen untersucht. Die Ziele bestanden in der weiteren Erforschung der pathophysiologischen Mechanismen während der experimentellen Endotoxinämie als Sepsismodell im Tierversuch (Ratte), in der Weiterentwicklung des Tiermodells sowie in der Überprüfung und Übertragung von Therapiestrategien im klinischen Setting bei Patienten mit Sepsis und Organversagen.

Entsprechend der Fragestellungen der einzelnen Teilarbeiten (s. Kapitel 2, Gegenstand, Ziele und Fragestellungen der Untersuchungen) konnten wir die folgenden wesentlichen Ergebnisse erzielen:

1. Im Tiermodell fanden wir während experimenteller Endotoxinämie eine Korrelation zwischen den Änderungen des Power-Spektrums des arteriellen Blutdruckes und den Änderungen der mittels Laser-Doppler-Flowmetrie untersuchten intestinalen Mikrozirkulation. Die Endotoxinämie resultierte in einer erhöhten sympathischen Aktivierung der systemischen Gefäße, was sich an einer erhöhten LF-Power des arteriellen Blutdruckes zeigte. Die erhöhte Variabilität der LF-Power des intramukosalen Blutflusses ist jedoch ein sekundärer Effekt in Folge der erhöhten LF-Power des arteriellen Blutdruckes, da der erstgenannte Effekt durch eine systemische, nicht jedoch durch eine lokale Sympathektomie abgeschwächt werden konnte.
2. Im experimentellen Setting konnten wir ebenfalls zeigen, dass die Behandlung der septischen Tiere mit dem Gerinnungsfaktor XIII die durch die Endotoxinämie verursachte Störung der intestinalen Mikrozirkulation (Verminderung der funktionellen Kapillardichte der intestinalen Mukosa) signifikant vermindert und somit protektiv auf die Mukosa-Perfusion wirkt. Ein Einfluss von FXIII auf die während Endotoxinämie erhöhte Leukozytenadhärenz konnte nicht nachgewiesen werden.
3. Auch vasoaktive Substanzen wurden von uns in diesem experimentellen Setting untersucht. Die Applikation des synthetischen Katecholamins Dopexamin verhinderte den (als Ausdruck einer gestörten Mikrozirkulation) durch Endotoxingabe induzierten Abfall des intestinalen mikrovaskulären Laser-Doppler-Flusses. Die verminderte funktionelle Kapillardichte wurde ebenfalls günstig im Sinne einer Protektion der Mikrozirkulation beeinflusst. Dopexamin reduzierte ebenfalls die erhöhte Leukozytenaktivierung (Adhärenz an der Gefäßwand intestinaler Venolen) und die TNF- α -Spiegel als Ausdruck

einer antiinflammatorischen Wirkung dieser Substanz.

4. Die Wirkung dieses synthetischen Katecholamins wurde von uns im klinischen Setting bei septischen Patienten im Vergleich mit einer weiteren vasoaktiven Substanz, dem stabilen Prostazyklinanalogon Iloprost, welche zusätzlich das Gerinnungssystem in Sinne einer Hemmung der Thrombozytenaggregation beeinflusst, untersucht. Wir fanden nach Applikation beider Substanzen eine deutliche Erhöhung der Plasmaverschwinderate des Farbstoffes Indozyaningrün im Blut als Ausdruck einer verbesserten gastrointestinalen Perfusion bzw. Leberfunktion. Die beiden Substanzen wirken somit protektiv auf die gastrointestinale Perfusion respektive auf die Leberfunktion bei Patienten im septischen Schock.
5. Eine weitere klinische Untersuchung des synthetischen Prostazyklinanalogons Iloprost führten wir bei intensivpflichtigen Patienten im Zusammenhang mit der CVVH durch. Die zusätzliche (zur Standardheparinisierung durchgeführte) Applikation von Iloprost führte zu einer Verlängerung der Filterlaufzeiten bei gleichzeitiger Verminderung des Abfalls der relativen Thrombozytenzahlen im Sinne eines Thrombozyten-Schutzes. Interessant dabei war, dass die applizierte Dosis von Iloprost keinen Einfluss auf die durchgeführten Thrombozyten-Funktionsassays hatte. Dies deutet darauf hin, dass hier möglicherweise andere Effekte, als die Hemmung der Thrombozytenaggregation eine Rolle spielen, wie beispielsweise die Verbesserung der rheologischen Eigenschaften der Erythrozyten. Dies würde eine neue Herangehensweise im Zusammenhang mit der Verhinderung der Filterokklusion während CVVH ermöglichen.

