

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken, FRCA, FANZCA -

Hämodynamische Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-
Synthase-Inhibition im endotoxämischen Schaf

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Vorgelegt von Lauer, Stefan
aus Dortmund
2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H.-G. Bone

2. Berichterstatter: Priv.- Doz. Dr. med. Dr. med. dent. U. Meyer

Tag der mündlichen Prüfung: 16.06.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken, FRCA, FANZCA -
Referent: Prof. Dr. med. H.-G. Bone
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Dr. med. dent. U. Meyer

Zusammenfassung

Hämodynamische Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im endotoxämischen Schaf
Stefan Lauer

Die Sepsis ist die häufigste Todesursache auf nicht-kardiologischen Intensivstationen und geht häufig mit einer hyperdynamen, hypotonen Kreislauftsituation einher. Pathophysiologisch scheint die übermäßige Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) in der Sepsis für die Ausbildung einer ausgeprägten Vasodilatation von wesentlicher Bedeutung zu sein. Zur kardiovaskulären Therapie wurden NO-Synthase-Inhibitoren (NOSI) eingesetzt, die einen positiven Einfluss auf das Blutdruckverhalten zeigen, jedoch auch im pulmonalen Kreislauf eine unerwünschte Blutdruckerhöhung bewirken. Die Wechselwirkungen von NOSI mit Katecholaminen, die im Rahmen eines septischen Kreislaufversagen häufig eingesetzt werden, sind bisher nicht näher untersucht worden.

Um die Wirkungen und Wechselwirkungen zwischen den überwiegend α -agonistisch wirkenden Katecholaminen Noradrenalin und Norfenefrin in Kombination mit dem unselektiven NOSI L-NAME zu untersuchen, wurden nach Genehmigung durch die Bezirksregierung Münster am 24.10.1996 (Aktenzeichen 23.0835.1.0/58/96) 26 Schafe (vier Gruppen) mit Pulmonalarterienkathetern und arteriellen Kathetern instrumentiert. Den wachen, spontan atmenden Versuchstieren wurden in zwei verschiedenen Dosierungen entweder Noradrenalin oder Norfenefrin intravenös appliziert. Hämodynamische Parameter wurden erhoben und die Messreihe unter Gabe von L-NAME (25 mg/kg + 5 mg/kg/h) wiederholt. Im Anschluß wurde den Versuchstieren Salmonella typhosa Endotoxin (10 ng/kg/min) über 24 h infundiert und die Messungen im septischen Schaf erneut durchgeführt. In zwei weiteren Versuchsreihen wurde in gesunden Tieren der Einfluss des α_2 -Antagonisten Yohimbin auf die hämodynamischen Effekte von Noradrenalin und L-NAME bzw. der Einfluss des zentralen α_2 -Agonisten Clonidin auf die hämodynamischen Effekte von L-NAME untersucht.

Die Endotoxinämie induzierte nach 24h eine hyperdynamie Zirkulation, die durch Gabe von L-NAME aufgehoben wurde. Sowohl in gesunden als auch in septischen Tieren war der Anstieg von Blutdruck (MAD) und systemvaskulärem Gefäßwiderstand (SVRI) unter L-NAME und Noradrenalin-Gabe sehr viel stärker ausgeprägt als unter Norfenefrin-Applikation. Die Gabe von Yohimbin schwächte die Wirkung von Noradrenalin unter NOSI stark ab. Clonidin bewirkte unter NOSI einen paradoxen Anstieg von MAD und SVRI. L-NAME scheint einen α_2 -vermittelten, potenzierenden Effekt auf die vasopressorische Aktivität von Noradrenalin, nicht aber auf Norfenefrin zu besitzen.

Tag der mündlichen Prüfung:

16.06.2005

INHALTSVERZEICHNIS

Tabellenverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	I
Diagrammverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	III

1 GRUNDLAGEN..... 1

1.1 Sepsis..... 1

1.1.1 Definition und Terminologie	1
1.1.2 Epidemiologie und natürlicher Verlauf	4
1.1.3 Pathophysiologie der Sepsis	5
1.1.3.1 Phasen der Sepsis	5
1.1.3.2 Dysregulation der Immunantwort.....	7
1.1.4 Rolle des Endotoxins	8
1.1.5 Die Bedeutung von Stickstoffmonoxid in der Sepsis.....	9
1.1.5.1 Grundlagen.....	9
1.1.5.2 Erhöhte Stickstoffmonoxid - Produktion in der Sepsis.....	11

1.2 Klinik der Sepsis 12

1.2.1 Kardiovaskuläre Veränderungen in der Sepsis.....	13
1.2.1.1 Makrozirkulation	13
1.2.1.2 Mikrozirkulation in der Sepsis.....	14

1.3 Therapie der Sepsis 15

1.4 Katecholamintherapie in der Sepsis..... 17

1.4.1 Pharmakologie der Katecholamine	17
1.4.1.1 Grundlagen.....	17
1.4.1.2 Noradrenalin	19
1.4.1.3 Norfenefrin.....	20
1.4.2 Pharmakologie und klinischer Einsatz von α -Adrenozeptor-Agonisten / Antagonisten	21
1.4.2.1 Pharmakologie, klinischer Einsatz und Dosierung von Clonidin.....	21
1.4.2.2 Pharmakologie und klinischer Einsatz von Yohimbin	22
1.4.3 Klinischer Einsatz der Katecholamine in der Sepsis	23

1.5 Experimentelle Ansätze zur Therapie der Sepsis..... 26

1.5.1 Allgemeine experimentelle Ansätze	26
1.5.2 NO-Synthase-Inhibitoren in der Sepsis.....	27

2 FRAGESTELLUNGEN..... 31

3	METHODIK	33
3.1	Tierexperimentelle Studie.....	33
3.2	Instrumentierung der Versuchstiere.....	33
3.3	Das Modell der experimentellen Sepsis	34
3.4	Datenerhebung.....	35
3.4.1	Kardio-Pulmonales Monitoring	35
3.4.2	Statistische Auswertungen	37
3.5	Spezielle Methodik	38
3.5.1	Versuchsreihe 1: Vergleich der hämodynamischen Effekte von Noradrenalin (NAME/NA) und Norfenefrin (NAME/NF) unter NO-Synthase im gesunden und endotoxämischen Schaf	38
3.5.2	Versuchsreihe 2: Hämodynamische Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin (NAME/Yohimbin)	42
3.5.3	Versuchsreihe 3: Hämodynamische Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf (NAME/Clonidin)	44
4	ERGEBNISSE	46
4.1	Effekte der Endotoxinämie	46
4.1.1	Systemische Hämodynamik und kardiovaskuläre Füllungsdrücke	46
4.1.2	Pulmonale Hämodynamik	46
4.2	Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf	47
4.2.1	Systemische Hämodynamik und kardiovaskuläre Füllungsdrücke	47
4.2.2	Pulmonale Hämodynamik	48
4.3	Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im endotoxämischen Schaf.....	49
4.3.1	Systemische Hämodynamik und kardiovaskuläre Füllungsdrücke	49
4.3.2	Pulmonale Hämodynamik	50
4.4	Hämodynamische Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin	59
4.5	Hämodynamische Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf	62
4.6	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	64
5	DISKUSSION	66
5.1	Das Schafsmodell der hyperdynamen Sepsis.....	66
5.2	Effekte der Endotoxinämie	68
5.3	Effekte von L-NAME	68
5.3.1	Typ und Dosierung von L-NAME	68
5.3.2	Systemische Effekte von L-NAME	69
5.3.3	Pulmonale Effekte von L-NAME.....	70
5.4	Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin	71
5.4.1	Systemische Effekte.....	71
5.4.2	Pulmonale Effekte	73

5.5	Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden und endotoxämischen Schaf	74
5.5.1	Systemische Effekte.....	74
5.5.2	Pulmonale Effekte.....	78
5.6	Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit dem α_2-Antagonisten Yohimbin	78
5.7	Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf	80
6	SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK	81
7	LITERATURVERZEICHNIS	83
8	DANKSAGUNGEN	102
9	LEBENS LAUF	103

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Adrenozeptoren und dopaminerge Rezeptoren des kardiovaskulären Systems	Seite 19
Tabelle 2	Formeln und Einheiten indirekt erhobener Messparameter	Seite 37
Tabelle 3	Kardiovaskuläre Füllungsdrücke	Seite 47

Abbildungsverzeichnis

Abbildung I	SIRS und Sepsis – ein nach Roger Bone et al., 1992 modifiziertes Konzept. Die „Sepsis“ ist demzufolge eine systemisch-inflammatorische Immunantwort auf einen infektiösen Auslöser.	Seite 3
Abbildung II	Kriterien zur Diagnose der Sepsis / des septischen Schocks. Modifiziertes Konzept in Anlehnung an die Konsensuskonferenzen 1992/2001	Seite 4
Abbildung III	Phasen der Sepsis	Seite 8
Abbildung IV	Strukturformeln von Noradrenalin und Norfenefrin im Vergleich	Seite 21
Abbildung V	Strukturformel Clonidin	Seite 22
Abbildung VI	Strukturformel Yohimbin	Seite 23
Abbildung VII	Strukturformel L-NAME	Seite 28
Abbildung VIII	Protokoll der Versuchsreihe 1 von NAME/NA und NAME/NF im gesunden Schaf	Seite 40
Abbildung IX	Protokoll der Versuchsreihe in der endotoxämischen Phase (NAME/NA endo und NAME/NF endo)	Seite 41

Abbildung X	Protokoll der Versuchsreihe „Hämodynamische Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin (NAME/ Yohimbin)	Seite 43
Abbildung XI	Versuchsaufbau „Hämodynamische Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf (NAME/Clonidin)	Seite 45

Diagrammverzeichnis

Diagramme I-IV	graphische Darstellung der Daten für den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) und dem systemvaskulären Widerstandsindex (SVRI) nach Infusion von Noradrenalin und Norfenefrin im gesunden und endotoxämischen Schaf und des Weiteren unter NO-Synthase-Inhibition (L-NAME)	Seite 51-53
Diagramme V-VIII	graphische Darstellung der Daten für Herzfrequenz (HF) und Schlagvolumenindex (CI) nach Infusion von Noradrenalin und Norfenefrin im gesunden und endotoxämischen Schaf und des Weiteren unter NO-Synthase-Inhibition (L-NAME)	Seite 54-56
Diagramme IX-XII	graphische Darstellung Daten für den pulmonalarteriellen Mitteldruck (MPAP) und pulmonalvaskulären Widerstandsindex (PVRI) nach Infusion von Noradrenalin und Norfenefrin im gesunden und endotoxämischen Schaf und des Weiteren unter NO-Synthase-Inhibition (L-NAME)	Seite 57-59

Abkürzungsverzeichnis

AT III	Antithrombin III
BSA	Körperoberfläche
CARS	Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndrome
CLP	Zökale Ligation und Perforation
cGMP	Zyklisches Guanosin-Monophosphat
CHAOS	Cardiovascular Shock, Homeostasis, Apoptosis, Organ Dysfunction und Immunesuppression
DAG	Diacyl-Glycerol
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
ERDF	Endothelium Derived Relaxing Factor
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex
HZV	Herzzeitvolumen
HMG	High Morbidity Group
IL	Interleukin
iNOS	Induzierbare NO-Synthase
ITP	Isonitol-Triphosphat
LPB	Lipopolysaccharide Binding Protein
LPS	Lipopolysaccharid (Endotoxin)
L-MNNA	N ^G -Methyl-L-Arginin
L-NAME	N ^ω -Nitro-L-Arginin-Methylester
L-NA	N ^G -Nitro-L-Arginin
MAD	Mittlerer Arterieller Druck
MARS	Mixed Antagonistic Response Syndrome
MIF	Macrophage Migration Inhibiting Factor
MODS	Multiple Organ Dysfunktion Syndrome
MPAD	Mittlerer Pulmonalerterieller Druck
NA	Noradrenalin
NaCl	Natriumchlorid
NF	Norfenefrin
nNOS	Neuronale NO-Synthase

NO	Stickstoffmonoxid
NOSI	NO-Synthase-Inhibitor(en)
PAF	Plättchen-Aktivierender Faktor
PCWP	Pulmonalkapillärer Verschlußdruck
PIRO	Predisposition Insult, Infection, the Response of the Host System and Organ dysfunction
PVRI	Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SVRI	Systemvaskulärer Widerstandsindex
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Grundlagen

1.1 Sepsis

1.1.1 Definition und Terminologie

Die Sepsis ist aus historischer Sicht betrachtet ein schon lange bekanntes Krankheitsbild, das bereits im Jahre 400 v. Chr. von Hippokrates beschrieben wurde. Rückblickend auf die Geschichte der Sepsis wird deutlich, dass trotz der bemerkenswerten Fortschritte in den Erkenntnissen über die Pathophysiologie eine einheitliche Definition dieses Krankheitsbildes fehlt und folglich über Terminologie und Ätiologie wissenschaftlich heftig diskutiert wird.

Hippokrates beschrieb eine oft letal endende Erkrankung, die 7 bis 14 Tage nach Verwundung mit Fieber beginnt, „das verursacht wird durch eine Materie, die fault“. Seine Hypothese, dass die Ursache der Sepsis ein Fäulnis der Gewebe und die damit verbundene Freisetzung von Giftstoffen sei, hielt sich als Erklärung für die Pathophysiologie bis in die Mitte des 19. Jahrhunderts.

1751 postulierte der holländische Pathologe Boerhaave, dass eine schädliche Substanz aus der Luft in die Wunde eindringen und somit die Ursache dieser systemischen Erkrankung sein könnte. Im Jahre 1847 beschrieb der Gynäkologe Semmelweis eine Senkung der mütterlichen Sterblichkeit nach der Geburt durch die Einführung der Händedesinfektion mit Chlorwasser. Dieses geschah jedoch noch unter der Vorstellung, dadurch die Übertragung eines putriden Giftes zu verhindern (98).

Entscheidende Neuerkenntnisse für die Wissenschaft brachte der Nachweis von Bakterien durch Pasteur und Koch um 1860. Schottmüller zog daraus den Schluss, dass die Präsenz von lebenden Bakterien grundlegende Bedeutung für die Pathophysiologie habe und definierte: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb eines Körpers ein Herd gebildet hat, von dem aus konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen, und zwar derart,

dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden.“(152).

Schwartzmann erkannte daraufhin weitergehend, dass neben den lebenden Bakterien auch deren Toxine, die sogenannten Endotoxine, für die Pathophysiologie eine entscheidende Rolle spielen (154). Eine aktuellere Definition der Sepsis von Siegel 1987 erweiterte die Ursachen der Sepsis auch auf andere Mikroorganismen bzw. deren Bestandteile und Toxine (83).

In den letzten Jahren hat der Begriff Sepsis bzw. dessen Definition erhebliche Änderungen erfahren. Die klassische Definition Schottmüllers, dass ein primärer Sepsisherd und dessen hämatogene Streuung für die Diagnose der Sepsis obligat seien, ist einer Definition gewichen, die das inflammatorische Geschehen in den Vordergrund rückt.

Noch 1989 wurde von Bone und Mitarbeitern auf der Grundlage zweier Multicenterstudien der Begriff des „Sepsis Syndrome“ eingeführt (23, 24). Grundlage für dieses Krankheitsbild blieb jedoch die infektiöse Ursache “Suspicion of infection plus the systemic response to it ... ought to form the basis of any clinical definition of sepsis” (21, 24). Aufgrund von wissenschaftlichen Beobachtungen, in denen es in einigen Fällen des Sepsis-Syndroms nicht möglich war, einen Infektionsherd bzw. eine Infektion als Ursache zu ermitteln, wurde auf der Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine (1) der Begriff „SIRS“ (**S**ystemic **I**nflammatory **R**esponse **S**ndrome) erarbeitet. Demnach legte man der Definition weniger die infektiöse Ursache, d.h. Mikroorganismen und deren Toxine, zugrunde, sondern vielmehr eine endogene Mediator-Kaskade. Somit schließt die Definition sowohl Patienten ein, in denen ein Infektionsherd eine Sepsis und somit ein „SIRS“ hervorruft, aber auch alle anderen Ursachen eines sepsis-ähnlichen Krankheitsbildes wie Traumata, Pankreatitiden, Verbrennungen, etc..

Zusätzlich wurden die Begriffe „schwere Sepsis“ und „septischer Schock“ zur Differenzierung der verschiedenen Krankheitsstadien eingeführt.

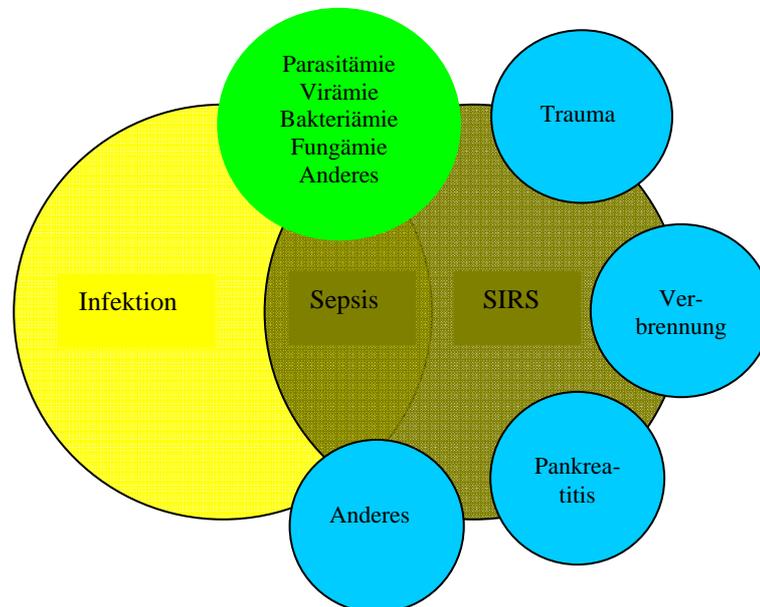


Abbildung I: SIRS und Sepsis – ein nach Roger Bone et al., 1992 modifiziertes Konzept. Die „Sepsis“ ist demzufolge eine systemisch-inflammatorische Immunantwort auf einen infektiösen Auslöser.

In einer erneuten Konsensuskonferenz im Jahre 2001 wurden eine Reihe zusätzlicher Kriterien zur Diagnose des SIRS und der Sepsis erarbeitet (100). Die Definitionen von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und Septischem Schock mit dem Multiorgan Dysfunction Syndrom aus dem Jahre 1992 wurden vorerst beibehalten und um zusätzliche klinische Symptome und Laborparameter erweitert, die regelmäßig in Patienten mit einem SIRS oder ähnlichen Ereignissen beobachtet wurden.

Das PIRO-System, ähnlich dem Staging-System für Tumoren, wurde entwickelt, um eine genauere Klassifizierung des klinischen Stadiums des Patienten gekoppelt mit zusätzlichen Laborparametern zu ermöglichen. PIRO ist hierbei eine Abkürzung der englischen Termini **P**redisposition **I**nfectio the **R**esponse of the host system and **O**rgan dysfunction. In das Staging-System werden somit

prädisponierende Faktoren (z.B. genetische Faktoren), Infektionsereignisse (Infektionstyp/-quelle etc.), die Wirtsantwort des Patienten (SIRS, septischer Schock, etc. und spezifische Marker wie IL-6, Protein C, TNF, etc.) und Organ-dysfunktionen eingebracht. Neben den klinischen Klassifizierungen soll das PI-RO-System auch eine bessere Definition von Eingangskriterien in klinischen Studien für die Sepsis-Therapie ermöglichen.

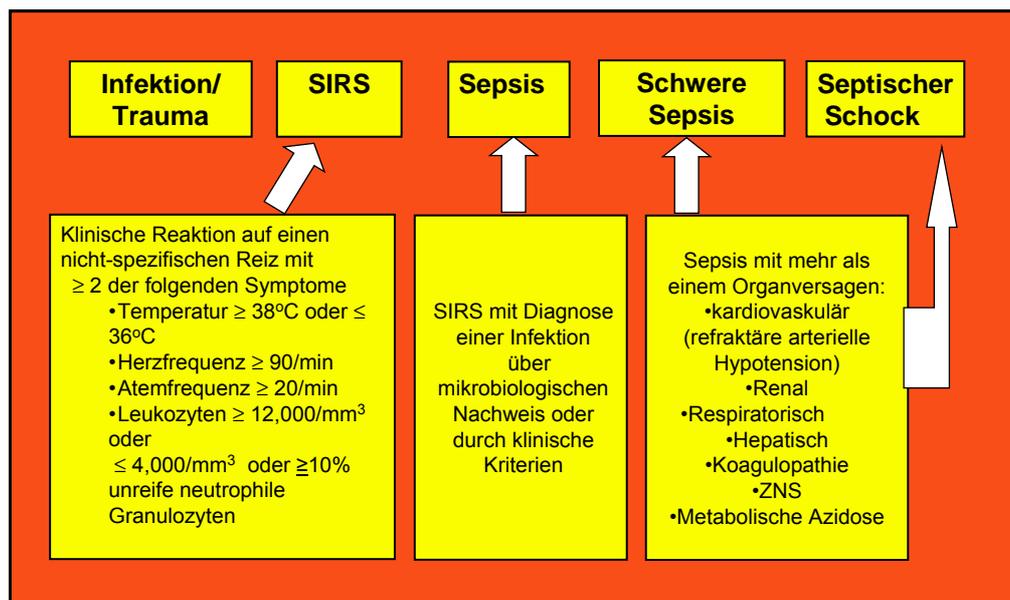


Abbildung II: Kriterien zur Diagnose der Sepsis / des septischen Schocks. Modifiziertes Konzept in Anlehnung an die Konsensuskonferenzen 1992 / 2001 (1, 2)

1.1.2 Epidemiologie und natürlicher Verlauf

Die Sepsis stellt in der heutigen Intensivmedizin ein häufiges und schwerwiegendes Problem dar. So ist sie die häufigste Todesursache auf nicht kardiologischen Intensivstationen (131). Die Fallzahlen für eine Sepsis liegen in den USA zur Zeit bei circa 700.000 Patienten pro Jahr und ungefähr 210.000 Patienten versterben jährlich an den Folgen einer Sepsis. Die Letalitätsrate hat sich in den letzten Jahren nicht wesentlich geändert und liegt zwischen 35% und 70% (194).

Laut neuester Studien steigt die Inzidenz zwischen 1,5% und 8% jährlich trotz technischer Weiterentwicklung in der Intensivmedizin und fortgeschrittener supportiver Therapie (6, 112).

Die Ursachen für das weitere Ansteigen der Inzidenz ist weitestgehend nicht geklärt. Wichtig scheint hierbei aber ein Anstieg der Prävalenz für Erkrankungen zu sein, die mit einer Kompromittierung des Immunstatus einhergehen, wie z.B. AIDS, zytotoxische und immunsuppressive Pharmaka, Mangelernährung, Alkohol, Tumorerkrankungen, Diabetes und ein Anstieg von Organtransplantationen sowie eine Zunahme von älteren und kranken Patienten in der Bevölkerung und des Weiteren eine Zunahme von resistenten Mikroorganismen (156). Interessanterweise scheint sich das mikrobiologische Erregerspektrum in den letzten Jahrzehnten verändert zu haben. Waren es in den späten 70er Jahren und den 80er Jahren vorwiegend gram-negative Erreger, so sind es heute vorwiegend gram-positive Bakterien, die eine Sepsis verursachen. In circa 14% der Fälle liegt eine Mischinfektion vor. In der gleichen Zeit nahm die Zahl der septischen Patienten mit Pilzen als Erreger um 200% zu (112). Die Pilzinfektionen, v.a. die Candidaspezies verursachen etwa 5 % der Sepsisfälle (17, 181).

Bedeutend für den Verlauf und die Therapie der Sepsis sind der Infektionsort und die Anzahl der Organe mit Funktionsversagen. Am häufigsten ist die Lunge Infektionsherd, gefolgt vom Abdomen und dem Gastrointestinaltrakt. In 20- 30% der Fälle bleibt allerdings der primäre Infektionsherd unbekannt (15, 181).

Die 28-Tage-Mortalität liegt bei der Sepsis zwischen 16% und 34% (10, 149) und steigt bei schwerer Sepsis auf 48% - 60% an (29, 95). Bei Patienten mit einer Sepsis entwickelt sich Bone zufolge in 40% ein septischer Schock (23).

1.1.3 Pathophysiologie der Sepsis

1.1.3.1 Phasen der Sepsis

Der menschliche Organismus besitzt die Fähigkeit, sich durch verschiedene Schutzmechanismen gegen pathogene Organismen zu verteidigen. Neben der äußeren Barriere zum Schutz vor Gewebsschädigung und Invasion sind hier die

unspezifische Immunabwehr gegen pathogene Keime und die antigenspezifische Immunantwort auf pathogene Keime zu nennen.

Bei Versagen dieser Mechanismen kommt es zum Eindringen von pathogenen Bakterien oder anderen Keimen aus einem Sepsisherd oder einer Infektionsquelle in die Blutstrombahn mit einer möglichen hämatogenen Aussaat in Organe und Gewebe. Ausmaß und Folgen dieser Invasion hängen hierbei von Zahl, Pathogenität und Virulenz des Erregers sowie der Funktion der körpereigenen Abwehrmechanismen und der Reaktion des Wirtsorganismus ab.

Die Entzündung ist hierbei die initiale, örtlich begrenzte unspezifische Immunantwort auf Gewebsschädigung, Mikroorganismen und chemische Fremdstoffe. Sie geht einher mit einer streng kontrollierten zellulären und humoralen Immunantwort. Ihre vorrangigen Reaktionen sind Vasodilatation, erhöhte mikrovaskuläre Permeabilität, Zelladhäsion-/aktivierung und Koagulation.

Außer Kontrolle geraten, kann dieses Immunsystem mit stark erhöhter Zellaktivierung und unkontrollierter Freisetzung von Mediatorsubstanzen zu einer übersteigerten systemischen Immunreaktion führen. Das klinische Bild wird per definitionem nach der Konsensus Konferenz von 1992/2001 als „SIRS“ bezeichnet.

Das Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) steht in der Frühphase der Sepsis im Vordergrund. Sein Merkmal ist eine Überaktivierung des nicht-spezifischen Immunsystems. Die Folge ist häufig ein Multiorganversagen, die kardiovaskuläre Dysfunktion nimmt eine entscheidende Rolle bei der sogenannten Frühletalität septischer Patienten ein.

Nach neueren Erkenntnissen geht man davon aus, dass neben dem proinflammatorischen Prozess „SIRS“ eine antiinflammatorische Antwort des Organismus existiert, in dessen Verlauf die proinflammatorischen Mediatoren ihre eigene Synthese inhibieren und die Synthese von Antagonisten stimulieren mit dem Resultat einer erhöhten Infektanfälligkeit und Anergie des Organismus. Der Patient ist in dieser Phase besonders anfällig für Sekundärinfektionen, die zur sogenannten Spätletalität beitragen können (27).

