

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin

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

**Auswirkungen einer balancierten Kristalloid- versus einer  
balancierten Hydroxyethylstärkelösung (6% HES 130/0.4) auf die  
Nierenfunktion und Tubulusschädigung endotoxämischer Schafe**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des *doctor medicinae*

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Tim-Gerald Kampmeier

aus Bielefeld

2010

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Martin Westphal

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Heiner Wolters

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2010

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Hugo Van Aken -  
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Martin Westphal  
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Heiner Wolters

### **Zusammenfassung**

Auswirkungen einer balancierten Kristalloid- vs. einer balancierten Hydroxyethylstärke (6% HES 130/0.4) auf die Nierenfunktion und Tubulusschädigung endotoxämischer Schafe  
Tim-Gerald Kampmeier

Bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock werden als Volumenersatzmittel sowohl Kristalloide als auch Kolloide in den internationalen Sepsisleitlinien empfohlen, wobei die Auswirkungen der Kolloide auf die Nierenfunktion kontrovers diskutiert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese, dass eine Volumentherapie mit einer modernen, balancierten Hydroxyethylstärke (HES)-Lösung im Vergleich zu einem balancierten Kristalloid zu einer verminderten Nierenfunktion und einer geringeren Tubulusschädigung im endotoxämischen Schaf führt, untersucht

**Methoden und Ergebnisse:** Achtundzwanzig wache, gesunde Schafe (37±2 kg; Tierversuchsvorhaben 9.93.2.10.36.07.067 vom 16.05.2007) erhielten eine kontinuierliche Endotoxin-Infusion (*Salmonella typhosa*, initiale Dosierung 5 ng/kg/min) mit stündlicher Verdopplung der Dosis bis zum Eintreten eines endotoxämischen Schocks (arterieller Mitteldruck < 65 mmHg und Laktat ≥ 2 mmol/l bzw. Laktat ≥ 4 mmol/l/kg). Nach Randomisierung in drei Gruppen erfolgte die Volumentherapie mit einem balancierten Kristalloid (Jonosteril®, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland; n=10) oder einer balancierten, isoonkotischen HES-Lösung (6% HES 130/0.4; Volulyte® 6%, Fresenius Kabi) unter Berücksichtigung der zugelassenen Maximaldosis von 50 ml/kg KG und den Empfehlungen der aktuellen Sepsisleitlinien (n=10). Die Kontrollgruppe (n=8) erhielt keine Volumentherapie. Nach 12-stündiger Therapie wurden die Tiere in tiefer Narkose getötet und Nierengewebe für die elektronenmikroskopische Untersuchung entnommen.

Zwischen den Therapiegruppen zeigten sich keine relevanten Unterschiede in der kardio-pulmonalen Hämodynamik. Trotz eines Anstiegs der renalen Retentionsparameter (Harnstoff und Kreatinin) in der HES-Gruppe gegenüber der Kristalloid-Gruppe gab es keine signifikanten Unterschiede in der Kreatinin-Clearance zwischen den beiden Gruppen. Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Nierentubuli zeigte einen signifikant geringeren ultrastrukturellen Schaden innerhalb der HES- gegenüber der Kristalloid-Gruppe. Die Hämodynamik und Nierenfunktion dekompensierten in der unbehandelten Kontrollgruppe frühzeitig im Vergleich zu den beiden Therapiegruppen.

**Schlussfolgerungen:** Die Gabe von balanciertem 6% HES 130/0.4 führte trotz eines Anstiegs der renalen Retentionsparameter zu keiner Verschlechterung der Kreatinin-Clearance gegenüber der Kristalloid-Gruppe. Ein unterschiedliches Verteilungsvolumen von Harnstoff und Kreatinin könnte dieses Phänomen erklären. Der verminderte ultrastrukturelle Nierenschaden legt Vorteile der modernen, balancierten HES-Lösung gegenüber einer Kristalloid-basierten Volumentherapie nahe.

Datum der mündlichen Prüfung: 22.11.2010

<b>Inhaltsverzeichnis</b>		<b>Seite</b>
Inhaltsverzeichnis		I
Abkürzungsverzeichnis		V
Tabellenverzeichnis		IX
Abbildungsverzeichnis		X
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Sepsis	1
1.1.1	Definitionen	1
1.1.1.1	Konsensuskonferenz	1
1.1.1.2	Multiorganversagen	3
1.1.2	Epidemiologie	4
1.1.2.1	Prävalenz, Inzidenz und Mortalität	4
1.1.2.2	Kosten	5
1.1.3	Pathophysiologie	5
1.1.3.1	Erregerspektrum	5
1.1.3.2	Struktur des Lipopolysaccharids	6
1.1.3.3	Lipopolysaccharid-vermittelte Signaltransduktion	7
1.1.3.4	Systemische Inflammation	9
1.1.3.5	Störungen des Gerinnungssystems	10
1.1.3.6	Endotheliale Dysfunktion	12
1.1.3.7	Pathogenese des vasodilatatorischen Schocks	13
1.1.3.8	Veränderungen der Mikrozirkulation	16
1.1.3.9	Systemische Hämodynamik	18
1.1.3.10	Pulmonale Hämodynamik	19

1.1.3.11	Sepsis-assoziiertes akutes Nierenversagen	20
1.1.4	Diagnostik der Sepsis	21
1.1.5	Therapie der Sepsis	22
1.1.5.1	Kausale Therapie	23
1.1.5.2	Supportive Therapie	23
1.1.5.3	Adjunktive Therapie	25
1.1.5.4	Therapieziele	26
1.2	Volumentherapie in der Sepsis	27
1.2.1	Kristalloide	28
1.2.2	Kolloide	30
1.2.2.1	Hydroxyethylstärke-Lösungen	30
1.3	Intention der vorliegenden Untersuchung	34
1.4	Studienhypothesen	35
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>36</b>
2.1	Versuchsgenehmigung	36
2.2	Versuchstiere	36
2.3	Medikamente und Medizinprodukte	36
2.3.1	Versuchslösungen	39
2.4	Instrumentierung	40
2.4.1	Anästhesie	40
2.4.2	Pulmonalarterienkatheter	41
2.4.2.1	Anlage der venösen Schleusen	43
2.4.2.2	Einschwemmen des Pulmonalarterienkatheters	43
2.4.3	Femoralarterieller Katheter	45
2.4.4	Transurethraler Harnblasenkatheter	45
2.4.5	Perioperative Antibiotikaprophylaxe	46
2.4.6	Postoperative Maßnahmen	46
2.5	Tierhaltung	47

2.6	Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung	47
2.6.1	Messung der hämodynamischen Variablen	47
2.6.1.1	Funktionsprinzip des Druckwandlers	47
2.6.1.2	Messung des Herzzeitvolumens	48
2.6.2	Blutgasanalysen	50
2.6.3	Variablen des globalen Sauerstofftransportes	51
2.6.4	Urinproben	52
2.6.5	Labormedizinische Untersuchungen	52
2.6.6	Versuchsprotokoll	54
2.6.6.1	Messzeitpunkte	55
2.7	Einschlusskriterien	56
2.8	Gruppeneinteilungen	56
2.9	Zielwerte der Volumentherapie	57
2.10	Organentnahme und Elektronenmikroskopie	57
2.11	Statistik	58
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>60</b>
3.1	Volumenbedarf und Vasopressoren	60
3.2	Veränderungen der systemischen Hämodynamik	60
3.3	Veränderungen der pulmonalen Hämodynamik	61
3.4	Veränderungen des globalen Sauerstofftransportes	61
3.5	Veränderungen der Körperkerntemperatur sowie des Säure-Basen- und Elektrolythaushaltes	62
3.6	Veränderungen von kolloidosmotischem Druck und Plasmaeiweiß	62
3.7	Veränderungen der Nierenfunktion	63
3.8	Ultrastrukturelle Organschäden	63
3.9	Überlebenszeiten	64
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>88</b>

4.1	Das Schafmodell der kontinuierlichen Endotoxinämie	88
4.1.1	Das Schaf als Versuchstier in der Sepsisforschung	88
4.1.2	Eignung der kontinuierlichen Endotoxinämie als Sepsismodell	89
4.1.3	Reaktionen der Versuchstiere auf die Endotoxin-Infusion	90
4.1.4	Reaktionen der Versuchstiere auf die Studienlösungen	90
4.1.5	Elektronenmikroskopische Quantifizierung der Nierenschädigung	97
4.2	Limitierungen der vorliegenden Untersuchung	99
4.2.1	Verwendung eines Tiermodells für die vorliegende Studie	99
4.2.2	Aussagekraft hämodynamischer Parameter der vorliegenden Studie	100
<b>5</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>101</b>
	Literatur	102
	Danksagung	110
	Lebenslauf	111
	Tierversuchsgenehmigung	112



## Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
ADH	Antidiuretisches Hormon
AKI	Akute Nierenschädigung
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
ANV	Akutes Nierenversagen
APC	Aktiviertes Protein C
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
AT III	Antithrombin III
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
BE	Basenüberschuss
BE <sub>pot</sub>	Potenzieller Basenüberschuss
BL	Baseline
C	Komplement-Faktor
cAMP	Cyclisches Adenosin-3',5'-monophosphat
CD	Cluster of differentiation
cGMP	Cyclisches Guanosin-3',5'-monophosphat
CGRP	Calcitonin gene related peptide
CI	Herzindex
Cl <sub>Krea</sub>	Kreatinin-Clearance
cKrea	Kreatininkonzentration
cNa	Natriumkonzentration
CoA	Coenzym-A
CRP	C-reaktives Protein
ctHb	Totale Hämoglobinkonzentration
CVP	Zentraler Venendruck
DAG	1,2-Diacylglycerin
DIC	Disseminated intravascular coagulation
DO <sub>2</sub>	Sauerstoffangebot
DO <sub>2</sub> I	Sauerstoffangebotsindex
EDTA	Ethylendiamin-Tetraacetat
EF	Ejektionsfraktion
EK	Erythrozytenkonzentrat

EMTI	Electron microscopic tubular injury
FE <sub>Na</sub>	Fraktionelle Natrium-Exkretion
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische O <sub>2</sub> -Fraktion
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GP	Glucose regulated protein
GPT	Glutamat-Pyrovat-Transaminase
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
HES	Hydroxyethylstärke
HLA	Human leucocyte antigen
HR	Herzfrequenz
Hsp	Hitzeschockprotein
HZV	Herzzeitvolumen
ICAM	Interzelluläres Adhäsionsmolekül
IFN	Interferon
IL	Interleukin
Indizes	a = arteriell, cv = zentralvenös, U = Urin, v = gemischtvenös
IP <sub>3</sub>	Inositol-1,4,5-trisphosphat
IPPV	Intermittent positive pressure ventilation
i.v.	Intravenös
KG	Körpergewicht
KOD	Kolloidosmotischer Druck
KOF	Körperoberfläche
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LDH	Laktatdehydrogenase
LPS	Lipopolysaccharid
LVSWI	Linksventrikulärer Schlagarbeits-Index
MAP	Mittlerer arterieller Druck
mCD	membrangebundenes CD-Molekül
MHC	Major histocompatibility complex
MODS	Multiple organ dysfunction syndrome
MOF	Multiorganversagen
MPAP	Mittlerer pulmonalarterieller Druck

mRNA	Messenger-RNA
MyD	Myeloid Differenzierungsprotein
NAD <sup>+</sup>	oxidiertes Nicotinamid-Adenosin-Dinucleotid
NADH	reduziertes Nicotinamid-Adenosin-Dinucleotid
NFκB	Nuclear factor kappa B
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthetase (e = endotheliale, i = induzierbare, n = neuronale Isoform)
O <sub>2</sub> -ER	Sauerstoffextraktionsrate
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PAK	Pulmonalarterienkatheter
pCO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PCT	Procalcitonin
PCWP	Pulmonalarterieller Verschlussdruck
PDH	Pyruvat-Dehydrogenase
PEEP	Positive endexpiratory pressure
PG	Prostaglandin
PGI <sub>2</sub>	Prostacyclin
pH	Potentia hydrogenii
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PLA <sub>2</sub>	Phospholipase A <sub>2</sub>
PLCβ	Phospholipase Cβ
pO <sub>2</sub>	Arterieller O <sub>2</sub> -Partialdruck
PVRI	Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RVSWI	Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex
SAA	Serumamyloid A
SAP	Systolischer arterieller Blutdruck
SCCM	Society of Critical Care Medicine
sCD	lösliches CD-Molekül
SEM	Standard error of the mean
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome

SO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
SVI	Schlagvolumen-Index
SvO <sub>2</sub>	gemischtvenöse Sauerstoffsättigung
SVR	Systemvaskulärer Widerstand
SVRI	Systemvaskulärer Widerstandsindex
SVV	Schlagvolumenvariation
T	Körperkerntemperatur
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TLR	Toll-like receptor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TXA <sub>2</sub>	Thromboxan A <sub>2</sub>
UV	Urinvolumen
VO <sub>2</sub>	Sauerstoffverbrauch
VO <sub>2</sub> I	Sauerstoffverbrauchsindex
vWF	von-Willebrand-Faktor
WWU	Westfälische Wilhelms-Universität
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung

## Tabellenverzeichnis

		Seite
Tabelle 1.1	Definitionen von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock nach den Richtlinien der ACCP/SCCM-Konferenz	2
Tabelle 1.2	Modifizierte Konsensuskriterien nach Kriterienkatalog	2
Tabelle 1.3	Die Sepsisbündel	27
Tabelle 2.1	Verwendete Medikamente	37
Tabelle 2.2	Verwendete Geräte und Medizinprodukte	38
Tabelle 2.3	Zusammensetzung der Versuchslösungen	40
Tabelle 2.4	Variablen der systemischen und pulmonalen Hämodynamik	49
Tabelle 2.5	Blutgasanalysen	50
Tabelle 2.6	Variablen des globalen Sauerstofftransports	51
Tabelle 2.7	Labormedizinische Untersuchungen	53
Tabelle 3.1	Daten der systemischen Hämodynamik	65
Tabelle 3.2	Daten der pulmonalen Hämodynamik	65
Tabelle 3.3	Daten der globalen Sauerstoffversorgung	66
Tabelle 3.4	Daten des Säure-Basen-Haushaltes, der Serumelektrolyte und der Körperkerntemperatur	67
Tabelle 3.5	Daten der Organschädigung	68
Tabelle 3.6	Postmortale Organgewichte und Körpergewichtsdifferenz	68

## Abbildungsverzeichnis

	Seite	
Abbildung 1.1	Chemische Struktur des Lipopolysaccharids	6
Abbildung 1.2	Stark vereinfachte Darstellung der Sepsis-induzierten Koagulopathie	11
Abbildung 1.3	Vereinfachte Darstellung der systemischen Hämodynamik in der Sepsis	18
Abbildung 1.4	Die RIFLE-Kriterien	21
Abbildung 1.5	Chemische Struktur von HES mit variablem Substitutionsgrad	32
Abbildung 1.6	Schematische Darstellung der Verteilung des Molekulargewichtes bei Voluven <sup>®</sup>	33
Abbildung 2.1	Pulmonalarterienkatheter	42
Abbildung 2.2	Abgeleitete Druckkurve während des Einschwemmens des Pulmonalarterienkatheters	45
Abbildung 3.1	Herzfrequenz	69
Abbildung 3.2	Herzindex	69
Abbildung 3.3	Mittlerer arterieller Blutdruck	70
Abbildung 3.4	Noradrenalinbedarf	70
Abbildung 3.5	Arterielle Sauerstoffsättigung	71
Abbildung 3.6	Gemischtvenöse Sauerstoffsättigung	71
Abbildung 3.7	Sauerstoff-Extraktionsrate	72
Abbildung 3.8	Sauerstoffangebotsindex	72
Abbildung 3.9	Gesamteiweiß	73
Abbildung 3.10	Serumosmolalität	73
Abbildung 3.11	Serumchloridkonzentration	74
Abbildung 3.12	Oxymetrie-korrigierter Basenüberschuss	74
Abbildung 3.13	Plasmalaktatkonzentration	75
Abbildung 3.14	Kolloidosmotischer Druck	75
Abbildung 3.15	Stundendiurese	76
Abbildung 3.16	Plasmakreatininkonzentration	76
Abbildung 3.17	Plasmaharnstoffkonzentration	77
Abbildung 3.18	Kreatinin-Clearance	77

Abbildung 3.19	Überlebenszeiten	78
Abbildung 3.20	Kumulatives appliziertes Gesamtvolumen	79
Abbildung 3.21	Kumulative Kolloidgabe	79
Abbildung 3.22	Kumulative Kristalloidgabe	80
Abbildung 3.23	Vakuoläre Degeneration	81
Abbildung 3.24	Tubulärer Zellschaden	82
Abbildung 3.25	Tubuläre Obstruktion	83
Abbildung 3.26	Dissoziation der Basalmembran	84
Abbildung 3.27	Intakter Mikrovilli-Bürstensaum	84
Abbildung 3.28	Kumulativer EMTI-Score	85
Abbildung 3.29	TEM-Aufnahme des Nierentubulus eines Kontrolltieres	86
Abbildung 3.30	TEM-Aufnahme des Nierentubulus eines mit Kristalloid behandelten Tieres	86
Abbildung 3.31	TEM-Aufnahme des Nierentubulus eines mit Kolloid behandelten Tieres	87

# 1 Einleitung

## 1.1 Sepsis

### 1.1.1 Definitionen

#### 1.1.1.1 Konsensuskonferenz

Die schwere Sepsis und der septische Schock stellen weltweit ein bedeutsames medizinisches und ökonomisches Problem dar. Trotz intensiver Forschung steigt die Inzidenz der Sepsis weltweit, insbesondere durch die zunehmende Anzahl immunkompromittierter, älterer und insgesamt „kränkerer“ Patienten an. Damit sind häufig verlängerte Krankenhausverweildauern, steigende Behandlungskosten und nicht zuletzt eine hohe Letalität verbunden (siehe auch Kapitel Epidemiologie) [51].

Um eine Basis für die Vergleichbarkeit und Standardisierung von Diagnostik, Therapie und Forschung zu schaffen, fand im August 1991 in Northbrook/USA eine Konsensuskonferenz des "American College of Chest Physicians" (ACCP) und der "Society of Critical Care Medicine" (SCCM) statt [1]. Dort einigte man sich erstmals auf eine international gültige Definition für die Sepsis:

Die Sepsis ist eine systemische, nicht lokal begrenzte Entzündungsreaktion des Körpers auf einen infektiösen Stimulus. Allerdings gibt es auch Erkrankungen mit identischem klinischem Erscheinungsbild, jedoch ohne infektiösen Ursprung, z.B. Verbrennungen, Pankreatitis und Intoxikationen. Man bezeichnete diese Reaktion als "systemic inflammatory response syndrome" (SIRS) und definierte vier für systemische Entzündungsreaktionen typische Symptome, von denen wenigstens zwei für die Diagnosestellung eines SIRS vorliegen müssen (siehe Tabelle 1.1).



**Tabelle 1.1** Definitionen von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock nach den Richtlinien der ACCP/SCCM - Konferenz

Syndrom	Kriterien
<b>SIRS</b> <i>(wenigstens 2 Kriterien müssen erfüllt sein)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Herzfrequenz <math>&gt;90 \text{ min}^{-1}</math></li> <li>• Körperkerntemperatur <math>&lt;36 \text{ }^\circ\text{C}</math> oder <math>&gt;38 \text{ }^\circ\text{C}</math></li> <li>• Leukozytenzahl <math>&gt;12000 \mu\text{l}^{-1}</math> oder <math>&lt;4000 \mu\text{l}^{-1}</math> oder eine Linksverschiebung im Differenzialblutbild mit mehr als 10% unreifen neutrophilen Granulozyten</li> <li>• Atemfrequenz <math>&gt;20 \text{ Atemzüge}\cdot\text{min}^{-1}</math> oder ein <math>p_a\text{CO}_2 &lt;32 \text{ mmHg}</math> (4,3 kPa)</li> </ul>
<b>Sepsis</b>	Infektiöse Ätiologie des SIRS bzw. Ausschluss anderer Ursachen
<b>Schwere Sepsis</b>	Sepsis und Organdysfunktion bzw. Hypoperfusion oder arterielle Hypotonie
<b>Septischer Schock</b>	SAP $<90 \text{ mmHg}$ trotz Volumensubstitution bzw. Einsatz vasoaktiver Substanzen mit $\alpha$ -adrenerger Wirkung zur Steigerung des MAP auf wenigstens 60 mmHg

**Legende:** MAP = "mean arterial pressure", SAP = "systolic arterial pressure", SIRS = "systemic inflammatory response syndrome".

**Tabelle 1.2** Modifizierte Konsensuskriterien mit Kriterienkatalog

- I. Nachweis eines infektiösen Ursprungs der Inflammation (mindestens eines der folgenden Kriterien):
  - mikrobiologisch gesicherte Infektion
  - klinisch gesicherte Infektion
  - vermutete Infektion
  
- II. Nachweis einer systemischen inflammatorischen Wirtsreaktion (SIRS) (mindestens zwei der folgenden Kriterien):
  - Hypo- ( $<36^\circ\text{C}$ ) oder Hyperthermie ( $>38^\circ\text{C}$ )
  - Tachykardie ( $>90/\text{min}$ )
  - Tachypnoe ( $>20/\text{min}$ ) und/oder arterieller  $p\text{CO}_2 <4,3 \text{ kPa}$  (33 mmHg) und/oder maschinelle Beatmung
  - Leukozytose  $>12.000/\mu\text{l}$  oder Leukopenie  $<4.000/\mu\text{l}$  und/oder Linksverschiebung  $>10\%$  im Differentialblutbild
  
- III. Infektionsbezogene Organdysfunktion (mindestens eines der folgenden Kriterien):
  - **Akute Enzephalopathie** (reduzierte Vigilanz, Unruhe, Desorientiertheit, Delir ohne Beeinflussung durch Psychotropika)
  - **Thrombozytopenie** (Thrombozyten  $<100.000/\mu\text{l}$  oder Thrombozytenabfall  $>30\%$  in 24 h ohne Blutverlust als Ursache)
  - **Arterielle Hypoxämie** ( $p\text{aO}_2 <10\text{kPa}$  (75mmHg) unter Raumluft,  $p\text{aO}_2/\text{FiO}_2 <33\text{kPa}$  (250

- mmHg) ohne manifeste pulmonale oder kardiale Erkrankung als Ursache)
- **Arterielle Hypotension** (systolischer arterieller Blutdruck <90mmHg oder mittlerer arterieller Blutdruck <65mmHg über mind. 1 h trotz adäquater Volumenzufuhr bei Abwesenheit anderer Schockursachen)
- **Renale Dysfunktion** (Urinausscheidung <0,5ml/kg/h über mindestens 1 h trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder Anstieg des Serum-Kreatinins >2x über den Referenzbereich des jeweiligen Labors)
- **Metabolische Azidose** (Basendefizit >5,0mEq/l oder eine Plasma-Laktat-Konzentration >1,5x über den Referenzbereich des jeweiligen Labors)

modifiziert nach [25]

Sind die in Tabelle 1.2 aufgeführten Kriterien I und II erfüllt, kann die Diagnose einer Sepsis gestellt werden, eine schwere Sepsis liegt nach Erfüllen aller drei Kriterien vor. Für die Diagnose des septischen Schocks müssen die Kriterien I und II erfüllt sowie für mindestens eine Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck <90 mmHg bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck <65 mmHg nachgewiesen sein. Alternativ muss ein Vasopressoreinsatz vorliegen um die genannten Blutdruckparameter über den angeführten Werten zu halten. Ferner darf die arterielle Hypotonie nicht durch andere Ursachen erklärbar sein [25].

Eine Bakteriämie (d.h. ein Vorliegen lebensfähiger Bakterien im Blutkreislauf) ist zur Diagnosefindung einer Sepsis nicht zwingend notwendig. Die Wahrscheinlichkeit für positive Blutkulturen steigt zwar mit dem Schweregrad der Erkrankung [89], eine große retrospektive Untersuchung aus Frankreich zeigte jedoch, dass nur bei 43% der Patienten mit schwerer Sepsis durch gram-negative Bakterien positive Blutkulturen zu finden waren [21].

### 1.1.1.2 Multiorganversagen

Im Rahmen von Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock kann es zur Dysfunktion verschiedener Organsysteme kommen, bis hin zum Versagen eines oder mehrerer Organe. Man bezeichnet diese Komplikation als "multiple organe dysfunction syndrome" (MODS), woraus sich im weiteren Verlauf dann ggf. ein Multiorganversagen entwickeln kann [9].

Die Ausprägung der Organschädigung ist individuell sehr unterschiedlich, da nicht jedes Organ zur gleichen Zeit gleichermaßen stark geschädigt wird. So ist die Lunge im zeitlichen Verlauf sehr früh betroffen. Zusammen mit dem Hepatikusgebiet ist sie das am häufigsten betroffene Organ. Jedoch auch Organe wie Gehirn, Herz und Niere werden oft im Verlauf einer Sepsis geschädigt [2]. Mit zunehmender Anzahl der versagenden Organe steigt die Letalität [133]. Die mit der

Organdysfunktion assoziierte Mikrozirkulationsstörung wird im Kapitel „Störungen der Mikrozirkulation“ ausführlich beschrieben.

### **1.1.2 Epidemiologie**

Da nur sehr wenige populationsbasierte Studien zur Epidemiologie von Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock vorliegen, sind valide Aussagen zur Inzidenz, Prävalenz und Letalität in der Allgemeinbevölkerung zum aktuellen Zeitpunkt nicht möglich. Dennoch sollen im Folgenden die Ergebnisse mehrerer großer Studien aufgezeigt werden, die sich auf die Bundesrepublik Deutschland, die USA sowie auf andere europäische und nicht-europäische Staaten beziehen.

#### **1.1.2.1 Prävalenz, Inzidenz und Letalität**

Das Kompetenznetz Sepsis (SepNet) führte von Januar 2003 bis Januar 2004 eine multizentrische Observationsstudie an 310 Kliniken und insgesamt 454 Intensivstationen in Deutschland durch. Es wurden 3877 Patienten untersucht und Sepsisfälle nach standardisierten Parametern, basierend auf den ACCP/SCCM-Kriterien, detektiert. Die Studie zeigte eine Prävalenz von 12,4% (95% Konfidenzintervall (KI) 10,9 - 13,8%) für die Sepsis und von 11,0% (95% CI 9,7 - 12,2%) für schwere Sepsis und septischen Schock [41].

Die im Jahr 2001 in Frankreich durchgeführte EPISEPSIS-Studie schloss mehr als 3700 Patienten auf 206 Intensivstationen ein und erhob eine Prävalenz von 14,6% für die schwere Sepsis [23]. In Brasilien wurde von Januar 2001 bis Mai 2002 die BASES-Studie durchgeführt. Diese konnte zeigen, dass von 884 Patienten mit einer Verweildauer von mehr als 24 Stunden auf der Intensivstation 415 Patienten (46,9%) für wenigstens einen Tag während ihres Intensivaufenthaltes die ACCP/SCCM-Kriterien der Sepsis erfüllten [119].

Für die USA konnte 1995 eine absolute Inzidenz von 750 000 Fällen pro Jahr bzw. 300 pro 100.000 Einwohner (0,3 % der Bevölkerung pro Jahr) ermittelt werden [75]. Die deutsche SepNet-Studie konnte aufgrund ihres Studiendesigns die Inzidenzrate nur näherungsweise berechnen und ermittelte eine bundesweite Inzidenz von jährlich etwa 79000 Fällen für die Sepsis bzw. 75 000 Fällen für schwere Sepsis und septischen Schock (entspricht 116 bzw. 110 pro 100 000 Einwohner) [41].

In der Literatur finden sich Sepsis-assoziierte Letalitätsraten zwischen 17% und 82% [5]. Für Deutschland zeigte die SepNet-Studie eine Gesamletalität von 55,2% [41]. Eine mexikanische Studie aus dem Jahr 1995 konnte nachweisen, dass die Sterblichkeit mit dem Schweregrad der Erkrankung ansteigt: die 28-Tage-Letalität reichte von 24,3% bei SIRS bis hin zu 52,2% bei septischem Schock [95]. Dieses Ergebnis unterstreicht die prognostische Bedeutung der ACCP/SCCM-Kriterien.

### **1.1.2.2 Kosten**

Eine US-amerikanische Studie berichtet von jährlichen direkten Therapiekosten bezogen auf die Nation von 17,6 Milliarden US-Dollar, was umgerechnet 22 100 US-Dollar pro septischem Patient bedeutet [4]. In Deutschland betragen die zusätzlichen (durch die Sepsis bedingten) Behandlungskosten laut aktueller Studienlage pro Patient ca. 23 000 Euro [41].

Die oben genannten Daten machen deutlich, dass die Sepsis ein bedeutsames medizinisches und sozioökonomisches Problem darstellt, das einen signifikanten Anteil der Krankenhaus-Sterblichkeit ausmacht.

### **1.1.3 Pathophysiologie**

Obwohl die Sepsis in den letzten Jahrzehnten zu einem zentralen Forschungsschwerpunkt der Intensivmedizin geworden ist, ist die Pathophysiologie dieses komplexen Syndroms noch nicht vollständig verstanden. Im Folgenden soll auf die wichtigsten bislang bekannten Pathomechanismen eingegangen werden.

#### **1.1.3.1 Erregerspektrum**

Jeder pathogene Mikroorganismus ist potenziell in der Lage eine Sepsis auszulösen. Infolgedessen umfasst das Erregerspektrum Bakterien, Viren, Pilze sowie auch Parasiten [9].

Da in der vorliegenden Arbeit bakterielles Endotoxin eingesetzt wurde, liegt der Fokus der folgenden Abschnitte auf der bakteriellen Sepsis.

Man unterscheidet gram-positive von gram-negativen bakteriellen Erregern sowie ambulant erworbene und nosokomiale (in zeitlichem Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt stehende) Infektionen. Bei den gram-positiven Erregern

dominieren im ambulanten Bereich die Pneumokokken und Streptokokken, während nosokomiale Infektionen vor allem durch Staphylokokken und Enterokokken ausgelöst werden. Enterobacteriaceae (z.B. E. coli und Klebsiellen) sind bei den gram-negativen Infektionen im ambulanten Bereich dominierend, während das Spektrum der nosokomialen gram-negativen Sepsis auch Nonfermenter (z.B. Pseudomonas, Acinetobacter) umfasst [9].

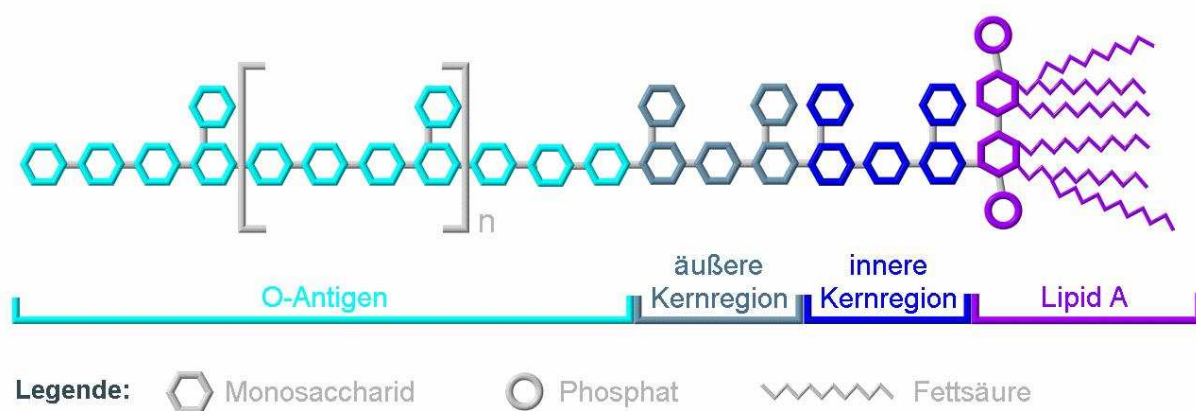
Die pathogene Komponente der meisten gram-positiven Erreger sind so genannte Exotoxine, die von den Bakterien produziert und aktiv sezerniert werden, beispielsweise das von einigen Staphylokokken-Stämmen produzierte S. aureus-Enterotoxin (SET) [67].

Gram-negative Erreger hingegen besitzen als pathogenen Bestandteil Endotoxine. Dies sind hitzestabile Membranbestandteile des Bakteriums, zu denen auch das Lipopolysaccharid (LPS) zählt. Eine Freisetzung dieser Endotoxine erfolgt im Gegensatz zu den Exotoxinen nicht durch aktive Sekretion sondern passiv, u. a. bei Proliferation oder Lyse des Erregers [67, 107].

### 1.1.3.2 Struktur des Lipopolysaccharids

Das LPS besteht aus drei Einheiten: dem sogenannten O-Polysaccharid (auch O-Antigen), der Kernregion (auch "Core-Oligosaccharid") und der Lipid A-Struktur (siehe Abbildung 1.1) [67]. Das Molekulargewicht des LPS beträgt etwa 10000 Dalton [107].

**Abbildung 1.1** Chemische Struktur des Lipopolysaccharids



Modifiziert nach [52].

Das O-Polysaccharid besteht aus repetitiven Monosaccharideinheiten, die chemisch zwischen den einzelnen gram-negativen Bakterienspezies stark variieren, so dass dieser Teil des Endotoxins zur Serotypisierung herangezogen wird [67].

Es folgt die so genannte Kernregion, die sich in eine innere und eine äußere Kernregion aufteilen lässt. Die äußere Kernregion ist durch die häufig vorkommenden Saccharide Galactose, Glucose, Glucosamin und Galactosamin gekennzeichnet, während in der inneren Kernregion die vergleichsweise seltenen Zucker 2-Keto-3-desoxycetansäure sowie Heptosemoleküle wie L-Glycero-D-mannoheptose dominieren [52, 107].

Des Weiteren liegt eine kovalente Bindung der inneren Kernregion an die Lipidkomponente des LPS, dem sogenannten Lipid A (auch als Lipoid A bezeichnet), vor. Dieser Teil des LPS, der im Wesentlichen für die toxische Wirkung verantwortlich ist, besteht aus einer variablen Anzahl von Fettsäuren (in der Regel sechs). Diese wiederum sind an zwei phosphorylierte Glucosamine gebunden, von denen eines die Verbindungsstelle zur Kernregion darstellt [67, 107].

### **1.1.3.3 Lipopolysaccharid-vermittelte Signaltransduktion**

Die intrazelluläre Signalkaskade der LPS-induzierten Signaltransduktion ist noch nicht in allen Einzelheiten verstanden. Es soll hier auf die wichtigsten bekannten Fakten eingegangen werden. Im Vorfeld sei jedoch erwähnt, dass die beschriebene Kaskade nur einen von vielen parallel ablaufenden Aspekten der LPS-induzierten Signaltransduktion darstellt. Alternative Transduktionsmechanismen werden am Ende des Kapitels kurz erwähnt.

Die Summe der Pathogene, die eine systemische Wirtsantwort triggern können, wird auch als "pathogen associated molecular patterns", kurz PAMPs, bezeichnet. Zu dieser Gruppe der Erreger-assoziierten Liganden zählt auch das LPS [9].

Zu Beginn der LPS-vermittelten Signalkaskade steht das Serumprotein "lipopolysaccharid-binding protein" (LBP), ein in der Leber synthetisiertes Akute-Phase-Protein. LBP bildet zusammen mit LPS einen Komplex, der an den CD14 Rezeptor bindet [107]. Dieser Rezeptor existiert in einer membrangebundenen Form (mCD14), wie er auf Monozyten, neutrophilen Granulozyten und Gewebemakrophagen vorkommt, und einer löslichen Form ("soluble", sCD14), die hauptsächlich für die Signalkaskade in Endothelzellen verantwortlich ist [34]. Die

Rolle des Endothels wird im Kapitel „Endotheliale Dysfunktion“ (s.u.) detailliert beschrieben.

Durch Bindung des LPS/LBP-Komplexes an den mCD14-Rezeptor kommt es zu einer Aggregation des mCD14-Rezeptors, des Toll-like-Rezeptors 4 (TLR4) und des Adapterproteins MD2 [107]. Der TLR4 ist ein sogenannter "pattern recognition receptor" (PRR), dessen zytoplasmatische Domäne homolog zur Interleukin- (IL) 1-Rezeptor-Familie ist [120]. Bis heute sind mindestens 11 TLRen beim Menschen identifiziert worden [129], wobei dem TLR4 für die LPS-vermittelte Inflammation die größte Bedeutung zukommt. Der Vollständigkeit halber soll erwähnt werden, dass das LPS mancher Bakterienspezies (wie z.B. *Porphyromonas gingivalis*) die Signaltransduktion via TLR2 vermittelt [34].

Die Aggregation von mCD14, TLR4 und MD2 führt zu einer Aktivierung des Adaptermoleküls "Myeloid-Differenzierungsprotein 88" (MyD88) und der IL-1-receptor-associated Kinase IRAK1 und IRAK4. Durch Bindung von IRAK4 an den oben genannten Rezeptorkomplex findet eine Transphosphorylierung und Aktivierung von IRAK1 statt [26], welche nun den "tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factor 6" (TRAF6) bindet [34]. TRAF6 und IRAK1 dissoziieren vom mCD14/TLR4-Rezeptorkomplex und bilden an der Zellmembran einen Komplex mit der "transforming growth factor (TGF)- $\beta$ -activated kinase" (TAK1) sowie mehreren Adaptermolekülen, den "TAK-binding proteins" (TABs) [32, 34].

Der Komplex aus TRAF6, TAK1 und TABs verlagert sich anschließend ins Zytoplasma, wo es zu einer TAK1-vermittelten Phosphorylierung der "Inhibitor of nuclear factor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) kinase" (IKK) kommt [65]. Die IKK besteht aus drei Untereinheiten: zwei katalytischen Einheiten (IKK $\alpha$  und IKK $\beta$ ) sowie einer regulatorischen Einheit IKK $\gamma$ , welche auch als "Nuclear factor (NF)- $\kappa$ B essential modulator" (NEMO) bezeichnet wird. Eine Aktivierung von IKK sorgt im Weiteren für eine Phosphorylierung von inhibitorischen Elementen des I $\kappa$ B-Komplexes, wodurch es zu einer Freisetzung des Transkriptionsfaktors "Nuclear factor- $\kappa$ B" (NF- $\kappa$ B) kommt [34, 65].