7. Literaturverzeichnis

1. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S et al.: Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 2007; 33:606-618.
2. Moerer O, Plock E, Mgbor U, Schmid A, Schneider H, Wischniewsky MB et al.: A German national prevalence study on the cost of intensive care: an evaluation from 51 intensive care units. *Crit Care* 2007; 11:R69.
3. Zeni F, Freeman B, Natanson C: Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 1997; 25:1095-1100.
4. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D et al.: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250-1256.
5. Taylor DE: Revving the motor of multiple organ dysfunction syndrome. Gut dysfunction in ARDS and multiorgan failure. *Respir.Care Clin N Am* 1998; 4:611-viii.
6. Reintam A, Parm P, Redlich U, Tooding LM, Starkopf J, Kohler F et al.: Gastrointestinal failure in intensive care: a retrospective clinical study in three different intensive care units in Germany and Estonia. *BMC Gastroenterol.* 2006; 6:19.
7. Swank GM, Deitch EA: Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg.* 1996; 20:411-417.
8. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL: The gastrointestinal tract. The "undrained abscess" of multiple organ failure. *Ann.Surg.* 1993; 218:111-119.
9. Hynninen M, Valtonen M, Markkanen H, Vaara M, Kuusela P, Jousela I et al.: Intramucosal pH and endotoxin and cytokine release in severe acute pancreatitis. *Shock* 2000; 13:79-82.
10. Donati A, Battisti D, Recchioni A, Paoletti P, Conti G, Caporelli S et al.: Predictive value of interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) and gastric intramucosal pH (pH-i) in major abdominal surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24:329-335.
11. Lobo SM, De Backer D, Sun Q, Tu Z, Dimopoulos G, Preiser JC et al.: Gut mucosal damage during endotoxic shock is due to mechanisms other than gut ischemia. *J Appl.Physiol* 2003; 95:2047-2054.
12. Chierago M, Verdant C, De Backer D: Microcirculatory alterations in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol.* 2006; 72:199-205.
13. Doerschug KC, Delsing AS, Schmidt GA, Haynes WG: Impairments in microvascular reactivity are related to organ failure in human sepsis. *Am J Physiol Heart Circ.Physiol* 2007; 293:H1065-H1071.
14. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL et al.: Early

- microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann. Emerg. Med* 2007; 49:88-98, 98.
15. Hoffmann JN, Fertmann JM, Schick K, Mauer M, Wirsching KC, Vollmar B et al.: Organversagen Mikrozirkulation: Diagnostik und therapeutische Konsequenzen. *Dtsch Med Wochenschr* 2006; 131:2489-2492.
 16. Ragaller M, Theilen H, Koch T: Mikrozirkulation bei Sepsis und septischem Schock: Therapeutische Ansätze zur Verbesserung. *Hämostaseologie*. 2007; 27:59-63.
 17. Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL: Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32:1825-1831.
 18. Ince C: The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care* 2005; 9 Suppl 4:S13-S19.
 19. Marti-Carvajal A, Salanti G, Cardona A: Human recombinant activated protein C for severe sepsis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007CD004388.
 20. Reinhart K, Brunkhorst F, Bone H, Gerlach H, Grundling M, Kreymann G et al.: Diagnose und Therapie der Sepsis S-2-Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI). *Anaesthesist* 2006; 55 Suppl 1:43-56.
 21. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM et al.: Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862-871.
 22. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A et al.: Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl. J Med* 2001; 344:699-709.
 23. Albrecht M, Clowes GHA: The increase of circulatory requirements in the presence of inflammation. *Surgery* 1964; 56:158-160.
 24. Walker H, Mason A, Raulston G: Surface infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann. Surg.* 1964; 160:297-300.
 25. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH: Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal. *J Surg. Res* 1980; 29:189-201.
 26. Revhaug A, Michie HR, Manson JM, Watters JM, Dinarello CA, Wolff SM et al.: Inhibition of cyclo-oxygenase attenuates the metabolic response to endotoxin in humans. *Arch. Surg.* 1988; 123:162-170.
 27. Bohlen HG, Gore RW: Preparation of rat intestinal muscle and mucosa for quantitative microcirculatory studies. *Microvasc. Res* 1976; 11:103-110.
 28. Schmid-Schoenbein GW, Zweifach BW, Kovalcheck S: The application of stereological principles to morphometry of the microcirculation in different tissues. *Microvasc. Res* 1977; 14:303-317.