Bone bezeichnet diese Phase des septischen Verlaufes als „**C**ompensatory **A**nti-**I**nflammatory **R**esponse **S**yndrom“ („CARS“) (22). Eine Mischform aus

„SIRS“ und „CARS“ nennt Bone das „**Mixed Antagonistic Response Syndrome**“ („MARS“), das Spektrum ihrer negativen Auswirkungen als „CHAOS“ (**C**ardiovascular shock, **H**omeostasis, **A**poptosis, **O**rgan dysfunction und **I**mmunesuppression) (22).

1.1.3.2 Dysregulation der Immunantwort

In der Sepsis wird das Immunsystem durch bakterielle Bestandteile und Toxine aktiviert. Die Immunantwort wird hierbei vorwiegend durch neutrophile Granulozyten sowie Monozyten und Makrophagen vermittelt. Diese Zellen synthetisieren proinflammatorische Mediatoren (TNF- α und IL-1), macrophage migration inhibiting factor (MIF) und high mobility group-1 (HMG-1) sowie regulatorische Zytokine (IL-6).

Im Rahmen der inflammatorischen Kaskade kommt es neben neutrophiler-endothelialer- Zelladhäsion zu Aktivierung der Blutgerinnung und zu einer Aktivierung weiterer sekundärer inflammatorischer Mediatoren wie weitere Zytokine, Prostaglandine, Leukotriene und Proteasen und Bildung von Sauerstoffradikalen.

Das Resultat dieser überschießenden Immunreaktion in der Sepsis auf eindringende pathogene Keime ist eine Verschlechterung des kardiovaskulären Status des Patienten. Das Multiorganversagen und letztendlich der Tod des Patienten sind Folgen dieser Immunreaktion.

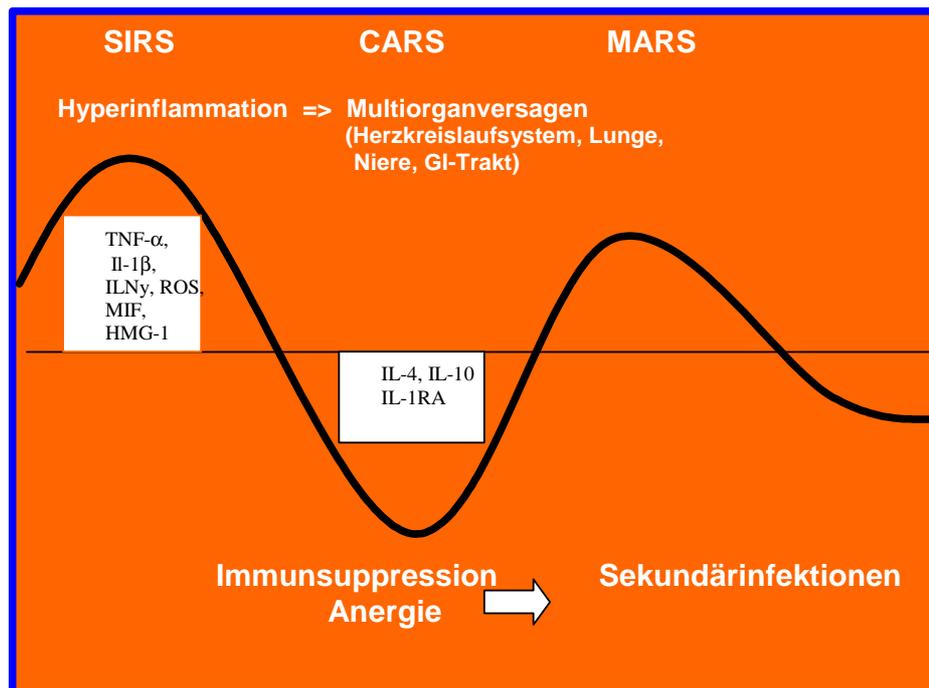


Abbildung III: Phasen der Sepsis, Abbildung modifiziert nach MA Weigand et al., 2003 (185)

1.1.4 Rolle des Endotoxins

Endotoxin, eine Lipopolysaccharid (LPS)- Komponente auf der äußeren Zellmembran von gram-negativen Bakterien, ist einer der Hauptmediatoren in der Pathogenese der Sepsis (162). Es ist verantwortlich für den Beginn der septischen Kaskade in gram-negativen Infektionen (13) und wird häufig durch Antibiotika-induzierten Zerfall von Bakterien in die Blutbahn freigesetzt (173).

Die große biologische Aktivität des Endotoxins scheint durch seine hohe Affinität zum LPS-binding protein (LBP), einem Glykoprotein, bestimmt zu sein, welches durch Hepatozyten in der Leber gebildet wird (153). Die Bedeutung dieses LPS-LBP-Komplexes wurde in einer Studie an Knock-out-Mäusen mit fehlendem LBP- Gen demonstriert. Es zeigte sich hierbei eine weitestgehende Resistenz gegenüber LPS (80).

Der LPS-LBP-Komplex besitzt eine hohe Affinität zu einem Oberflächenrezeptor von Makrophagen und Monozyten, dem sogenannten CD 14-Rezeptor. Nach Bildung dieses Komplexes wird das Signal durch den transmembranösen Toll-

like-Rezeptor-4 durch die Membran weitergeleitet. Es folgt die Aktivierung von NFkappa B und Sekretion von inflammatorischen Mediatoren (3). Desweiteren wurden auch lösliche CD-14-Rezeptoren nachgewiesen, an denen sich der LPS-LBP-Komplex bindet und so Endothelzellen aktiviert, die an ihrer Oberfläche keinen CD-14-Rezeptor ausbilden (78). In einer aktuellen Studie konnte eine Arbeitsgruppe auch die Existenz von konstitutiven endothelialen CD 14-Rezeptoren in vivo nachweisen, deren Expression durch LPS-Stimulus erhöht wurde (82).

Das Endotoxin von gram-negativen Bakterien scheint der Hauptmediator in der Sepsis zu sein. In gram-positiven Bakterien konnte bisher keine Struktur nachgewiesen werden, die dem LPS ähnlich ist, auch wenn sich die inflammatorische Immunantwort auf gram-positive Bakterien von gram-negativen Bakterien klinisch kaum unterscheidet. Strukturen in der Zellwand gram-positiver Bakterien wie das lösliche Peptidoglykan und die Lipoteichonsäure scheinen hierbei die inflammatorische Mediatorkaskade zu triggern wie das LPS der gram-negativen Bakterien (54, 193).

1.1.5 Die Bedeutung von Stickstoffmonoxid in der Sepsis

1.1.5.1 Grundlagen

Die Existenz von Stickstoffmonoxid (NO) in den glatten Gefäßmuskelzellen war lange Zeit unbekannt, bis Palmer und Ignarro 1987 unabhängig voneinander zu der Erkenntnis kamen, dass der bereits bekannte „Endothelium-derived-relaxing-factor“ (EDRF), erstmals 1980 von Furchgott und Zawadski beschrieben (58), nichts anderes war als Stickstoffmonoxid (NO) selbst (79, 129).

Stickstoffmonoxid ist ein stabiles, farbloses Gas, welches leicht wasserlöslich ist. In Lösung hat es eine Halbwertszeit von 0,1 – 10 Sekunden. Es ist ein körpereigener Überträgerstoff, der von verschiedenen Zelltypen im menschlichen Körper gebildet wird. Es hat darüber hinaus seine Funktion als parakriner und endokriner Zellmediator. NO hat aufgrund seiner ausgeprägten biologischen

Wirkung einen starken Einfluss auf das kardiovaskuläre, nervale und Immunsystem (31, 44).

Veränderungen in der NO-Homöostase werden in einer Vielzahl pathologischer Prozesse gefunden (44, 123).

Stickstoffmonoxid wird durch das Enzym Nitric Oxide Synthase (NOS) gebildet. Inzwischen sind 8 verschiedene DNA-Sequenzen auf drei Genen in verschiedenen Spezies identifiziert, unter anderem auch im Menschen:

- neuronale NOS (nNOS)
- endotheliale NOS (eNOS)
- induzierbare NOS (iNOS)

Die nNOS und eNOS zusammen bilden das konstitutive Enzym (cNOS). Die induzierbare Form wird durch eine Reihe von Stimuli aktiviert (44).

Die NO-Synthasen bilden die Produkte NO und L-Citrullin aus der Aminosäure L-Arginin. NOS können außerdem Superoxid bilden (136), wenn kein L-Arginin vorhanden ist. Steht hingegen L-Arginin für die Generierung von NO zur Verfügung, wird die Bildung von Superoxid gehemmt, es existiert also ein negatives Feedback von NO auf seine eigene Produktion (30).

Zwischen den Enzymen cNOS und iNOS gibt es einige bedeutende Unterschiede. Die Aktivität von cNOS ist abhängig vom Kalziumtransport in die Zelle, während für die NO-Produktion durch iNOS ein intrazellulärer Gehalt an Kalzium in der ruhenden Zelle ausreicht, um das Enzym zu aktivieren. Die Kalziumtransport-abhängige cNOS-Aktivität resultiert in einer flüchtigen und somit niedrigen Produktion von NO, welches im piccomolaren Bereich liegt. Die Mengen der anhaltenden Produktion von iNOS liegen hingegen sehr viel höher im nanomolaren Bereich. Ein weiterer Unterschied besteht in der zellulären Lokalisation der Enzyme. Während cNOS mit der Zellmembran assoziiert sind, so ist iNOS ein zytosolisches Enzym.

Stickstoffmonoxid spielt eine bedeutende Rolle als Neurotransmitter und in der physiologischen Regulierung des gefäßvaskulären Tonus in verschiedenen Organen (89, 90, 126) und hat somit Einfluss auf die Regulation von Blutdruck und Blutfluss (31).

NO als ein natürlicher Wirkstoff mit seiner kurzen Halbwertszeit gelangt durch passive Diffusion in die Gefäßmuskelzelle. Dort aktiviert es die lösliche Guanylatcyclase durch Bindung an das Eisen und initiiert so die Synthese von 3',5'-Guanosin-Monophosphat (cGMP). Kalzium wird aus der glatten Gefäßmuskelzelle gepumpt und es kommt zur Gefäßrelaxation. Inaktive Endprodukte des L-Arginin / NO-Stoffwechsels sind Nitrate und Nitrite.

iNOS ist normalerweise nicht aktiv, auch wenn es in verschiedenen Zelltypen von Lunge, Gastrointestinaltrakt und Blutzellen vorhanden ist. Eine Aktivierung findet über verschiedene proinflammatorische Mediatoren wie Endotoxin, Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Interferon γ (IFN) und Interleukin-1 (IL-1) statt. Die Aktivierung der menschlichen iNOS findet durch Transkription der mRNA durch verschiedene Transkriptionsfaktoren statt. Nach Aktivierung benötigt die iNOS als weiteres Substrat Calmodulin (15).

Nach Induktion der iNOS werden große Mengen an NO produziert, vorausgesetzt ist eine ausreichend vorhandene Menge an L-Arginin.

1.1.5.2 Erhöhte Stickstoffmonoxid - Produktion in der Sepsis

In septischen Patienten findet man erhöhte zirkulierende Konzentrationen von Nitrit / Nitrat als stabile Abbauprodukte von NO. Es wird vermutet, dass erhöhte Mengen an NO in direktem Zusammenhang mit einem reduzierten Gefäßwiderstand und kardialer Komprimittierung im septischen Schock stehen. Stickstoffmonoxid und seine Metaboliten scheinen zum einen direkten Einfluss auf den Gefäßtonus zu nehmen und zum anderen einen direkten zytotoxischen Effekt zu besitzen.

Zu den Mediatoren, die für die Induktion der induzierbaren NO-Synthase-Aktivität und somit der erhöhten Produktion von NO in der Sepsis verantwortlich zu sein scheinen, gehören das Endotoxin, die proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF und Interferon (IF)- γ (127). iNOS werden in einer Reihe von Zellen nachgewiesen, wie der Gefäßendothelzellen, glatten Muskelzellen, Makrophagen und verschiedenen parenchymalen Zellen. Die Expression von iNOS dauert wenige Stunden. Makrophagen, die mit IF- γ und LPS stimuliert

wurden, zeigten bereits nach 2 Stunden eine iNOS mRNA und nach 4 Stunden ein iNOS-Protein (190).

In experimentellen Studien wurde die Rolle des NO in der Sepsis näher untersucht und es zeigte sich, dass Endotoxin die konstitutive Freisetzung von NO aus dem Endothel zum einen erhöhte (147) und zum anderen die iNOS aktivierte (102). Mäuse mit fehlendem iNOS waren zudem resistent gegenüber einer endotoxin-induzierten Mortalität (184) und vaskulärer Hyporeaktivität (65). In zwei Untersuchungen an Mäusen konnte der Einfluss von iNOS auf die vaskuläre Reaktivität im Bereich der kleinen Arteriolen gegenüber Noradrenalin demonstriert werden. Während septische Mäuse mit einer zökalen Ligatur und Punktion sich im Bereich der kleinen Widerstandsgefäße hyporeaktiv gegenüber Noradrenalin zeigten, so war die vaskuläre Reaktivität in knock-out-Mäusen, denen die iNOS fehlten, verbessert (74, 76).

Zusammenfassend spielt die exzessive Freisetzung von NO in der Sepsis und Endotoxämie eine entscheidende Rolle in der endotoxin-induzierten (147) und TNF- α induzierten Vasodilatation (88) und trägt somit zur kardiovaskulären Dysfunktion mit massiv herabgesetzter Reaktion des Gefäßsystems auf Katecholamine bei (75, 88, 171).

1.2 Klinik der Sepsis

Charakteristisch für den septischen Schock ist die schwere Hypotension durch Abfall des systemvaskulären Widerstandes (SVR), erhöhter Gefäßpermeabilität mit Ausbildung einer relativen Hypovolämie und Permeabilitätsödemen, Hyporeagibilität auf endogene und exogene Katecholamine, Störungen des Gerinnungssystems und der Mikrozirkulation, Fehlverteilung des peripheren Blutflusses auf metabolisch inaktives Gewebe (distributiver Schock). Im Verlauf des Schockgeschehens kommt es zur Dysfunktion von Organen (z. B. kardiale Dysfunktion, akutes Lungenversagen) bis hin zur Dysfunktion (MODS = Multi-Organ Dysfunction Syndrome) oder zum Versagen von ganzen Organsystemen, dem sogenannten MOFS (Multi-Organ Failure Syndrome). Im Folgenden

soll nun speziell auf die Auswirkungen des Schockgeschehens mit Akzentuierung des kardiovaskulären Systems eingegangen werden.

1.2.1 Kardiovaskuläre Veränderungen in der Sepsis

1.2.1.1 Makrozirkulation

Die makrohämodynamischen Veränderungen im septischen Schock sind gekennzeichnet durch eine absolute oder relative Verminderung des zentralen Blutvolumens, Einschränkungen der systolischen Funktion sowohl des linken als auch des rechten Ventrikels und einer massiven Erniedrigung des peripheren systemvaskulären Widerstandes. Die Folge ist eine inadäquate Gewebespersion und Gewebsoxygenierung im Endstromgebiet.

Trotz teilweise sehr hoher Auswurffractionen besteht im septischen Patienten eine myokardiale Dysfunktion mit herabgesetzter Compliance beider Ventrikel, die sich negativ auf die rechts- und linksventrikuläre Ejektionsfraktion auswirkt (62, 175). Typischerweise ist die myokardiale Dysfunktion bereits in den ersten 24 Stunden nachweisbar und bei überlebenden Patienten vollständig reversibel (130).

Ist der Abfall des systemvaskulären Widerstandes - vor allem im Bereich der Arteriolen und Venolen (10) - durch das erhöhte Herzzeitvolumen nicht kompensierbar, so entwickelt sich eine manifeste Hypotonie, die im ausgeprägtesten Falle mit einer Vasoplegie einherzugehen scheint (63). Man spricht vom hyperdynamen septischen Schock. Diese systemische Vasodilatation erstreckt sich nicht nur auf den arteriellen, sondern auch auf den venösen Gefäßtonus mit der Folge eines venösen Poolings und eines ineffektiven venösen Rückstroms zum Herzen (10). Konsekutiv kommt es zu einer Verschiebung der Frank-Starling-Kurve mit eingeschränkter rechts- und linksventrikulärer Ejektionsfraktion.

Eine Ursache für den Verlust des SVR ist neben der Adaption an einen erhöhten metabolischen Bedarf die Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren (z.B. TNF- α , Interleukine) im Rahmen der Entzündungskaskade (50). Als Hauptmediator für den Abfall des SVR scheint jedoch übermäßig produziertes

Stickstoffmonoxid zu sein, das durch induzierbare NOS in der Sepsis freigesetzt wird und in hohen Konzentrationen über eine Beeinflussung des cGMP-Stoffwechsels der glatten Gefäßmuskulatur eine Vasodilatation bewirkt (122). Durch eine erhöhte Gefäßpermeabilität kommt es zusätzlich zu einem intravasalen Flüssigkeitsverlust in den interstitiellen Raum. Neben dieser relativen Hypovolämie kann sich durch eine verminderte orale Flüssigkeitsaufnahme, Erbrechen, Durchfällen, großem Urinverlust einer erhöhten Perspiratio sensibilis und Schwitzen durch Fieber eine absolute Hypovolämie entwickeln (138).

1.2.1.2 Mikrozirkulation in der Sepsis

Im Rahmen des septischen Schockgeschehens kommt es bei vielen Patienten zu einem Multi-Organversagen. Eine Reihe von Arbeitsgruppen konnte sowohl tierexperimentell als auch klinisch eine Umverteilung des regionalen und kapillären Blutflusses beobachten (9, 56)

Die Organdysfunktionen in der Sepsis erstrecken sich auf verschiedene Organe des Gastrointestinaltraktes wie Darmmukosa, Leber, Pankreas sowie Niere, Gehirn, Herz und Lunge.

Einige Studiengruppen zeigten eine Blutflussumverteilung weg von Pankreas, Ileum und Kolon hin zum Herzen (19, 26), aber auch ungünstige Blutflussumverteilungen innerhalb eines Organes wie, z.B. eine subendokardiale/subepikardiale Blutflussumverteilungen wurden beobachtet (118).

Die Minderperfusion des Splanchnikusgebietes wird als ein wichtiger Mechanismus in der Entwicklung einer erhöhten mukosalen Permeabilität gesehen und sollte bei Intensivpatienten eine besondere Beachtung finden (81). Durch den Verlust der mukosalen Barrierefunktion ist die Permeabilität für Endotoxine und endoluminale Bakterien erhöht und unterhält den inflammatorischen Prozess in der Sepsis (45, 191). Anhand der Messung des Blutflusses in der Mukosa mittels Laserflow-Doppler in Ratten konnte gezeigt werden, dass die mukosale Perfusion in Tieren nach Infusion lebender Bakterien um 40% abnahm (167). Eine andere tierexperimentelle Arbeit konnte mit Hilfe der Intravitalmikroskopie zeigen, dass in septischen Ratten vor allem die Mikrozirkulation

im Bereich der Darmmukosa gestört ist, obwohl der Blutfluss in der zentralen Villusarteriole nicht beeinflusst wurde. Pathophysiologisch scheint diese Hypoperfusion im Kapillargebiet durch präkapilläre Shuntphänomene in der Villismikrozirkulation bedingt zu sein (158).

Die Beeinflussung der makro- und mikrozirkulatorischer Störungen in der Sepsis ist sicherlich aufgrund der vielfältigen Pathomechanismen sehr komplex. Ein Ziel zur Optimierung der zirkulatorischen Störungen ist hierbei die Wiederherstellung einer stabilen Hämodynamik.

1.3 Therapie der Sepsis

Die Therapie der Sepsis unterscheidet drei verschiedene therapeutische Ansätze:

I. Kausale Therapie

Ziel der kausalen Therapie der Sepsis ist die Beseitigung der Ursache der Sepsis. Hierbei ist die Herdsanierung der entscheidende therapeutische Ansatz (2). Neben der chirurgischen Sanierung eines infektiösen Herdes mittels Relaparotomie, Lavage, Nekrosektomie und Drainage gehört auch das Entfernen infektiöser Katheter zu diesem Therapiekonzept. Die gezielte antimikrobielle Therapie ist Mittel der Wahl beim Vorliegen positiver Blutkulturen. Zur Verbesserung des Outcome sollten generell bakterizide, schnellwirkende, parenteral applizierbare Antibiotika in ausreichend hoher Dosierung angewendet werden (36). Die korrekte Auswahl des Antibiotikums korreliert dabei mit einem verbesserten Outcome des Patienten im septischen Schock (187). Eine antiinfektiöse Therapie mittels kalkulierter Chemotherapie sollte ebenfalls durchgeführt werden, obwohl in nur weniger als der Hälfte der Sepsispatienten positive Blutkulturen vorliegen (149).

II. Adjuvante Therapie

Ziel der adjuvanten Therapie ist die selektive Beeinflussung der pathophysiologischen Abläufe in der Sepsis. Eine Übersichtsstudie von Zeni et al. zeigt jedoch, dass die Inhibition verschiedener Mediatoren und die hoch-

dosierte Glukokortikoidgabe das inflammatorische Geschehen und letztendlich das Outcome der Patienten nicht signifikant beeinflussen konnte (194).

III. Supportive Therapie

Ziel einer supportiven Therapie ist die Wiederherstellung gestörter Organfunktionen durch intensivmedizinische Maßnahmen. Im Rahmen des Multiorganversagens im septischen Schock gehören unter anderem die kontrollierte Beatmung des Patienten, die Therapie des Herz-Kreislaufversagens, Optimierung der Gerinnung aber auch Organersatzverfahren, wie z.B. die Hämodialyse bzw. Hämofiltration sowie die enterale / parenterale Ernährung zu diesem Konzept.

1.4 Katecholamintherapie in der Sepsis

Vor Beginn einer Katecholamintherapie ist eine adäquate Volumentherapie unerlässlich, um das intravasale Volumendefizit durch erhöhte mikrovaskuläre Permeabilität, kapilläres Leck und massive periphere Vasodilatation auszugleichen. Die Frage, ob kolloidale oder kristalloide Lösungen für das Outcome der Patienten günstiger sind, ist bis heute nicht eindeutig geklärt. In zwei Metaanalysen wurde ein fehlender Vorteil für kolloidale Lösungen und eine möglicherweise höhere Mortalität unter Substitution kolloidaler Lösungen festgestellt, auch wenn konkrete Daten zur Überlegenheit der kristalloiden Lösungen fehlen (35, 150). In einer tierexperimentellen Studie konnte der deletäre Effekt einer Katecholamintherapie unter maskierter Hypovolämie mit der frühen Entwicklung eines Multiorganversagens im endotoxämischen Schaf nachgewiesen werden (71).

Eine Katecholamintherapie sollte erst dann eingesetzt werden, wenn eine alleinige Volumensubstitution nicht ausreichend ist, um einen adäquaten Perfusionsdruck herzustellen. Hierbei ist es wichtig, anhand des klinischen Bildes des Patienten das geeignete Katecholamin bzw. die geeignete Katecholaminkombination zu finden.

1.4.1 Pharmakologie der Katecholamine

1.4.1.1 Grundlagen

Noradrenalin gehört neben Adrenalin und Dopamin zu den im sympathischen Nervensystem, im Nebennierenmark und im Gehirn gebildeten körpereigenen Katecholaminen. Ihre spezifische Wirkung wird über Adrenozeptoren, bei Dopamin zusätzlich über dopaminerge Rezeptoren vermittelt. Differenzierte Alquist 1948 lediglich α und β - Rezeptoren, so beschrieb Lands 1967 (93) bereits α_1

und α_2 sowie β_1 und β_2 -Rezeptoren. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt werden die Adrenozeptoren in $\alpha_{1A/B/C}$ und $\beta_{1A/B/C}$ -Rezeptoren unterteilt (159).

Strukturell sind Adrenozeptoren in die Zellmembran eingelagerte Proteine, die auf der Außenseite der Zelle den Agonisten binden und auf der Zellinnenseite über eine Interaktion mit G-Proteinen die Erregung in einen intrazellulären Effekt umwandelt. Die Differenzierung der Rezeptoren beruht auf Strukturunterschieden wie z.B. einer unterschiedlichen Länge des intrazellulären „carboxyl“-Endes.

Katecholamine sind hydrophile Substanzen und können nur mit Hilfe der Adrenozeptoren, bestehend aus lipophilen Aminosäuren, die Zellmembran durchdringen (155). Als Agonisten stimulieren sie die β -Rezeptoren und es kommt über eine Kopplung an ein G-Protein zur Aktivierung der Adenylatcyclase und somit zu einem Anstieg des intrazellulären cyclo-Adenosin 3'5'-Monophosphat (cAMP). α_2 -Rezeptoren erniedrigen hingegen das cAMP durch eine Wechselwirkung mit einem hemmenden G-Protein. Die Bindung von Katecholaminen an α_1 -Rezeptoren führt über die Aktivierung eines G-Proteins zur Stimulation der Phospholipase C und so zur Bildung von Diacyl-Glycerol (DAG) und Inositol-Triphosphat (ITP). Rezeptorvermittelt kommt es zur Kalziumfreisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum durch ITP und zur Öffnung von Kalziumkanälen Proteinkinase-vermittelt durch DAG (159).

Die Effekte der Rezeptorstimulation im kardiovaskulären System sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt:

Adrenozeptoren und dopaminerge Rezeptoren des kardiozirkulatorischen Systems

Rezeptoren	Lokalisation	Erfolgsorgan	Wirkung
α_1	Präsynaptisch	Myokard	Noradrenalinfreisetzung ↓
	Postsynaptisch	glatte Gefäßmuskulatur	Positiv inotrop Vasokonstriktion
α_2	Präsynaptisch	Glatte Gefäßmuskulatur	Noradrenalinfreisetzung ↓
	Postsynaptisch	Glatte Gefäßmuskulatur	Vasokonstriktion
β_1	Postsynaptisch	Myokard	Positiv inotrop, chronotrop, dromotrop
		Niere	Reninfreisetzung
β_2	Präsynaptisch		Noradrenalinfreisetzung ↑
	Postsynaptisch	Myokard	Positiv inotrop
		Glatte Gefäßmuskulatur	Vasodilatation
		Bronchien	
		Uterus	Relaxation
Leber	Glykogenolys und Glukoneogenese ↑ Hypokaliämie		
DA ₁	Postsynaptisch	Glatte Gefäßmuskulatur	Vasodilatation
		Niere	Renaler Blutfluss ↑
DA ₂	Präsynaptisch	Myokard	Noradrenalinfreisetzung ↓
		Glatte Gefäßmuskulatur	Vasodilatation

Tabelle 1: Adrenozeptoren und dopaminerge Rezeptoren des kardiovaskulären Systems

1.4.1.2 Noradrenalin

Noradrenalin als direktes Sympathomimetikum besitzt eine stark ausgeprägte Wirkung an den α -Rezeptoren. Klinisch wird diese Eigenschaft vor allem zur Erhöhung des peripheren vaskulären Widerstandes und somit zur Steigerung von systolischen und diastolischen Blutdruck genutzt. Der koronare und zerebrale Perfusionsdruck werden gesteigert und die Durchblutung von Herz und Gehirn nimmt durch Blutumverteilung aus den vasokonstrigierten Bereichen zu. Eine Abnahme der Durchblutung im Intestinaltrakt, der Haut und der Sklett-

muskulatur ist möglich. Trotz einer schwach ausgeprägten β_1 -Wirkung ist meist eine Abnahme der Herzfrequenz (Barorezeptorreflex) zu beobachten. Der klinische Einsatz von Noradrenalin (Arterenol[®]) liegt in der Therapie schwerer Hypotensionen verschiedener Ursachen, wenn eine α -mimetische Wirkung und somit eine periphere Vasokonstriktion gewünscht ist. Noradrenalin zählt zu den Medikamenten der ersten Wahl beim Kreislaufversagen im Rahmen eines septischen Schocks. Bei geringer oraler Bioverfügbarkeit wird die Substanz intravenös appliziert.