Die Aktivierung und Translokation von NF- $\kappa$ B in den Zellkern bewirkt eine vermehrte Genexpression von Zytokinen, wie beispielsweise TNF- $\alpha$  und IL-1. Makrophagen reagieren auf diesen Zytokinstimulus mit der Freisetzung weiterer Zytokine wie IL-6, IL-8 und IL-10 [107]. Auf die Bedeutung dieser Zytokine für den Verlauf der systemischen Inflammation wird im Kapitel 1.1.3.4 „Systemische Inflammation“ (s.u.) näher eingegangen.

Parallel zu dem bereits geschilderten Verlauf gibt es eine Reihe von weiteren Mechanismen, die ebenfalls durch LPS induziert werden und teilweise mit dem beschriebenen Prozess interagieren. So existiert beispielsweise der Phosphatidylinositol-3-Phosphat-Kinase (PI3K)-Weg. Auch die Aktivierung der "Mitogen-activated protein kinase" (MAPK) resultiert unter anderem in der Bildung der "c-jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase" (JNK), welche NF- $\kappa$ B-ähnliche Effekte hat. Des Weiteren existiert ein MyD88-unabhängiger Signalweg, der über "interferon regulatory factor 3" (IRF3) eine vermehrte Expression von Interferon (IFN)  $\beta$  fördert und ebenfalls zur Bildung von NF- $\kappa$ B beiträgt [34, 65].

Den so genannten "heat shock proteins" (Hsp) wird ebenfalls die Eigenschaft zur Induktion pro-inflammatorischer Zytokine zugeschrieben. In der Literatur werden vor allem Hsp32 (=Hemoxygenase-1), Hsp 60, Hsp 70, Hsp 90 und "glucose regulated protein" (gp) 96 genannt [129].

#### **1.1.3.4 Systemische Inflammation**

Die bereits beschriebene Aktivierung von Monozyten bzw. Makrophagen als Teil des unspezifischen Immunsystems resultiert in einer Freisetzung von Zytokinen, die multiple, teils antagonistische Wirkungen haben. Die primäre Zielzelle dieser Zytokine ist der Monozyt selbst: durch autokrine Stimulation wird eine massive Sekretion pro- und anti-inflammatorischer Zytokine induziert [126]. So wirken IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-12 pro-inflammatorisch, während beispielsweise IL-10 die Bildung von TNF- $\alpha$  retrograd hemmt und auf diese Weise anti-inflammatorische Effekte hat. Durch zirkulierendes Endotoxin im Blutstrom kommt es zu einer massiv gesteigerten, systemischen Ausschüttung von Zytokinen mit beträchtlichen Konsequenzen für den Organismus, von denen die wichtigsten im Folgenden besprochen werden sollen.

In der Vergangenheit ging man davon aus, dass SIRS und Sepsis in erster Linie durch einen „burst“ an pro-inflammatorischen Zytokinen verursacht werden. Neuere Daten legen jedoch nahe, dass die anti-inflammatorische Antwort einen erheblichen Einfluss auf die Pathophysiologie der Sepsis hat [9]. Insofern wird die Aktivierung der unspezifischen Immunantwort im Rahmen eines SIRS/Sepsis als eine zweiseitige Störung betrachtet, die durch eine unkontrollierte Hyperinflammation einerseits und eine Immunparalyse andererseits gekennzeichnet ist [9, 29]. Die bereits genannten pro-inflammatorischen Mediatoren bewirken Störungen der Endothelfunktion, des Gerinnungssystems, der Mikrozirkulation sowie der systemischen Hämodynamik



(siehe unten). Erwähnt werden sollte weiterhin, dass neutrophile Granulozyten durch oben genannte Zytokine zytotoxische Faktoren (z.B. Sauerstoffradikale) freisetzen. Ebenso wirken manche Zytokine als Induktoren für den programmierten Zelltod. Zytotoxine, Apoptose und Gewebehypoxie durch Mikrozirkulationsstörungen sind nur drei der Faktoren, die im Rahmen einer Sepsis unter anderem eine Schädigung des Hepatikosplanchnikus-Gebietes induzieren können. Eine nachfolgende Translokation von Erregern und/oder Toxinen aus dem Darm in den Kreislauf kann eine Sepsis im Sinne eines Circulus vitiosus verstärken [9, 82, 107].

Die Freisetzung anti-inflammatorischer Substanzen wie IL-4 und IL-10 dient grundsätzlich als Schutz vor einer systemischen Inflammation nach einem lokalen Entzündungsereignis. Durch massive Sekretion dieser Zytokine entsteht jedoch eine Immunparalyse, die einer weiteren Ausbreitung von Infektion und systemischer Inflammation Vorschub leistet [9, 108]. In der Literatur findet sich für das Blutplasma septischer Organismen der Begriff „immunsuppressives Milieu“, welches auch im Rahmen anderer pathophysiologischer Zustände, wie z.B. nach Reanimation oder kardiopulmonalen Bypassoperationen, beschrieben worden ist [28]. Ein derartig immunsuppressives Plasma führt zur Alteration der Funktion zirkulierender Leukozyten. So ist beispielsweise eine verminderte Expression von "human leukocyte antigen" (HLA)-Rezeptoren, CD14, TLR4 und anderen Rezeptoren auf der Oberfläche von Monozyten nachgewiesen [29]. Im Rahmen der Sepsis ist ebenfalls eine vermehrte Apoptose von CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten beschrieben, welche zu oben beschriebenem immunsuppressiven Milieu führen kann [31, 53]. Es lässt sich zusammenfassen, dass durch den „Zytokinsturm“ sowohl eine massive pro- als auch eine anti-inflammatorische Antwort des Organismus mit sämtlichen oben beschriebenen Effekten resultieren kann.

#### **1.1.3.5 Störungen des Gerinnungssystems**

Immunsystem und Gerinnung sind eng miteinander verknüpft. Deshalb soll hier auf die wichtigsten Veränderungen des Gerinnungssystems eingegangen werden. Das Gefäßendothel sezerniert unter physiologischen Bedingungen Gerinnungsinhibitoren wie "tissue factor pathway inhibitor" (TFPI), Thrombomodulin, Prostacyclin und Stickstoffmonoxid (NO) [9].

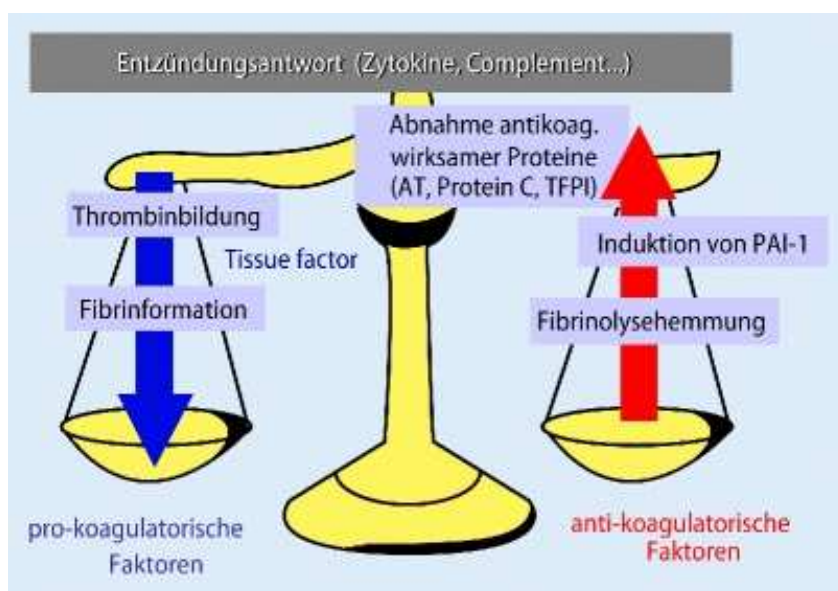
In der Sepsis wird das Endothel jedoch zu einer prothrombotischen Oberfläche, da nach LPS-Exposition weniger der Gerinnungsinhibitoren gebildet werden. LPS kann

auch direkt die Bildung gerinnungsaktivierender Faktoren, wie beispielsweise "tissue factor" (TF), in Endothel- und Immunzellen induzieren [34]. TF bildet einen Komplex mit Gerinnungsfaktor VIIa und kann zu einer massiven Aktivierung der plasmatischen Gerinnung führen [9].

Im Rahmen einer schweren Sepsis kommt es ausgelöst durch zirkulierendes Endotoxin, pro-inflammatorische Zytokine und Teile des Komplementsystems [91] zu einem Abfall der Thrombozytenzahl und zu einer Störung der plasmatischen Gerinnung [9]. Zusätzlich zu oben beschriebener gesteigerter Synthese von TF kommt es unter Zytokineinfluss zu einer vermehrten Bildung von "plasminogen activator inhibitor-1" (PAI-1), einem Inhibitor des Fibrinolyse systems. Die gleichzeitige Suppression von Protein C, TFPI und Antithrombin führt zu einer globalen Gerinnungsaktivierung und ebnet den Weg zur disseminierten intravasalen Gerinnung ("disseminated intravascular coagulation", DIC) [91, 106]. Die Bedeutung dieser Gerinnungsstörung für die Mikrozirkulation und Organdysfunktion wird im Kapitel „Störung der Mikrozirkulation“ beschrieben.

Eine stark schematisierte Darstellung der gestörten Hämostase zeigt Abbildung 1.2.

**Abbildung 1.2** Stark vereinfachte Darstellung der Sepsis-induzierten Hämostasesstörung



**Legende:** AT: *Antithrombin*, PAI-1: *plasminogen activator inhibitor-1*, TFPI: *tissue factor pathway inhibitor*, modifiziert nach [9].

### 1.1.3.6 Endotheliale Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion steht in unmittelbarem Zusammenhang mit den oben beschriebenen Gerinnungsstörungen, der Pathophysiologie der Mikrozirkulationsstörungen und damit einhergehend mit der Organdysfunktion sowie dem vasodilatatorischen Schock. Im Folgenden soll auf die Auswirkungen von LPS auf die Permeabilität und Zellintegrität des Endothels eingegangen werden sowie auf den programmierten Zelltod des Endothels im Rahmen einer Sepsis.

Das intakte Gefäßendothel fungiert als semipermeable Membran, die in einer geregelten Interaktion mit Flüssigkeiten, Zellen und anderen Blutbestandteilen steht. Die pathologisch gesteigerte Permeabilität und der Verlust der Barrierefunktion sind zentrale Punkte der Pathogenese der Sepsis [85].

LPS induziert in Endothelzellen die Aktivierung von Proteinkinasen und Caspasen. Folgen dieser Aktivierung sind eine Depolymerisation von Aktinfilamenten, eine verstärkte Öffnung der parazellulären Passage sowie ein Verlust der Barrierefunktion der Endothelzelle („Kapillarleck“) [8, 85]. Eine besondere Bedeutung kommt in diesem Zusammenhang der Proteinkinase C- $\alpha$  (PKC- $\alpha$ ) zu, welche nach Aktivierung durch TNF- $\alpha$  mit Teilen des endothelialen Zytoskeletts interagiert. So phosphoryliert die PKC- $\alpha$  wichtige zelluläre Strukturbestandteile wie Caldesmon, Vimentin und Myosin-Leichtketten und bewirkt so eine Destabilisierung der cytoskelettalen Struktur [46]. Die LPS-induzierte Aktivierung von Caspasen bewirkt unter anderem eine Zerstörung von Bindeproteinen der Zell-Zell-Interaktionsstruktur, wie beispielsweise der Zonula adhaerens (z.B.  $\beta$ - und  $\gamma$ -Catenin) mit damit einhergehender verstärkter parazellulärer Passage. Des Weiteren können die Caspasen die Funktion von Integrinen außer Kraft setzen, was zum zellulären Integritätsverlust und zur Apoptose führen kann [8, 85]. *In vitro* und *in vivo* wurde außerdem nachgewiesen, dass sowohl Thrombin als auch NF- $\kappa$ B und assoziierte Moleküle des NF- $\kappa$ B-Signalweges eine Permeabilitätssteigerung des Endothels bewirken können [85].

Als auslösende Faktoren des programmierten Zelltodes des Endothels werden in der Literatur vor allem TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B und hohe Konzentrationen an NO beschrieben [37, 85]. Das Molekül NO wird im Kapitel „Pathogenese des vasodilatatorischen Schocks“ noch näher behandelt.

### 1.1.3.7 Pathogenese des vasodilatatorischen Schocks

Der vasodilatatorische Schock als mögliche Komplikation im Rahmen eines septischen Geschehens ist durch eine systemische Gefäßweitstellung mit einhergehender Mikrozirkulationsstörung gekennzeichnet. Weitere Charakteristika, die an dieser Stelle nur erwähnt werden sollen, sind das verminderte Ansprechen auf Vasokonstriktoren, wie beispielsweise Noradrenalin oder Angiotensin II sowie eine relative Nebennierenrindeninsuffizienz [71]. So findet man bei Patienten im vasodilatatorischen Schock eine Erhöhung der endogenen Plasma-Katecholaminspiegel und eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS). Im Wesentlichen basiert die Pathophysiologie des vasodilatatorischen Schocks auf drei Mechanismen: a) einer Aktivierung ATP-abhängiger  $K^+$  ( $K_{ATP}$ )-Kanäle in Zellen der glatten Gefäßmuskulatur, b) einer gesteigerten Synthese von NO und c) einem relativen Mangel an endogenem Vasopressin.

#### *Rolle des $K_{ATP}$ – Kanals im Rahmen der septischen Vasodilatation*

Unter physiologischen Bedingungen bewirkt die Bindung eines Agonisten, wie beispielsweise Noradrenalin, an den  $\alpha_1$ -Rezeptor eine Depolarisation der Zellmembran der glatten Gefäßmuskelzelle. Die Fortleitung dieses exzitatorischen Potenzials bewirkt über spannungsgesteuerte  $Na^+$ -Kanäle eine Öffnung von spannungsabhängigen  $Ca^{2+}$ -Kanälen, wodurch ein Einstrom von  $Ca^{2+}$  ins Zytosol ausgelöst und eine weitere Freisetzung von  $Ca^{2+}$  aus dem sarkoplasmatischen Retikulum ausgelöst wird. Es beginnt die sogenannte zyklische Querbrückentätigkeit von Aktin und Myosin, welche letztlich eine Vasokonstriktion bewirkt [69].

Der Depolarisation der glatten Muskelzelle kommt eine grundlegende Bedeutung für die Vasokonstriktion zu. Ist die Zellmembran hyperpolarisiert, sind die  $Ca^{2+}$ -Kanäle geschlossen. Eine Vasokonstriktion ist folglich nur schwer möglich. Auch in Anwesenheit von Vasokonstriktoren muss so eine viel größere Anzahl an Rezeptoren aktiviert werden, um eine Vasokonstriktion zu ermöglichen [58].

Der  $K_{ATP}$ -Kanal reagiert unter physiologischen Bedingungen auf Änderungen des Zellmetabolismus: Ein Abfall der intrazellulären Adenosintriphosphat (ATP)-Konzentration sowie ein Anstieg von  $H^+$ - und Laktat-Ionen verursachen eine Öffnung des  $K_{ATP}$ -Kanals und somit eine Hyperpolarisation der Zellmembran. Auf diese Weise reagiert das Gefäßsystem auf die zelluläre Stoffwechselsituation, um zum Beispiel im

Falle einer Gewebhypoxie durch regionale Vasodilatation eine verbesserte Perfusion zu erreichen [98].

Zur Aktivierung von  $K_{ATP}$ -Kanälen in der Sepsis trägt außerdem ein massiver Anstieg an neurohumoralen Mediatoren bei. Zu nennen sind hier u.a. das atriale natriuretische Peptid (ANP), Adenosin, Adrenomedullin und das "calcitonin gene related peptide" (CGRP). Auch NO, welches ebenfalls in der Sepsis vermehrt gebildet wird, kann den  $K_{ATP}$ -Kanal aktivieren [71].

### *Gesteigerte NO-Synthese*

NO ist ein endogener Neurotransmitter und vasoaktiver Mediator. Es bewirkt u.a. eine Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase mit vermehrter intrazellulärer Bildung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP), welches wiederum eine Relaxation der glatten Muskelzellen hervorruft [69]. Gebildet wird NO aus L-Arginin durch die NO-Synthase (NOS), von der drei Formen existieren: die endotheliale NO-Synthase (eNOS oder NOS III), die induzierbare NO-Synthase (iNOS oder NOS II) und die neuronale NO-Synthase (nNOS oder NOS I) [85, 127]. Die eNOS und nNOS produzieren unter physiologischen Bedingungen konstitutiv geringe Mengen NO. Hingegen ist die iNOS in der Lage – weitgehend unabhängig vom intrazellulären Kalzium – nach Stimulation vielfach größere Mengen an NO herstellen [127].

Die verstärkte Induktion der iNOS bei Sepsis wird vor allem auf die massive Freisetzung von Zytokinen wie IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  und IFN  $\gamma$  zurückgeführt. Auch LPS kann eine verstärkte Induktion der iNOS bewirken. Besonders ausgeprägt ist diese Reaktion, wenn LPS in Kombination mit den genannten Zytokinen auftritt [30, 33].

Die gesteigerte Produktion von NO stellt bei lokalen Gewebeverletzungen und Infektionen eine physiologische Reaktion im Sinne der Infektionsabwehr dar. NO sorgt für eine vermehrte Durchblutung entzündeter und infizierter Gewebe, fördert die Leukozyteninvasion und wirkt bakterizid [87]. Durch die überschießende Bildung von NO kommt es jedoch zu ausgeprägter systemischer Vasodilatation und vaskulärer Hyporeaktivität auf Vasokonstriktoren. Die zu Grunde liegenden Mechanismen sind einerseits die Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase. Andererseits ist NO in der Lage, K<sup>+</sup>-Kanäle der Zellmembran direkt zu aktivieren. Wie oben beschrieben, kommt es so zu einer Hyperpolarisation der Zellmembran mit daraus resultierender Vasodilatation [71]. Neben dem K<sub>ATP</sub>-Kanal ist in diesem Zusammenhang auch der K<sub>Ca</sub>-Kanal von Bedeutung. Dieser Kanal reagiert auf einen Anstieg des intrazellulären Ca<sup>2+</sup> mit Hyperpolarisation der Zellmembran und verhindert so eine übermäßige Vasokonstriktion. NO kann den K<sub>Ca</sub>-Kanal direkt durch Nitrosylierung oder durch eine cGMP-abhängige Proteinkinase aktivieren und so eine Vasodilatation mit weitgehender Resistenz gegenüber Vasokonstriktoren induzieren [7, 59].

### *Relativer Vasopressin-Mangel*

Vasopressin, auch „antidiuretisches Hormon“ (ADH) oder Adiuretin genannt, ist ein Nonapeptidhormon, das nach Produktion in den Nuclei supraopticus und paraventricularis des Hypothalamus aus der Neurohypophyse freigesetzt wird. [69, 71]. Die Wirkung von Vasopressin basiert vor allem auf der Interaktion mit  $V_1$ - und  $V_2$ -Rezeptoren. Auf den Gefäßmuskelzellen lokalisierte  $V_1$ -Rezeptoren bewirken eine Vasokonstriktion über das Phospholipase C/Inositoltriphosphat-System [69]. Endotheliale  $V_1$ -Rezeptoren bewirken nach Aktivierung eine gesteigerte Freisetzung von Endothelin-1, welches vasokonstriktorisch wirkt. Desweiteren kann Vasopressin direkt  $K_{ATP}$ -Kanäle des Gefäßendothels sowie die LPS-vermittelte Induktion der iNOS hemmen [131, 134]. Beide Mechanismen bewirken ebenfalls eine gesteigerte Vasokonstriktion (siehe oben).

Bei der schweren Sepsis kommt es initial zu einem starken Anstieg der plasmatischen Vasopressin-Konzentration mit Vasokonstriktion und Stabilisierung des arteriellen Blutdruckes [138]. Im weiteren Verlauf des septischen Schocks kann sich jedoch ein starker Abfall der anfänglich hohen Vasopressin-Spiegel auf nahezu „physiologische“ Werte entwickeln, wobei hier pathogenetisch die Entleerung hypophysärer Vasopressin-Speicher eine wichtige Rolle zu spielen scheint [71]. Da diese „normwertigen“ Vasopressin-Konzentrationen unter septischen Bedingungen nicht ausreichend sind, spricht man von einem relativen Vasopressinmangel. Dieser Abfall der endogenen Vasopressin-Konzentration korreliert mit einer Reduktion der Wirksamkeit konventioneller Vasokonstriktoren [72]

#### **1.1.3.8 Veränderungen der Mikrozirkulation**

Ein Charakteristikum des septischen Schocks ist die Fehlverteilung der Perfusion auf Ebene der Mikrozirkulation, welche zu Gewebhypoxie und damit potenziell zu Organdysfunktion und Multiorganversagen führt [57, 99]. Der septische Schock gehört somit zur Gruppe der distributiven Schocksyndrome.

Mikrozirkulationsstörungen sind im Wesentlichen eine Folge der oben beschriebenen systemischen Vasodilatation und Inflammation. Des Weiteren ist eine verminderte Aktivität von "a disintegrin- and metalloproteinase with thrombospondin motifs“ (ADAMTS-13) beschrieben. Diese Protease reguliert die Funktion des von-Willebrand-Faktors (vWF), welcher die Adhäsion von Thrombozyten vermittelt. Das

Ungleichgewicht zwischen vWF und ADAMTS-13 resultiert in einer gesteigerten Thrombozytenaggregation, welche die Mikrozirkulationsstörungen und die Organdysfunktion weiter verstärken kann [9, 10].

Unter dem Einfluss proinflammatorischer Mediatoren entsteht eine vermehrte Expression leukozytärer Adhäsionsmoleküle wie P-Selektin oder "intercellular adhesion molecule-1" (ICAM-1). Die dadurch ausgelöste Leukozytenadhäsion führt einerseits zu einer mechanischen Flussbehinderung mit einhergehender Minderperfusion, andererseits setzen die Leukozyten zytotoxische Substanzen frei und bewirken dadurch eine Verstärkung der endothelialen Dysfunktion [9]. So werden unter anderem mikrovaskuläre Strukturen wie "tight junctions" oder die endotheliale Glykokalix zerstört, welche für die endotheliale Barrierefunktion essenziell sind („Kapillarleck“)[97].

Durch die Induktion der iNOS kommt es zu einer massiven NO-Freisetzung, die in einer Vasodilatation und der Entwicklung von arteriovenösen Shunts resultiert. Als Konsequenz der Blutverteilungsstörung kann der kapilläre Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ) unter den venösen  $pO_2$  abfallen (sog. " $pO_2$ -gap"). Dieses Phänomen wird auch durch die gesteigerte  $O_2$ -Ausschöpfung in den normal durchbluteten Gefäßen ausgelöst, welche in der Sepsis auf das dreifache gesteigert sein kann [99].

Während der Sepsis sind die Serumspiegel von aktiviertem Protein C (APC) pathologisch erniedrigt [81]. Im Zusammenspiel mit Thrombomodulin ist APC ein wichtiger Endothelprotektor mit anti-inflammatorischer Wirkung und zusätzlichem Effekt auf die Zell-Zell-Barriere. Eine Erniedrigung des APC-Spiegels im Serum kann folglich ebenfalls mit einem vermehrten Kapillarleck assoziiert sein [81].

All diese Mechanismen (Vasodilatation, „Kapillarleck“ etc.) führen zu einer für die unbehandelte Sepsis typischen Hypovolämie [99]. Die adäquate Therapie dieser Hypovolämie mit Volumenersatzmitteln (s. Kapitel „Volumentherapie in der Sepsis“) ist eine wesentliche Voraussetzung für die Wiederherstellung der geschädigten Mikrozirkulation.

Zusammengefasst lässt sich festhalten, dass die Schädigung der Mikrozirkulation eine komplexe systemische Störung darstellt. Gemeinsame Endstrecke aller genannten Mechanismen ist die Gewebehypoxie, welche im Sinne eines Circulus vitiosus die geschilderten Dysfunktionen weiter unterhalten kann [9, 99]. Als mögliche Konsequenz z.B. der Lungenschädigung kommt es zu einer gestörten Sauerstoffaufnahme, welche die bestehende Hypoxie weiter aggraviert. Eine eventuell vorliegende septische Kardiomyopathie (siehe Kapitel „Systemische Hämodynamik“) kann den konvektiven  $O_2$ -Transport beeinträchtigen. Eine Hypoxie

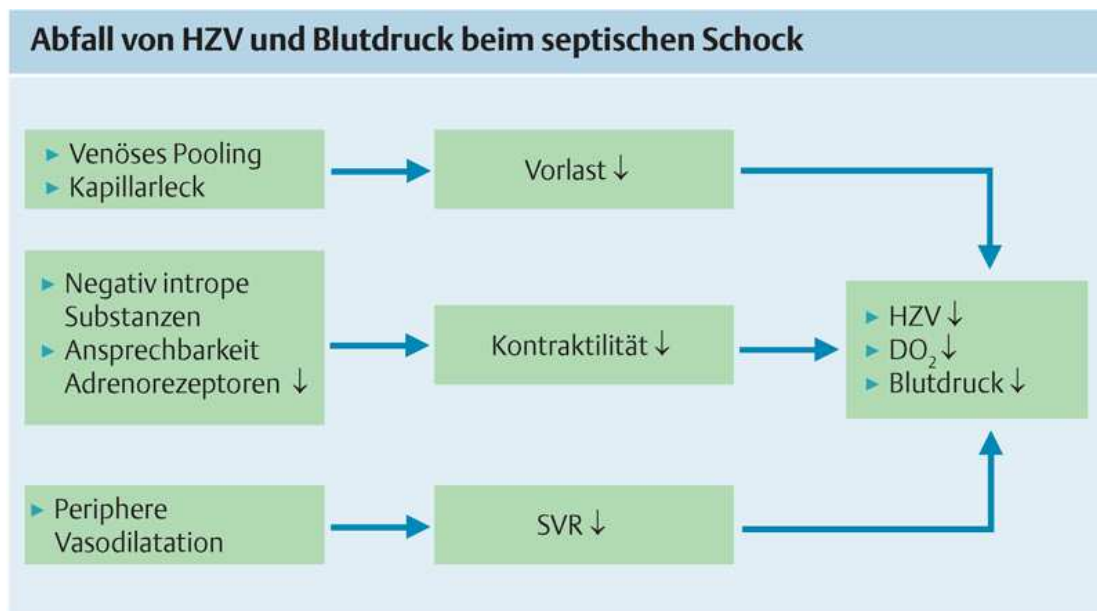


im Bereich des Darmes begünstigt eine Translokation von Erregern aus dem Darmlumen ins Blut (vergleiche Kapitel „Systemische Inflammation“) [9, 110].

### 1.1.3.9 Systemische Hämodynamik

Wilson et al. beschrieben 1965 das hämodynamische Profil eines septischen Patienten folgendermaßen: Tachykardie, erhöhter Herzindex (CI) und erniedrigter peripherer Gefäßwiderstand [139]. Eine schematische Übersicht der systemischen Hämodynamik in der Sepsis zeigt Abbildung 1.3:

**Abbildung 1.3** Vereinfachte Darstellung der systemischen Hämodynamik in der Sepsis



**Legende:** HZV: Herzzeitvolumen,  $DO_2$ :  $O_2$ -Transport, SVR: systemischer Gefäßwiderstand; nach [61].

Die endotheliale Dysfunktion führt durch das entstehende Kapillarleck zu einer absoluten Hypovolämie. Diese führt zu einer Senkung der kardialen Vorlast mit resultierender Reduktion des Herzzeitvolumens (HZV). Durch die massive Vasodilatation kommt es einerseits zu einer Erniedrigung des systemischen Gefäßwiderstandes (d.h. Nachlastsenkung) mit Blutdruckabfall und reaktiver Tachykardie, andererseits bewirkt das venöse Pooling eine weitere Vorlastsenkung [61]. Proinflammatorische Zytokine (z.B.  $TNF-\alpha$ , IL-1, IL-6) haben kardiodepressive Effekte, und auch für NO konnte ein negativer Einfluss auf die kardiale Kontraktilität

nachgewiesen werden [48, 96]. In Kombination mit der fehlenden Ansprechbarkeit der Adrenorezeptoren manifestiert sich das Bild einer myokardialen Dysfunktion, der sogenannten septischen Kardiomyopathie. Bei Patienten nach septischem Schock/Sepsis wurde initial eine verminderte kardiale Ejektionsfraktion von bis zu 32% bestimmt, ebenso hatten viele überlebende Patienten eine nachweisliche diastolische Dysfunktion [9, 61].

Durch die oben beschriebenen Mechanismen ist das initiale HZV im unbehandelten septischen Schock meist normal bis erniedrigt (vgl. Abbildung 1.3). Wird die zu Grunde liegende Hypovolämie durch adäquate Volumensubstitution korrigiert, kommt es bei mehr als 90 Prozent der Patienten zu einem normalen bis erhöhten HZV und einer erhöhten pulmonalarteriellen O<sub>2</sub>-Sättigung [93]. Ist das Herz auf Grund der genannten Pathomechanismen (v.a. bei Patienten mit vorbestehender, schwerer Herzinsuffizienz) nicht mehr in der Lage, die Volumenbelastung zu verarbeiten, entwickelt sich eine hypodynamie Kreislaufsituation.

#### **1.1.3.10. Pulmonale Hämodynamik**

Während die systemische Hämodynamik in der Sepsis durch eine ausgeprägte Vasodilatation gekennzeichnet ist, dominiert im pulmonalen Stromgebiet häufig eine Vasokonstriktion mit erhöhtem pulmonalvaskulären Gefäßwiderstand (PVR). Ursächlich dafür ist ein Missverhältnis zwischen der verstärkten Induktion der iNOS mit einhergehender NO-Produktion sowie anderen Vasodilatoren (z.B. Prostacyclin PGI<sub>2</sub>) einerseits und vasokonstriktorisch wirkenden Substanzen andererseits. Zu letzteren zählen unter anderem Thromboxan A<sub>2</sub> und B<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub> und TXB<sub>2</sub>), Endothelin-1, Angiotensin II und Serotonin. Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) wirkt vasodilatatorisch, die endogene Synthese und Expression sind jedoch durch die Endothelschädigung vermindert. Zusätzlich führt eine alveoläre Hypoxie über den Euler-Liljestrand-Mechanismus zu einer pulmonalen Vasokonstriktion [17, 137].

Die in den Kapiteln „Endotheliale Dysfunktion“ und „Veränderungen der Mikrozirkulation“ beschriebenen Pathomechanismen gelten auch für die Lungenstrombahn. Die durch den erhöhten pulmonalvaskulären Widerstand entstehende pulmonale Hypertonie (MPAP >25mmHg) führt in Kombination mit der Endothelschädigung zu einem massiven Austritt von Flüssigkeit in das Interstitium und in das Alveolarlumen [78]. Die Folge ist ein Lungenödem, das die genannten Pathomechanismen weiter verstärken und sich im Verlauf zum "acute lung injury"

(ALI) entwickeln kann. Weitere Konsequenzen der pulmonalen Hypertonie sind ein konsekutives Rechtsherzversagen mit einhergehender venöser Stauung von Leber, Niere und Darm, welche zu einem abdominellen Kompartiment-Syndrom mit verschlechterter Prognose führen kann [25].

### **1.1.3.11 Sepsis-assoziiertes akutes Nierenversagen**

Das akute Nierenversagen (ANV) ist ein häufiges intensivmedizinisches Krankheitsbild, welches bis zu 35% der Patienten auf Intensivstationen betrifft [92]. Sepsis und septischer Schock sind mit über 50% der Fälle die häufigsten Ursachen für ein ANV bei kritisch kranken Patienten [130]. Um vergleichbare Bedingungen in der Erforschung und Behandlung dieser intensivmedizinisch relevanten Nierenfunktionsstörung zu schaffen, wurde der Begriff der akuten Nierenschädigung (acute kidney injury = AKI) auf Grundlage der sogenannten RIFLE-Kriterien definiert (siehe Abb. 1.4). Von einer septischen AKI wird gesprochen, wenn zusätzlich zu den RIFLE-Kriterien ebenfalls die Konsensus-Kriterien für Sepsis erfüllt und andere, nicht sepsis-assoziierte Ursachen für eine AKI ausgeschlossen sind [135].

Die Pathophysiologie des septischen AKI ist bisher noch nicht hinreichend aufgeklärt worden. Ältere Erklärungsansätze begründen das Auftreten einer AKI im Rahmen der Sepsis vor allem mit einer Ischämie des Nierenparenchyms auf Grund einer hypodynamen Kreislaufsituation sowie einer renalen Vasokonstriktion mit Verminderung des renalen Blutflusses. Diese Ischämie sei dem zu Folge die Ursache für Tubulusnekrosen, welche zu einer Obstruktion des Tubuluslumens führen können [62]. Neuere Erklärungsmodelle bedienen sich eines multifaktoriellen Ansatzes. Hämodynamische Faktoren spielen hier zwar eine wichtige, aber keinesfalls die einzige Rolle bei der Entstehung eines septischen AKI. So werden eine Vielzahl von Faktoren diskutiert, wie beispielsweise die apoptotischen Effekte von TNF- $\alpha$  auf Tubuluszellen, intrarenale hämodynamische Veränderungen und bioenergetische Faktoren [135]. Von besonderem Interesse ist der relativ neue Begriff des hyperämischen akuten Nierenversagens: entgegen dem zuvor genannten Paradigma einer renalen Hypoperfusion konnte in tierexperimentellen Studien sowie an septischen Patienten mit hyperdynamer Kreislaufsituation ein normaler bis erhöhter renaler Blutfluss gemessen werden [15, 100]. Ein verminderter Filtrationsdruck trotz dieses erhöhten renalen Blutflusses kann durch eine ausgeprägtere Vasodilatation des Vas efferens gegenüber dem Vas afferens begründet werden [135].

Zur weiteren Aufklärung der komplexen Ätiologie der septischen AKI werden weitere intensivmedizinische Studien nötig sein.

**Abbildung 1.4** Die RIFLE-Kriterien

	<i>Diurese</i>		<i>Letalitätsrisiko</i>
<i>Risk</i>	< 0,5 ml/kg/h über 6 h	Kreatinin ▲ x 1,5 GFR ▼ > 25%	2,4
<i>Injury</i>	< 0,5 ml/kg/h über 12 h	Kreatinin ▲ x 2 GFR ▼ > 50%	4,2
<i>Failure</i>	< 0,3 ml/kg/h über 24 h oder Anurie 12 h	Kreatinin ▲ x 3 Kreatinin ≥ 4 mg/dl akuter Anstieg um 0,5 mg/dl GFR ▼ > 75%	6,4
<i>Loss</i>	Dauerhaftes ANV (> 4 Wochen)		
<i>ESRD*</i>	Terminales Nierenversagen * End Stage Renal Disease		

**Legende:** GFR: *glomeruläre Filtrationsrate*, ANV: *akutes Nierenversagen*; nach [62].

### 1.1.4 Diagnostik der Sepsis

Die Diagnose einer schweren Sepsis bzw. eines septischen Schocks wird entsprechend den Ausführungen in Kapitel 1.1.1.1 gestellt.

Weiterhin empfehlen die Leitlinien der "Surviving Sepsis Campaign" die Abnahme von mindestens zwei Blutkulturen, von denen eine perkutan entnommen werden soll. Außerdem sollte durch jeden liegenden Zugang (periphere Venenverweilkanüle, zentraler Venenkatheter etc.) eine Blutkultur entnommen werden. Ziel ist in diesem Fall die möglichst genaue Bestimmung des Erregers, um eine gezielte antimikrobielle Therapie durchführen zu können. Weiterhin sollen mögliche Infektionsquellen, wie beispielsweise liegende Katheter, identifiziert werden [35]. Die Kulturen sollten

möglichst vor Beginn der antibiotischen Therapie abgenommen werden, um die Wahrscheinlichkeit positiver Befunde zu erhöhen.

Der Einsatz von Biomarkern, wie beispielsweise C-reaktives Protein (CRP), Zytokinen (IL-6, IL-8) und Procalcitonin (PCT), ist nach wie vor Gegenstand aktueller Diskussionen. PCT scheint gegenüber den anderen genannten Markern einige Vorteile zu besitzen: Ein Anstieg des PCT findet zeitnah (3-4 Stunden) zur Infektion statt, die Höhe des gemessenen Wertes korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung, und es scheint eine bessere Unterscheidung zwischen infektiösen und nicht-infektiösen Ursachen eines SIRS möglich zu sein [25]. Da es jedoch auch für PCT nicht-infektionsbedingte Stressoren gibt, die zu einer Erhöhung führen können (wie beispielsweise Polytrauma, chirurgische Eingriffe etc.), kann eine sinnvolle Interpretation des Wertes nur unter Berücksichtigung des klinischen Kontextes erfolgen. Die repetitive Bestimmung von PCT hat sich vor allem zur Verlaufsbeurteilung der Sepsis durchgesetzt. Der Einsatz von PCT-Werten zur Steuerung der Antibiotika-Therapie ist derzeit Gegenstand aktueller Untersuchungen [103].

Ein wichtiger Biomarker im Rahmen der Endotoxinämie ist das Serumamyloid A (SAA), ein Akute-Phase-Protein, welches in vier Isoformen vorkommt: SAA1 – 3 und SAA4 bzw. C-SAA ("constitutive"). Kasthuri et al. untersuchten in einer Studie verschiedene Biomarker im Hinblick auf ihre Aussagekraft bezüglich einer Endotoxinämie. Es zeigte sich, dass bei fast allen Probanden vor LPS-Exposition die SAA-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze lag, während im weiteren zeitlichen Verlauf der SAA-Spiegel deutlich anstieg. SAA war bereits 4-8 Stunden nach Beginn der Exposition nachweisbar, wobei SAA1 früher als SAA2 detektiert werden konnte [66].

### **1.1.5. Therapie der Sepsis**

Grundsätzlich lassen sich die Therapiemaßnahmen in kausale, supportive und adjunktive Therapie einteilen.

### **1.1.5.1. Kausale Therapie**

Unter kausaler Therapie versteht man die Beseitigung des zu Grunde liegenden Infektionsherdes. Die beiden zentralen Verfahren sind die chirurgische Sanierung und/oder die antimikrobielle Chemotherapie.