29. Mythen MG, Webb AR: The role of gut mucosal hypoperfusion in the pathogenesis of post-operative organ dysfunction. *Intensive Care Med* 1994; 20:203-209.
30. Muszbek L, Yee VC, Hevessy Z: Blood coagulation factor XIII: structure and function. *Thromb.Res* 1999; 94:271-305.
31. Ueki S, Takagi J, Saito Y: Dual functions of transglutaminase in novel cell adhesion. *J Cell Sci* 1996; 109 (Pt 11):2727-2735.
32. Noll T, Wozniak G, McCarson K, Hajimohammad A, Metzner HJ, Inverte J et al.: Effect of factor XIII on endothelial barrier function. *J Exp Med* 1999; 189:1373-1382.
33. Noll T, Wozniak G: Faktor XIII und endotheliale Barrierenfunktion. *Hämostaseologie*. 2002; 22:28-31.
34. Wozniak G, Noll T, Akinturk H, Thul J, Muller M: Factor XIII prevents development of myocardial edema in children undergoing surgery for congenital heart disease. *Ann.N Y Acad Sci* 2001; 936:617-620.
35. Adany R, Bardos H: Factor XIII subunit A as an intracellular transglutaminase. *Cell Mol.Life Sci* 2003; 60:1049-1060.
36. Becker SW, Weidt F, Rohl K: The role of plasma transglutaminase (F XIII) in wound healing of complicated pressure sores after spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2001; 39:114-117.
37. el Hakim IE: The effect of fibrin stabilizing factor (F.XIII) on healing of bone defects in normal and uncontrolled diabetic rats. *Int J Oral Maxillofac.Surg*. 1999; 28:304-308.
38. Wozniak G, Noll T: Faktor XIII und Wundheilung. *Hämostaseologie*. 2002; 22:59-62.
39. D'Argenio G, Grossman A, Cosenza V, Valle ND, Mazzacca G, Bishop PD: Recombinant factor XIII improves established experimental colitis in rats. *Dig.Dis Sci* 2000; 45:987-997.
40. D'Argenio G, Iovino P, Cosenza V, Della VN, De Ritis F, Mazzacca G: Factor XIII improves gastric stress lesions in rats. *Digestion* 2001; 63:220-228.
41. Lorenz R, Born P, Olbert P, Classen M: Factor XIII substitution in ulcerative colitis. *Lancet* 1995; 345:449-450.
42. Witte J, Jochum M, Scherer R, Schramm W, Hochstrasser K, Fritz H: Disturbances of selected plasma proteins in hyperdynamic septic shock. *Intensive Care Med* 1982; 8:215-222.
43. Tanaka H, Sugimoto H, Yoshioka T, Sugimoto T: Role of granulocyte elastase in tissue injury in patients with septic shock complicated by multiple-organ failure. *Ann.Surg*. 1991; 213:81-85.
44. Sack FU, Reidenbach B, Schledt A, Dollner R, Taylor S, Gebhard MM et al.: Dopexamine attenuates microvascular perfusion injury of the small bowel in pigs

- induced by extracorporeal circulation. *Br.J Anaesth* 2002; 88:841-847.
45. Frojse R, Lehtipalo S, Bergstrand U, Biber B, Winso O, Johansson G et al.: Local metabolic effects of dopexamine on the intestine during mesenteric hypoperfusion. *Shock* 2004; 21:241-247.
 46. Lehtipalo S, Biber B, Frojse R, Arnerlov C, Johansson G, Winso O: Does dopexamine influence regional vascular tone and oxygenation during intestinal hypotension? *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2002; 46:1217-1226.
 47. Lehtipalo S, Biber B, Frojse R, Arnerlov C, Johansson G, Winso O: Effects of dopexamine and positive end-expiratory pressure on intestinal blood flow and oxygenation: the perfusion pressure perspective. *Chest* 2003; 124:688-698.
 48. Hildebrand LB, Krejci V, Sigurdsson GH: Effects of dopamine, dobutamine, and dopexamine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract during sepsis and anesthesia. *Anesthesiology* 2004; 100:1188-1197.
 49. Seguin P, Laviolle B, Guinet P, Morel I, Malledant Y, Bellissant E: Dopexamine and norepinephrine versus epinephrine on gastric perfusion in patients with septic shock: a randomized study [NCT00134212]. *Crit Care* 2006; 10:R32.
 50. Muller M, Boldt J, Schindler E, Sticher J, Kelm C, Roth S et al.: Effects of low-dose dopexamine on splanchnic oxygenation during major abdominal surgery. *Crit Care Med* 1999; 27:2389-2393.
 51. Thoren A, Elam M, Ricksten SE: Differential effects of dopamine, dopexamine, and dobutamine on jejunal mucosal perfusion early after cardiac surgery. *Crit Care Med* 2000; 28:2338-2343.
 52. Bach F, Grundmann U, Bauer M, Buchinger H, Soltesz S, Graeter T et al.: Modulation of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass by dopexamine and epidural anesthesia. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2002; 46:1227-1235.
 53. Lehmann C, König JP, Dettmann J, Birnbaum J, Kox WJ: Effects of iloprost, a stable prostacyclin analog, on intestinal leukocyte adherence and microvascular blood flow in rat experimental endotoxemia. *Crit Care Med* 2001; 29:1412-1416.
 54. Kimura S, Yoshioka T, Shibuya M, Sakano T, Tanaka R, Matsuyama S: Indocyanine green elimination rate detects hepatocellular dysfunction early in septic shock and correlates with survival. *Crit Care Med* 2001; 29:1159-1163.
 55. Bagshaw SM, Laupland KB, Boiteau PJ, Godinez-Luna T: Is regional citrate superior to systemic heparin anticoagulation for continuous renal replacement therapy? A prospective observational study in an adult regional critical care system. *J Crit Care* 2005; 20:155-161.
 56. Kozek-Langenecker SA: Anticoagulation with prostaglandins during extracorporeal circulation. *Wien.Klin.Wochenschr* 1999; 111:129-140.
 57. Lehmann C, Taymoorian K, Wauer H, Krausch D, Birnbaum J, Kox WJ: Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on the plasma disappearance rate of indocyanine green in human septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26:1557-1560.