1.4.1.3 Norfenefrin

Das synthetische Katecholamin Norfenefrin (Novadral[®]) gehört als β -Phenylethylamin zur Klasse der Noradrenalin-Analoga. Chemisch gesehen fehlt der Substanz Norfenefrin im Vergleich zu Noradrenalin die 4-Hydroxylgruppe am Phenylring (Abbildung IV). Die klinische Wirkung von Norfenefrin ist vor allem durch seine α_1 -selektive Wirkung charakterisiert. Bei geringer oraler Bioverfügbarkeit wird die Substanz ausschließlich intravenös appliziert. Über die sympathomimetische Wirkung an postsynaptischen α_1 -Rezeptoren induziert Norfenefrin eine periphere Vasokonstriktion und somit einen Anstieg des arteriellen Blutdruckes. Die Herzfrequenz kann dabei reflektorisch abnehmen (Barorezeptorenreflex), auch wenn eine gewisse β_1 -Stimulation vorhanden ist. In geringem Maße konstringieren auch venöse Gefäße und führt zu einer Steigerung der Vorlast des Herzens. Bei geringgradiger β_1 -Stimulation bleibt hierbei unter Umständen das Schlagvolumen trotz erhöhtem peripheren Gefäßwiderstand unverändert. Der Einfluss auf das Herzzeitvolumen ist somit primär abhängig von Veränderungen der Herzfrequenz. Die klinische Anwendung von Norfenefrin (Novadral[®]) liegt vorwiegend in der Therapie hypotoner Kreislaufstörungen. Allerdings ist der Wirkstoff in Deutschland zur systemischen Applikation bei Patienten nicht zugelassen.

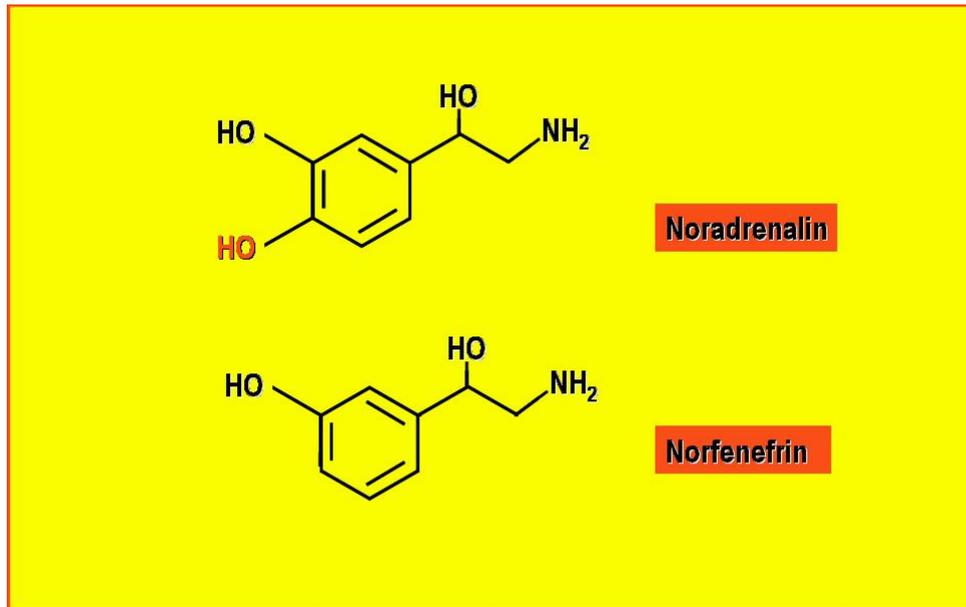


Abbildung IV: Strukturformeln von Noradrenalin und Norfenefrin im Vergleich

1.4.2 Pharmakologie und klinischer Einsatz von α -Adrenozeptor-Agonisten / Antagonisten

1.4.2.1 Pharmakologie, klinischer Einsatz und Dosierung von Clonidin

Clonidin wirkt als α_2 -Rezeptor-Agonist in der pontomedullären Region des ZNS. Pharmakologisch und chemisch steht es den Imidazolin-Derivaten nahe (Abbildung V). Diese Substanz nimmt somit Einfluß auf die Aktivität des peripheren und zentralen sympathischen Nervensystems. Über den Agonismus zu den präsynaptischen α_2 -Rezeptoren wird die Freisetzung von Noradrenalin aus peripheren synaptischen Nervenendigungen gehemmt und der Blutdruck gesenkt. Die Wirkung von Clonidin und Yohimbin sind gegensätzlich (60).

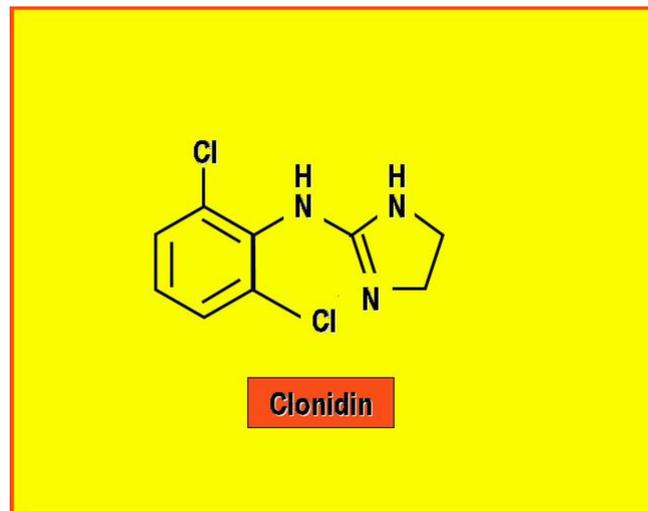


Abbildung V: Strukturformel Clonidin

Clonidin besitzt eine periphere α -mimetische Wirkung mit Herabsetzung des Sympathikotonus, die zentrale α_2 -stimulierende Wirkung steht jedoch im Vordergrund. Klinisch kommt es neben einem Blutdruckabfall zu einer Reduzierung der Herzfrequenz und des Herzzeitvolumens. Bei abruptem Absetzen des Clonidins können reaktiv erhöhte Noradrenalin-Spiegel eine hypertensive Krise auslösen. Desweiteren kommt es über die Blockade des RAA-Systems zu einer verminderten Reninfreisetzung.

1.4.2.2 Pharmakologie und klinischer Einsatz von Yohimbin

Yohimbin gehört zur Substanzklasse der Indolalkylamidalkaloide und ist ein kompetitiver Antagonist mit selektiver Wirkung an α_2 -Rezeptoren (Abbildung. VI). Die Wirkgruppe der α_2 -Antagonisten nimmt Einfluß auf wichtige zentrale und periphere Regulationsvorgänge des sympathischen Nervensystems.

Über eine Stimulation der präsynaptischen α_2 - Rezeptoren, wie durch den α_2 - Agonisten Clonidin möglich, kommt es in der pontomedullären Region des ZNS zu einer Hemmung des sympathischen Nervensystems und folglich zu einer Hemmung der Noradrenalinausschüttung aus peripheren sympathischen Nervenendigungen. Daraus resultiert ein Blutdruckabfall. Die Blockade von präsynaptischen α_2 -Rezeptoren führt somit zu einem Anstieg der Noradrenalin-

Konzentration und über α_1 - und β_1 -Rezeptor-Stimulation an Herz und peripheren Gefäßen steigt der Blutdruck (60). Auch wenn α_2 -Rezeptoren in bestimmten Gefäßwänden angesiedelt sind und eine Kontraktion glatter Muskelzellen fördern, findet ihre Stimulation dennoch überwiegend durch zirkulierende Katecholamine statt, α_1 -Rezeptoren werden durch Noradrenalin aktiviert (43, 174).

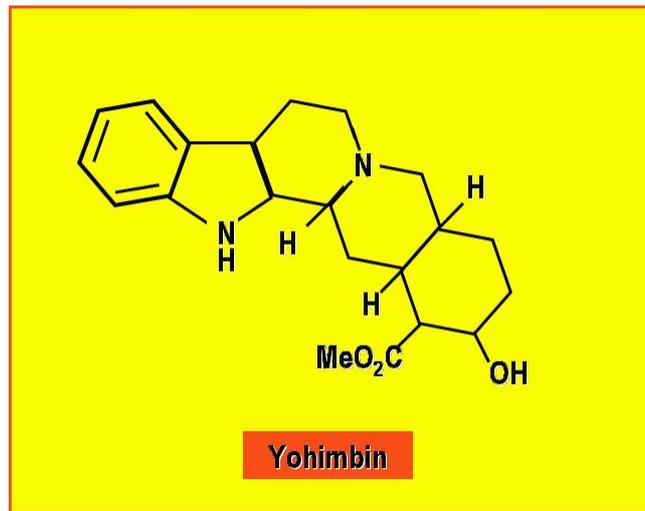


Abbildung VI: Strukturformel Yohimbin

Moncada beschrieb 1991 eine stimulierende Funktion von α_2 -Rezeptoren auf die Ausschüttung von endothelium derived relaxing factor (ERDF) in einigen Gefäßen (123), ihre Rolle in der Regulation des Blutflusses innerhalb verschiedener Gefäßgebiete ist unsicher (40).

Die klinische Wirkung des Yohimbin sind Steigerung von Herzfrequenz und Blutdruck, der motorischen Aktivität und Induktion eines Tremors. Die Wirkungen des Yohimbins sind den Wirkungen von Clonidin gegensätzlich (60). Klinischen Einsatz fand Yohimbin in der Vergangenheit vor allem in der Behandlung männlicher sexueller Funktionsstörungen (141).

1.4.3 Klinischer Einsatz der Katecholamine in der Sepsis

Ziel der hämodynamischen Therapie ist die Aufrechterhaltung eines adäquaten Sauerstofftransportes zum Gewebe. Der mittlere arterielle Blutdruck muß hier-

bei auf einem Level gehalten werden, um eine angemessene Verteilung des Herzzeitvolumens zu ermöglichen. Nach ausreichender Volumentherapie kommen grundsätzlich kurzwirksame Sympathomimetika wie Noradrenalin, Norfenefrin, Adrenalin, Phenylephrin, Dopamin, Dobutamin und Vasopressin in Betracht.

In aktuellen Studien wird Noradrenalin als Vasopressor im septischen Schock als Mittel der Wahl eingesetzt. Vor allem in der hyperdynamen Sepsis mit niedrigem peripheren Gefäßwiderstand wird über eine ausgeprägte α -Adrenozeptorwirkung und in geringerem Maße auch β_1 -Rezeptor-Stimulation der mittlere arterielle Blutdruck aufrecht erhalten. Die Dosierungen liegen bei 0,2 bis 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ (114, 177). Therapeutisches Ziel scheint hierbei ein mittlerer arterieller Blutdruck von 60 – 65 mmHg zu sein (145, 177).

Der Einsatz von Noradrenalin ist bis heute umstritten und wird teilweise als Mittel der letzten Wahl zur Therapie einer Hypotension im septischen Schock angesehen. Bedenken wurde vor allem wegen der stark vasokonstriktorisches Wirkung mit negativem Einfluss auf die regionale Perfusion von Niere, Leber und Gastrointestinaltraktes geäußert mit der möglicherweise daraus resultierenden, späteren Organdysfunktion (52, 144, 180, 192).

Schon vor mehr als einem Jahrzehnt wurde beobachtet, dass die ungünstigen vasokonstriktorisches Nebenwirkungen von Noradrenalin im nicht-septischen und septischen Patient unterschiedlich sind (34).

Die Sepsis ist charakterisiert durch eine verminderte vasokonstriktorisches Antwort auf α_2 -Agonisten. Die Dosierungen zur Anhebung des mittleren arteriellen Blutdruckes sind insgesamt im septischen Patienten sehr viel höher als im nicht-septischen Patienten (16). Lange Zeit wurde dies auch als „down-regulation“ von α -Adrenozeptoren bezeichnet (134).

Die Ursachen für einen erhöhten Katecholaminbedarf werden unterschiedlich begründet. Neben einer erhöhten Produktion von NO in der Sepsis mit einem über das Endothel vermittelten inhibitorische Effekt auf α -Agonisten (166) scheinen auch andere Mechanismen eine Rolle zu spielen. Möglich wären zum einen eine Verminderung des α -Rezeptor-vermittelten Influx von Kalzium unter septischen Bedingungen mit der Folge einer verminderten Vasoreaktivität auf

Noradrenalin (32), oder zum anderen eine Veränderung des chemischen Struktur von Noradrenalin und somit Verminderung seiner Bioaktivität wie z.B. durch NO oder Radikale wie Superoxid (42, 91, 107, 157).

Der septische Schock ist ein Syndrom der Fehlverteilung des Blutflusses und einer ungünstigen Sauerstoffextraktion aufgrund von Shuntphänomenen auf mikrozirkulatorischer Ebene (158). Ziel einer Vasopressortherapie ist eine Korrektur der Verteilung des Blutflusses zu kritischen Organen und eine Verbesserung des reduzierten peripheren Gefäßwiderstandes, der ein erhöhtes Herzzeitvolumen "verbraucht" ohne eine adäquate Perfusion von lebenswichtigen Organen zu ermöglichen.

Der Einsatz von Noradrenalin scheint insgesamt keinen Abfall des Herzzeitvolumens im septischen Patienten zu verursachen. Eine Reihe von Studien beschreiben einen konstanten bzw. leicht erhöhten Herzindex (111, 114, 146). Desweiteren konnte in einigen Studien ein Anstieg der Diurese und auch der Kreatininclearance unter Noradrenalingabe in der Sepsis demonstriert werden (46, 47, 68). Die Perfusion des Splanchnikusgebietes aber auch der Sauerstoffverbrauch scheint im septischen Patienten – im Gegensatz zu Beobachtungen im gesunden Individuum – verbessert zu sein (109, 117).

Phenylephrin ist eine mögliche Alternative zu Noradrenalin. Durch seine fehlende β -intrinsische Aktivität müssen Nebenwirkungen wie eine Minderperfusion des Splanchnikusgebietes durch Gabe eines β -Agonisten kompensiert werden (142).

Der Einsatz von Adrenalin wird von den meisten Autoren als Mittel der ersten Wahl zur Therapie der schweren Sepsis abgelehnt. Adrenalin bewirkt durch seine β_1 -mimetische Wirkung eine Steigerung des Herzzeitvolumens und durch seine α -Adrenozeptor-mimetische Wirkung eine Steigerung des Perfusionsdruckes (18, 124). Dennoch ist ein entscheidender limitierender Faktor des Einsatzes von Adrenalin die massive Minderperfusion im Splanchnikusgebiet (52, 99, 116). Auf den Einsatz von Adrenalin sollte aus diesem Grunde als Mittel der ersten Wahl verzichtet werden.

Dobutamin ist das Katcholamin der ersten Wahl zur Therapie der septischen Kardiomyopathie mit eingeschränkter myokardialen Pumpfunktion (115). Die

Aufrechterhaltung einer hyperdynamen Kreislauffunktion mit einer β_1 -mimetischen Substanz ist hierbei sinnvoll. Dobutamin führt im Vergleich mit Dopamin zu einem höheren Herzzeitvolumen (178).

1.5 Experimentelle Ansätze zur Therapie der Sepsis

1.5.1 Allgemeine experimentelle Ansätze

Die Komplexität der Pathophysiologie der Sepsis wird erkennbar an den vielen tierexperimentellen und klinischen Studien zur Therapie des septischen Schocks. Lange Zeit galten vor allem Therapieansätze mit Blockaden von inflammatorischen Mediatoren als vielversprechend. Leider zeigten die meisten Studien keine Effektivität mit einer signifikanten Senkung der Mortalität. Der Tumor-Nekrosefaktor- α ist ein zentraler Mediator in der inflammatorischen Kaskade der Sepsis. Hohe TNF- α -Spiegel gehen mit einer schlechten Prognose einher. Tierexperimentelle Studien zeigten eine niedrigere Letalität bei Behandlung mit Antikörpern gegen TNF- α . Die bis heute durchgeführten klinischen Studien konnten hingegen keine Senkung der Mortalität zeigen (143). Eine Ausnahme stellt hier die sogenannte MONARCS-Studie dar. In einer Untersuchung an 2.634 Patienten konnte das TNF- α -Antikörperfragment Afelimobab die Mortalität um 3,6% senken, in einer Subpopulation mit erhöhten Interleukin-6 Spiegel sogar um 6,9% reduzieren (53).

Die Behandlung mit Ibuprofen, einem Antagonisten des Rezeptors für den Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF) und einem Bradykinin antagonist, führten zu keiner Senkung der Letalität (49, 55). Auch Bemühungen, über eine frühe Hämofiltration zirkulierende Mediatoren zu eliminieren, führten im tierexperimentellen Modell zwar zu einer Verbesserung der Hämodynamik und des Outcome im Sepsismodell der Ratte, bis zum jetzigen Zeitpunkt konnte jedoch keine Indikation für eine frühe Hämofiltration zur Mediatorelimination bei Patienten mit Sepsis gefunden werden, ausgenommen Patienten mit einem akuten Nierenversagen (39).

Versuche, über die pathologisch veränderten Gerinnungsabläufe in der Sepsis das Outcome der Patienten zu verbessern, war nur teilweise erfolgreich. Die hochdosierte Anwendung des physiologischen Gerinnungsinhibitors Antithrombin III (AT III) konnte die 28-Tage-Mortalität bei 2300 Patienten nicht senken. Lediglich eine Untergruppe ohne begleitende niedrigdosierte Heparintherapie zeigte einen möglichen Benefit in der Therapie mit AT III (116).

Erfolgversprechend scheint hingegen der Einsatz von rekombinantem humanem aktiviertem Protein C zu sein. Dieser physiologische Gerinnungsinhibitor konnte in der PROWESS-Studie einen positiven Effekt auf die Überlebensrate von Patienten zeigen. Allerdings zeigte sich eine höhere Blutungsneigung in der Behandlungsgruppe und schloss nur wenige operative Patienten ein. Die Wirksamkeit ist bisher nur bei Patienten mit einem mindestens Zwei-Organversagen gesichert (15, 48).

Weitere experimentelle Ansätze zur Behandlung von septischen Patienten ist der Einsatz von Substanzen zur Verbesserung der kompromitierten Mikrozirkulation im septischen Schock. Prostazyklin als potenter Vasodilatator und N-Acetylcystein als Sauerstoffradikalfänger verbesserten in klinischen Studien den Splanchnikusblutfluss und die Leberfunktion. Beweise für eine Reduktion von Organversagen stehen aber noch aus (87, 97, 139).

Die Anwendung von Methylenblau zur Hemmung der Guanylatcyclase und somit indirekten Hemmung der NO-Freisetzung zeigte in klinischen Patientenkollektiven einen Anstieg des arteriellen Blutdruckes (28, 151). Aufgrund fehlender größerer klinischer Studien gibt es zur Zeit keine Indikation zum klinischen Einsatz. Auch der Einsatz von Immunglobulinen zeigte keine eindeutigen Effekte und wurde deshalb in den Empfehlungen der Therapie der Sepsis vom „European Sepsis Forum“ aus dem Jahre 2003 nicht mit aufgenommen (51).

1.5.2 NO-Synthase-Inhibitoren in der Sepsis

Die Tatsache, dass massiv erhöhte NO-Konzentrationen in der Sepsis für die deletäre kardiovaskuläre Situation verantwortlich sein könnte, führte seit den

90er Jahren zu einer Vielzahl von Studien, die sich mit der Blockade von NO-Synthasen beschäftigten.

Mit der Entdeckung von L-Arginin-Analoga wie N^G-methyl-L-Arginin (L-MNNA), N^G-nitro-L-Arginin (L-NA) und sein Methylester (L-NAME) (Abbildung VII) konnte die NO-Synthase-Aktivität gehemmt werden und führte zu einer Reihe von Untersuchungen über Wirkung und Nebenwirkung von NO-Synthase-Inhibitoren in der Sepsis. Diese NO-Synthase-Inhibitoren (NOSI) gelten als unselektive Inhibitoren mit Hemmung sowohl der eNOS als auch der iNOS. Nicht-Aminosäure-basierte NOSI sind den Arginin-Analoga ähnlich, unterscheiden sich aber in ihrer Struktur. Zu diesen NOSI zählen unter anderem Guanidin- und Imidazolderivate. Aminoguanidine inhibieren selektiv die iNOS sehr viel stärker als die eNOS und scheinen die ungünstigen Wirkungen von NO durch Reaktion mit Peroxynitrit zu reduzieren (165).



Abbildung VII: Strukturformel L-NAME

Die NO-Blockade führt zu einem Anstieg des systemvaskulären Widerstand in der Sepsis (94, 121) und scheint auch die eingeschränkte Wirkung von Katecholaminen in vivo wiederherzustellen (75). Die Arbeitsgruppe um Lorente beschrieb einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes, des systemvaskulären Widerstandes und des pulmonalarteriellen Widerstandes und Druckes in septischen Schafen nach Behandlung mit L-NMMA. Bei Vorbehandlung mit L-Arginin war dieser Effekt nicht mehr nachzuweisen (106). Einige Studien konn-

ten aber auch eine Einschränkung des Blutflusses und der Gewebsoxygenierung vor allem beim Einsatz unselektiver NOSI nachweisen (160, 195). Im Gegensatz dazu scheint die Überlebensrate beim Einsatz selektiver NO-Inhibitoren höher zu sein (165). Allerdings sind die positiven Effekte der selektiven NO-Synthase-Inhibitoren vor allem bei niedrigen Dosierungen nachzuweisen, hohe Dosierungen steigern die Mortalitätsraten.

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten in tierexperimentellen Sepsis-Studien mit Endotoxin einen positiven Einfluss von selektiven NO-Synthase-Inhibitoren auf Kreislaufdysfunktion und Organdysfunktion von Niere, Leber und Pankreas demonstrieren (101, 165, 188).

In einer klinischen Untersuchung applizierte die Arbeitsgruppe um Lorente N^{ω} -nitro-L-Arginin als Bolusinjektion und beschrieb einen Anstieg des Blutdruckes und des systemvaskulären Widerstandes, der von einem Abfall des Herzzeitvolumens begleitet war. Interessanterweise wurde einer weiteren Patientengruppe L-Arginin appliziert und es kam zu einem Abfall des systemvaskulären Widerstandes begleitet von einem Anstieg des HZV (105). Auch die Arbeitsgruppe um Petros et al. untersuchte die Wirkung von L-NMMA bei Patienten mit einer schweren Sepsis. Auch hier reagierten die Patienten mit einem Anstieg des arteriellen Blutdruckes und systemvaskulären Widerstandes und einem Abfall des HZV (132). Avontuur konnte die Katecholamindosierungen in einer Untersuchungsgruppe mit 11 Patienten reduzieren, bei einem Versterben von sieben Patienten konnte letztendlich keine Reduktion der Mortalität erzielt werden (11). Neben den positiven hämodynamischen Effekten durch Behandlung mit NOSI wurde in einigen Gruppen auch ein Anstieg des pulmonalvaskulären Widerstandes beschrieben (11, 105, 132).

In einer großen Multicenterstudie der Phase III konnte teilweise eine Reduktion der Katecholamindosierungen erreicht werden, letztendlich mussten diese klinischen Studien mit dem nichtselektiven NO-Synthase-Inhibitor L-NAME aber bei höherer Mortalität in der Behandlungsgruppe abgebrochen werden (64).

In einer aktuellen Multicenterstudie der Phase II aus dem Jahre 2004 hingegen wurde die Sicherheit des nicht-selektiven NO-Synthase-Inhibitors N^G -methyl-L-arginin hydrochloride an 312 Patienten im septischen Schock getestet. In dieser

randomisierten, doppelt geblindeten Studie demonstrierten die Autoren, dass eine intravenöse Gabe in einer maximalen Dosierung von 20mg/kg/h in der Behandlungsgruppe nach 72 Stunden eine signifikant höhere Anzahl von Patienten eine geringer ausgeprägte Schocksymptomatik hatten und auch die Vasopressortherapie reduziert werden konnte im Gegensatz zur Plazebo-Gruppe. Die Häufigkeit septischer Komplikationen waren in beiden Gruppen vergleichbar. Die pulmonalvaskulären Drücke hingegen waren in der Behandlungsgruppe höher (12, 182).

In einer sich anschließenden Phase III- Studie an 797 Patienten im septischen Schock zeigte sich in der Behandlungsgruppe mit N^G-methyl-L-arginin hydrochloride eine mit 59% höhere Mortalität als in der Plazebo-Gruppe mit 49%. Als Ursachen wurden neben Komplikationen im Rahmen eines septischen Schocks vor allem kardiovaskuläre Gründe (Abfall des HZV, arterieller und pulmonaler Hypertonus, Herzversagen) von den Autoren genannt (104).

2 Fragestellungen

In der vorliegenden Arbeit sollten in diesem Modell der hyperdynamen Sepsis im endotoxämischen Schaf folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- 1) Gibt es unterschiedliche Wirkungen und Wechselwirkungen zwischen den überwiegend α -agonistisch wirkenden Katecholaminen Noradrenalin und Norfenefrin in Kombination mit dem NO-Synthase-Inhibitor L-NAME sowohl im gesunden als auch im endotoxämischen Schaf?
- 2) Ist es möglich, Wirkungsunterschiede der beiden Katecholamine unter NO-Synthase-Inhibition durch einen zentralen α -Agonisten bzw. einem α_2 -Antagonisten darzustellen und somit eine mögliche veränderte Wirkweise von Katecholaminen an α -Adrenozeptoren unter NO-Synthase-Inhibition zu erklären?

In einem etablierten Modell der hyperdynamen Sepsis im Schaf soll eine dem Intensivpatienten im septischen Schock ähnliche hämodynamische Situation geschaffen werden. Aufgrund aktuell durchgeführter klinischer Studien mit unselektiven NO-Synthase-Inhibitoren (104, 182) ist das Ziel dieser Arbeit die Problematik der Katecholamintherapie unter NO-Synthase-Inhibition zu untersuchen.