Lässt sich der Sepsis ein operativ zugänglicher Fokus zuweisen, so ist die frühzeitige und vollständige chirurgische Sanierung die Voraussetzung für eine erfolgreiche Therapie. Chirurgisch sanierbare Foki sind beispielsweise Abszesse, infizierte Katheter oder eine Peritonitis [25].

Da einzig die kausale Therapie sicher zu einer Prognoseverbesserung führt, ist die antibiotische Therapie so früh wie möglich anzustreben, idealerweise nach Abnahme von Blutkulturen aber definitiv innerhalb einer Stunde nach Diagnosestellung [104]. Mit jeder Stunde ohne adäquate antimikrobielle Therapie sinkt die Überlebenschance der erkrankten Patienten um 7,6 % [70]. Bei einer nachträglichen Umstellung der antibiotischen Therapie bleibt die Überlebenschance reduziert, weshalb initial eine antimikrobielle Breitspektrumtherapie gewählt werden sollte, die ebenfalls resistente Problemkeime so weit wie möglich einschließt und eine ausreichende Gewebepenetration garantiert. Der häufigste Grund für eine initial falsch gewählte antibiotische Medikation ist ein multiresistenter Erreger, der vom Wirkungsspektrum des angesetzten antimikrobiellen Präparates nicht ausreichend erfasst wird [25]. Des Weiteren sollte die initial gewählte antibiotische Therapie engmaschig nach klinischen und mikrobiologischen Gesichtspunkten überprüft werden [104].

### **1.1.5.2. Supportive Therapie**

Als supportive Therapie bezeichnet man die Gesamtheit aller Maßnahmen die dazu dienen, die Funktion gestörter Organsysteme zu kompensieren oder zu ersetzen. Darunter fallen u.a. die non-invasive oder invasive Beatmung, Nierenersatzverfahren und Volumenersatztherapie. An dieser Stelle soll angemerkt werden, dass aufgrund des Mangels an evidenz-basierten Zielwerten häufig physiologische Norm- oder Minimalwerte als Therapieziele formuliert werden.

Ein wichtiger Teil der supportiven Therapie ist die hämodynamische Stabilisierung septischer Patienten, der im Wesentlichen drei Maßnahmen dienen: adäquater

Volumenersatz, Vasopressoren und Inotropika [25, 35]. Die Volumensubstitution ist der wichtigste Aspekt der supportiven Therapie.

Als Volumenersatz empfehlen die aktuellen "Surviving Sepsis Guidelines" kristalloide Lösungen ebenso wie kolloidale Substanzen [35]. Es werden für beide Substanzgruppen entsprechende Dosierungen angeführt um definierte Zielwerte zu erreichen (siehe Kapitel 1.1.5.4 „Therapieziele“). Bei einer Substitution mit kristalloiden Lösungen sind größere Volumina notwendig, was wiederum mit einer erhöhten Rate von Lungenödemen einhergehen kann [35]. Auf der anderen Seite gibt es Untersuchungen, die beim Einsatz bestimmter kolloidaler Lösungen (6% HES 200/0.62; 10% HES 200/0.5) eine erhöhte Rate von dialysepflichtigem Nierenversagen aufzeigen konnten [25, 105]. Aufgrund der noch unzureichenden Datenlage wird daher in den aktuellen Surviving Sepsis Guidelines keine Empfehlung für eine bestimmte Substanz ausgesprochen [35]. Weitere Substanzgruppen, wie z.B. Humanalbumin, finden in den aktuellen Empfehlungen keine Beachtung und werden auch hier nicht weiter erläutert.

Liegt trotz einer durch intravenöse Volumenapplikation sichergestellten Normovolämie eine arterielle Hypotonie vor (MAP <65 mmHg), ist der Einsatz von Vasopressoren indiziert (siehe Kapitel 1.1.5.4 „Therapieziele“). Die aktuellen Richtlinien empfehlen als erste Wahl den Einsatz von Noradrenalin oder Dopamin [35]. In Deutschland gilt Noradrenalin als Mittel der Wahl, während Dopamin aufgrund der zahlreichen Nebenwirkungen zunehmend weniger Verwendung findet [86]. Adrenalin und Vasopressin werden nicht als Mittel der ersten Wahl empfohlen. Es gibt jedoch den Verweis auf den möglichen zusätzlichen Einsatz von Vasopressin zu einer bereits laufenden Therapie mit Noradrenalin [35].

Der Einsatz inotrop wirkender Substanzen ist bei myokardialer Dysfunktion mit vermindertem Herzzeitvolumen indiziert. Das derzeit einzige von der Surviving Sepsis Campaign empfohlene Medikament ist Dobutamin [35]. Klar definierte Schwellenwerte für das HZV bzw. die myokardiale Kontraktilität existieren in diesem Zusammenhang nicht. Lediglich durch die Steigerung der ScvO<sub>2</sub> >70 % durch Volumensubstitution, Erythrozytentransfusion und Dobutamin-Infusion konnte in einer randomisierten klinischen Studie im Rahmen eines komplexen Protokolls eine Senkung der Letalität erreicht werden [110].

Die Expertenmeinungen bezüglich des Einsatzes von Fremderythrozytenkonzentraten (FEK) bei Sepsis sind inkongruent. Aufgrund der unzureichenden Datenlage und des immunologischen Risikos wird zu einem restriktiven Umgang mit FEK geraten; demnach sollte eine Transfusion erst bei einem Hb-Wert von unter 7

g/dl erfolgen. Der Zielbereich nach erfolgter Transfusion ist 7-9 g/dl [25, 35]. Im Gegenteil dazu zeigen aktuelle retrospektive Daten von knapp 6000 Patienten jedoch eine Assoziation von FEK-Transfusionen und verringerter Letalität insbesondere bei Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock [113]. Ob diese Diskrepanzen im Zusammenhang mit der heute verbreiteten Verwendung Leukozyten-depletierter Blutprodukte stehen, ist noch unklar. Es herrscht allerdings Konsens, dass bei Hinweisen auf ein zu niedriges Sauerstoffangebot die Gabe von FEK bereits bei höheren Hb-Werten indiziert sein kann [110].

### 1.1.5.3 Adjunktive Therapie

Die Modulation der wirtseigenen Entzündungsreaktion durch Medikamente erfolgt zusätzlich zur oben beschriebenen Standardtherapie (Fokussanierung und supportive Therapie) und wird deshalb als adjunktive Therapie bezeichnet. Unter diese Therapiemaßnahmen fallen unter anderem der Einsatz von Hydrokortison und aktiviertem Protein C [25].

Der Stellenwert einer Therapie mit Hydrokortison ist Gegenstand konträrer aktueller Diskussionen. Während eine französische Studie eine Reduktion der Mortalität zeigen konnte [6], wurde in der europäischen CORTICUS-Studie kein Überlebensvorteil belegt [122]. Aufgrund der unklaren Studienlage wird daher in den Surviving Sepsis Guidelines der Einsatz von niedrig dosiertem Hydrokortison nur für Patienten im septischen Schock empfohlen, bei denen trotz adäquater Volumensubstitution und Vasopressortherapie keine Blutdruckstabilisierung möglich ist [35].

Wie in Kapitel 1.1.3.5 „Störungen des Gerinnungssystems“ beschrieben, kommt es während der Sepsis zu einem Abfall des Protein C, welches als physiologisches Antikoagulans einer disseminierten intravasalen Gerinnung entgegenwirkt. Die Gabe von Drotrecogin alfa (aktiviert) (Xigris®), einem rekombinanten, humanen, aktivierten Protein C [25], wird in den Surviving Sepsis Guidelines allerdings nur für Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock empfohlen, die einen APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II-Score  $\geq 25$  bzw. mindestens zwei Organversagen aufweisen [35]. Der Einsatz von Drotrecogin alfa (aktiviert) ist sorgfältig abzuwägen, da unter der Therapie schwere Blutungskomplikationen auftreten können und die Wirkung nicht antagonisierbar ist [25].



#### 1.1.5.4 Therapieziele

Zur besseren klinischen Anwendbarkeit der Surviving Sepsis Campaign Guidelines wurden so genannte Sepsisbündel ("bundles") generiert. Diese Bündel umfassen eine Anzahl von evidenzbasierten Maßnahmen, die mit einer zeitlichen Vorgabe versehen sind. So existiert ein "resuscitation bundle" mit Maßnahmen, die innerhalb der ersten 6 Stunden zu treffen sind, und ein "management bundle", welches innerhalb von 24 Stunden abgehandelt werden sollte (siehe Tabelle 1.3). In diesem Zusammenhang ist allerdings zu beachten, dass die genannten Maßnahmen vom klinischen Kontext abhängig sind [25].

Des Weiteren werden in den Surviving Sepsis Guidelines und den jüngeren deutschen S2-Leitlinien weitere Therapieziele genannt, die in den Sepsisbündeln nicht auftauchen bzw. von ihnen abweichen. In den Guidelines wird empfohlen, den zentralvenösen Druck in einem Zielbereich zwischen 8 und 12 mmHg zu halten, während die Sepsisbündel lediglich einen Zielwert  $>8$  mmHg empfehlen. Weiterhin sollte eine Diurese von  $\geq 0,5$  ml/kg/min sichergestellt werden. Alternativ zum Zielwert der zentralvenösen Sättigung  $\geq 70\%$  in den Sepsisbündeln wird in den Guidelines eine gemischtvenöse Sättigung von  $\geq 65\%$  genannt. Die Guidelines empfehlen bei Nicht-Erreichen der genannten Sättigungen den Einsatz von FEK, um einen Hämatokrit von  $\geq 30\%$  zu sichern [35, 104].

**Tabelle 1.3** Die Sepsisbündel

Bündel	Maßnahmen
<b>"Resuscitation bundle"</b> innerhalb von 6 Stunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Messung von Serumlaktat</li> <li>• Entnahme von Blutkulturen vor Gabe von Antibiotika</li> <li>• Gabe eines Breitspektrumantibiotikums innerhalb 1h</li> <li>• Bei arterieller Hypotonie und/oder Laktat &gt;4mmol/l               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Bolusgabe von 20 ml/kg KG einer kristalloiden Lösung oder äquivalente Dosierung eines Kolloids</li> <li>○ Gabe eines Vasopressors bei arterieller Hypotonie trotz Volumengabe → Ziel ist MAP ≥65mmHg</li> </ul> </li> <li>• Bei persistierender arterieller Hypotonie trotz Volumengabe und/oder Laktat &gt;4 mmol/l:               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ CVP von &gt;8 mmHg anstreben</li> <li>○ S<sub>cvO<sub>2</sub></sub> von &gt;70 % anstreben</li> </ul> </li> </ul>
<b>"Management bundle"</b> innerhalb von 24 Stunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gabe von niedrig-dosiertem Hydrokortison gemäß einer lokalen Verfahrensanweisung</li> <li>• Gabe von Drotrecogin alfa (aktiviert) gemäß einer lokalen Verfahrensanweisung</li> <li>• Einstellen des Blutzuckerspiegels auf &lt;150 mg/dl (8,3 mmol/l)</li> <li>• Einstellen des inspiratorischen Plateauniveaus auf &lt;30 cm H<sub>2</sub>O bei beatmeten Patienten</li> </ul>

**Legende:** MAP = „mittlerer arterieller Druck“, CVP = „zentralvenöser Druck“, S<sub>cvO<sub>2</sub></sub> = „zentralvenöse Sauerstoffsättigung“

Modifiziert nach [16, 25, 76]

## 1.2 Volumentherapie in der Sepsis

In der Initialphase der Sepsis entwickelt der Patient einen kombinierten relativen und absoluten Volumenmangel. Während ein absoluter Volumenmangel durch einen Flüssigkeitsverlust aus dem zirkulierenden Blutvolumen charakterisiert ist, kommt es aufgrund einer Vasodilatation durch "Pooling" von Flüssigkeit in der Peripherie zu einem relativen Volumenmangel. Den absoluten Volumenmangel versucht man

durch zielgerichtete Volumensubstitution zu beheben, bei der relativen Hypovolämie besteht die kausale Therapie im Einsatz von Vasopressoren. In der Praxis ist es allerdings nicht immer möglich, sicher zwischen absoluter und relativer Hypovolämie zu unterscheiden. Problematisch ist in diesem Zusammenhang, dass durch Einsatz von Vasopressoren bei absoluter Hypovolämie eine Vasokonstriktion in ischämiegefährdeten Gebieten wie den Mesenterialgefäßen induziert werden kann, die die viszerale Durchblutung kritisch reduziert. Durch zielgerichtete Volumentherapie (z.B. durch Verwendung der Pulskonturanalyse) werden normovolämische Zustände und eine Optimierung der myokardialen Vorlast angestrebt und versucht, den Einsatz von Vasopressoren und Inotropika an die individuellen hämodynamischen Bedürfnisse des Patienten anzupassen.

Das ideale Volumenersatzmittel müsste zwei Bedingungen erfüllen: a) es verbleibt ausschließlich im Intravasalraum und b) ist frei von unerwünschten Arzneimittelwirkungen. Die beiden gängigen Substanzgruppen – Kolloide und Kristalloide – erfüllen diese Bedingungen nicht.

### 1.2.1 Kristalloide

Kristalloide sind Lösungen von Elektrolyten in Wasser. Die verschiedenen Lösungen unterscheiden sich in der Art der Elektrolytzusammensetzung. Erhältlich sind hypotone, isotone und hypertone Lösungen, wobei isotone am häufigsten eingesetzt werden. Die Osmolalität einer isotonen Lösung entspricht der Plasmaosmolalität (287 mosm/kg).

Historisch gesehen entwickelte sich die Volumentherapie aus der Erkenntnis der Notwendigkeit einer Flüssigkeitssubstitution bei Volumenverlusten (z.B. starke Blutung). Nachdem erkannt wurde, dass die Gabe von „normalem“ (= hypotonem) Wasser keine günstigen Effekte brachte, wurde das Wasser mit Kochsalz versetzt. Die daraus entstandenen Natriumchlorid (NaCl)-Lösungen enthielten jedoch kein Natriumhydrogencarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ), welches im Plasma in einer Konzentration von 24 mmol/l vorliegt. Bei Ersatz eines Liters Plasma durch eine derartige Lösung wird sich aufgrund des fehlenden Bicarbonats ein absolutes Basendefizit von -24 mmol einstellen, das sich auf den gesamten Extrazellulärraum verteilt. Der Patient wird folglich zunehmend azidotisch. Eine balancierte Elektrolytlösung hingegen enthält metabolisierbare Anionen wie Laktat, Acetat oder Malat, welche von Leber und Muskulatur in Bicarbonat umgewandelt werden können. Beispielsweise enthält

Jonosteril® 1E/E 36,8 mmol/l Acetat, hat einen potenziellen Basen Überschuss ( $BE_{pot}$ ) (siehe Kapitel 2.3.1) von +12,8 mmol/l ( $36,8 - 24 = 12,8$ ) und ist somit leicht alkalisierend [45]. Die Kenngröße  $BE_{pot}$  einer Infusionslösung trägt das Attribut „potenziell“, weil für die tatsächliche Umwandlung der organischen Anionen in Hydrogencarbonat Stoffwechsellleistungen von Leber bzw. Skelettmuskulatur erforderlich sind, zu denen ein kritisch kranker Patient möglicherweise nicht in der Lage ist. In diesem Fall wäre der tatsächliche BE der Lösung -24 mmol/l.

Das Blutplasma enthält des Weiteren 20 mmol/l Proteinat-Anionen. Dieses Proteinat muss in der Infusionslösung zur Erhaltung der Elektroneutralität entweder durch Chlorid oder metabolisierbare Anionen (Laktat, Malat, etc.) ausgeglichen werden [45]. Eine 0,9%-ige NaCl-Lösung enthält deshalb die unphysiologisch hohe Menge von 154 mmol/l Chlorid-Ionen. Rehm et al beschrieben die Auswirkungen von 0,9%-iger NaCl-Lösung auf den Säure-Base-Haushalt. Entsprechend dem dort angewendeten Stewart-Modell wird (unter Normokapnie) eine Azidose ausgelöst durch einen Anstieg der Gesamtmenge der schwachen Säuren ( $A^-$ ) (Albumin, Phosphat etc.) sowie durch eine Abnahme der Differenz der starken Ionen ("strong ion difference",  $SID = [Na^+] + [K^+] - [Cl^-] - [Lac^-]$ ) [102]. Substituiert man große Mengen von 0,9%iger NaCl-Lösung so wird der Patient folglich durch Abnahme der SID eine hyperchlorämische Azidose entwickeln [102]. Eine Azidose geht mit vielen Komplikationen einher, so zum Beispiel einer Abnahme der Adrenorezeptor-Empfindlichkeit für Vasokonstriktoren, einer verminderten Nierendurchblutung und einer Beeinträchtigung der plasmatischen Gerinnung [45].

Das Gefäßendothel ist für Wasser und Elektrolyte frei passierbar. Infundiert man eine isotone, kolloidfreie Lösung, so wird sich diese gleichmäßig im Intravasal- und Interzellularräum verteilen, so dass nach etwa 10 Minuten lediglich ca. 20% intravasal verbleiben. Durch den Austritt in den Extravasalraum und der dadurch entstehenden extrazellulären Hyperhydratation entstehen Ödeme, die die Mikrozirkulation beeinträchtigen [45]. Durch die Expansion des Extrazellulärraums wird jede weitere Kristalloidgabe einen noch geringeren Volumeneffekt im Intravasalraum haben, da sich das Verhältnis von Extrazellulär- zu Intravasalraum weiter vergrößert.

Nach Infusion von Kristalloiden kommt es auf Grund der oben beschriebenen Mechanismen nachweislich zu einer Körpergewichtszunahme. In diesem Zusammenhang ist es wichtig, dass bei Intensivpatienten eine Körpergewichtszunahme mit einer gesteigerten Mortalität vergesellschaftet ist [77]. Eine

Erklärung für die längerfristige Gewichtszunahme ist beispielsweise eine verminderte Ausscheidungsfähigkeit von Natrium und Chlorid über die Niere [77].

Der Vorteil der Kristalloide liegt in der Abwesenheit von substanzspezifischen Nebenwirkungen und den geringen Therapiekosten [45].

### **1.2.2 Kolloide**

Zur Gruppe der Kolloide werden Substanzen gezählt, die auf Grund ihrer physikochemischen Struktur einen kolloidosmotischen Druck (KOD) über einer semipermeablen Membran aufbauen. Im Gegensatz zu den Kristalloiden überschreiten die Kolloidmoleküle das gesunde Endothel nicht. Eine plasmaisoonkotische Kolloidlösung (KOD ca. 30 mmHg) hätte demnach einen theoretischen Volumeneffekt von 100%, da sie vollständig im Gefäßsystem verbleiben würde.

Zur Gruppe der Kolloide zählen Dextrane-, Gelatine-, Albumin- und Hydroxyethylstärke (HES)-Lösungen (weitere Erläuterungen zu HES-Lösungen siehe Kapitel 1.2.2.1). Diese Kolloide haben auf der einen Seite einen vergleichsweise hohen Volumeneffekt, auf der anderen Seite jedoch eine Reihe substanzspezifischer Nebenwirkungen.

Humanalbumin ist teuer und zeigte in Studien ein möglicherweise erhöhtes Mortalitätsrisiko im Vergleich zu Kontrollgruppen auf [25]. Diskutiert werden diesbezüglich gerinnungshemmende Effekte und immunologische Interaktionen sowie mögliche Infektionsübertragungen.

Gelatine und Dextrane haben beide ein hohes allergenes Potenzial. Dextrane weisen zusätzlich noch Interaktionen mit dem Gerinnungssystem auf und gehen mit dem höchsten Risiko für Beeinträchtigungen der Nierenfunktion einher.

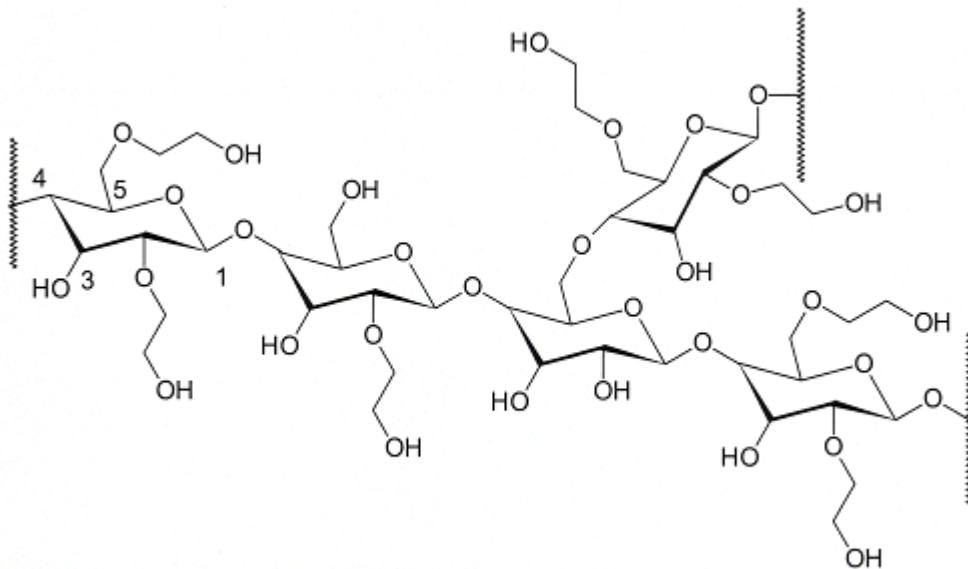
Die HES-Lösungen werden im Folgekapitel ausführlich beschrieben.

#### **1.2.2.1 Hydroxyethylstärke-Lösungen**

Die Grundsubstanz für die Synthese sämtlicher HES-Lösungen ist der Rohstoff Amylopektin, der aus Kartoffeln oder Wachsmais gewonnen wird. Amylopektin ist ein Makromolekül, das aus  $\alpha$ -1,4 glykosidisch verknüpften Glukosemolekülen besteht. An etwa jeder 17. Glukoseeinheit existiert eine  $\alpha$ -1,6 glykosidisch verknüpfte Seitenkette, die zu einer Verzweigung des Makromoleküls führt. Da dieses native

Amylopektin schlecht wasserlöslich ist, erfolgt zunächst eine Säurehydrolyse der langen Ketten. Anschließend werden die entstandenen Fragmente in alkalischer Lösung mit Ethylenoxid versetzt. Durch diese Einführung von Hydroxyethylgruppen kommt es zu einer sehr guten Wasserlöslichkeit (siehe Abbildung 1.5) [74].

**Abbildung 1.5** Chemische Struktur von HES mit variablem Substitutionsgrad

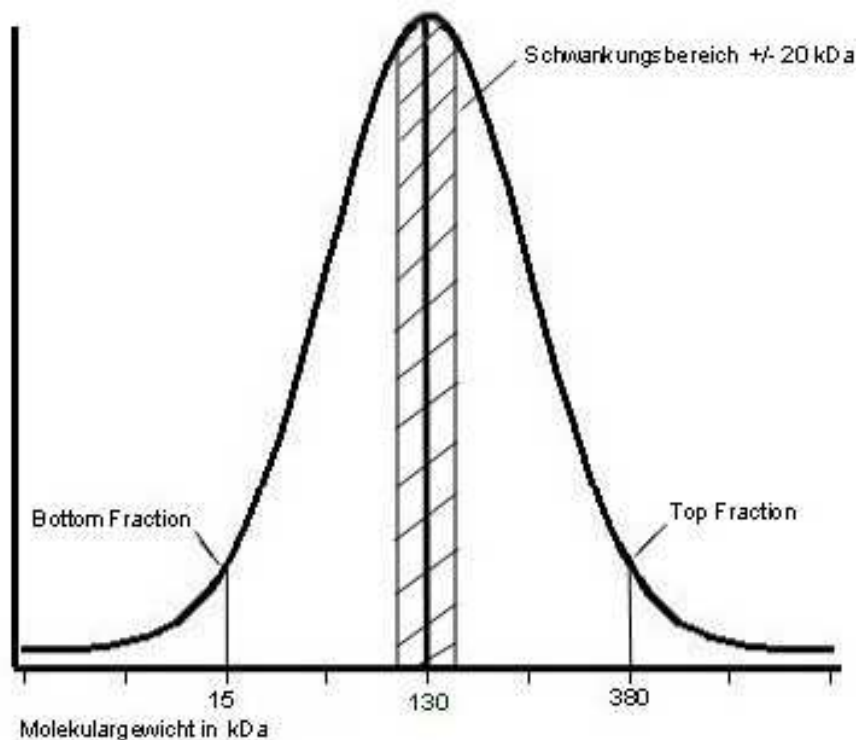


nach [74].

**Legende:** 1-5: Kohlenstoff-Atome des Kohlenhydratrings

Auf den jeweiligen HES-Präparaten sind die physiko-chemischen Eigenschaften beschrieben, z.B. Voluven<sup>®</sup> 6% 130/0,4. Die Prozentangabe beschreibt die Konzentration an Hydroxyethylstärke in der Lösung. Während 6%-ige Lösungen in der Regel isoonkotisch sind, sind 10%-ige Lösungen hyperonkotisch. Die Angabe 130 bezeichnet das mittlere *in vitro* Molekulargewicht in Kilodalton. Dieser Mittelwert unterliegt einer Gauß'schen Normalverteilung innerhalb vorgeschriebener Grenzen, welche durch die "top fraction" sowie die "bottom fraction" charakterisiert sind. Als "top fraction" bezeichnet man eine Grenze (für Voluven<sup>®</sup> bei 380 kDa), die maximal 10% aller Moleküle mit ihrem Molekulargewicht überschreiten dürfen. Die "bottom fraction" entspricht der unteren Grenze (für Voluven<sup>®</sup> bei 15 kDa). Eine schematische Übersicht gibt Abbildung 1.6.

**Abbildung 1.6** Schematische Darstellung der Verteilungsgrenzen des Molekulargewichtes bei Voluven®



Anmerkung: Achsenbeschriftung nicht maßstabsgerecht

Der Wert 0,4 gibt den molaren Substitutionsgrad der Lösung an, d.h. die Anzahl von Hydroxyethylgruppen an den Positionen C<sub>2</sub> und C<sub>6</sub> dividiert durch die Anzahl der Glukosemoleküle. Durch die Anzahl der Hydroxyethylgruppen wird der Abbau des Makromoleküls durch die körpereigene Amylase gehemmt. Infolgedessen ist der Substitutionsgrad entscheidend für die Halbwertszeit. Ein weiterer wichtiger Faktor hierfür ist die C<sub>2</sub>:C<sub>6</sub>-Ratio, die das Verhältnis von Hydroxyethylgruppen am C<sub>2</sub> bzw. C<sub>6</sub>-Atom reflektiert. Dieser Wert ist von Bedeutung, weil die Amylase an der C<sub>2</sub>-substituierten Gruppe schlechter angreifen kann. Ein hoher Anteil an C<sub>2</sub>-substituierten Gruppen verzögert somit den Abbau und verlängert die Halbwertszeit. Im Gegensatz zu Kristalloiden zeichnen sich Kolloide durch substanzspezifische Nebenwirkungen aus. In mehreren Studien wurden potenzielle nephrotoxische Effekte von HES-Lösungen untersucht. Während die VISEP-Studie ein erhöhtes Auftreten von akutem Nierenversagen mit notwendigem Nierenersatzverfahren in der HES-Gruppe (10% HES 200/0.5) beschrieb [24], kam die SOAP-Studie von Sakr et al zu dem Ergebnis, dass die Gabe von HES-Lösungen keinen signifikanten Risikofaktor für die Entwicklung eines Nierenversagens darstellt [114]. Zu beachten ist bei dieser prospektiven Observationsstudie allerdings, dass nicht zwischen



verschiedenen HES-Lösungen differenziert wurde. D.h. es wurde nur erfasst, ob und wie viel HES ein Patient erhielt.

Klassischerweise ist HES in 0,9% NaCl gelöst, so dass in Abhängigkeit von der Infusionsmenge eine Hyperchloridämie mit den im Kapitel „Kristalloide“ genannten Nachteilen resultiert. Im Gegensatz dazu existieren seit einigen Jahren balancierte HES-Lösungen, die metabolisierbare Anionen und physiologische Chlorid-Konzentrationen enthalten.

### **1.3 Intention der vorliegenden Untersuchung**

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der initialen Volumentherapie im endotoxämischen Schock. Um die intravasalen Volumendefizite septischer Patienten auszugleichen, ist es nötig, innerhalb kurzer Zeit große Mengen an Flüssigkeit zu substituieren. Den Surviving Sepsis Guidelines zufolge gibt es zurzeit keine eindeutige Empfehlung zu Gunsten von Kristalloiden oder Kolloiden.

Die initiale Volumensubstitution geht zwangsläufig mit einer positiven Flüssigkeitsbilanz und Gewichtszunahme einher, welche Determinanten der Letalität sind. Veränderungen im Elektrolythaushalt, hier sind insbesondere die Hypernatriämie und die Hyperchloridämie zu nennen, treten vor allem bei Kristalloidsubstitution und besonders bei NaCl auf. Die Substitution von Kolloiden verringert den Volumenbedarf in der Initialphase und beschleunigt die hämodynamische Optimierung [45]. Dies ist als Vorteil der HES-Lösungen zu verstehen.

Einige Studien konnten einen negativen Einfluss von HES-Lösungen auf die Nierenfunktion nachweisen. Diesen Studien ist gemeinsam, dass 1.) aus heutiger Sicht veraltete, im Plasma akkumulierende HES-Präparationen verwendet wurden und 2.) diese überdosiert und/oder mit zu wenig Kristalloiden kombiniert wurden [24, 117]. Im Gegensatz dazu akkumulieren neuere HES-Zubereitungen mit mittlerem Molekulargewicht und niedriger molarer Substitution selbst bei Patienten mit deutlich eingeschränkter Nierenfunktion nicht relevant, so dass sie sich pharmakologisch deutlich von den älteren Präparaten unterscheiden [63]. Der Einfluss dieser neuen Präparate auf die Nierenfunktion septischer Patienten wurde bisher nicht untersucht. Ziel der aktuellen Untersuchung war es daher, die Effekte einer modernen balancierten HES-Lösung (Volulyte® 6% 130/0.4) auf die Nierenfunktion endotoxämischer Schafe zu untersuchen.

## 1.4 Studienhypothesen

Der Arbeit liegen folgende zu widerlegende Nullhypothesen zu Grunde:

Nullhypothese 1: Es gibt keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Nierenfunktion (gemessen an der Plasmakreatininkonzentration über die gesamte Therapiedauer) zwischen der Jonosteril<sup>®</sup>- und der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe.

Alternativhypothese 1: Es gibt einen statistisch signifikanten Unterschied in der Nierenfunktion (gemessen an der Plasmakreatininkonzentration über die gesamte Therapiedauer) zwischen der Jonosteril<sup>®</sup>- und der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe.

Falls Nullhypothese 1 widerlegt wurde, sollte Nullhypothese 2 getestet werden.

Nullhypothese 2: Es gibt keinen signifikanten Unterschied in der elektronenmikroskopischen Tubulusschädigung zwischen der Jonosteril<sup>®</sup>- und der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe.

Alternativhypothese 2: Es gibt einen signifikanten Unterschied in der elektronenmikroskopischen Tubulusschädigung zwischen der Jonosteril<sup>®</sup>- und der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe.

Sekundäre Endpunkte der Untersuchung umfassten Parameter der systemischen und pulmonalen Hämodynamik, Sauerstofftransportvariablen sowie Serumelektrolytkonzentrationen. Ebenfalls untersucht wurden laborchemische Parameter der Leber-, Herz- und Zellschädigung und das licht- und elektronenmikroskopische Ausmaß des Zell- und Gewebes Schadens.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchsgenehmigung**

Gemäß Paragraph 8, Absatz 1 des Tierschutzgesetzes wurde das Tierversuchsvorhaben vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen genehmigt (Aktenzeichen 9.93.2.10.36.07.067).

### **2.2 Versuchstiere**

Für den vorliegenden Versuch wurden 28 weibliche, gesunde Tiere der Rasse „schwarzköpfiges Fleischschaf“ im Alter von 6-12 Monaten verwendet. Die Schafe wurden von einem regionalen Züchter mit der Genehmigung zur Abgabe von Tieren für tierexperimentelle Zwecke bezogen.

### **2.3 Medikamente und Medizinprodukte**

In den folgenden Tabellen (Tabelle 2.1 und 2.2) sind sämtliche im Versuch verwendeten Medikamente und Medizinprodukte in alphabetischer Reihenfolge aufgelistet. Ebenfalls angeführt sind Hersteller und ggf. Inhaltsstoffe sowie die im Text verwendete Bezeichnung.

Tabelle 2.1 Verwendete Medikamente

Handelsname	Wirkstoff	Hersteller	Im Text bezeichnet
Arterenol® 25 ml 1 mg/ml	Norepinephrin	Sanofi – Aventis Deutschland GmbH Frankfurt a.M. Deutschland	Noradrenalin
Baxter Natriumchlorid-Lsg., VIAFLEX®, 1000 ml	NaCl-Lösung 0,9%	Baxter GmbH, Unterschleißheim, Deutschland	Druckspülbeutel
Rocephin® 1 g Trockensubstanz und Lösungsmittel	Ceftriaxon	Hoffmann-La Roche AG, Grenzach- Wyhlen, Deutschland	Ceftriaxon
Glucose 40 % B. Braun 500 ml	Glucose 40 %	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	G 40 %
Forene® 250 ml	Isofluran	Abbot GmbH & Co KG Ludwigshafen Deutschland	Isofluran
Dormicum® 15 mg / 3 ml	Midazolam	Roche Pharma AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland	Midazolam
Jonosteril® 1/1 E 1000 ml	Balancierte Vollelektrolytlösung	Fresenius Kabi Deutschland GmbH Bad Homburg v.d.H. Deutschland	Jonosteril
Isotone Natriumchloridlösung 0,9%, 1000 ml	NaCl-Lösung 0,9%	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	NaCl-Lösung
Kaliumchlorid, 7,45%, 100 ml	KCl-Lösung 7,45%	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	KCl-Lösung
Ketanest® S 25 mg / ml, 50 ml	S-Ketamin	Pfizer Pharma GmbH Karlsruhe Deutschland	S-Ketamin
Propofol 2 % MCT Fresenius, 50 ml	Propofol 2%	Fresenius Kabi Deutschland GmbH Bad Homburg v.d.H. Deutschland	Propofol
Salmonella typhosa Endotoxin, # L6386-100MG	Salmonella typhosa Endotoxin	Sigma Aldrich, München, Deutschland	Endotoxin (LPS = Lipopolysaccharid)
Voluven® 6% 500 ml	6%ige HES 130/0,4 in 0,9%iger NaCl- Lösung	Fresenius Kabi Deutschland GmbH Bad Homburg v.d.H. Deutschland	Voluven® 6%
Volulyte® 6 % 500 ml	6%ige HES130/0,4 in balancierter Vollelektrolytlösung	Fresenius Kabi Deutschland GmbH Bad Homburg v.d.H. Deutschland	Volulyte® 6%

**Tabelle 2.2** Verwendete Geräte und Medizinprodukte

<b>Gerätename</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Im Text bezeichnet</b>
Discofix <sup>®</sup> C 3-Wege-Hahn	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	3-Wege-Hahn
Edwards Critical Care Explorer	Edward Lifescience <sup>®</sup> , Irvine, CA, USA	Cardiac-Output-Computer
ABL <sup>™</sup> 525/625 Radiometer	Radiometer Kopenhagen, Kopenhagen, Dänemark	Blutgasanalysator
Urosid <sup>®</sup> Latex Ballonkatheter	Asid Bonz GmbH Herrenberg Deutschland	Harnblasenkatheter
Ultipor BB25G	Pall Medical Portsmouth England	Beatmungsfilter
Dräger AV-1	Drägerwerk AG Lübeck Lübeck Deutschland	Narkosegerät
Combitrans Set 3-fach	B. Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland	Druckwandler-System
Druckleitung, 150 cm	ANGIOKARD Medizintechnik GmbH & Co KG, Friedeburg, Deutschland	Druckleitung
Durchflussgehäuse zur Injektattemperatur-Messung	Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland	Thermistor-Adapter
Edwards-Swan-Ganz <sup>®</sup> 7.5 F Katheter	Edwards Critical Care Division, Irvine, CA, USA	Pulmonalarterienkatheter (PAK)
Ethicon <sup>®</sup> Vicryl <sup>®</sup> 0 metric	Johnson & Johnson, Brüssel, Belgien	Nahtmaterial
Monitor Hellige Servomed	Hellige Ltd, Freiburg, Deutschland	Monitoranlage
Urin Messsystem M3, 2600 ml	Asid Bonz GmbH Herrenberg Deutschland	Urinsammelsystem
Original-Infusomat <sup>®</sup> -Leitung	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	Infusomatleitung
Original-Perfusor <sup>®</sup> -Leitung	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	Perfusorleitung
Original-Perfusor <sup>®</sup> -Spritze, OPS 50 ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	Perfusorspritze
Pilot Anästhesie DIN	Fresenius Vial S.A. Brezin Frankreich	Spritzenpumpe

Gerätename	Hersteller	Im Text bezeichnet
Infusomat <sup>®</sup> fm	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland	Infusomat
Perkutanes Super-ARROW <sup>®</sup> -Flex Schleuseneinführungsbesteck 8.5 F / 6 F	ARROW <sup>®</sup> Deutschland GmbH, Erding, Deutschland	Schleuse
Pico <sup>®</sup> 50 Arterial Blood Sampler	Radiometer Medicals A/S, Brønshøj, Dänemark	BGA-Spritze
Sigma Stat 3.10	Systat, Chicago, IL, USA	Statistik-Programm
9 ml-EDTA-KE-Monovette	SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland	EDTA-Monovette
7,5-ml-Lithium-Heparin-S- Monovette	SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland	LiHep-Monovette
5 ml-NaCitrat-S- Monovette	SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland	Citrat-Monovette
Pipettenspitzen 1000 µl	Sarstedt AG & Co Numbrecht Deutschland	Pipettenspitzen
Eppendorf-Pipette	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland	Eppendorf-Pipette
Intravaskulärer Katheter 4.5 Fr	Laboratoires Pharmaceutiques VYGON Ecouen, Frankreich	Arterieller Katheter
Sigma 204	Sigma Laborzentrifugen GmbH Osterode, Deutschland	Zentrifuge
Cryo S.	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland	Kryoprobenröhrchen

### 2.3.1 Versuchslösungen

Die folgende Tabelle (Tabelle 2.3) stellt die Unterschiede in der Zusammensetzung der drei verwendeten Versuchslösungen dar.