58. Steeb GD, Wilson MA, Garrison RN: Pentoxifylline preserves small-intestine microvascular blood flow during bacteremia. *Surgery* 1992; 112:756-763.
59. Theuer CJ, Wilson MA, Steeb GD, Garrison RN: Microvascular vasoconstriction and mucosal hypoperfusion of the rat small intestine during bacteremia. *Circ.Shock* 1993; 40:61-68.
60. Whitworth PW, Cryer HM, Garrison RN, Baumgarten TE, Harris PD: Hypoperfusion of the intestinal microcirculation without decreased cardiac output during live *Escherichia coli* sepsis in rats. *Circ.Shock* 1989; 27:111-122.
61. Deitch EA, Ma L, Ma WJ, Grisham MB, Granger DN, Specian RD et al.: Inhibition of endotoxin-induced bacterial translocation in mice. *J Clin Invest* 1989; 84:36-42.
62. Vallet B, Lund N, Curtis SE, Kelly D, Cain SM: Gut and muscle tissue PO₂ in endotoxemic dogs during shock and resuscitation. *J Appl.Physiol* 1994; 76:793-800.
63. Xu D, Qi L, Guillory D, Cruz N, Berg R, Deitch EA: Mechanisms of endotoxin-induced intestinal injury in a hyperdynamic model of sepsis. *J Trauma* 1993; 34:676-682.
64. Bauer A, Bruegger D, Christ F: Mikrozirkulatorisches Monitoring der Sepsis. *Anaesthesist* 2005; 54:1163-1175.
65. Christ F, Bauer A, Brugger D: Different optical methods for clinical monitoring of the microcirculation. *Eur Surg.Res* 2002; 34:145-151.
66. Knotzer H, Maier S, Dunser M, Stadlbauer KH, Ulmer H, Pajk W et al.: Oscillation frequency of skin microvascular blood flow is associated with mortality in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2007; 51:701-707.
67. Lisik W, Gontarczyk G, Kosieradzki M, Lagiewska B, Pacholczyk M, Adadynski L et al.: Intraoperative blood flow measurements in organ allografts can predict postoperative function. *Transplant Proc* 2007; 39:371-372.
68. Birnbaum J, Klotz E, Spies CD, Lorenz B, Stuebs P, Hein OV et al.: Effects of dopexamine on the intestinal microvascular blood flow and leukocyte activation in a sepsis model in rats. *Crit Care* 2006; 10:R117.
69. Federico P, Ragozzino G, Del Guercio M, Mattera E, Del Guercio R: Flow motion. *Clin Hemorheol.Microcirc.* 1999; 21:303-305.
70. Mchedlishvili G: Disturbed blood flow structuring as critical factor of hemorheological disorders in microcirculation. *Clin Hemorheol.Microcirc.* 1998; 19:315-325.
71. Driessen GK, Fischer TM, Haest CW, Inhoffen W, Schmid-Schonbein H: Flow behaviour of rigid red blood cells in the microcirculation. *Int J Microcirc.Clin Exp* 1984; 3:197-210.
72. Driessen GK, Haest CW, Heidtmann H, Kamp D, Schmid-Schonbein H: Effect of reduced red cell "deformability" on flow velocity in capillaries of rat mesentery. *Pflugers Arch.* 1980; 388:75-78.

