

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und
Schmerztherapie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Hugo Van Aken -

Hämodynamische und metabolische Effekte des
Kaliumkanalblockers Tetraethylammoniumchlorid im etablierten
Schafmodell des endotoxämischen Schocks

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Fiedler, Aygul, geb. Yanbulatova
aus Ufa, Rußland

2013

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Sebastian Rehberg

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Daniel Palmes

Tag der mündlichen Prüfung: 18.07.2013

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Hugo Van Aken -

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Sebastian Rehberg

Koreferent: Prof. Dr. med. Daniel Palmes

ZUSAMMENFASSUNG

Hämodynamische und metabolische Effekte des Kaliumkanalblockers
Tetraethylammoniumchlorid im etablierten Schafmodell des endotoxämischen Schocks

Fiedler, Aygul

Die schwere Sepsis und der septische Schock sind die häufigsten Todesursachen auf nicht-kardiologischen Intensivstationen, wobei der septische Schock definitionsgemäß mit einer hypotonen Kreislaufsituation einhergeht. Pathophysiologisch stellt die exzessive Aktivierung von Kaliumkanälen eine der Ursachen der arteriellen Vasodilatation und der vaskulären Resistenz gegenüber Katecholaminen dar. Somit bieten Kaliumkanalblocker einen potenziellen Ansatzpunkt für künftige medikamentöse Therapien des septischen Schocks. In der vorliegenden Untersuchung wurden die hämodynamischen und metabolischen Effekte der kontinuierlichen intravenösen Infusion des Kaliumkanal-Inhibitors Tetraethylammoniumchlorid im Tierversuchsmodell des wachen, endotoxämischen Schafs untersucht.

Methoden und Ergebnisse: Zwanzig wache, gesunde, weibliche Schafe (Tierversuchsvorhaben 9.93.2.10.36.07.126 vom 14.06.2007) erhielten eine kontinuierliche Endotoxin-Infusion (*Salmonella typhosa*, Start-Dosis $5 \text{ ng} \cdot \text{kg} \text{ KG}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) mit stündlicher Verdopplung der Dosis. Nach Einsetzen des septischen Schocks wurden der Therapiegruppe $8 \text{ mg} \cdot \text{kg} \text{ KG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ Tetraethylammoniumchlorid infundiert ($n=10$). Die Kontrollgruppe ($n=10$) erhielt lediglich Kochsalzlösung. Durch titrierte Infusion von Noradrenalin wurde ein mittlerer arterieller Druck von $70 \pm 5 \text{ mmHg}$ aufrechterhalten. Nach 12-stündiger Therapie wurden die Tiere narkotisiert und getötet. Die kontinuierliche Infusion von Tetraethylammoniumchlorid bewirkte einen signifikant langsameren Anstieg des Herzindex und der Herzfrequenz, sowie höhere Baseexcess-Werte und eine Reduktion der gemischt-venösen Sauerstoffsättigung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Außerdem war die Sterblichkeitsrate in der Therapiegruppe höher als bei den Kontrolltieren.

Schlussfolgerungen: Die Infusion von Tetraethylammoniumchlorid führte zu keiner Verbesserung der hämodynamischen Situation. Stattdessen kam es zu einer Beeinträchtigung der Myokardfunktion und konsekutiv zu einer eingeschränkten Kreislauffunktion, die in einer erhöhten Letalitätsrate in der Therapiegruppe resultierte. Diese Daten legen nahe, dass der unselektive Kaliumkanalblocker Tetraethylammoniumchlorid keine Therapieoption darstellt. Weitere Studien sind notwendig, um die selektive Blockade der vaskulären Kaliumkanäle zu untersuchen.

Tag der mündlichen Prüfung: 18.07.2013

ERKLÄRUNG

Ich gebe hiermit die Erklärung ab, dass ich die Dissertation mit dem Titel:
**Hämodynamische und metabolische Effekte des Kaliumkanalblockers
Tetraethylammoniumchlorid im etablierten Schafmodell des
endotoxämischen Schocks**

in der/im (Klinik, Institut, Krankenanstalt):

Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie

unter der Anleitung von:

PD Dr. Sebastian Rehberg

1. selbständig angefertigt,
2. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeiten angefertigt und sonst kein anderes gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
3. keine unerlaubte fremde Hilfe in Anspruch genommen,
4. sie weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit, oder zur Erlangung eines akademischen Grades, vorgelegt habe.

Münster, 08.12.2012

Ort, Datum

Name: *Aygul Fiedler*
(in Druckbuchstaben)

A. Fiedler

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	A
Tabellenverzeichnis	A
Abkürzungsverzeichnis	B
1. Einleitung	1
1.1. Definitionen der Sepsis _____	1
1.2. Epidemiologie _____	2
1.3. Pathophysiologie _____	4
1.4. Kaliumkanäle _____	9
1.5. Therapie _____	12
1.6. Tetraethylammoniumchlorid _____	14
1.7. Zielsetzung _____	16
2. Material und Methoden	17
2.1. Tierexperimentelle Studie _____	17
2.2. Instrumentierung _____	17
2.3. Hämodynamisches Monitoring _____	19
2.4. Versuchsprotokoll _____	20
2.5. Statistische Auswertung _____	22
3. Ergebnisse	23
3.1. Ausgangsmessungen _____	23
3.2. Hämodynamische Effekte von Tetraethylammoniumchlorid _____	25
3.3. Pulmonale Effekte von Tetraethylammoniumchlorid _____	29
3.4. Wirkung von Tetraethylammoniumchlorid auf den globalen Sauerstofftransport _____	29
3.5. Wirkung von Tetraethylammoniumchlorid auf den Säure-Basen-Haushalt _____	31
3.6. Wirkung von Tetraethylammoniumchlorid auf die Körpertemperatur, den Laktat- und Glukosestoffwechsel, die Diurese sowie den Hämoglobin- und Hämatokritwert _____	32
3.8. Volumenbedarf und Kathecholamine _____	34
3.9. Überlebenszeit _____	35
4. Diskussion	37
4.1. Effekte der Endotoxinämie _____	37
4.2. Hämodynamische und metabolische Effekte von Tetraethylammoniumchlorid _____	39
4.3. Überlebenszeit _____	42
4.4. Limitierungen _____	43
5. Schlussfolgerung	44

Inhaltsverzeichnis

6. Literaturverzeichnis	45
Curriculum vitae	57
Danksagungen	

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Pathophysiologie der Sepsis	5
Abbildung 2 Beeinträchtigte Homöostase zwischen prokoagulatorischen und gerinnungshemmenden fibrinolytischen Mechanismen	6
Abbildung 3 Stickstoffmonoxid-Produktion in der Sepsis	8
Abbildung 4 Aktivierung der Kaliumkanäle	10
Abbildung 5 Formel des Tetraethylammoniumchlorids ($C_4H_{12}ClN$)	15
Abbildung 6 Schematische Darstellung der externen und/oder internen Kalium-Kanal-Blockade durch Tetraethylammoniumchlorid	15
Abbildung 7 Einföhrung des Pulmonalarterienkatheters	18
Abbildung 8 Kaplan-Meier-Kurven 12 Stunden nach Schockinduktion für die Tetraethylammoniumchlorid- und Kontroll-Gruppen	35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Diagnosekriterien für Sepsis, schwere Sepsis und septischen Schock entsprechend den American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine Konsensus- Konferenz Kriterien	2
Tabelle 2 Berechnungsformeln	20
Tabelle 3 Vergleich von hämodynamischen und metabolischen Parametern zwischen den Gruppen bei Baseline1 und Baseline2	25
Tabelle 4 Mittlerer arterieller Druck	26
Tabelle 5 Herzfrequenz	26
Tabelle 6 Herzzeitvolumen	26
Tabelle 7 Systemischer Widerstandsindex	27
Tabelle 8 Herzindex	27
Tabelle 9 Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex	27
Tabelle 10 Schlagvolumenindex	28
Tabelle 11 Zentralvenöser Druck	28
Tabelle 12 Pulmonalarterieller Verschlussdruck	28
Tabelle 13 Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex	28
Tabelle 14 Mittlerer pulmonalarterieller Druck	29
Tabelle 15 Pulmonal vaskulärer Widerstandsindex	29
Tabelle 16 Sauerstoffangebotsindex	30
Tabelle 17 Sauerstoffverbrauchsindex	30
Tabelle 18 Sauerstoffextraktionskonstante	30
Tabelle 19 Gemischt venöse Sauerstoffsättigung	31
Tabelle 20 Arterieller Kohlendioxidpartialdruck	31
Tabelle 21 Arterieller Sauerstoffpartialdruck	31
Tabelle 22 pH	32
Tabelle 23 Baseexcess	32
Tabelle 24 Temperatur	33
Tabelle 25 Lactat	33
Tabelle 26 Urinmenge	33
Tabelle 27 Hämoglobin	33
Tabelle 28 Hämatokrit	34
Tabelle 29 Glukosekonzentration	34
Tabelle 30 Infusionsmengen	35
Tabelle 31 Gruppen und 12-Stunden-Sterbensrate	35
Tabelle 32 Log-rank Test	36

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ATP	Adenosin-Triphosphat
BE	Base Excess
BE _{ox}	korrigierter Oxymetrie-Base Excess-Wert
BL1	Baseline-Messung 1
BL2	Baseline-Messung 2
CI	Herzindex
DO ₂ I	Sauerstoffangebotsindex
GEE	Generalized Estimating Equations
Hb	Hämoglobinwert
HF	Herzfrequenz
Hk	Hämatokrit
HZV	Herzeitvolumen
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare Form der NO-Synthase
INR	International Normalized Ratio
Kalium _{ATP}	Adenosin-Triphosphat-sensitiver Kalium-Kanal
Kalium _{Ca²⁺}	Kalzium-abhängiger Kalium-Kanal
KG	Körpergewicht
LPS	Lipopolysaccharid
LVSWI	linksventrikulärer Schlagarbeitsindex
MAP	mittlerer arterieller Druck
MPAP	mittlerer pulmonalarterieller Druck
NA	Noradrenalin
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂ -ER	Sauerstoffextraktionsrate
PaCO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1
PaO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PCWP	pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PvO ₂	venöser Sauerstoffpartialdruck
PVRI	pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
RVSWI	rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex
SaO ₂	arterielle Sauerstoffsättigung
SD	Standarddeviation
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
SUR	Sulfonylharnstoff-Rezeptor
SVI	Schlagvolumenindex
SvO ₂	gemischt-venöse Sauerstoffsättigung
SVRI	systemvaskulärer Widerstandsindex
Tab.	Tabelle
TEA	Tetraethylammoniumchlorid
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
VO ₂ I	Sauerstoffverbrauchsindex

Abkürzungsverzeichnis

ZVD zentraler Venendruck

1. Einleitung

1.1. Definitionen der Sepsis

Das Wort „Sepsis“ stammt aus der griechischen Sprache. Während der Begriff „Sepsis“ *gut* bedeutet und die natürlichen Prozesse der Reifung und Gärung beschreibt, steht „Sepsis“ für *Fäulnis begleitet von schlechtem Geruch*. Die Fäulnis als Prozess bakteriellen Ursprungs wurde jedoch erst über tausend Jahre später durch Pasteur beschrieben [31].

Eine aktuellere Definition der Sepsis wurde 1989 von Bone veröffentlicht. Er schrieb: „Sepsis ist definiert als eine Invasion von Mikroorganismen und/oder ihrer Toxine in den Blutstrom, zusammen mit der Reaktion des Organismus auf diese Invasion“. Diese Definition wurde 1991 von einer Konsensus-Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine weitergeführt [36]. Im Rahmen dieser Konferenz wurden auch verschiedene Begriffsdefinitionen für *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS), Sepsis, schwere Sepsis, septischen Schock und Multiorganversagen festgelegt. Im Jahre 2001 wurden die aktuellen Definitionen von Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock im Rahmen einer erneuten Konsensuskonferenz bestätigt, und es wurde eine erweiterte Liste der klinischen Zeichen und Symptome der Sepsis vorgeschlagen [33, 68].

Ein SIRS liegt vor, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien erfüllt sind: Körpertemperatur $\geq 38\text{ C}^\circ$ oder $\leq 36\text{ C}^\circ$, Tachykardie ($\geq 90\text{ min}^{-1}$), Tachypnoe (Atemfrequenz $\geq 20\text{ min}^{-1}$) oder Hyperventilation (arterieller Kohlendioxidpartialdruck $[\text{PaCO}_2] \leq 33\text{ mmHg}$), Veränderungen der Zahl der Leukozyten (Leukozytose $\geq 12000\text{ mm}^{-3}$ oder Leukozytopenie $\leq 4000\text{ mm}^{-3}$ oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im peripheren Blut). Ein SIRS kann z.B. durch eine Pankreatitis, durch eine Operation oder ein Polytrauma hervorgerufen werden [13].

Von einer Sepsis spricht man, wenn eine nachgewiesene oder klinisch vermutete Infektion ein SIRS hervorruft. Die schwere Sepsis („severe sepsis“) ist gekennzeichnet durch das zusätzliche Auftreten einer Organdysfunktion bzw. einer Organhypoperfusion. Beim septischen Schock liegt zusätzlich eine arterielle Hypotension vor [12, 33] (Tab.1).

<p>I. Nachweis der Infektion Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien</p>
<p>II. SIRS (mind. 2 Kriterien)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fieber ($\geq 38\text{ °C}$) oder Hypothermie ($\leq 36\text{ °C}$) bestätigt durch eine rektale oder intravasale oder –vesikale Messung - Tachykardie: Herzfrequenz $\geq 90\text{ min}^{-1}$ - Tachypnoe (Frequenz $\geq 20\text{ min}^{-1}$) oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 4.3\text{ kPa} / \leq 33\text{ mmHg}$) und/oder maschinelle Beatmung - Leukozytose ($\geq 12000\text{ mm}^{-3}$) oder Leukopenie ($\leq 4000\text{ mm}^{-3}$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild
<p>III. Akute Organdysfunktion (mind. 1 Kriterium)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium. - Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30% innerhalb von 24 h oder Thrombozytenzahl $\leq 100.000\text{ mm}^{-3}$. Eine Thrombozytopenie durch akute Blutung oder immunologische Ursachen muss ausgeschlossen sein. - Arterielle Hypoxämie: $\text{PaO}_2 \leq 10\text{ kPa} (\leq 75\text{ mmHg})$ unter Raumluft oder ein $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$-Verhältnis von $\leq 33\text{ kPa} (\leq 250\text{ mmHg})$ unter Sauerstoffapplikation. Eine manifeste Herz- oder Lungenerkrankung muss als Ursache der Hypoxämie ausgeschlossen sein. - Renale Dysfunktion: Eine Diurese von $\leq 0,5\text{ ml}\cdot\text{kg}\text{ KG}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ für wenigstens 1 h trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins $> 2\times$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches. - Metabolische Azidose: Base Excess $\leq -5\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ oder eine Laktatkonzentration $> 1,5\times$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches.
<p>Sepsis: Kriterien I und II, Schwere Sepsis: Kriterien I, II und III Septischer Schock: Kriterien I und II sowie für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck $\leq 90\text{ mmHg}$ bzw. ein MAP $\leq 65\text{ mmHg}$ oder notwendiger Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck $\geq 90\text{ mmHg}$ oder den MAP $\geq 65\text{ mmHg}$ zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.</p>

Tabelle 1 Diagnosekriterien für Sepsis, schwere Sepsis und septischen Schock entsprechend den American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine Konsensus-Konferenz Kriterien

Legende: FiO_2 = Sauerstoffanteil in der Atemluft; MAP = mittlerer arterieller Druck; PaCO_2 = arterieller Kohlendioxidpartialdruck; PaO_2 = arterieller Sauerstoffpartialdruck; SIRS = systemic inflammatory response syndrome.

1.2. Epidemiologie

Die schwere Sepsis und der septische Schock stellen aktuell die Hauptursache für Morbidität und Letalität bei kritisch kranken Patienten dar [77]. Der septische Schock

ist inzwischen die häufigste Todesursache auf nichtkardiologischen Intensivstationen [7]. Die häufigsten Auslöser einer Sepsis sind Pneumonie, Bakteriämie, Infektionen der Harnwege und Geschlechtsorgane, Infektionen der Bauchorgane sowie Wund- und Weichteilinfektionen [3].

Die EPISEPSIS-Studie aus Frankreich schloss 3738 Patienten ein und erhob eine Prävalenz von 14,6% für die schwere Sepsis und den septischen Schock. Die Letalität in dieser Studie betrug 35% nach 30 Tagen, nach 2 Monaten lag die Sterblichkeitsrate bei 41,9% [16]. In der Slowakei wurde im Jahr 2002 eine Studie durchgeführt, die eine Letalität der schweren Sepsis von 51,2 % beschrieb [122].

Die im Jahr 2007 veröffentlichte Untersuchung von Engel et al. zeigte, dass die geschätzte Prävalenz in Deutschland 12,4% für die Sepsis und 11,0% für die schwere Sepsis bei Patienten auf Intensivtherapiestationen betrug. Die Letalität lag laut dieser Studie bei 55%. Die Inzidenzrate betrug jährlich etwa 79.000 neu diagnostizierte Fälle für die Sepsis bzw. 75.000 Fälle für die schwere Sepsis (entspricht 116 bzw. 110 pro 100.000 Einwohner) [38]. Im Vergleich dazu lag die Inzidenz in England und Wales bei 51 gemeldeten Fällen pro 100.000 Einwohner pro Jahr [3, 83].

Im Jahr 2003 wurde eine große Studie zur Entwicklung der Epidemiologie der Sepsis in den USA von 1979 bis 2000 veröffentlicht. Die gesamte Letalität sank von 27,8% im Zeitraum von 1979 bis 1984 auf 17,9% im Zeitraum von 1995 bis 2000. Die Letalität war am höchsten bei farbigen Männern. Die Inzidenz der Sepsis im betrachteten 22-Jahres-Zeitraum stieg von 82,7 Fällen pro 100.000 Einwohner auf 240,4 Fälle pro 100.000 Einwohner [42]. Die sinkende Letalität kann durch fortgeschrittene Diagnostik, Behandlung der zugrunde liegenden Infektionen und durch die bessere Prävention von Komplikationen erklärt werden [73, 120]. Zu den möglichen Gründen für eine Zunahme der Inzidenz der Sepsis in den letzten Jahren gehören eine steigende Anzahl von Organtransplantationen sowie immunsuppressiven und chemotherapeutischen Medikationen, Antibiotikaresistenzen, und die hohe Anzahl an HIV-positiven Patienten [102].