**Tabelle 2.3** Zusammensetzung der Versuchslösungen

<b>Versuchslösungen</b>	<b>Na<sup>+</sup></b> mmol/l	<b>K<sup>+</sup></b> mmol/l	<b>Ca<sup>2+</sup></b> mmol/l	<b>Mg</b> mmol/l	<b>Cl<sup>-</sup></b> mmol/l	<b>Acetat</b> mmol/l	<b>Theor. Osmolar.</b> mosmol/l	<b>BE<sub>pot</sub></b> in vitro mmol/l
Jonosteril <sup>®</sup>	137	4	1,65	1,25	110	37	291	+12,8
Volulyte <sup>®</sup> 6%	137	4	-	1,5	110	34	287	+10,0

**(Legende:** Theor. Osmolar.: Theoretische Osmolarität, BE<sub>pot</sub>: potenzieller Basenüberschuss)

Der potenzielle Basenüberschuss (BE<sub>pot</sub>) erfasst zusätzlich die freigesetzten oder verbrauchten Mengen an HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, die nach Infusion und Verstoffwechslung metabolisierbarer Anionen entstehen [141] (siehe Kapitel 1.2.1.).

## 2.4 Instrumentierung

Alle Versuchstiere erhielten unter sterilen Bedingungen eine arterielle Schleuse mit arteriellem Verweilkatheter. Des Weiteren wurden zwei venöse Schleusen gelegt, um sowohl ein Einlegen des Pulmonalarterienkatheters (PAK) zu ermöglichen als auch eine Möglichkeit zur schnellen Volumenzufuhr zu gewährleisten.

### 2.4.1 Anästhesie

Am Vortag der Instrumentierung wurde ein Tier aus der Herde isoliert und bei freiem Zugang zu Trinkwasser für 24 Stunden nüchtern gehalten. Am Folgetag erhielt das Schaf eine intragluteale Injektion von 10 mg/kg KG S-Ketamin und 0,3 mg/kg KG Midazolam. Eine ausreichende Sedierung, gekennzeichnet durch fehlende Abwehrbewegungen, wurde nach ca. 10-15 Minuten erreicht. Bei erhaltener, suffizienter Spontanatmung wurde das Tier gewogen und in Rückenlage auf einem Operationstisch fixiert. Mittels einer elektrischen Schermaschine wurde der Hals rasiert, so dass die Vv. jugulares beidseits sichtbar wurden. Das Tier erhielt nun eine intravenöse Injektion von 100 mg S-Ketamin, um eine ausreichende Narkosetiefe für

die endotracheale Intubation zu schaffen. Nach Intubation mit einem 9,0-Magill-Tubus wurde das Tier mittels "intermittent positive pressure ventilation" (IPPV) mit folgenden Parametern kontrolliert maschinell beatmet: inspiratorische Sauerstofffraktion ( $FiO_2$ ) 30%, "positive endexpiratory pressure" (PEEP) 5 mbar, maximaler inspiratorischer Druck 30 mbar, Inspiration:Expiration-Verhältnis 1:2, Tidalvolumen  $10 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Die Atemfrequenz wurde an den endtidalen  $pCO_2$  adaptiert, um eine Normoventilation ( $pCO_2 \text{ } \approx 40 \pm 4 \text{ mmHg}$ ) zu gewährleisten.

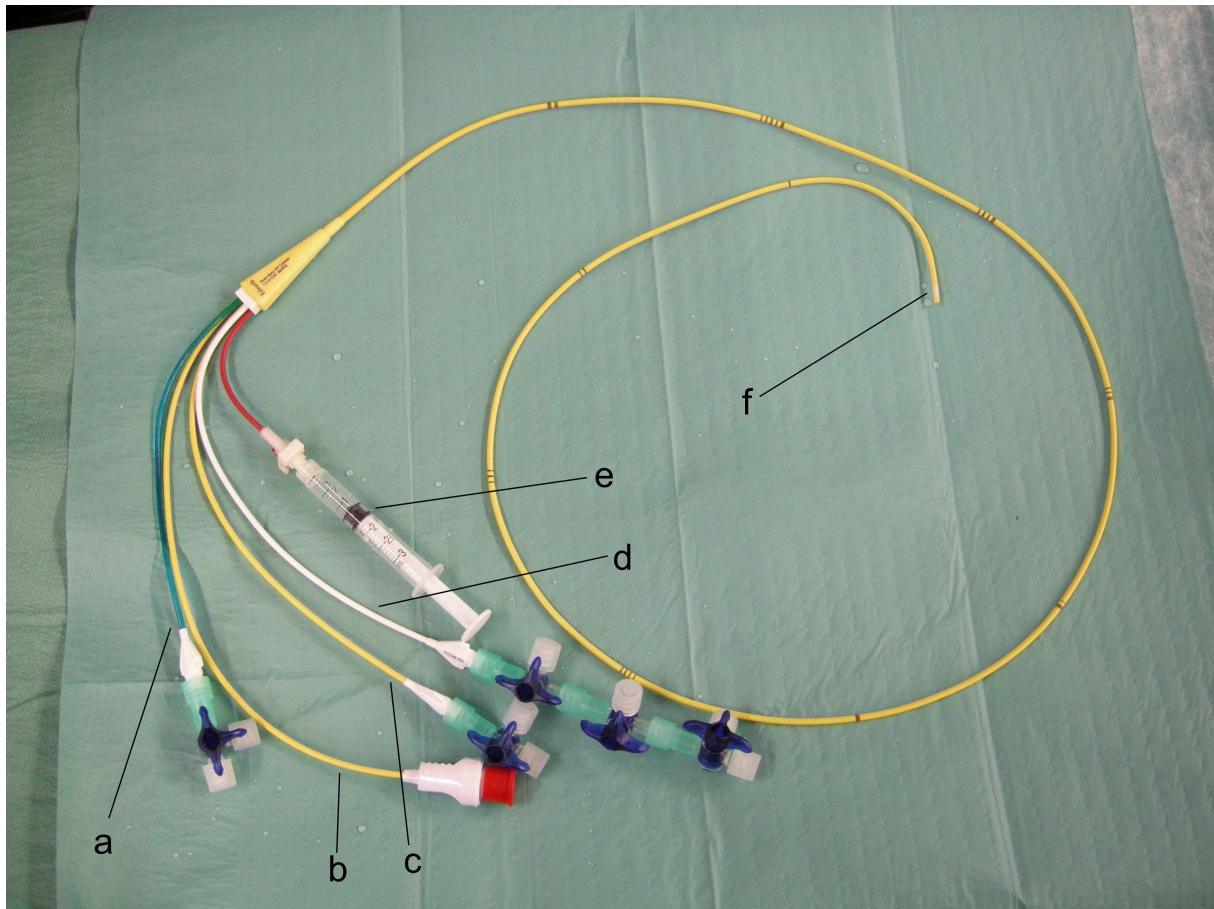
Zur Narkoseaufrechterhaltung erhielt das Tier während der gesamten Instrumentierung 1,2-1,5% Isofluran zum Atemgasgemisch.

#### **2.4.2 Pulmonalarterienkatheter**

Ein Pulmonalarterienkatheter (PAK) dient zur Bestimmung systemischer und pulmonaler hämodynamischer Variablen sowie zur Gewinnung gemischtvenöser Blutproben.

Der PAK verfügt über insgesamt fünf Lumina. Zwei proximale Schenkel (blau und weiß) dienen der Messung des zentralvenösen Druckes ("central venous pressure", CVP) sowie der zentralvenösen Flüssigkeits-Applikation. Die drei distalen Schenkel ermöglichen 1.) die Messung des pulmonalarteriellen Druckes (gelb), 2.) die Bestimmung der Körperkerntemperatur mittels eines Thermistors sowie 3.) die Injektion von Luft in einen an der Katheterspitze lokalisierten Ballon. Abbildung 2.1. zeigt einen PAK mit beschrifteten Schenkeln.



**Abbildung 2.1:** Pulmonalarterienkatheter

**Legende:** a) CVP-Schenkel (blau), b) distaler Thermistoranschluss, c) Pulmonalarterienschenkel (gelb), d) Applikationsschenkel (weiß), e) Wedge-Spritze, f) Wedge-Ballon (deflatiert)

Die Öffnungen der Lumina des CVP-Schenkels (blau) sowie des Applikationsschenkels (weiß) befinden sich 30 cm proximal der Katheterspitze und liegen somit *in situ* im Bereich der Vena cava superior. Das Lumen des pulmonalarteriellen Schenkels (gelb) mündet an der Katheterspitze.

Der Ballon an der Katheterspitze lässt sich über eine angeschlossene Spritze mit ca. 1,5 ml Luft befüllen („wedgen“). Der gefüllte Ballon okkludiert *in situ* einen Pulmonalarterienast, um so den distalen Druck in der Arterie unabhängig vom MPAP zu messen. Dieser sogenannte „Wedge-Druck“ reflektiert die Vorlast des linken Herzens. Die Einschränkungen dieses Verfahrens werden in Abschnitt 4.2.2 erläutert.

### **2.4.2.1 Anlage der venösen Schleusen**

Nach Rasur des Halses wurde der zu punktierende Bereich (rechte Vena jugularis) großflächig desinfiziert und anschließend mit einem Lochtuch steril abgedeckt. Mit einer Kanüle und aufgesetzter 5 ml-Spritze ließ sich das Gefäß unter Aspiration punktieren. Bei sicherer intravasaler Lage der Kanüle (venöses Blut floss zurück) diskonnektierte man die Spritze und schob einen Führungsdraht durch die Kanüle ca. 15 cm weit in das Gefäßsystem vor („Seldinger-Technik“) [118]. Nach Entfernen der Kanüle wurde mit einem Skalpell entlang des Seldinger-Drahtes eine kleine Hautinzision vorgenommen. Anschließend konnte eine 8,5-Fr.-Schleuse mit Hilfe eines Dilatators über den Seldinger-Draht ins Gefäßlumen vorgeschoben werden. Der Draht wurde inklusive Dilatator entfernt und die Schleuse mit einer Naht fixiert. Um die Möglichkeit einer raschen Flüssigkeitsgabe zu schaffen wurde eine 6-Fr.-Schleuse in die linke Vena jugularis eingeführt. Das Vorgehen war mit dem vorherig beschriebenen Verfahren identisch.

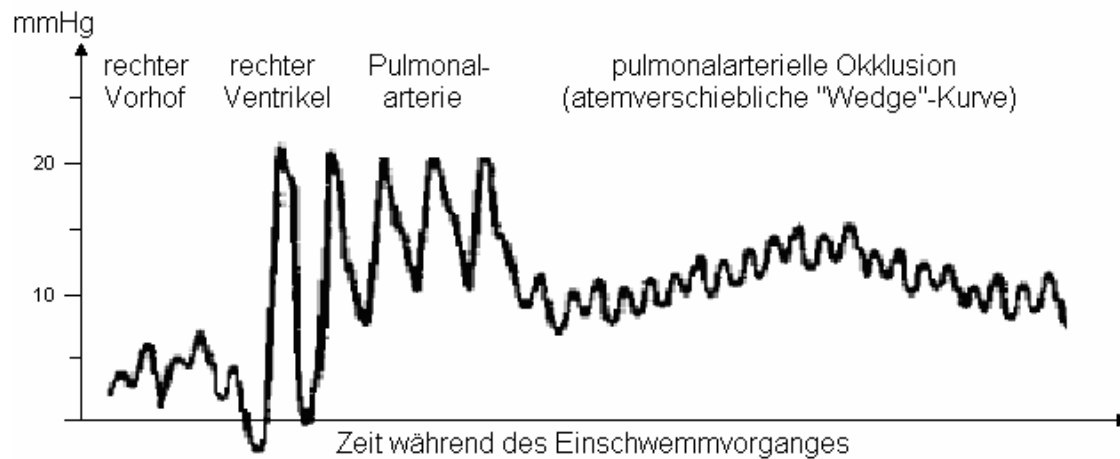
### **2.4.2.2 Einschwemmen des Pulmonalarterienkatheters**

Unter sterilen Bedingungen wurden die flüssigkeitsführenden Lumina des PAK mit 0,9% NaCl-Lösung gespült und der Ballon auf Dichtigkeit geprüft. Nun erfolgte der Anschluss des Katheters an das Druckwandler-System (s.u.), um die Platzierung des PAK unter Monitorkontrolle zu gewährleisten.

Die Katheterspitze wurde in das Schleusenlumen eingeführt und der Katheter ca. 20 cm weit über die Vena jugularis in die Vena cava superior vorgeschoben. Anschließend wurde der Ballon mit ca. 1,5 ml Luft inflatiert und der Katheter mit dem Blutstrom bis in den rechten Ventrikel vorgeschoben. Die intraventrikuläre Lage ließ sich durch eine ventrikuläre Druckkurve mit Druckwerten von systolisch ca. 25mmHg und diastolisch ca. 0 mmHg am Monitor nachweisen (vgl. Abbildung 2.1). Sobald der Katheter in die Pulmonalarterie eingeschwemmt wurde, zeigte die Druckkurve einen Anstieg des diastolischen Drucks (sog. Diastolensprung). Der Katheter wurde unter Beobachtung der Druckkurve weiter vorgeschoben, bis der Ballon einen mittleren Pulmonalarterienast okkludierte. Dieser Moment war durch einen charakteristischen Druckabfall und das Auftreten der „Wedge“-Kurve gekennzeichnet (vgl. Abbildung 2.2) und trat im Regelfall bei etwa 55 cm Hautniveau ein. Nach Entlüftung des Ballons zeigte sich auf dem Monitor die typische pulmonalarterielle Druckkurve. In

dieser korrekten Lage wurde der Katheter arretiert. Während des gesamten Procedere befand sich der Katheter in einer Schutzhülle, die auch zu späteren Zeitpunkten eine Lagekorrektur unter sterilen Bedingungen ermöglichte.

**Abbildung 2.2:** Abgeleitete Druckkurve während des Einschwemmens des Pulmonalarterienkatheters



**Legende:** Von der Katheterspitze abgeleiteter Druckkurvenverlauf, modifiziert nach [142].

### 2.4.3 Femoralarterieller Katheter

Alle Tiere erhielten zur Messung des MAP sowie zur Gewinnung arterieller Blutproben einen Katheter in die linke Arteria femoralis. Eine 6,5 Fr.-Schleuse wurde dazu in oben beschriebener Seldinger-Technik in die Arterie eingebracht. Nach Fixierung der Schleuse mit einer Tabaksbeutelnaht wurde der arterielle Katheter über die Schleuse ins Gefäß eingeführt und fixiert. Die Schleuse diente der Prävention einer Katheterdislokation bzw. eines Abknickens beim wachen, stehenden Tier. Nach Anschluss an das Druckwandlersystem erfolgte die definitive Lagekontrolle über die arterielle Druckkurve auf dem Monitor.

### 2.4.4 Transurethraler Harnblasenkatheter

Zur Messung der Urinausscheidung sowie zur Gewinnung von Urinproben erhielten alle Tiere einen transurethralen Harnblasenkatheter. Dieser wurde unter sterilen Bedingungen mittels eines Spekulum in den Meatus urethrae externus eingeführt und vorgeschoben, bis Urin zurückfloss. Dann wurde der Katheter mit 7-8 ml Aqua dest. geblockt und an ein Urinsammelsystem angeschlossen.

### **2.4.5 Perioperative Antibiotikaprophylaxe**

Zur Vermeidung interventionsassoziierter Infektionen erhielten alle Tiere nach Anlage des ersten Venenzuganges 1000 mg Ceftriaxon i.v. als Kurzinfusion.

### **2.4.6 Postoperative Maßnahmen**

Alle Katheter wurden mit Bändern im Fell des Tieres fixiert, um akzidentelle Dislokationen bzw. ein Durchbeißen zu verhindern. Nach Beendigung aller Instrumentierungsmaßnahmen wurde die Narkosegaszufuhr beendet und das Tier bis zum Eintreten einer suffizienten Spontanatmung mit einer inspiratorischen Sauerstofffraktion ( $FiO_2$ ) von 100% weiterbeatmet. Nach erfolgter Extubation wurde das Tier in einen metabolischen Käfig (s.u.) verbracht. Nach Erwachen aus der Narkose erhielten die Tiere 1000 ml Jonosteril i.v. über 4 Stunden zur Vermeidung einer Exsikkose.

## **2.5 Tierhaltung**

Während des Versuches waren die Tiere in metabolischen Käfigen untergebracht, die so konzipiert waren, dass Diskonnektionen der Katheter und/oder Selbstverletzungen durch Rotationsbewegungen der Tiere vermieden wurden. Der freie Zugang zu frischem Wasser und Heu mit geringem Krafffutteranteil war jederzeit möglich. Die Fäkalien der Tiere fielen durch den Gitterboden des Käfigs in einen Auffangbehälter.

Die fachkundige Pflege und Versorgung der Tiere sowie die Reinigung der Käfige wurde durch das tierpflegerische Personal der ZTE gewährleistet.

## **2.6 Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung**

### **2.6.1 Messung der hämodynamischen Parameter**

Zu Beginn des Versuches wurde das Druckwandler-System, welches die Signale des PAK (blau für CVP, gelb für MPAP/PCWP) sowie des arteriellen Katheters aufnahm, an eine Monitoranlage mit integrierter Amplifizierung angeschlossen. Dies geschah direkt nach der Instrumentierung, um die Lumina kontinuierlich zu spülen. Nach Anschluss an die Monitoranlage war eine kontinuierliche Messung der hämodynamischen Parameter möglich.

#### **2.6.1.1 Funktionsprinzip des Druckwandlers**

Der Druckwandler wandelte die Druckschwankungen in einer Flüssigkeitssäule in elektrische Signale um. Zu diesem Zweck enthält der Druckwandler Silikonmembranen, die die registrierten Schwankungen an Metallmembranen weitergeben. Integrierte Biegeelemente reagieren darauf mit Dehnung. Unter Ausnutzung der Tatsache, dass sich der elastische Widerstand proportional zur Dehnung verhält, lässt sich unter Anwendung einer Widerstandsmessbrücke eine elektrische Spannung erzeugen. Diese Spannung verhält sich proportional zur gemessenen Druckschwankung an der Silikonmembran und kann durch Amplifizierung sichtbar gemacht werden. Auf diese Weise können die gemessenen Druckwerte sowohl

digital als auch analog als Druckkurve in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt werden.

Der Nullabgleich erfolgte durch Definition des atmosphärischen Drucks als Nullwert (0 mmHg). Auf dem Monitor konnten nun MAP, CVP sowie MPAP kontinuierlich abgelesen werden. Zur Messung des PCWP war die Inflation des Ballons an der Katheterspitze mit Luft notwendig. Die gemessenen Variablen konnten wahlweise als systolische, diastolische oder mittlere Druckwerte angezeigt werden.

Die Herzfrequenz wurde durch Auszählung der Spitzen der arteriellen Druckkurve pro Minute bestimmt.

### 2.6.1.2 Messung des Herzzeitvolumens

Um das HZV zu bestimmen, wurde an den CVP-Schenkel des PAKs ein Thermistor-Adapter angebracht. Dieser proximale Thermistor sowie der Adapter des distalen Thermistors (vgl. Abbildung 2.1) wurden an einen *"Cardiac output computer"* angeschlossen. Hiermit konnte eine kontinuierliche Messung der Körperkern-temperatur ( $T$ ) sichergestellt werden. Die Bestimmung des HZV war zu jeder Zeit intermittierend möglich.

Nach zügiger Injektion von 10 ml 2-5 °C kalter, isotoner NaCl-Lösung über den CVP-Schenkel zeigte der Computer die Temperaturänderung am distalen Thermistor als Kurve gegen die Zeit an. Auf diese Weise ließ sich der Blutfluss  $Q$  an der Katheterspitze bestimmen, da sich dieser nach dem umgekehrten Fick'schen Prinzip antiproportional/umgekehrt proportional zum Kurvenintegral verhält. Dieses wiederum lässt sich nach der Steward-Hamilton-Gleichung berechnen:

**Steward-Hamilton-Gleichung** 
$$Q = \frac{V_i \cdot (T_b - T_i) \cdot K_1 \cdot K_2}{dT_b / dt}$$

**Legende:**  $Q$  = Blutfluss an der Katheterspitze [ $l \cdot \text{min}^{-1}$ ] ( $\approx$  HZV),  $V_i$  = injiziertes Volumen,  $T_i$  = Temperatur der injizierten Lösung (gemessen am proximalen Thermistor),  $T_b$  = Bluttemperatur (gemessen am distalen Thermistor),  $K_1$  = Dichtefaktor (Injektat / Blut),  $K_2$  = Berechnungskonstante,  $dT_b/dt$  = Änderung der Bluttemperatur als Funktion der Zeit (Differentialquotient).

Das Herzzeitvolumen entspricht dem so errechneten Wert  $Q$ .

In Tabelle 2.4 sind alle gemessenen und errechneten hämodynamischen Variablen aufgeführt. KOF steht für die individuelle Körperoberfläche, die an Hand des Körpergewichtes nach der Meeh'schen Formel berechnet wird, um eine Vergleichbarkeit der Versuchstiere zu gewährleisten. In der Formel stellt 0,084 eine spezifische Konstante für das Schaf dar:

$$\text{KOF [m}^2\text{]} = 0,084 \cdot (\text{Körpergewicht [kg]})^{2/3}$$

**Tabelle 2.4** Variablen der systemischen und pulmonalen Hämodynamik.

<b>Variable (engl. Bezeichnung)</b>	<b>Abkürzung [Einheit]</b>	<b>Berechnung</b>
Mittlerer arterieller Druck (mean arterial pressure)	MAP [mmHg]	Direkte Messung
Herzfrequenz (heart rate)	HR [min <sup>-1</sup> ]	Auszählung
Zentraler Venendruck (central venous pressure)	CVP [mmHg]	Direkte Messung
Mittlerer pulmonalarterieller Druck (mean pulmonary arterial pressure)	MPAP [mmHg]	Direkte Messung
Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (pulmonary capillary wedge pressure)	PCWP [mmHg]	Direkte Messung („Wedgen“)
Herzindex (cardiac index)	CI [l·min <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> ]	HZV / KOF
Schlagvolumenindex (stroke volume index)	SVI [ml·m <sup>-2</sup> ]	(CI · 1000) / HR
Systemvaskulärer Widerstandsindex (systemic vascular resistance index)	SVRI [dyne·s·cm <sup>-5</sup> ·m <sup>2</sup> ]	((MAP – CVP) / CI) · 80
Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (pulmonary vascular resistance index)	PVRI [dyne·s·cm <sup>-5</sup> ·m <sup>2</sup> ]	((MPAP – PCWP) / CI) · 80
Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex (left ventricular stroke work index)	LVSWI [g·m·m <sup>-2</sup> ]	(CI·(MAP - PCWP)·13,6) / HR
Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex (right ventricular stroke work index)	RVSWI [g·m·m <sup>-2</sup> ]	(CI·(MPAP - CVP)·13,6) / HR



## 2.6.2. Blutgasanalysen

Während des Versuches konnten jederzeit arterielle (a) und gemischtvenöse (v) Blutproben von jeweils ca. 2 ml mit heparinisierten Entnahmesystemen für Blutgasanalysen entnommen werden. Das Blutgasanalysegerät verarbeitete die Proben bei einer voreingestellten Temperatur von 37,0 °C. Nach Eingabe der aktuellen Körperkerntemperatur berechnete das Gerät die temperaturabhängigen Parameter. Die gemessenen und berechneten Variablen zeigt Tabelle 2.5.

**Tabelle 2.5** Blutgasanalysen

Variable	Abkürzung [Einheit]	Messmethode
Gesamthämoglobin-Konzentration	ctHb [g·dl <sup>-1</sup> ]	cHHb + cO <sub>2</sub> Hb + cCOHb + cMetHb + cSulfHb <sup>1)</sup>
Hämatokrit	Hkt [%]	0,0485·ctHb + 8,3·10 <sup>-3</sup>
Sauerstoffsättigung	S <sub>a/v</sub> O <sub>2</sub> [%]	cO <sub>2</sub> Hb / (cHHb + cO <sub>2</sub> Hb) <sup>1)</sup>
Sauerstoffpartialdruck	p <sub>a/v</sub> O <sub>2</sub> [mmHg]	E909 pO <sub>2</sub> -Elektrode
Kohlenstoffdioxidpartialdruck	p <sub>a/v</sub> CO <sub>2</sub> [mmHg]	E808 pCO <sub>2</sub> -Elektrode
pH-Wert	pH <sub>a/v</sub> [-log <sub>10</sub> cH <sup>+</sup> ]	G707 pH-Elektrode
Standardhydrogenkarbonat-Konzentration	cHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> <sub>a/v</sub> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	24,47 + 0,919·Z + Z·a·(Z-8) <sup>2)</sup>
Oxymetrie-korrigierter Basenüberschuss	BE [mmol·l <sup>-1</sup> ]	manuelle Berechnung <sup>3)</sup>
Laktat-Konzentration	cLac [mmol·l <sup>-1</sup> ]	E7007 Laktat-Elektrode
Glucose-Konzentration	cGlu [mg·dl <sup>-1</sup> ]	E6006 Glucose-Elektrode
Natrium-Konzentration	cNa <sup>+</sup> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	E5005 Natrium-Elektrode
Kalium-Konzentration	cK <sup>+</sup> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	E202 Kalium-Elektrode
Calcium-Konzentration	cCa <sup>2+</sup> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	E303 Calcium-Elektrode
Chlorid-Konzentration	cCl <sup>-</sup> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	E404 Chlorid-Elektrode

**Legende:**

- 1) Das Gesamthämoglobin (total hemoglobin = tHb) setzt sich zusammen aus oxygeniertem (O<sub>2</sub>Hb), desoxygeniertem (HHb), Methämoglobin (MetHb), Carboxy-Hämoglobin (COHb) und Sulfhämoglobin (SulfHb). Die Sauerstoffsättigung (SO<sub>2</sub>) entspricht dem Verhältnis des oxygenierten zum effektiven Hämoglobin (ceHb = cO<sub>2</sub>Hb + cHHb). Da als Gesamtmenge nur die ceHb und nicht die ctHb verwendet wird, bezeichnet man den errechneten Wert auch als partielle Sauerstoffsättigung (S<sub>p</sub>O<sub>2</sub>). Die Konzentrationen der einzelnen Hämoglobin-Fractionen werden adsorptionsphotometrisch gemessen.
- 2)  $a = 4,04 \cdot 10^{-3} + 4,25 \cdot 10^{-4} \cdot ctHb$   
 $Z = cBase - 0,3062 \cdot ctHb \cdot (1 - SO_2)$   
cBase = Basenkonzentration (komplexe Berechnung aus Vorgabewerten für pH, pCO<sub>2</sub>, cHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)
- 3) komplexe Berechnung aus ctHb, pH, pCO<sub>2</sub> und SO<sub>2</sub>.

**2.6.3 Variablen des globalen Sauerstofftransportes**

Die Variablen des globalen Sauerstofftransportes wurden aus den hämodynamischen Messungen und den Ergebnissen der Blutgasanalysen berechnet. Eine Liste der Variablen sowie deren Berechnung zeigt Tabelle 2.6.

**Tabelle 2.6** Variablen des globalen Sauerstofftransportes

Variable (engl. Bezeichnung)	Abkürzung [Einheit]	Berechnung
gemischtvenöse Sauerstoffsättigung	S <sub>v</sub> O <sub>2</sub> [%]	$c_vO_2Hb / c_vHHb + c_vO_2Hb$
Sauerstoffangebotsindex (oxygen delivery index)	DO <sub>2</sub> l [ml·min <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> ]	$CI \cdot S_aO_2 \cdot ctHb \cdot 1,34 \cdot 10^{-1}$
Sauerstoffverbrauchsindex (oxygen consumption index)	VO <sub>2</sub> l [ml·min <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> ]	$CI \cdot (S_aO_2 - S_vO_2) \cdot ctHb \cdot 1,34 \cdot 10^{-1}$
Sauerstoffextraktionsrate (oxygen extraction ratio)	O <sub>2</sub> -ER [%]	$((S_aO_2 - S_vO_2) \cdot 100) / S_aO_2$

**Legende:**

- 1) Aus Gründen der Vereinfachung ist der Anteil des physikalisch gelösten Sauerstoffs in diesen Formeln vernachlässigt worden.

Die mathematische Korrelation des DO<sub>2</sub>l und des VO<sub>2</sub>l fällt beim Betrachten der Berechnungsformeln auf: beide Formeln verwenden die gleichen Variablen (CI, S<sub>a</sub>O<sub>2</sub>,

ctHb), allerdings enthält die  $VO_{2I}$ -Formel zusätzlich noch die gemischtvenöse Sättigung  $S_vO_2$ . Unter der Voraussetzung, dass  $O_2$ -ER bzw.  $S_vO_2$  bekannt sind, bietet der  $VO_{2I}$  folglich keine zusätzlichen Informationen zum  $DO_{2I}$ .

#### 2.6.4 Urinproben

Durch die Anlage eines transurethralen Blasenkatheters mit angeschlossenem Urinsammelbehälter waren zu jedem Zeitpunkt des Versuches die Quantifizierung der Diurese sowie die Entnahme von Urinproben möglich. Die folgenden Nierenfunktionsparameter wurden aus den entnommenen Urin- und Blutproben (siehe Tabelle 2.7) bestimmt:

Kreatinin-Clearance [ $ml \cdot min^{-1} \cdot 1,73 \cdot m^{-2}$ ]:

$$Cl_{Krea} = (c_{KreaU} \cdot UV_{24h} \cdot 1,73) / (c_{KreaS} \cdot t \cdot KOF)$$

t bezeichnet hier die Urinsammelzeit, während  $UV_{24h}$  das 24h Äquivalent der abgelesenen Urinmenge wiedergibt.

#### 2.6.5 Labormedizinische Untersuchungen

Zu den in Kapitel 2.6.6 aufgeführten Messzeitpunkten wurden den Tieren über den arteriellen Katheter folgende Blutproben entnommen: 9 ml EDTA-Blut, 7,5 ml Lithium-Heparinat-Blut und 5 ml Citrat-Blut. Sofort nach der Entnahme wurden die Proben für 10 Minuten bei 2000 rpm zentrifugiert und anschließend jeweils zweifach 1 ml des Plasmaüberstandes der Blutproben in Polystyrol-Röhrchen pipettiert. Diese wurden daraufhin bei  $-70\text{ °C}$  tiefgefroren. Die zeitgleich entnommenen Urinproben (1 ml) wurden ebenfalls tiefgefroren. Eine Übersicht über die durchgeführten labormedizinischen Untersuchungen zeigt Tabelle 2.7.

Tabelle 2.7 Labormedizinische Untersuchungen.

Variable (Abk.)	Einheit	Probenmaterial	Messmethode
Alanin-Aminotransferase (ALT)	U/l	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Gesamteiweiß	g/dl	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Aspartat-Aminotransferase (AST)	U/l	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Gesamt-Bilirubin (cBili)	mg/dl	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Glutamat-dehydrogenase (GLDH)	U/l	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Harnstoff-N (cUrea)	mg/dl	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Laktatdehydrogenase (LDH)	U/l	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Lipase (Lip)	U/l	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Plasma-Kolloid-osmotischer Druck (KOD <sub>S</sub> )	mmHg	Plasma	Onkometer Automatic Knauer
Plasma-Kreatinin (cKrea <sub>P</sub> )	mg/dl	Plasma	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Plasma-Osmolalität (Osmo <sub>P</sub> )	mosmol/l	Plasma	Osmometer Automatic Knauer
Troponin I (cTrop I)	ng/ml	Plasma	Troponin I-Immulite <sup>®</sup> FC-EIA <sup>1)</sup> , Bühlmann, Allschwill (CH)
Urin-Kalium (cK <sub>U</sub> )	mmol/l	Urin	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Urin-Kreatinin (cKrea <sub>U</sub> )	mg/dl	Urin	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim

Variable (Abk.)	Einheit	Probenmaterial	Messmethode
Urin-Chlorid (cCl <sub>U</sub> )	mmol/l	Urin	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Urin-KOD (KOD <sub>U</sub> )	mmHg	Urin	Onkometer Automatic Knauer
Urin-Natrium (cNa <sub>U</sub> )	mmol/l	Urin	Hitachi 747 Automatic Analyzer Boehringer Mannheim
Urin-Osmolalität (Osmo <sub>U</sub> )	mosmol/l	Urin	Osmometer Automatic Knauer

**Legende:**

- 1) FC-EIA = Festphasen-Chemilumineszens-Enzymimmunoassay
- 3) KOD = Kolloid-osmotischer Druck

### 2.6.6 Versuchsprotokoll

Nach Erreichen des durch die definierten Kriterien (s.u.) festgelegten Schockzeitpunktes belief sich die maximale Dauer des Versuches auf 12 Stunden. Zu den Zeitpunkten Baseline 2, 2h, 4h, 8h und 12h wurden folgende Messungen erhoben:

- Körperkerntemperatur
- Hämodynamische Variablen → MAP, CVP, MPAP, PCWP, HZV, HR
- Urinmenge
- Arterielle und gemischtvenöse BGA
- Entnahme arterieller Blutproben → 1x 9ml EDTA-Blut, 1x 7,5ml Lithium-Heparinat-Blut, 1x 5ml Citratblut
- Entnahme Urinprobe (1 ml)

Alle anderen stündlich durchgeführten Messungen umfassten ebenfalls die genannten Parameter, hier fand jedoch keine Entnahme von Blut- und Urinproben statt.

Die überlebenden Versuchstiere erhielten nach Versuchsende eine intravenöse Bolusgabe von 4 mg·kg<sup>-1</sup> Propofol, wodurch eine tiefe Narkose erreicht wurde. Durch anschließende Injektion von 100 ml 7,45 %iger Kaliumchloridlösung wurde eine Asystolie hervorgerufen, an der die Tiere verstarben.

### 2.6.6.1 Messzeitpunkte

Die erste Messung wurde am gesunden Tier zu Beginn des Versuches durchgeführt und wird im Folgenden als Baseline 1 (BL1) bezeichnet. Direkt im Anschluss erhielten die Tiere hochgereinigtes LPS des gram-negativen Bakteriums *Salmonella typhosa* als kontinuierliche Infusion über den Applikationsschenkel des PAK. Durch Einwaage von 600 µg LPS ad 50 ml 0,9%iger NaCl-Lösung in einer Perfusorspritze erhielt man eine LPS-Lösung mit einer Konzentration von 12 µg/ml. Die Applikation des LPS wurde mit einer Dosis von 5 ng/kg/min gestartet. Zusätzlich erhielten die Tiere 2 ml/kg/h Jonosteril über einen Infusomaten zur Deckung des Basisflüssigkeitsbedarfs.

Die LPS-Laufrate wurde nun jede Stunde verdoppelt bis zum Eintreten der Schockkriterien (s.u.). Danach wurde die jeweilige Laufrate bis zum Versuchsende beibehalten.

Der Schockzeitpunkt war definiert durch folgende Kriterien: a)  $MAP < 65 \text{ mmHg}$  und arterielles Laktat  $\geq 2,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  oder b) arterielles Laktat  $\geq 4,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Bei Erreichen der Schockkriterien wurde sofort die Baseline 2-Messung (BL 2) durchgeführt. Ab diesem Zeitpunkt wurden in den folgenden 12 h stündliche Messungen durchgeführt.

## 2.7 Einschlusskriterien

Folgende Kriterien mussten die Tiere zur BL 1 erfüllen:

- Körperkerntemperatur  $\leq 39,8$  °C
- HR  $< 100$  min<sup>-1</sup>
- MAP  $\geq 70$  mmHg
- MPAP  $< 20$  mmHg
- Laktat  $\leq 1,2$  mmol/l

Tiere, die die genannten Kriterien zum Messzeitpunkt nicht erfüllten, wurden in die Herde zurückgestellt und frühestens sieben Tage später erneut zum Versuch herangezogen.

## 2.8 Gruppeneinteilungen

Die Aufteilung der Tiere in die jeweiligen Gruppen erfolgte durch eine computerbasierte, dynamische Randomisierung. Es wurde u.a. darauf geachtet, dass die Variable „Körpergewicht“ (KG) gleichmäßig auf die Gruppen verteilt war.

Die zu vergleichenden Versuchslösungen lagen in nummerierten 500ml freeflex<sup>®</sup>-Beuteln vor, so dass eine Verblindung gewährleistet war. Die Applikation der Lösungen erfolgte über die 6-Fr-Schleuse in die linke Vena jugularis.

Die Tiere der ersten Gruppe (n=10) (im Folgenden „Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe“ genannt) erhielten Volulyte<sup>®</sup> 6 %, bis die Maximaldosis von 50 ml/kg KG erreicht war. Direkt nach der BL2-Messung erhielten die Tiere 500 ml Volulyte<sup>®</sup>. Anschließend wurden Volumeneinheiten von jeweils 250 ml Volulyte<sup>®</sup> entsprechend den unten angegebenen Zielwerten infundiert. Nach Erreichen der Maximaldosis wurde die Volumentherapie mit Jonosteril<sup>®</sup> fortgesetzt.

In der zweiten Gruppe (n=10) (im Folgenden „Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe“ genannt) wurde die Volumentherapie ausschließlich mit Jonosteril<sup>®</sup> durchgeführt. Hier erhielten die Tiere analog zur Volulyte-Gruppe initial 500 ml Jonosteril<sup>®</sup>, anschließend bedarfsorientiert Portionen zu je 250 ml Jonosteril<sup>®</sup>.

Die Tiere der Kontrollgruppe (n=8) erhielten nach Erreichen des Schockzeitpunktes keine Volumentherapie. In allen drei Gruppen wurde bedarfsorientiert Noradrenalin (5 mg / 50 ml) über eine Spritzenpumpe infundiert, um den MAP im Zielbereich zwischen 65-75 mmHg zu stabilisieren.