73. Zhang ZQ, Julien C, Gustin MP, Cerutti C, Barres C: Hemodynamic analysis of arterial pressure lability in sympathectomized rat. *Am J Physiol* 1994; 267:H48-H56.
74. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P et al.: Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ.Res* 1986; 59:178-193.
75. Cohn SM, Kruithoff KL, Rothschild HR, Wang HL, Antonsson JB, Fink MP: Beneficial effects of LY203647, a novel leukotriene C4/D4 antagonist, on pulmonary function and mesenteric perfusion in a porcine model of endotoxic shock and ARDS. *Circ.Shock* 1991; 33:7-16.
76. Grichois ML, Japundzic N, Head GA, Elghozi JL: Clonidine reduces blood pressure and heart rate oscillations in the conscious rat. *J Cardiovasc.Pharmacol.* 1990; 16:449-454.
77. Just A, Wittmann U, Nafz B, Wagner CD, Ehmke H, Kirchheim HR et al.: The blood pressure buffering capacity of nitric oxide by comparison to the baroreceptor reflex. *Am J Physiol* 1994; 267:H521-H527.
78. Stauss HM, Godecke A, Mrowka R, Schrader J, Persson PB: Enhanced blood pressure variability in eNOS knockout mice. *Hypertension* 1999; 33:1359-1363.
79. Nafz B, Wagner CD, Persson PB: Endogenous nitric oxide buffers blood pressure variability between 0.2 and 0.6 Hz in the conscious rat. *Am J Physiol* 1997; 272:H632-H637.
80. Mesquita R, Picarra B, Saldanha C, Martins e Silva: Nitric oxide effects on human erythrocytes structural and functional properties--an in vitro study. *Clin Hemorheol.Microcirc.* 2002; 27:137-147.
81. Dardik R, Solomon A, Loscalzo J, Eskaraev R, Bialik A, Goldberg I et al.: Novel proangiogenic effect of factor XIII associated with suppression of thrombospondin 1 expression. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol* 2003; 23:1472-1477.
82. Lee SY, Chang SK, Lee IH, Kim YM, Chung SI: Depletion of plasma factor XIII prevents disseminated intravascular coagulation-induced organ damage. *Thromb.Haemost.* 2001; 85:464-469.
83. Marzano AV, Federici AB, Gasparini G, Mannucci PM, Caputo R, Berti E: Coagulation factor XIII, endothelial damage and systemic sclerosis. *Eur J Dermatol.* 2000; 10:14-17.
84. Wozniak G, Noll T, Brunner U, Hehrlein FW: Topical treatment of venous ulcer with fibrin stabilizing factor: experimental investigation of effects on vascular permeability. *Vasa* 1999; 28:160-163.
85. Hirahara K, Shinbo K, Takahashi M, Matsuishi T: Suppressive effect of human blood coagulation factor XIII on the vascular permeability induced by anti-guinea pig endothelial cell antiserum in guinea pigs. *Thromb.Res* 1993; 71:139-148.
86. Dallabrida SM, Falls LA, Farrell DH: Factor XIIIa supports microvascular endothelial cell adhesion and inhibits capillary tube formation in fibrin. *Blood* 2000; 95:2586-

2592.