Die Sepsis stellt auch einen erheblichen Kostenfaktor im Gesundheitswesen dar. Die direkten anteiligen Kosten, die allein für die intensivmedizinische Behandlung von Patienten mit schwerer Sepsis anfallen, liegen in Deutschland jährlich bei ca. 1,77

Milliarden Euro. Damit werden ca. 30% des Budgets für Intensivmedizin in die Behandlung der Sepsis investiert [17]. Die durchschnittlichen Kosten pro Patienten in den USA betragen 22.100 USD, mit jährlichen Gesamtkosten von 16,7 Milliarden USD bezogen auf die gesamte Nation. Somit stellt die Sepsis ein bedeutsames sozio-ökonomisches Problem dar.

1.3. Pathophysiologie

Die Pathophysiologie der Sepsis stellt eine komplexe, systemische Immunantwort dar, in dessen Rahmen durch die Freisetzung von unterschiedlichen Endotoxinen und Zytokinen verschiedene inflammatorische Kaskaden aktiviert werden, die schließlich in einem Multiorganversagen münden können [26, 114]. (Abb.1). Definitionsgemäß liegt einer Sepsis eine Infektion zugrunde. Das Erregerspektrum umfasst sowohl Bakterien und Viren, als auch Pilze und Parasiten [9]. Bei den bakteriellen Infektionen unterscheidet sich die Pathogenese der Sepsis in Abhängigkeit vom Erregertyp (gram-positiv vs. gram-negativ).

Grampositive Bakterien produzieren häufig potente Exotoxine, z.B. das von *Staphylococcus aureus* freigesetzte Toxic Shock Syndrom-Toxin-1 oder die pyrogenen Exotoxine von *Streptococcus pyogenes*. Diese Exotoxine haben die Eigenschaften von Superantigenen und können zur massiven T-Zell-Aktivierung mit Freisetzung von proinflammatorischen Lymphokinen führen. Ausserdem steigern die gram-positiven Toxine die Empfindlichkeit auf Lipopolysaccharid (LPS). Das Toxic Shock Syndrome-Toxin-1 erhöht tierexperimentell die Wahrscheinlichkeit, nach Exposition mit LPS eine Sepsis zu entwickeln, um einen Faktor von etwa 50.000. Eine Ko-Injektion von LPS und Toxic Shock Syndrome-Toxin-1 induziert die Tumor-Nekrose-Faktor-(TNF-) Freisetzung signifikant schneller als die Injektion ähnlicher Einzeldosen der Toxine. Diese Wechselwirkung zwischen Toxinen der gram-positiven Bakterien und LPS könnte zum Teil den fulminanten Verlauf des Toxic Shock Syndroms erklären [26].

LPS aus der Außenmembran gramnegativer Bakterien, das erst bei Zelllyse freigesetzt werden, ist ein weiterer wichtiger Auslöser des septischen Schocks [113]. Zuerst bindet LPS an das LPS-bindende Protein, das die Affinität des Endotoxins zum CD14-

Rezeptor erhöht, der sowohl membrangebunden auf Monozyten, Makrophagen und Neutrophilen exprimiert wird, als auch in der löslichen Form (sCD14) im Plasma vorliegt. CD14-negative Zellen, wie Endothelzellen, Epithelzellen und glatte Muskelzellen können über die Interaktion von LPS mit sCD14 aktiviert werden [30, 112].

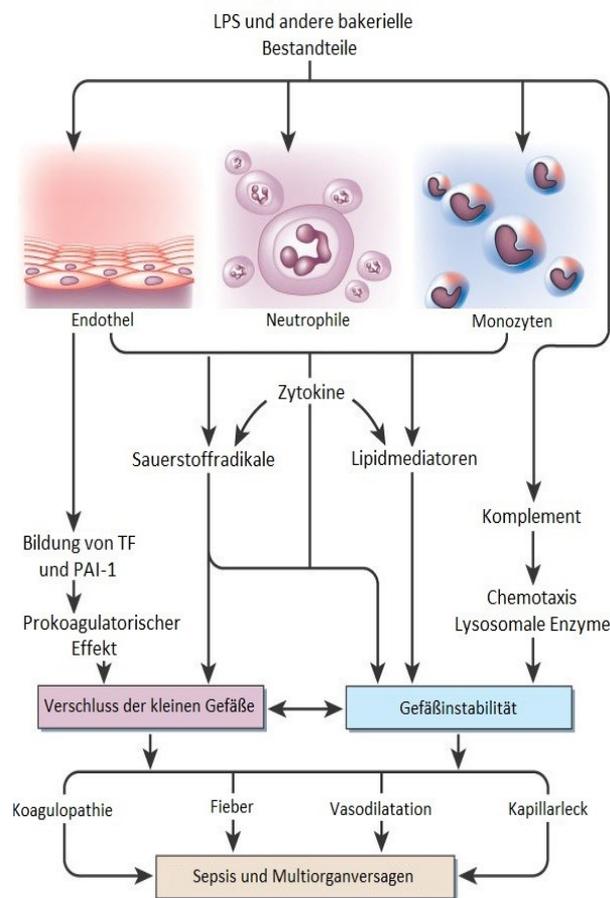


Abbildung 1 Pathophysiologie der Sepsis

Legende: LPS = Lipopolysaccharid; PAI-1 = Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1; TF = tissue factor.

Mononukleäre Zellen spielen eine Schlüsselrolle in der Sepsiskaskade, da sie nach einer Exposition mit LPS pro-inflammatorische Zytokine wie Interleukin(IL)-1, IL-6, TNF- α , IL-12, IL-15 und IL-18 ausschütten. TNF- α und IL-1 sind inflammatorische Zytokine, die während der ersten 30 - 90 Minuten freigesetzt werden und eine weitere Entzündungskaskade mit Freisetzung von IL-6 und IL-8, reaktiven Sauerstoffradikalen,

Thromboxanen, Leukotrienen, Plättchen-aktivierendem Faktor, sowie den Zelladhäsionsmolekülen aktivieren [7, 26]. Zur Kompensation der weiter fortschreitenden proinflammatorischen Reaktion entwickelt der Organismus einen Prozess, der als „compensatory anti-inflammatory response syndrome“ bezeichnet wird. Es ist eine ausgleichende, anti-entzündliche Reaktion, die oft zur Entwicklung der Immunsuppression sowie zur Überproduktion von anti-inflammatorischen Zytokinen, wie der IL-1Ra, IL-4 und IL-10, durch T-Zellen führt [86].

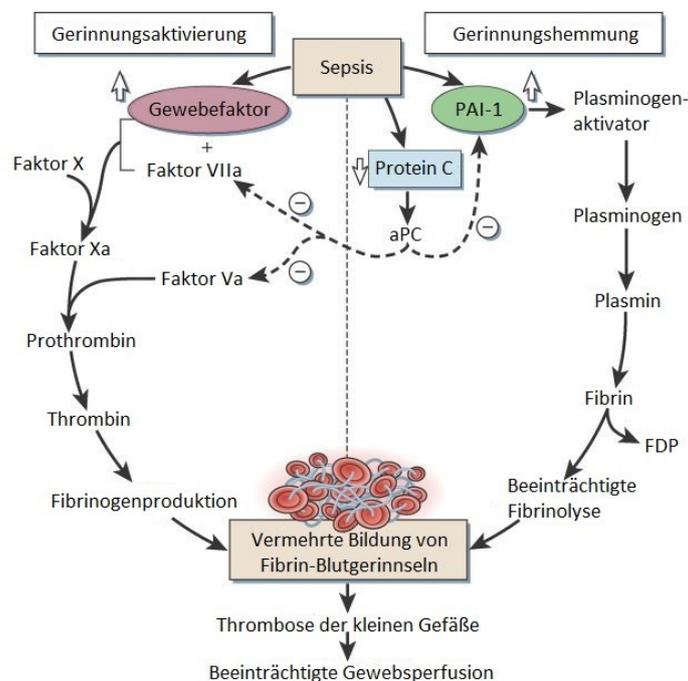


Abbildung 2 Beeinträchtigte Homöostase zwischen prokoagulatorischen und gerinnungshemmenden fibrinolytischen Mechanismen

Legende: aPC = aktiviertes Protein C; FDP = Fibrinabbauprodukte; PAI-1 = Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1.

Im Rahmen der Sepsis aktivieren proinflammatorische Zytokine auch die Gerinnungskaskade [81]. Etwa 30-50% der septischen Patienten leiden an schweren Störungen der Blutgerinnung (z. B. disseminierte intravasale Gerinnung). Der Gewebefaktor als primärer Initiator der Gerinnungskaskade führt zur Bildung von intravaskulären Thromben. Gleichzeitig ist die Konzentration von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) erhöht, was zu einer Beeinträchtigung der Produktion von Plasmin und damit zum Ausfall der fibrinolytischen Mechanismen führt. Das

Ungleichgewicht zu Gunsten eines prokoagulatorischen Zustands resultiert im Extremfall in der Ausbildung einer disseminierten intravasalen Gerinnung [2, 26] (Abb. 2).

Charakteristika des septischen Schocks sind Vasodilatation, Umverteilung des Blutvolumens von peripher nach zentral, Vasopressor-refraktäre arterielle Hypotonie und Hypoperfusion der Endorgane [82, 103]. Die arterielle Hypotonie ist einerseits durch Hypovolämie andererseits durch eine Vasoplegie bedingt [14, 37]. Trotz der deutlich erhöhten Katecholamin-Konzentrationen im Plasma und der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems kann im Rahmen des septischen Schocks kein ausreichender Gefäßtonus aufrechterhalten werden. Diese Vasodilatation wird durch Funktionsstörungen in den glatten Gefäßmuskelzellen verursacht [60, 67]. Als Ursache für die gestörte Gefäßmuskelkontraktion im septischen Schock sind drei Mechanismen beschrieben worden: 1. Aktivierung der induzierbaren Form der Stickstoffmonoxidsynthase (iNOS); 2. Mangel an endogenem Vasopressin; 3. Aktivierung Adenosintriphosphat (ATP)-sensitiver Kaliumkanäle (Kalium_{ATP}-Kanäle) in der Plasmamembran der Gefäßmuskelzellen [60].

Stickstoffmonoxid (NO) ist eine vasodilatierende wirkende Substanz, die aus Endothelzellen unter anderem im Rahmen der Sepsis freigesetzt wird. NO kann mithilfe der NOS aus L-Arginin gewonnen werden. Es sind 3 verschiedene Formen des Enzyms bekannt: die neuronale, die konstitutive und die induzierbare Form [55, 84]. Die Mechanismen der verstärkten Expression der iNOS sind noch nicht vollständig geklärt, am ehesten sind die Zytokine (wie IL-1 β , IL-6, TNF- α , Interferon- γ) beteiligt. Eine vermehrte Expression der iNOS in Organen oder Geweben im septischen Schock führt zu einer verstärkten Bildung von NO, was unter anderem durch die Aktivierung der Myosin-leichte-Kette-Phosphatase eine der Ursachen von Hypotonie und vaskulärer Hyporeaktivität gegenüber Vasokonstriktoren ist (Abb.3) [109].

Des Weiteren kann ein Mangel des körpereigenen Peptidhormons Vasopressin im Rahmen des septischen Schocks eine Hypotonie verursachen. Durch die Interaktion von Vasopressin mit Rezeptoren in den Gefäßen kommt es zur Blutdruckerhöhung und Anstieg des Gefäßtonus [99]. Bei der schweren Sepsis wird Vasopressin aus der Neurohypophyse freigesetzt, seine Konzentration im Plasma steigt rapide an. Am

Anfang trägt Vasopressin zur Aufrechterhaltung des arteriellen Blutdrucks bei. Im weiteren Verlauf des septischen Schocks kommt es jedoch zum starken Abfall der anfänglich sehr hohen Konzentrationen im Plasma, was zu einer erneuten arteriellen Hypotonie führt [60].

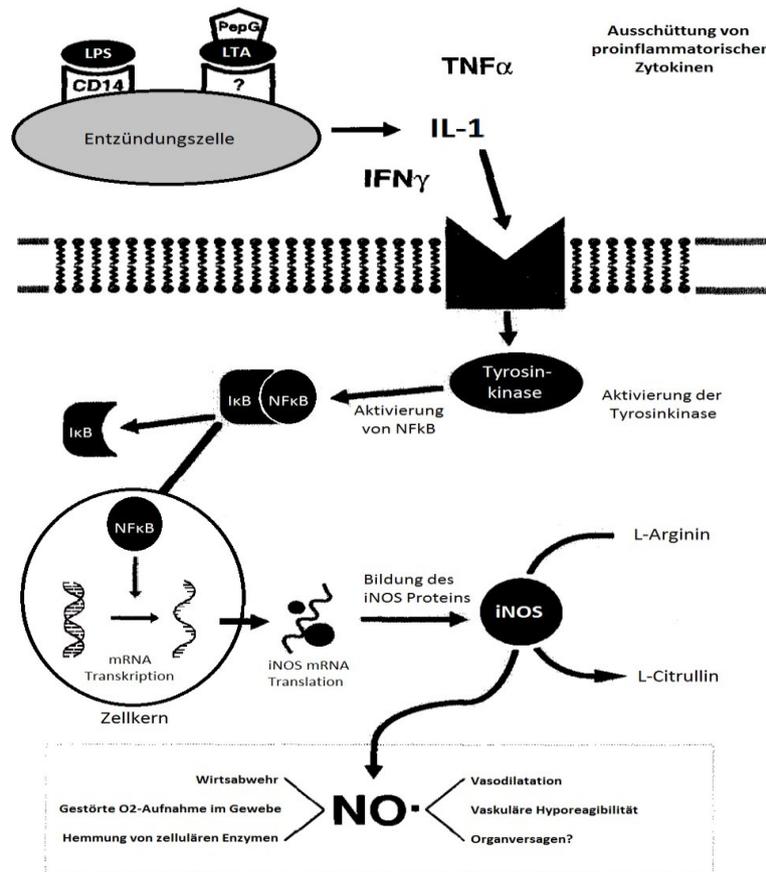


Abbildung 3 Stickstoffmonoxid-Produktion in der Sepsis

Legende: IFN γ = Interferon- γ ; I-kB = Inhibitor kappa B; IL-1 = Interleukin-1; iNOS = induzierbare Form der Stickstoffmonoxidsynthase; LPS = Lipopolysaccharid; LTA = Lipoteichonsäure; mRNA = Messenger-Ribonukleinsäure; NF-kB = Transkriptionsfaktor; NO = Stickstoffmonoxid; PepG = Peptidoglykan; TNF- α = Tumor Nekrose Faktor- α .

Außerdem kommt es im Rahmen der systemischen Entzündungsreaktion zu einer Endothelschädigung, die dazu führt, dass große Mengen an eiweißreicher Flüssigkeit mit konsekutiver Ödembildung in das subkutane Gewebe austreten [37]. Endothelzellen dienen als selektive Barriere für den Austausch von Flüssigkeit und Makromolekülen zwischen dem vaskulären Kompartiment und umliegendem Gewebe. Im septischen

Schock kommt es zur Phosphorylierung der endothelialen, leichten Myosinketten, was zu einer Kontraktion der Endothelzellen mit resultierender Erhöhung der Gefäßpermeabilität führt. Als Ergebnis entsteht eine absolute Hypovolämie [29]. Die parallel durch proinflammatorische Mediatoren ausgelöste Expression von leukozytären Adhäsionsmolekülen, wie P-Selektin oder *intercellular adhesion molecule-1*, führt zur Leukozytenadhäsion mit mechanischer Flussbehinderung und Beeinträchtigung der Mikrozirkulation. Ausserdem setzen die aktivierten Leukozyten zytotoxische Mediatoren, wie beispielweise reaktive Sauerstoffradikale, frei [9]. Die darausresultierende Gewebshypoxie führt potenziell zur Organdysfunktion und Organversagen [47, 92].

Im Rahmen der schweren Sepsis und des septischen Shocks kommt es auch zu einer Beeinträchtigung der Herzfunktion, der sogenannten septischen Kardiomyopathie. Diese kardiale Dysfunktion ist durch biventrikuläre Dilatation, Senkung der Ejektionsfraktion und reduzierte Kontraktilität charakterisiert [40].

Bei der Entwicklung der Kreislauffunktion im septischen Schock unterscheidet man zwischen zwei Phasen: die Anfangsphase wird durch ein erhöhtes Herzzeitvolumen (HZV) und einen niedrigen peripheren Gefäßwiderstand gekennzeichnet (hyperdynamie Phase), während die spätere Phase durch eine verminderte kardiale Leistung bei niedrigem HZV mit arterieller Hypotonie charakterisiert wird (hypodynamie Phase) [57]. Letztere ist mit einem deutlich schlechterem Outcome assoziiert [85, 105].

1.4. Kaliumkanäle

Kaliumkanäle sind Membranproteine, die eine entscheidende Rolle bei der Regulation von zellulären Signalwegen, Freisetzung von Neurotransmittern, Kontrolle der Herzfrequenz, Insulinsekretion, neuronaler Erregbarkeit, epithelialelektrolyttransport und Kontraktion der glatten Muskulatur spielen [19, 104]. Es sind vier verschiedene Kaliumkanäle in der Plasmamembran von glatten Muskelzellen in Gefäßwänden bekannt: die Kalium_{ATP}-Kanäle, die verzögerten Gleichrichter, die Kalzium-abhängigen Kaliumkanäle (Kalium_{Ca2+}-Kanäle) und die spannungsabhängigen Kanäle.

Kalium_{ATP}-Kanäle befinden sich in verschiedenen Zelltypen, einschließlich Herzmuskel-, Pankreas- β -Zellen, Neuronen, Skelettmuskelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen [61, 62]. Diese Kanäle bestehen aus 4 porenbildenden Kir6.x Untereinheiten und 4 Sulfonylharnstoff-Rezeptor (SUR) Untereinheiten [103]. Verminderte intrazelluläre ATP-Konzentration, Laktatazidose, Hypoxie, Wasserstoffionen, Adenosin, Prostazyklin und NO sind an der Aktivierung und Öffnung von Kalium_{ATP}-Kanälen beteiligt [58, 110] (Abb. 4). Dies führt zum erhöhten Kalium-Einstrom und zur Hyperpolarisation der Plasmamembran. Die spannungsabhängigen Ca²⁺-Kanäle schließen, der Ca²⁺-Zustrom nimmt ab und die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration verringert sich. Als Folge dessen kommt es zur Entspannung der glatten Gefäßmuskulatur [61].