Auswirkungen von NO-Synthase-Inhibitoren auf das Herz-Kreislauf-System, und Wechselwirkungen mit Katecholaminen war bereits Thema wissenschaftlicher Arbeiten (26, 183). In vitro-Studien an isolierten Gefäßen zeigten hierbei unterschiedliche Wechselwirkungen von Katecholaminen mit NO-Synthase-Inhibitoren. Die Autoren vermuteten eine mögliche spezifische adrenozeptorassoziierte Wirkung der NO-Synthase-Inhibitoren (85). Bislang wurde aber in in vivo-Versuchen die unterschiedliche Auswirkung zweier Katecholamine einer Wirkstoffgruppe, die sich chemisch nur durch eine p-Hydroxygruppe unterscheiden wie Noradrenalin und Norfenefrin, auf die Hämodynamik im direkten

Vergleich unter NOSI weder in gesunden noch in endotoxämischen Tieren untersucht. Methodologisch stand in vorangegangenen in-vivo-Studien hämodynamische Veränderungen von Katecholaminen unter NOSI an sich, nicht aber die Klärung der Ursachen unterschiedlicher Effekte im Vordergrund. Die Hypothese unterschiedlicher Effekte von Katecholaminen unter NOSI und mögliche Wechselwirkung an verschiedenen α -Rezeptoren soll hierbei zusätzlich mit Hilfe des zentralen α_2 -Agonisten Clonidin und des α_2 -Antagonisten Yohimbin hinsichtlich ihres hämodynamischen Verhaltens geprüft werden.

Die vorliegende Arbeit soll zielgerichtet die im Rahmen eines septischen Schocks eingesetzte NO-Synthase-Inhibitoren wie L-NAME in ihrer Wechselwirkung mit Katecholaminen zu untersuchen, um möglicherweise grundlegende Kenntnisse zu erlangen über die Anwendung verschiedener Katecholaminen unter NOSI und über eine sinnvolle und optimale Ergänzung beider Therapieansätze sowie Reduktion möglicher Nebenwirkungen. Die vorliegende Arbeit fokussiert hierbei auf zwei α -mimetisch wirkende Katecholamine, Noradrenalin und Norfenefrin, die im Rahmen einer hyperdynamen Sepsis im klinischen Alltag zur Therapie des septischen Schocks eingesetzt werden.

3 Methodik

3.1 Tierexperimentelle Studie

Nach Genehmigung des Versuchsvorhabens durch die Bezirksregierung Münster wurde das Experiment an 26 Schafen weiblichen Geschlechts der Merino-Rasse mit einem durchschnittlichen Gewicht von 33.2 ± 1.4 kg an der zentralen tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelms - Universität Münster (ehem. Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. vet. K.-D. Richter , jetzt Dr. med. vet. M. Lücke) durchgeführt (Aktenzeichen 23.0835.1.0, 58/96).

Die Versuchsreihe wurde an wachen, chronisch instrumentierten Tieren durchgeführt.

Die Schafe wurden für die Zeit der Versuchsreihe in Spezialkäfigen gehalten und hatten nach Beendigung der Instrumentierung bis zum Ende des Versuches freien Zugang zu Futter und Wasser. Die Tiere zeigten im gesamten Versuchszeitraum keinerlei Anzeichen von Schmerzen.

3.2 Instrumentierung der Versuchstiere

Die Instrumentierung der Schafe wurde einen Tag vor Beginn der Versuchsreihe unter einer intramuskulär durchgeführten Anästhesie mit Ketaminhydrochlorid (20 mg kg^{-1} Ketanest[®], Parke-Davis GmbH, Berlin, BRD) unter Spontanatmung durchgeführt. Nach Einführung einer 8,5 Fr Schleuse wurde die Anästhesie, falls nötig, mit Ketaminhydrochlorid aufrechterhalten. Die vorgesehenen Einstichstellen wurden rasiert, gesäubert und mit einer alkoholischen Desinfektionslösung desinfiziert. Die Instrumentierung wurde unter sterilen Bedingungen durchgeführt.

Die Anlage eines Swan-Ganz-Thermodilutionskatheters (8.5 F Kathetereinführungsset; pvb Medizintechnik GmbH Kirchseeon, BRD; 7.5 F Edwards Swan-Ganz-Katheter[®]; Edwards Critical Care Division, Irvine, USA) erfolgte über eine

8,5 Fr Einführungsschleuse. Diese wurde perkutan in die rechte Vena jugularis externa platziert und durch mehrere Hautnähte fixiert. Der Pulmonalarterien-Thermodilutions-Katheter konnte so unter kontinuierlicher Kontrolle der auftretenden Druckkurven auf dem Monitor (Hellige Servomed, Hellige GmbH; Freiburg; BRD) via Druckwandler (DTX™ Druckwandler Kit; Ohmeda GmbH, Erlangen, BRD) durch das rechte Herz in die A. pulmonalis vorgeschoben werden. Die endgültige Position des Katheters war erreicht, wenn sich der luftgefüllte Ballon an der Katheterspitze in Wedge-Position befand.

Während der Versuchsreihe war es möglich, mit Hilfe dieses Katheters den mittleren pulmonalarteriellen Blutdruck (MPAD), den pulmonalkapillären Verschlussdruck (PCWP), den effektiven pulmonalen Kapillardruck, den zentralvenösen Blutdruck (ZVD), das Herzzeitvolumen (HZV) und die Körperkerntemperatur (°C) zu bestimmen. Des Weiteren diente der Katheter zur Entnahme von gemischtvenösem Blut zur Analyse des gemischtvenösen Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruckes sowie der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung.

Die Anlage eines arteriellen Katheters (18 G Leather Cath; Vygon GmbH, Aachen, BRD) erfolgte durch perkutane Punktion der Arteria femoralis und Platzierung des Katheters mittels eines Seldingerdrahtes.

Über diesen arteriellen Zugang konnte der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) und die Herzfrequenz (HF) bestimmt und arterielle Blutproben entnommen werden.

Nach einer Erholungsphase von 24 Stunden wurden die Katheter via Druckwandler an den Monitor angeschlossen. Als kontinuierliche Infusion erhielten die Tiere eine Ringer-Laktat-Lösung (2ml/kg KG/h). Eine Antibiotika-Prophylaxe wurde nicht durchgeführt. Tiere, bei denen der Verdacht einer Infektion bestand, wurden von der Versuchsreihe ausgeschlossen.

3.3 Das Modell der experimentellen Sepsis

Für dieses tierexperimentelle Modell der hyperdynamen Sepsis wurde eine künstliche Endotoxinämie durch Applikation eines Lipopolysaccharides in wa-

chen, chronisch instrumentierten Schafen erzeugt. Nach Erhebung der Ausgangsdaten im gesunden Tier wurde eine kontinuierliche, intravenöse Infusion von *Salmonella typhosa*-Lipopolysaccharid (Endotoxin) in einer Dosierung von 10 µg/kg/min (Sigma Chemicals, Deisenhofen, BRD) begonnen und bis zum Ende der endotoxämischen Versuchsphase fortgeführt. Die Volumenzufuhr mit Ringer-Laktat-Lösung wurde einem zentralen Venendruck (ZVD)/pulmonalarteriellen Verschlussdruck (PCWP) des Ausgangswertes \pm 3 mmHg angeglichen. Nach 24 Stunden zeigten die Tiere eine hypoton-hyperdynamie Kreislaufphase und zu diesem Zeitpunkt konnten die jeweiligen Versuchsreihen der experimentellen Sepsis begonnen werden.

Während der Versuchsreihe erhielten die Tiere außer den Pharmaka des Versuchsprotokolls keine weiteren Medikamente. Die Tiere waren während des gesamten Experimentes wach und atmeten spontan Raumluft. In dieser experimentellen Phase hatten sie ebenfalls freien Zugang zu Futter und Wasser.

Nach Beendigung der Versuchsreihe wurden die Schafe mit einer hohen Dosis Propofol (10 mg/kg KG) anästhesiert und anschließend mit einer gesättigten Kaliumchloridlösung (50 ml) durch intravenöse Gabe über die Katheterschleuse getötet.

3.4 Datenerhebung

3.4.1 Kardio-Pulmonales Monitoring

Nach Anschluss der Druckwandler an den Monitor wurden mit Hilfe der Druckkurven die korrekte Lage der Katheter vor Beginn der Baseline-Messung nochmals kontrolliert und gegebenenfalls korrigiert.

Alle verwendeten Daten wurden am stehenden Versuchstier erhoben. Die intravaskulären Drücke (MAD, MPAD, PCWP, ZVD) wurden in der Maßeinheit mmHg angegeben. Der Nullreferenzpunkt für die intravaskulären Drücke lag 10 cm oberhalb des Sternums.

Das Herz-Zeit-Volumen (HZV) wurde mit der Thermodilutionsmethode gemessen. Hierzu wurden beim ruhig stehenden Schaf 10 ml einer kalten NaCl-Lösung ($0 - 2^{\circ}\text{C}$) als schnelle Bolusinjektion ($< 1,5 \text{ s}$) in den proximalen Schenkel des Thermodilutionskatheters injiziert, dessen Thermistor an einem HZV-Computer (9520 Cardiac output Computer, Edwards Laboratories, USA). Das HZV wurde aus einem Mittelwert von drei aufeinanderfolgenden Messungen bestimmt.

Berechnung des Herzzeitvolumens :

$$\text{HZV} = \frac{V_i (T_B - T_i) K}{\int \Delta T_B dt}$$

V_i = Injektattemperatur

T_B = Bluttemperatur Pulmonalarterie

T_i = Injektattemperatur

K = Computer-und Dichtekonstante

$\int \Delta T_B dt$ = Veränderung der Bluttemperatur als Funktion der Zeit

Folgende Daten wurden aus den direkt gemessenen Parametern abgeleitet:

Messparameter	Einheit	Berechnung
Herzindex (HI)	$l/min/m^2$	HZV/BSA^*
Systemvaskulärer Widerstand (SVR)	$dyn \cdot s \cdot cm^{-5}$	$(MAD-PCWP)/(HZV \cdot 80)$
Systemvaskulärer Widerstandsindex (SVRI)	$dyn \cdot s \cdot cm^{-5} \cdot m^2$	$(MAD-ZVD)/(HI \cdot 80)/BSA$
Pulmonalvenöser Widerstand (PVR)	$dyn \cdot s \cdot cm^{-5}$	$(MPAD-PCWP)/(HZV \cdot 80)$
Pulmonalvenöser Widerstandsindex (PVRI)	$dyn \cdot s \cdot cm^{-5} \cdot m^2$	$(MPAD-PCWP)/(HI \cdot 80)/BSA$

Tabelle 2: Formeln und Einheiten indirekt erhobener Messparameter,

* = BSA = Body surface area (= Körperoberfläche)

3.4.2 Statistische Auswertungen

Die in diesen Versuchsreihen erhobenen Daten wurden als Absolutwerte und in Relation zu den Ausgangswerten vor Medikamentengabe miteinander verglichen.

Unterschiede zwischen den verschiedenen Zeitpunkten der Experimente wurden mit Hilfe der Varianz-Analyse (ANOVA) und anschließend mit der Fisher's Protected Least Significant Difference Test (PLSD) mit Bonferroni-Korrektur für Vielfachvergleiche getestet. Die Signifikanz eines Wertes wurde als $P < 0.05$ definiert. Alle Daten werden als Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte (S.E.M.) dargestellt.

3.5 Spezielle Methodik

3.5.1 Versuchsreihe 1: Vergleich der hämodynamischen Effekte von Noradrenalin (NAME/NA) und Norfenefrin (NAME/NF) unter NO-Synthase im gesunden und endotoxämischen Schaf

Die chronisch instrumentierten Schafe wurden in zwei Untersuchungsgruppen ($n = 8$ pro Gruppe) unterteilt. Vor Versuchsbeginn wurde von jedem zu untersuchenden Tier eine Messung der Ausgangsdaten durchgeführt. Anschließend wurde über einen Perfusor Noradrenalin (Arterenol[®], Fa. Höchst, BRD) in zwei Dosierungen von 0,2 und 0,4 $\mu\text{g kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ (NAME/NA) bzw. Norfenefrin (Novadral[®], Gödecke, BRD) in zwei Dosierungen von 2 und 4 $\mu\text{g kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ (NAME/NF) intavenös injiziert. Dabei wurden beide Pharmaka über einen Mindestzeitraum von 15 Minuten und bis zur Einstellung einer stabilen Hämodynamik verabreicht. Dann wurden sowohl die hämodynamischen Parameter protokolliert als auch eine arterielle und gemischt-venöse Blutgasanalyse durchgeführt. Desweiteren wurde das Herzzeitvolumen bestimmt. Nach Beendigung der Noradrenalin- bzw. Norfenefrin-Gabe wurde den Tieren ein initialer Bolus von 2,5 mg kg^{-1} des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME (Chemicals, Deisenhofen, BRD) verabreicht und die Applikation in einer Dosierung von 0,5 $\text{mg kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ als kontinuierliche Infusion über einen Perfusor fortgeführt. Nach 60 Minuten wurde Noradrenalin bzw. Norfenefrin in den gleichen Dosierungen, wie oben aufgeführt, nun in Kombination mit L-Name zugeführt. Hämodynamische Messungen, Blutgasanalysen und HZV wurden wieder nach einer Mindesteinwirkzeit von 15 Minuten und in einer hämodynamisch stabilen Situation protokolliert (Abbildung XIII).

Nach der Versuchsreihe im gesunden Schaf folgte für die Tiere eine Erholungsphase von 48 Stunden. Nach Erhebung der Ausgangsdaten im noch gesunden Tier wurde das Salmonella typhosa-Endotoxin in einer Dosierung von 10 $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ zugeführt (siehe Kap. 3.3). Nach 24 Stunden kontinuierlicher En-

dotoxin-Zufuhr zeigten sich die hämodynamischen Charakteristika eines hyperdynamen septischen Schocks. Eine Baseline-Messung wurde protokolliert. Die Versuchsreihe wurde nun mit der Zufuhr von Noradrenalin bzw. Norfenefrin in gleichen Dosierungen wie im nicht endotoxämischen Versuchsabschnitt fortgeführt. Nach Protokollierung der Messung für beide Dosierungen der Katecholamine wurde die Bolusgabe des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) und der anschließend folgenden kontinuierlichen Infusion ($0,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) über 60 Minuten begonnen, nachdem die hämodynamischen Parameter auf Ausgangsniveau der endotoxämischen Phase zurückgekehrt waren. Im Anschluss daran wurden den Tieren erneut Noradrenalin bzw. Norfenefrin in den bekannten Dosierungen und nach bekanntem Schema appliziert. Nach Abschluss der Versuchsreihe wurden die Tiere, wie oben beschrieben, eingeschläfert (Abbildung IX).

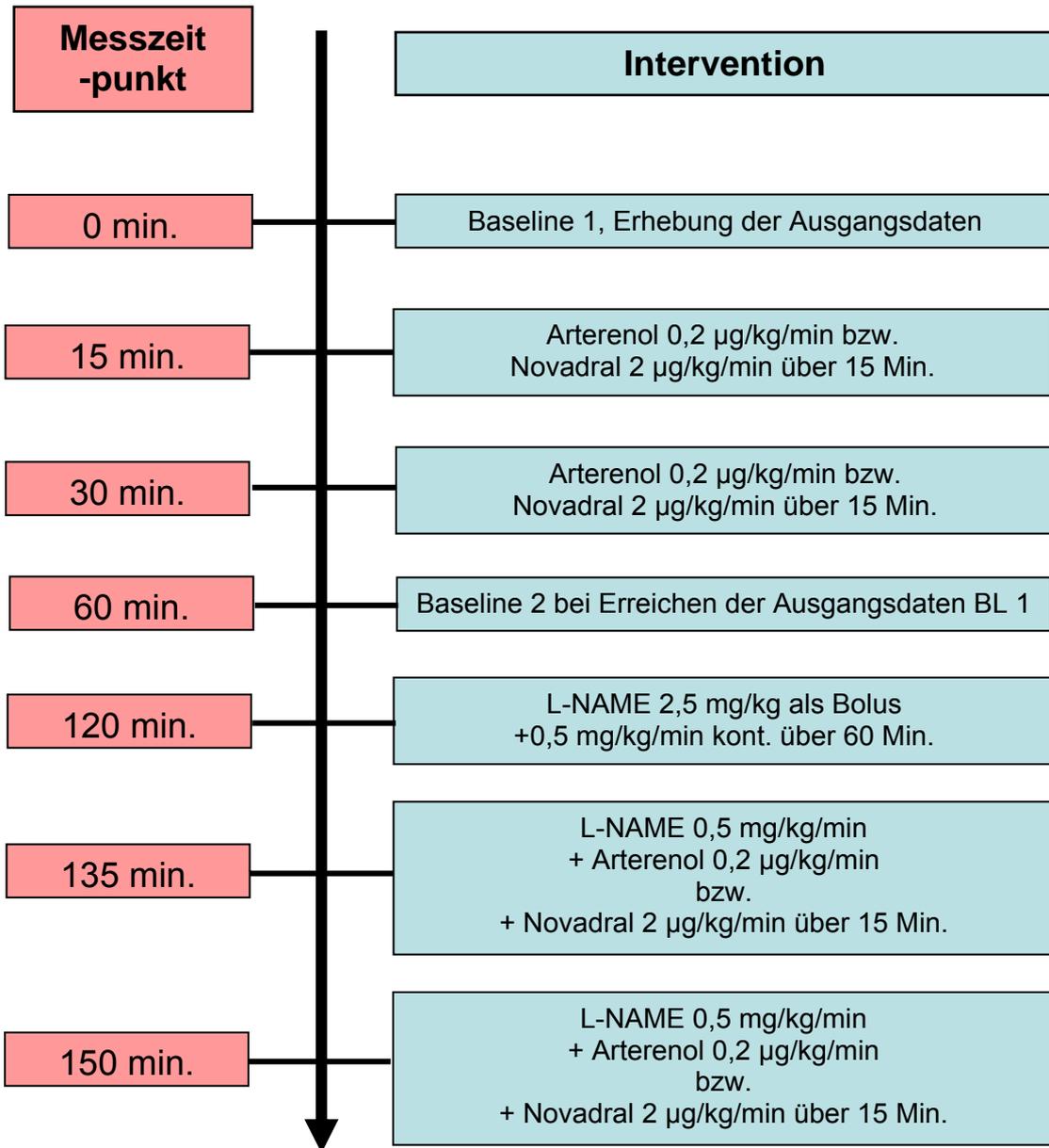


Abbildung VIII: Abbildung Protokoll der Versuchsreihe 1 von NAME/NA und NAME/NF im gesunden Schaf

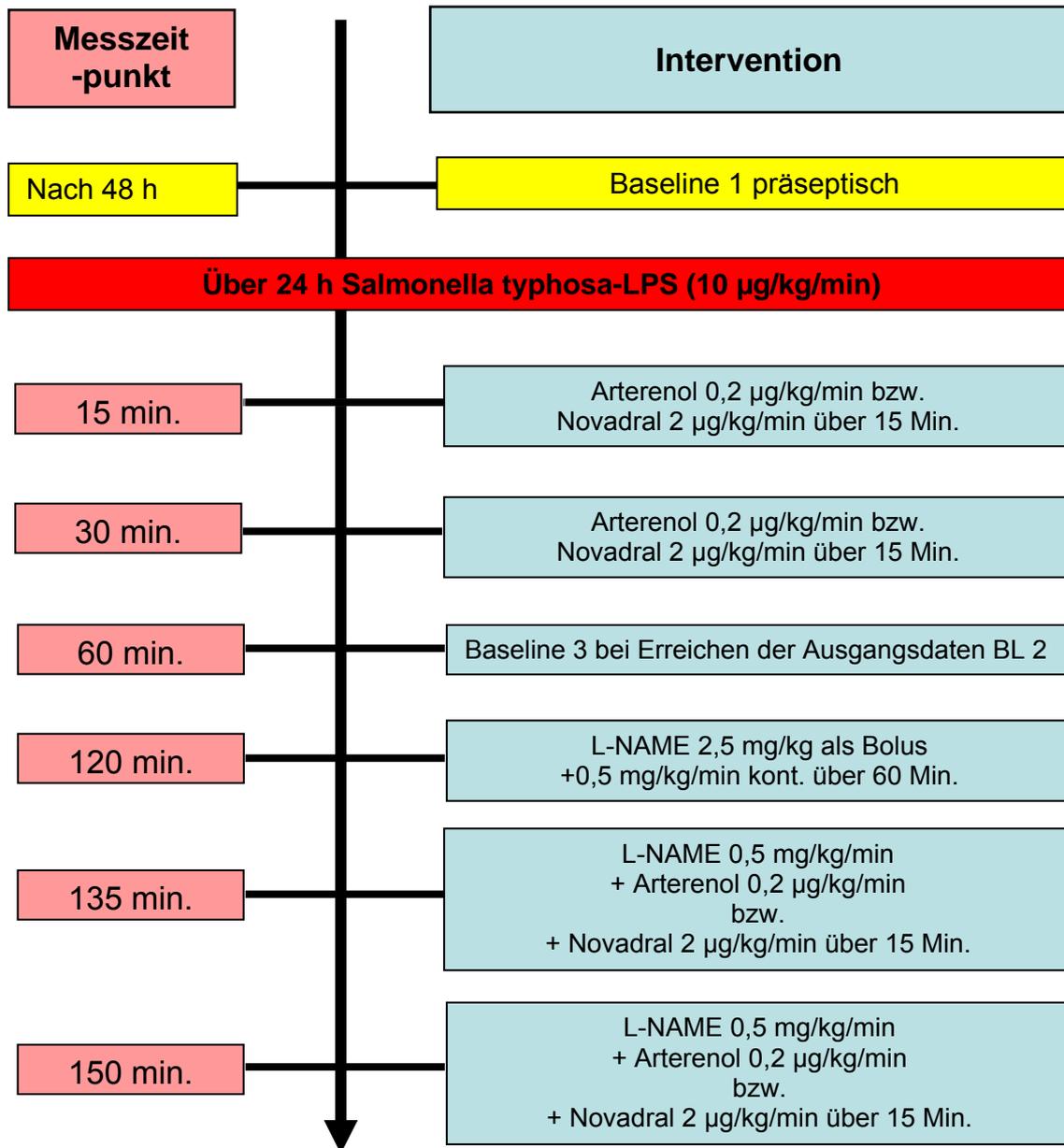


Abbildung IX: Protokoll der Versuchsreihe in der endotoxämischen Phase (NAME/NA endo und NAME/NF endo)

3.5.2 Versuchsreihe 2: Hämodynamische Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin (NAME/Yohimbin)

Den zu untersuchenden, chronisch instrumentierten Schafen (NAME/Yohimbin, n = 6) wurde nach Erhebung der hämodynamischen Ausgangsdaten Arterenol[®] intravenös appliziert und bis zu einem Anstieg des MAP um 15 mmHg titriert. Sowohl hämodynamische Parameter und Blutgasanalysen als auch die Titrationsdosis wurden protokolliert, im Anschluss daran die Katecholaminzufuhr gestoppt. Nachdem die hämodynamischen Parameter auf das Ausgangsniveau zurückgegangen waren, wurde den Tieren ein Bolus von L-NAME in einer Dosierung von $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ und anschließend als kontinuierliche Infusion in einer Dosierung von $1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ appliziert. Nach 60 Minuten wurde die vorher definierte Dosis von Noradrenalin erneut verabreicht und die hämodynamischen Daten erhoben. Danach wurde die Arterenol[®]-Zufuhr wieder gestoppt und eine Infusion mit Yohimbin (Sigma Chemicals, Deisenhofen, BRD) in einer Dosierung von $0,5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ über 30 min. begonnen. Anschließend wurde erneut die definierte Arterenol[®]-Dosis appliziert. Nach Erhebung aller Messparameter war der Versuch beendet (Abbildung X).

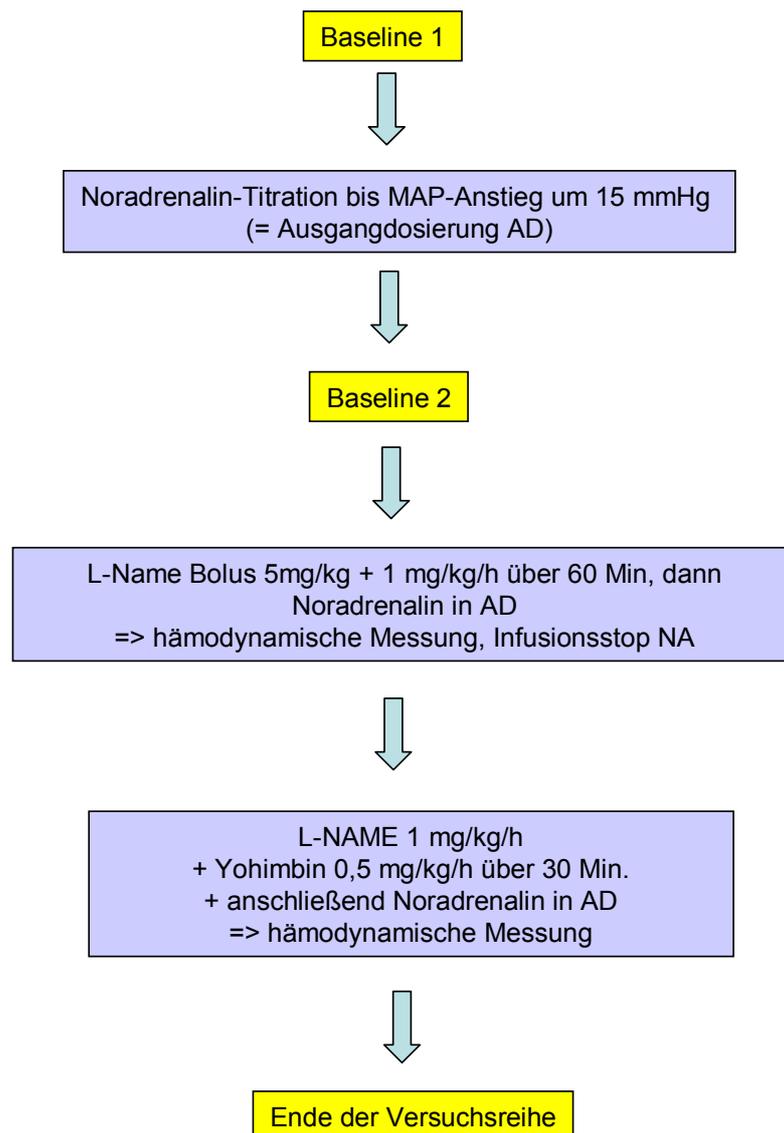


Abbildung X: Protokoll der Versuchsreihe „Hämodynamische Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbine (NAME/Yohimbine)“

3.5.3 Versuchsreihe 3: Hämodynamische Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf (NAME/Clonidin)

Vor Versuchsbeginn wurde bei den chronisch instrumentierten Schafen (NAME/Clonidin, n= 4) dieser Versuchsgruppe eine hämodynamische Messung zur Erhebung der Ausgangswerte durchgeführt. Im Anschluss daran wurde den Tieren ein Bolus von Clonidin (Catapesan[®], Boehringer Ingelheim) intravenös in einer Dosierung von $5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ appliziert, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion in einer Dosierung von $2\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Nach Stabilisierung des Kreislaufes wurden sowohl die hämodynamischen Daten als auch die Blutgasanalysen protokolliert. Danach wurde die Zufuhr von Clonidin gestoppt und nach Rückkehr der hämodynamischen Parameter auf das Ausgangsniveau wurde den Tieren ein Bolus des NO-Synthase Inhibitors L-NAME in einer Dosierung von $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ appliziert, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion in einer Dosierung von $1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Nach einer Wirkzeit von 60 Minuten wurde Clonidin wieder in gleicher Dosierung (Bolus von $5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, kontinuierliche Infusion von $2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) verabreicht, die hämodynamischen Parameter und eine Blutgasanalyse nach Stabilisation der hämodynamischen Parameter protokolliert (Abbildung XI).