## 2.9 Zielwerte der Volumentherapie

In beiden Studiengruppen wurden folgende Zielwerte für die Volumentherapie festgelegt:

- 1) Hämatokrit  $\leq$  Wert der BL1-Messung
- 2) CVP 8-12 mmHg
- 3) PCWP 12-15 mmHg

Sobald eine dieser Variablen außerhalb des Zielbereiches lag, wurden 250 ml der jeweiligen Studienlösung ggf. repetitiv infundiert (s.o.). Um den MAP im Zielbereich zwischen 65-75 mmHg zu halten, erhielten die Tiere bei Bedarf Noradrenalin (5 mg / 50 ml) kontinuierlich über eine Spritzenpumpe.

## 2.10 Organentnahme und Elektronenmikroskopie

Nach dem Tod der Tiere wurde die Entnahme und Wiegung folgender Organe vorgenommen:

- Herz
- Beide Lungen
- Beide Nieren
- Leber (Lobus caudatus)
- Ileumprobe (30 cm)
- Kolonprobe (30 cm)

Es erfolgte die Entnahme von multiplen Proben der linken Niere zur elektronenmikroskopischen Untersuchung. Anschließend wurden die Organe (bei den paarigen jeweils die rechten) in 3,5%-ige Formaldehyd-Lösung eingelegt.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden jeweils 1 mm<sup>3</sup> große kubische Proben der linken Nieren verwendet. Nach 12-stündiger Fixierung bei 4°C in 3%iger Glutaraldehydlösung und anschließender Überführung in 5%ige Sucroslösung erfolgte die Postfixation mit 1% Osmiumtetroxid und 50 mmol/L Kaliumferricyanid. Nach Waschung mit destilliertem Wasser und einer aufsteigenden Alkoholreihe wurden ultradünne Schnitte (50 nm) der Proben angefertigt.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Nierenproben erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau Prof. Dr. Köhler im Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Münster. Zur Identifizierung post-mortaler Veränderungen der ultrastrukturellen Nierenstruktur wurde an jeweils zwei Tieren pro Studiengruppe



eine intravitale Organentnahme in Allgemeinanästhesie (Finalversuch) durchgeführt. Durch Abgleich dieser intra-vitalen mit den post-mortalen Proben sollten etwaige Fehlinterpretationen post-mortaler Veränderungen ausgeschlossen werden. Die Aufnahmen wurden nach einem von Herrn Dr. med. Christian Ertmer und Frau Prof. Dr. Köhler entwickelten "electron microscopic tubular injury" (EMTI)-Score-System hinsichtlich des tubulären Zellschadens bewertet (s.u.). Hierzu erfolgte die Beurteilung der Tubuli von jeweils zehn Sichtfeldern pro Versuchstier. Verwendet wurde ein Philips CM10 Elektronenmikroskop (Philips, Eindhoven, Netherlands) mit einer Anodenspannung von 80 kV.

Die Aufnahmen wurden von einem für den Versuchablauf verblindeten Pathologen nach folgenden Kriterien beurteilt:

- (1) Vakuoläre Degeneration und Schwellung der Organellen (0 = keine, 1 = vereinzelt, 2 = moderat, 3 = ubiquitär),
- (2) Dissoziation von Epithelien und Basalmembran (0 = keine, 1 = vereinzelte Zellen, 2 = mehr als die Hälfte des Tubulus, 3 = ganzer Tubulus),
- (3) epithelialer Zellschaden (0 = keiner, 1 = moderat, 2 = schwer, 3 = komplette Zerstörung) und
- (4) intratubuläre Präzipitation (0 = keine, 1 = moderate Proteinpräzipitation, 2 = Lumenverschluss durch Protein, 3 = intratubuläre Zellorganellen).

Die Summe aller vier Kriterien wurde als renaler Tubuluszellschaden-Score (EMTI-Score) quantifiziert [42].

## 2.11 Statistik

Sämtliche Daten wurden mit dem Statistikprogramm Sigma Stat 3.10 (Systat Software, Inc., Chicago, IL, USA) analysiert. Soweit nicht explizit anders angegeben, werden die Daten als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler (SEM) präsentiert.

Nach Bestätigung der Normalverteilung sämtlicher Variablen mit dem *Kolmogorov-Smirnov*-Test erfolgte eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) der zeitabhängigen Variablen mit den Faktoren Gruppe und Zeit. Bei signifikantem Ergebnis des ANOVA-Tests wurden die einzelnen Mittelwerte *post hoc* mit dem *Student-Newman-Keuls*-Test verglichen. Zeitunabhängige Variablen (z.B. Körpergewicht bei Versuchsbeginn) wurden mit einer einfaktoriellen ANOVA und dem Faktor Gruppe untersucht. Die Analyse kategorialer Variablen erfolgte mit einem Chi-Quadrat-Test, während sämtliche mikroskopischen Scores mit einem *Friedman*-

Test ("ANOVA on ranks") und *post-hoc*-Testung nach *Dunn* untersucht wurden. Für sämtliche statistischen Tests wurde ein Fehler erster Ordnung kleiner als 5% ( $p < 0,05$ ) als signifikant angesehen.

## 3 Ergebnisse

Unter der Endotoxin-Infusion entwickelten die Tiere zur BL2-Messung zunehmende Unruhe, Tachypnoe sowie muköse Sekretion aus Nüstern und Konjunktiven. Statistisch gab es zu den Zeitpunkten BL1 und BL2 keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Versuchsgruppen (s. Tab. 3.1 - 3.5 und Abb. 3.1 - 3.16).

### 3.1 Volumenbedarf und Vasopressoren

Die Tiere der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe erhielten durchschnittlich 16515 ml  $\pm$  1576 Kristalloid während der Interventionsphase (siehe Abb. 3.20 und 3.22). Die Tiere der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe benötigten zusätzlich zur infundierten Kolloidmenge (im Schnitt 1930 ml  $\pm$  223) durchschnittlich 7899 ml  $\pm$  1357 Kristalloid (siehe Abb. 3.20 – 3.22). In der Kontrollgruppe wurde Kristalloid zur Deckung des Basisflüssigkeitsbedarfs kontinuierlich infundiert, die durchschnittliche Gesamtmenge betrug 1192 ml  $\pm$  33 Kristalloid. Damit benötigten die Tiere der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe signifikant weniger Volumen zum Erreichen der Therapieziele als die Tiere der Jonosteril-Gruppe ( $p < 0,05$ ).

Der Katecholaminbedarf der Tiere zeigte bis zum Zeitpunkt 8h keinen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Zu den Zeitpunkten 8h und 9h war der Noradrenalinbedarf der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe signifikant erhöht ( $p < 0,05$ ) gegenüber der Jonosteril-Gruppe (siehe Abb. 3.4). Der Katecholaminbedarf der Kontrolltiere war zum Ende des Versuches (ab 9h) signifikant erhöht gegenüber den Tieren der Jonosteril<sup>®</sup>- und der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe ( $p < 0,05$ ; siehe Abb. 3.4).

### 3.2 Veränderungen der systemische Hämodynamik

Alle Versuchstiere wiesen nach Einleitung der kontinuierlichen Endotoxinämie zum Zeitpunkt BL2 einen Anstieg der HF sowie eine Verminderung von CI, MAP, SVI und LVSWI gegenüber BL1 auf (siehe Abb. 3.2, 3.3 und Tab. 3.1).

Mit Beginn der Volumentherapie zeigte sich in den beiden Therapiegruppen im Gegensatz zur Kontrollgruppe ein Anstieg von MAP, CVP, CI, SVI und HF (siehe Abb. 3.1 - 3.3 und Tab. 3.1). Zusätzlich war in beiden Therapiegruppen eine Zunahme des PCWP festzustellen, während diese Variable in der Kontrollgruppe

konstant zur BL2 blieb (siehe Tab. 3.2). Zwischen den beiden Therapiegruppen gab es keine signifikanten Unterschiede.

### **3.3 Veränderungen der pulmonalen Hämodynamik**

In allen drei Gruppen war ein Anstieg des MPAP über die gesamte Versuchsdauer zu beobachten, jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Der RVSWI innerhalb der Therapiegruppen war im Versuchsverlauf signifikant erhöht ( $p < 0,05$  vs. BL2), während in der Kontrollgruppe keine Veränderung messbar war (siehe Tab. 3.2).

### **3.4 Veränderungen des globalen Sauerstofftransportes**

Die Tiere aller drei Versuchsgruppen zeigten zum Zeitpunkt BL2 einen signifikanten Anstieg des Hb ( $p < 0,05$  vs. BL1; siehe Tab 3.4). Zwischen BL1 und BL2 gab es keine Unterschiede hinsichtlich der Variablen des systemischen O<sub>2</sub>-Transportes. (siehe Abb. 3.5 - 3.7 und Tab. 3.3).

Es zeigten sich im Versuchsverlauf keine Unterschiede zwischen der Volulyte<sup>®</sup>- und der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe in Bezug auf den Hb und den DO<sub>2</sub>I (siehe Tab. 3.4 und Abb. 3.8). In beiden Therapiegruppen kam es unter der Volumentherapie im Gegensatz zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Erhöhung des DO<sub>2</sub>I ab dem Zeitpunkt 5h ( $p < 0,05$  vs. BL2; siehe Abb. 3.8).

Es gab während des gesamten Versuchablaufs keine signifikanten Unterschiede bezüglich der S<sub>v</sub>O<sub>2</sub> zwischen den beiden Therapiegruppen. Die S<sub>v</sub>O<sub>2</sub> der Kontrollgruppe hingegen fiel im Versuchsverlauf kontinuierlich und signifikant ab ( $p < 0,05$  vs. BL2, siehe Abb. 3.6). Entsprechend entwickelte sich die O<sub>2</sub>-ER, die ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen aufwies, während sie in der Kontrollgruppe signifikant anstieg ( $p < 0,05$ ; siehe Abb. 3.7).

### 3.5 Veränderungen der Körperkerntemperatur sowie des Säure-Basen- und Elektrolythaushaltes

Alle Tiere entwickelten zwischen BL1 und BL2 einen signifikanten Anstieg der Körperkerntemperatur von  $39,5 \pm 0,1$  °C auf  $41,1 \pm 0,1$  °C (siehe Tab. 3.4) sowie der Plasmalaktatkonzentration von  $0,7 \pm 0,2$  mg·dl<sup>-1</sup> auf  $2,7 \pm 0,2$  mg·dl<sup>-1</sup> (jeweils  $p < 0,05$  vs. BL1; siehe Abb. 3.13). Alle übrigen Werte des Säure-Basen-Haushaltes (pH, BE<sub>ox</sub>) sowie die Serumelektrolyte (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid) zeigten zu diesem Zeitpunkt keine signifikanten Unterschiede (siehe Abb. 3.11 – 3.12 und Tab. 3.4).

Mit Beginn der Volumentherapie stieg in beiden Therapiegruppen die Chloridkonzentration signifikant an ( $p < 0,05$  vs. BL2). Während des gesamten Versuches waren in der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe tendenziell höhere Chloridkonzentrationen zu beobachten (siehe Abb. 3.11). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen in Bezug auf den arteriellen pH-Wert und den BE festgestellt werden, während beide Variablen in der Kontrollgruppe signifikant abfielen ( $p < 0,05$  vs. BL2; siehe Tabelle 3.4 und Abb. 3.12).

### 3.6 Veränderung von kolloidosmotischem Druck und Plasmaeiweiß

Der KOD aller Versuchsgruppen sank zwischen BL1 und BL2 im Mittel von  $24,6$  mmHg  $\pm 0,6$  auf  $21,6$  mmHg  $\pm 0,7$ .

In der Kontrollgruppe fiel der KOD ab dem Zeitpunkt BL2 nahezu linear ab. Innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe verhielt sich der KOD in den ersten 4 Stunden nach BL2 parallel zur Kontrollgruppe und fiel daraufhin überproportional ab. Der KOD der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe fiel bereits zum Zeitpunkt 2h auf Minimalwerte und blieb im weiteren Versuchsverlauf konstant niedrig (siehe Abb. 3.14).

Das Gesamteiweiß aller drei Versuchsgruppen fiel zwischen BL1 und BL2 im Mittel von  $7,27$  g/dl  $\pm 0,06$  auf  $6,57$  g/dl  $\pm 0,06$ . Während die Messwerte der Kontrollgruppe nahezu linear sanken, kam es in beiden Therapiegruppen zu einem überproportionalen Abfall der Gesamteiweißkonzentration (siehe Abb. 3.9).

### 3.7 Veränderungen der Nierenfunktion

Die Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen der Versuchstiere aller Gruppen stiegen zwischen BL1 und BL2 signifikant an. Während sowohl Kreatinin als auch Harnstoff in der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe nach der BL2-Messung abfielen, während für beide Variablen in der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe ein Anstieg zu beobachten war. Ab dem Zeitpunkt 4h unterschieden sich die Kreatinin-Konzentrationen der Versuchsgruppen signifikant voneinander und waren in der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe erhöht gegenüber der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe ( $p < 0,05$ ). In der Kontrollgruppe stieg die Konzentration im Versuchsverlauf frühzeitig und deutlich an und war signifikant erhöht gegenüber den Therapiegruppen ( $p < 0,05$ ; siehe Abb. 3.16 und 3.17).

Innerhalb der Kontrollgruppe war ab dem Zeitpunkt BL2 ein kontinuierlicher Abfall der Stundendiurese zu verzeichnen. In der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe hingegen stieg die Diurese über die Zeit signifikant an. Die Diurese der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe verhielt sich in den ersten vier Stunden nach BL2 parallel zur Kontrollgruppe, stieg daraufhin an und pendelte sich zwischen der Kontroll- und der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe ein (siehe Abb. 3.15).

Die Kreatinin-Clearance der Tiere aller drei Versuchsgruppen fiel im Verlauf des Versuches signifikant ab ( $p < 0,05$  vs. BL2; siehe Abb. 3.18). Es existierten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen bezüglich der Kreatinin-Clearance.

### 3.8 Ultrastrukturelle Organschäden

Die Organgewichte der Versuchstiere zeigten gruppenspezifische Unterschiede. So waren die Organe von Versuchstieren aus der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe mit Ausnahme der Lungen durchgehend schwerer als die der anderen Studiengruppen (siehe Tabelle 3.6). Das durchschnittliche Gewicht der Nieren innerhalb der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe lag über denen der Volulyte<sup>®</sup>- und der Kontroll-Gruppe (siehe Tabelle 3.6). Die höchsten Lungengewichte wurden bei den Tieren der Kontroll-Gruppe gegenüber denen der Volulyte<sup>®</sup>- und der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe gemessen (siehe Tabelle 3.6).

In beiden Therapiegruppen wurde eine Zunahme der Körpergewichtsdifferenz  $\Delta$  KG festgestellt, wohingegen die Tiere der Kontrollgruppe ein negatives  $\Delta$  KG gegenüber BL1 aufwiesen. Die Körpergewichtszunahme war in der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe am

stärksten ausgeprägt (siehe Tab. 3.6), allerdings ohne statistische Signifikanz gegenüber der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe.

Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ergab für die Tiere der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe signifikant niedrigere Werte ( $p < 0,05$ ) des unter Kapitel 2.10 beschriebenen EMTI-Scores verglichen mit den Tieren der Jonosteril<sup>®</sup>- und Kontroll-Gruppe (siehe Abb. 3.28). Vakuoläre Degeneration wurde in der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe häufiger beobachtet (siehe Abb. 3.23), während Zellschaden und tubuläre Obstruktion innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe signifikant geringer ausgeprägt waren im Vergleich zur Kontroll- und Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe ( $p < 0,05$ ; siehe Abb. 3.24 - 3.25). Darüber hinaus war der Anteil intakter Mikrovilli der Nierentubuli innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe am größten (siehe Abb. 3.27).

### **3.9 Überlebenszeiten**

Da jeweils 2 Tiere pro Gruppe für die *ex vivo* Entnahme von Organproben für die Elektronenmikroskopie verwendet wurden, wurden nur jeweils 8 Tiere der beiden Therapiegruppen und 6 Tiere der Kontrollgruppe in die statistische Analyse der Überlebensraten und -zeiten einbezogen. Es überlebten jeweils 3 Tiere der Therapiegruppen die 12-stündige Interventionsphase, während alle Tiere der Kontrollgruppe verstarben. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in den Überlebensraten der drei Gruppen ( $p = 0,21$ ). Die Analyse der Überlebenszeiten mit dem Log-Rank-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen ( $p = 0,03$ ). Nach Adjustierung der p-Werte ergab der direkte Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen mit dem Holm-Sidak-Test allerdings keinen signifikanten Unterschied (siehe Abb. 3.19).

Tabelle 3.1 Daten der systemischen Hämodynamik

Variable	Gruppe	BL 1	BL 2	2 h	4 h	8 h	12 h
CVP [mmHg]	Kontrolle	8 ± 1	3 ± 3	2 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	n.b.
	Jonosteril	10 ± 1	6 ± 1	12 ± 1 <sup>#</sup>	13 ± 1 <sup>#</sup>	13 ± 1 <sup>#</sup>	15 ± 4
	Volulyte	9 ± 1	5 ± 1	14 ± 1 <sup>§</sup>	14 ± 1 <sup>§</sup>	13 ± 1 <sup>§</sup>	18 ± 3
PCWP [mmHg]	Kontrolle	11 ± 1	8 ± 2	6 ± 1	9 ± 2	10 ± 1	n.b.
	Jonosteril	11 ± 1	11 ± 2	14 ± 1 <sup>#</sup>	14 ± 1 <sup>#</sup>	17 ± 3 <sup>#*</sup>	25 ± 15 <sup>*</sup>
	Volulyte	10 ± 1	9 ± 1	14 ± 1 <sup>§</sup>	14 ± 1 <sup>§</sup>	12 ± 2 <sup>§</sup>	17 ± 2
SVRI [dyne·s·cm <sup>-5</sup> ·m <sup>2</sup> ]	Kontrolle	1316 ± 90	1372 ± 98	1384 ± 162	1655 ± 215	2329 ± 501	n.b.
	Jonosteril	1115 ± 61	1134 ± 86	732 ± 60 <sup>#</sup>	760 ± 76 <sup>#</sup>	637 ± 73 <sup>#</sup>	646 ± 131
	Volulyte	1330 ± 60	1107 ± 63	737 ± 50 <sup>§</sup>	754 ± 90 <sup>§</sup>	537 ± 59 <sup>§</sup>	642 ± 199
SVI [ml·Schlag <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> ]	Kontrolle	64 ± 7	32 ± 2	33 ± 2	31 ± 3	22 ± 6	n.b.
	Jonosteril	71 ± 3	38 ± 3	53 ± 3 <sup>#</sup>	53 ± 4 <sup>#</sup>	62 ± 3 <sup>#</sup>	63 ± 7
	Volulyte	64 ± 3	39 ± 5	49 ± 3 <sup>§</sup>	46 ± 4 <sup>§</sup>	60 ± 6 <sup>§</sup>	65 ± 4
LVSWI [g·m <sup>-1</sup> ·m <sup>2</sup> ]	Kontrolle	76 ± 11	24 ± 2	31 ± 1	30 ± 4	19 ± 4	n.b.
	Jonosteril	79 ± 3	27 ± 2	46 ± 4 <sup>#</sup>	43 ± 4	54 ± 3 <sup>#</sup>	56 ± 12
	Volulyte	73 ± 4	29 ± 3	42 ± 3	39 ± 4	54 ± 5 <sup>§</sup>	77 ± 19

**Legende:** CVP = zentralvenöser Druck, LVSWI = linksventrikulärer Schlagarbeitsindex, PCWP = pulmonal-kapillärer Wedge-Druck, SVI = Schlagvolumenindex, SVRI = systemvaskulärer Widerstandsindex

# = Jonosteril vs. Kontrolle, § = Volulyte vs. Kontrolle, \* = Jonosteril vs. Volulyte

Tabelle 3.2 Daten der pulmonalen Hämodynamik

Variable	Gruppe	BL 1	BL 2	2 h	4 h	8 h	12 h
MPAP [mmHg]	Kontrolle	19 ± 0	25 ± 2	24 ± 3	26 ± 2	34 ± 5	n.b.
	Jonosteril	19 ± 1	27 ± 3	28 ± 1	30 ± 2	33 ± 3	41 ± 11
	Volulyte	19 ± 1	24 ± 2	31 ± 1	32 ± 1	30 ± 1	39 ± 3
RVSWI [g·m <sup>-1</sup> ·m <sup>2</sup> ]	Kontrolle	10 ± 1	10 ± 1	10 ± 1	9 ± 1	9 ± 2	n.b.
	Jonosteril	9 ± 1	11 ± 1	11 ± 1	12 ± 1	16 ± 2 <sup>#</sup>	22 ± 8
	Volulyte	8 ± 1	11 ± 2	11 ± 1	10 ± 1	13 ± 2	19 ± 5

**Legende:** MPAP = mittlerer pulmonalarterieller Druck, RVSWI = rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex

# = Jonosteril vs. Kontrolle



**Tabelle 3.3** Daten der globalen Sauerstoffversorgung

Variable	Gruppe	BL 1	BL 2	2 h	4 h	8 h	12 h
$p_a\text{CO}_2$ [mmHg]	Kontrolle	37 ± 2	38 ± 2	37 ± 1	39 ± 1	38 ± 4	n.b.
	Jonosteril	36 ± 1	36 ± 1	38 ± 1	39 ± 1	41 ± 2	39 ± 1*
	Volulyte	36 ± 1	37 ± 2	39 ± 2	42 ± 3	42 ± 2	57 ± 8
$\text{VO}_2\text{I}$ [ml·min <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> ]	Kontrolle	263 ± 22	220 ± 12	221 ± 23	231 ± 20	287 ± 40	n.b.
	Jonosteril	310 ± 12	221 ± 11	251 ± 17	229 ± 16	292 ± 28	246 ± 22*
	Volulyte	259 ± 6	233 ± 8	214 ± 18	229 ± 16	277 ± 18	407 ± 134
Horowitz-Index [mmHg]	Kontrolle	494 ± 9	483 ± 19	496 ± 15	504 ± 21	475 ± 24	n.b.
	Jonosteril	504 ± 9	497 ± 21	471 ± 28	428 ± 27 <sup>#</sup>	382 ± 24 <sup>#</sup>	358 ± 93
	Volulyte	519 ± 15	497 ± 17	493 ± 17	477 ± 18	433 ± 5	357 ± 17

**Legende:**  $p_a\text{CO}_2$  = arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck,  $\text{VO}_2\text{I}$  = Sauerstoffverbrauchsindex

# = Jonosteril vs. Kontrolle, \* = Jonosteril vs. Volulyte

**Tabelle 3.4** Daten des Säure-Basen-Haushalts, der Serumelektrolyte und der Körperkerntemperatur

Variable	Gruppe	BL 1	BL 2	2 h	4 h	8 h	12 h
pH <sub>a</sub> [-log <sub>10</sub> cH <sup>+</sup> ]	Kontrolle	7,46 ± 0,00	7,44 ± 0,01	7,43 ± 0,01	7,41 ± 0,01	7,33 ± 0,04	n.b.
	Jonosteril	7,48 ± 0,01	7,44 ± 0,01	7,42 ± 0,02	7,41 ± 0,02	7,38 ± 0,03	7,38 ± 0,01
	Volulyte	7,47 ± 0,01	7,45 ± 0,01	7,42 ± 0,01	7,38 ± 0,02	7,36 ± 0,02	7,29 ± 0,06
Natrium [mmol·l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	143 ± 1	144 ± 1	145 ± 1	146 ± 1	148 ± 2	n.b.
	Jonosteril	145 ± 1	145 ± 1	144 ± 1	146 ± 1	147 ± 2	151 ± 5
	Volulyte	146 ± 2	145 ± 1	144 ± 1	144 ± 1	143 ± 1	144 ± 0
Kalium [mmol·l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	3,9 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,1	4,0 ± 0,2	4,4 ± 0,3	n.b.
	Jonosteril	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,3 ± 0,2	3,5 ± 0,6*
	Volulyte	3,9 ± 0,1	3,9 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,7 ± 0,2	5,1 ± 0,4
Hkt [%]	Kontrolle	37 ± 2	44 ± 2	43 ± 2	43 ± 3	49 ± 2	n.b.
	Jonosteril	35 ± 2	40 ± 2	33 ± 1 <sup>#</sup>	31 ± 1 <sup>#</sup>	29 ± 2 <sup>#</sup>	30 ± 3
	Volulyte	35 ± 1	41 ± 2	30 ± 1 <sup>§</sup>	31 ± 1 <sup>§</sup>	30 ± 2 <sup>§</sup>	26 ± 4
T [C]	Kontrolle	39,5 ± 0,2	40,8 ± 0,4	40,5 ± 0,2	40,1 ± 0,3	40,7 ± 0,2	n.b.
	Jonosteril	39,6 ± 0,1	41,0 ± 0,2	40,2 ± 0,3*	40,1 ± 0,1	40,0 ± 0,2 <sup>#</sup>	39,7 ± 0,6*
	Volulyte	39,4 ± 0,1	41,5 ± 0,2	40,9 ± 0,2	40,6 ± 0,1	40,2 ± 0,2	41,0 ± 0,4
Hb [g·dl <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	12,0 ± 0,5	14,5 ± 0,8	13,9 ± 0,7	14,2 ± 0,9	16,0 ± 0,8	n.b.
	Jonosteril	11,3 ± 0,5	13 ± 0,5	10,6 ± 0,4 <sup>#</sup>	10,2 ± 0,5 <sup>#</sup>	9,5 ± 0,6 <sup>#</sup>	9,7 ± 1,0
	Volulyte	11,4 ± 0,4	13,2 ± 0,7	9,8 ± 0,4 <sup>§</sup>	10,1 ± 0,4 <sup>§</sup>	9,6 ± 0,7 <sup>§</sup>	8,3 ± 1,3

**Legende:** Hb = Hämoglobinkonzentration, Hkt = Hämatokrit, pH<sub>a</sub> = arterieller pH-Wert, T = Körperkerntemperatur

# = Jonosteril vs. Kontrolle, § = Volulyte vs. Kontrolle, \* = Jonosteril vs. Volulyte

Tabelle 3.5 Daten der Organschädigung

Variable	Gruppe	BL 1	BL 2	2 h	4 h	8 h	12 h
Trop I [ng·ml <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,2 ± 0,07	n.b.
	Jonosteril	0,03 ± 0,03	0 ± 0	0,08 ± 0,04	0,09 ± 0,05	0,11 ± 0,08	0 ± 0
	Volulyte	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,2 ± 0,16	0,6 ± 0,45*
GOT [U·l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	299 ± 43	286 ± 43	280 ± 41	290 ± 48	299 ± 60	n.b.
	Jonosteril	314 ± 52	305 ± 49	225 ± 30	212 ± 24	161 ± 21	174 ± 19
	Volulyte	294 ± 41	285 ± 34	181 ± 24	171 ± 24	134 ± 19	171 ± 38
GPT [U·l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	45 ± 7	45 ± 7	44 ± 7	45 ± 7	56 ± 7	n.b.
	Jonosteril	49 ± 8	49 ± 8	36 ± 5	33 ± 3	26 ± 3	27 ± 3
	Volulyte	51 ± 7	49 ± 6	31 ± 4	28 ± 4	21 ± 2	24 ± 4
LDH [U·l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	807 ± 69	754 ± 68	756 ± 91	806 ± 101	976 ± 160	n.b.
	Jonosteril	758 ± 68	639 ± 53	385 ± 53 <sup>#</sup>	310 ± 64 <sup>#</sup>	245 ± 79 <sup>#</sup>	148 ± 87
	Volulyte	574 ± 37	543 ± 33	406 ± 31 <sup>§</sup>	358 ± 35 <sup>§</sup>	238 ± 43 <sup>§</sup>	244 ± 113
Bilirubin [mg·dl <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	n.b.
	Jonosteril	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0*	0,3 ± 0,1 <sup>#*</sup>	0,4 ± 0,1*
	Volulyte	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0 <sup>§</sup>	0,2 ± 0,1
Lipase [U·l <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	10 ± 0,8	10 ± 0,5	11 ± 0,8	12 ± 0,9	16 ± 1,7	n.b.
	Jonosteril	8 ± 0,7	8 ± 0,6	7 ± 0,4 <sup>#</sup>	6 ± 0,5 <sup>#</sup>	7 ± 1,5 <sup>#</sup>	5 ± 1,5
	Volulyte	10 ± 0,7	9 ± 0,6	6 ± 0,4 <sup>§</sup>	7 ± 0,4 <sup>§</sup>	6 ± 0 <sup>§</sup>	7 ± 0,7

**Legende:** GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase-Aktivität, GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Aktivität, LDH = Laktat-Dehydrogenase-Aktivität, Trop I = Troponin-I-Konzentration (0 = unterhalb der Nachweisgrenze)

# = Jonosteril vs. Kontrolle, § = Volulyte vs. Kontrolle, \* = Jonosteril vs. Volulyte

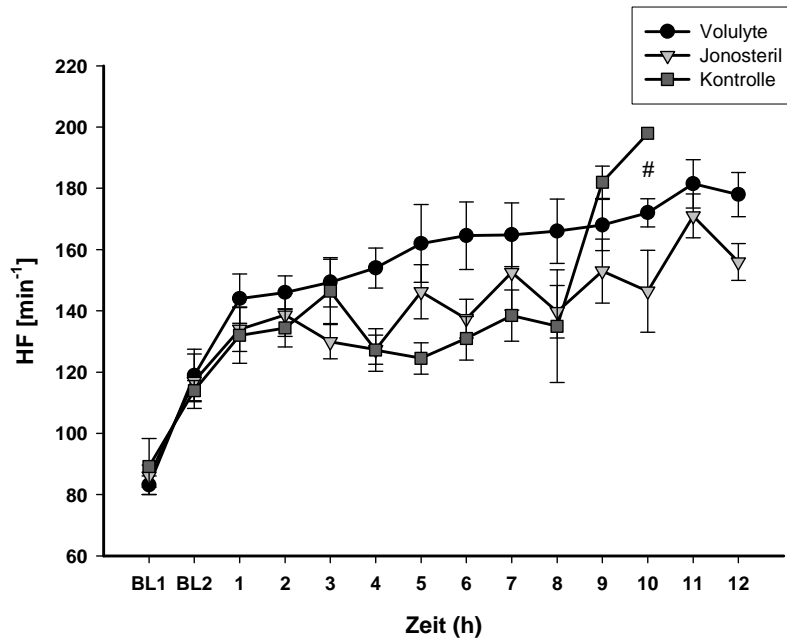
Tabelle 3.6 Postmortale Organgewichte und Körpergewichtsdifferenz (Angaben in g)

	Herz	Lungen	Nieren	Ileum	Colon	Δ KG
Kontrolle	222,5 ± 15,8	899,3 ± 176	157,5 ± 15,7	27,5 ± 5,5	62,8 ± 6	-2550 ± 477
Jonosteril	264,6 ± 11,0	826,8 ± 58,1	203,4 ± 8,8 <sup>#</sup>	35,5 ± 3,5	126,1 ± 10,1 <sup>#</sup>	8786 ± 2475 <sup>#</sup>
Volulyte	261,6 ± 13,4	835,8 ± 34,8	186 ± 13,8	33,6 ± 2,4	89,9 ± 11,9	5012 ± 1394 <sup>§</sup>

**Legende:** ΔKG = Differenz des Körpergewichtes (final vs. BL1)

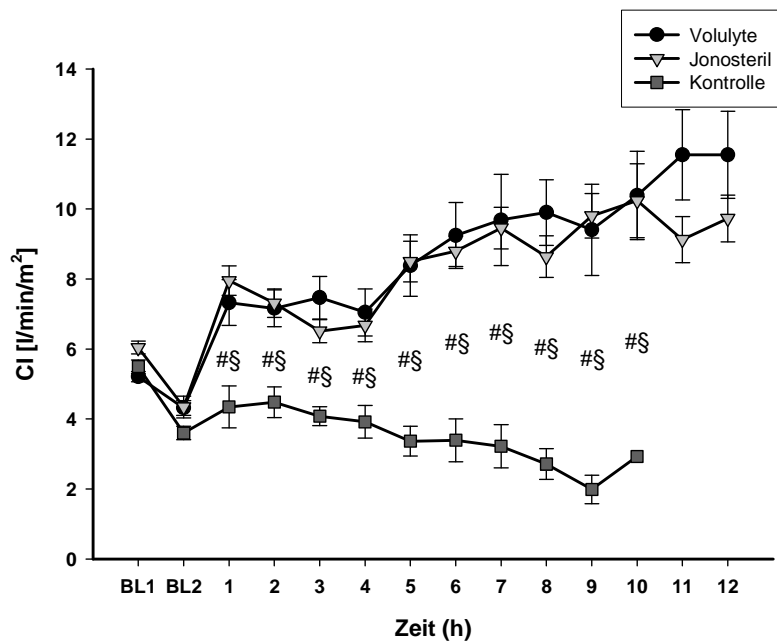
# = Jonosteril vs. Kontrolle, § = Volulyte vs. Kontrolle

Abbildung 3.1 Herzfrequenz



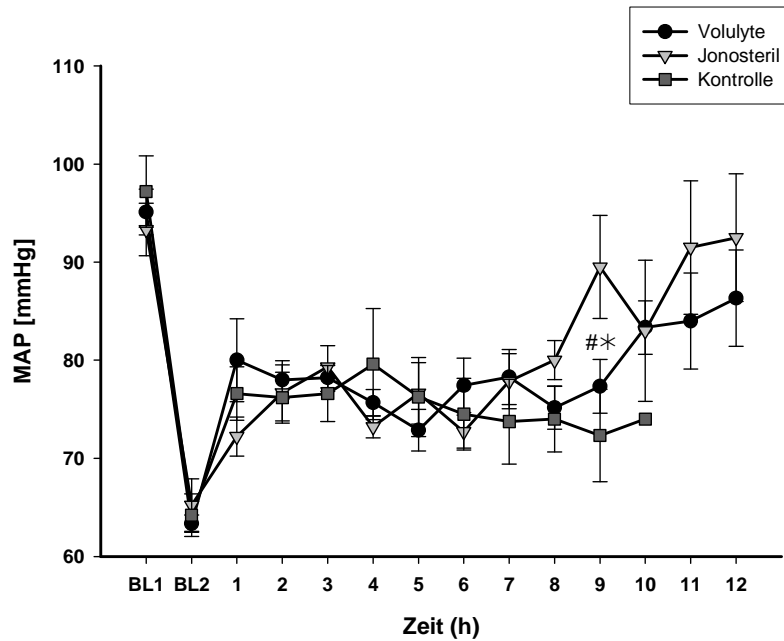
Legende: # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle,

Abbildung 3.2 Herzindex



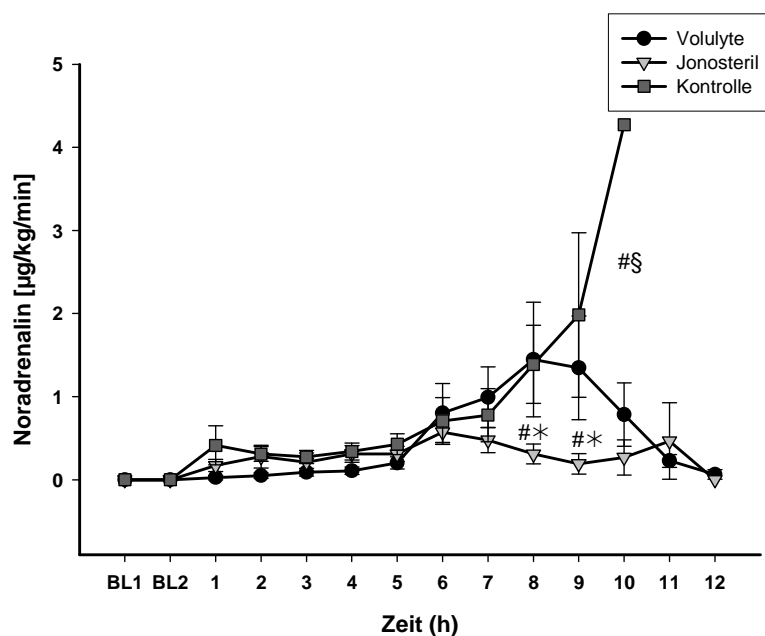
Legende: # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle

Abbildung 3.3 Mittlerer arterieller Blutdruck



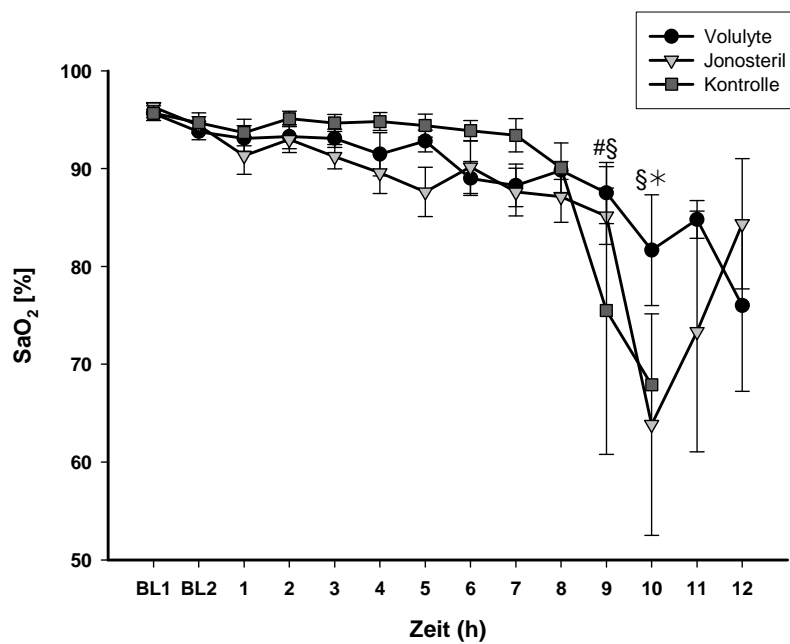
Legende: # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.4 Noradrenalinbedarf