Die Kalium_{ATP}-Kanäle regulieren somit das Ruhemembranpotential [49]. Studien beschreiben, dass die Verabreichung des selektiven Kalium_{ATP}-Kanal-Blockers Glibenclamid eine Verengung der Arteriolen verursacht [48, 115]. In diesem Zusammenhang konnten Kuo et. al an glatten Muskeln von septischen Ratten zeigen, dass eine vaskuläre Hyperpolarisation der Zellmembran durch abnormale Aktivierung von vaskulären Kaliumkanälen induziert wird [57].

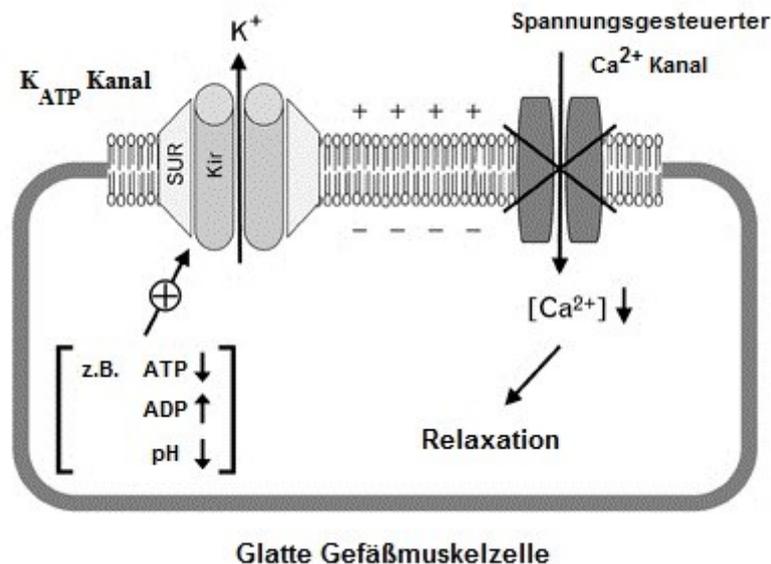


Abbildung 4 Aktivierung der Kaliumkanäle

Legende: ADP = Adenosin-Diphosphat; ATP = Adenosin-Triphosphat; Ca²⁺ = Kalzium-Ion; K⁺ = Kalium-Ion; K_{ATP}-Kanal = Adenosin-Triphosphat-sensitiver Kalium-Kanal; Kir = Kalium inward rectifier; SUR = Sulfonylharnstoff-Rezeptor.

Eine weitere, gut untersuchte Funktion der Kalium_{ATP}-Kanäle ist die Steuerung der Insulinfreisetzung aus den β -Zellen der Bauchspeicheldrüse. Kalium_{ATP}-Kanäle sind auch im Hypothalamus sowie Skelettmuskel an der Regulierung der Glukose-Homöostase beteiligt [19].

Die Kalium_{ATP}-Kanäle können durch NO-Freisetzung aktiviert werden. Eine Studie von Collin et. al stellte fest, dass es durch Bildung von NO über NF- κ B (Transkriptionsfaktor) nicht nur zur Aktivierung sondern auch zur vermehrten Expression von Kalium_{ATP}-Kanälen sowohl in der frühen als auch in der späten Phase des septischen Schocks kam [28].

Von besonderem Interesse sind die Kalium_{Ca²⁺}-Kanäle, die empfindlich auf die Ca²⁺-Konzentration im Zytosol reagieren. Die Aktivierung dieser Kanäle ist verantwortlich für die verminderte Ansprechbarkeit auf Vasokonstriktoren im septischen Schock. Dies erweist sich als charakteristisch für alle Formen des vasodilatatorischen Schocks. In diesem Rahmen kommt es zu folgender Reaktionskaskade: Induziert durch Vasokonstriktoren wie Noradrenalin (NA), steigt initial die cytosolische Ca²⁺-Konzentration an, anschließend öffnen sich die Kalium_{Ca²⁺}-Kanäle in vaskulären glatten Muskelzellen. Die geöffneten Kalium_{Ca²⁺}-Kanäle bewirken daraufhin eine Hyperpolarisation der Plasmamembran, was letztendlich die weitere Vasokonstriktion verhindert [50, 59]. Ausserdem sind die Kalium_{Ca²⁺}-Kanäle wahrscheinlich die ersten, die an der NO-abhängigen Zellrelaxation beteiligt sind. Darüber hinaus können Kalium_{Ca²⁺}-Kanäle auch durch andere Vasodilatoren wie Wasserstoffperoxid und Epoxyeicosatriensäuren aktiviert werden [21].

Aufgrund dieser pathophysiologischen Eigenschaften stellt die Blockade der Kaliumkanäle im septischen Schock eine potenzielle Therapieoption dar [61]. Eine Arbeit von Landry et. al aus dem Jahre 1992 zeigte, dass die, durch Aktivierung von Kalium_{ATP}-Kanälen verursachte Vasodilatation und Hypotonie unter anaeroben, Sepsis-ähnlichen Bedingungen, nach medikamentöser Kalium_{ATP}-Kanal-Hemmung mit Hilfe von Sulfonylharnstoffen reversibel war [58, 62]. In einer anderen Studie an Schweinen konnte die Endotoxin-induzierte Hypotonie nach Gabe des selektiven Kaliumkanal-Blockers Glibenclamid ebenfalls behoben werden [116]. Bei endotoxämischen Schafen wurde durch Blockade der Kalium_{ATP}-Kanäle durch Glipizid ein Anstieg des MAP ohne

Anzeichen einer Gewebhypoxie hervorgerufen [63].

Die tierexperimentellen Studien zeigten, dass Kaliumkanal-Blocker in der Behandlung des septischen Schocks erfolgreich waren, jedoch ist es schwierig vorherzusagen, ob eine Hemmung der Kaliumkanäle ebenfalls positive Auswirkungen auf Patienten im septischen Schock hätte [89]. Eine randomisierte, placebo-kontrollierte Studie von Warrillow et. al. untersuchte die Hypothese, dass eine Blockade von Kalium_{ATP}-Kanälen mit Glibenclamid die Ansprechbarkeit auf NA bei Patienten im septischen Schock wiederherstellen würde. Es stellte sich heraus, dass es zu keiner Verringerung der NA-Dosis durch Kaliumkanal-Blockade im Vergleich zur Placebo-Gruppe kam [117]. Eine potenzielle Erklärung hierfür könnte der Applikationsweg sein, da Glibenclamid im Gegensatz zu anderen experimentellen Studien enteral und nicht intravenös verabreicht wurde. Die eingeschränkte Magen-Darm-Durchblutung im septischen Schock könnte zur verringerter Resorption und folglich reduzierter Wirksamkeit geführt haben. Ausserdem war die Dosierung des Sulfonylharnstoffs deutlich niedriger als in den tierexperimentellen Studien. Ein weiterer Kritikpunkt ist die geringe Anzahl der in der Studie untersuchten Patienten [61].

Die Anwendung einer Kaliumkanal-Blockade kann jedoch auch unerwünschte Wirkungen hervorrufen. Zum Beispiel kann die Schließung mitochondrialer Kaliumkanäle zur Beeinträchtigung von physiologischen Schutzmechanismen vor ischämischen und chemischen Schädigungen in zerebralen Neuronen oder Herzmuskelzellen führen [35]. Darüber hinaus resultiert die Hemmung der Kanäle in der Bauchspeicheldrüse in geringeren Blutzuckerkonzentrationen, die mit dem Risiko einer Hypoglykämie einhergehen [61].

1.5. Therapie

Die Therapieansätze der Sepsis bestehen aus kausaler, supportiver und adjunktiver Therapie:

I. Kausale Therapie

Die Fokussanierung ist die Voraussetzung für eine erfolgreiche Behandlung der schweren Sepsis und des septischen Schocks. Dazu gehören je nach Infektionsquelle die Entfernung von Fremdkörpern (Katheter, Gefäßprothesen, Implantaten,

Osteosynthesematerial, Gelenkersatz) sowie die Inzision oder Computertomographisch-gesteuerte Drainage von Abszessen, Wundeneröffnung und Debridement, Amputation und Fasziotomie, Behandlung einer Peritonitis, Anastomoseninsuffizienz und Ileus durch Peritoneallavage, Drainage oder Enterostomie [95].

Ausserdem sollten innerhalb der ersten Stunde nach Diagnosestellung Blutkulturen entnommen und eine kalkulierte intravenöse Antibiotikatherapie begonnen worden sein. Die antimikrobielle Therapie sollte nach 48-72 h anhand des Antibiogramms sowie der klinischen Symptomatik überprüft werden, um den Therapieerfolg zu kontrollieren, die Entwicklung von Resistenzen zu verhindern, die Toxizität zu reduzieren und die Behandlungskosten zu senken. Die Dauer der Therapie sollte in der Regel 7-10 Tage betragen [32].

II. Supportive Therapie

Unter supportiver Therapie versteht man die Erhaltung, Korrektur bzw. Wiederherstellung gestörter Organfunktionen. Entsprechend den pathophysiologischen Veränderungen in der Sepsis bzw. im septischen Schock ergeben sich folgende Therapieansätze: hämodynamische Stabilisierung durch Volumenersatz und/oder Einsatz von Vasopressoren und positiv-inotropen Substanzen, maschinelle Beatmung, Kontrolle und Sicherstellung des Hämoglobingehaltes, Einsatz von Kortikosteroiden, Hämodialyse bzw. Hämofiltration [74].

Die erste therapeutische Maßnahme bei persistierender Hypoperfusion im septischen Schock ist die frühe, aggressive Volumensubstitution. Während der ersten 6 h der hämodynamischen Therapie sollen gemäß den aktuellen Leitlinien zur Sepsistherapie folgende Zielwerte angestrebt werden: zentraler Venendruck (ZVD) 8-12 mmHg, MAP > 65 mmHg, Urinausscheidung > 0,5 ml·kg⁻¹·h⁻¹, zentralvenöse Sauerstoffsättigung > 70% [33]. Die Studie von Rivers et. al zeigte, dass die frühe zielgerichtete Therapie zum besseren Outcome (kürzerer Krankenhausverweildauer, geringere Mortalität, seltener Auftreten der Organdysfunktionen) bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock führt. Diese Vorteile ergeben sich aus der frühzeitigen Erkennung von Patienten mit hohem Risiko für Herz-Kreislauf-Versagen und aus einem frühzeitigen Therapieversuch ein Gleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf

wiederherzustellen [96].

Besteht trotz aggressiver Volumentherapie weiterhin eine arterielle Hypotonie kommen Vasopressoren zum Einsatz. In den aktuellen Leitlinien zur Therapie der schweren Sepsis und des septischen Schocks werden hierfür NA oder Dopamin empfohlen. Dopamin erhöht den MAP und steigert das Herzzeitvolumen. NA erhöht ebenfalls den MAP, hat aber im Vergleich zu Dopamin eine geringere Wirkung auf Herzfrequenz und Schlagvolumen [33].

III. Adjuvante Therapie

Zur adjuvanten Therapie gehört die Therapie mit Hydrocortison, Antithrombin, Selen oder Immunglobulinen. Laut Leitlinien sollte die intravenöse Hydrocortisongabe lediglich bei erwachsenen Patienten im septischen Schock erfolgen, wenn Volumensubstitution und Vasopressoren-Therapie nicht zur Kreislaufstabilisation führen [33]. Die früher häufig durchgeführte Behandlung mit Protein C gilt nach neuen Erkenntnissen aus einer Studie von Ranieri et. al als obsolet, da keine Wirksamkeit bei Patienten im septischen Schock und keine Auswirkung auf die Letalität nachgewiesen werden konnte [93]. Eine intensivierete intravenöse Insulintherapie zur Senkung erhöhter Glukosespiegel ($> 110 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$) wird ebenfalls nicht mehr empfohlen [18].

1.6. Tetraethylammoniumchlorid

Tetraethylammoniumchlorid (TEA) ist ein quartäres Ammonium-Kation, bestehend aus vier Ethylgruppen an einem zentralen Stickstoffatom (Abb.5). TEA hat ein Molekulargewicht von $165,75 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, ist geruchlos, chemisch stabil, hygroskopisch und wasserlöslich [15].

TEA ist ein unspezifischer Kaliumkanal-Inhibitor, der die ATP-, spannungs- und Ca^{2+} abhängigen Subtypen hemmt. Die Bindungsstellen befinden sich sowohl intra- als auch extrazellulär. Während die extrazelluläre Bindungsstelle weitgehend selektiv für TEA ist, ist die intrazelluläre Bindungsstelle vielen TEA-Derivaten zugänglich (Abb.6) [6]. Die Bindungsaffinität steigt innen mit zunehmender Hydrophobie des Inhibitors. Die hohe Affinität der extrazellulären Rezeptoren für TEA erfordert das Vorhandensein eines aromatischen Rests am Standort 449, vorzugsweise Phenylalanin oder Tyrosin

[64]. Zu berücksichtigen ist, dass die Blockade in Gegenwart von Kaliumionen erfolgt, d.h. die Affinität von TEA ist von der Anzahl der Ionen bzw. vom Ladezustand des Kanals abhängig [71].

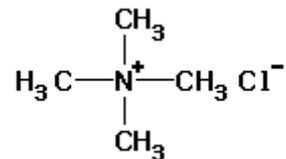


Abbildung 5 Formel des Tetraethylammoniumchlorids ($\text{C}_4\text{H}_{12}\text{ClN}$)

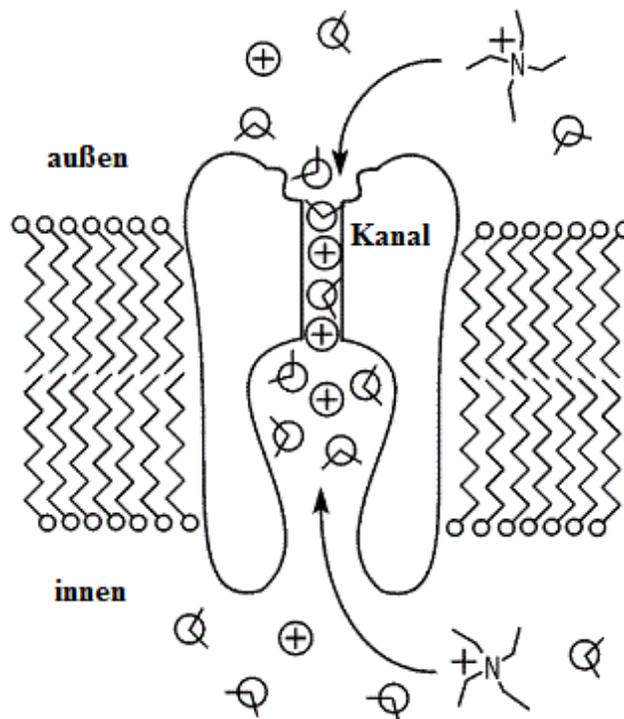


Abbildung 6 Schematische Darstellung der externen und/oder internen Kalium-Kanal-Blockade durch Tetraethylammoniumchlorid

Zusätzlich zur Inhibition der Kaliumkanäle bewirkt TEA eine Blockade der sympathischen Ganglien und wurde deshalb in den 40-er Jahren bei Patienten mit Bluthochdruck eingesetzt [15, 89]. Pickkers et. al. stellten fest, dass die Gabe von TEA

im septischen Schock die Vasodilatation reduzieren könnte. Es wurde gezeigt, dass die pharmakologische Modulation der vaskulären Kaliumkanäle eine neue Behandlungsmöglichkeit darstellt. Außerdem zeigten die Kontrollexperimente dieser Studie, dass es bei Personen, die kein LPS erhalten haben, zu keiner Verstärkung der NA-Wirkung unter TEA kommt [90]. In einer anderen Studie wurde die Wirkung der Kaliumkanal-Inhibitoren in septischen Ratten untersucht. Diese ergab keinen Einfluss der TEA-Gabe auf MAP und Letalität. Eine Vorbehandlung mit TEA reduzierte die Überlebensrate auf 50% [25].

1.7. Zielsetzung

Die konventionellen Therapieoptionen konnten das Outcome der Sepsis bislang nicht verbessern, so dass neue Therapiekonzepte notwendig sind. Kaliumkanäle spielen in der Pathophysiologie des septischen Schocks eine wichtige Rolle, da sie eine systemische Vasodilatation, sowie eine verminderte Ansprechbarkeit auf Katecholamine bewirken. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die hämodynamischen und metabolischen Effekte des Kaliumkanalblockers TEA im international etablierten Schafmodell des endotoxämischen Schocks mit einer unbehandelten Kontrollgruppe verglichen [111]. Es sollten folgende Fragestellungen untersucht werden:

1. Kann die intravenöse Therapie mit TEA den peripheren Gefäßwiderstand im septischen Schock signifikant erhöhen und somit den NA- und Volumenbedarf zur Aufrechterhaltung eines $\text{MAP} \geq 65 \text{ mmHg}$ im Vergleich zur Kontrollgruppe reduzieren?
2. Welche Auswirkung hat die TEA-Gabe auf die pulmonale, renale und metabolische Funktion sowie den globalen Sauerstofftransport?
3. Welchen Einfluss hat die TEA-Therapie auf die 12 h Überlebensrate in diesem klinisch relevanten Tiermodell?

2. Material und Methoden

2.1. Tierexperimentelle Studie

Nach Genehmigung durch die Bezirksregierung Münster wurden alle Versuche in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster durchgeführt. Die 20 weiblichen Schafe wurden von einem zertifizierten Züchter bezogen und waren während der gesamten Versuchsreihe in Spezialkäfigen untergebracht. Die Tiere hatten zu jeder Zeit des Experiments freien Zugang zu Wasser und Futter.