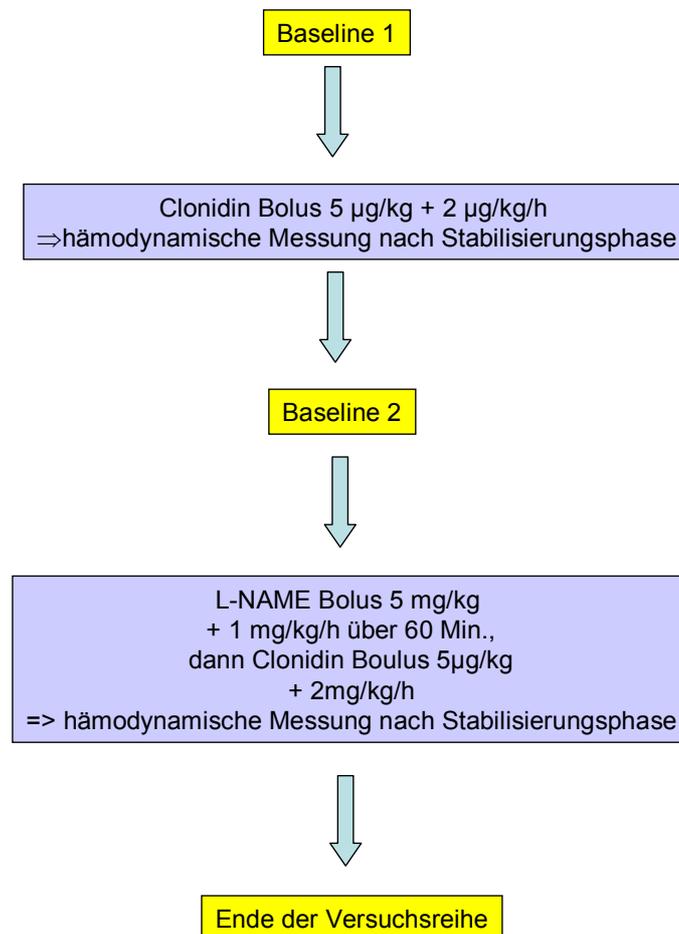


Abbildung XI: Versuchsaufbau „Hämodynamische Effekte von Clonidin unter NO-Synthese-Inhibition im gesunden Schaf (NAME/Clonidin)

4 Ergebnisse

4.1 Effekte der Endotoxinämie

4.1.1 Systemische Hämodynamik und kardiovaskuläre Füllungsdrücke

Die kontinuierliche Infusion des *Salmonella typhosa*-Endotoxins führte bei den Tieren der Gruppen NAME/NA endo und NAME/NF endo zu einer hyperdynamen Antwort des kardiovaskulären Systems. Charakteristisch war hierbei der Abfall des systemvaskulären Widerstandindex (SVRI) bei Anstieg des Herzindex (CI). Im Vergleich zum Ausgangswert war der SVRI in allen Gruppen nach 24 Stunden signifikant erniedrigt, gleichsinnig kam es ebenfalls zu einem deutlichen Abfall des mittleren arteriellen Blutdruckes. Dies ging einher mit einer Steigerung des Herzindex, der im Vergleich zu den Ausgangswerten ebenfalls signifikant erhöht war. Die Herzfrequenz lag in beiden Gruppen deutlich über dem Ausgangsniveau (Diagramme I-VIII). Signifikante Veränderungen des zentralen Venendruckes (ZVD) und des pulmonalarteriellen Verschlussdruckes als Maß für die kardiovaskulären Füllungsdrücke konnten nicht festgestellt werden (Tabelle 3).

4.1.2 Pulmonale Hämodynamik

Der mittlere pulmonalarterielle Blutdruck war unter kontinuierlicher Zufuhr von Endotoxin nach 24 Stunden in NAME/NA/endo und NAME/NF/endo signifikant erhöht. Der pulmonale Gefäßwiderstandsindex tendierte zu höheren Werten gegenüber dem Ausgangsniveau, war jedoch statistisch nicht signifikant (Diagramme IX-XII).

Tabelle 3: Kardiovaskuläre Füllungsdrücke

	NAME/NA	NAME/NA endo	NAME/NF	NAME/NF endo
PCWP	11 ± 0,7	9,8 ± 0,9	11,5 ± 2	15,8 ± 3
ZVD	5 ± 1	5 ± 1	7 ± 1	10 ± 1

PCWP = Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (mmHg), ZVD = Zentralvenöser Blutdruck (mmHg), L-NAME = N^ω-Nitro-L-Arginin-Methylester, NA = Noradrenalin, NF = Norfenefrin, endo = endotoxämisch

4.2 Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf

4.2.1 Systemische Hämodynamik und kardiovaskuläre Füllungsdrücke

Im ersten Versuchsschritt wurde den gesunden Tieren verschiedene Dosierungen von Noradrenalin (NAME/NA) und Norfenefrin (NAME/NF) appliziert. Die Dosierungen betrugen 0,2 und 0,4 µg/kg/min für Noradrenalin bzw. 2 und 4 µg/kg/min für Norfenefrin. Es entwickelte sich in beiden Gruppen ein dosisabhängiger Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes. In NAME/NA betrug der Anstieg des MAD 11 ± 2 mmHg (0,2 µg/kg/min) und 21 ± 5 mmHg (0,4 µg/kg/min) und in L-N/NF 10 ± 4 mmHg (2 µg/kg/min) und 24 ± 6 mmHg (4 µg/kg/min). Das Ausmaß der Blutdrucksteigerung war in beiden Gruppen vergleichbar und signifikant ($p < 0,05$ vs 0 h). Bei Betrachtung des peripheren Gefäßwiderstandes zeigte sich ein deutlicher Anstieg nur bei NAME/NF bei einer Dosierung von 4 µg/kg/min ($p < 0,05$ vs 0h L-N/NF).

Die Kombination von L-NAME mit Noradrenalin und Norfenefrin zeigte deutliche Unterschiede in der Auswirkung auf den MAD und den SVRI. Bei Dosierung von 0,2 µg/kg/min Noradrenalin bzw. 2 µg/kg/min Norfenefrin kam es zu einem deutlichen Anstieg des MAD um 25 ± 7 mmHg bei NAME/NA versus einem schwachen Anstieg um 6 ± 1 mmHg bei L-N/NF. Auch bei einer Dosierungen von 0,4 µg/kg/min Noradrenalin und 4 µg/kg/min Norfenefrin war der Anstieg bei

NAME/NA mit 42 ± 10 mmHg deutlich stärker ausgeprägt ($p < 0,05$) gegenüber einer Erhöhung des MAD um 21 ± 3 mmHg bei NAME/NF ($p < 0,05$).

Fehlte im Versuchsabschnitt ohne L-NAME ein signifikanter Anstieg des SVRI bei L-N/NA, so kam es unter L-NAME Gabe zu einem deutlichen Anstieg des SVRI ($p < 0,05$).

Bei NAME/NF zeigte sich ein deutlicher Anstieg der MAD unter Einfluss von Norfenefrin ($p < 0,05$). Unter NO-Synthase-Inhibition war der Anstieg des mittleren arteriellen Druckes schwächer und zeigte nur in der höheren Dosierung ($2 \mu\text{g/kg/h}$) einen deutlichen Anstieg ($p < 0,05$), (s. Diagramme I-IV).

4.2.2 Pulmonale Hämodynamik

Der mittlere pulmonalarterielle Blutdruck und der pulmonalvaskuläre Widerstand wurden durch die Gabe von Noradrenalin bzw. Norfenefrin nur schwach beeinflusst. Die Gabe von $4 \mu\text{g/kg/min}$ Norfenefrin zeigte eine signifikante Erhöhung des mittleren pulmonalarteriellen Drucks gegenüber der 0h-Messung. In allen anderen Dosierungen blieben MPAD und PVRI bei NAME/NA und NAME/NF unbeeinflusst (Diagramme IX-XII).

Sowohl bei NAME/NA als auch bei NAME/NF beeinflusste die Applikation von L-NAME hingegen das pulmonale Kreislaufsystem. Der mittlere pulmonalarterielle Druck und der pulmonalarterielle Gefäßwiderstandsindex stiegen nach 60-minütiger NO-Synthase-Inhibition auf ein signifikant höheres Niveau an ($p < 0,05$ vs 0h). Die Kombination von L-NAME mit Noradrenalin bzw. Norfenefrin zeigte nur tendentiell eine weitere Erhöhung von MPAD und PVRI (s. Diagramme IX-XII).

4.3 Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im endotoxämischen Schaf

4.3.1 Systemische Hämodynamik und kardiovaskuläre Füllungsdrücke

In beiden Versuchsgruppen (NAME/NA und NAME/NF) zeigte sich nach 24-stündiger Endotoxinämie eine hyperdynamische Kreislaufsituation. Mittlerer arterieller Blutdruck und systemvaskulärer Widerstandsindex sanken signifikant unter das Ausgangsniveau ab; Herzfrequenz, Herzzeitvolumen und mittlerer pulmonalarterieller Druck hingegen stiegen an ($P < 0,05$).

Im endotoxämischen Schaf war sowohl bei NAME/NA ($0,2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ und $0,4\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) als auch bei NAME/NF ($2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ und $4\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) ein dosisabhängiger Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks zu beobachten. Mit einer Erhöhung des MAP bei NAME/NA um 10 ± 6 mmHg versus 9 ± 2 mmHg bei NAME/NF für die erste Dosierung und einer Erhöhung um 21 ± 6 mmHg versus 18 ± 2 mmHg für die zweite Dosierung waren die hämodynamischen Veränderungen vergleichbar. Auch hinsichtlich des systemvaskulären Gefäßwiderstandes und des Herzindex wurden keine signifikante Unterschiede beobachtet.

Im endotoxämischen Schaf wurde durch die NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME die systemische und pulmonalvaskuläre Hämodynamik in beiden Gruppen gleichsinnig verändert. Der Anstieg des mittleren arteriellen Druckes und des systemvaskulären Widerstandsindex (Diagramme I-IV) als auch der mittlere pulmonalarterielle Druck und pulmonalvaskuläre Widerstandsindex (Diagramme IX-XII) sowie der Abfall von Herzindex und Herzfrequenz (Diagramme V-VIII) waren in beiden Gruppen vergleichbar und statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Im endotoxämischen Schaf kam es unter NO-Synthase-Inhibition unter Gabe von Noradrenalin in den vorgegebenen Dosierungen ($0,2$ bzw. $0,4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) zu einem signifikant ($p < 0,05$) höheren Anstieg des mittleren arteriellen Druckes mit 29 ± 4 mmHg als bei NAME/NF (2 bzw. $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) mit einem Anstieg um 16 ± 3 mmHg in der zweiten Dosierung (Diagramme I-IV).

Ein signifikanter Anstieg des systemvaskulären Widerstandes wurde nur in der Norfenefrin-Gruppe bei einer Dosierung von 4 µg/kg/min beobachtet.

Der zentrale Venendruck und der pulmonalarterielle Verschlussdruck stiegen in der Sepsis unerheblich an, auch nach Gabe von Katecholaminen und L-NAME blieben ZVD und PCWP unverändert (s. Tabelle 3)

4.3.2 Pulmonale Hämodynamik

Nach 24-stündiger Endotoxin-Gabe stellte sich in beiden Versuchsgruppen ein erhöhter mittlerer pulmonalarterieller Druck ein, der gegenüber der 0 h – Messung im gesunden Schaf signifikant erhöht war. Die Applikation von Noradrenalin und Norfenefrin im endotoxämischen Schaf ließ den MPAP geringfügig ansteigen, die Werte blieben ohne Signifikanz. Der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex war weder nach 24-stündiger Endotoxämie noch nach Gabe der Katecholamine signifikant angestiegen.

Die NO-Synthase-Inhibition bewirkte sowohl einen deutlichen Anstieg des mittleren pulmonalarteriellen Drucks als auch des pulmonalvaskulären Widerstandsindex in beiden Gruppen ($p < 0,05$), nach Gabe der Katecholamine wurde das pulmonalarterielle Druckniveau gehalten und lag für diesen Versuchsabschnitt ebenfalls deutlich über den Drücken im gesunden Schaf. Der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex deckte sich bei NAME/NA im wesentlichen mit den Daten im gesunden Schaf, bei NAME/NF hingegen lag der PVRI nach L-NAME-Gabe über dem Niveau der gesunden Tiere (Diagramme IX-XII).

Diagramm I

mittlerer arterieller Druck im gesunden Schaf

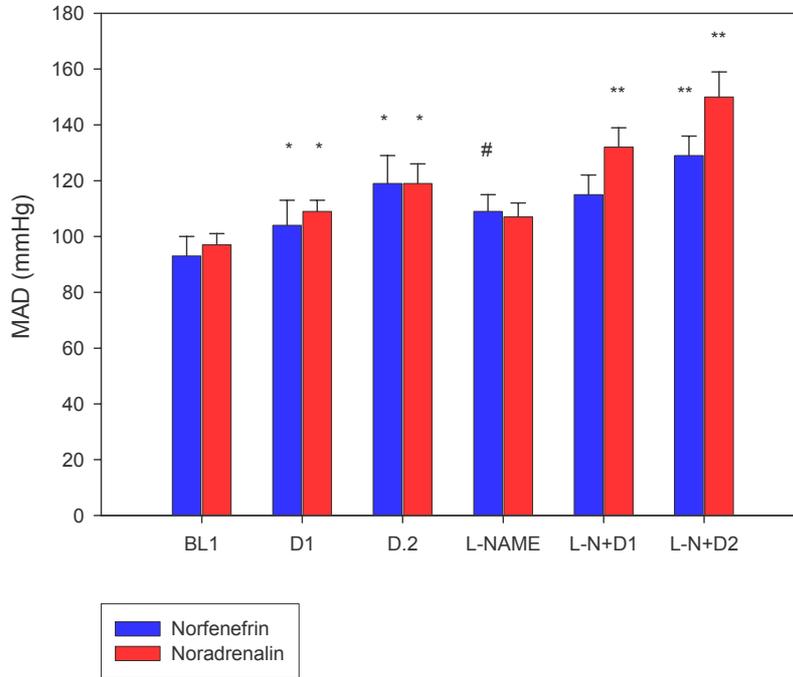


Diagramm II

mittlerer arterieller Druck im septischen Schaf

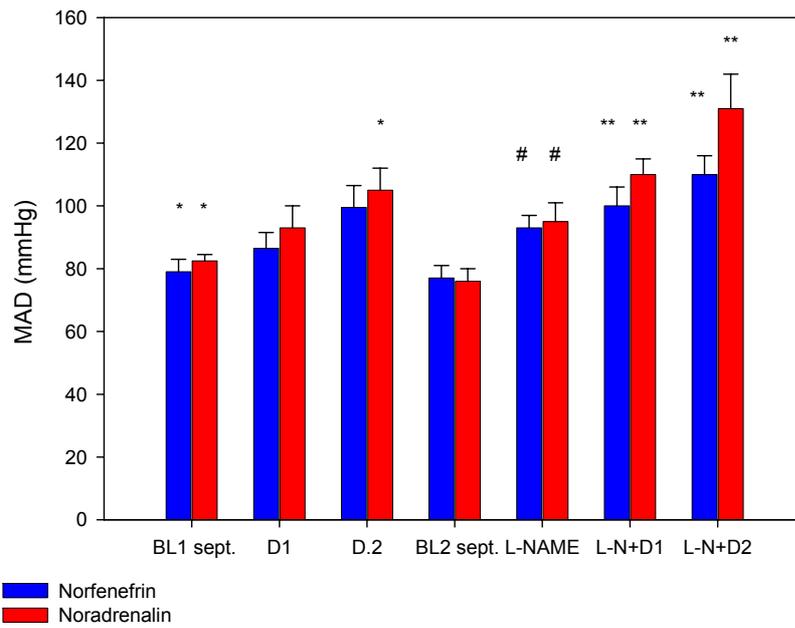


Diagramm III

**Systemvaskulärer Gefäßwiderstandsindex
im gesunden Schaf**

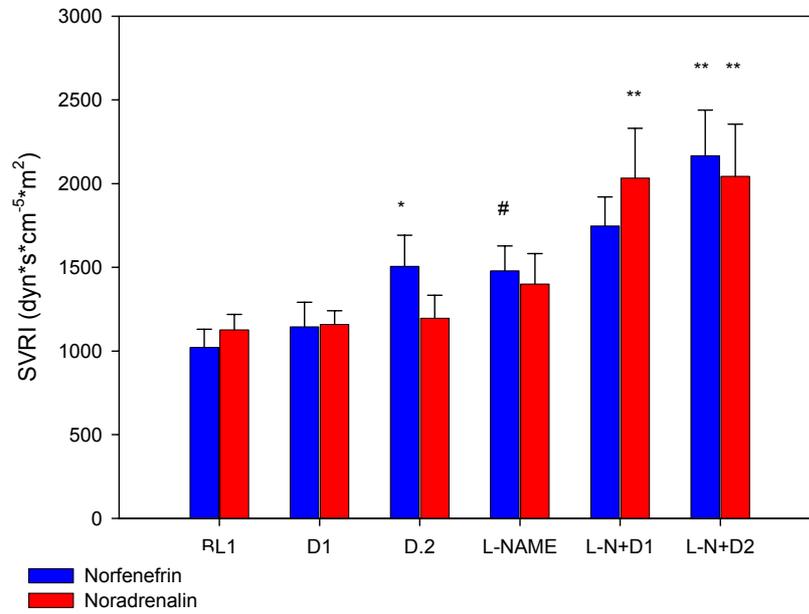


Diagramm IV

**Systemvaskulärer Gefäßwiderstandsindex
im septischen Schaf**

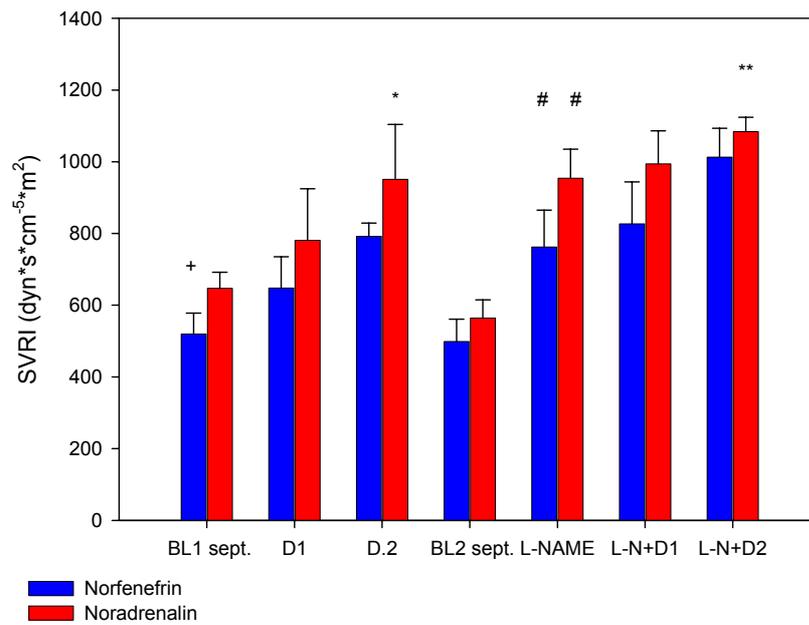


Diagramme I-IV: Darstellung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) und des systemvaskulären Gefäßwiderstandsindex (SVRI) nach Infusion von Noradrenalin und Norfenefrin im gesunden und endotoxämischen Schaf und desweiteren unter NO-Synthase-Inhibition (L-NAME). Die dargestellten Messzeitpunkte sind Baseline-Messung (BL), erste Dosierung (D1) für Noradrenalin (NA) 0,2 µg/kg/min und für Norfenefrin 2 µg/kg/min und zweite Dosierung (D2) für NA 0,4 µg/kg/min und für NF 4µg/kg/min. Der Messzeitpunkt PD (= Pre-drug-Wert) wurde nach Infusionsstopp der Katecholamine und Rückkehr der Messparameter auf Ausgangsniveau bestimmt. L-N (L-NAME) beschreibt den Zeitpunkt der NO-Synthase-Inhibition in einer Dosierung von 2,5 mg/kg als Bolus + 0,5/mg/kg/h. Erneute Applikation der Katecholamine in den bekannten Dosierungen nach 60 min. NOSI. Alle Ergebnisse sind Mittelwerte ± Standardfehler der Mittelwerte (S.E.M.).

+ = $p < 0,05$ gegenüber den gesunden Tieren

* = $p < 0,05$ gegenüber Baseline,

= $p < 0,05$ gegenüber Abwesenheit von L-NAME (PD),

** = $p < 0,05$ gegenüber Abwesenheit von L-NAME.

Diagramm V

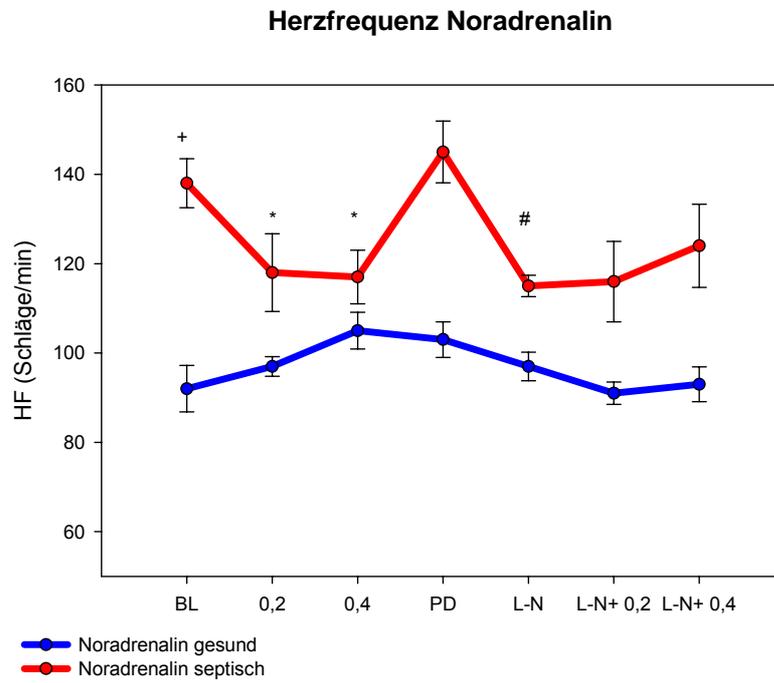


Diagramm VI

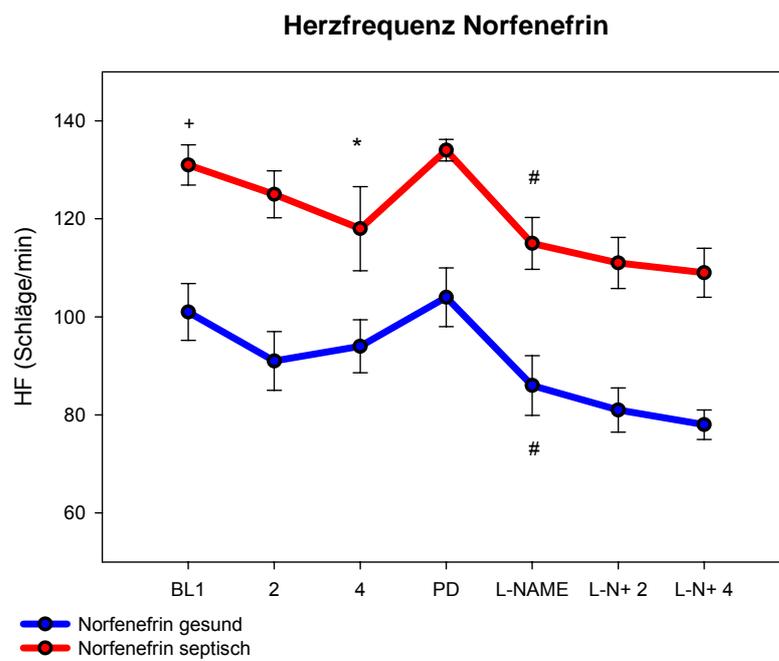


Diagramm VII

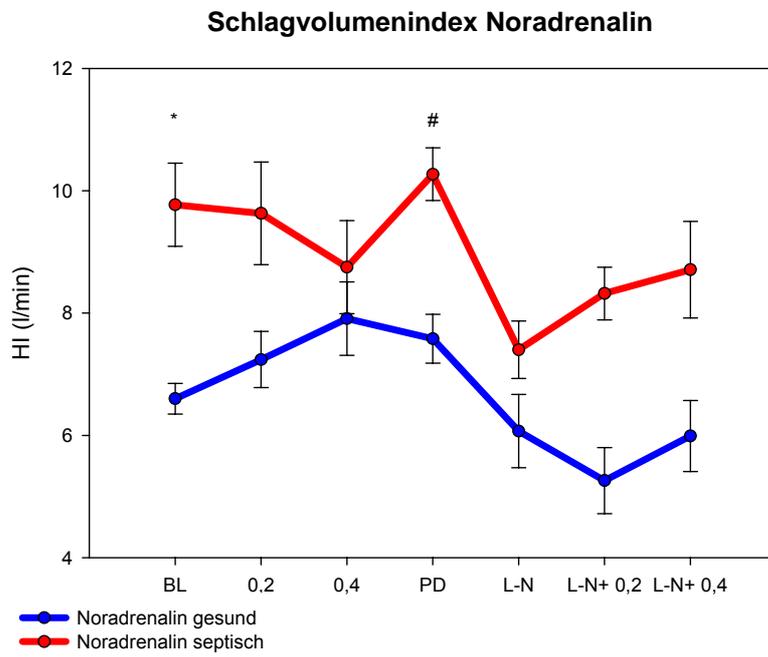


Diagramm VIII

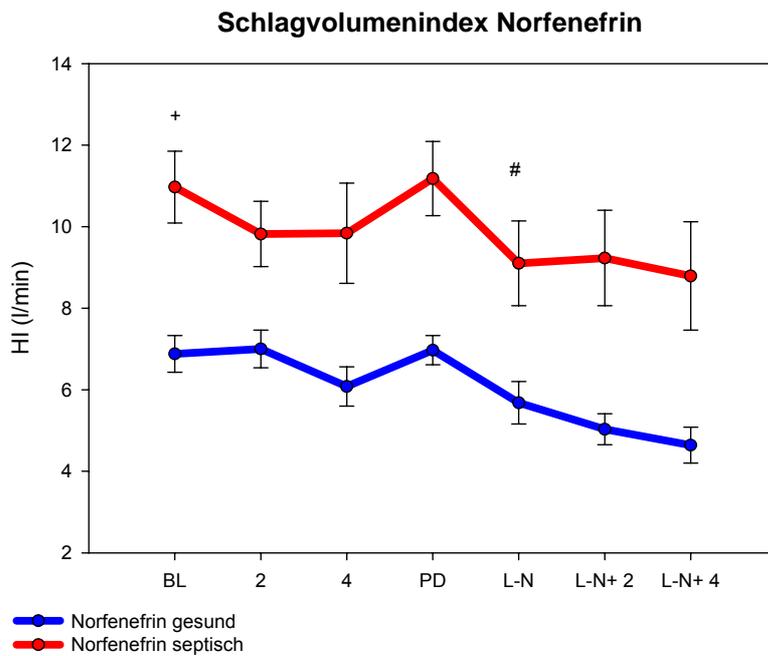


Diagramme V-VIII zeigen die Daten als Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte für Herzfrequenz und Schlagvolumenindex für die Noradrenalin – Gruppe (NA) und die Norfenfrin – Gruppe (NF).