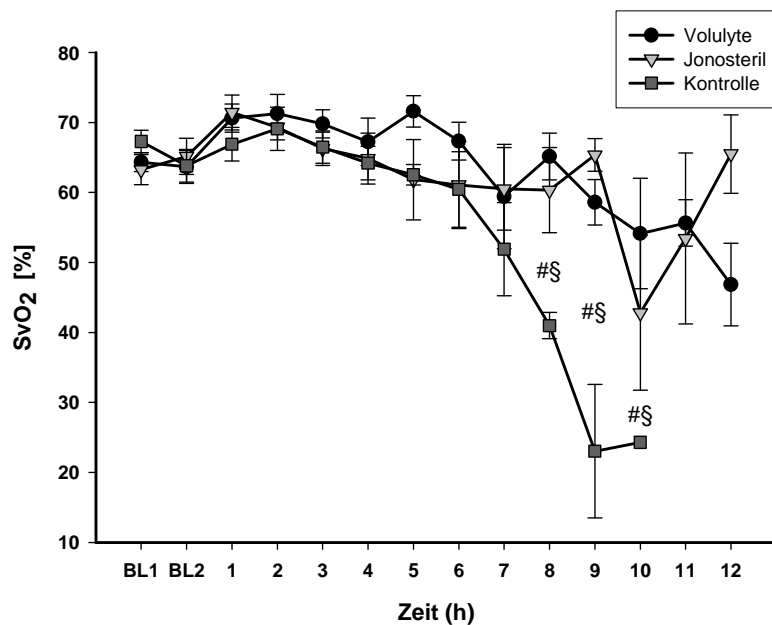
Legende: # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.5 Arterielle Sauerstoffsättigung



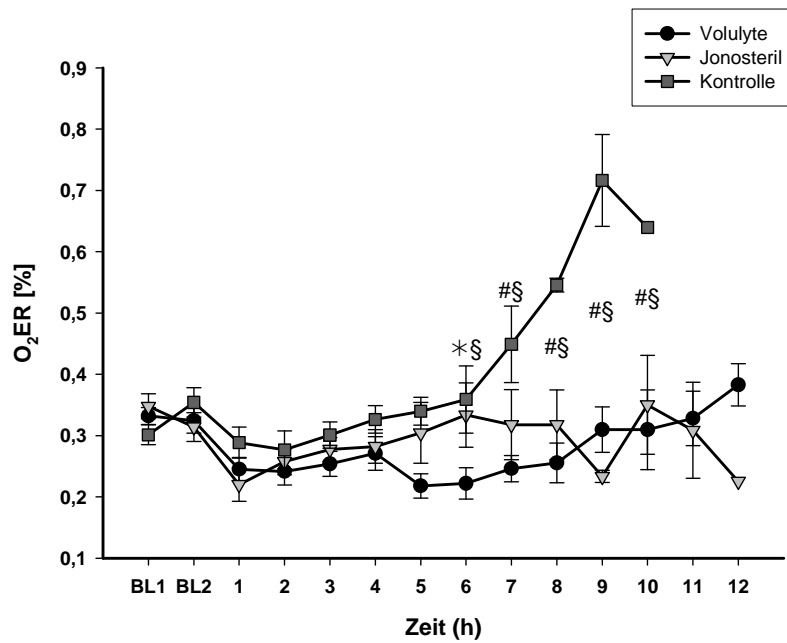
**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.6 Gemischtvenöse Sauerstoffsättigung



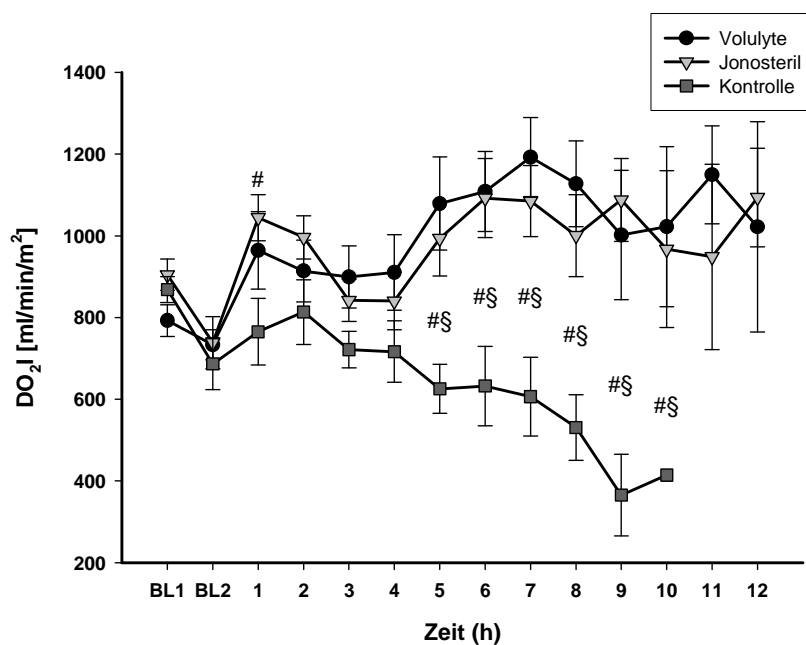
**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.7 Sauerstoff-Extraktionsrate



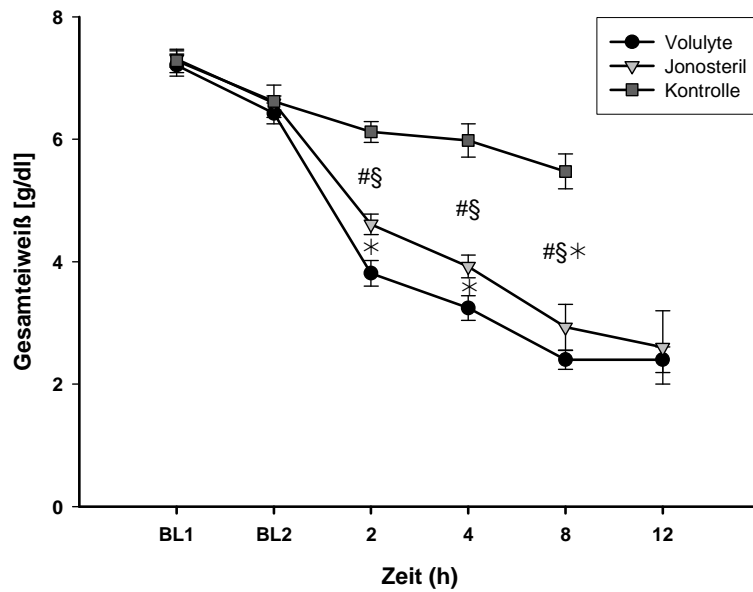
**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.8 Sauerstoffangebotsindex



**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle,

Abbildung 3.9 Gesamteiweiß



**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.10 Serumosmolalität

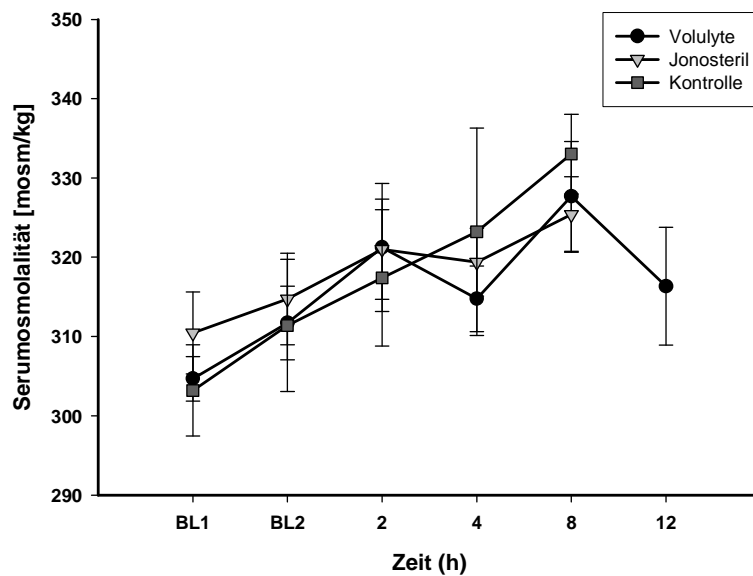
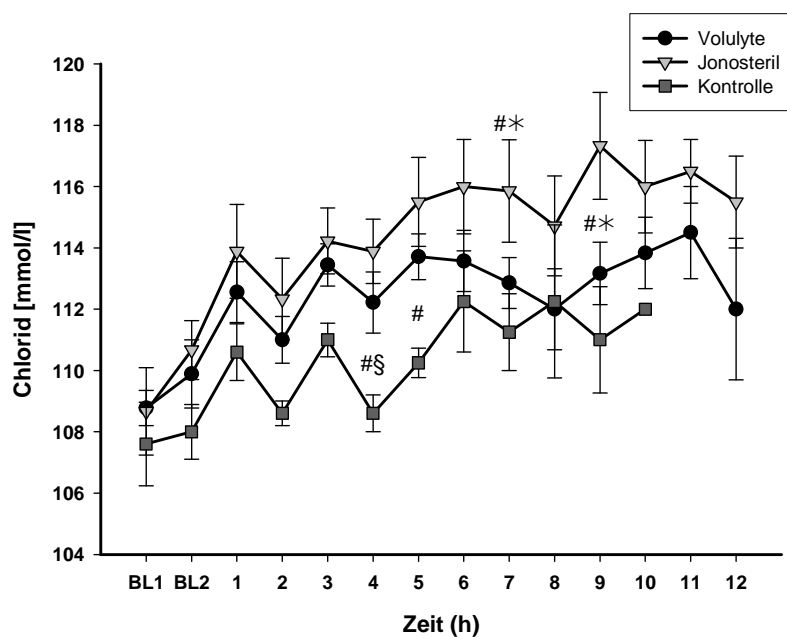


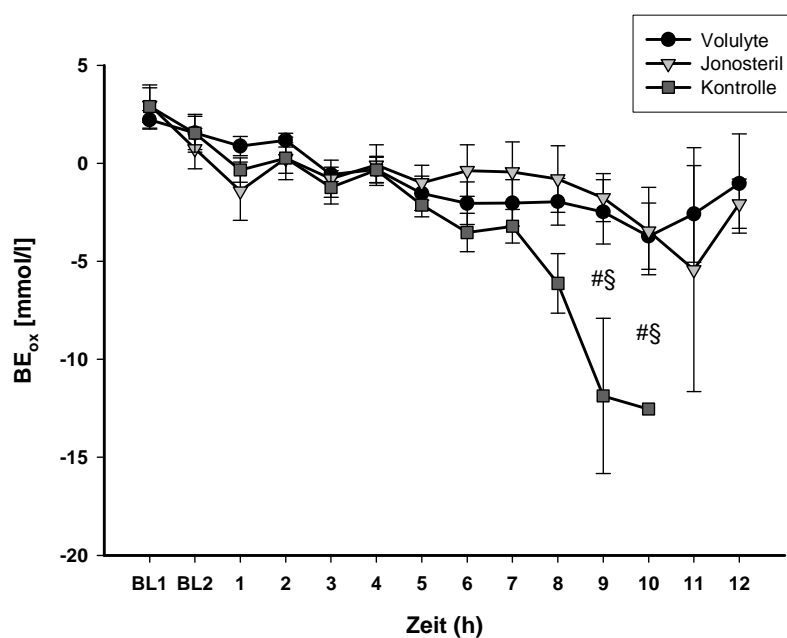


Abbildung 3.11 Serumchloridkonzentration



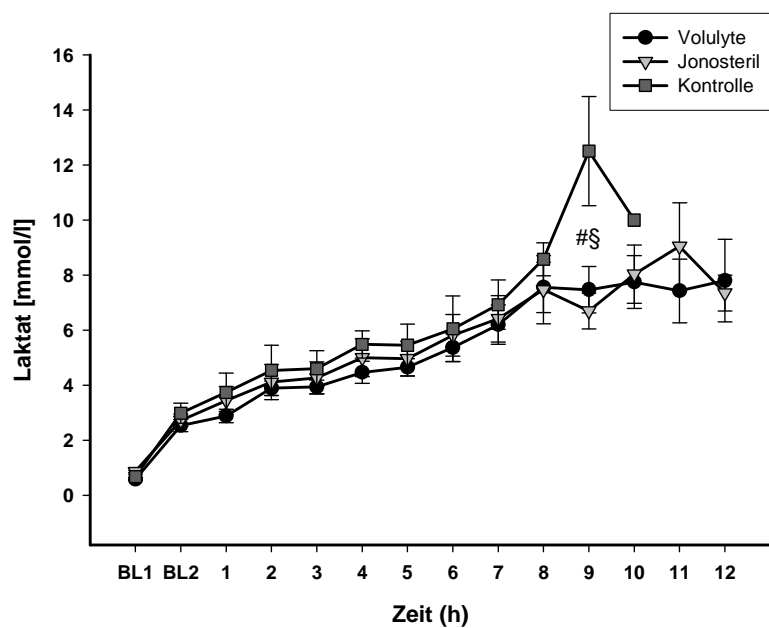
**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.12 Oxymetrie-korrigierter Basenüberschuss



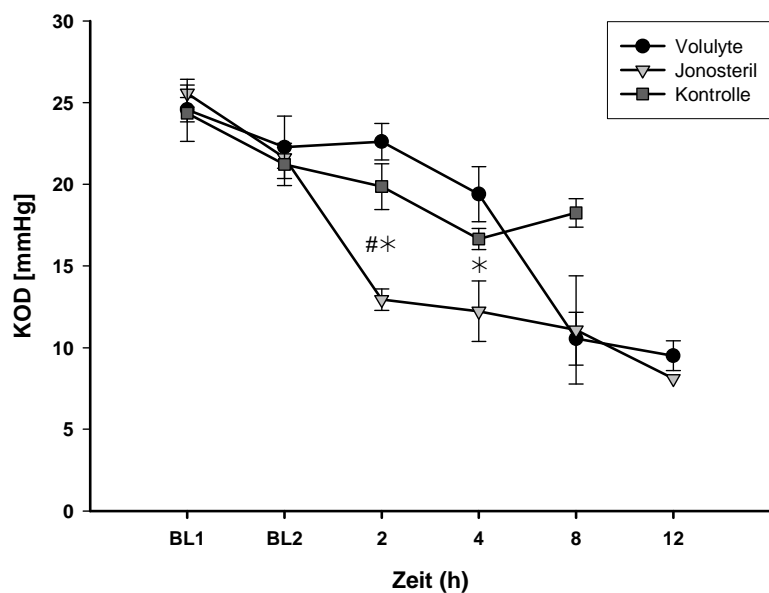
**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle,

Abbildung 3.13 Plasmalaktatkonzentration



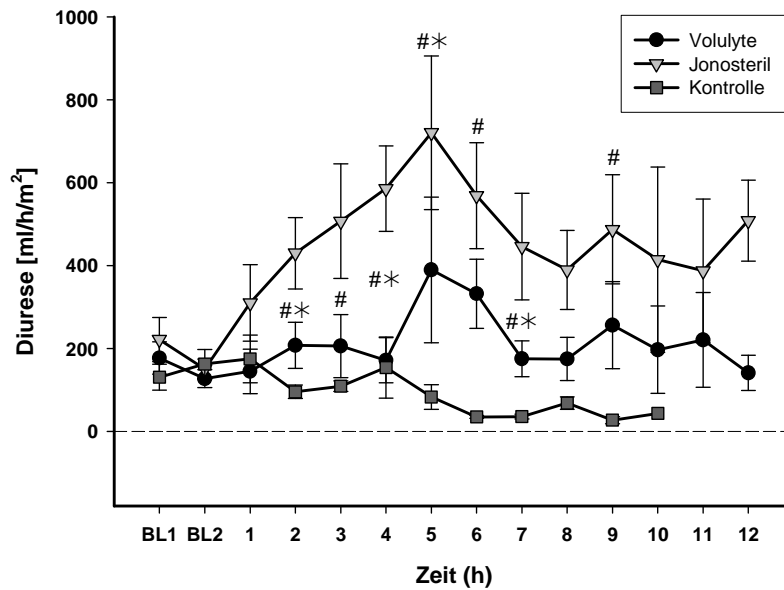
Legende: # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle,

Abbildung 3.14 Kolloidosmotischer Druck



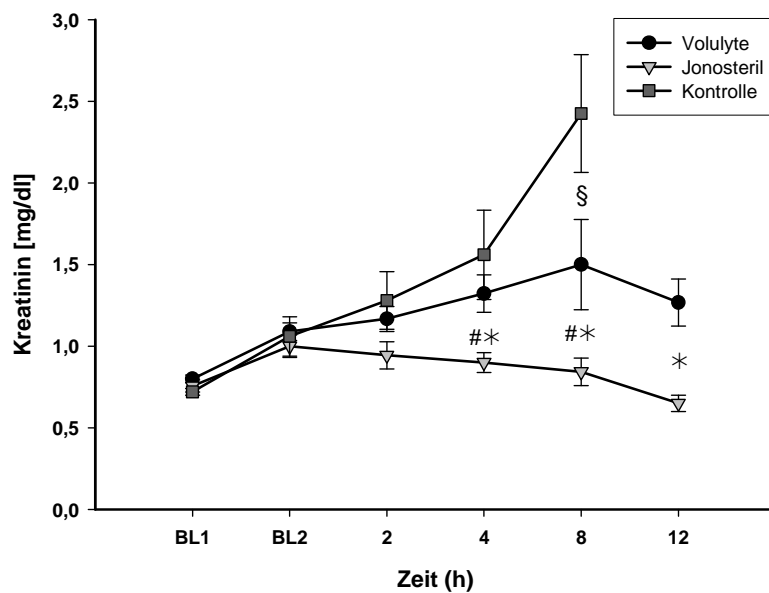
Legende: # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.15 Stundendiurese



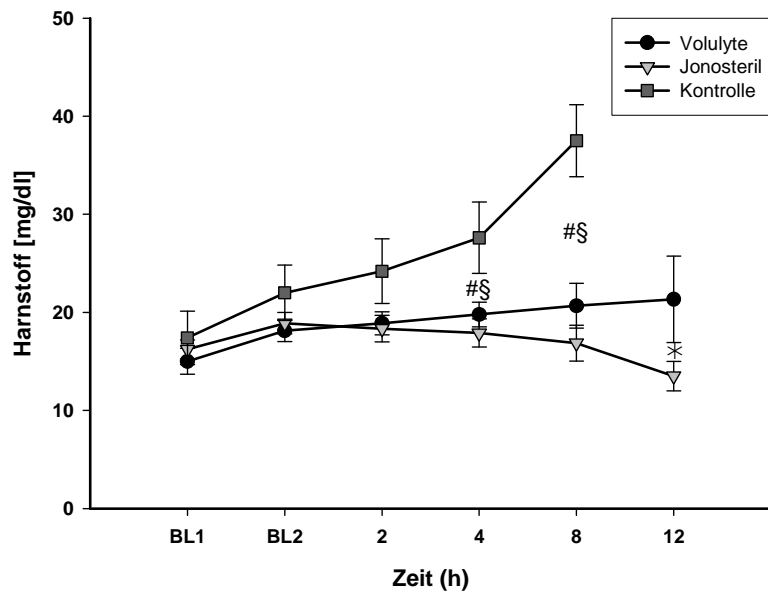
Legende: #p<0,05 Jonosteril vs. Kontrolle, \*p<0,05 Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.16 Plasmakreatininkonzentration



Legende: #p<0,05 Jonosteril vs. Kontrolle, §p<0,05 Volulyte vs. Kontrolle, \*p<0,05 Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.17 Plasmaharnstoffkonzentration



**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.18 Kreatinin-Clearance

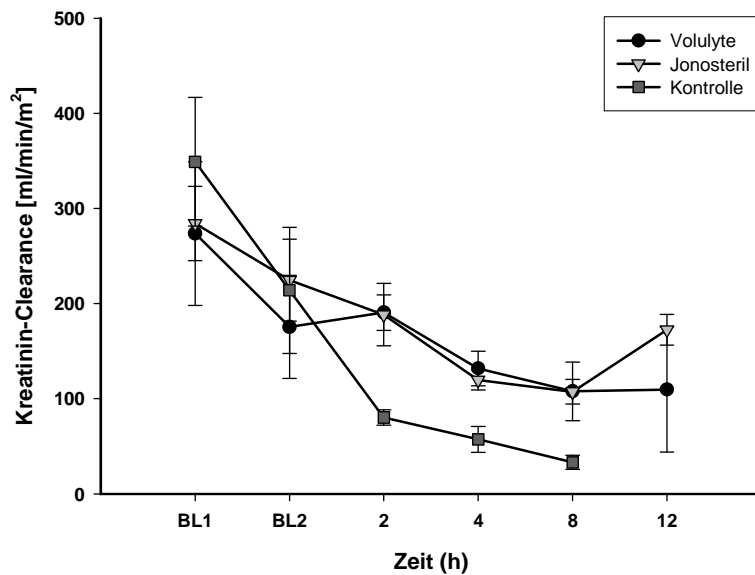
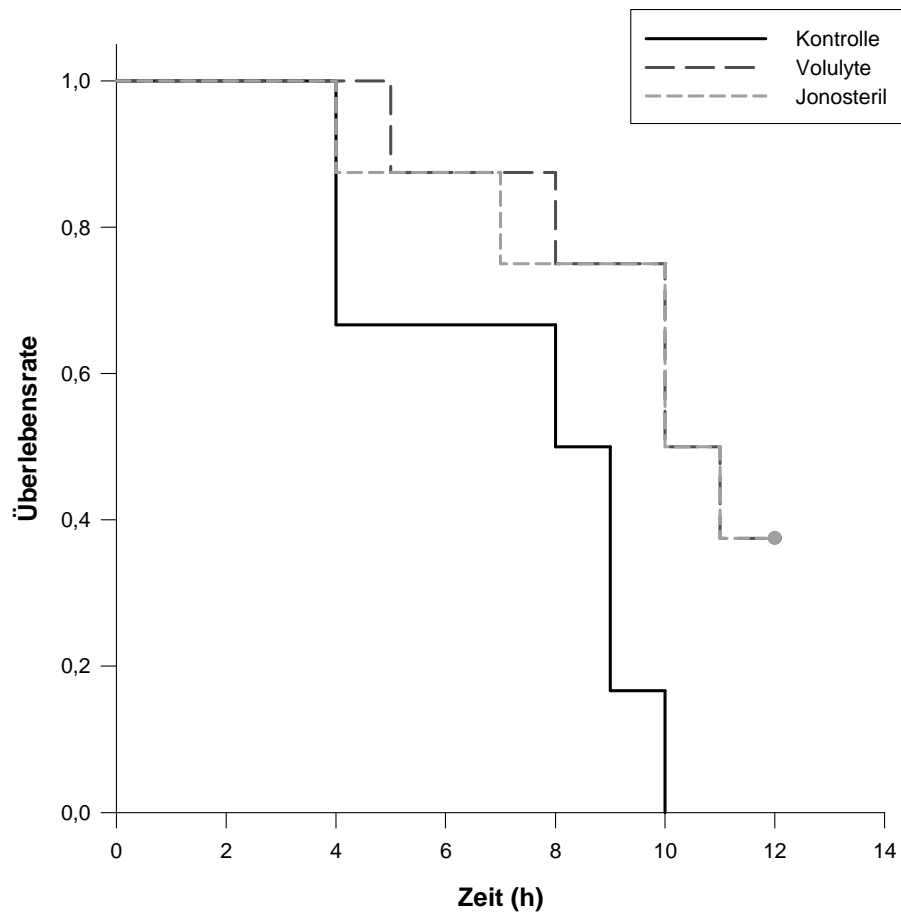
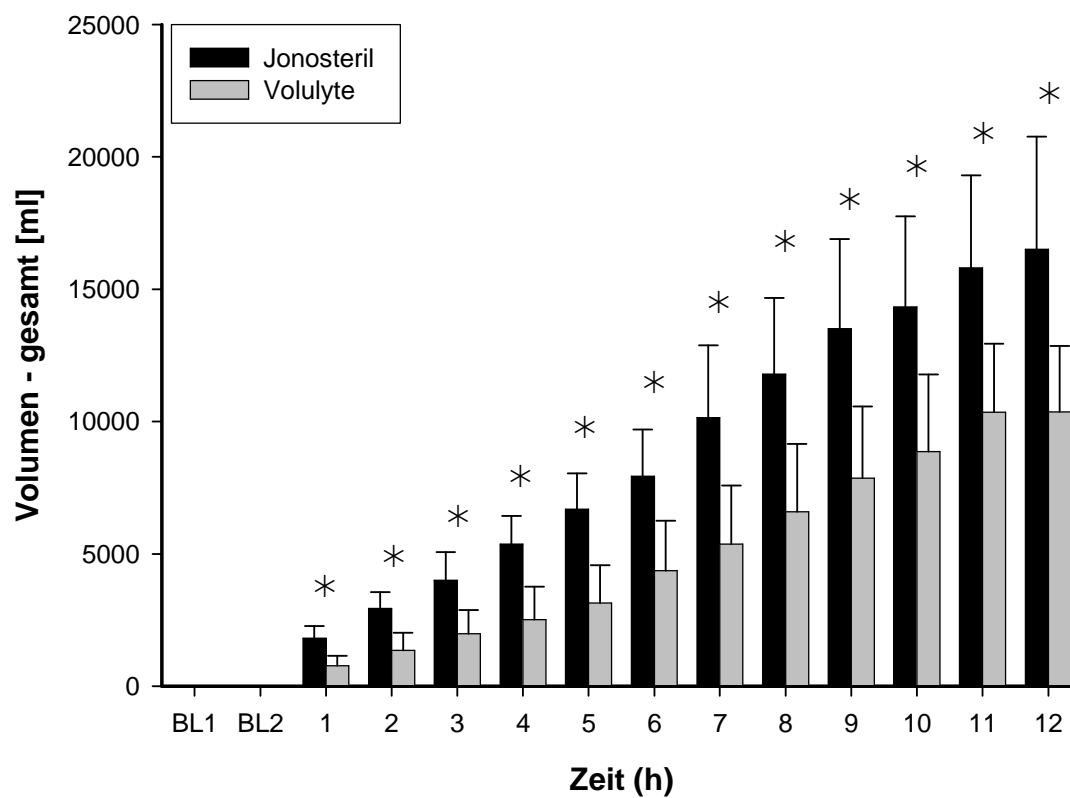


Abbildung 3.19 Überlebenszeiten



Log rank-Test p-Wert: 0,03

Abbildung 3.20 Kumulatives appliziertes Gesamtvolumen



Legende: \*p<0,05 Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.21 Kumulative Kolloidgabe

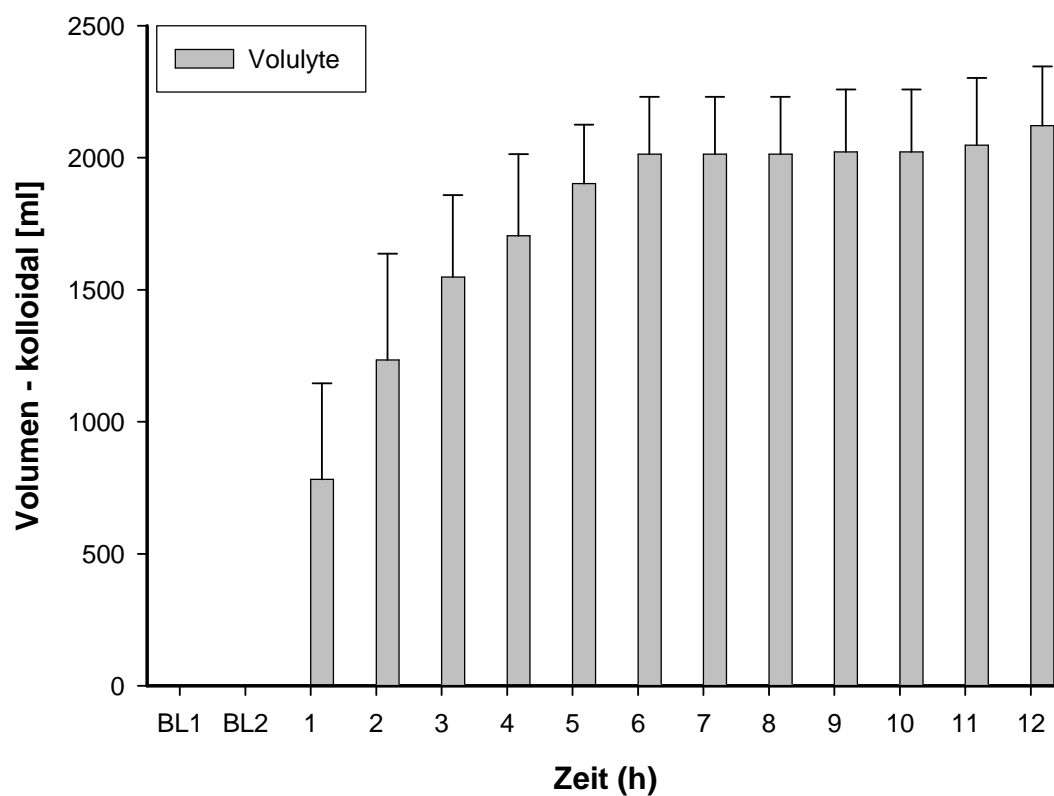
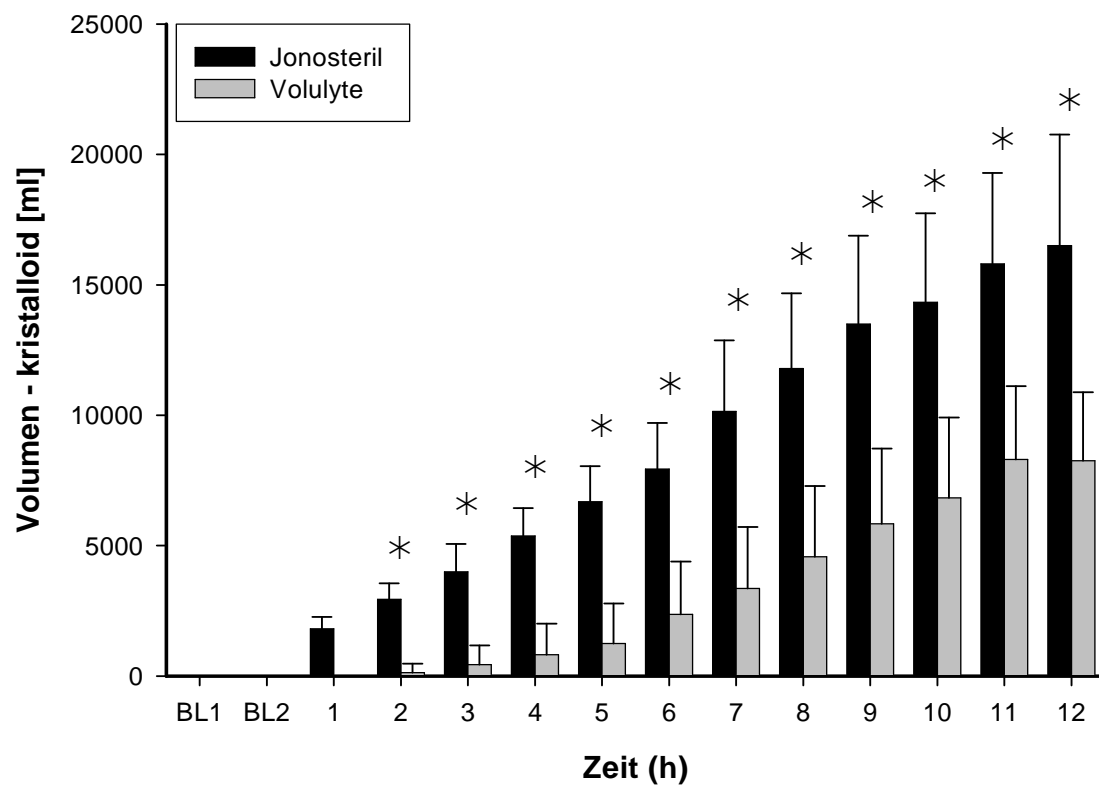
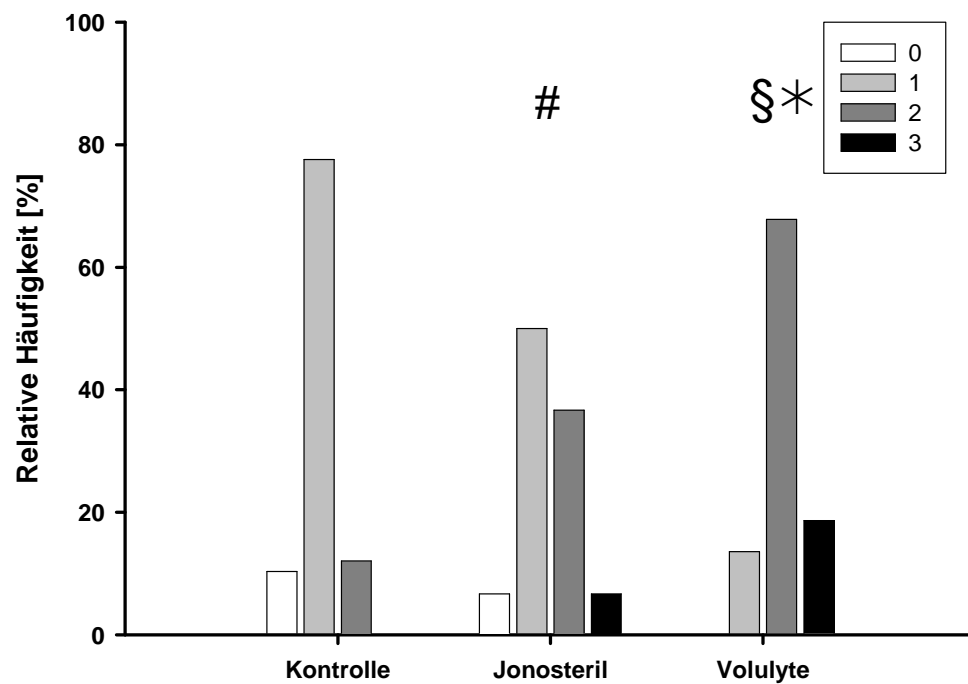