2.2. Instrumentierung

Die Einleitung der Narkose erfolgte durch intramuskuläre Injektion von S-Ketamin (Ketanest S, 10 mg·kg⁻¹ KG, Parke-Davis, Berlin, Freiburg, Deutschland) und Midazolam (Dormicum, 0,3 mg·kg⁻¹ KG, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland). Nach anschließender Bestimmung des Körpergewichtes wurden die Schafe in Rückenlage auf dem Operationstisch platziert. Nach Katheterisierung einer peripheren Vene wurde Ceftriaxon (1 g Ceftriaxon, Rocephin; Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) zur perioperativen Infektionsprophylaxe und S-Ketamin (Ketanest S, 3 mg·kg⁻¹ KG) zur Sedierung für die endotracheale Intubation verabreicht. Die Anästhesie erfolgte mittels kontinuierlicher Applikation von Isofluran (Furane ®, 1-1.5%, Abbott, Wiesbaden, Deutschland). Die mechanische Beatmung wurde im volumenkontrollierten Modus unter Einhaltung eines endexpiratorischen CO₂-Partialdrucks von 35±5 mmHg durchgeführt.

Anschließend erfolgte die Rasur im Bereich der rechten Vena jugularis. Ein Pulmonalarterienkatheter wurde über die rechte Jugularvene durch eine Schleuse eingeführt (7,5 P. Edwards Swan-Ganz, Edwards Critical Care Division, Irvine, CA; 8,5 Fr Katheter Einführbesteck, PVB Medizintechnik GmbH, Kirchseeon, Deutschland).

Außerdem wurde ein arterieller Katheter (Vygon, Aachen, Deutschland 18-Gauge-Leader Cath) zur kontinuierlichen arteriellen Blutdruck- und Herzfrequenzmessung in die linke Arteria femoralis gelegt, sowie ein Foley-Katheters (12 Fr. Blasenkatheter,

Porges SA, Le Plessis Robinson-Cedex, Frankreich) zur Überwachung der Urinausscheidung transurethral gelegt. Die Instrumentierung wurde unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Im Anschluss wurden die intravaskulären Katheter über Druckaufnehmer (DTX Druckwandler Ohmeda, Erlangen, Deutschland) an einen Monitor angeschlossen (Hellige Servomed, Hellige, Freiburg, Deutschland).

Der Pulmonalarterienkatheter wurde unter kontinuierlicher Kontrolle der Druckkurve über die Vena jugularis eingeschwennt. Bei Eintritt in die Vena cava superior wurde die Druckkurve der oberen Hohlvene angezeigt. Es erfolgte das Aufblasen des Ballons mit 1-1,5 ml Luft, so dass der Katheter über den rechten Vorhof in den rechten Ventrikel und von dort durch die Pulmonalklappe in eine Lungenarterie eingeschwennt werden konnte. Die endgültige Position des Katheters war erreicht, wenn der luftgefüllte Ballon das Lumen eines Pulmonalarterienastes verschloss und sich somit in Wedge-Position befand. Dies konnte durch das Auftreten einer charakteristischen Druckkurve verifiziert werden (Abb. 7).

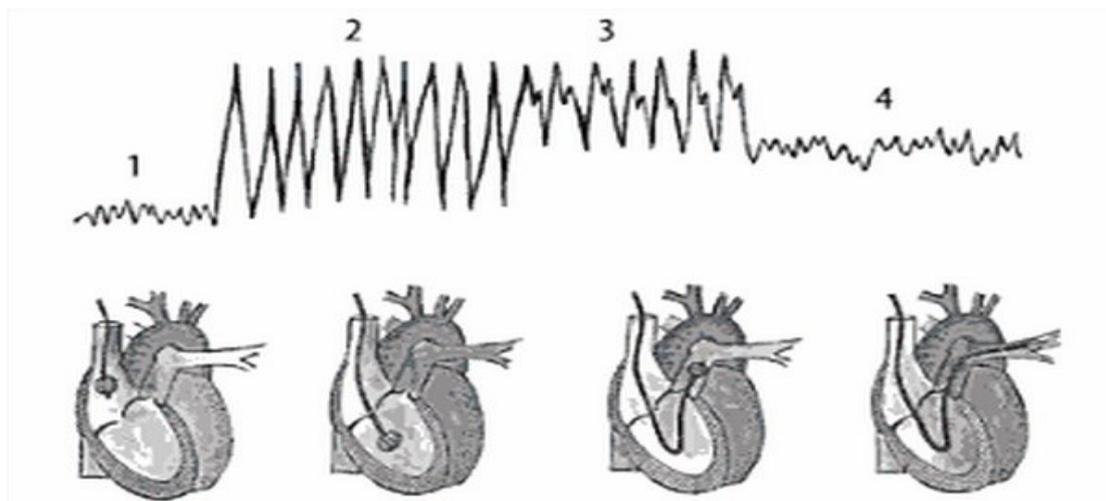


Abbildung 7 Einführen des Pulmonalarterienkatheters

Legende: Über den Pulmonalarterienkatheter abgeleitete Druckkurve beim Einschwennten des Katheters. 1 = zentraler Venendruck; 2 = Druck im rechten Ventrikel; 3 = Druck in der Arteria pulmonalis; 4 = pulmonalkapillärer Verschlussdruck.

Bei den narkotisierten Schafen wurden sämtliche Katheterleitungen mit Bändern im Fell befestigt um Dislokationen zu verhindern. Anschließend wurden die Tiere vom Respirator entwöhnt. Um eine postoperative Dehydratation zu verhindern, erhielten alle

Tiere eine intravenöse Infusion einer kristalloiden Lösung (20 ml·kg⁻¹ KG, Sterofundin ISO, B. Braun Melsungen, Deutschland) über eine Stunde nach der Narkose. Nach der Instrumentierung wurde den Schafen eine 24-stündige Erholungsphase gewährt.

2.3. Hämodynamisches Monitoring

Mithilfe des Pulmonalarterienkatheters wurden der MAP, der mittlere pulmonalarterielle Druck (MPAP), der ZVD und der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP) gemessen. Die Herzfrequenz (HF) wurde anhand der Ausschläge der arteriellen Druckkurve bestimmt.

Zur Messung des HZV wurde die transpulmonale Thermodilutionsmethode angewendet [100]. An den ZVD-Schenkel des Pulmonalarterienkatheters wurde ein Thermistor-Adapter angebracht. Es wurden dreimal unmittelbar hintereinander 10 ml einer kalten isotonischen Kochsalzlösung (2-5 °C) in den ZVD-Schenkel des Swan-Ganz-Thermodilutionskatheters injiziert. Aus den drei Messwerten wurde dann mit Hilfe eines HZV-Computers (9520A cardiac output Computer; Edward Lifescience, Irvine, CA) der Mittelwert ermittelt.

Herzindex (CI), systemvaskulärer Widerstandsindex (SVRI), pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (PVRI), Schlagvolumenindex (SVI), links- und rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex (LVSWI und RVSWI) wurden mittels Standardformeln berechnet [119] (Tab. 2). Die Körpertemperatur wurde kontinuierlich mit dem Thermistor an der Spitze des Pulmonalarterienkatheters gemessen.

Parameter	Berechnung
Herzindex (CI) [l·min ⁻¹ ·m ⁻²]	HZV [l·min ⁻¹]/Körperoberfläche [m ²]
Systemvaskulärer Widerstandsindex (SVRI) [dynes·cm ⁻⁵ ·m ²]	(MAP [mmHg] - ZVD [mmHg] · 80)/CI [l·min ⁻¹ ·m ⁻²]
Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (PVRI) [dynes·cm ⁻⁵ ·m ²]	(MPAP[mmHg] - PCWP[mmHg] · 80)/CI [l·min ⁻¹ ·m ⁻²]
Schlagvolumenindex (SVI) [ml·m ⁻²]	CI [l·min ⁻¹ ·m ⁻²] · 1000/HF [l·min ⁻¹]
Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex (LVSWI) [g·m·m ⁻²]	0,0136 · (MAP [mmHg] – PCWP [mmHg] · SVI[ml·m ⁻²])

Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex (RVSWI) [g·m·m ⁻²]	$0,0136 \cdot (\text{MPAP} [\text{mmHg}] - \text{ZVD} [\text{mmHg}]) \cdot \text{SVI} [\text{ml} \cdot \text{m}^{-2}]$
Sauerstoffangebotsindex (DO ₂ I) [ml·min ⁻¹ ·m ⁻²]	$(0,136 \cdot \text{Hb} [\text{g} \cdot \text{dl}^{-1}] \cdot \text{SaO}_2 [\%] + \text{paO}_2 [\text{mmHg}] \cdot 0,03) \cdot \text{CI} [\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}]$
Sauerstoffverbrauchsindex (VO ₂ I) [ml·min ⁻¹ ·m ⁻²]	$\{0,136 \cdot \text{Hb} [\text{g} \cdot \text{dl}^{-1}] \cdot (\text{SaO}_2 [\%] - \text{SvO}_2 [\%]) + (\text{paO}_2 [\text{mmHg}] - \text{pvO}_2 [\text{mmHg}]) \cdot 0,03\} \cdot \text{CI} [\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}]$
Sauerstoffextraktionskonstante (O ₂ -ER)	$\text{VO}_2\text{I} [\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}] / \text{DO}_2\text{I} [\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}]$

Tabelle 2 Berechnungsformeln

Legende: CI = Herzindex; DO₂I = Sauerstoffangebotsindex; Hb = Hämoglobin; HF = Herzfrequenz; LVSWI = linksventrikulärer Schlagarbeitsindex; MAP = mittlerer arterieller Druck; MPAP = mittlerer pulmonaler arterieller Druck; O₂-ER = Sauerstoffextraktionskonstante; paO₂ = arterieller Sauerstoffpartialdruck; PCWP = pulmonalkapillärer Verschlussdruck; pvO₂ = venöser Sauerstoffpartialdruck; PVRI = pulmonalvaskulärer Widerstandsindex; RVSWI = rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex; SaO₂ = arterielle Sauerstoffsättigung; SVI = Schlagvolumenindex; SvO₂ = venöse Sauerstoffsättigung; VO₂I = Sauerstoffverbrauchsindex; ZVD = zentralvenöser Druck.

Arterielle und gemischtvenöse Blutproben (0,5 ml) wurden in heparinisierten Röhren zur Blutgasanalyse entnommen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland). Dabei wurden folgende Parameter bestimmt: pH-Wert, Partialdruckwerte von O₂ und CO₂ (pO₂, pCO₂), der Hämoglobinwert (Hb), Hämatokrit (Hk), arterielle und gemischt-venöse Sauerstoffsättigung (SaO₂, SvO₂) und arterielle Laktatwerte. Dafür wurde ein ABL 725 Blutgasanalysator mit SAT 100 Kalibrierung (Radiometer Kopenhagen; Kopenhagen, Dänemark) verwendet.

Der korrigierte Oxymetrie-Base Excess-Wert (BE_{ox}) wurde aus Hb, pCO₂, pH-Wert und SaO₂ berechnet. Sauerstoffangebotsindex (DO₂I), Sauerstoffverbrauchsindex (VO₂I) sowie Sauerstoffextraktionskonstante (O₂-ER) wurden mittels Standardformeln ermittelt (Tab.2).

2.4. Versuchsprotokoll

Einschlusskriterien für die Studie waren: HF < 100 min⁻¹, Körpertemperatur ≤ 39,8 °C, MAP > 80 mmHg, MPAP < 20 mmHg, arterielle Laktatkonzentration ≤ 1,2 mmol·l⁻¹. Nach einer Baseline-Messung im gesunden Zustand (BL1) erhielten alle Tiere eine kontinuierliche Infusion von Salmonella typhosa Endotoxin (Sigma Chemicals, Deisenhofen, Deutschland, Katalog # L6386-100mg), die zunächst mit einer

Infusionsrate von $5 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}\cdot\text{min}^{-1}$ gestartet und stündlich verdoppelt wurde bis der MAP unter 65 mmHg fiel. Zu diesem Zeitpunkt wurde die zweite Baseline-Messung (BL2) durchgeführt. Die Endotoxininfusion wurde mit der jeweiligen Dosis über den gesamten Versuchszeitraum beibehalten. Im Anschluss erfolgte die randomisierte Aufteilung der zwanzig Schafe in zwei Gruppen. Die TEA-Gruppe ($n = 10$) erhielt eine kontinuierliche Infusion des Studienmedikaments TEA ($8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}\cdot\text{h}^{-1}$). Die Kontrollgruppe erhielt lediglich eine kontinuierliche Infusion der Trägerflüssigkeit NaCl 0,9% ($n = 10$).

Die Volumentherapie wurde wie folgt durchgeführt: Bis zur BL2-Messung wurde den Schafen eine kontinuierliche Infusion mit Sterofundin ISO ($2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}\cdot\text{h}^{-1}$) appliziert. Bolusgabe von Sterofundin ISO ($20 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}$) und HES 130/0.4 6% ($10 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}$, 6% Voluven, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) wurden zum Zeitpunkt BL2 verabreicht, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion von Sterofundin ISO ($12 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}\cdot\text{h}^{-1}$) und Voluven 6% 130/0.4 ($3 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}\cdot\text{h}^{-1}$) während des gesamten Experiments. Wenn nötig, wurde ein Bolus von Sterofundin ISO ($12 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}$) gegeben, um den ZVD bei 8-12 mmHg, den PCWP bei 12-15 mmHg und die SvO_2 bei $\geq 65\%$ zu halten. Ein MAP von 70 ± 5 mmHg wurde durch die titrierte Infusion von NA garantiert.

Um das Auftreten einer Hypoglykämie während des Experiments zu verhindern, wurde eine kontinuierliche Infusion von Glukose 40% ($0,5 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}\cdot\text{h}^{-1}$) zum Zeitpunkt BL2 gestartet. Die Infusionsrate wurde dem jeweiligen Blutzuckerspiegel individuell angepasst.

Hämodynamische Messungen und Blutgasanalysen wurden stündlich bis zum Erreichen des Versuchsendes durchgeführt, während Blut- und Urinproben für Laboranalysen zu den Zeitpunkten BL1, BL2, sowie 2, 4, 8 und 12 h nach Randomisierung abgenommen wurden. Arterielle Blutproben (9 ml Ethylendiamintetracetat (EDTA)-Blut und 7,5 ml Lithium-Heparinat Blut) wurden nach der Abnahme für 10 min bei $3000 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$ zentrifugiert, anschließend wurde das Plasma isoliert und ebenso wie die Urinproben (3 ml) bei $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ eingefroren.

Am Ende des zwölfstündigen Interventionszeitraumes wurde den Schafen Propofol ($4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ KG}$) verabreicht. Anschließend wurden sie mit einer letalen Dosis von 100 ml

Kaliumchloridlösung (7,45%) getötet.

Es folgte eine Autopsie mit Organprobenentnahme zur weiteren Untersuchung. Dabei handelte es sich um das Parenchym folgender Organe: anteroseptales Myokard, rechter unterer Lungenlappen, linke Niere, rechter Leberlappen und Ileum.

2.5. Statistische Auswertung

Die Daten wurden mithilfe von One-way ANOVA oder Kruskal-Wallis auf ihre Verteilung hin untersucht. Kontinuierliche Variablen wurden im Falle einer symmetrischen Verteilung als Mittelwert \pm Standardabweichung und bei einer asymmetrischen Verteilung mittels Median (25-Perzentil, 75-Perzentil) beschrieben.

Mit Chi-Quadrat-Test wurde die Verbindung zwischen kategoriellen Variablen analysiert. Differenzen zwischen den beobachteten Parametern wurden mit Hilfe des Fishers exact Tests geprüft. Für verbundene Stichproben wurde der Wilcoxon-Rangsummentest verwendet, beispielweise um die hämodynamischen und metabolischen Variablen zwischen BL1 und BL2 zu vergleichen. Mittels Log-Rank-Test wurde die Überlebenszeit in den Gruppen miteinander verglichen.

Um die Unterschiede in den hämodynamischen und metabolischen Parametern zwischen zwei Untersuchungsgruppen während der gesamten Dauer des Experiments zu vergleichen, wurden unterschiedliche Modelle der Generalized Estimating Equations (GEE) angewendet. GEE ermöglicht die Analyse von wiederholten Messungen, unter der Voraussetzung, dass die Messungen des gleichen Individuums im Laufe der Zeit korrelieren. Bei Berücksichtigung der Änderung eines bestimmten Parameters während des gesamten Beobachtungszeitraums, bietet das Modell der GEE verlässlichere Ergebnisse als zum Beispiel ANOVA, bei dem der Vergleich zwischen mehreren stündlichen Beobachtungen erfolgt [41, 87, 123, 124]. Dies ist besonders dann relevant, wenn eine der Gruppen eine hohe Frühsterblichkeit aufweist. Die Kontrollgruppe wurde als Basis für den Vergleich verwendet. Die Signifikanzgrenze wurde bei $p < 0,05$ festgelegt. Die statistische Analyse wurde mit SPSS[®] v.17.0 und SAS/STAT Version 9.2 durchgeführt.

3. Ergebnisse

Eine Stunde nach der Randomisierung verstarb ein Tier aus der TEA-Gruppe. Bei der postmortalen Untersuchung fiel eine Dissektion der Venenwand im Bereich des angelegten Pulmonalarterienkatheters auf. Das Tier wurde aus diesem Grund von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

3.1. Ausgangsmessungen

Zum Zeitpunkt BL1 gab es hinsichtlich des BE signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Im Rahmen der BL 2 zeigten sich signifikante Unterschiede in der O₂-ER. (Tab. 3).