Die Dosierungen sind Angaben in $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, BL= Baseline-Messung, PD = pre-drug vor Gabe von L-NAME (= zweite Baseline-Messung), L-N = Gabe von L-NAME in einer Dosierung von 2,5mg/kg als Bolus + 0,5 mg/kg/h)

+ = $p < 0,05$ vs. gesunde Tiere

* = $p < 0,05$ vs. Baseline,

= $p < 0,05$ vs. Abwesenheit von L-NAME.

Diagramm IX

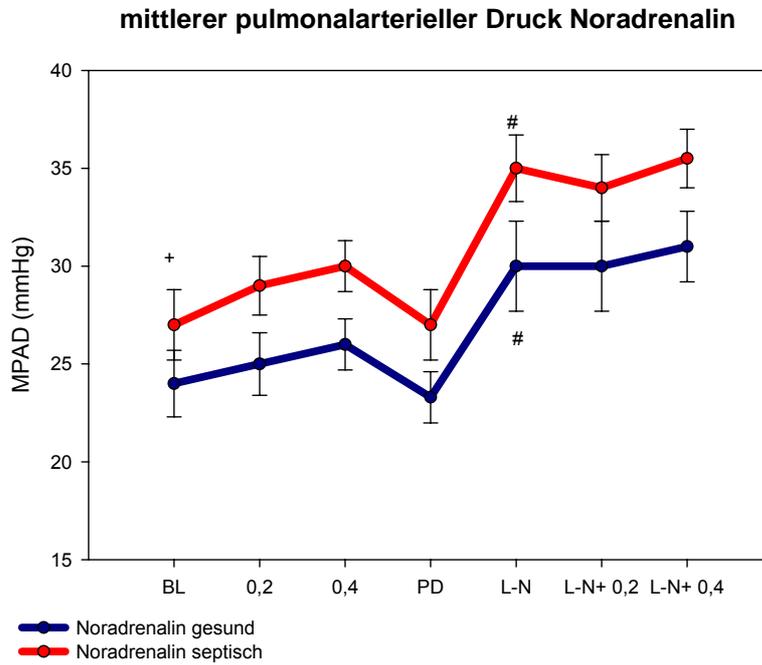


Diagramm X

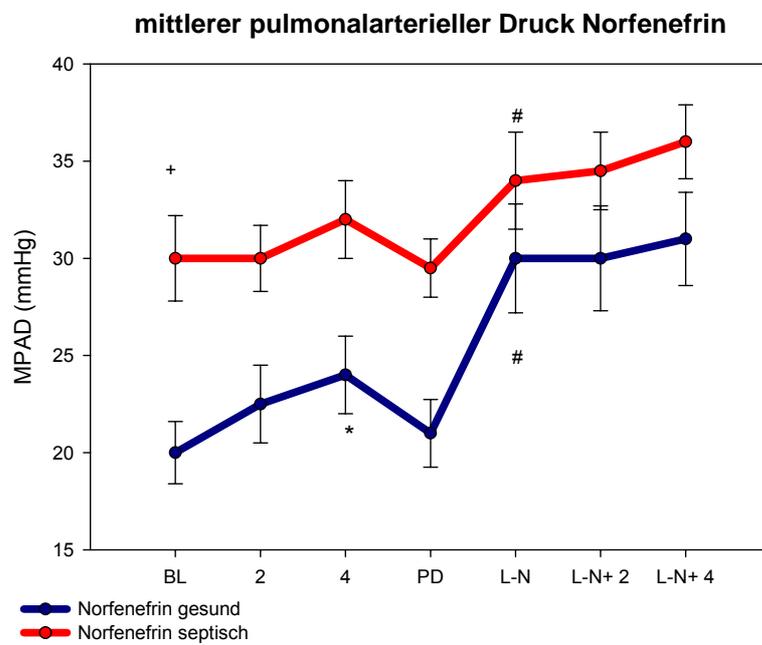


Diagramm XI

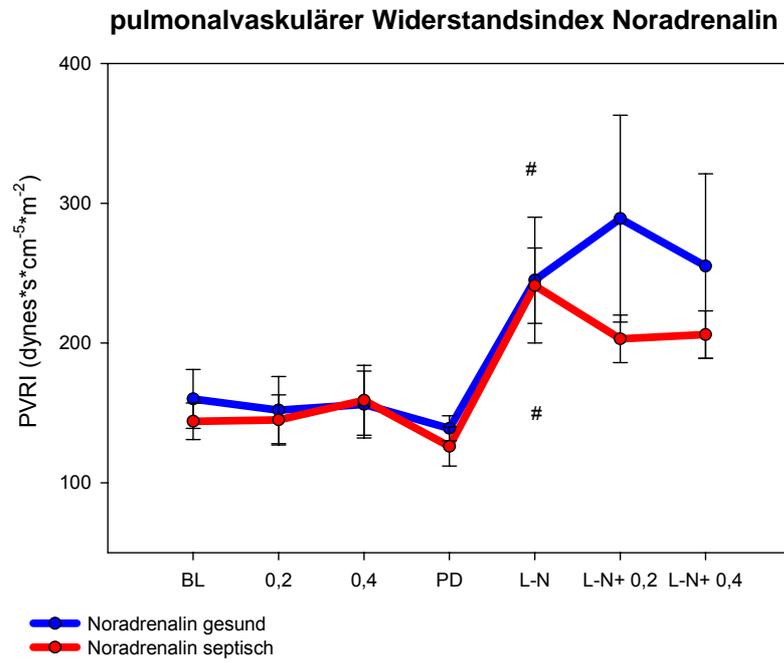


Diagramm XII

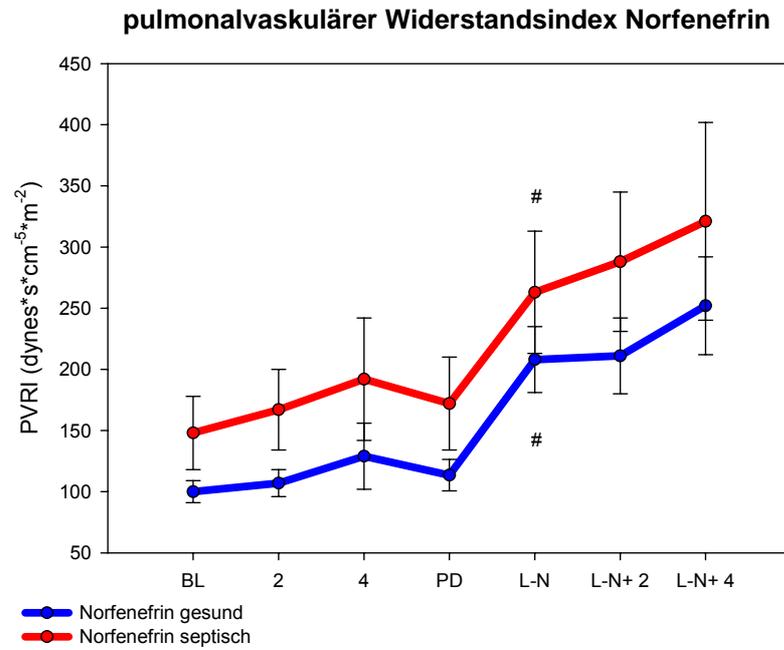


Diagramme VIII-XII zeigen die Daten für pulmonalarteriellen Druck (mmHg) und pulmonalvaskulären Widerstandsindex ($\text{dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^2$) als Mittelwerte \pm Standardabweichung der Mittelwerte für die Noradrenalin - Gruppe (NA) und Norfenefrin – Gruppe (NF).

Die Dosierungen sind Angaben in $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, BL= Baseline-Messung, PD = pre-drug vor Gabe von L-NAME (=zweite Baseline-Messung), L-N = Gabe von L-NAME in einer Dosierung von $2,5\text{mg}/\text{kg}$ als Bolus + $0,5\text{ mg}/\text{kg}/\text{h}$.

+ = $p < 0,05$ vs. gesunde Tiere

* = $p < 0,05$ vs. Baseline

= $p < 0,05$ vs. Abwesenheit von L-NAME.

4.4 Hämodynamische Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin

In gesunden Schafen ($n = 6$) wurde eine Noradrenalin-Dosis von $0,25 \pm 0,02\ \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ benötigt, um den MAD um $15 \pm 0,1\ \text{mmHg}$ zu erhöhen. Desweiteren wurde bei dieser Dosierung ein Anstieg des SVRI um $312 \pm 82\ \text{dynes}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$ beobachtet. In Kombination mit L-Name erhöhte dieselbe Noradrenalin - Dosis den MAP statistisch signifikant ($p < 0,05$) um $23 \pm 2\ \text{mmHg}$ und den SVRI um $728 \pm 84\ \text{dynes}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$. Im Gegensatz dazu kam es durch die Applikation von Yohimbin ($0,5\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$) nur zu einem schwächer ausgeprägten MAD-Anstieg von $11 \pm 2\ \text{mmHg}$ unter Arterenol[®]-Gabe (Diagramm XIII- XIV)..

Diagramm XIII

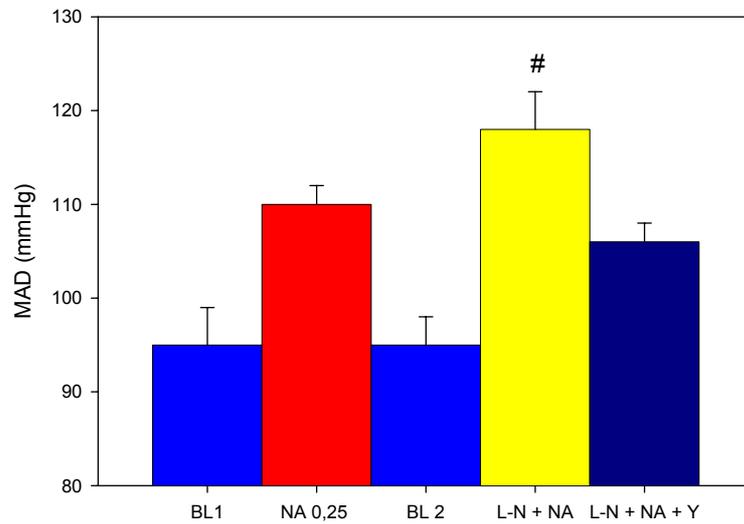
NAME/Yohimbin
Mittlerer arterieller Druck (MAD)

Diagramm XIV

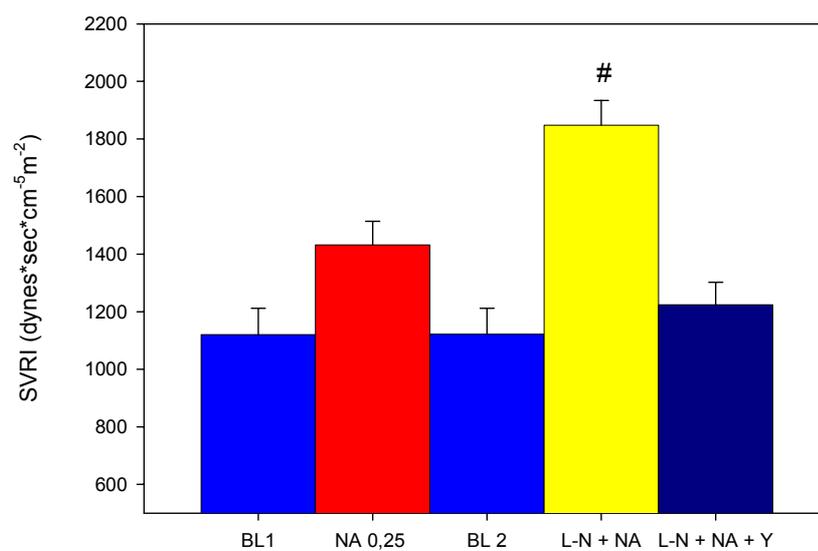
NAME/Yohimbin
Systemvaskulärer Widerstandsindex (SVRI)

Diagramme XIII - XIV: Darstellung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) und des systemischen Gefäßwiderstandsindex (SVRI) nach Infusion von Noradrenalin im gesunden Schaf, zusätzlich unter NO-Synthase-Inhibition (L-NAME) und Yohimbin-Applikation.

Die dargestellten Messzeitpunkte sind

- 1. Baseline-Messung (BL 1).
- Dosierung für Noradrenalin (NA) $0,25 \pm 0,02 \mu\text{g/kg/min}$
- 2. Baseline-Messung (BL 2)
- L-NAME $2,5 \text{ mg/kg} + 0,5 \text{ mg/kg/h}$ über 60 Minuten + Noradrenalin (NA) $0,25 \pm 0,02 \mu\text{g/kg/min}$
- L-NAME $2,5 \text{ mg/kg} + 0,5 \text{ mg/kg/h}$ über 60 Minuten + Noradrenalin (NA) $0,25 \pm 0,02 \mu\text{g/kg/min}$ + Yohimbin $0,5 \text{ mg/kg}$

Alle Ergebnisse sind Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte (S.E.M.).

= $p < 0,05$ vs Baseline-Messung

4.5 Hämodynamische Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf

Im gesunden Tier (n = 4) senkte die o.g. Clonidin-Dosis den mittleren arteriellen Druck um 10 ± 1 mmHg. Der Abfall des SVRI um 171 ± 98 dynes \cdot sec \cdot cm $^{-5}$ \cdot m 2 war nicht signifikant. Im Gegensatz dazu steigerte Clonidin in Kombination mit L-Name (n = 4) den MAP um 10 ± 3 mmHg und den SVRI um 518 ± 125 dynes sec cm $^{-5}$ m $^{-2}$ (P < 0.05) (Diagramme XV-XVI).

Diagramm XV

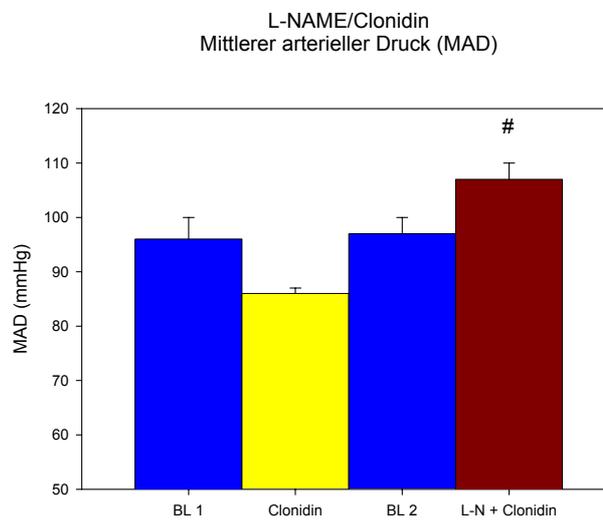


Diagramm XVI

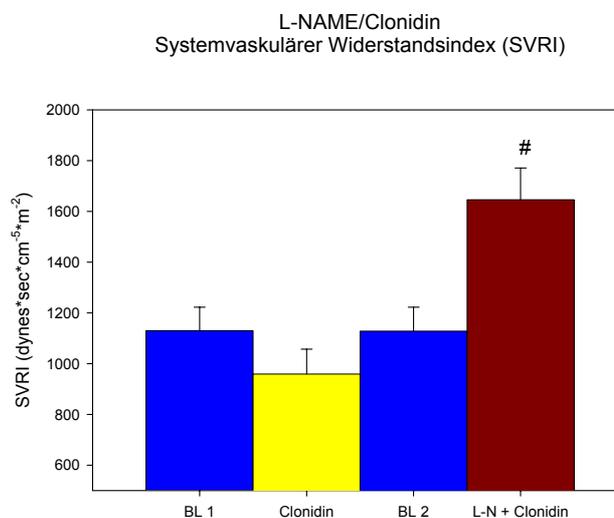


Diagramme XV - XVI: Darstellung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) und des systemischen Gefäßwiderstandsindex (SVRI) nach Infusion von Clonidin im gesunden Schaf und desweiteren unter NO-Synthase-Inhibition (L-NAME). Die dargestellten Messzeitpunkte sind

- 1. Baseline-Messung (BL 1)
- Clonidin in einer Dosierung von 5 µg/kg KG als Bolus, gefolgt von 2 µg/kg/h bis zur hämodynamischen Stabilisierung
- 2. Baseline- Messung (BL 2)
- L-NAME in einer Dosierung von 5 mg/kg KG als Bolus und 1 mg/kg/h über 60 Minuten, dann Clonidin in o.g. Dosierung

Alle Ergebnisse sind Mittelwerte ± Standardfehler der Mittelwerte (S.E.M.).

= $p < 0,05$ vs 0 h (Baseline)-Werte

4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

In gesunden Schafen führte die Applikation der Katecholamine Noradrenalin und Norfenefrin erwartungsgemäß in gleichem Maße zu einem deutlichen Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks und systemvaskulären Widerstandes. Die pulmonalen Drücke blieben im Wesentlichen unverändert. Unter NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME war bei NAME/NA durch die Gabe von Noradrenalin ein sehr viel stärker ausgeprägter Anstieg von Blutdruck und Gefäßwiderstand zu erkennen als bei NAME/NF mit der Gabe von Norfenefrin. Die pulmonalvaskulären Drücke und Widerstände wurden durch die Gabe von L-NAME erwartungsgemäß stark erhöht und zeigten weder durch die Gabe von Noradrenalin noch von Norfenefrin weitere Veränderungen.

Die kontinuierliche Infusion von Endotoxin über 27 h zeigte nach 24 h in allen Gruppen eine hyperdynamische Antwort des kardiozirkulatorischen Systems. Diese war durch ein erhöhtes Herzzeitvolumen, einen verminderten systemvaskulären Widerstand und einem tendenziell niedrigeren Blutdruck gekennzeichnet. Durch Gabe von Noradrenalin in der NAME/NA-Gruppe und Norfenefrin in der NAME/NF-Gruppe zeigte sich ein dosisabhängiger Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes und des systemvaskulären Widerstandes. Die Gabe des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME normalisierte in beiden Gruppen (NAME/NA und NAME/NF) die hyperdynamische Zirkulation und ging mit einem deutlich erhöhten mittleren pulmonalarteriellen Blutdruck und pulmonalvaskulären Widerstand einher. In der NAME/NA-Gruppe zeigte die Gabe von Noradrenalin auch in der Endotoxinämie unter L-NAME einen sehr viel stärker ausgeprägteren Anstieg des Blutdruckes als in der NAME/NF-Gruppe durch die Gabe von Norfenefrin.

Die Gabe des α_2 -Antagonisten Yohimbin beeinflusste die Interaktion von Noradrenalin und L-NAME. So wurde der beobachtete Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes und des systemvaskulären Widerstandes bei gleichzeitiger Gabe von Noradrenalin und L-NAME durch eine zusätzliche Gabe von Yohimbin stark abgeschwächt.

Die Gabe von Clonidin als zentraler α_2 -Agonist zeigte einen erwarteten Abfall von Blutdruck und Gefäßwiderstand. Unter L-NAME hingegen zeigte sich ein Anstieg von Blutdruck und Gefäßwiderstand.

5 Diskussion

5.1 Das Schafsmodell der hyperdynamen Sepsis

Aufgrund der Problematik, Fortschritte in der Erforschung der Pathophysiologie der Sepsis und der Erstellung von Therapiekonzepten durch in-vivo-Versuche und klinische Studien zu erzielen, ist die Entwicklung von klinikrelevanten Tiermodellen unerlässlich. Ziel der Entwicklung eines Tiermodells ist neben der Möglichkeit, Physiologie und Pathophysiologie der Sepsis zu erforschen, Hypothesen für spätere klinische Studien generieren zu können. Im Verlaufe der letzten Jahre zeigte sich, dass die Endotoxämie im Tierexperiment ein valides Medium darstellt, um die klinischen Charakteristika der Sepsis zu simulieren.

Durch Infusion von Endotoxin ist es möglich, Versuchstieren oder freiwilligen, gesunden Testpersonen die für die Sepsis charakteristischen Symptome experimentell zu provozieren (110, 164). Van Deventer und Mitarbeiter untersuchten 473 febrile Patienten auf Sensitivität, Spezifität und die Wahrscheinlichkeit eines positiven Testergebnisses für die Bakteriämie und Endotoxämie und kamen zu dem Ergebnis, dass die Endotoxämie einen validen Parameter für eine gram-negative Sepsis darstellt (172). Auch Danner und Mitarbeiter wiesen bei 43% Patienten im septischen Schock Endotoxine im Blut nach, auch wenn häufig ein kultureller Nachweis von Bakterien nicht möglich war (41).

Aufgrund der Möglichkeit, durch Gabe von Endotoxin die pathophysiologischen Veränderungen der Sepsis experimentell zu erzeugen, sind Tiermodelle der experimentellen Sepsis von vielen Autoren anerkannt (19, 26, 71, 121, 133, 169, 186). Neben der Erzeugung einer Sepsis durch LPS besteht die Möglichkeit einer bakteriell induzierten Sepsis. Die LPS-induzierte Sepsis lässt sich im Großtier allerdings insgesamt besser steuern als eine bakteriell induzierte Sepsis. Daneben bieten Lipopolysaccharide die bessere Haltbarkeit und einfachere Lagerung gegenüber der schwierigen Präparation und Haltbarkeit von lebenden Organismen.

Abhängig vom Ziel der experimentellen Untersuchungen bedient man sich verschiedener Tierspezies. Für immunologische Untersuchungen und Studien mit Mutanten-Linien mit einer großen Stückzahl an Tieren eignen sich bevorzugt Mäuse. Kardiovaskuläre Untersuchungen mit einem Maß an invasivem Monitoring werden heutzutage vor allem an Großtieren wie z.B. Schafen, Schweinen und Hunden durchgeführt.

Die tierexperimentelle Sepsis im Schwein ist ein akzeptiertes Tiermodell (96); als nachteilig erwies sich aber die geringere Sensitivität der Tiere gegenüber dem LPS und der geringeren Ausprägung einer hyperdynamen Sepsis (61).

Das Modell der Endotoxinämie im Schaf ist ein anerkanntes Modell der experimentellen Sepsis. Während Bolusapplikationen von Endotoxin häufig zu einem kardiovaskulärem Kollaps und frühem Tod des Versuchstieres führen (189) und bei Bolusapplikation die hämodynamischen Reaktionen nur von kurzer Dauer sind, kann mit einer kontinuierlichen, niedrig dosierten Gabe von Endotoxin im Schaf eine hyperdynamische Kreislauftsituation hergestellt werden, die mit der des Menschen mit einer Endotoxinämie vergleichbar ist (133, 135, 169). Morell und Mitarbeiter beschrieben in ihrem Schafmodell kontinuierliche Endotoxin-Gaben von 10-20 ng/kg/min mit einer dauerhaften hyperdynamen Zirkulation (125).

Die Arbeitsgruppen um Pittet und Traber beschreiben, dass mit steigenden Endotoxindosierungen die Mortalität steigt. Sowohl hohe als auch niedrige Dosierungen von LPS erzeugen das Bild der hyperdynamen Sepsis mit Anstieg des HZV und Abfall des mittleren arteriellen Blutdruckes und systemvaskulären Widerstandes. Auch nimmt mit Schwere der Endotoxinämie die kardiale Depression zu. Die im Schaf beobachteten septischen Veränderungen und der Verlauf bei Zunahme der Schwere der Sepsis sind vergleichbar mit den pathophysiologischen Veränderungen im Menschen (133, 169).

Aufgrund der klinischen Relevanz der Endotoxinämie und der Möglichkeit, im Schaf die kardiovaskulären Veränderungen des Menschen in der Sepsis reproduzieren zu können, wurde in dieser Arbeit das Modell der experimentellen Endotoxinämie im Schaf gewählt. Hinzu kommt, dass durch eine Vielzahl experimenteller Studien dieses Modell zu einem Standardmodell für die Unter-

suchung von kardiovaskulären Veränderungen in der Sepsis geworden ist (19, 26, 71, 121, 169, 186).

5.2 Effekte der Endotoxinämie

In der vorliegenden Studie reagierten die Tiere aller Untersuchungsgruppen mit einer hyperdynamen Antwort auf die kontinuierliche Infusion von *Salmonella typhosa*-Endotoxin. Charakterisiert war diese Kreislaufsituation durch Hypotonie, Tachykardie und stark erhöhtem Herzzeitvolumen. Der pulmonale Kreislauf zeigte während der Endotämie deutlich erhöhte Druckverhältnisse.

Insgesamt zeigten sich in dieser Versuchsreihe reproduzierbar die hämodynamischen Veränderungen in der Sepsis, wie sie von anderen Studiengruppen bereits beschrieben wurden (20, 26, 71, 183). Der Anstieg des pulmonalen Widerstandsindex ist hierbei sicherlich durch eine Imbalance zwischen NO als Vasodilatator und Endothelin und Thromboxan als Vasokonstriktoren in der Endotoxinämie zu erklären. Grundsätzlich kann ein pulmonaler Hypertonus auch durch ein erhöhtes pulmonales Blutvolumen verursacht werden.

5.3 Effekte von L-NAME

5.3.1 Typ und Dosierung von L-NAME

N^ω-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) ist als L-Arginin-Analog ein nicht selektiver NO-Synthase-Inhibitor (5). Die Rolle erhöhter NO-Produktion durch i-NOS in der Entwicklung einer Hypotension wurde in zahlreichen tierexperimentellen Studien belegt (121, 140, 168). Effekte von nicht-selektiven NO-Synthase-Inhibitoren in tierexperimentellen und klinischen Studien waren eine Anhebung des mittleren arteriellen Blutdruckes und des peripheren Gefäßwiderstandes und eine Senkung des Herzzeitvolumens (14, 105, 148, 182). Viele Arbeitsgruppen konnten eine Wiederherstellung eines adäquaten arteriellen Blutdrucks bei Hypotension im septischen Schock beschreiben (64, 121,

182). Dennoch ist der Einsatz unselektiver NO-Synthase-Inhibitoren mit einer Reihe von Nebenwirkungen durch Blockade der cNOS verbunden. Grundsätzlich muss diskutiert werden, ob selektive Inhibitoren der iNOS in tierexperimentellen Studien eine höhere klinische Relevanz besitzen als unselektive Inhibitoren. Aufgrund der heutigen Datenlage ist ein Vorteil selektiver Inhibitoren bezüglich Nebenwirkungen und Mortalität nicht zu belegen (7, 170). Möglicherweise ist die cNOS-Aktivität in der Endotoxinämie sogar vollständig supprimiert (8, 161). Man muss daher davon ausgehen, dass selektive NO-Synthase-Inhibitoren die gleichen Nebenwirkungen aufweisen wie unselektive.