Abbildung 3.22 Kumulative Kristalloidgabe



Legende: \*p<0,05 Volulyte vs. Jonosteril

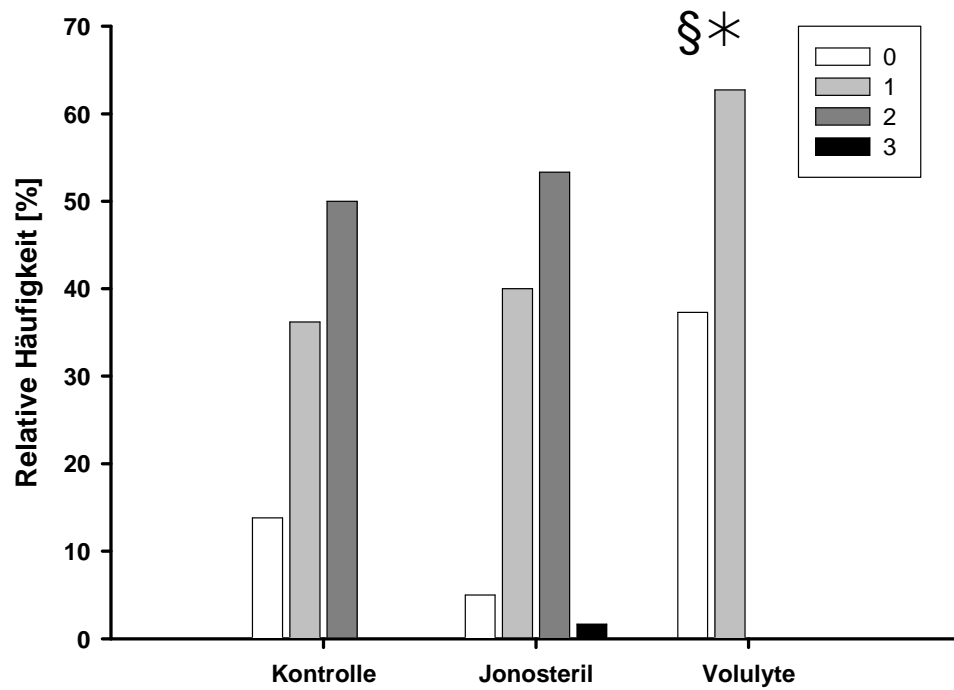
Abbildung 3.23 Vakuoläre Degeneration



**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

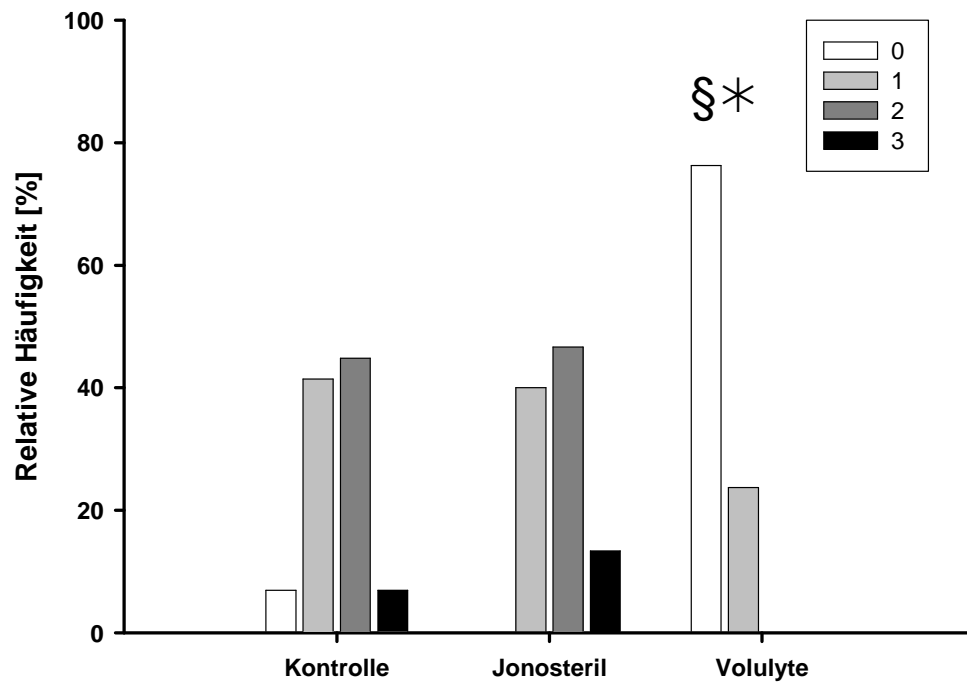


Abbildung 3.24 Tubulärer Zellschaden



**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.25 Tubuläre Obstruktion



**Legende:** § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.26 Dissoziation der Basalmembran

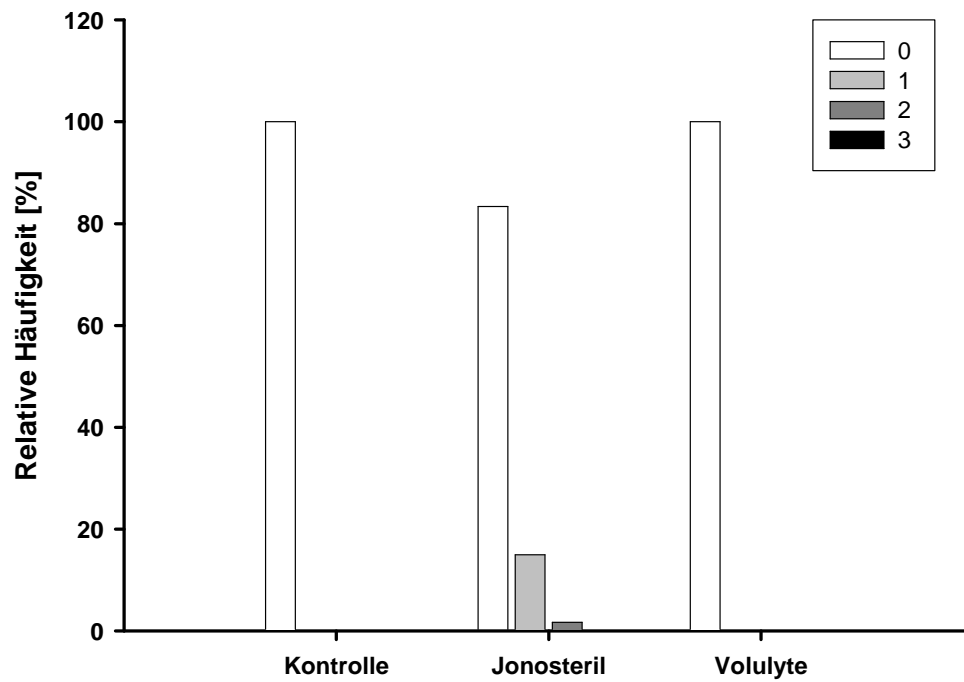
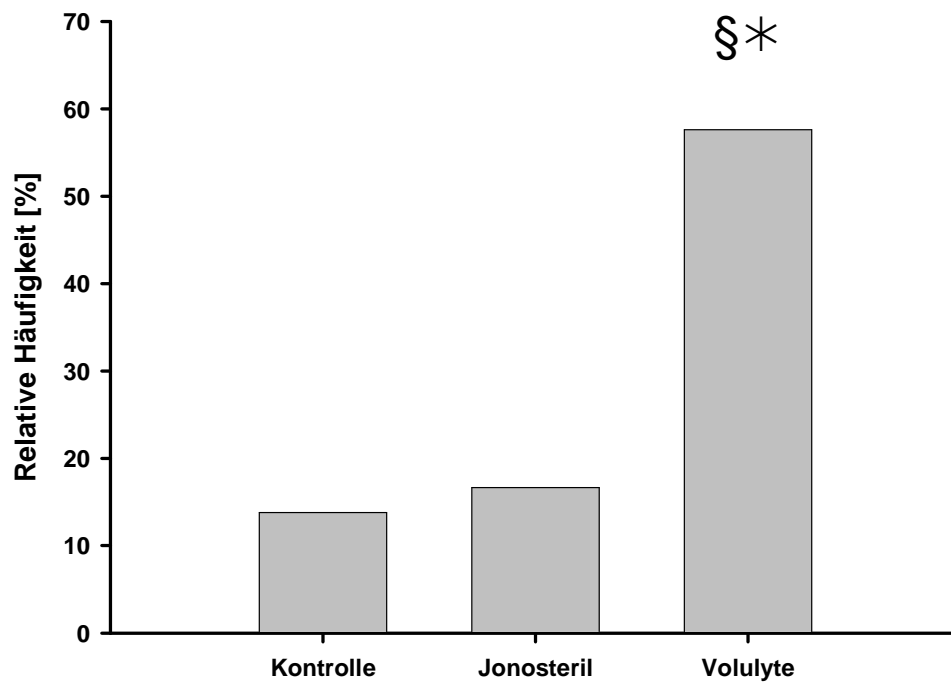
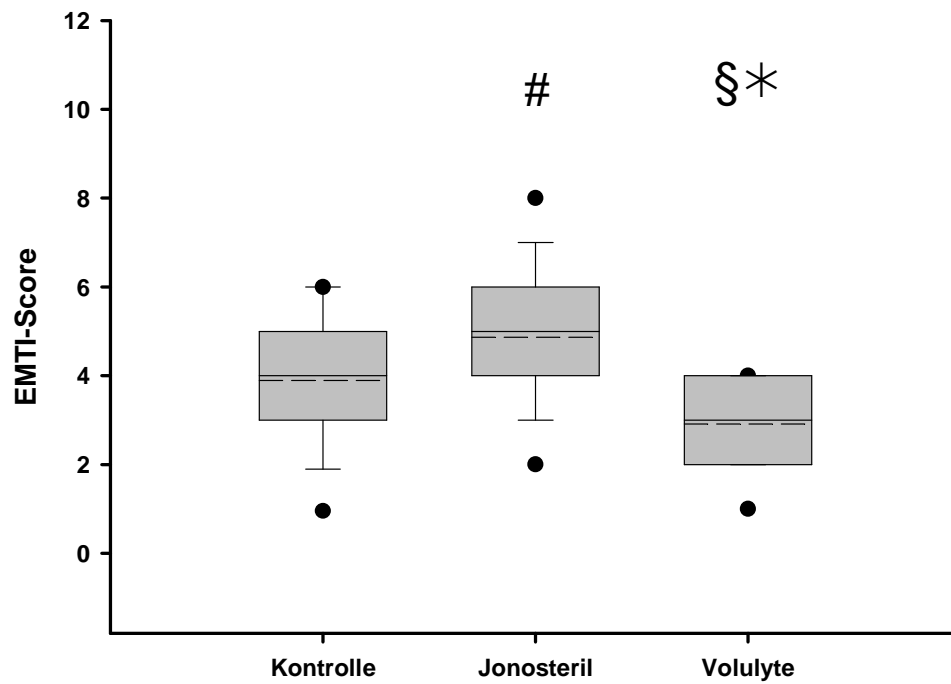


Abbildung 3.27 Intakter Microvilli-Bürstensaum



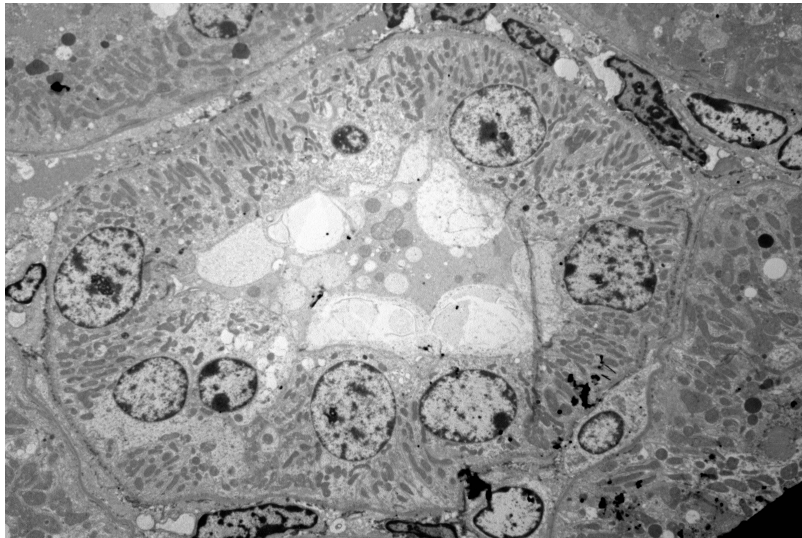
Legende: § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

Abbildung 3.28 Kumulativer EMTI-Score

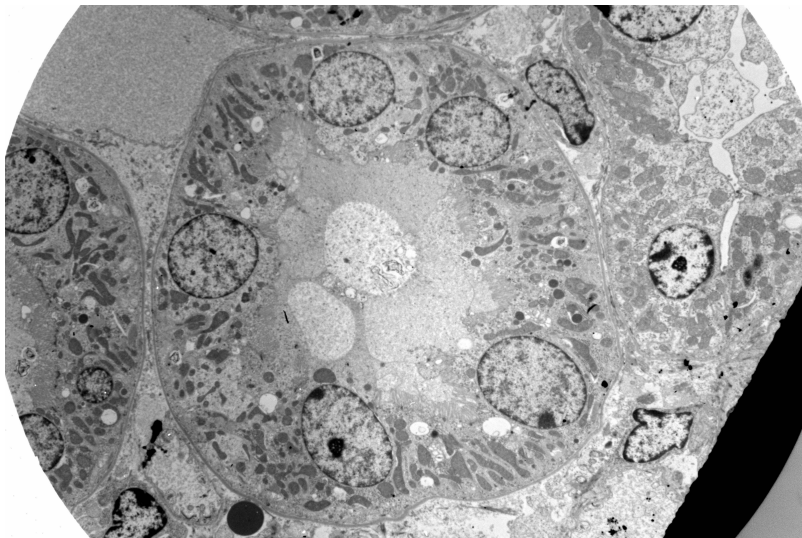


**Legende:** # $p < 0,05$  Jonosteril vs. Kontrolle, § $p < 0,05$  Volulyte vs. Kontrolle, \* $p < 0,05$  Volulyte vs. Jonosteril

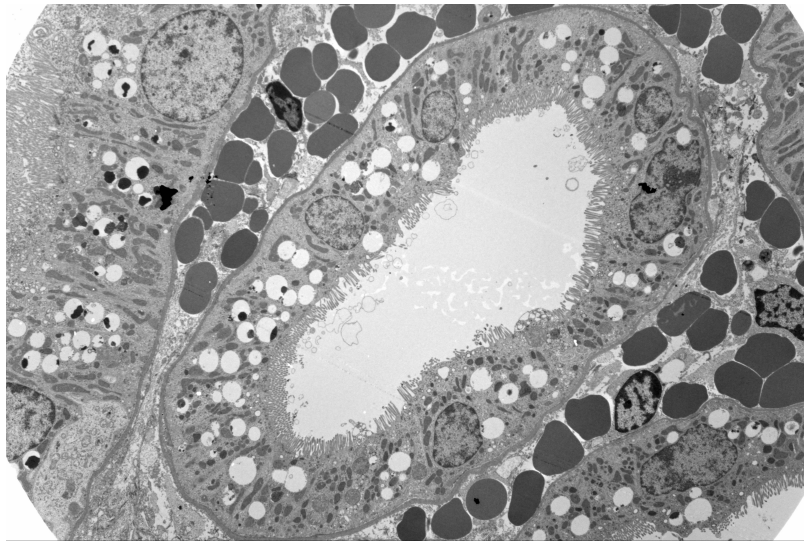
**Abbildung 3.29** TEM-Aufnahme des Nierentubulus eines Kontrolltieres



**Abbildung 3.30** TEM-Aufnahme des Nierentubulus eines mit Kristalloid behandelten Tieres



**Abbildung 3.31** TEM-Aufnahme des Nierentubulus eines mit Kolloid behandelten Tieres



## 4 Diskussion

Die vorliegende Untersuchung beschäftigte sich mit den Auswirkungen einer Volumentherapie mit balancierter Vollelektrolytlösung versus balancierter HES-Lösung auf die Nierenfunktion und -schädigung chronisch instrumentierter Schafe im endotoxämischen Schock. Durch Randomisierung wurden die Tiere in drei Gruppen aufgeteilt (Kontrolle vs. Jonosteril<sup>®</sup> vs. Volulyte<sup>®</sup>), von denen die Tiere der Kontrollgruppe keine Volumentherapie erhielten. Die Tiere der beiden Therapiegruppen erhielten eine Volumentherapie gemäß den Kriterien der Surviving Sepsis Campaign [35].

Hauptergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind, dass 1.) eine Volumentherapie mit Volulyte<sup>®</sup> 6% in der maximalen pharmazeutisch zulässigen Dosis (50 ml/kg/d) mit einem Anstieg der renalen Retentionsparameter einhergeht und 2.) dass die elektronenmikroskopisch quantifizierte Nierenschädigung in der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe jedoch deutlich geringer als in der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe ausgeprägt war.

Die vorliegenden Daten wurden an einem klinisch relevanten Großtiermodell erhoben, das bereits mehrfach hochrangig von unserer Arbeitsgruppe publiziert worden ist [43, 101, 136].

### 4.1 Das Schafmodell der kontinuierlichen Endotoxinämie

#### 4.1.1 Das Schaf als Versuchstier in der Sepsisforschung

Für die vorliegende Untersuchung wurde ein Tiermodell benötigt, welches 1) die hämodynamischen, pulmonalen und metabolischen Veränderungen im Rahmen der systemischen Inflammation möglichst analog den Verhältnissen beim Menschen widerspiegelt, 2.) eine chronische Überwachung der betreffenden Variablen zulässt und 3.) sich aus logistischen, ethischen und praktischen Gründen für diese Versuchsart anbietet. Das chronisch instrumentierte Schaf ist als ein solches Modell geeignet, da es ein kontinuierliches, invasives Monitoring der systemischen und pulmonalen Hämodynamik zulässt, welches der Überwachung von Intensivpatienten sehr ähnlich ist [128]. Des Weiteren tolerieren Schafe schmerzfreie Manipulationen und Messungen im Wachzustand deutlich stressfreier als andere Tierarten. Der weltweite Einsatz von Schafmodellen innerhalb der Sepsisforschung [90, 124, 128]

sowie die langjährige Erfahrung der *Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin* sprechen ebenfalls für die Verwendung des Schafes anstelle anderer Großtiere.

#### **4.1.2 Eignung der kontinuierlichen Endotoxinämie als Sepsismodell**

Für die vorliegende Studie wurde die kontinuierliche Endotoxinämie gewählt, um die klinischen, hämodynamischen und metabolischen Symptome eines septischen Schocks zu erzeugen. Die kontinuierliche Endotoxinämie bietet eine optimale Standardisierbarkeit und erlaubt eine individuelle Anpassung an die hämodynamische und metabolische Reaktion der Versuchstiere. Dieses Modell hat gegenüber der experimentellen Sepsis mit infektiösem Fokus die Vorteile der guten Steuerbarkeit und besserer statistischer Vergleichbarkeit [49]. Des Weiteren konnte durch Untersuchungen an gesunden Probanden gezeigt werden, dass die Reaktionen auf eine intravenöse Endotoxinapplikation weitgehend den Befunden in der Frühphase einer Sepsis gleichen [83, 123]. Auf diese Weise konnte bei allen Versuchstieren das klinische Bild des unbehandelten, septischen Schocks unter kontrollierten Bedingungen hervorgerufen werden. So lag bei allen Versuchstieren zum Schockzeitpunkt ein intravasales Volumendefizit vor, welches sich durch einen Anstieg der Hämoglobinkonzentration, einem Abfall von MAP und CI sowie einer Tachykardie manifestierte. Der Abfall von KOD und Eiweißkonzentration weisen auf ein bestehendes Kapillarleck hin [42].

Andere Sepsismodelle an Großtieren, welche mit infektiösen Agentien zur Sepsisinduktion arbeiten, sind zwar bezüglich der Pathophysiologie klinisch relevanter, jedoch wesentlich schlechter steuerbar, da die Tiere auf das infektiöse Agens mit einer individuellen, äußerst variablen Reaktion antworten. Deshalb soll an dieser Stelle hervorgehoben werden, dass es nicht das Ziel der vorliegenden Untersuchung war eine generalisierte Infektion zu untersuchen, sondern die Nierenfunktion der endotoxämischen Tiere unter kontrollierten Bedingungen zu erforschen.



### **4.1.3 Reaktionen der Versuchtiere auf die Endotoxin-Infusion**

Die Tiere aller Versuchgruppen zeigten unter der Endotoxininfusion das klinische Bild einer zunehmenden Hypovolämie einhergehend mit einer hypodynamen Kreislaufsituation. Diese ist unter anderem zurückzuführen auf die endotheliale Dysfunktion und den damit einhergehenden Verlust von Wasser und Proteinen ins Interstitium [19]. Dieser Proteinverlust äußerte sich in einem Abfall des KOD und der Plasmaproteinkonzentration (siehe Abb. 3.9 und 3.17). Die entstehende Hypovolämie führte zu einem Anstieg der Hämoglobinkonzentration, einer Tachykardie sowie einer arteriellen Hypotonie (siehe Tab. 3.4 und Abb. 3.1-3.3). Parallel zum Abfall des CI zeigte sich ein deutlicher Abfall des LVSWI und des SVI, was auf eine hypodynamen Kreislaufsituation, möglicherweise im Rahmen einer septischen Kardiomyopathie, hindeutet. (siehe Tab. 3.1). Diese Befunde charakterisieren Patienten in der unbehandelten Frühphase einer Sepsis ebenfalls auf [61].

Durch die beschriebenen hämodynamischen Veränderungen kann es im Folgenden zu einem verminderten Perfusionsdruck in der Niere sowie zu einer herabgesetzten intraglomerulären Füllung kommen. Infolge dieser Minderperfusion sinkt die Stundendiurese (siehe Abb. 3.14) und die Retentionsparameter Plasmaharnstoff und Plasmakreatinin steigen an (siehe Abb. 3.15 und 3.16) [20]. Zusätzlich zu diesem Mechanismus werden jedoch noch weitere Ursachen der Nierenschädigung im Rahmen eines septischen Geschehens diskutiert, so z.B. die apoptotischen Effekte von TNF- $\alpha$  auf Nierentubuluszellen und intrarenale hämodynamische Veränderungen (siehe Kapitel 1.1.3.11 „Sepsis-assoziiertes akutes Nierenversagen“). Da es auch während eines „hyperämischen akuten Nierenversagens“ (siehe Kapitel 1.1.3.11 „Sepsis-assoziiertes akutes Nierenversagen“) zu einer Verminderung des effektiven Filtrationsdruckes kommen kann, ist die Hämodynamik bzw. der Volumenstatus ein wichtiger, aber keinesfalls der einzige Einfluss nehmende Faktor auf die Nierenfunktion im Rahmen eines septischen Nierenversagens.

### **4.1.4 Reaktionen der Versuchtiere auf die Studienlösungen**

Ab dem Schockzeitpunkt (BL2) erhielten die Tiere der beiden Therapiegruppen eine Volumentherapie modifiziert nach den aktuellen Sepsis-Leitlinien [35]. Bei Bedarf wurde Noradrenalin zur Stabilisierung des arteriellen Blutdruckes infundiert. Die Tiere

der Kontrollgruppe erhielten keine Volumentherapie und lediglich Noradrenalin zur Stabilisierung des Blutdruckes.

Nach Beginn der Volumentherapie kam es in beiden Therapiegruppen zu einem Anstieg des MAP, CI und  $DO_2I$  sowie zu einem Abfall der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits als Ausdruck der Effektivität der Volumensubstitution. Die resultierende hyperdynamische Zirkulation der Versuchstiere kann ebenfalls als Hinweis auf die Wirksamkeit der Volumentherapie gedeutet werden. Demgegenüber zeigten die Tiere der Kontrollgruppe im weiteren Versuchsverlauf eine hypodynamische Kreislaufsituation mit signifikantem Anstieg von Hb und Hkt als Ausdruck des persistierenden Volumenmangels. Weitere Hinweise für die persistierende Hypovolämie der Kontrolltiere sind der signifikant erniedrigte SVI sowie die im Vergleich zu den Studiengruppen signifikant erniedrigte  $SvO_2$ .

Es gab bei den systemischen und pulmonalen hämodynamischen Messwerten keine klinisch relevanten Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen Jonosteril und Volulyte. Dies kann als Ausdruck einer gleichermaßen effektiven und adäquaten Volumentherapie in beiden Therapiegruppen gedeutet werden. Die oben beschriebenen Zielwerte der Volumentherapie unserer Studie wurden in beiden Therapiegruppen erfüllt.

Wesentliche laborchemische Unterschiede zwischen beiden Therapiegruppen sollen im Folgenden erläutert werden.

Das Gesamteiweiß aller drei Versuchsgruppen fiel im Verlauf kontinuierlich ab. Die Tiere der Kontrollgruppe zeigten einen nahezu linearen Abfall der Gesamteiweißkonzentration (siehe Abb. 3.9). Dies kann durch die fortschreitende endotheliale Dysfunktion und das Kapillarleck mit dadurch einhergehendem Proteinverlust erklärt werden [19]. Innerhalb der Jonosteril<sup>®</sup>- und Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe hingegen kam es zu einem massiven Abfall der Gesamteiweißkonzentration ab dem Beginn der Volumentherapie. Dies resultiert aus der Infusion großer Mengen proteinfreier Flüssigkeiten innerhalb eines kurzen Zeitraumes, die zu einem ausgeprägten „Verdünnungseffekt“ führte, welcher sich auch in anderen Variablen, wie beispielsweise Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration, zeigte (siehe Tab.3.4). Auffällig ist die statistisch signifikant erniedrigte Gesamteiweißkonzentration der Volulyte-Gruppe gegenüber der Jonosteril-Gruppe zu Beginn der Volumentherapie. Dieses Phänomen kann als Ausdruck eines stärkeren Volumeneffektes der Kolloid- gegenüber der Kristalloid-Gruppe gedeutet werden. Ferner wird diese These durch die Tatsache gestützt, dass sich die Gesamteiweißkonzentrationen der Studiengruppen im späteren Verlauf nicht mehr signifikant voneinander

unterschieden. Da nach dem Erreichen der Maximaldosis an Kolloid (50 ml/kg KG) die Volumentherapie mit Jonosteril fortgesetzt wurde, ist dieser Umstand möglicherweise auf den geringeren Volumeneffekt der Kristalloidlösung zurückzuführen [45].

Innerhalb der Kontrollgruppe fiel der KOD nahezu linear über den Versuchsverlauf. Der Abfall des KOD lässt sich analog zur Gesamteiweißkonzentration durch den oben beschriebenen Effekt der endothelialen Dysfunktion mit einhergehendem Proteinverlust erklären [50]. Der massive, statistisch signifikante Abfall des KOD innerhalb der Jonosteril-Gruppe (siehe Abb. 3.17) ist bedingt durch die Infusion einer großen Menge nicht kolloid-osmotisch wirksamer Volumenersatzlösung innerhalb kurzer Zeit [132]. Dem gegenüber muss betont werden, dass sich der KOD der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe aus dem Gesamteiweiß und den HES-Molekülen zusammensetzt, während in der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe das Eiweiß die einzige kolloidale Substanz ist. Daher blieb der KOD in der Volulyte-Gruppe konstant während des Zeitraums, in dem die nicht-eiweißhaltige, kolloid-osmotisch wirksame HES-Lösung appliziert wurde [132]. Mit Beginn der Infusion von Kristalloiden innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe (ca. 4h post BL2) war der KOD der Volulyte<sup>®</sup>-Tiere vergleichbar mit dem der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe.

Die gemessenen Serumchloridkonzentrationen zeigten ebenfalls gruppenspezifische Unterschiede. Innerhalb der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe wurden die höchsten Chloridkonzentrationen gemessen; so zeigte sich hier sowohl ein signifikanter Anstieg über den Versuchsverlauf als auch signifikante Erhöhungen gegenüber der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe. Eine wahrscheinliche Erklärung hierfür ist die hochdosierte Infusion von Kristalloiden, durch welche den Tieren mehr Chlorid zugeführt wurde als renal ausgeschieden werden konnte. Die Tiere der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe zeigten zwar ebenfalls über den Versuchsverlauf tendenziell erhöhte Chloridkonzentrationen, erreichten aber zu keinem Zeitpunkt so hohe Werte wie die Jonosteril-Gruppe. Dies lässt sich aus dem deutlich geringeren Gesamtflüssigkeitsbedarf innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe erklären, die somit deutlich weniger exogenes Chlorid erhielt. Dies kann als Vorteil einer Therapie mit balancierten Kolloiden zu werten sein, da Lobo et al in einer 2004 veröffentlichten Studie eine Hyperchloridämie mit einer verminderten NaCl-Ausscheidungsfähigkeit der Nieren in Verbindung brachten [77]. Drummer et al beschrieben an freiwilligen Probanden eine verminderte renale Durchblutung nach Gabe von 2 Litern NaCl 0,9%. Die Wiederherstellung der Flüssigkeits-Homöostase nach akuter NaCl-Belastung dauerte in der letzteren Studie ca. 48 Stunden [40]. In der vorliegenden Studie waren in Bezug auf die renalen Retentionsparameter

eindeutige Unterschiede zwischen den Studiengruppen festzustellen. So zeigten die Tiere der Kontrollgruppe im Verlauf eine Oligo-Anurie, welche als Ausdruck eines prärenalen Nierenversagens im Rahmen der protrahierten Hypovolämie interpretiert werden kann [115]. Die Tiere der Jonosteril®-Gruppe reagierten auf den Beginn der Volumentherapie mit einem massiven Anstieg der Diurese. Im weiteren Verlauf lag die Stundendiurese über der Volulyte®-Gruppe. Die ausgeprägte initiale Diurese ist durch die massive Kristalloidsubstitution bei noch intakter Nierenfunktion erklärbar [69]. Demgegenüber zeigten die Diurese-Werte der Volulyte®-Gruppe initial keinen signifikanten Anstieg gegenüber der BL2-Messung. Dieser Umstand ist auf eine Veränderung des effektiven Filtrationsdruckes im Glomerulum zurückzuführen, welcher sich wie folgt berechnet:

$$P_{\text{eff}} = P_{\text{kap}} - P_{\text{bow}} - \pi_{\text{kap}} \quad [69]$$

**Legende:**  $P_{\text{eff}}$  = effektiver Filtrationsdruck,  $P_{\text{kap}}$  = hydrostatischer Kapillardruck,  $P_{\text{bow}}$  = Druck innerhalb der Bowman-Kapsel,  $\pi_{\text{kap}}$  = onkotischer Plasmadruck

Die applizierte Volulyte®-Lösung war isoonkotisch, d.h. der *in vitro* KOD der Lösung entsprach dem gesunder Individuen. Da die endotoxämischen Tiere jedoch bereits zu Therapiebeginn einen deutlich erniedrigten KOD aufwiesen, verhielt sich das infundierte Kolloid relativ hyperonkotisch. Durch die Gabe eines relativ hyperonkotischen Kolloids steigt folglich  $\pi_{\text{kap}}$  innerhalb des Glomerulums an. Die Konsequenz ist eine Abnahme des effektiven Filtrationsdruckes und somit auch des Primärharns, woraus sich eine reduzierte Diurese erklären lässt [60, 111, 125]. Analog zu den oben beschriebenen Effekten (KOD, Gesamteiweißkonzentration) führte die anschließende Kristalloid-Infusion zu einem Anstieg der Stundendiurese innerhalb der Volulyte®-Gruppe.

Kernpunkte der vorliegenden Untersuchung waren die Nierenretentionsparameter Plasmakreatinin und Plasmaharnstoff, bei denen signifikante Unterschiede zwischen den Studiengruppen gemessen werden konnten. Die Plasmakreatininkonzentration der Volulyte®-Gruppe zeigte einen signifikanten Anstieg gegenüber den Messwerten der Jonosteril®-Gruppe. Die Harnstoffkonzentrationen verhielten sich analog zu den Kreatininkonzentrationen. Kreatinin reagiert als Retentionsparameter früher als Harnstoff, diese zeitliche Verzögerung ist in der Entwicklung signifikanter Differenzen mehrfach vorbeschrieben [69]. Interessanterweise gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Kreatinin-Clearance zwischen den Therapiegruppen.

Dies kann als Ausdruck einer gleichwertigen Filtrationsleistung der Nieren trotz unterschiedlicher gemessener Retentionsparameter zwischen den Therapiegruppen gedeutet werden.

Der Einfluss verschiedener HES-Lösungen auf die Nierenfunktion ist umstritten und wird in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert. Schortgen et al untersuchten 129 Patienten, die randomisiert mit 6% HES 200/0,6 oder 3% Gelatinelösung behandelt worden waren. Innerhalb der HES-Gruppe wurden höhere Kreatinin-Werte und vermehrt anurische Phasen beobachtet. Deshalb kamen die Autoren zu dem Schluss, HES als unabhängigen Risikofaktor für ein akutes Nierenversagen (ANV) bei Patienten mit schwerer Sepsis bzw. septischem Schock zu postulieren [117]. Mahmood et al veröffentlichten 2007 eine Studie, in der Patienten perioperativ entweder 6% HES 200/0,62, 6% HES 130/0,4 oder 4% Gelatinelösung erhielten. In dieser Studie waren interessanterweise die Kreatininwerte der Gelatinegruppe signifikant erhöht gegenüber den HES-Lösungen, ebenso die  $\alpha_1$ -Mikroglobulin : Kreatinin-Ratio als Parameter der tubulären Dysfunktion [80]. Boldt et al untersuchten in einer 2003 veröffentlichten Studie 40 Patienten (Alter: > 70 Jahre), die perioperativ 6% HES 130/0,4 oder Gelatinelösung erhielten. Letztere Studie zeigte einen Anstieg der Nierenretentionsparameter in beiden Gruppen; ein akutes Nierenversagen trat bei keinem der Patienten auf [12].

Die selbe Arbeitsgruppe veröffentlichte 2008 eine Studie mit 60 Patienten (Alter > 80 Jahre), die perioperativ ebenfalls 6% HES 130/0,4 oder 4% Gelatinelösung erhielten. Die Studie zeigte eine im Vergleich zur HES-Gruppe erniedrigte Kreatinin-Clearance sowie erhöhte Kreatinin-Werte in der Gelatine-Gruppe [13].

In mikroskopischen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass es nach Infusion hyperonkotischer und hochmolekularer HES-Lösungen zu reversiblen Schwellungen der Nierentubuluszellen kommen kann, die möglicherweise als Ausdruck der Reabsorption von Makromolekülen zu sehen sind. Diese Schwellung kann zur Obstruktion der Tubuli sowie zur Nierenmark-Ischämie führen, welche beide Risikofaktoren für Störungen der intakten Nierenfunktion und ein akutes Nierenversagen sind [56, 73]. Der Einfluss hyperonkotischer Substanzen auf die glomeruläre Filtration wurde bereits beschrieben. Aufgrund der aktuellen Studienlage ist anzunehmen, dass alle hyperonkotischen Kolloide die Nierenfunktion negativ beeinflussen [116]. Moran et al prägten bereits 1987 den Ausdruck des "hyperoncotic acute renal failure" [11, 88].

Es existieren eine Reihe von Untersuchungen, die einen negativen Einfluss von HES-Lösungen auf die Nierenfunktion beschreiben konnten [24, 116, 117]. Diesen

Studien ist weitgehend gemeinsam, dass HES-Lösungen mit hohen Konzentrationen (10%) und Molekulargewicht ( $\geq 200$  kDa) verwendet wurden [24, 94, 117, 140]. Des Weiteren ist zu beachten, dass das Studiendesign einiger Untersuchungen, die einen negativen Einfluss von HES-Lösungen auf die Nierenfunktion beschrieben, von Experten heftig kritisiert wurde. So wurde in der prospektiven Multicenter-Studie von Schortgen et al (6% HES 200/0.62 vs. 3% modifizierte Gelatine) ein signifikanter Anstieg des Serum-Kreatinins innerhalb der HES-Gruppe am 6. Tag *post expositionem* bestimmt. Weiterhin gab es eine höhere Rate von akutem Nierenversagen sowie der Notwendigkeit renaler Ersatzverfahren [117]. In diesem Fall muss allerdings erwähnt werden, dass bereits vor Einsatz der HES-Lösungen ein erhöhtes Serum-Kreatinin innerhalb der HES-Gruppe gegenüber der Gelatine-Gruppe vorlag (1,43 mmol/l vs. 1,14 mmol/l) [11, 117]. Es kann also in diesem Fall nicht ausgeschlossen werden, dass die Nierenfunktion der Patienten in der HES-Gruppe vor Therapiebeginn nicht äquivalent zu den Patienten der Gelatine-Gruppe war. Eine weitere große Multicenter-Studie von Brunkhorst et al mit 537 untersuchten Patienten (10% HES 200/0,5 vs. modifizierte Ringer-Laktat-Lösung) stellte ebenfalls signifikant erhöhte Kreatininwerte sowie ein vermehrtes Auftreten von Nierenversagen mit Ersatztherapiepflichtigkeit in der HES-Gruppe fest [24]. Es ist jedoch anzumerken, dass im Studiendesign Ausschlusskriterien wie z.B. ein initial erhöhtes Kreatinin sowie Dosislimitierungen nicht berücksichtigt wurden [11]. So wurde eine besonders hohe Rate an Nierendysfunktionen bei Patienten bestimmt, welche eine kumulative Gesamtdosis von  $>250$  ml/kg KG erhalten hatten. Ein Patient mit einem Gewicht von 70 kg hätte demnach eine Gesamtmenge von 17,5 Litern HES-Lösung über den Studienzeitraum erhalten. Es konnte allerdings nicht belegt werden, warum ein septischer, nicht blutender Patient 17,5 Liter Kolloid zur hämodynamischen Stabilisierung benötigt [11].

Diesen Studien gegenüber stehen Untersuchungen, die keine negativen Effekte von HES-Lösungen auf die Nierenfunktion nachweisen konnten [13, 14, 64]. Im Folgenden soll vor allem auf Studien eingegangen werden, in denen vergleichbare HES-Lösungen wie in der vorliegenden Untersuchung eingesetzt wurden.

Jungheinrich et al untersuchten den Einfluss von 6% HES 130/0,4 auf die Nierenfunktion an freiwilligen, nicht-septischen Probanden mit bereits bestehender milder bis schwerer Nierendysfunktion (gemessen an der Kreatinin-Clearance) und konnten keine weitere Verschlechterung der Nierenfunktion feststellen [64]. Zu dieser Untersuchung ist allerdings anzumerken, dass die Anzahl der Probanden lediglich  $n=19$  betrug und jedem der Probanden eine Menge von 500 ml HES substituiert

wurde, was nach den Richtlinien der SSC lediglich der Initialdosis entspricht [11, 35]. Boldt et al untersuchten in mehreren Studien ebenfalls 6% HES 130/0,4 an Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion (gemessen an der Kreatinin-Clearance) sowie an älteren Patientenkollektiven (> 80 Jahre) im Bereich der Herzchirurgie [13, 14]. Innerhalb dieser Studien konnte kein negativer Einfluss der HES-Lösungen auf die Nierenfunktion nachgewiesen werden. Die gemessenen Nierenfunktionsparameter waren tendenziell denen der Vergleichsgruppen (Gelatine bzw. Humanalbumin) überlegen [11]. Ein möglicher Kritikpunkt bezüglich der angeführten Studien sind die wiederum vergleichsweise kleinen Gruppengrößen (n=50 bzw. n=60) [13, 14].

Die 2004 veröffentlichte SAFE-Studie untersuchte 6997 Intensivpatienten, die entweder 4% Humanalbumin oder Kristalloide erhielten [47]. Die Studie konnte keinen Unterschied bezüglich des Outcomes zwischen den beiden Gruppen feststellen. Interessanterweise benötigten die Patienten der Kristalloid-Gruppe lediglich ca. 20 Prozent mehr kumulative Flüssigkeit als die Patienten der Albumin-Gruppe [47]. Eine mögliche Erklärung dieses Phänomens ist die Theorie, dass Kolloid-Moleküle im Rahmen der endothelialen Dysfunktion bei kritisch-kranken Patienten aus dem Gefäßlumen austreten und durch ihre onkotische Wirksamkeit eine Flüssigkeitsverschiebung aus dem Intravasalraum ins Interstitium bewirken [84]. Bei gesunden Individuen beträgt das Verhältnis des Volumeneffektes von Kristalloiden zu isoonkotischen Kolloiden etwa 1 : 4. Bei schwerer Sepsis oder septischem Schock beträgt dieses Verhältnis offenbar etwa 1 : 1,5 [42, 47, 112]. Des Weiteren haben moderne HES-Lösungen lediglich eine effektive Halbwertszeit von etwa vier Stunden, so dass nach etwa 12 Stunden der verbleibende Volumeneffekt dem eines Kristalloids entspricht [42, 45].

Es soll an dieser Stelle erwähnt werden, dass die meisten zitierten Studien den Einfluss von HES-Lösungen auf Surrogat-Parameter der Nierenfunktion, wie beispielsweise Harnstoff und Kreatinin, untersuchten. Kreatinin ist als Muskelprotein jedoch auch abhängig von der bestehenden Muskelmasse der Patienten [69]. Ebenso können Medikamente, wie beispielsweise Diuretika, den Plasmakreatinin-Spiegel erhöhen [109]. Weiterhin kann zur Zeit nicht eindeutig belegt werden, ob ein Anstieg des Plasmakreatinins Ausdruck einer renalen Dysfunktion oder ein Bias der verschiedenen extrazellulären Verteilungsvolumina von Kristalloiden und Kolloiden ist (Ertmer, unpublished Data) [79]. Folglich wären andere Messwerte, die die Nierenfunktionsleistung unabhängig von derartigen Störfaktoren direkt wiedergeben könnten, deutlich spezifischer hinsichtlich eines tatsächlichen Nierenschadens. Neuere laborchemische Marker, wie beispielsweise das Cystatin C, erfüllen diese

Bedingungen bereits besser als Kreatinin und Harnstoff [121], das „Troponin der Niere“ ist allerdings noch nicht verfügbar. Szintigraphische Messtechniken sind zwar möglich und bei vielen Fragestellungen auch gut einzusetzen [3], ein routinemäßiger Einsatz bei septischen Intensivpatienten ist jedoch logistisch kaum durchzusetzen.

#### **4.1.5 Elektronenmikroskopische Quantifizierung der Nierenschädigung**

Im klinischen Alltag werden zur Beurteilung der Nierenfunktion in der Regel die Surrogat-Parameter Plasmakreatinin und Plasmaharnstoff herangezogen. Allerdings gibt es bisher keine Untersuchung, die bei Intensivpatienten einen Zusammenhang zwischen einem Anstieg des Kreatinins und einer entsprechenden morphologischen renalen Zellschädigung herstellen konnte.