Variable	Zeitpunkt	Kontrolle	TEA
Temperatur, °C	BL1	39,7 [39,5;39,7]	39,5 [39,5;39,8]
	BL2	41,5 [41; 41,8]	41 [40,8; 41,4]
MAP, mmHg	BL1	90 [84; 93]	93 [84; 95]
	BL2	64 [59; 64]	63 [63; 64]
ZVD, mmHg	BL1	5 [3; 8]	6 [4; 8]
	BL2	5 [2; 5]	2 [1; 3]
MPAP, mmHg	BL1	16 [11; 18]	18 [16; 19]
	BL2	19 [16; 24]	18 [17; 23]
PCWP, mmHg	BL1	7 [5; 8]	8 [7; 9]
	BL2	8 [3; 12]	7 [6; 11]
HZV, l·min ⁻¹	BL1	4,48 [4,37; 4,74]	5,1 [4,74; 5,14]
	BL2	4,55 [4,06; 5,54]	4,12 [3,77; 4,25]
HF, min ⁻¹	BL1	88 [80; 94]	88 [74; 98]
	BL2	118 [106; 124]	120 [112; 128]
CI, l·min ⁻¹ ·m ⁻²	BL1	4,7 [4,6; 5,2]	5,3 [4,5; 6,1]
	BL2	5,2 [4; 5,7]	4,4 [3,7; 4,7]
SVI, ml·m ⁻²	BL1	58 [54; 64]	61 [55; 64]
	BL2	44 [32; 48]	37 [34; 40]

SVRI, dynes·cm ⁻⁵ ·m ²	BL1	1383 [1282; 1519]	1235 [994; 1522]
	BL2	887 [835; 1226]	1130 [1074; 1331]
PVRI, dynes·cm ⁻⁵ ·m ²	BL1	146 [107; 169]	136 [123; 157]
	BL2	169 [121; 297]	222 [130; 349]
LVSWI, g·m·m ⁻²	BL1	66 [62; 69]	68 [63; 69]
	BL2	32 [26; 36]	27 [27; 30]
RVSWI, g·m·m ⁻²	BL1	8 [8; 10]	9 [7; 11]
	BL2	8 [6; 9]	8 [7; 10]
DO ₂ I, ml·min ⁻¹ ·m ²	BL1	651 [554; 678]	661 [611; 788]
	BL2	662 [606; 774]	639 [557; 702]
VO ₂ I, ml·min ⁻¹ ·m ²	BL1	196 [164; 230]	187 [157; 241]
	BL2	216 [183; 228]	182 [148; 214]
O ₂ -ER	BL1	0,3 [0,3; 0,4]	0,3 [0,3; 0,3]
	BL2	0,3 [0,3; 0,4]	0,3 [0,3; 0,3] ^a
paO ₂ , mmHg	BL1	105 [97; 112]	101 [100; 103]
	BL2	102 [97; 107]	103 [94; 107]
pvO ₂ , mmHg	BL1	50 [45; 52]	55 [51; 60]
	BL2	56 [51; 63]	58 [55; 64]
paCO ₂ , mmHg	BL1	36 [32; 41]	35 [34; 38]
	BL2	37 [32; 39]	37 [35; 44]
SaO ₂ , %	BL1	94 [93; 97]	94 [94; 96]
	BL2	92 [90; 96]	93 [88; 93]
SvO ₂ , %	BL1	68 [60; 69]	68 [68; 71]
	BL2	63 [61; 69]	63 [60; 69]
pH	BL1	7,45 [7,43; 7,5]	7,43 [7,43; 7,44]
	BL2	7,41 [7,38; 7,46]	7,39 [7,34; 7,42]
Laktat art, mmol·l ⁻¹	BL1	0,7 [0,6; 0,8]	0,8 [0,7; 0,9]
	BL2	2,9 [2,2; 3,3]	3,5 [2,5; 4]
BE art, mmol·l ⁻¹	BL1	2,5 [0,9; 3,8]	1,4 [0,3; 1,7] ^a
	BL2	-0,5 [-3,2; 1,3]	-0,3 [-1,8; 1,1]
Urinausscheidung, ml	BL1	46 [40; 62]	58 [56; 80]
	BL2	30 [12; 40]	25 [10; 38]
Diurese,	BL1	47 [41; 71]	61 [58; 95]

ml·m ⁻² ·min	BL2	33 [13; 43]	27 [10; 41]
Hb, g·dl ⁻¹	BL1	9,2 [8,6; 10,8]	9,8 [9,1; 11,3]
	BL2	11,1 [10,6; 11,8]	11,2 [9,4; 13,2]
Hk, %	BL1	28,5 [26,6; 33,4]	30,4 [28,3; 34,8]
	BL2	34,2 [32,9; 36,4]	34,7 [29,3; 40,6]
Glukose, mg·dl ⁻¹	BL1	78 [71; 87]	78 [70; 95]
	BL2	92 [79; 94]	94 [87; 107]

Tabelle 3 Vergleich von hämodynamischen und metabolischen Parametern zwischen den Gruppen bei Baseline1 und Baseline2

Legende: BE = Base Excess; BL = Baseline; CI = Herzindex; DO₂I = Sauerstoffangebotsindex; Hb = Hämoglobin; HF = Herzfrequenz; Hk = Hämatokrit; HZV = Herzzeitvolumen; LVSWI = linksventrikulärer Schlagarbeitsindex; MAP = mittlerer arterieller Druck; MPAP = mittlerer pulmonalarterieller Druck; O₂-ER = Sauerstoffextraktionskonstante; paCO₂ = arterieller Kohlendioxidpartialdruck; paO₂ = arterieller Sauerstoffpartialdruck; PCWP = pulmonaler Verschlussdruck; pvO₂ = venöser Sauerstoffpartialdruck; PVRI = pulmonalvaskulärer Widerstandsindex; RVSWI = rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex; SaO₂ = arterielle Sauerstoffsättigung; SVI = Schlagvolumenindex; SvO₂ = venöse Sauerstoffsättigung; SVRI = systemvaskulärer Widerstandsindex; TEA = Tetraethylammoniumchlorid; VO₂I = Sauerstoffverbrauchsindex; ZVD = zentralvenöser Druck;.

Die Daten sind als Median mit unterem und oberem Quartile [25; 75] dargestellt.

^ap < .05 vs. Kontrolle; Kontrolle: n = 10; TEA: n = 9.

Die Infusion des Endotoxins führte zu einem hypotensiven, hypodynamischen Schock, der durch den Abfall von MAP, CI, SVRI und LVSWI sowie einen Anstieg der HF gekennzeichnet war.

Zum Zeitpunkt BL2 kam es zu einem signifikanten Anstieg der Laktatkonzentration und der Körperkerntemperatur. Hinsichtlich des Säure-Basen-Haushaltes kam es zu einer ausgeprägten Azidose. Des Weiteren zeigte sich ein Anstieg des Hb, Hkt und Blutzuckers, während die Urinausscheidung signifikant reduziert war.

3.2. Hämodynamische Effekte von Tetraethylammoniumchlorid

Ab dem Zeitpunkt BL2 gab es keinen Unterschied in MAP bzw. LVSWI zwischen den Gruppen. Tiere in der TEA Studiengruppe hatten eine niedrigere HF und einen niedrigeren CI (p < 0,05) über den gesamten Versuchszeitraum, was allerdings zu keiner signifikanten Reduktion des SVI führte. Im Versuchsverlauf stieg die HF der Tiere beider Gruppen im Vergleich zur BL2 jedoch signifikant an. Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der systemisch vaskulären Widerstände

zwischen den Gruppen. Über die gesamte Versuchsdauer war ein signifikanter RVSWI-Anstieg in beiden Gruppen zu beobachten. Zusätzlich kam es zu einer Reduktion des ZVD in beiden Gruppen (Tab. 4-13).

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		79.0294	8.7791	61.8227	96.2361	9.00	<.0001
TEA	1	-0.2184	3.6382	-7.3491	6.9123	-0.06	0.9521
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.0792	0.4032	-0.7111	0.8695	0.20	0.8443
bmap		-0.0458	0.0883	-0.2189	0.1273	-0.52	0.6043

Tabelle 4 Mittlerer arterieller Druck

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		93.4336	19.7333	54.7570	132.1102	4.73	<.0001
TEA	1	-15.1152	6.3855	-27.6305	-2.5999	-2.37	0.0179
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		2.9174	1.1108	0.7403	5.0946	2.63	0.0086
bHR		0.4414	0.2098	0.0302	0.8525	2.10	0.0354

Tabelle 5 Herzfrequenz

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		5.2934	1.8829	1.6030	8.9838	2.81	0.0049
TEA	1	-1.1948	0.6206	-2.4111	0.0216	-1.93	0.0542
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.1746	0.1016	-0.0247	0.3738	1.72	0.0859
bHZV		0.3436	0.3072	-0.2586	0.9457	1.12	0.2635

Tabelle 6 Herzzeitvolumen

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		564.4971	138.8395	292.3768	836.6175	4.07	<.0001
TEA	1	163.7714	91.9138	-16.3764	343.9191	1.78	0.0748
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-5.3907	10.7172	-26.3961	15.6147	-0.50	0.6150
bSVRI		0.1036	0.1064	-0.1049	0.3122	0.97	0.3302

Tabelle 7 Systemischer Widerstandsindex

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		6.3689	1.7893	2.8619	9.8759	3.56	0.0004
TEA	1	-1.3379	0.6555	-2.6226	-0.0531	-2.04	0.0413
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.1819	0.1011	-0.0163	0.3800	1.80	0.0720
bci		0.1910	0.2724	-0.3429	0.7248	0.70	0.4833

Tabelle 8 Herzindex

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		54.8720	7.4182	40.3327	69.4113	7.40	<.0001
TEA	1	-2.1561	3.8971	-9.7942	5.4821	-0.55	0.5801
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.5735	0.4023	-0.2150	1.3620	1.43	0.1540
bLVSWI		-0.1034	0.0763	-0.2529	0.0462	-1.35	0.1755

Tabelle 9 Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		38.8660	17.7929	3.9925	73.7394	2.18	0.0289
TEA	1	-2.4302	4.7031	-11.6480	6.7877	-0.52	0.6054
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
utime		0.2723	0.5270	-0.7605	1.3052	0.52	0.6053
bSVI		0.2649	0.2678	-0.2601	0.7899	0.99	0.3226

Tabelle 10 Schlagvolumenindex

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		13.3865	2.1663	9.1406	17.6323	6.18	<.0001
TEA	1	-0.7712	1.9820	-4.6558	3.1135	-0.39	0.6972
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-0.8754	0.4038	-1.6668	-0.0841	-2.17	0.0301
bZVD		0.1633	0.0917	-0.0164	0.3431	1.78	0.0750

Tabelle 11 Zentralvenöser Druck

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		11.0071	1.7613	7.5551	14.4591	6.25	<.0001
TEA	1	-0.7545	1.3604	-3.4208	1.9118	-0.55	0.5792
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-0.3316	0.2174	-0.7576	0.0944	-1.53	0.1271
bPCWP		0.1673	0.1400	-0.1071	0.4418	1.19	0.2321

Tabelle 12 Pulmonalarterieller Verschlussdruck

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		5.3486	3.9487	-2.3906	13.0879	1.35	0.1756
TEA	1	0.3010	4.0249	-7.5877	8.1897	0.07	0.9404
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		1.1025	0.4941	0.1340	2.0709	2.23	0.0257
bRVSWI		0.0673	0.1394	-0.2060	0.3405	0.48	0.6294

Tabelle 13 Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex

3.3. Pulmonale Effekte von Tetraethylammoniumchlorid

In beiden Gruppen war ein Anstieg von PVRI über die gesamte Versuchsdauer zu beobachten, jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen TEA- und Kontrollgruppe. Es waren keine signifikanten Veränderungen in der pulmonalen Hämodynamik gegenüber den Kontrolltieren festzustellen (Tab. 14-15).

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		22.8642	3.4195	16.1620	29.5663	6.69	<.0001
TEA	1	1.3440	3.2956	-5.1151	7.8032	0.41	0.6834
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.4148	0.2469	-0.0691	0.8987	1.68	0.0929
bMPAP		0.0808	0.1139	-0.1425	0.3041	0.71	0.4783

Tabelle 14 Mittlerer pulmonalarterieller Druck

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		-2.3520	73.5446	-146.497	141.7928	-0.03	0.9745
TEA	1	48.3431	53.5440	-56.6012	153.2875	0.90	0.3666
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		5.1980	2.5034	0.2915	10.1045	2.08	0.0379
bPVRI		0.9615	0.4072	0.1634	1.7596	2.36	0.0182

Tabelle 15 Pulmonal vaskulärer Widerstandsindex

3.4. Wirkung von Tetraethylammoniumchlorid auf den globalen Sauerstofftransport

Es gab keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen im Hinblick auf DO_2I , VO_2I , sowie O_2ER . Während des Studienzeitraumes kam es zu einem signifikanten Abfall der SvO_2 und paO_2 , sowie zu einem Anstieg von $paCO_2$ in beiden Gruppen im Vergleich zu BL2. Die Tiere der TEA Gruppe wiesen einen signifikant höheren SvO_2 -Abfall im Vergleich zur Kontrollgruppe auf (Tab.16-21).

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		338.0274	218.2698	-89.7735	765.8282	1.55	0.1215
TEA	1	-127.654	101.5434	-326.675	71.3675	-1.26	0.2087
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-2.2266	9.3461	-20.5446	16.0914	-0.24	0.8117
bDO2I		0.7400	0.2717	0.2075	1.2726	2.72	0.0065

Tabelle 16 Sauerstoffangebotsindex

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		202.0289	74.6440	55.7293	348.3286	2.71	0.0068
TEA	1	-9.2541	29.5505	-67.1721	48.6639	-0.31	0.7542
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		2.2955	3.1651	-3.9080	8.4991	0.73	0.4683
bVO2I		-0.0775	0.2983	-0.6622	0.5071	-0.26	0.7950

Tabelle 17 Sauerstoffverbrauchsindex

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		0.1999	0.0689	0.0648	0.3350	2.90	0.0037
TEA	1	0.0553	0.0449	-0.0328	0.1434	1.23	0.2186
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.0033	0.0042	-0.0048	0.0114	0.80	0.4258
bO2ER		0.0645	0.1790	-0.2863	0.4154	0.36	0.7184

Tabelle 18 Sauerstoffextraktionskonstante

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		56.5131	12.3484	32.3107	80.7156	4.58	<.0001
TEA	1	-9.4456	4.7832	-18.8205	-0.0707	-1.97	0.0483
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
utime		-1.8373	0.5660	-2.9467	-0.7279	-3.25	0.0012
bSO2v		0.2853	0.1939	-0.0947	0.6653	1.47	0.1411

Tabelle 19 Gemischt venöse Sauerstoffsättigung

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		32.4331	9.8497	13.1282	51.7381	3.29	0.0010
TEA	1	3.9283	2.8322	-1.6228	9.4793	1.39	0.1654
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		1.1812	0.3218	0.5504	1.8120	3.67	0.0002
bPCO2a		0.0547	0.2644	-0.4636	0.5729	0.21	0.8362

Tabelle 20 Arterieller Kohlendioxidpartialdruck

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		-21.6913	28.9857	-78.5022	35.1196	-0.75	0.4543
TEA	1	-2.7613	4.2997	-11.1884	5.6659	-0.64	0.5207
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-2.7279	0.4099	-3.5314	-1.9245	-6.65	<.0001
bPO2a		1.2041	0.2619	0.6909	1.7173	4.60	<.0001

Tabelle 21 Arterieller Sauerstoffpartialdruck

3.5. Wirkung von Tetraethylammoniumchlorid auf den Säure-Basen-Haushalt

Die durchgeführten Blutgasanalysen ergaben außer beim BE keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Der BE bei den TEA-Schafen war im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Während des Versuchsablaufs kam es in beiden Gruppen zum Abfall von pH und BE im Vergleich zur BL2 (Tab.22-23).

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		1.3074	1.3375	-1.3140	3.9288	0.98	0.3283
TEA	1	0.0142	0.0305	-0.0455	0.0739	0.47	0.6417
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-0.0181	0.0029	-0.0239	-0.0124	-6.15	<.0001
bpH		0.8157	0.1786	0.4657	1.1657	4.57	<.0001

Tabelle 22 pH

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		-5.5906	1.3108	-8.1597	-3.0215	-4.27	<.0001
TEA	1	3.8141	1.6844	0.5127	7.1154	2.26	0.0236
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-0.5974	0.1005	-0.7943	-0.4005	-5.95	<.0001
bBE		0.8376	0.1729	0.4986	1.1766	4.84	<.0001

Tabelle 23 Baseexcess

3.6. Wirkung von Tetraethylammoniumchlorid auf die Körpertemperatur, den Laktat- und Glukosestoffwechsel, die Diurese sowie den Hämoglobin- und Hämatokritwert

In beiden Gruppen stiegen Lactat und Glucose während des Versuches im Vergleich zur BL2 an. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf Lactatkonzentration, Diurese, Hb, Hk oder Glukosekonzentration festgestellt werden. In der TEA-Gruppe kam es zu einem Temperaturabfall im Vergleich zur Kontrollgruppe. (Tab. 24-29).

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		30.5081	6.3429	18.0762	42.9400	4.81	<.0001
TEA	1	-0.4903	0.2310	-0.9431	-0.0375	-2.12	0.0338
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
utime		-0.0156	0.0197	-0.0543	0.0230	-0.79	0.4277
btemp		0.2539	0.1615	-0.0625	0.5704	1.57	0.1158

Tabelle 24 Temperatur

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		4.9947	1.2943	2.4579	7.5314	3.86	0.0001
TEA	1	-0.4620	0.6747	-1.7844	0.8604	-0.68	0.4935
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		0.3705	0.1015	0.1717	0.5694	3.65	0.0003
bLac		-1.9265	1.3575	-4.5871	0.7340	-1.42	0.1558

Tabelle 25 Lactat

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		125.0993	72.2361	-16.4809	266.6795	1.73	0.0833
TEA	1	-22.5744	56.9508	-134.196	89.0472	-0.40	0.6918
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-9.3272	5.2004	-19.5197	0.8653	-1.79	0.0729
bUrin		0.8718	0.8401	-0.7748	2.5184	1.04	0.2994

Tabelle 26 Urinmenge

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		2.8421	2.2057	-1.4809	7.1652	1.29	0.1976
TEA	1	-0.0111	0.5301	-1.0502	1.0279	-0.02	0.9833
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-0.0644	0.0428	-0.1482	0.0194	-1.51	0.1318
bHb		0.6006	0.2048	0.1991	1.0021	2.93	0.0034

Tabelle 27 Hämoglobin

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		8.9045	6.8241	-4.4706	22.2796	1.30	0.1919
TEA	1	-0.0467	1.6078	-3.1979	3.1046	-0.03	0.9768
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		-0.2005	0.1276	-0.4506	0.0495	-1.57	0.1160
bHkt		0.6021	0.2048	0.2007	1.0035	2.94	0.0033

Tabelle 28 Hämatokrit

GEE-Parameterschätzeranalyse							
Empirische Standardfehlerschätzer							
Parameter		Schätzwert	Standardfehler	95% Konfidenzgrenzen		Z	Pr > Z
Intercept		75.1509	19.9197	36.1090	114.1929	3.77	0.0002
TEA	1	2.7623	4.4134	-5.8879	11.4125	0.63	0.5314
Kontrolle	2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
utime		3.3074	1.0185	1.3111	5.3036	3.25	0.0012
bglu		0.0609	0.2247	-0.3794	0.5013	0.27	0.7862

Tabelle 29 Glukosekonzentration

3.8. Volumenbedarf und Kathecholamine

Es zeigten sich keine statistischen Unterschiede im Volumenbedarf beider Gruppen. Die Menge an appliziertem NA war ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich (Tab.30).