Aufgrund der Tatsache, dass eine Vielzahl der experimentellen Studien und alle aktuellen, großen klinischen Studien mit unselektiven NO-Synthase-Inhibitoren durchgeführt worden sind, wurde auch für die vorliegende Studie ein unselektiver Inhibitor zur Untersuchung der Effekte verschiedener Katecholamine eingesetzt.

In tierexperimentellen Studien zeigte die Bolusgabe von L-NAME einen phasenhaften hämodynamischen Verlauf nach einmaliger Bolusgabe von 25 mg/kg (69) und führte im Schafmodell der hyperdynamen Sepsis zu keiner selektiven Reduktion der regionalen Blutflüsse (120).

Neben einer initialen Bolusgabe von 25 mg/kg wurde in der vorliegenden Untersuchung, wie auch in experimentellen und klinischen Studien zuvor, eine zusätzliche kontinuierliche Applikation von L-NAME in einer Dosierung von 5 mg/kg/h mit dem Ziel einer Vermeidung von größeren Blutdruckschwankungen durchgeführt. In dieser Dosierung zeigte sich eine stabile Hämodynamik, deren Auswirkung in Kombination mit den Katecholaminen Noradrenalin und Norfenefrin in der vorliegenden Studie untersucht wurde.

5.3.2 Systemische Effekte von L-NAME

Die hyperdynamische Kreislaufsituation nach 24-stündiger Endotoxin-Zufuhr wurde durch die Applikation von L-NAME normalisiert. Der mittlere arterielle Blutdruck

stieg auf Baseline-Werte innerhalb der ersten 30 Minuten nach Infusionsbeginn. Ursache des Anstieges ist eine ausgeprägte Vasokonstriktion mit Erhöhung des systemvaskulären Widerstandsindex. Dieser Effekt wurde bereits von einigen Autoren beschrieben (4, 26, 120) und bestätigte sich auch in aktuellen klinischen Studien (104, 182). Gleichzeitig war in der vorliegenden Studie ein Abfall des Herzindex und der Herzfrequenz zu beobachten. Zum einen könnte ein reflektorischer Abfall des Herzzeitvolumens durch einen Anstieg des systemvaskulären Gefäßwiderstandes ursächlich sein, aber auch ein Anstieg des pulmonalen Gefäßwiderstandes mit einer Erhöhung des rechtsventrikulären Afterloads wäre denkbar (38). Der Einfluss von NO auf die kardiale Funktion in der Sepsis ist kürzlich beschrieben worden (137). Während die Arbeitsgruppen um Hellyer und Albertini eine Verschlechterung der kardiovaskulären Funktion unter NO-Synthase-Inhibition in der Endotoxinämie im Schweinmodell beschrieben (4, 66), konnte die Arbeitsgruppe um Meyer eine Normalisierung des Herzindex und Widerstandsindex im Schafmodell darstellen (120). Herbertson zeigte sogar eine Protektion gegenüber einer linksventrikulären Dysfunktion durch unspezifische Inhibitoren (67). Auch in einer klinischen Phase II Studie zeigte der Einsatz eines unselektiven Inhibitors während einer 72-stündigen Therapiephase keinen signifikanten Abfall des rechts- und linksventrikulären Schlagvolumenindex (182), in der folgenden klinischen Phase III-Studie aus dem gleichen Jahr allerdings lagen kardiovaskuläre Komplikationen wie akutes Herzversagen in der Behandlungsgruppe höher als in der Placebo-Gruppe (104). Aufgrund der divergierenden Studienergebnisse ist eine endgültige Aussage zum Einfluss der NO-Synthase-Inhibitoren auf die Herzfunktion zum jetzigen Zeitpunkt nicht zu treffen (121) und kann auch in der vorliegenden Arbeit nicht beantwortet werden.

5.3.3 Pulmonale Effekte von L-NAME

Während in der Endotoxinämie nur der pulmonalarterielle Druck gegenüber gesunden Tieren signifikant erhöht war, verursachte die Applikation von L-Name

in allen Gruppen eine weitere signifikante Anhebung des pulmonalarteriellen Druckes und auch des pulmonalarteriellen Widerstandsindex. Der Anstieg des PVRI unter NO-Synthase-Inhibition wurde von einer Reihe von Studiengruppen sowohl tierexperimentell als auch klinisch dargestellt (37, 121, 182). Die cNOS wird als ein zentraler Vasoregulator des pulmonalen Druckes im Tier wie im Menschen angesehen (59, 70, 113). Der Anstieg des pulmonalarteriellen Widerstandsindex ist vereinbar mit einer Blockade der cNOS durch NO-Synthase-Inhibitoren. In einer Studie an endotoxämischen Hunden zeigte die Versuchsgruppe unter NO-Synthase-Inhibition höhere pulmonale Drücke als die Kontrollgruppe (37). NO-Inhalation führt zu einer selektiven pulmonalen Vasodilatation und reduziert den pulmonalarteriellen Widerstandsindex. Bei gleichzeitiger Gabe eines NO-Synthase-Inhibitors und inhalativer NO-Applikation kann ein massiver pulmonalarterieller Hypertonus verhindert und der Gasaustausch verbessert werden (72).

5.4 Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin

5.4.1 Systemische Effekte

Die Applikation von Noradrenalin und Norfenefrin bewirkte in allen gesunden Tieren der verschiedenen Gruppen einen statistisch signifikanten Anstieg des MAP. Der SVRI war in allen Tieren erhöht, allerdings nur in der Gruppe der Norfenefrin behandelten Tiere in der Dosierung von 4µg/kg/min signifikant. Der Herzindex und die Herzfrequenz unterschieden sich in beiden Gruppen nicht signifikant von der Oh-Messung. Die beobachteten hämodynamischen Veränderungen durch den Einfluss der beiden Katecholamine im gesunden Tier begründen sich auf die überwiegend α -mimetische Wirkung der Substanzen und entsprechen den Erwartungen (siehe Kapitel 1.4).

Nach 24-stündiger Endotoxinämie zeigten alle Tiere eine hyperdynamie Kreislaufsituation. Die Applikation von Noradrenalin und Norfenefrin erhöhte den stark erniedrigten mittleren arteriellen Druck und den systemvaskulären Wider-

standsindex bis auf eine Noradrenalin-Dosierung von 0,4µg/kg/min nicht signifikant. Die Herzfrequenz sank in beiden Gruppen unter Katecholamingabe deutlich unter die septische Ausgangsmessung, der Schlagvolumenindex blieb unverändert hoch.

Die Arbeitsgruppen um Landin und Booke beschrieben eine unterschiedliche Reaktion von gesunden und septischen Schafen auf die Gabe von Noradrenalin (26, 92). Gesunde Tiere reagierten mit einer massiven Vasokonstriktion und einem Anstieg des peripheren Gefäßwiderstandes. Nach Endotoxingabe bewirkte die Gabe von Noradrenalin hingegen eher einen Anstieg des Herzindex als eine periphere Vasokonstriktion bei unverändertem SVRI. Auch in der vorliegenden Studie zeigte sich in septischen Tieren nur ein leichter Anstieg des MAP und SVRI. Bei insgesamt bereits hohen Herzzeitvolumina wurde die kardiale Auswurfleistung unter Katecholamingabe bei der vorliegenden Arbeit nicht weiter gesteigert.

Die verminderte Wirksamkeit von Katecholaminen als Vasokonstriktoren im Rahmen eines septischen Schocks stellt neben der tiefen Vasodilatation ein schon lange bekanntes Problem dar (10, 25).

Verschiedene Mechanismen werden hierbei als Ursache für die Hyporeaktivität diskutiert, eine genaue Erklärung ist allerdings bis heute aufgrund verschiedener Hypothesen nicht möglich. Denkbar wäre hierbei eine Reduktion der myokardialen L-Typ-Kalziumströme durch LPS oder ein Einfluss von LPS auf kalziumabhängige Mechanismen direkt an den Myofilamenten sowie eine Aktivierung von Kaliumkanälen (33, 73, 196). Aber auch eine Inaktivierung der Katecholamine durch den Einfluss von vermehrt freigesetzten Sauerstoffradikalen in der Endotoxinämie könnten grundsätzlich eine Rolle spielen. So wurde in einer tierexperimentellen Studie an endotoxämischen Ratten eine durch LPS hervorgerufene Hyporeaktivität von Noradrenalin durch die Gabe von Superoxiddismutase, welches die Degradation von Superoxidanionen erhöht, potenziert (107).

Die exzessive Freisetzung von NO durch iNOS in der Sepsis gilt weiterhin als eine Hauptursache in der Katecholaminrefraktivität im septischen Schock. Stickstoffmonoxid scheint die vasokonstriktorische Kapazität von Gefäßwänden

gegenüber endogenen und exogenen Katecholaminen massiv herabzusetzen. Es gibt durch zahlreiche tierexperimentelle Studien Hinweise darauf, dass die vaskuläre Hyporeaktivität gegenüber Vasokonstriktoren in vitro und in vivo auf einer Überproduktion von NO durch iNOS beruht (65, 77, 168). Der Einsatz von kompetitiven L-Arginin-Analoga zur Blockade der NO-Synthase-Aktivität zeigte in verschiedenen Untersuchungen eine Wiederherstellung der Katecholaminwirkung an den Gefäßwänden und unterstreicht somit die Wichtigkeit von Stickstoffmonoxid in der Regulation der Gefäßreaktivität gegenüber Katecholaminen.

5.4.2 Pulmonale Effekte

In der vorliegenden Studie beeinflussten die Katecholamine Noradrenalin und Norfenefrin den pulmonalarteriellen Blutdruck und den pulmonalvaskulären Widerstand nur schwach und zeigten nur in der Norfenefrin-Gruppe in einer Dosierung von 4µg/kg/h Signifikanz gegenüber der Baseline-Messung. Die Erhöhung des pulmonalarteriellen Blutdruckes und des pulmonalarteriellen Widerstandes lassen sich durch die α -mimetische Wirkung der Katecholamine erklären. Die Ergebnisse entsprechen den Erwartungen (179) (s.auch Kap. Grundlagen).

Die Gabe von Norfenefrin und Noradrenalin beeinflusste den durch die 24-stündige Endotoxämie signifikant erhöhten pulmonalarteriellen Blutdruck nur geringfügig. Der Einfluss von α -mimetischen Substanzen auf die Vasokonstriktion scheint in der Sepsis hierbei nicht nur in peripheren Gefäßen sondern auch im pulmonalen Gefäßbett reduziert zu sein und entspricht früheren Untersuchungen in endotoxämischen Schafen (26).

5.5 Effekte von Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden und endotoxämischen Schaf

5.5.1 Systemische Effekte

In der vorliegenden Studie zeigte die Kombination von Noradrenalin und Norfenefrin mit dem NO-Synthase-Inhibitor L-NAME unterschiedliche hämodynamische Veränderungen.

In gesunden Schafen war hierbei die Gefäßreaktivität unter NO-Synthase-Inhibition auf Noradrenalin sehr viel stärker ausgeprägt als durch die Gabe von Norfenefrin. Der Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes war in der Noradrenalin-Gruppe signifikant, teilweise sogar um 50-75% höher als in der Norfenefrin-Gruppe. Bei Betrachtung des systemvaskulären Widerstandes zeichnete sich unter Inhibition der NO-Synthasen in den Noradrenalin-behandelten Tieren ebenfalls ein signifikanter Anstieg ab. Diese Signifikanz fehlte in endotoxämischen Schafen unter Noradrenalingabe ohne NO-Synthase-Inhibition. Auch Norfenefrin bewirkte unter NO-Synthase-Inhibition einen signifikanten Anstieg des systemvaskulären Widerstandes. Gleichzeitig konnte ein Abfall des Herzzeitvolumens und der Herzfrequenz in beiden Gruppen beobachtet werden.

Auch in der endotoxämischen Phase zeigte sich ein erheblicher Unterschied in der Ausprägung von Anstiegen des MAP und des SVRI zwischen den beiden Gruppen. Während in der Norfenefrin-Gruppe sowohl der Anstieg des MAP und des SVRI statistisch nicht signifikant war, zeigte sich in der Versuchsgruppe mit Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition hingegen deutlich höhere Werte für MAP und SVRI ($p < 0,05$).

Herzfrequenz und Herzindex unterschieden sich unter NO-Synthase in beiden Gruppen nicht wesentlich von der septischen Baseline-Messung.

Die Kombination des NO-Synthase-Inhibitors mit den Katecholaminen Noradrenalin und Norfenefrin zeigte neben bekannten Effekten einige unerwartete Ergebnisse. Die Erhöhung des mittleren arteriellen Blutdruckes durch die

Applikation von Noradrenalin im gesunden und endotoxämischen Schaf und die signifikante Steigerung des Blutdruckes unter NO-Synthase-Inhibition in der vorliegenden Studie steht im Einklang mit der von Meyer und Mitarbeitern durchgeführten Studie (119). Zwei Arbeitsgruppen von Hollenberg und Szabó veröffentlichten jedoch Ergebnisse, in denen eine erhöhte Noradrenalin-induzierte Blutdrucksteigerung unter NO-Synthase-Inhibition nur in septischen Ratten beobachtet wurde, in der gesunden Kontrollgruppe jedoch ausblieb. Die Hypothese dieser Arbeitsgruppen, dass eine erhöhte Produktion von Stickstoffmonoxid in der Sepsis Grundlage für die gesteigerte Ansprechbarkeit von Katecholaminen unter NO-Synthase-Inhibition sei, ist aufgrund von Daten anderer Arbeitsgruppen und auch der hier vorliegenden Studienergebnisse in Frage zu stellen. In aktuellen Studien zeigte sich ausserdem, dass das von Hollenberg und anderen Arbeitsgruppen angewendete Modell der „cecal ligation and puncture“ (CLP) mit anschließender Peritonitis als Infektionsmodell in Ratten eine sehr viel geringere Ausprägung der induzierbaren NO-Synthase-Aktivität zeigt als das Inflammationsmodell durch Gabe von Endotoxin (53, 163). Der Erklärungsansatz, dass eine Hyporeaktivität auf Katecholamine durch exzessive Stickstoffmonoxidproduktion in der Sepsis Hauptursache sei, kann durch das CLP-Modell nicht geklärt werden. In „force-of-contraction“-Versuchen in isolierten Arterien verschiedener Tierspezies zeigte sich in gesunden Schafen (128), Ratten (84) und Hasen (108) eine verbesserte Kontraktionskraft von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition. Diese Ergebnisse unterstützen die in der vorliegenden Studie sowie die in den von Meyer und Landin erhobenen Beobachtungen, dass die verbesserte Ansprechbarkeit der Gefäße auf Katecholamine unter NO-Synthase-Inhibition unabhängig ist von einer erhöhten NO-Produktion, wie es in der Sepsis durch induzierbare NO-Synthasen der Fall ist. Unerwartet und bis zum heutigen Zeitpunkt in keiner Studie beschrieben sind allerdings die Effekte von Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition sowohl im gesunden als auch im endotoxämischen Schaf. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass L-NAME nicht zu einer Potenzierung der vasopressorischen Antwort auf Norfenefrin führt. So war die Steigerung des mittleren arteriellen Blut-

druckes und des systemvaskulären Widerstandsindex unter Einfluss von L-NAME deutlich geringer im Vergleich zur Noradrenalin-Gruppe.

Es stellt sich die Frage, warum L-NAME als NO-Synthase-Inhibitor die vasopressorische Antwort auf Katecholamine der gleichen Wirkstoffgruppe so signifikant unterschiedlich beeinflusst.

Strukturell gesehen ist Norfenefrin ein Abkömmling des Noradrenalin. Bei Betrachtung der Strukturformel fehlt dem Norfenefrin lediglich eine p-Hydroxy-Gruppe bei sonst gleicher Struktur zum Noradrenalin. Dieser strukturelle Unterschied ist vergleichbar mit dem chemischen Aufbau von Adrenalin und Phenylephrin. Hierbei fehlt dem Katecholamin Phenylephrin ebenfalls eine p-Hydroxygruppe. Dieser strukturelle Unterschied ist von Bedeutung, denn das Fehlen der p-Hydroxy-Gruppe verändert die Affinität der Katecholamine zu den verschiedenen Rezeptoren. Phenylephrin stimuliert hauptsächlich α_1 -Rezeptoren bei nur schwach ausgeprägter agonistischer Aktivität zu α_2 - und β -Rezeptoren.

In verschiedenen Arbeitsgruppen wurde die vasopressorische Aktivität von Adrenalin und Phenylephrin unter NO-Synthase-Inhibition untersucht. Hierbei zeigte sich ein nennenswerter Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes unter NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME bzw. L-NMMA durch die Gabe von Adrenalin. Die Arbeitsgruppe um Fox demonstrierte, dass in einem Rattenmodell der CLP-induzierten Sepsis die Gabe von Phenylephrin unter Einfluss von L-NAME weder die systemische noch die pulmonale Hämodynamik nennenswert beeinflusste (57). Diese Daten wurden gestützt von einer in-vitro-Studie, in der der fehlende Effekt von Phenylephrin auf eine Potenzierung der Kontraktionskraft durch L-NAME in isolierten Pulmonalarterien von Hasen demonstriert wurde (108). Einige Studien, in denen statt L-NAME andere NO-Synthase-Inhibitoren eingesetzt wurden, zeigten gegensätzliche Beobachtungen. N^G -Nitro-Arginin (L-NNA) potenzierte den Effekt von Phenylephrin in isolierten Pulmonalarterien von Meerschweinchen ebenso wie der NO-Synthase-Inhibitor N^G -monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) in isolierten Aorten von Ratten (86, 103). Diese Diskrepanzen zwischen in-vitro und in-vivo-Versuchen zum einen und Unterschiede sowohl in der Auswahl der Tierspezies und des NO-Synthase-Inhibitors zum

anderen scheinen sicherlich schwer erklärbar. Die Effekte exogener Katecholamine und NO-Synthase-Inhibitoren scheinen in verschiedenen Tierspezies und Gewebetypen zu differieren. In einer aktuellen Arbeit konnten Piepot und Mitarbeitern des Weiteren eine unterschiedliche Ausprägung von iNOS durch Einfluss von LPS in verschiedenen Organen der gleichen Tierspezies und eine unterschiedliche Vasoreaktivität auf Noradrenalin in verschiedenen Gefäßabschnitten der gleichen Tierspezies darstellen. Diese Ergebnisse unterstreichen somit die Komplexität unterschiedlicher Veränderungen durch Einfluss von Endotoxin auf die Gefäßreaktivität gegenüber Katecholaminen innerhalb einer Tierspezies. Auch muss eine variable Expression von α -Rezeptoren in Betracht gezogen werden - als mögliche Einflussfaktoren sind hierfür Abhängigkeit von Alter (176), Spezies und Verteilung und Funktion der verschiedenen Subtypen, besonders für α_2 -Rezeptoren, zu nennen.

Kanagy konnte in isolierten Rattenaorten und Mesenterialarterien zeigen, dass unter Einfluss von Noradrenalin die L-NNA-vorbehandelten Gefäße eine höhere Reagibilität zeigten als unter Gabe von Phenylephrin (85). Im Gegensatz dazu zeigte die Applikation des α_2 -Antagonisten Yohimbin eine abgeschwächte Vasoreaktivität auf Noradrenalin. Die Wirkung von Phenylephrin auf die Vasoreaktivität wurde allerdings durch L-NNA nicht beeinflusst. Der Erklärungsansatz in dieser Studie war eine Hochregulation der postsynaptischen α_2 -Rezeptoren unter Einfluss von NO-Synthase-Inhibitoren. Der Einfluss von LPS wurde in dieser Studie nicht getestet (85).

In Anbetracht der Tatsache, dass in der vorliegenden Studie die Katecholamine Noradrenalin und Norfenefrin deutliche Unterschiede in der Auswirkung auf Blutdrucksteigerung und peripheren Gefäßwiderstand unter NO-Synthase-Inhibition zeigten und ihre Erklärung möglicherweise in einem α_2 -Rezeptor-vermittelten Einfluss von L-NAME liegen könnte, wurden in dieser Studie zwei weitere Versuchsreihen vorgenommen, um eine mögliche Differenzierung der α -Rezeptorwirkung unter NOSI zu ermöglichen. Hierfür wurden die Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin, einem kompetitiven α_2 -Rezeptor-Antagonist zum einen und die Effekte

von L-NAME unter Gabe des zentralen α_2 -Agonisten Clonidin zum anderen untersucht.

5.5.2 Pulmonale Effekte

Die Gabe von Noradrenalin und Norfenefrin zeigte unter NO-Synthase-Inhibition weder in gesunden noch in endotoxämischen Schafen eine signifikante Beeinflussung der pulmonalen Hämodynamik. Wie bereits beschrieben, führte die Applikation von L-NAME zu einer massiven Steigerung sowohl des pulmonalarteriellen Druckes als auch des pulmonalarteriellen Widerstandes. Der schwache Einfluss der Katecholamine unter NO-Synthase-Inhibition ist sicherlich durch eine bereits massive Vasokonstriktion der pulmonalen Strombahn durch L-NAME zu erklären.

5.6 Effekte von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit dem α_2 -Antagonisten Yohimbin

Die Hypothese einer α_2 -vermittelten Potenzierung von Noradrenalin durch den NO-Synthase-Inhibitor sollte mit diesem Versuchsabschnitt näher geprüft werden. Die sechs Versuchstiere dieser Gruppe zeigten alle erwartungsgemäß einen deutlichen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes und des peripheren Gefäßwiderstandes bei Gabe von Noradrenalin, dessen Ausmaß durch die Applikation von L-NAME weiter gesteigert wurde. Die zusätzliche Gabe von Yohimbin allerdings zeigte einen weitaus geringeren Anstieg des MAP und des SVRI als bei gleicher Dosierung des Noradrenalins ohne L-NAME. Diese Daten lassen vermuten, dass Yohimbin die potenzierende Wirkung von L-NAME auf Noradrenalin blockierte. Die Wirkung des α_2 -Antagonisten Yohimbin beruht auf einer Blockade präsynaptischer α_2 -Rezeptoren. Folge ist eine Stimulation sympathischer Nervenendigungen mit einer gesteigerten Ausschüttung von Noradrenalin. Die Kombination von exogen zugeführtem Noradrenalin und Yohimbin führt somit zu einer Potenzierung oder zumindest zur Konstanz der Noradrenalin-Wirkung. Durch die Gabe des NO-Synthase-Inhibitors war das

Ausmaß der Drucksteigerung soweit reduziert, dass Wechselwirkungen des Yohimbins mit L-NAME sehr wahrscheinlich sind. Ob, wie Moncada 1991 es beschrieben hat (123), eine erhöhte Freisetzung von Stickstoffmonoxid durch Stimulation peripherer α_2 -Rezeptoren in einigen Gefäßarealen durch Yohimbin unter NO-Synthase-Inhibition über unbekannte Mechanismen einen Blutdruckabfall bewirkt haben könnte, ist hypothetisch und an dieser Stelle nicht zu beantworten.

Ausgehend von in-vitro-Versuchen haben wir zum ersten Mal in einem in-vivo-Versuch die Wirkung von Noradrenalin unter NO-Synthase-Inhibition in Kombination mit Yohimbin untersucht. Aufbauend auf die in-vitro Untersuchung von Kanagy konnten wir auch in lebenden Tieren demonstrieren, dass unter Antagonisierung von α_2 -Rezeptoren mit Yohimbin der potenzierende Effekt auf die Vasokonstriktion von Gefäßen unter L-NAME und Noradrenalingabe abgeschwächt wurde (85). Interessant wäre hierbei sicherlich die Untersuchung des Einflusses von Norfenefrin. So zeigte Kanagy auch in seiner Studie, dass die Potenzierung von Norfenefrin als α_1 -Agonist und L-NNA auch die Vasokonstriktion der Gefäße durch Yohimbin nicht beeinflusst wurde.

Wie bereits beschrieben bewirkt Clonidin als α_2 -Agonist genau gegenteilige Effekte des Yohimbins. Im dritten Versuchsschritt wurde deshalb die Hypothese der α_2 -vermittelten Vasokonstriktion unter NO-Synthase-Inhibition weiter untersucht.

5.7 Effekte von Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition im gesunden Schaf

Die Hypothese einer α_2 -vermittelten Potenzierung der Noradrenalinwirkung durch den NO-Synthase-Inhibitor L-NAME wurde in diesem zusätzlichen Versuchsschritt an vier Tieren näher untersucht. Clonidin als zentraler α_2 -Agonist hemmt die Freisetzung von Noradrenalin aus sympathischen Nervenendigungen und führt zu einem Abfall des mittleren arteriellen Blutdruckes und des peripheren Gefäßwiderstandes. Diese Wirkungen konnten im gesunden Schaf reproduziert werden. Interessanterweise kam es unter Applikation von L-NAME zu einem signifikanten Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes und des peripheren Gefäßwiderstandes. Da diese Wirkung über einen längeren Zeitraum und in allen Schafen beobachtet werden konnte, scheidet ein initialer Rebound-Effekt mit Steigerung des Blutdruckes und der Herzfrequenz, wie er initial bei Clonidin-Applikation beobachtet werden kann, aus. Die hämodynamischen Effekte von Clonidin als α_2 -Agonist und Yohimbin als α_2 -Antagonist unter NO-Synthase-Inhibition sind gekennzeichnet durch eine Umkehrung der jeweiligen Wirkmechanismen durch L-NAME. Eine Interaktion von L-NAME mit α_2 -Rezeptoren, die durch Clonidin als Agonist verstärkt und Yohimbin als Antagonist abgeschwächt wurde, ist daher anzunehmen.

6 Schlussfolgerung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte anhand des etablierten Modells der hyperdynamen Sepsis im chronisch instrumentierten, wachen Schaf die unterschiedlichen Wirkungen und Wechselwirkungen der Katecholamine Noradrenalin und Norfenefrin unter NO-Synthase-Inhibition in der experimentellen Sepsis näher untersucht werden. Die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit können damit wie folgt beantwortet werden:

- 1) Die Wirkung des Katecholamins Noradrenalin wird durch die Kombination mit dem NO-Synthase-Inhibitor L-NAME in der hyperdynamen Sepsis potenziert und führt zu einem verstärkten Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks. Die Wirkung des Katecholamins Norfenefrin hingegen bleibt durch die Interaktion mit dem NO-Synthase-Inhibitor unbeeinflusst.
- 2) Anhand des direkten Vergleichs der Katecholamin-Wirkung unter NO-Synthase-Inhibition einerseits und dem Einsatz des selektiven α_2 -Antagonisten Yohimbin bzw. dem selektiven α_2 -Agonisten Clonidin unter NO-Synthase-Inhibition andererseits konnte ein α_2 -Rezeptor vermittelter potenzierender Effekt von L-NAME auf die vasopressorische Aktivität von Noradrenalin gezeigt werden. Norfenefrin scheint dabei nur eine schwache, wenn nicht sogar fehlende agonistische Aktivität auf endotheliale α_2 -Rezeptoren zu besitzen.