87. Takahashi H, Isobe T, Horibe S, Takagi J, Yokosaki Y, Sheppard D et al.: Tissue transglutaminase, coagulation factor XIII, and the pro-polypeptide of von Willebrand factor are all ligands for the integrins alpha 9beta 1 and alpha 4beta 1. *J Biol Chem.* 2000; 275:23589-23595.
88. Meier-Hellmann A, Bredle DL, Specht M, Spies C, Hannemann L, Reinhart K: The effects of low-dose dopamine on splanchnic blood flow and oxygen uptake in patients with septic shock. *Intensive Care Med* 1997; 23:31-37.
89. Bach F, Grundmann U, Bauer M, Buchinger H, Soltesz S, Graeter T et al.: Modulation of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass by dopexamine and epidural anesthesia. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2002; 46:1227-1235.
90. Meier-Hellmann A, Bredle DL, Specht M, Hannemann L, Reinhart K: Dopexamine increases splanchnic blood flow but decreases gastric mucosal pH in severe septic patients treated with dobutamine. *Crit Care Med* 1999; 27:2166-2171.
91. Bastien O, Piriou V, Aouifi A, Evans R, Lehot JJ: Effects of dopexamine on blood flow in multiple splanchnic sites measured by laser Doppler velocimetry in rabbits undergoing cardiopulmonary bypass. *Br.J Anaesth* 1999; 82:104-109.
92. Booker PD, Pozzi M: A placebo-controlled study of the effects of dopexamine on gastric mucosal perfusion in infants undergoing hypothermic cardiopulmonary bypass. *Br.J Anaesth* 2000; 84:23-27.
93. Schmidt W, Hacker A, Gebhard MM, Martin E, Schmidt H: Dopexamine attenuates endotoxin-induced microcirculatory changes in rat mesentery: role of beta2 adrenoceptors. *Crit Care Med* 1998; 26:1639-1645.
94. Bach F, Grundmann U, Bauer M, Buchinger H, Soltesz S, Graeter T et al.: Modulation of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass by dopexamine and epidural anesthesia. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 2002; 46:1227-1235.
95. Birnbaum J, Lehmann C, Stauss HM, Weber M, Georgiew A, Lorenz B et al.: Sympathetic modulation of intestinal microvascular blood flow oscillations in experimental endotoxemia. *Clin Hemorheol.Microcirc.* 2003; 28:209-220.
96. Corbett EJ, Barry BN, Pollard SG, Lodge JP, Bellamy MC: Laser Doppler flowmetry is useful in the clinical management of small bowel transplantation. The Liver Transplant Group. *Gut* 2000; 47:580-583.
97. McGinley J, Lynch L, Hubbard K, McCoy D, Cunningham AJ: Dopexamine hydrochloride does not modify hemodynamic response or tissue oxygenation or gut permeability during abdominal aortic surgery. *Can J Anaesth* 2001; 48:238-244.
98. Ley K: Leukocyte adhesion to vascular endothelium. *J Reconstr.Microsurg.* 1992; 8:495-503.
99. Ley K, Tedder TF: Leukocyte interactions with vascular endothelium. New insights into selectin-mediated attachment and rolling. *J Immunol.* 1995; 155:525-528.

100. Repo H, Harlan JM: Mechanisms and consequences of phagocyte adhesion to endothelium. *Ann.Med* 1999; 31:156-165.
101. Harlan JM: Neutrophil-mediated vascular injury. *Acta Med Scand.Suppl* 1987; 715:123-129.
102. Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Harlan JM: Neutrophil-mediated vascular injury in shock and multiple organ failure. *Prog.Clin Biol Res* 1989; 299:181-191.
103. Granger DN, Kubes P: The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc.Biol* 1994; 55:662-675.
104. Harlan JM, Vedder NB, Winn RK, Rice CL: Mechanisms and consequences of leukocyte-endothelial interaction. *West J Med* 1991; 155:365-369.
105. Volk T, Kox WJ: Endothelium function in sepsis. *Inflamm.Res* 2000; 49:185-198.
106. Harlan JM, Winn RK: Leukocyte-endothelial interactions: clinical trials of anti-adhesion therapy. *Crit Care Med* 2002; 30:S214-S219.
107. Schmidt H, Weigand MA, Schmidt W, Plaschke K, Martin E, Bardenheuer HJ: Effect of dopexamine on intestinal tissue concentrations of high-energy phosphates and intestinal release of purine compounds in endotoxemic rats. *Crit Care Med* 2000; 28:1979-1984.
108. Semrad SD, Rose ML, Adams JL: Effect of tirilazad mesylate (U74006F) on eicosanoid and tumor necrosis factor generation in healthy and endotoxemic neonatal calves. *Circ.Shock* 1993; 40:235-242.
109. Boillot A, Massol J, Maupoil V, Grelier R, Bernard B, Capellier G et al.: Myocardial and vascular adrenergic alterations in a rat model of endotoxin shock: reversal by an anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody. *Crit Care Med* 1997; 25:504-511.
110. Perretti M, Duncan GS, Flower RJ, Peers SH: Serum corticosterone, interleukin-1 and tumour necrosis factor in rat experimental endotoxaemia: comparison between Lewis and Wistar strains. *Br.J Pharmacol.* 1993; 110:868-874.
111. Jorres A, Dinter H, Topley N, Gahl GM, Frei U, Scholz P: Inhibition of tumour necrosis factor production in endotoxin-stimulated human mononuclear leukocytes by the prostacyclin analogue iloprost: cellular mechanisms. *Cytokine* 1997; 9:119-125.
112. Bahrami S, Redl H, Leichtfried G, Yu Y, Schlag G: Similar cytokine but different coagulation responses to lipopolysaccharide injection in D-galactosamine-sensitized versus nonsensitized rats. *Infect Immun.* 1994; 62:99-105.
113. Godje O, Peyerl M, Seebauer T, Dewald O, Reichart B: Reproducibility of double indicator dilution measurements of intrathoracic blood volume compartments, extravascular lung water, and liver function. *Chest* 1998; 113:1070-1077.
114. Brown RA, Dixon J, Farmer JB, Hall JC, Humphries RG, Ince F et al.: Dopexamine: a novel agonist at peripheral dopamine receptors and beta 2-adrenoceptors. *Br.J Pharmacol.* 1985; 85:599-608.