Variable	Alle	Kontrolle	TEA	p
Lipopolysaccharid-Dosis, mg·h ⁻¹ ·kg	0,0096 [0,0024-0,01]	0,01 [0,002-0,01]	0,005 [0,002-0,01]	0,651
Gesamtvolumen des infundierten Kolloids, l	1,326 [1,133-1,586]	1,535 [1,319-1,887]	1,259 [0,986-1,436]	0,125
Gesamtvolumen des infundierten Kristalloids, l	6,786 [4,672-9,031]	8,048 [6,126-10,225]	4,826 [4,373-8,174]	0,153
Gesamtvolumen der infundierten Glukose, ml	277 [200-400]	321 [200-435]	275 [173-375]	0,487

Gesamtvolumen der infundierten NA, ml	57 [15-100]	70,5 [36-184]	54 [10-61]	0,141
---------------------------------------	-------------	---------------	------------	-------

Tabelle 30 Infusionsmengen

3.9. Überlebenszeit

Die Überlebenszeit in der TEA-Gruppe war im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verringert (Abb. 8). Es überlebten insgesamt 4 Tiere während der 12-stündigen Interventionsphase, 3 davon stammten aus der Kontrollgruppe und 1 aus der Therapiegruppe (Tab.31, 32).

	Gruppen		
	Alle (n=19)	Kontrolle (n=10)	TEA (n=9)
Überlebende Tiere	4 (21%)	3 (30%)	1 (11%)
Verstorbene Tiere	15 (79%)	7 (70%)	8 (89%)

Tabelle 31 Gruppen und 12-Stunden-Sterbensrate

Legende: TEA= Tetraethylammoniumchlorid.

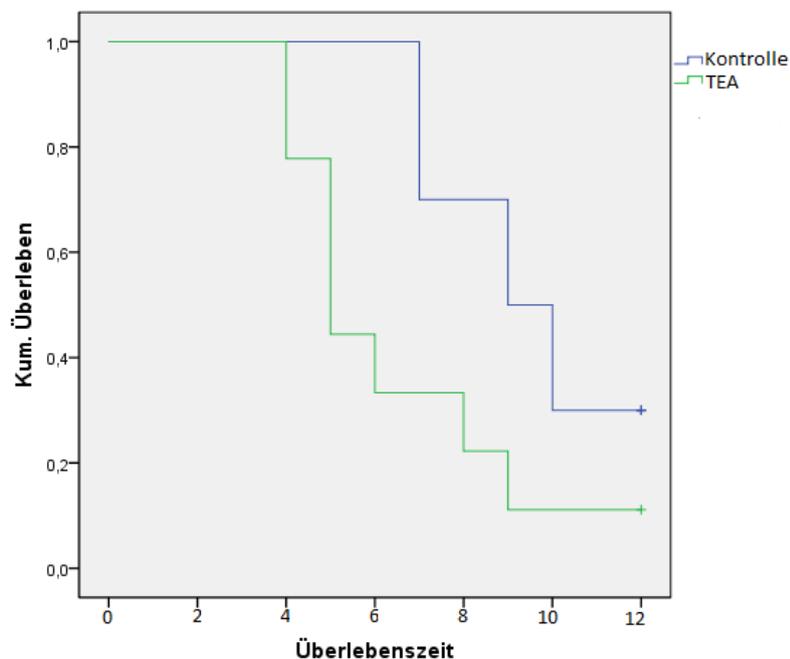


Abbildung 8 Kaplan-Meier-Kurven 12 Stunden nach Schockinduktion für die Tetraethylammoniumchlorid- und Kontroll-Gruppen

Legende: TEA= Tetraethylammoniumchlorid

Gruppe	n	Median für Überlebenszeit	SA	Log Rank Test	df	p
Kontrolle	10	9,0 (6,68-11,32)	1,19	11,951	1	0,001
TEA	9	5,0 (4,08-5,92)	0,47			

Tabelle 32 Log-rank Test

4. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden die Effekte des unselektiven Kaliumkanal-Blockers TEA am international etablierten Modell des endotoxämischen Schocks untersucht [39, 94, 118].

Die Hauptergebnisse sind:

1. Die kontinuierliche Therapie mit TEA war mit einer verminderten HF und einem reduzierten CI im Vergleich zu den Kontrolltieren assoziiert. Es zeigte sich jedoch keine signifikante Reduktion des NA- und Volumenbedarfs.
2. Die Tiere der TEA-Gruppe wiesen im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte BE-Werte und eine geringere SvO₂ auf;
3. Die kontinuierliche intravenöse Infusion des nicht-selektiven Kaliumkanal-Inhibitors TEA ging im Vergleich zur Kontrollgruppe mit einer erhöhten Letalität einher.

4.1. Effekte der Endotoxinämie

Unter einer ausreichenden Volumensubstitution entwickeln Patienten im septischen Schock initial typischerweise eine hyperdynamische Zirkulation, die durch ein erhöhtes Herzzeitvolumen sowie einen verringerten systemischen vaskulären Widerstand gekennzeichnet ist [14]. Die Endotoxinämie führte im vorliegenden Experiment zu einem hypodynamen septischen Schock, der durch Abfall von CI, MAP, SVRI und Tachykardie charakterisiert war. Trotz der Nachlastsenkung durch Vasodilatation und der aggressiven Volumensubstitution kam es keiner kompensatorischen Steigerung des CI oder SVI. Ein Grund könnte die persistierende Hypovolämie- und somit eine unzureichende Vorlast gewesen sein. Diese Theorie wird durch den Abfall des ZVD in beiden Gruppen untermauert. Trotz erheblicher Limitationen des ZVD [20, 72] wird dieser Parameter von den aktuellen Surviving Sepsis Campaign Guidelines als Zielparame-ter für die Volumensubstitution empfohlen [33]. Zusätzlich kam es in dieser Studie ab dem Zeitpunkt BL2 zu einem akuten Anstieg des PVRI in beiden Gruppen, wodurch die Vorlast des linken Ventrikels ebenfalls vermindert wurde. Ein gesteigerter pulmonaler Vasotonus ist ein häufig beobachteter Befund bei schwerer Sepsis [106].

Der erniedrigte enddiastolische Druck im linken Ventrikel ist durch die ab dem Zeitpunkt BL2 tendenziell verminderte PCWP-Werte charakterisiert. Ein weiteres Indiz für eine ausgeprägte Hypovolämie war ein Hb-Anstieg in beiden Gruppen, der vor dem Hintergrund der externen Volumenzufuhr auf ein ausgeprägtes Kapillarleck, einen Verlust von intravasaler Flüssigkeit ins Gewebe, hinweist.

Ein zweiter Grund für den ausbleibenden kompensatorischen Anstieg des HZV könnte eine septische Kardiomyopathie darstellen. Hierfür spricht unter anderem die Reduktion des LVSWI zum Zeitpunkt BL2 [37]. Die septische Kardiomyopathie beruht zwar eher auf einer adaptiven Reaktion als einer direkten Schädigung des myokardialen Gewebes [56]. Dennoch ist das Auftreten einer septischen Kardiomyopathie mit einem verschlechterten Outcome assoziiert [98].

Als charakteristisches Zeichen des septischen Schocks entwickelte sich durch die Endotoxininfusion eine Laktatazidose [78]. Diese beruht auf der Entstehung einer Gewebe- und mitochondrialen Hypoxie durch den Kreislaufchock. Da es keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich des Sauerstofftransportes gab (DO_2 , VO_2 und O_2 -ER blieben unverändert), kam es wahrscheinlich zur Ausbildung mehrerer arteriovenöser Shunts, wodurch der Sauerstoffgehalt im Blut konstant gehalten wurde, eine ausreichende Versorgung der Endstromgebiete mit Sauerstoff und Substraten blieb jedoch aus [54]. Unter hypoxischen Bedingungen war der Energiestoffwechsel auf die anaerobe Glykolyse angewiesen. Folglich kam es zur erhöhten Produktion von zellulärem Laktat, welches in das Blut abgegeben wurde [51]. Als Folge entstand eine ausgeprägte metabolische Azidose, die sich in erniedrigten Werten von pH und BE widerspiegelte [79, 80]. Als Zeichen der systemischen inflammatorischen Reaktion wiesen Tiere in beiden Gruppen zum Zeitpunkt BL2 eine erhöhte Temperatur auf [88]. Fieber ist ein häufiges Symptom im septischen Schock, welches in der Regel mit besseren Überlebenschancen einhergeht. Experimentelle Daten zeigen, dass eine Temperaturerhöhung das Wachstum der Mikroorganismen verlangsamen und die Immunantwort verbessern können [101].

Zusammenfassend zeigte sich das Bild eines hypodynamen septischen Schocks. Dieser ist im Vergleich zur hyperdynamen Kreislaufsituation mit einer schlechteren Prognose

assoziiert, wodurch sich unter anderem die hohe und frühzeitige Letalität in der vorliegenden Studie erklären lässt [85, 105].

4.2. Hämodynamische und metabolische Effekte von Tetraethylammoniumchlorid

Zur Aufrechterhaltung des MAP waren in der Kontroll- und Therapiegruppe vergleichbare Mengen an NA und Volumen notwendig. Somit konnte kein positiver Einfluss der Verabreichung von TEA auf die kardiovaskuläre Hämodynamik nachgewiesen werden. Dies steht im Gegensatz zu einigen bisher veröffentlichten Studien. Die Arbeitsgruppe von Hall et. al untersuchte die Rolle der Kaliumkanäle beim Auftreten einer Vasodilatation nach LPS-Gabe in Endothelzellen der Rattenaorta. In dieser Studie bewirkte der Kalium-Kanal-Blocker TEA eine vollständige Aufhebung der LPS-induzierten Vasodilatation [44]. Eine andere Arbeit untersuchte die Rolle der Hyperpolarisation bei der Entwicklung der vaskulären Hyporeaktivität in Endothelzellen der Ratten-Aorta im Rahmen des septischen Schocks ex vivo. Die hervorgerufene Hyperpolarisation wurde durch TEA-Gabe vollständig rückgängig gemacht [23]. Allerdings handelte es sich hierbei um Untersuchungen ex vivo, da lediglich die vaskuläre Funktion an isolierten Zellpräparaten gemessen wurde.

Die hier vorliegenden Ergebnisse zeigen dagegen erstmalig die Wirkungen von TEA in einem Großtiermodell im endotoxämischen Schock. Die einzige vergleichbare Studie wurde an septischen Ratten durchgeführt. Entsprechend den vorliegenden Ergebnissen zeigte die Applikation von TEA in dieser Untersuchung keinen Einfluss auf die LPS-induzierte Hypotonie im Vergleich zu Placebo [25].

Die Wirkung von TEA im Rahmen der humanen Endotoxinämie wurde in Untersuchungen von Pickkers et. al gemessen. Hier verbesserte TEA die verminderte Ansprechbarkeit der Gefäßmuskelzellen auf NA, wobei ebenfalls eine systemische Verabreichung von TEA erfolgte [90]. Die Wirkung wurde jedoch im Unterschied zur vorliegenden Studie lediglich isoliert in den Unterarmgefäßen der Probanden untersucht. Zudem war eine deutlich geringere Dosis verabreicht worden.

Die im Gegensatz zu unserer Hypothese negativen Auswirkungen von TEA könnten auf die extravaskulären Effekte von TEA zurückzuführen sein. Hierzu zählen z.B. die

Ganglion-blockierenden Eigenschaften des TEA. In den dreißiger Jahren des letzten Jahrhunderts wurde TEA systemisch verabreicht als antihypertensives Mittel eingesetzt [10]. Da in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu den meisten anderen Studien ebenfalls eine systemische Applikation gewählt wurde, könnte dies zu einer blutdrucksenkenden Wirkung geführt haben [46]. Außerdem wurde in einer Studie, die Eigenschaften von Acetylcholin an präsynaptischen Kaliumkanälen bei isolierten neuromuskulären Präparaten von Fröschen untersuchte, die hemmende Wirkung des TEA auf Nikotinrezeptoren in dem autonomen Nervensystem beschrieben [45]. Hierdurch könnten die Kompensationsmechanismen des sympathischen Nervensystems beeinträchtigt worden sein.

Kaliumkanäle sind nicht nur in vaskulären Zellen sondern auch in anderen Organen und Geweben, wie β -Zellen der Bauchspeicheldrüse, kardialen Myocyten, Neuronen, Skelettmuskulatur und nicht-vaskulären glatten Muskelzellen, vorhanden [24]. Folglich kann die Gabe von unspezifischen Kaliumkanalblockern wie TEA Auswirkungen auf verschiedenste Organsysteme haben.

Die kontinuierliche Infusion von TEA führte bei den untersuchten Schafen im Vergleich zu den Kontrolltieren zu signifikant niedrigeren Werten von CI und HR. Da es im septischen Schock eigentlich zu einem kompensatorischen Anstieg und nicht zu einem Abfall des HZV kommen sollte, können diese Ergebnisse als myokardiale Depression interpretiert werden [43]. Diese lässt sich unter anderem durch eine Hemmung der mitochondrialen Kalium_{ATP}-Kanäle durch den unselektiven Kaliumkanalblocker TEA erklären. Die Mechanismen einer endogenen Kardioprotektion durch Kalium_{ATP}-Kanäle in Stressituationen, z.B. im Rahmen einer Ischämie und Reperfusion ("ischämische Präkonditionierung"), sind noch nicht völlig geklärt. Es konnte gezeigt werden, dass Kaliumkanalöffner einen protektiven Effekt (kleinere Infarktareale, weniger Herzrhythmusstörungen [121]) hatten, während Kaliumkanalblocker diesen verhinderten [70]. Neuere Ergebnisse weisen darauf hin, dass die geöffneten mitochondrialen Kalium_{ATP}-Kanäle der Kardiomyozyten Schutz vor Apoptose leisten, und so möglicherweise als Antagonisten von p53, einem an der Induktion der Apoptose und an DNA-Reparaturmechanismen beteiligten Protein, fungieren [1, 5].

Aufgrund der eingeschränkten Kreislauffunktion, die sich in einer CI-Reduktion äußerte, kam es zu kompensatorischen Mechanismen wie einer erhöhten Sauerstoffextraktion, was sich in einer Reduktion der SvO₂ bei den Studientieren im Vergleich zur Kontrollgruppe widerspiegelte [52, 108]. Die SvO₂ stellt im Rahmen der Therapie des septischen Schocks einen zentralen Zielparameter dar. Hierbei sind SvO₂-Werte über 70% während der ersten 6 h der Behandlung mit einem Überlebensvorteil assoziiert [96]. Des Weiteren kam es zum Abfall der Körpertemperatur in der Therapiegruppe. Während Fieber die häufigste Manifestation der gestörten Thermoregulation im septischen Schock ist, tritt eine Hypothermie nur in schwersten Fällen auf und ist mit einer höheren Letalität (71%) im Vergleich zu normothermen Patienten (37%) assoziiert [34]. Der Temperaturabfall im septischen Schock stellt eine adaptive Reaktion des Organismus dar, bei der durch Verlangsamung aller Stoffwechselfvorgänge eine Senkung des Sauerstoffverbrauchs erreicht werden kann [97]. Die Thermoregulation im septischen Schock wird durch das endogene Pyrogen IL-6 und das endogene antipyretische Krypton TNF- α vermittelt [22, 53, 65, 66]. Als Folge des Temperaturabfalls in der TEA-Gruppe kam es zur Reduktion der metabolischen Prozesse im Gewebe, was die bestehende Gewebhypoxie verringerte. Dadurch könnte die weniger ausgeprägte metabolische Azidose, charakterisiert durch höhere BE-Werte, in der Therapiegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe erklärt werden [11].

Die Aktivierung der Kalium_{ATP}-Kanäle führt im septischen Schock durch Freisetzung von Glucagon, verringerter Insulinproduktion und reduzierter Glukoseaufnahme im Skelettmuskel zu Insulinresistenz und Anstieg des Blutzuckerspiegels [76]. Die unselektive Blockade der Kaliumkanäle durch TEA in β -Zellen der Bauchspeicheldrüse begünstigt somit theoretisch das Auftreten von Hypoglykämien. In der vorliegenden Arbeit wurden diese jedoch durch die titrierte Glukose-Infusion verhindert.

Zusammenfassend könnte die negative Wirkung der TEA-Gabe durch die unselektive Blockade erklärt werden, weil diese auch die physiologischen und protektiven Funktionen der extravaskulären Kaliumkanäle gehemmt haben könnte. Um diese Hypothese zu belegen sind allerdings weitere Studien erforderlich. Vergleichbare Ergebnisse zeigten sich jedoch bei der unselektiven Blockade der NOS im septischen

Schock. Während die Hemmung der NO-Produktion im septischen Schock über die Blockade der iNOS eine positive Auswirkung hat (Anstieg des MAP, höhere Überlebensraten), führt dagegen die Hemmung der konstitutiven Form zu einem Verlust der NO-vermittelten vasoregulatorischen und immunmodulatorischen Funktionen [27, 69]. Entsprechend bewirkte die Verabreichung von nichtselektiven NOS-Inhibitoren eine Beeinträchtigung der Organfunktionen und reduzierte die Überlebensrate in septischen Tiermodellen [4, 27]. Der Einsatz von nicht selektiven NOS-Inhibitoren führt sowohl zu einer Hemmung der konstitutiven NOS als auch der iNOS.

4.3. Überlebenszeit

In der vorliegenden Untersuchung wiesen die Tiere der TEA-Gruppe eine signifikant reduzierte Überlebenszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Eine erhöhte Letalität nach TEA-Gabe wurde bisher lediglich in einer tierexperimentellen Studie an Ratten nachgewiesen [25]. Allerdings erfolgte in der letztgenannten Untersuchung eine prophylaktische Gabe, während TEA in der aktuellen Studie therapeutisch appliziert worden ist.