Die vorliegende Studie untersuchte zusätzlich zu den genannten laborchemischen Parametern strukturelle zelluläre und subzelluläre Schäden der Nierentubuli durch Einsatz der Transmissions-Elektronenmikroskopie. Die beobachteten Schädigungen wurden anhand des in Kapitel 2.10 beschriebenen EMTI-Scores bewertet und verglichen.

Die Tiere der Jonosteril<sup>®</sup>- und Kontroll-Gruppe wiesen einen erhöhten EMTI-Score gegenüber den Tieren der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe auf.

Eine Infusion von Kristalloiden führt im Vergleich zu Kolloiden zu einem vermehrten extra- und intrazellulären Ödem [35, 39, 54]. Ein intrazelluläres Ödem der Nierentubuluszellen könnte wiederum eine Verstärkung der auf die apikale Mukosa einwirkenden Scherkräfte bewirken, was den vermehrt geschädigten Microvilli-Bürstensaum der Jonosteril<sup>®</sup>-Tiere erklären könnte. Weiterhin ist es möglich, dass das Anschwellen der Nierentubuluszellen auf Grund des Ödems den Tubulusdurchmesser verringert. Dies wiederum würde den Flusswiderstand im Tubuluslumen erhöhen und könnte zumindest teilweise eine Erklärung für die vermehrte tubuläre Obstruktion innerhalb der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe sein. Da diese Schädigung allerdings auch vermehrt bei Tieren der Kontroll-Gruppe beobachtet wurde (siehe Abb. 3.25), scheinen noch andere pathophysiologische Mechanismen eine Rolle zu spielen.

Bei den Tieren aller Studiengruppen wurde eine vakuoläre Alteration der Nierentubuluszellen festgestellt, die innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe am ausgeprägtesten war. Ähnliche Ergebnisse beschrieben auch Huter et al in einer Studie an isoliert perfundierten Schweinenieren [55].



Auch wenn der vollständige Pathomechanismus der Entstehung von tubulären Vakuolen nach Flüssigkeitssubstitution noch nicht umfassend geklärt ist, so ist jedoch die tubuläre Reabsorption von onkotisch aktiven Bestandteilen (z.B. körpereigene Proteine, synthetische Kolloide) aus dem glomerulären Ultrafiltrat ein wesentlicher Bestandteil [38, 73]. Da septische Patienten mit endothelialer Dysfunktion häufig auch eine erhöhte glomeruläre Permeabilität aufweisen, werden größere kolloidale Moleküle filtriert und anschließend tubulär reabsorbiert, was die verstärkt ausgeprägte vakuoläre Alteration der Nierentubuluzellen im Vergleich zu Gesunden erklärt. Der Ausprägungsgrad der vakuolären Degeneration ist folglich abhängig von der vaskulären Permeabilität sowie der Größe und Plasmakonzentration der endogenen und exogenen Kolloidmoleküle [44].

Bisher konnte keine Studie einen kausalen Zusammenhang zwischen vakuolärer Degeneration von Tubuluszellen und Nierendysfunktion beweisen. Möglicherweise ist die Ausbildung von Vakuolen auch ein physiologischer Vorgang, der aus der Kombination von vaskulärer Permeabilitätssteigerung, KOD und tubulären Reabsorptionskapazitäten resultiert. Diese These wird gestützt durch eine Untersuchung von Deman et al, in der nierentransplantierte Patienten mit verschiedenen HES-Lösungen behandelt wurden. Innerhalb dieses Patientenkollektivs hatte das Auftreten von tubulären Vakuolen keinen Einfluss auf die Funktion der transplantierten Organe [36].

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass die elektronenmikroskopische Untersuchung der Nierenproben eine signifikant geringere ultrastrukturelle Nierenschädigung innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe gegenüber der Kristalloid- und Kontrollgruppe nachweisen konnte. Das vermehrte Auftreten von Vakuolen innerhalb der Volulyte<sup>®</sup>-Gruppe ist möglicherweise der morphologische Ausdruck einer vermehrten tubulären Resorption und kann auf Grund der aktuellen Studienlage nicht mit einer schlechteren Nierenfunktion in Zusammenhang gebracht werden.

## **4.2 Limitierungen der vorliegenden Untersuchung**

Die vorliegende Studie wurde an einem international anerkannten Modell des endotoxämischen Schocks durchgeführt. Dennoch ist die Aussagekraft der Untersuchung in einigen Punkten, die im Folgenden diskutiert werden, eingeschränkt.

### **4.2.1 Verwendung eines Tiermodells für die vorliegende Studie**

Die Anwendung von Tiermodellen ist in der medizinischen Forschung verbreitet und notwendig. In diesem Zusammenhang begegnet man jedoch immer wieder dem Problem der eingeschränkten Übertragbarkeit tierexperimentell gewonnener Informationen auf die klinische Praxis. So unterscheiden sich häufig tierexperimentell erhobene Daten von den Ergebnissen klinischer Outcome-Studien. Bisweilen wird im Gegensatz zu vielversprechenden präklinischen Daten in den klinischen Studien kein oder sogar ein gegenteiliger Effekt festgestellt. Eine vielfach diskutierte und mögliche Ursache dafür ist die Tatsache, dass für tierexperimentelle Studien oftmals junge, gesunde Versuchstiere ohne Begleiterkrankungen eingesetzt werden. Ein Großteil des Patientenkollektivs mit septischen Erkrankungen ist jedoch immunsupprimiert und/oder multimorbide [22]. So ist der septische Krankheitsverlauf bei vorerkrankten Patienten oft schwerwiegender und schlechter vorhersehbar als bei jungen, gesunden Versuchstieren.

Weiterhin kann die Auswahl des zu untersuchenden Kollektivs in tierexperimentellen Arbeiten sehr viel genauer vorgenommen werden (z.B. Rasse, Gewicht, Alter etc.) als in klinischen Studien, in denen in der Regel lediglich klinische Ein- und Ausschlusskriterien zur Anwendung kommen. Abgesehen davon ist die Erfüllung eines Studienprotokolls unter Laborbedingungen einfacher umzusetzen als im komplexen Klinikalltag, insbesondere auf Intensivtherapiestationen.

Nicht zuletzt aufgrund dieser Tatsachen sollen aus dieser Studie nur mit Vorsicht Rückschlüsse auf die klinische Praxis gezogen werden. Vielmehr sollte sie ein Anreiz für die weitere klinische Erforschung dieses wichtigen Themengebietes auf der Grundlage dieser tierexperimentellen Daten sein.

#### 4.2.2 Aussagekraft hämodynamischer Parameter der vorliegenden Studie

Einige der in der vorliegenden Untersuchung verwendeten hämodynamischen Parameter sollen im Folgenden hinsichtlich ihrer Aussagekraft diskutiert werden. Beispielsweise wurde der CVP als Parameter der rechtsventrikulären Vorlast eingesetzt. Dies basiert auf der Vorstellung, dass der in der oberen Hohlvene vor dem Herzen gemessene Druck dem enddiastolischen rechtsventrikulären Druck entspricht [69]. Eine Erniedrigung der Vorlast würde demnach mit einer verminderten rechtsventrikulären Füllung und Auswurfleistung einhergehen. Dass jedoch der gemessene CVP *de facto* nicht zwingend mit dem tatsächlichen Volumenstatus korreliert, wurde bereits in den Siebziger Jahren untersucht und publiziert [68].

1972 veröffentlichte Brisman eine Studie, in der bei 20 überwiegend postoperativen Patienten der gemessene CVP keinen oder fehlerhafte Rückschlüsse auf den Volumenstatus zuließ [18]. So ist eine verlässliche Korrelation zwischen CVP und Volumenstatus nur gegeben, wenn die übrigen Einfluss nehmenden Parameter (z.B. rechtsventrikuläre Funktion) stabil sind [27]. In unserer Studie zeigte der CVP in der Initialphase eine Normalverteilung mit niedrigen Standardabweichungen. Des Weiteren verwendeten wir junge, gesunde Tiere. Auf Grund dieser Tatsache ist in unserem Fall von einer Korrelation des gemessenen CVP mit dem Volumenstatus auszugehen.

Der CVP wird als Zielparameter der Volumentherapie in den aktuellen Surviving Sepsis Campaign Guidelines empfohlen und fand deshalb in unserer Studie Anwendung. Andere mögliche Messmethoden schieden auf Grund des Studiendesigns aus. So ist die Bestimmung der Schlagvolumenvariation (SVV) als dynamischer Parameter des Volumenstatus nur bei kontrolliert beatmeten Patienten sinnvoll [25]. Da in unserer Studie wache, spontan atmende Tiere untersucht wurden, konnte die SVV als Parameter folglich nicht herangezogen werden. Eine in der Intensivmedizin häufig eingesetzte Methode zur Überprüfung eines möglichen Volumenmangels ist das so genannte "passive-leg-lifting": die Beine des Patienten werden unter Beobachtung des HZV und/oder SV angehoben. Diese Maßnahme ist aus anatomischen und praktikablen Gründen bei wachen Schafen nicht umzusetzen.

## 5 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Untersuchung konnte in einem etablierten und klinisch relevanten Großtiermodell zeigen, dass die Volumentherapie mit balancierter 6% HES 130/0,4-Lösung gegenüber einer Therapie mit balancierter Kristalloidlösung trotz eines Anstiegs der Nierenretentionsparameter Plasmakreatinin und Plasmaharnstoff zu keiner negativen Beeinflussung der Kreatinin-Clearance führte. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Nierentubuli zeigten darüber hinaus eine geringere ultrastrukturelle Nierenschädigung der Volulyte<sup>®</sup>- gegenüber der Jonosteril<sup>®</sup>-Gruppe, so dass der gemessene Anstieg der Retentionsparameter nicht mit einer Nierenschädigung gleichgesetzt werden kann. Es ist anzunehmen, dass die Unterschiede in den renalen Retentionsparametern in erster Linie auf Unterschiede in der extrazellulären Flüssigkeitsakkumulation zurückzuführen und weitgehend unabhängig von Nierenfunktion und –schädigung sind. Die vorliegende Studie lieferte somit keinen Hinweis auf negative renale Effekte der verwendeten HES-Lösung. Zur weiteren Untersuchung dieser klinisch wichtigen Thematik und für künftige, valide Therapieempfehlungen von Volumenersatzmitteln im septischen Schock sind weitere klinische Studien notwendig.

## Literatur

1. (1992) American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*, 20(6):864-874.
2. Abraham E, Singer M (2007) Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction. *Crit Care Med*, 35(10):2408-2416.
3. Aktas A, Moray G, Karakayali H, Bilgin N (2002) Contribution of renal scintigraphy to management of patients with acute renal allograft dysfunction. *Transplant Proc*, 34(6):2099-2101.
4. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, 29(7):1303-1310.
5. Angus DC, Pereira CA, Silva E (2006) Epidemiology of severe sepsis around the world. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 6(2):207-212.
6. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troche G *et al* (2002) Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *Jama*, 288(7):862-871.
7. Archer SL, Huang JM, Hampf V, Nelson DP, Shultz PJ, Weir EK (1994) Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive K channel by cGMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(16):7583-7587.
8. Bannerman DD, Sathyamoorthy M, Goldblum SE (1998) Bacterial lipopolysaccharide disrupts endothelial monolayer integrity and survival signaling events through caspase cleavage of adherens junction proteins. *J Biol Chem*, 273(52):35371-35380.
9. Bauer M, Brunkhorst F, Welte T, Gerlach H, Reinhart K (2006) [Sepsis : Update on pathophysiology, diagnostics and therapy.]. *Anaesthesist*, 55(8):835-845.
10. Bockmeyer CL, Claus RA, Budde U, Kentouche K, Schneppenheim R, Losche W, Reinhart K, Brunkhorst FM (2008) Inflammation-associated ADAMTS13 deficiency promotes formation of ultra-large von Willebrand factor. *Haematologica*, 93(1):137-140.
11. Boldt J (2009) PRO: hydroxyethylstarch can be safely used in the intensive care patient--the renal debate. *Intensive Care Med*, 35(8):1331-1336.
12. Boldt J, Brenner T, Lehmann A, Lang J, Kumle B, Werling C (2003) Influence of two different volume replacement regimens on renal function in elderly patients undergoing cardiac surgery: comparison of a new starch preparation with gelatin. *Intensive Care Med*, 29(5):763-769.
13. Boldt J, Brosch C, Ducke M, Papsdorf M, Lehmann A (2007) Influence of volume therapy with a modern hydroxyethylstarch preparation on kidney function in cardiac surgery patients with compromised renal function: a comparison with human albumin. *Crit Care Med*, 35(12):2740-2746.
14. Boldt J, Brosch C, Rohm K, Papsdorf M, Mengistu A (2008) Comparison of the effects of gelatin and a modern hydroxyethyl starch solution on renal function and inflammatory response in elderly cardiac surgery patients. *Br J Anaesth*, 100(4):457-464.
15. Brenner M, Schaer GL, Mallory DL, Suffredini AF, Parrillo JE (1990) Detection of renal blood flow abnormalities in septic and critically ill patients using a

- newly designed indwelling thermodilution renal vein catheter. *Chest*, 98(1):170-179.
16. Briegel J (2008) [Update of the Surviving Sepsis Campaign guidelines 2008.]. *Anaesthetist*, 57(3):284-286.
  17. Brigham KL (1985) Pulmonary dysfunction caused by diffuse lung inflammation. Roles of metabolites of arachidonic acid. *Prog Biochem Pharmacol*, 20:26-37.
  18. Brisman R, Parks LC, Benson DW (1967) Pitfalls in the clinical use of central venous pressure. *Arch Surg*, 95(6):902-907.
  19. Brookes ZL, Mansart A, McGown CC, Ross JJ, Reilly CS, Brown NJ (2009) Macromolecular Leak from Extrasplenic Lymphatics during Endotoxemia. *Lymphat Res Biol*, 7(3):131-137.
  20. Brown SC, Upsdell SM, O'Reilly PH (1992) The importance of renal function in the interpretation of diuresis renography. *Br J Urol*, 69(2):121-125.
  21. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J (1996) Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. French Bacteremia-Sepsis Study Group. *Am J Respir Crit Care Med*, 154(3 Pt 1):617-624.
  22. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, Mercier JC, Offenstadt G, Regnier B (1995) Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. *Jama*, 274(12):968-974.
  23. 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):580-588.
  24. Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, Moerer O, Gruendling M, Oppert M, Grond S *et al* (2008) Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med*, 358(2):125-139.
  25. Burchardi H, Larsen R, Kuhlen R, Jauch K-W, Schölmerich J: *Intensivmedizin*, 10. Auflage edn: Springer-Verlag; 2008.
  26. Burns K, Janssens S, Brissoni B, Olivos N, Beyaert R, Tschopp J (2003) Inhibition of interleukin 1 receptor/Toll-like receptor signaling through the alternatively spliced, short form of MyD88 is due to its failure to recruit IRAK-4. *J Exp Med*, 197(2):263-268.
  27. Burri C (1972) [Central venous pressure. Measurement and diagnostic power]. *Langenbecks Arch Chir*, 330(3):191-196.
  28. Cavillon JM (2002) "Septic Plasma": an immunosuppressive milieu. *Am J Respir Crit Care Med*, 166(11):1417-1418.
  29. Cavillon JM, Annane D (2006) Compartmentalization of the inflammatory response in sepsis and SIRS. *J Endotoxin Res*, 12(3):151-170.
  30. Ceppi ED, Smith FS, Titheradge MA (1996) Effect of multiple cytokines plus bacterial endotoxin on glucose and nitric oxide production by cultured hepatocytes. *Biochem J*, 317 ( Pt 2):503-507.
  31. Chen W, Frank ME, Jin W, Wahl SM (2001) TGF-beta released by apoptotic T cells contributes to an immunosuppressive milieu. *Immunity*, 14(6):715-725.
  32. Cheung PC, Nebreda AR, Cohen P (2004) TAB3, a new binding partner of the protein kinase TAK1. *Biochem J*, 378(Pt 1):27-34.
  33. Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ, Ochoa JB, Harbrecht BG, Flint SG, Simmons RL (1990) Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit total protein synthesis. *Ann Surg*, 212(4):462-469; discussion 470-461.

34. Dauphinee SM, Karsan A (2006) Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. *Lab Invest*, 86(1):9-22.
35. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale 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.
36. Deman A, Peeters P, Sennesael J (1999) Hydroxyethyl starch does not impair immediate renal function in kidney transplant recipients: a retrospective, multicentre analysis. *Nephrol Dial Transplant*, 14(6):1517-1520.
37. DeMeester SL, Qiu Y, Buchman TG, Hotchkiss RS, Dunnigan K, Karl IE, Cobb JP (1998) Nitric oxide inhibits stress-induced endothelial cell apoptosis. *Crit Care Med*, 26(9):1500-1509.
38. Dickenmann M, Oettl T, Mihatsch MJ (2008) Osmotic nephrosis: acute kidney injury with accumulation of proximal tubular lysosomes due to administration of exogenous solutes. *Am J Kidney Dis*, 51(3):491-503.
39. Dieterich HJ, Weissmuller T, Rosenberger P, Eltzschig HK (2006) Effect of hydroxyethyl starch on vascular leak syndrome and neutrophil accumulation during hypoxia. *Crit Care Med*, 34(6):1775-1782.
40. Drummer C, Gerzer R, Heer M, Molz B, Bie P, Schlossberger M, Stadaeger C, Rocker L, Stollo F, Heyduck B *et al* (1992) Effects of an acute saline infusion on fluid and electrolyte metabolism in humans. *Am J Physiol*, 262(5 Pt 2):F744-754.
41. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S *et al* (2007) Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med*, 33(4):606-618.
42. Ertmer C, Kohler G, Rehberg S, Morelli A, Lange M, Ellger B, Pinto BB, Rubig E, Erren M, Fischer LG *et al* Renal Effects of Saline-based 10% Pentastarch versus 6% Tetrastarch Infusion in Ovine Endotoxemic Shock. *Anesthesiology*.
43. Ertmer C, Morelli A, Bone HG, Stubbe HD, Schepers R, Van Aken H, Lange M, Broking K, Lucke M, Traber DL *et al* (2006) Dobutamine reverses the vasopressin-associated impairment in cardiac index and systemic oxygen supply in ovine endotoxemia. *Crit Care*, 10(5):R144.
44. Ertmer C, Rehberg S, Van Aken H, Westphal M (2009) Relevance of non-albumin colloids in intensive care medicine. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 23(2):193-212.
45. Ertmer C, Rehberg, S., Van Aken, H., Westphal, M. (2009) Physiologische Grundlagen der perioperativen Flüssigkeitstherapie. *Intensivmedup2date*, 5:9-18.
46. Ferro T, Neumann P, Gertzberg N, Clements R, Johnson A (2000) Protein kinase C-alpha mediates endothelial barrier dysfunction induced by TNF-alpha. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 278(6):L1107-1117.
47. Finfer S, Bellomo R, Boyce N, French J, Myburgh J, Norton R (2004) A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med*, 350(22):2247-2256.
48. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL (1992) Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science*, 257(5068):387-389.
49. Freise H, Bruckner UB, Spiegel HU (2001) Animal models of sepsis. *J Invest Surg*, 14(4):195-212.
50. Groeneveld AB (2000) Albumin and artificial colloids in fluid management: where does the clinical evidence of their utility stand? *Crit Care*, 4 Suppl 2:S16-20.

51. Hachenberg T (2008) [Between increasing incidence and decreasing lethality]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 43(1):46-47.
52. Hallatschek W 2004 Hallatschek, W.: Die Regulation des humanen Lipopolysaccharid Bindenden Proteins (hLBP) 2004 [<http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/hallatschek-werner-2004-10-20/HTML/front.html>]  
Abrufdatum: 22.06.2008]
53. Hotchkiss RS, Karl IE (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*, 348(2):138-150.
54. Huang CC, Kao KC, Hsu KH, Ko HW, Li LF, Hsieh MJ, Tsai YH (2009) Effects of hydroxyethyl starch resuscitation on extravascular lung water and pulmonary permeability in sepsis-related acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 37(6):1948-1955.
55. Huter L, Simon TP, Weinmann L, Schuerholz T, Reinhart K, Wolf G, Amann KU, Marx G (2009) Hydroxyethylstarch impairs renal function and induces interstitial proliferation, macrophage infiltration and tubular damage in an isolated renal perfusion model. *Crit Care*, 13(1):R23.
56. Iaina A, Schwartz D (1994) Renal tubular cellular and molecular events in acute renal failure. *Nephron*, 68(4):413-418.
57. Ince C (2005) The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care*, 9 Suppl 4:S13-19.
58. Jackson WF (2000) Ion channels and vascular tone. *Hypertension*, 35(1 Pt 2):173-178.
59. Jaggar JH, Porter VA, Lederer WJ, Nelson MT (2000) Calcium sparks in smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 278(2):C235-256.
60. Jakob SM (2004) Prevention of acute renal failure--fluid repletion and colloids. *Int J Artif Organs*, 27(12):1043-1048.
61. Janssens U, Graf J (2008) [Cardiovascular dysfunction in sepsis]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 43(1):56-63; quiz 64.
62. Jaschinski U, Lichtwarck-Aschoff M (2009) [Acute perioperative disturbances of renal function. Strategies for prevention and therapy]. *Anaesthesist*, 58(8):829-847; quiz 848-829.
63. Jungheinrich C, Neff TA (2005) Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch. *Clin Pharmacokinet*, 44(7):681-699.
64. Jungheinrich C, Scharpf R, Wargenau M, Bepperling F, Baron JF (2002) The pharmacokinetics and tolerability of an intravenous infusion of the new hydroxyethyl starch 130/0.4 (6%, 500 mL) in mild-to-severe renal impairment. *Anesth Analg*, 95(3):544-551, table of contents.
65. Kaisho T, Akira S (2006) Toll-like receptor function and signaling. *J Allergy Clin Immunol*, 117(5):979-987; quiz 988.
66. Kasthuri RS, Wroblewski M, Jilma B, Key NS, Nelsestuen GL (2007) Potential biomarkers of an exaggerated response to endotoxemia. *Biomarkers*, 12(3):287-302.
67. Kayser F BE, Zinkernagel R, Haller O, Eckert J, Deplazes P: Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie, vol. 11. überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005.
68. Kirchner E (1967) [Shock and central venous pressure]. *Munch Med Wochenschr*, 109(36):1846-1850.
69. Klinker R PH-C, Silbernagl S: Physiologie, vol. 5. komplett überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2005.
70. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L *et al* (2006) Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*, 34(6):1589-1596.



71. Landry DW, Oliver JA (2001) The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med*, 345(8):588-595.
72. Lange M, Ertmer C, Westphal M (2008) Vasopressin vs. terlipressin in the treatment of cardiovascular failure in sepsis. *Intensive Care Med*, 34(5):821-832.
73. Legendre C, Thervet E, Page B, Percheron A, Noel LH, Kreis H (1993) Hydroxyethylstarch and osmotic-nephrosis-like lesions in kidney transplantation. *Lancet*, 342(8865):248-249.
74. Leuthold J 2002 Untersuchungen zur Quaktität von peripheren Blutstammzellpräparaten - ultrastrukturelle Studien zur Beurteilung der Kryoprotektion [<http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/leuthold-jan-2003-01-16/HTML/leuthold.html>]
75. Lever A, Mackenzie I (2007) Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *Bmj*, 335(7625):879-883.
76. Levy MM, Pronovost PJ, Dellinger RP, Townsend S, Resar RK, Clemmer TP, Ramsay G (2004) Sepsis change bundles: converting guidelines into meaningful change in behavior and clinical outcome. *Crit Care Med*, 32(11 Suppl):S595-597.
77. Lobo DN (2004) Fluid, electrolytes and nutrition: physiological and clinical aspects. *Proc Nutr Soc*, 63(3):453-466.
78. Luce JM (1998) Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 26(2):369-376.
79. Macedo E, Bouchard J, Soroko SH, Chertow GM, Himmelfarb J, Ikizler TA, Paganini EP, Mehta RL (2010) Fluid accumulation, recognition and staging of acute kidney injury in critically-ill patients. *Crit Care*, 14(3):R82.
80. Mahmood A, Gosling P, Vohra RK (2007) Randomized clinical trial comparing the effects on renal function of hydroxyethyl starch or gelatine during aortic aneurysm surgery. *Br J Surg*, 94(4):427-433.
81. Mann HJ, Short MA, Schlichting DE (2009) Protein C in critical illness. *Am J Health Syst Pharm*, 66(12):1089-1096.
82. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL (1993) The gastrointestinal tract. The "undrained abscess" of multiple organ failure. *Ann Surg*, 218(2):111-119.
83. Martich GD, Boujoukos AJ, Suffredini AF (1993) Response of man to endotoxin. *Immunobiology*, 187(3-5):403-416.
84. Marx G, Pedder S, Smith L, Swaraj S, Grime S, Stockdale H, Leuwer M (2006) Attenuation of capillary leakage by hydroxyethyl starch (130/0.42) in a porcine model of septic shock. *Crit Care Med*, 34(12):3005-3010.
85. Matsuda N, Hattori Y (2007) Vascular biology in sepsis: pathophysiological and therapeutic significance of vascular dysfunction. *J Smooth Muscle Res*, 43(4):117-137.
86. Meier-Hellmann A (2000) [Catecholamine therapy in sepsis]. *Anaesthesist*, 49(12):1069-1076.
87. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 43(2):109-142.
88. Moran M, Kapsner C (1987) Acute renal failure associated with elevated plasma oncotic pressure. *N Engl J Med*, 317(3):150-153.
89. Munford RS (2006) Severe sepsis and septic shock: the role of gram-negative bacteremia. *Annu Rev Pathol*, 1:467-496.
90. Murakami K, Enkhbaatar P, Shimoda K, Cox RA, Burke AS, Hawkins HK, Traber LD, Schmalstieg FC, Salzman AL, Mabley JG *et al* (2004) Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase attenuates acute lung injury in an ovine model of sepsis. *Shock*, 21(2):126-133.

91. O'Brien JM, Jr., Ali NA, Aberegg SK, Abraham E (2007) Sepsis. *Am J Med*, 120(12):1012-1022.
92. Ostermann M, Chang RW (2007) Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med*, 35(8):1837-1843; quiz 1852.
93. Parrillo JE (1993) Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med*, 328(20):1471-1477.
94. Pillebout E, Nochy D, Hill G, Conti F, Antoine C, Calmus Y, Glotz D (2005) Renal histopathological lesions after orthotopic liver transplantation (OLT). *Am J Transplant*, 5(5):1120-1129.
95. Ponce de Leon-Rosales SP, Molinar-Ramos F, Dominguez-Cherit G, Rangel-Frausto MS, Vazquez-Ramos VG (2000) Prevalence of infections in intensive care units in Mexico: a multicenter study. *Crit Care Med*, 28(5):1316-1321.
96. Price S AP, Mitchell JA et al. (1999) Myocardial dysfunction in sepsis: mechanisms and therapeutic implications. *Eur Heart J* (20):715 - 724.
97. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P (2000) The endothelial surface layer. *Pflugers Arch*, 440(5):653-666.
98. Quayle JM, Nelson MT, Standen NB (1997) ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle. *Physiol Rev*, 77(4):1165-1232.
99. Ragaller M (2008) [Microcirculation in sepsis and septic shock - therapeutic options?]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 43(1):48-53; quiz 54.
100. Ravikant T, Lucas CE (1977) Renal blood flow distribution in septic hyperdynamic pigs. *J Surg Res*, 22(3):294-298.
101. Rehberg S, Ertmer C, Lange M, Morelli A, Van Aken H, Westphal M (2007) Effects of vasopressin and terlipressin in ovine septic shock on mesenteric blood flow and survival [Abstract]. *Crit Care*, 11(Suppl 4):P19.
102. Rehm M, Conzen PF, Peter K, Finsterer U (2004) [The Stewart model. "Modern" approach to the interpretation of the acid-base metabolism]. *Anaesthesist*, 53(4):347-357.
103. Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F, Meisner M (2002) Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care Med*, 30(5 Suppl):S302-312.
104. Reinhart K, Brunkhorst F, Bone H, Gerlach H, Grundling M, Kreymann G, Kujath P, Marggraf G, Mayer K, Meier-Hellmann A *et al* (2006) [Diagnosis and therapy of sepsis: guidelines of the German Sepsis Society Inc. and the German Interdisciplinary Society for Intensive and Emergency Medicine]. *Anaesthesist*, 55 Suppl 1:43-56.
105. Reinhart K, Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, Moerer O, Gruendling M, Oppert M *et al* (2008) [Study protocol of the VISEP study. Response of the SepNet study group]. *Anaesthesist*, 57(7):723-728.
106. Remick DG (2007) Pathophysiology of sepsis. *Am J Pathol*, 170(5):1435-1444.
107. Rensing H (2003) [Endotoxins. Pathogenetic meaning of sepsis]. *Anaesthesist*, 52 Suppl 1:S7-S13.
108. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA (2003) The enigma of sepsis. *J Clin Invest*, 112(4):460-467.
109. Ritz E, Schomig M (2000) [Diuretics and kidney diseases]. *Ther Umsch*, 57(6):361-367.
110. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M (2001) Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*, 345(19):1368-1377.

111. Rozich JD, Paul RV (1989) Acute renal failure precipitated by elevated colloid osmotic pressure. *Am J Med*, 87(3):359-360.
112. Russell JA, Walley KR, Singer J, Gordon AC, Hebert P, Cooper J, Mehta S, Granton J, Holmes CL, Storms MM *et al* (2006) A Randomized Controlled Trial of Low Dose Vasopressin Versus Norepinephrine Infusion in Patients Who Have Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med*, 175(Suppl.):A508.
113. Sakr Y, Lobo S, Knuepfer S, Esser E, Bauer M, Settmacher U, Barz D, Reinhart K (2010) Anemia and blood transfusion in a surgical intensive care unit. *Crit Care*, 14(3):R92.
114. Sakr Y, Payen D, Reinhart K, Sipmann FS, Zavala E, Bewley J, Marx G, Vincent JL (2007) Effects of hydroxyethyl starch administration on renal function in critically ill patients. *Br J Anaesth*, 98(2):216-224.
115. Schoenwald PK (2000) Intraoperative management of renal function in the surgical patient at risk. Focus on aortic surgery. *Anesthesiol Clin North America*, 18(4):719-737.
116. Schortgen F, Girou E, Deye N, Brochard L (2008) The risk associated with hyperoncotic colloids in patients with shock. *Intensive Care Med*, 34(12):2157-2168.
117. Schortgen F, Lacherade JC, Bruneel F, Cattaneo I, Hemery F, Lemaire F, Brochard L (2001) Effects of hydroxyethylstarch and gelatin on renal function in severe sepsis: a multicentre randomised study. *Lancet*, 357(9260):911-916.
118. Seldinger SI (1953) Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography; a new technique. *Acta radiol*, 39(5):368-376.
119. Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, Cal RG, de Sousa EF, Abe TP, de Andrade J *et al* (2004) Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care*, 8(4):R251-260.
120. Slack JL, Schooley K, Bonnert TP, Mitcham JL, Qwarnstrom EE, Sims JE, Dower SK (2000) Identification of two major sites in the type I interleukin-1 receptor cytoplasmic region responsible for coupling to pro-inflammatory signaling pathways. *J Biol Chem*, 275(7):4670-4678.
121. Soto K, Coelho S, Rodrigues B, Martins H, Frade F, Lopes S, Cunha L, Papoila AL, Devarajan P (2010) Cystatin C as a Marker of Acute Kidney Injury in the Emergency Department. *Clin J Am Soc Nephrol*.
122. Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H *et al* (2008) Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med*, 358(2):111-124.
123. Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovacs JA, Wesley RA, Parrillo JE (1989) The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med*, 321(5):280-287.
124. Sun Q, Dimopoulos G, Nguyen DN, Tu Z, Nagy N, Hoang AD, Rogiers P, De Backer D, Vincent JL (2003) Low-dose vasopressin in the treatment of septic shock in sheep. *Am J Respir Crit Care Med*, 168(4):481-486.
125. Suttner S, Boldt J (2004) [Volume replacement with hydroxyethyl starch: is there an influence on kidney function?]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 39(2):71-77.
126. Sweet MJ, Hume DA (1996) Endotoxin signal transduction in macrophages. *J Leukoc Biol*, 60(1):8-26.
127. Titheradge MA (1999) Nitric oxide in septic shock. *Biochim Biophys Acta*, 1411(2-3):437-455.
128. Traber DL (2000) Animal models: the sheep. *Crit Care Med*, 28(2):591-592.
129. Tsan MF, Baochong G (2007) Pathogen-associated molecular pattern contamination as putative endogenous ligands of Toll-like receptors. *J Endotoxin Res*, 13(1):6-14.

130. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, Bouman C, Macedo E *et al* (2005) Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *Jama*, 294(7):813-818.
131. Umino T, Kusano E, Muto S, Akimoto T, Yanagiba S, Ono S, Amemiya M, Ando Y, Homma S, Ikeda U *et al* (1999) AVP inhibits LPS- and IL-1beta-stimulated NO and cGMP via V1 receptor in cultured rat mesangial cells. *Am J Physiol*, 276(3 Pt 2):F433-441.
132. van der Heijden M, Verheij J, van Nieuw Amerongen GP, Groeneveld AB (2009) Crystalloid or colloid fluid loading and pulmonary permeability, edema, and injury in septic and nonseptic critically ill patients with hypovolemia. *Crit Care Med*, 37(4):1275-1281.
133. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG (1996) The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*, 22(7):707-710.
134. Wakatsuki T, Nakaya Y, Inoue I (1992) Vasopressin modulates K(+)-channel activities of cultured smooth muscle cells from porcine coronary artery. *Am J Physiol*, 263(2 Pt 2):H491-496.
135. Wan L, Bagshaw SM, Langenberg C, Saotome T, May C, Bellomo R (2008) Pathophysiology of septic acute kidney injury: what do we really know? *Crit Care Med*, 36(4 Suppl):S198-203.
136. Westphal M, Daudel F, Bone HG, Van Aken H, Sander J, Stubbe H, Booke M (2004) New approach to an ovine model of hypodynamic endotoxaemia. *Eur J Anaesthesiol*, 21(8):625-631.
137. Westphal M, Sander J, Van Aken H, Ertmer C, Stubbe HD, Booke M (2006) [Role of adrenomedullin in the pathogenesis and treatment of cardiovascular dysfunctions and sepsis]. *Anaesthesist*, 55(2):171-178.
138. Wilson MF, Brackett DJ, Hinshaw LB, Tompkins P, Archer LT, Benjamin BA (1981) Vasopressin release during sepsis and septic shock in baboons and dogs. *Surg Gynecol Obstet*, 153(6):869-872.
139. Wilson RF TA, Kindling PH *et al.* (1965) Hemodynamic measurement in septic shock. *Ann Surg* (91):121-129.
140. Winkelmayr WC, Glynn RJ, Levin R, Avorn J (2003) Hydroxyethyl starch and change in renal function in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Kidney Int*, 64(3):1046-1049.
141. Zander R, Adams HA, Boldt J, Hiesmayr MJ, Meier-Hellmann A, Spahn DR, Standl T (2005) [Requirements and expectations for optimal volume replacement]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 40(12):701-719.
142. Zink W, Graf BM (2001) [The pulmonary artery catheter]. *Anaesthesist*, 50(8):623-642; quiz 643-625.

## Danksagungen

Ich bedanke mich zuerst bei Herrn Dr. med. Christian Ertmer für die erstklassige Betreuung meiner Doktorarbeit und für die Freundschaft, die daraus entstanden ist.

Des Weiteren geht mein Dank an Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. Hugo Van Aken und insbesondere an Herrn Prof. Dr. med. Martin Westphal für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Mitarbeit in einer fantastischen Arbeitsgruppe.

An dieser Stelle auch vielen Dank an Herrn Dr. med. Sebastian Rehberg und Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Lange für Ihre wertvolle Unterstützung und Hilfe innerhalb der Arbeitsgruppe.

Gleichwohl geht mein Dank an Frau Cornelia Höhn für die gelungene Teamarbeit bei der Datenerhebung für diese Arbeit.

Ich möchte ebenfalls meinen Eltern und Großeltern für ihre Hilfe und Unterstützung danken sowie Herrn Dr. med. Jochen Böcker für seine Motivation und Freundschaft.





Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz  
Nordrhein-Westfalen

LANUV NRW, Postfach 10 10 52, 45610 Recklinghausen

Gegen Empfangsbekanntnis

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

Auskunft erteilt:

Herr Salert

Direktwahl 02361/305-709

Fax 02361/305-786

poststelle@lanuv.nrw.de

Aktenzeichen

9.93.2.10.36.07.067

bei Antwort bitte angeben

Ihre Nachricht vom:

Ihr Aktenzeichen:

Tierschutz

Durchführung von Tierversuchen; Genehmigung gem. § 8 Tierschutzgesetz  
Ihr Antrag vom 19.03.2007

Datum: 16.05.2007

Hauptsitz:

Leibnizstraße 10

45659 Recklinghausen

Telefon 02361 305-0

Fax 02361 305-786

poststelle@lanuv.nrw.de

www.lanuv.nrw.de

Dienstgebäude:

Hauptsitz Recklinghausen

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 verschiedener kolloidaler Volumenersatzlösungen auf das Säure-Basen-Elektrolyt-Gleichgewicht, 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. Christian Ertmer**

Öffentliche Verkehrsmittel:

Ab Hbf Recklinghausen mit Bus

236 bis Haltestelle

"Siemensstraße" oder mit Bus

SB20 bis Haltestelle

"Blitzkuhlenstraße" und 15 Min.

Fußweg

Diese Genehmigung ist für die Dauer von 18 Monaten ab dem 16.05.2007 befristet bis zum

**30.11.2008.**

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

Bankverbindung:

Landeskasse Düsseldorf

Konto-Nr.: 41 000 12

West LB AG

(BLZ 300 500 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:

**52 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 darf neben dem Leiter und dem Stellvertreter des Versuchsvorhabens folgende Person beteiligt werden:

**Herr Dr. med. Sebastian Rehberg**

Die bezeichnete Person darf 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.

**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. NW. S. 508) ist hier die Kreisordnungsbehörde.

Dieser Bescheid ist nicht gebührenpflichtig.

Seite 5 / 16.05.2007

Bitte geben Sie bei Änderungsanzeigen, Rückfragen oder sonstigen Ergänzungen stets das Aktenzeichen: **9.93.2.10.36.07.067** an.

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

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag

*Dr. Hieronymus*  
(Dr. Hieronymus)