115. Bass AS: Contrasting effects of dopexamine hydrochloride on electrolyte excretion in canine kidney. *J Pharmacol.Exp Ther.* 1990; 253:798-802.
116. Paumgartner G: The handling of indocyanine green by the liver. *Schweiz.Med Wochenschr* 1975; 105:1-30.
117. Huang L, Vore M: Multidrug resistance p-glycoprotein 2 is essential for the biliary excretion of indocyanine green. *Drug Metab Dispos.* 2001; 29:634-637.
118. Kiefer P, Tugtekin I, Wiedeck H, Vogt J, Wachter U, Bracht H et al.: Effect of dopexamine on hepatic metabolic activity in patients with septic shock. *Shock* 2001; 15:427-431.
119. Maynard ND, Bihari DJ, Dalton RN, Smithies MN, Mason RC: Increasing splanchnic blood flow in the critically ill. *Chest* 1995; 108:1648-1654.
120. Smithies M, Yee TH, Jackson L, Beale R, Bihari D: Protecting the gut and the liver in the critically ill: effects of dopexamine. *Crit Care Med* 1994; 22:789-795.
121. Birnbaum J, Spies C, Lehmann C: Wie misst man die lokale Perfusion richtig? *Anaesthesist* 2004; 53:769-770.
122. Kang H, Manasia A, Rajamani S, Rajaram SS, Hannon E, Lu Y et al.: Intravenous iloprost increases mesenteric blood flow in experimental acute nonocclusive mesenteric ischemia. *Crit Care Med* 2002; 30:2528-2534.
123. Manasia A, Kang H, Hannon E, Lu Y, Oropello J, Leibowitz A et al.: Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on mesenteric blood flow in porcine endotoxic shock. *Crit Care Med* 1997; 25:1222-1227.
124. Trager K, Matejovic M, Zulke C, Vlatten A, Vogt J, Wachter U et al.: Hepatic O₂ exchange and liver energy metabolism in hyperdynamic porcine endotoxemia: effects of iloprost. *Intensive Care Med* 2000; 26:1531-1539.
125. Wang P, Ayala A, Ba ZF, Zhou M, Perrin MM, Chaudry IH: Tumor necrosis factor- α produces hepatocellular dysfunction despite normal cardiac output and hepatic microcirculation. *Am J Physiol* 1993; 265:G126-G132.
126. Birnbaum J, Spies CD, Klotz E, Hein OV, Morgera S, Schink T et al.: Iloprost for additional anticoagulation in continuous renal replacement therapy - a pilot study. *Ren Fail.* 2007; 29:271-277.
127. Lehmann C, Taymoorian K, Wauer H, Krausch D, Birnbaum J, Kox WJ: Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on the plasma disappearance rate of indocyanine green in human septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26:1557-1560.
128. Fiaccadori E, Maggiore U, Rotelli C, Minari M, Melfa L, Cappe G et al.: Continuous haemofiltration in acute renal failure with prostacyclin as the sole anti-haemostatic agent. *Intensive Care Med* 2002; 28:586-593.
129. Krause W, Kraus T: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the prostacyclin analogue iloprost in man. *Eur J Clin Pharmacol.* 1986; 30:61-68.