Trotz fehlender objektiver Messungen waren die Schafe der TEA-Gruppe pre mortem deutlich agitatierter als die Kontrolltiere, was als neurologisches Symptom einer Intoxikation gewertet werden könnte. Ein Grund für die hohe Sterblichkeit in der Therapiegruppe könnte somit die Verwendung neurotoxischer Dosierungen von TEA darstellen. TEA wurde erstmalig als kontinuierliche Infusion therapeutisch eingesetzt. Die Dosierung von $8\text{mg}\cdot\text{kg}\cdot\text{KG}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ orientierte sich an Untersuchungen an Lämmern [107].

Weitere Gründe für die erhöhte Letalität, sind eingeschränkte Kreislauffunktion und unselektive Hemmung der Kaliumkanäle. Die protektiven Eigenschaften der Kaliumkanäle äußern sich unter anderem in der frühen Aktivierung der Immunzellen. Im Blutkreislauf zirkulierende Neutrophile sind an der Elimination der Krankheitserreger beteiligt. Die Öffnung der Kalium_{Ca}-Kanäle in deren Zellmembran ist dafür eine notwendige Voraussetzung, da Kalium für die Aktivierung der Proteasen innerhalb der phagozytischen Vakuolen zuständig ist. Die Endotoxin-induzierte

Freisetzung von Zytokinen und die NO-Produktion in den Makrophagen sind ebenfalls auf die Öffnung der Kaliumkanäle angewiesen. Das freigesetzte NO wirkt zytotoxisch auf Mikroorganismen [19]. Durch die unselektive Hemmung der zuständigen Kaliumkanäle mit TEA in unserer Arbeit könnte die Immunantwort beeinträchtigt worden sein.

Des Weiteren ist eine Aktivierung der Kalium_{ATP}-Kanäle mit anschließender Vasodilatation eine physiologische Schutzreaktion auf niedrige zelluläre Energiereserven. Die Blockade durch TEA könnte die mikroregionale Durchblutung im septischen Schock beeinträchtigt und zu einer Sauerstoffminderversorgung durch Vasokonstriktion bei erhöhtem Sauerstoffbedarf des Gewebes geführt haben. Darüber hinaus bewirkt TEA die Schließung mitochondrialer Kaliumkanäle in zerebralen Neuronen, wodurch physiologische Mechanismen, wie Schutz vor ischämischen und chemischen Belastungen, beeinträchtigt werden können [8]. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse erscheint es sinnvoll, in weiteren Studien ausschließlich die selektive Blockade von endothelialen Kaliumkanälen zu untersuchen.

4.4. Limitierungen

Unsere Arbeit wurde an einem international anerkannten Tiermodell durchgeführt. Trotzdem ist die Aussagekraft unserer Studie in einigen Punkten limitiert. Tiermodelle sind naturgemäß nicht zu 100% auf den Menschen übertragbar [91]. Die Aussagekraft der vorliegenden Untersuchung wurde durch die sehr hohe Letalität innerhalb der ersten 6-12 Stunden zusätzlich eingeschränkt. Deshalb ist es notwendig, Langzeitstudien mit einem verzögerten Einsetzen der Organdysfunktion, im klinischen Umfeld zu simulieren. Darüber hinaus wurden ausschließlich junge und gesunde Tiere ohne Begleiterkrankungen eingesetzt, während die Patienten in der klinischen Praxis häufig vorerkrankt oder immunsupprimiert sind [75].

5. Schlussfolgerung

In dieser Studie wurde untersucht, welche hämodynamischen und metabolischen Effekte die unselektive Blockierung der Kaliumkanäle durch TEA im Rahmen der Sepsis bei Schafen hat. Die TEA-Gabe führte nicht zu der erwarteten Stabilisierung der Hämodynamik. Die negativen Effekte auf die Organfunktionen, sowie die Letalität könnten durch die unselektive Blockade der Kaliumkanäle nicht nur in den glatten Gefäßmuskelzellen, sondern auch in anderen Zellen, wie Kardiomyocyten, β -Zellen der Bauchspeicheldrüse, Neuronen und Immunzellen erklärt werden. Dies könnte zum Verlust der protektiven Funktion der Kaliumkanäle und somit zu myokardialer Schädigung, fehlender Verbesserung der Hämodynamik, Beeinträchtigung der Mikrozirkulation, sowie erhöhter Sterblichkeit in der TEA-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe geführt haben. Zukünftige Studien sollten die selektive Blockade endothelialer Kaliumkanäle untersuchen.

6. Literaturverzeichnis

1. Akao M, Ohler A, O'Rourke B, Marban E (2001) Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ Res* 88 (12): 1267-75
2. Anas AA, Wiersinga WJ, de Vos AF, van der Poll T (2010) Recent insights into the pathogenesis of bacterial sepsis. *Neth J Med* 68 (4): 147-52
3. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29 (7): 1303-10
4. Aranow JS, Zhuang J, Wang H, Larkin V, Smith M, Fink MP (1996) A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase prolongs survival in a rat model of bacterial peritonitis: comparison with two nonselective strategies. *Shock* 5 (2): 116-21
5. Ardehali H, O'Rourke B (2005) Mitochondrial K(ATP) channels in cell survival and death. *J Mol Cell Cardiol* 39 (1): 7-16
6. Armstrong CM (1971) Interaction of tetraethylammonium ion derivatives with the potassium channels of giant axons. *J Gen Physiol* 58 (4): 413-37
7. Astiz ME, Rackow EC (1998) Septic shock. *Lancet* 351 (9114): 1501-5
8. Bajgar R, Seetharaman S, Kowaltowski AJ, Garlid KD, Paucek P (2001) Identification and properties of a novel intracellular (mitochondrial) ATP-sensitive potassium channel in brain. *J Biol Chem* 276 (36): 33369-74
9. Bauer M, Brunkhorst F, Welte T, Gerlach H, Reinhart K (2006) [Sepsis. Update on pathophysiology, diagnostics and therapy]. *Anaesthesist* 55 (8): 835-45
10. BERRY RL CK, et al. (1946) The use of tetraethylammonium in peripheral vascular disease and causalgic states; a new method for producing blockade of the autonomic ganglion. *Surgery*:
11. Blair E, Henning G, Hornick R, Cowley RA (1964) Hypothermia in Bacteremic Shock. *Arch Surg* 89: 619-29
12. Bone RC (1991) Let's agree on terminology: definitions of sepsis. *Crit Care Med* 19 (7): 973-6

13. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 101 (6): 1644-55
14. Bridges EJ, Dukes S (2005) Cardiovascular aspects of septic shock: pathophysiology, monitoring, and treatment. *Crit Care Nurse* 25 (2): 14-6, 8-20, 2-4 passim; quiz 41-2
15. Briggs RW (1947) Clinical observations in three cases during the course of tetraethylammonium chloride therapy. (etamon chloride.). *J Natl Med Assoc* 39 (4): 151-3
16. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B (2004) EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med* 30 (4): 580-8
17. Brunkhorst FM (2006) MiniSymposium. Epidemiologie, Ökonomie und Praxis - Ergebnisse der deutschen Prävalenzstudie des Kompetenznetzwerkes Sepsis (SepNet) [serial on the Internet].[cited: Available from: <https://www.thieme-connect.com/ejournals/pdf/ains/doi/10.1055/s-2005-921227.pdf>.
18. Brunkhorst FM, Reinhart K (2009) [Supportive and adjunctive sepsis therapy]. *Internist (Berl)* 50 (7): 817-24, 26-7
19. Buckley JF, Singer M, Clapp LH (2006) Role of KATP channels in sepsis. *Cardiovasc Res* 72 (2): 220-30
20. C Schmidt WH, A Umgelter, R Hollweck, M Mayr, F Geisler, M Retzer-Lidl, M Bajbouj, J Reichenberger, W Reindl, K Stock, K Wagner, S von Delius and R Schmid (2005) Does the central venous pressure still have the authority to evaluate a patient's volume status in clinical routine? *Critical Care* [serial on the Internet].[cited.
21. Cauwels A, Brouckaert P (2008) Critical role for small and large conductance calcium-dependent potassium channels in endotoxemia and TNF toxicity. *Shock* 29 (5): 577-82

22. Chai Z, Gatti S, Toniatti C, Poli V, Bartfai T (1996) Interleukin (IL)-6 gene expression in the central nervous system is necessary for fever response to lipopolysaccharide or IL-1 beta: a study on IL-6-deficient mice. *J Exp Med* 183 (1): 311-6
23. Chen SJ, Wu CC, Yang SN, Lin CI, Yen MH (2000) Hyperpolarization contributes to vascular hyporeactivity in rats with lipopolysaccharide-induced endotoxic shock. *Life Sci* 68 (6): 659-68
24. Clapp LH, Tinker A (1998) Potassium channels in the vasculature. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 7 (1): 91-8
25. Clayton NP, LeDuc BW, Kelly LJ (2005) Effect of potassium channel and cytochrome P450 inhibition on transient hypotension and survival during lipopolysaccharide-induced endotoxic shock in the rat. *Pharmacology* 73 (3): 113-20
26. Cohen J (2002) The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420 (6917): 885-91
27. Cohen RI, Shapir Y, Davis A, Loona R, Scharf SM (2000) Comparison between selective and nonselective nitric oxide synthase inhibition and phenylephrine in normal and endotoxic swine. *Crit Care Med* 28 (9): 3257-67
28. Collin S, Sennoun N, Dron AG, de la Bourdonnaye M, Montemont C, Asfar P, et al. (2011) Vascular ATP-sensitive potassium channels are over-expressed and partially regulated by nitric oxide in experimental septic shock. *Intensive Care Med* 37 (5): 861-9
29. Dauphinee SM, Karsan A (2006) Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. *Lab Invest* 86 (1): 9-22
30. de Haas CJ, van Leeuwen HJ, Verhoef J, van Kessel KP, van Strijp JA (2000) Analysis of lipopolysaccharide (LPS)-binding characteristics of serum components using gel filtration of FITC-labeled LPS. *J Immunol Methods* 242 (1-2): 79-89
31. Dellinger RP (2003) Cardiovascular management of septic shock. *Crit Care Med* 31 (3): 946-55

32. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, et al. (2004) Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 32 (3): 858-73
33. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. (2008) Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 36 (1): 296-327
34. Doherty NE, Fung P, Lefkowitz M, Ellrodt AG (1985) Hypothermia and sepsis. *Ann Intern Med* 103 (2): 308
35. Domoki F, Perciaccante JV, Veltkamp R, Bari F, Busija DW (1999) Mitochondrial potassium channel opener diazoxide preserves neuronal-vascular function after cerebral ischemia in newborn pigs. *Stroke* 30 (12): 2713-8; discussion 8-9
36. E.V. DSG. Was ist sepsis? [21.07.2010]; Available from: <http://www.sepsis-gesellschaft.de/DSG/Deutsch/Was+ist+Sepsis>.
37. Ebel H, Werdan K (2012) Septischer Kreislaufchock und septische Kardiomyopathie. *Medizinische Klinik - Intensivmedizin und Notfallmedizin* 107 (1): 24-8
38. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, et al. (2007) Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 33 (4): 606-18
39. Ertmer C, Morelli A, Bone HG, Stubbe HD, Schepers R, Van Aken H, et al. (2006) Dobutamine reverses the vasopressin-associated impairment in cardiac index and systemic oxygen supply in ovine endotoxemia. *Crit Care* 10 (5): R144
40. Flynn A, Chokkalingam Mani B, Mather PJ (2010) Sepsis-induced cardiomyopathy: a review of pathophysiologic mechanisms. *Heart Fail Rev*:
41. Ghisletta P, Spini D (2004) An introduction to generalized estimating equations and an application to assess selectivity effects in a longitudinal study on very old individuals. *J Educ Behav Stat* 29 (4): 421-37
42. Greg S. Martin MDea (2003) The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *The New England Journal of Medicine*:

43. Groeneveld A, Breukers R, Verheij J (2005) Clinical Value of Intrathoracic Volumes from Transpulmonary Indicator Dilution Functional Hemodynamic Monitoring. In: Pinsky M, Payen D, editors.: Springer Berlin Heidelberg; S. 153-63.
44. Hall S, Turcato S, Clapp L (1996) Abnormal activation of K⁺ channels underlies relaxation to bacterial lipopolysaccharide in rat aorta. *Biochem Biophys Res Commun* 224 (1): 184-90
45. Hevron E, David G, Arnon A, Yaari Y (1986) Acetylcholine modulates two types of presynaptic potassium channels in vertebrate motor nerve terminals. *Neurosci Lett* 72 (1): 87-92
46. Hoobler SW, Malton SD, et al. (1949) Studies on vasomotor tone; the effect of the tetraethylammonium ion on the peripheral blood flow of normal subjects. *J Clin Invest* 28 (4): 638-47
47. Ince C (2005) The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care* 9 Suppl 4: S13-9
48. Jackson WF (1993) Arteriolar tone is determined by activity of ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 265 (5 Pt 2): H1797-803
49. Jackson WF (2000) Ion channels and vascular tone. *Hypertension* 35 (1 Pt 2): 173-8
50. Jaggar JH, Porter VA, Lederer WJ, Nelson MT (2000) Calcium sparks in smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 278 (2): C235-56
51. Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S, Arnold RC, Claremont HA, Kline JA (2010) Lactate clearance vs central venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: a randomized clinical trial. *JAMA* 303 (8): 739-46
52. Kandel G, Aberman A (1983) Mixed venous oxygen saturation. Its role in the assessment of the critically ill patient. *Arch Intern Med* 143 (7): 1400-2
53. Kozak W, Conn CA, Klir JJ, Wong GH, Kluger MJ (1995) TNF soluble receptor and antiserum against TNF enhance lipopolysaccharide fever in mice. *Am J Physiol* 269 (1 Pt 2): R23-9
54. Kretz F-J. *Anästhesie und Intensivmedizin*. Kretz F-J, Teufel F, editors: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2006.

55. Kuhl SJ, Rosen H (1998) Nitric oxide and septic shock. From bench to bedside. *West J Med* 168 (3): 176-81
56. Kumar A, Parrillo JE (2002) Reversible myocardial dysfunction: an ubiquitous phenomenon in the critically ill? *Crit Care Med* 30 (6): 1392-3
57. Kuo JH, Chen SJ, Shih CC, Lue WM, Wu CC (2009) Abnormal activation of potassium channels in aortic smooth muscle of rats with peritonitis-induced septic shock. *Shock* 32 (1): 74-9
58. Landry DW, Oliver JA (1992) The ATP-sensitive K⁺ channel mediates hypotension in endotoxemia and hypoxic lactic acidosis in dog. *J Clin Invest* 89 (6): 2071-4
59. Landry DW, Oliver JA (2001) The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 345 (8): 588-95
60. Landry DW, Oliver JA (2001) Mechanisms of disease: The pathogenesis of vasodilatory shock. *New Engl J Med* 345 (8): 588-95
61. Lange M, Morelli A, Westphal M (2008) Inhibition of potassium channels in critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 21 (2): 105-10
62. Lange M, Morelli A, Ertmer C, Broking K, Rehberg S, Van Aken H, et al. (2007) Role of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel inhibition in shock states: physiology and clinical implications. *Shock* 28 (4): 394-400
63. Lange M, Szabo C, Van Aken H, Williams W, Traber DL, Daudel F, et al. (2006) Short-term effects of glipizide (an adenosine triphosphate-sensitive potassium channel inhibitor) on cardiopulmonary hemodynamics and global oxygen transport in healthy and endotoxemic sheep. *Shock* 26 (5): 516-21
64. Lenaeus MJ, Vamvouka M, Focia PJ, Gross A (2005) Structural basis of TEA blockade in a model potassium channel. *Nat Struct Mol Biol* 12 (5): 454-9
65. Leon LR, White AA, Kluger MJ (1998) Role of IL-6 and TNF in thermoregulation and survival during sepsis in mice. *Am J Physiol* 275 (1 Pt 2): R269-77
66. Leon LR, Kozak W, Peschon J, Kluger MJ (1997) Exacerbated febrile responses to LPS, but not turpentine, in TNF double receptor-knockout mice. *Am J Physiol* 272 (2 Pt 2): R563-9

67. Levy B, Collin S, Sennoun N, Ducrocq N, Kimmoun A, Asfar P, et al. (2010) Vascular hyporesponsiveness to vasopressors in septic shock: from bench to bedside. *Intensive Care Med* 36 (12): 2019-29
68. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 29 (4): 530-8
69. Liaudet L, Rosselet A, Schaller MD, Markert M, Perret C, Feihl F (1998) Nonselective versus selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental endotoxic shock. *J Infect Dis* 177 (1): 127-32
70. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E (1998) Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection? *Circulation* 97 (24): 2463-9
71. Luzhkov VB, Aqvist J (2001) Mechanisms of tetraethylammonium ion block in the KcsA potassium channel. *FEBS Lett* 495 (3): 191-6
72. Magder S (2006) Central venous pressure: A useful but not so simple measurement. *Crit Care Med* 34 (8): 2224-7
73. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M (2003) The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 348 (16): 1546-54
74. Meier-Hellmann A (2003) [Standards in the diagnosis and treatment of sepsis]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 38 (2): 107-33; quiz 34-5
75. Michie HR (1998) The value of animal models in the development of new drugs for the treatment of the sepsis syndrome. *J Antimicrob Chemoth* 41: 47-9
76. Miki T, Seino S (2005) Roles of KATP channels as metabolic sensors in acute metabolic changes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 38 (6): 917-25
77. Murray MJ (1998) Sepsis: clinical dilemmas. *Yale J Biol Med* 71 (6): 485-91
78. Nguyen HB, Loomba M, Yang JJ, Jacobsen G, Shah K, Otero RM, et al. (2010) Early lactate clearance is associated with biomarkers of inflammation, coagulation, apoptosis, organ dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *J Inflamm (Lond)* 7: 6

79. Nishijima H, Weil MH, Shubin H, Cavanilles J (1973) Hemodynamic and metabolic studies on shock associated with gram negative bacteremia. *Medicine (Baltimore)* 52 (4): 287-94
80. Noritomi DT, Soriano FG, Kellum JA, Cappi SB, Biselli PJ, Liborio AB, et al. (2009) Metabolic acidosis in patients with severe sepsis and septic shock: a longitudinal quantitative study. *Crit Care Med* 37 (10): 2733-9
81. O'Brien JM, Jr., Ali NA, Aberegg SK, Abraham E (2007) Sepsis. *Am J Med* 120 (12): 1012-22
82. Oliver JA, Landry DW (2006) Potassium channels and septic shock. *Crit Care Med* 34 (4): 1255-7
83. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K (2003) Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med* 31 (9): 2332-8
84. Parratt JR (1998) Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia. *J Antimicrob Chemother* 41 Suppl A: 31-9
85. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, Suffredini AF, Danner RL, Cunnion RE, et al. (1990) Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 113 (3): 227-42
86. Paterson RL, Webster NR (2000) Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome. *J R Coll Surg Edinb* 45 (3): 178-82
87. Pepe MS, Anderson GL (1994) A Cautionary Note on Inference for Marginal Regression-Models with Longitudinal Data and General Correlated Response Data. *Commun Stat Simulat* 23 (4): 939-51
88. Peres Bota D, Lopes Ferreira F, Melot C, Vincent JL (2004) Body temperature alterations in the critically ill. *Intensive Care Med* 30 (5): 811-6
89. Pickkers P, Jansen Van Rosendaal AJ, Van Der Hoeven JG, Smits P (2004) Activation of the ATP-dependent potassium channel attenuates norepinephrine-induced vasoconstriction in the human forearm. *Shock* 22 (4): 320-5

90. Pickkers P, Dorresteijn MJ, Bouw MP, van der Hoeven JG, Smits P (2006) In vivo evidence for nitric oxide-mediated calcium-activated potassium-channel activation during human endotoxemia. *Circulation* 114 (5): 414-21
91. Piper RD, Cook DJ, Bone RC, Sibbald WJ (1996) Introducing Critical Appraisal to studies of animal models investigating novel therapies in sepsis. *Crit Care Med* 24 (12): 2059-70
92. Ragaller M (2008) [Microcirculation in sepsis and septic shock - therapeutic options?]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 43 (1): 48-53; quiz 4
93. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, Dhainaut JF, Douglas IS, Finfer S, et al. (2012) Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med* 366 (22): 2055-64
94. Rehberg S, Ertmer C, Kohler G, Spiegel HU, Morelli A, Lange M, et al. (2009) Role of arginine vasopressin and terlipressin as first-line vasopressor agents in fulminant ovine septic shock. *Intensive Care Med* 35 (7): 1286-96
95. Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Bardutzky J, Dempfle CE, Forst H, et al. (2010) Prevention, diagnosis, therapy and follow-up care of sepsis: 1st revision of S-2k guidelines of the German Sepsis Society (Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG)) and the German Interdisciplinary Association of Intensive Care and Emergency Medicine (Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI)). *Ger Med Sci* 8: Doc14
96. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. (2001) Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 345 (19): 1368-77
97. Romanovsky AA, Shido O, Sakurada S, Sugimoto N, Nagasaka T (1997) Endotoxin shock-associated hypothermia - How and why does it occur? *Ann Ny Acad Sci* 813: 733-7
98. Romero-Bermejo FJ, Ruiz-Bailen M, Gil-Cebrian J, Huertos-Ranchal MJ (2011) Sepsis-induced cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rev* 7 (3): 163-83
99. Russell JA, Walley KR (2010) Vasopressin and its immune effects in septic shock. *J Innate Immun* 2 (5): 446-60

100. Sakka SG, Reuter DA, Perel A (2012) The transpulmonary thermodilution technique. *J Clin Monit Comput*:
101. Schortgen F (2012) Fever in Sepsis. *Minerva Anesthesiol*:
102. Sharma S, Kumar A (2003) Septic shock, multiple organ failure, and acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Pulm Med* 9 (3): 199-209
103. Shi W, Cui N, Wu Z, Yang Y, Zhang S, Gai H, et al. (2010) Lipopolysaccharides up-regulate Kir6.1/SUR2B channel expression and enhance vascular KATP channel activity via NF-kappaB-dependent signaling. *J Biol Chem* 285 (5): 3021-9
104. Shieh CC, Coghlan M, Sullivan JP, Gopalakrishnan M (2000) Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol Rev* 52 (4): 557-94
105. Shoemaker WC, Appel PL, Kram HB, Bishop MH, Abraham E (1993) Temporal hemodynamic and oxygen transport patterns in medical patients. *Septic shock. Chest* 104 (5): 1529-36
106. Sibbald WJ, Paterson NA, Holliday RL, Anderson RA, Lobb TR, Duff JH (1978) Pulmonary hypertension in sepsis: measurement by the pulmonary arterial diastolic-pulmonary wedge pressure gradient and the influence of passive and active factors. *Chest* 73 (5): 583-91
107. Storme L, Rairigh RL, Parker TA, Cornfield DN, Kinsella JP, Abman SH (1999) K⁺-channel blockade inhibits shear stress-induced pulmonary vasodilation in the ovine fetus. *Am J Physiol* 276 (2 Pt 1): L220-8
108. Sumimoto T, Takayama Y, Iwasaka T, Sugiura T, Takeuchi M, Hasegawa T, et al. (1991) Mixed venous oxygen saturation as a guide to tissue oxygenation and prognosis in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 122 (1 Pt 1): 27-33
109. Thiemermann C (1997) Nitric oxide and septic shock. *Gen Pharmacol* 29 (2): 159-66
110. Thomas GD, Hansen J, Victor RG (1997) ATP-sensitive potassium channels mediate contraction-induced attenuation of sympathetic vasoconstriction in rat skeletal muscle. *J Clin Invest* 99 (11): 2602-9

111. Traber DL (2000) Animal models: the sheep. *Crit Care Med* 28 (2): 591-2
112. Triantafilou M, Triantafilou K (2002) Lipopolysaccharide recognition: CD14, TLRs and the LPS-activation cluster. *Trends Immunol* 23 (6): 301-4
113. Triantafilou M, Triantafilou K (2005) The dynamics of LPS recognition: complex orchestration of multiple receptors. *J Endotoxin Res* 11 (1): 5-11
114. Tyagi A, Sethi AK, Girotra G, Mohta M (2009) The microcirculation in sepsis. *Indian J Anaesth* 53 (3): 281-93
115. Vanelli G, Hussain SN (1994) Effects of potassium channel blockers on basal vascular tone and reactive hyperemia of canine diaphragm. *Am J Physiol* 266 (1 Pt 2): H43-51
116. Vanelli G, Hussain SN, Aguggini G (1995) Glibenclamide, a blocker of ATP-sensitive potassium channels, reverses endotoxin-induced hypotension in pig. *Exp Physiol* 80 (1): 167-70
117. Warrillow S, Egi M, Bellomo R (2006) Randomized, double-blind, placebo-controlled crossover pilot study of a potassium channel blocker in patients with septic shock. *Crit Care Med* 34 (4): 980-5
118. Westphal M, Daudel F, Bone HG, Van Aken H, Sander J, Stubbe H, et al. (2004) New approach to an ovine model of hypodynamic endotoxaemia. *Eur J Anaesthesiol* 21 (8): 625-31
119. Westphal M, Sielenkamper AW, Van Aken H, Stubbe HD, Daudel F, Schepers R, et al. (2004) Dopexamine reverses the vasopressin-associated impairment in tissue oxygen supply but decreases systemic blood pressure in ovine endotoxemia. *Anesth Analg* 99 (3): 878-85, table of contents
120. Wheeler AP, Bernard GR (1999) Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 340 (3): 207-14
121. Yellon DM, Downey JM (2003) Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 83 (4): 1113-51
122. Zahorec R, Firment J, Strakova J, Mikula J, Malik P, Novak I, et al. (2005) Epidemiology of severe sepsis in intensive care units in the Slovak Republic. *Infection* 33 (3): 122-8

-
123. Zeger SL, Liang KY, Albert PS (1988) Models for Longitudinal Data - a Generalized Estimating Equation Approach. *Biometrics* 44 (4): 1049-60
 124. Ziegler A, Kastner C, Blettner M (1998) The generalised estimating equations: An annotated bibliography. *Biometrical J* 40 (2): 115-39

Danksagungen

- Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Martin Westphal, für die Auswahl des Themas dieser Arbeit
- Des Weiteren danke ich PD Dr. med. Sebastian Rehberg für seine großartige Unterstützung und die geduldige Korrektur
- Ebenfalls möchte ich mich bei meiner Kollegin Frau Dr. med. Manuela Klimm für die Hilfe bei der experimentellen Durchführung bedanken
- Ein herzliches Dankeschön auch an Frau Dipl.-Math. Cristina Sauerland für die Hilfestellung bei der Datenauswertung
- Ich danke meinen Eltern, daß sie mir durch ihre Unterstützung die Fertigstellung dieser Arbeit ermöglichten
- Nicht zuletzt danke ich von ganzem Herzen meinem Ehemann Björn Fiedler für die unermüdliche Geduld und Unterstützung



Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz
Nordrhein-Westfalen

LANUV NRW, Postfach 10 10 52, 45610 Recklinghausen

Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn

Dr. med. Sebastian Rehberg
Klinik u. Poliklinik für Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33
48149 Münster

Tierschutz

Durchführung von Tierversuchen; Genehmigung gem. § 8 Tierschutzgesetz
Ihr Antrag vom 12.05.2007

Sehr geehrter Herr Dr. Rehberg,

auf Grund des § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Bekanntmachung der
Neufassung des Tierschutzgesetzes vom 18.05.2006 (BGBl. I S. 1206) erteile
ich Ihnen unter dem Vorbehalt des jederzeitigen Widerrufs die Genehmigung
zur Durchführung des nachstehenden Tierversuches

**„Auswirkungen der selektiven Blockade verschiedener Kaliumkanäle
und deren Untereinheiten auf die kardiopulmonale Hämodynamik, die
Organfunktion und die Mortalität im endotoxämischen Schaf“**

Ihrem Genehmigungsantrag entsprechend obliegt die Verantwortung für die
Durchführung des Tierversuchsvorhabens folgenden Personen:

Verantwortlicher Leiter: Herr PD Dr. med. Martin Westphal

Stellvertretender Leiter: Herr Dr. med. Sebastian Rehberg

Diese Genehmigung ist für die Dauer von 24 Monaten ab dem 14.06.2007
befristet bis zum

30.06.2009.

Die Genehmigung wird unter den folgenden Bedingungen erteilt und mit
folgenden Auflagen verbunden:

Auskunft erteilt:

Herr Skoff

Direktwahl: 02361/305-709

Fax 02361/305-786

poststelle@lanuv.nrw.de

Aktenzeichen

9.93.2.10.36.07.126

bei Antwort bitte angeben

Ihre Nachricht vom:

Ihr Aktenzeichen:

Datum: 14.06.2007

Hauptsitz:

Leibnizstraße 10

45659 Recklinghausen

Telefon 02361 305-0

Fax 02361 305-786

poststelle@lanuv.nrw.de

www.lanuv.nrw.de

Dienstgebäude:

Hauptsitz Recklinghausen

Öffentliche Verkehrsmittel:

Ab Hbf Recklinghausen mit Bus

236 bis Haltestelle

"Siemensstraße" oder mit Bus

SB20 bis Haltestelle

"Blitzkuhlenstraße" und 15 Min.

Fußweg

Bankverbindung:

Landeskasse Düsseldorf

Konto-Nr.: 41 000 12

West LB AG

(BLZ 300 600 00)

BIC-Code: WELADED3

IBAN-Code: DE 41 3005

0000 0004 1000 12

1.
Für die Durchführung des Tierversuchsvorhabens darf folgende Tierart in folgender Anzahl verwendet werden:

75 Schafe

2.
Die Haltung der Versuchstiere erfolgt in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.

Es ist ein Tierbestandsbuch zu führen. Sie haben über die Herkunft und den Verbleib der Tiere Aufzeichnungen zu machen und diese drei Jahre lang aufzubewahren.

3.
An der Durchführung des Tierversuchsvorhabens dürfen neben dem Leiter und dem Stellvertreter des Versuchsvorhabens folgende Personen beteiligt werden:

Herr Dr. Christian Ertmer

Die bezeichneten Personen dürfen ausschließlich die im Genehmigungsantrag aufgeführten Eingriffe oder Behandlungen im Rahmen der zulässigen Verantwortlichkeitsstufe durchführen.

4.
a) Für die Einhaltung der Vorschriften des Tierschutzgesetzes sowie der hier erteilten Auflagen ist der/die in dieser Genehmigung bezeichnete Leiter/in des Tierversuchsvorhabens oder der/die in dieser Genehmigung bezeichnete Vertreter/in verantwortlich (§ 9 Abs. 3 TierSchG).

b) Jeder beabsichtigte Wechsel der Versuchsleiter- oder Stellvertreterposition ist dem Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW unverzüglich anzuzeigen (§ 8 Abs. 4 Satz 2 TierSchG).

5.
a) Diese Genehmigung gilt nur für die Art, Durchführung und Dauer der Eingriffe oder Behandlungen im Umfang des von Ihnen schriftlich beantragten Tierversuchsvorhabens.

b) Änderungen genehmigter Versuchsvorhaben sind dem Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW anzuzeigen (§ 8a Abs. 7 Satz 2 TierSchG).

- 6.
- a) Der Widerruf dieser Genehmigung kann erfolgen, wenn gegen eine der Bedingungen oder eine der Auflagen dieser Genehmigung verstoßen wird.
 - b) Die Durchführung des Tierversuchsvorhabens wird gemäß § 8a Abs. 5 TierSchG untersagt, wenn Tierversuche entgegen tierschutzrechtlicher Bestimmungen durchgeführt werden oder wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer gesetzten Frist abgeholfen wird.

7.
Natürliche und juristische Personen und nicht rechtsfähige Personenvereinigungen haben der zuständigen Behörde auf Verlangen die Auskünfte zu erteilen, die zur Durchführung der der Behörde durch das Tierschutzgesetz übertragenen Aufgaben erforderlich sind, § 16 Abs. 2 TierSchG. Der Inhaber dieser Genehmigung ist auskunftspflichtig nach § 16 Abs. 3 Satz 2 TierSchG und hat die mit der Überwachung beauftragten Personen zu unterstützen.

8.
Die Kennzeichnungen der Käfige oder Einrichtungen, in denen Versuchstiere gehalten werden, sind mit dem zuständigen beamteten Tierarzt abzustimmen.

9.
Ist ein Transport der Versuchstiere zwischen Operations- und Tierhaltungsraum unvermeidbar, so ist dafür Sorge zu tragen, dass mit Hilfe geeigneter Behältnisse dieser Transport so durchgeführt wird, dass negative Beeinflussungen durch äußere Einflüsse (z. B. Witterung, Lärm etc.) ausgeschlossen sind. Es ist insbesondere darauf zu achten, dass die Tiere keinen Temperaturschwankungen ausgesetzt sind.

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann nunmehr innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist schriftlich bei mir, dem Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW, Leibnizstraße 10, 45659 Recklinghausen, einzulegen oder dort zur Niederschrift zu erklären. Falls die Frist durch das Verschulden eines von

Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden sollte, würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Seite 4 / 14.06.2007

Hinweise:

1.

Diese Genehmigung ist zeitlich bis zum dem o. g. Termin befristet.

Hierzu werden folgende Hinweise gegeben:

- a) Vor Ablauf der Genehmigungsfrist ist ggf. der Abschluss des Tierversuchsvorhabens mitzuteilen.
- b) Sollte das Tierversuchsvorhaben innerhalb des zeitlichen Genehmigungsrahmens noch nicht abgeschlossen sein, ist rechtzeitig vor Ende der Genehmigungsfrist – über den zuständigen Tierschutzbeauftragten – ein Antrag auf Verlängerung des Tierversuchsvorhabens zu stellen.
- c) Sollte die Absicht bestehen, nach Abschluss dieses Versuches einen gleichen oder ähnlichen Versuch durchzuführen, weise ich schon jetzt darauf hin, dass mit den erneuten Antragsunterlagen gleichzeitig ein zusammenfassender Ergebnisbericht über das jetzt genehmigte Versuchsvorhaben vorzulegen ist.

2.

Auf die Einhaltung der allgemeinen Vorschriften des Tierschutzgesetzes in Bezug auf die Haltung, Betreuung, Ernährung und Pflege der Versuchstiere (§ 2 TierSchG) sowie der Vorschriften für die Durchführung von Tierversuchsvorhaben (§§ 9 und 9a TierSchG) i. V. m. den Straf- und Bußgeldvorschriften der §§ 17 bis 20 TierSchG wird hingewiesen.

3.

Evtl. erforderliche Ausnahmegenehmigungen nach dem Tierschutzgesetz (§ 9 Abs. 1 und Abs. 2 Nr. 7) oder anderen gesetzlichen Bestimmungen bleiben von dieser Genehmigung unberührt.

4.

Wer Tierversuche nach § 7 Abs. 1 TierSchG an Wirbeltieren durchführt, ist nach der Verordnung über die Meldung zu Versuchszwecken oder zu bestimmten anderen Zwecken verwendeter Wirbeltiere vom 4. November 1999 (BGBl. I S. 2156) - Versuchstiermeldeverordnung – verpflichtet, der zuständigen Behörde für jedes Kalenderjahr bis zum 31. März des folgenden Jahres Meldungen nach dem Muster der Anlage zur Versuchstiermeldeverordnung zu erstatten. Zuständige Behörde nach § 1 der

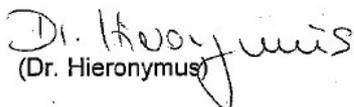
Verordnung über Zuständigkeiten auf dem Gebiet des Tierschutzrechts (GV. Seite 5 / 14.06.2007
NW. S. 508) ist hier die Kreisordnungsbehörde.

Dieser Bescheid ist nicht gebührenpflichtig.

Bitte geben Sie bei Änderungsanzeigen, Rückfragen oder sonstigen
Ergänzungen stets das Aktenzeichen: **9.93.2.10.36.07.126** an.

Es wird empfohlen, allen an der Tierversuchsdurchführung beteiligten
Personen diese Genehmigung zur Kenntnis zu geben.

Mit freundlichen Grüßen
Im Auftrag


(Dr. Hieronymus)