130. Baldwin I, Tan HK, Bridge N, Bellomo R: Possible strategies to prolong circuit life during hemofiltration: three controlled studies. *Ren Fail.* 2002; 24:839-848.
131. Tan HK, Baldwin I, Bellomo R: Continuous veno-venous hemofiltration without anticoagulation in high-risk patients. *Intensive Care Med* 2000; 26:1652-1657.
132. Vargas HO, von Heymann C, Lipps M, Ziemer S, Ronco C, Neumayer HH et al.: Hirudin versus heparin for anticoagulation in continuous renal replacement therapy. *Intensive Care Med* 2001; 27:673-679.
133. Asimakopoulos G: Systemic inflammation and cardiac surgery: an update. *Perfusion* 2001; 16:353-360.
134. Hein OV, von Heymann C, Diehl T, Ziemer S, Ronco C, Morgera S et al.: Intermittent hirudin versus continuous heparin for anticoagulation in continuous renal replacement therapy. *Ren Fail.* 2004; 26:297-303.
135. Antoniou T, Kapetanakis EI, Theodoraki K, Rellia P, Thanopoulos A, Kotiou M et al.: Cardiac surgery in patients with heparin-induced thrombocytopenia using preoperatively determined dosages of iloprost. *Heart Surg.Forum* 2002; 5:354-357.
136. Kappa JR, Fisher CA, Todd B, Stenach N, Bell P, Campbell F et al.: Intraoperative management of patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Ann.Thorac.Surg.* 1990; 49:714-722.
137. Unger JK, Haltern C, Dohmen B, Gressner A, Grosse-Siestrup C, Groneberg DA et al.: Albumin and hydroxyethyl starch 130 kDa/0.4 improve filter clearance and haemocompatibility in haemo- and plasmafiltration--an in vitro study. *Nephrol.Dial.Transplant* 2005; 20:1922-1931.
138. Moutzouri AG, Skoutelis AT, Gogos CA, Missirlis YF, Athanassiou GM: Red blood cell deformability in patients with sepsis: a marker for prognosis and monitoring of severity. *Clin Hemorheol.Microcirc.* 2007; 36:291-299.
139. Piagnerelli M, Boudjeltia KZ, Vanhaeverbeek M, Vincent JL: Red blood cell rheology in sepsis. *Intensive Care Med* 2003; 29:1052-1061.
140. Korbut RA, Adamek-Guzik T, Madej J, Korbut R: Endothelial secretagogues and deformability of erythrocytes. *J Physiol Pharmacol.* 2002; 53:655-665.
141. Starzyk D, Korbut R, Gryglewski RJ: Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro. *J Physiol Pharmacol.* 1999; 50:629-637.
142. Birnbaum J, Lehmann C, Taymoorian K, Krausch D, Wauer H, Gründling M et al.: Der Einfluss von Dopexamine und Iloprost auf die Plasma-Disappearance-Rate von Indozyaningrün bei Patienten im septischen Schock. *Anaesthesist* 2003; 52:1014-1019.
143. Honkonen EL, Kaukinen L, Kaukinen S, Pehkonen EJ, Laippala P: Dopexamine unloads the impaired right ventricle better than iloprost, a prostacyclin analog, after coronary artery surgery. *J Cardiothorac.Vasc.Anesth* 1998; 12:647-653.

144. Opitz CF, Wensel R, Bettmann M, Schaffarczyk R, Linscheid M, Hetzer R et al.: Assessment of the vasodilator response in primary pulmonary hypertension. Comparing prostacyclin and iloprost administered by either infusion or inhalation. *Eur Heart J* 2003; 24:356-365.

8. Danksagung

Mein Dank gilt zu allererst Frau Prof. Dr. Claudia Spies, die meine Projekte maßgeblich unterstützt hat und auch substanziell dazu beigetragen hat. Sie war bei allen Fragen eine sehr kompetente Ansprechpartnerin, die Zusammenarbeit mit ihr war immer sehr produktiv.

Als Betreuer während meiner Promotion hat mich erstmals Herr Univ.-Doz. Dr. Markus Haisjackl unter Leitung des damaligen Klinikdirektors Prof. Dr. Dr. W. J. Kox an wissenschaftliche Fragestellungen heran geführt und so mein Interesse an der wissenschaftlichen Arbeit geweckt.

Herr Prof. Dr. Christian Lehmann hat mich mehrere Jahre auf meinem Weg begleitet. Sowohl während seiner Zeit an der Charité als auch folgend als stellvertretender Klinikdirektor der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald hat uns eine enge Zusammenarbeit verbunden. Herr Prof. Dr. Thomas Volk, stellvertretender Direktor unserer Klinik, war mir ebenfalls immer ein hilfreicher und kompetenter wissenschaftlicher Ratgeber und Unterstützer.

Danken möchte ich weiterhin allen Doktoranden, ohne deren Arbeit die Gewinnung der Ergebnisse unserer Studien nicht möglich gewesen wäre. Stellvertretend für alle möchte ich hier Edda Klotz nennen, die mittlerweile als Ärztin in unserer Klinik arbeitet und engagiert und kompetent ihren Beitrag zu mehreren wissenschaftlichen Veröffentlichungen und Projekten geleistet hat.

Ich danke allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, Kolleginnen und Kollegen sowie allen Schwestern und Pflegern für die Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich an dieser Stelle bei meiner Frau Manuela bedanken, die mir immer auch als ärztliche Kollegin eine wertvolle Ratgeberin und konstruktive Kritikerin war. Bei ihr und bei meinem Sohn Mike bedanke ich mich für die unermessliche Geduld und Unterstützung.

9. Erklärung

gemäß §4 Abs 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde.
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

11. 03. 2008

Datum

Unterschrift