Die Sepsis als schweres Krankheitsbild wird meist erst in der Spätphase diagnostiziert. Der Kliniker wird hierbei vor die schwierige Aufgabe gestellt, eine schwer zu therapierende, oftmals katecholminrefraktäre Hypotonie zu behandeln. Mit dem Einsatz von NO-Synthase-Inhibitoren scheint eine Verbesserung der Hämodynamik in der Sepsis möglich zu sein. Leider müssen schwere Nebenwirkungen, die vor allem auf die pulmonale Hämodynamik wirken, in Kauf genommen werden. Die bisherigen Phase II und Phase III – Studien mit einem NO-Synthase-Inhibitor mussten teilweise aufgrund verschiedenster Nebenwir-

kungen vorzeitig abgebrochen werden, da die Mortalität in der Behandlungsgruppe höher war als in der Kontrollgruppe. Neue Erkenntnisse über Wechselwirkungen von Katecholaminen, die nach wie vor ein essentielles Standbein in der Therapie des septischen Schocks darstellen, mit NO-Synthase-Inhibitoren könnten die Auswahl des richtigen Katecholamins vereinfachen und nicht zuletzt die Möglichkeit bieten, hohe Dosierungen von NO-Synthase-Inhibitoren zu reduzieren. So bestände unter Umständen die Möglichkeit, eventuelle Nebenwirkungen der NO-Blockade in der Sepsis zu reduzieren und das Outcome der Patienten zu verbessern.

Die klinische Relevanz für den Einsatz von NO-Synthase-Inhibitoren bleibt bis zum heutigen Tage umstritten. Neue Ansatzpunkte für die Erforschung der Ursachen für das schlechte Outcome von Patienten müssen in vielen weiteren Studien neben der Makrohämodynamik sicherlich auch vermehrt in der Erforschung der Mikrozirkulation gesucht werden. Die Erkenntnisse in der Pathophysiologie der Sepsis haben in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht, geeignete Therapieansätze zur signifikanten Reduzierung der Mortalität wurden bis zum heutigen Tage nicht gefunden.

Roger Bone schrieb in seinem Artikel „Why sepsis trials fail“: „Sepsis as a leading cause of death has increased massively just as we were searching for the magic bullet.....Only by rethinking the assumptions underlying the failed treatments for sepsis can we hope to make strides in saving patients from sepsis - induced death.“

7 Literaturverzeichnis

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):864-74.
2. 2001. Guidelines for the management of severe sepsis and septic shock. The International Sepsis Forum. *Intensive Care Med* 27 Suppl 1:S1-134.
3. Aderem, A. 2001. Role of Toll-like receptors in inflammatory response in macrophages. *Crit Care Med* 29(7 Suppl):S16-8.
4. Albertini, M., C. L. Lafortuna, M. G. Clement, S. Mazzola, S. Radice, and S. N. Hussain. 2002. Effect of NO synthase inhibition on cardiovascular and pulmonary dysfunction in a porcine short-term model of endotoxic shock. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 67(6):365-72.
5. Albrecht, E. W., C. A. Stegeman, P. Heeringa, R. H. Henning, and H. van Goor. 2003. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J Pathol* 199(1):8-17.
6. Angus, D. C., W. T. Linde-Zwirble, J. Lidicker, G. Clermont, J. Carcillo, and M. R. Pinsky. 2001. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29(7):1303-10.
7. Aranow, J. S., J. Zhuang, H. Wang, V. Larkin, M. Smith, and M. P. Fink. 1996. A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase prolongs survival in a rat model of bacterial peritonitis: comparison with two nonselective strategies. *Shock* 5(2):116-21.
8. Assreuy, J., F. Q. Cunha, F. Y. Liew, and S. Moncada. 1993. Feedback inhibition of nitric oxide synthase activity by nitric oxide. *Br J Pharmacol* 108(3):833-7.
9. Astiz, M. E., G. E. DeGent, R. Y. Lin, and E. C. Rackow. 1995. Microvascular function and rheologic changes in hyperdynamic sepsis. *Crit Care Med* 23(2):265-71.
10. Astiz, M. E., and E. C. Rackow. 1998. Septic shock. *Lancet* 351(9114):1501-5.

11. Avontuur, J. A., R. P. Tutein Nolthenius, J. W. van Bodegom, and H. A. Bruining. 1998. Prolonged inhibition of nitric oxide synthesis in severe septic shock: a clinical study. *Crit Care Med* 26(4):660-7.
12. Bakker, J., R. Grover, A. McLuckie, L. Holzapfel, J. Andersson, R. Lodato, D. Watson, S. Grossman, J. Donaldson, and J. Takala. 2004. Administration of the nitric oxide synthase inhibitor NG-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88) by intravenous infusion for up to 72 hours can promote the resolution of shock in patients with severe sepsis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002). *Crit Care Med* 32(1):1-12.
13. Baumgartner, J. D., M. P. Glauser, J. A. McCutchan, E. J. Ziegler, G. van Melle, M. R. Klauber, M. Vogt, E. Muehlen, R. Luethy, R. Chioloro, and et al. 1985. Prevention of gram-negative shock and death in surgical patients by antibody to endotoxin core glycolipid. *Lancet* 2(8446):59-63.
14. Baylis, C., B. Mitruka, and A. Deng. 1992. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 90(1):278-81.
15. Bernard, G. R., J. L. Vincent, P. F. Laterre, S. P. LaRosa, J. F. Dhainaut, A. Lopez-Rodriguez, J. S. Steingrub, G. E. Garber, J. D. Helderbrand, E. W. Ely, and C. J. Fisher, Jr. 2001. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 344(10):699-709.
16. Bersten, A. D., M. Hersch, H. Cheung, F. S. Rutledge, and W. J. Sibbald. 1992. The effect of various sympathomimetics on the regional circulations in hyperdynamic sepsis. *Surgery* 112(3):549-61.
17. Bochud, P. Y., M. P. Glauser, and T. Calandra. 2001. Antibiotics in sepsis. *Intensive Care Med* 27 Suppl 1:S33-48.
18. Bollaert, P. E., P. Bauer, G. Audibert, H. Lambert, and A. Larcan. 1990. Effects of epinephrine on hemodynamics and oxygen metabolism in dopamine-resistant septic shock. *Chest* 98(4):949-53.
19. Bone, H. G., P. J. Schenarts, S. R. Fischer, R. McGuire, L. D. Traber, and D. L. Traber. 1998. Pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate reverses hyperdynamic circulation in septic sheep. *J Appl Physiol* 84(6):1991-9.
20. Bone, H. G., R. Waurick, H. Van Aken, M. Booke, T. Prien, and J. Meyer. 1998. Comparison of the haemodynamic effects of nitric oxide synthase inhibition and nitric oxide scavenging in endotoxaemic sheep. *Intensive Care Med* 24(1):48-54.

-
21. Bone, R. C. 1991. Let's agree on terminology: definitions of sepsis. *Crit Care Med* 19(7):973-6.
22. Bone, R. C. 1996. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 24(7):1125-8.
23. Bone, R. C., C. J. Fisher, Jr., T. P. Clemmer, G. J. Slotman, C. A. Metz, and R. A. Balk. 1987. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 317(11):653-8.
24. Bone, R. C., C. J. Fisher, Jr., T. P. Clemmer, G. J. Slotman, C. A. Metz, and R. A. Balk. 1989. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. *Crit Care Med* 17(5):389-93.
25. Bone, R. C., W. J. Sibbald, and C. L. Sprung. 1992. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest* 101(6):1481-3.
26. Booke, M., F. Hinder, R. McGuire, L. D. Traber, and D. L. Traber. 1996. Nitric oxide synthase inhibition versus norepinephrine for the treatment of hyperdynamic sepsis in sheep. *Crit Care Med* 24(5):835-44.
27. Browder, W., D. Williams, H. Pretus, G. Olivero, F. Enrichens, P. Mao, and A. Franchello. 1990. Beneficial effect of enhanced macrophage function in the trauma patient. *Ann Surg* 211(5):605-12; discussion 612-3.
28. Brown, G., D. Frankl, and T. Phang. 1996. Continuous infusion of methylene blue for septic shock. *Postgrad Med J* 72(852):612-4.
29. Brun-Buisson, C., F. Doyon, J. Carlet, P. Dellamonica, F. Gouin, A. Lepoutre, J. C. Mercier, G. Offenstadt, and B. Regnier. 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):968-74.
30. Buga, G. M., J. M. Griscavage, N. E. Rogers, and L. J. Ignarro. 1993. Negative feedback regulation of endothelial cell function by nitric oxide. *Circ Res* 73(5):808-12.
31. Calver, A., J. Collier, and P. Vallance. 1993. Nitric oxide and cardiovascular control. *Exp Physiol* 78(3):303-26.
32. Carcillo, J. A., R. Z. Litten, and B. L. Roth. 1989. Norepinephrine-induced phosphorylation of a 25 kd phosphoprotein in rat aorta is altered in intraperitoneal sepsis. *Circ Shock* 28(3):257-65.

-
33. Chen, S. J., C. C. Wu, and M. H. Yen. 1999. Role of nitric oxide and K⁺-channels in vascular hyporeactivity induced by endotoxin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 359(6):493-9.
34. Chernow, B., and B. L. Roth. 1986. Pharmacologic manipulation of the peripheral vasculature in shock: clinical and experimental approaches. *Circ Shock* 18(2):141-55.
35. Choi, P. T., G. Yip, L. G. Quinonez, and D. J. Cook. 1999. Crystalloids vs. colloids in fluid resuscitation: a systematic review. *Crit Care Med* 27(1):200-10.
36. CL Sprung, G. B., RP Dellinger. 2001. Guidelines for the management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 27:1-134.
37. Cobb, J. P., C. Natanson, Z. M. Quezado, W. D. Hoffman, C. A. Koev, S. Banks, R. Correa, R. Levi, R. J. Elin, J. M. Hosseini, and et al. 1995. Differential hemodynamic effects of L-NMMA in endotoxemic and normal dogs. *Am J Physiol* 268(4 Pt 2):H1634-42.
38. Cohen, R. I., Y. Shapir, L. Chen, and S. M. Scharf. 1998. Right ventricular overload causes the decrease in cardiac output after nitric oxide synthesis inhibition in endotoxemia. *Crit Care Med* 26(4):738-47.
39. Cole, L., R. Bellomo, G. Hart, D. Journois, P. Davenport, P. Tipping, and C. Ronco. 2002. A phase II randomized, controlled trial of continuous hemofiltration in sepsis. *Crit Care Med* 30(1):100-6.
40. Cubeddu, L. X. 1988. New alpha 1-adrenergic receptor antagonists for the treatment of hypertension: role of vascular alpha receptors in the control of peripheral resistance. *Am Heart J* 116(1 Pt 1):133-62.
41. Danner, R. L., R. J. Elin, J. M. Hosseini, R. A. Wesley, J. M. Reilly, and J. E. Parillo. 1991. Endotoxemia in human septic shock. *Chest* 99(1):169-75.
42. Daveu, C., C. Servy, M. Dendane, P. Marin, and C. Ducrocq. 1997. Oxidation and nitration of catecholamines by nitrogen oxides derived from nitric oxide. *Nitric Oxide* 1(3):234-43.
43. Davey, M. 1987. Mechanism of alpha blockade for blood pressure control. *Am J Cardiol* 59(14):18G-28G.
44. Davies, M. G., G. J. Fulton, and P. O. Hagen. 1995. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg* 82(12):1598-610.

-
45. Deitch, E. A., R. Rutan, and J. P. Waymack. 1996. Trauma, shock, and gut translocation. *New Horiz* 4(2):289-99.
46. Desjars, P., M. Pinaud, D. Bugnon, and F. Tasseau. 1989. Norepinephrine therapy has no deleterious renal effects in human septic shock. *Crit Care Med* 17(5):426-9.
47. Desjars, P., M. Pinaud, G. Potel, F. Tasseau, and M. D. Touze. 1987. A reappraisal of norepinephrine therapy in human septic shock. *Crit Care Med* 15(2):134-7.
48. Dhainaut, J. F., P. F. Laterre, J. M. Janes, G. R. Bernard, A. Artigas, J. Bakker, H. Riess, B. R. Basson, J. Charpentier, B. G. Utterback, and J. L. Vincent. 2003. Drotrecogin alfa (activated) in the treatment of severe sepsis patients with multiple-organ dysfunction: data from the PROWESS trial. *Intensive Care Med* 29(6):894-903.
49. Dhainaut, J. F., A. Tenailon, M. Hemmer, P. Damas, Y. Le Tulzo, P. Radermacher, M. D. Schaller, J. P. Sollet, M. Wolff, L. Holzapfel, F. Zeni, J. M. Vedrinne, F. de Vathaire, M. L. Gourlay, P. Guinot, and J. P. Mira. 1998. Confirmatory platelet-activating factor receptor antagonist trial in patients with severe gram-negative bacterial sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. BN 52021 Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med* 26(12):1963-71.
50. Dinarello, C. A. 1996. Cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Curr Top Microbiol Immunol* 216:133-65.
51. Dubois, M. J., C. L. Verdant, and R. Bouali. 2003. 15th Annual Congress of the European Society of Intensive Care Medicine, 29 September-2 October 2002, Barcelona, Spain: clinical research to improve outcome. *Crit Care* 7(1):91-4.
52. Duranteau, J., P. Sitbon, J. L. Teboul, E. Vicaut, N. Anguel, C. Richard, and K. Samii. 1999. Effects of epinephrine, norepinephrine, or the combination of norepinephrine and dobutamine on gastric mucosa in septic shock. *Crit Care Med* 27(5):893-900.
53. EA Panacek, J. M., S Fishkoff, W Barchuk, LTheo. 2001. Neutralization of TNF by monoclonal antibody improves survival and reduces organ dysfunction in human sepsis. Results of the MONARCS trial. *Chest*(118):88.
54. Fan, X., F. Stelter, R. Menzel, R. Jack, I. Spreitzer, T. Hartung, and C. Schutt. 1999. Structures in *Bacillus subtilis* are recognized by CD14 in a

lipopolysaccharide binding protein-dependent reaction. *Infect Immun* 67(6):2964-8.

55. Fein, A. M., G. R. Bernard, G. J. Criner, E. C. Fletcher, J. T. Good, Jr., W. A. Knaus, H. Levy, G. M. Matuschak, H. M. Shanies, R. W. Taylor, and T. C. Rodell. 1997. Treatment of severe systemic inflammatory response syndrome and sepsis with a novel bradykinin antagonist, deltibant (CP-0127). Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CP-0127 SIRS and Sepsis Study Group. *Jama* 277(6):482-7.

56. Fish, R. E., C. H. Lang, and J. A. Spitzer. 1986. Regional blood flow during continuous low-dose endotoxin infusion. *Circ Shock* 18(4):267-75.

57. Fox, G. A., N. A. Paterson, and D. G. McCormack. 1994. Effect of inhibition of NO synthase on vascular reactivity in a rat model of hyperdynamic sepsis. *Am J Physiol* 267(4 Pt 2):H1377-82.

58. Furchgott, R. F., and J. V. Zawadzki. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288(5789):373-6.

59. Giaid, A., and D. Saleh. 1995. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 333(4):214-21.

60. Goldberg, M. R., and D. Robertson. 1983. Yohimbine: a pharmacological probe for study of the alpha 2-adrenoreceptor. *Pharmacol Rev* 35(3):143-80.

61. Goldfarb, R. D., K. J. Lee, T. Andrejuk, and S. W. Dziuban, Jr. 1990. End-systolic elastance as an evaluation of myocardial function in shock. *Circ Shock* 30(1):15-26.

62. Grocott-Mason, R. M., and A. M. Shah. 1998. Cardiac dysfunction in sepsis: new theories and clinical implications. *Intensive Care Med* 24(4):286-95.

63. Groeneveld, A. B., J. J. Nauta, and L. G. Thijs. 1988. Peripheral vascular resistance in septic shock: its relation to outcome. *Intensive Care Med* 14(2):141-7.

64. Grover, R., D. Zaccardelli, G. Colice, K. Guntupalli, D. Watson, and J. L. Vincent. 1999. An open-label dose escalation study of the nitric oxide synthase inhibitor, N(G)-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88), in patients with septic shock. Glaxo Wellcome International Septic Shock Study Group. *Crit Care Med* 27(5):913-22.

-
65. Gunnett, C. A., Y. Chu, D. D. Heistad, A. Loihl, and F. M. Faraci. 1998. Vascular effects of LPS in mice deficient in expression of the gene for inducible nitric oxide synthase. *Am J Physiol* 275(2 Pt 2):H416-21.
66. Hellyer, P. W., L. W. Johnson, and N. C. Olson. 1997. Effect of NG-nitro-L-arginine-methyl-ester on cardiopulmonary function and biosynthesis of cyclooxygenase products during porcine endotoxemia. *Crit Care Med* 25(6):1051-8.
67. Herbertson, M. J., H. A. Werner, and K. R. Walley. 1996. Nitric oxide synthase inhibition partially prevents decreased LV contractility during endotoxemia. *Am J Physiol* 270(6 Pt 2):H1979-84.
68. Hesselvik, J. F., and B. Brodin. 1989. Low dose norepinephrine in patients with septic shock and oliguria: effects on afterload, urine flow, and oxygen transport. *Crit Care Med* 17(2):179-80.
69. Hinder, F., M. Booke, L. D. Traber, and D. L. Traber. 1997. Nitric oxide and endothelial permeability. *J Appl Physiol* 83(6):1941-6.
70. Hinder, F., J. Meyer, M. Booke, J. S. Ehardt, J. R. Salsbury, L. D. Traber, and D. L. Traber. 1998. Endogenous nitric oxide and the pulmonary microvasculature in healthy sheep and during systemic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 157(5 Pt 1):1542-9.
71. Hinder, F., H. D. Stubbe, H. Van Aken, H. A. Baba, U. R. Jahn, G. Brodner, C. August, M. Erren, and M. Booke. 2003. Early multiple organ failure after recurrent endotoxemia in the presence of vasoconstrictor-masked hypovolemia. *Crit Care Med* 31(3):903-9.
72. Hinder, F., H. D. Stubbe, H. Van Aken, R. Waurick, M. Booke, and J. Meyer. 1999. Role of nitric oxide in sepsis-associated pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med* 159(1):252-7.
73. Ho, K. H., C. Y. Kwan, and J. P. Bourreau. 1996. Hyporesponsiveness to Ca²⁺ of aortic smooth muscle in endotoxin-treated rats: no-dependent and -independent in vitro mechanisms. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 92(3):275-84.
74. Hollenberg, S. M., M. Broussard, J. Osman, and J. E. Parrillo. 2000. Increased microvascular reactivity and improved mortality in septic mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Circ Res* 86(7):774-8.

-
75. Hollenberg, S. M., R. E. Cunnion, and J. Zimmerberg. 1993. Nitric oxide synthase inhibition reverses arteriolar hyporesponsiveness to catecholamines in septic rats. *Am J Physiol* 264(2 Pt 2):H660-3.
76. Hollenberg, S. M., C. R. Easington, J. Osman, M. Broussard, and J. E. Parrillo. 1999. Effects of nitric oxide synthase inhibition on microvascular reactivity in septic mice. *Shock* 12(4):262-7.
77. Hoque, A. M., A. Papapetropoulos, R. C. Venema, J. D. Catravas, and L. C. Fuchs. 1998. Effects of antisense oligonucleotide to iNOS on hemodynamic and vascular changes induced by LPS. *Am J Physiol* 275(3 Pt 2):H1078-83.
78. Horn, K. D. 1998. Evolving strategies in the treatment of sepsis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Qjm* 91(4):265-77.
79. Ignarro, L. J., G. M. Buga, K. S. Wood, R. E. Byrns, and G. Chaudhuri. 1987. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(24):9265-9.
80. Jack, R. S., X. Fan, M. Bernheiden, G. Rune, M. Ehlers, A. Weber, G. Kirsch, R. Mentel, B. Furll, M. Freudenberg, G. Schmitz, F. Stelter, and C. Schutt. 1997. Lipopolysaccharide-binding protein is required to combat a murine gram-negative bacterial infection. *Nature* 389(6652):742-5.
81. Jakob, S. M. 2003. Splanchnic blood flow in low-flow states. *Anesth Analg* 96(4):1129-38, table of contents.
82. Jersmann, H. P., C. S. Hii, G. L. Hodge, and A. Ferrante. 2001. Synthesis and surface expression of CD14 by human endothelial cells. *Infect Immun* 69(1):479-85.
83. JH Siegel, V. T. 1987. Sepsis, abnormal metabolic control, and the multiple organ failure syndrome. In J. Siegel, editor. Trauma. Churchill Livingstone, Edinburgh. 411-502.
84. Julou-Schaeffer, G., G. A. Gray, I. Fleming, C. Schott, J. R. Parratt, and J. C. Stoclet. 1990. Loss of vascular responsiveness induced by endotoxin involves L-arginine pathway. *Am J Physiol* 259(4 Pt 2):H1038-43.
85. Kanagy, N. L. 1997. Increased vascular responsiveness to alpha 2-adrenergic stimulation during NOS inhibition-induced hypertension. *Am J Physiol* 273(6 Pt 2):H2756-64.

-
86. Kaneko, K., and S. Sunano. 1993. Involvement of alpha-adrenoceptors in the endothelium-dependent depression of noradrenaline-induced contraction in rat aorta. *Eur J Pharmacol* 240(2-3):195-200.
87. Kiefer, P., I. Tugtekin, H. Wiedeck, H. Bracht, J. Vogt, U. Wachter, M. Weiss, C. Altin, M. Georgieff, and P. Radermacher. 2001. Hepato-splanchnic metabolic effects of the stable prostacyclin analogue iloprost in patients with septic shock. *Intensive Care Med* 27(7):1179-86.
88. Kilbourn, R. G., S. S. Gross, A. Jubran, J. Adams, O. W. Griffith, R. Levi, and R. F. Lodato. 1990. NG-methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: implications for the involvement of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(9):3629-32.
89. Kirkeboen, K. A., P. A. Naess, G. Christensen, and F. Kiil. 1992. Importance of nitric oxide in canine femoral circulation: comparison of two NO inhibitors. *Cardiovasc Res* 26(4):357-61.
90. Kirkeboen, K. A., P. A. Naess, J. Offstad, and A. Ilebekk. 1994. Effects of regional inhibition of nitric oxide synthesis in intact porcine hearts. *Am J Physiol* 266(4 Pt 2):H1516-27.
91. Kolo, L. L., T. C. Westfall, and H. Macarthur. 2004. Nitric oxide decreases the biological activity of norepinephrine resulting in altered vascular tone in the rat mesenteric arterial bed. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286(1):H296-303.
92. Landin, L., J. A. Lorente, E. Renes, P. Canas, P. Jorge, and D. Liste. 1994. Inhibition of nitric oxide synthesis improves the vasoconstrictive effect of noradrenaline in sepsis. *Chest* 106(1):250-6.
93. Lands, A. M., A. Arnold, J. P. McAuliff, F. P. Luduena, and T. G. Brown, Jr. 1967. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 214(88):597-8.
94. Laszlo, F., B. J. Whittle, and S. Moncada. 1994. Time-dependent enhancement or inhibition of endotoxin-induced vascular injury in rat intestine by nitric oxide synthase inhibitors. *Br J Pharmacol* 111(4):1309-15.
95. Le Gall, J. R., S. Lemeshow, G. Leleu, J. Klar, J. Huillard, M. Rue, D. Teres, and A. Artigas. 1995. Customized probability models for early severe sepsis in adult intensive care patients. Intensive Care Unit Scoring Group. *Jama* 273(8):644-50.

-
96. Lee, K., H. van der Zee, S. W. Dziuban, Jr., K. Luhmann, and R. D. Goldfarb. 1988. Left ventricular function during chronic endotoxemia in swine. *Am J Physiol* 254(2 Pt 2):H324-30.
97. Lehmann, C., K. Taymoorian, H. Wauer, D. Krausch, J. Birnbaum, and W. J. Kox. 2000. Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on the plasma disappearance rate of indocyanine green in human septic shock. *Intensive Care Med* 26(10):1557-60.
98. Lenhartz, H. 1903. Die septischen Erkrankungen. *Hölder, Wien*.
99. Levy, B., P. E. Bollaert, C. Charpentier, L. Nace, G. Audibert, P. Bauer, P. Nabet, and A. Larcan. 1997. Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: a prospective, randomized study. *Intensive Care Med* 23(3):282-7.
100. Levy, M. M., M. P. Fink, J. C. Marshall, E. Abraham, D. Angus, D. Cook, J. Cohen, S. M. Opal, J. L. Vincent, and G. Ramsay. 2003. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31(4):1250-6.
101. Liaudet, L., D. Fishman, M. Markert, C. Perret, and F. Feihl. 1997. L-canavanine improves organ function and tissue adenosine triphosphate levels in rodent endotoxemia. *Am J Respir Crit Care Med* 155(5):1643-8.
102. Liu, S., I. M. Adcock, R. W. Old, P. J. Barnes, and T. W. Evans. 1993. Lipopolysaccharide treatment in vivo induces widespread tissue expression of inducible nitric oxide synthase mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 196(3):1208-13.
103. Liu, S. F., D. E. Crawley, T. W. Evans, and P. J. Barnes. 1991. Endogenous nitric oxide modulates adrenergic neural vasoconstriction in guinea-pig pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 104(2):565-9.
104. Lopez, A., J. A. Lorente, J. Steingrub, J. Bakker, A. McLuckie, S. Willatts, M. Brockway, A. Anzueto, L. Holzapfel, D. Breen, M. S. Silverman, J. Takala, J. Donaldson, C. Arneson, G. Grove, S. Grossman, and R. Grover. 2004. Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. *Crit Care Med* 32(1):21-30.
105. Lorente, J. A., L. Landin, R. De Pablo, E. Renes, and D. Liste. 1993. L-arginine pathway in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 21(9):1287-95.

-
106. Lorente, J. A., L. Landin, E. Renes, R. De Pablo, P. Jorge, E. Rodena, and D. Liste. 1993. Role of nitric oxide in the hemodynamic changes of sepsis. *Crit Care Med* 21(5):759-67.
107. Macarthur, H., T. C. Westfall, D. P. Riley, T. P. Misko, and D. Salvemini. 2000. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(17):9753-8.
108. MacLean, M. R., K. M. McCulloch, and J. C. McGrath. 1993. Influences of the endothelium and hypoxia on alpha 1- and alpha 2-adrenoceptor-mediated responses in the rabbit isolated pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 108(1):155-61.
109. Marik, P., and G. Zaloga. 2000. Prognostic value of cortisol response in septic shock. *Jama* 284(3):308-9; author reply 309.
110. Martich, G. D., A. J. Boujoukos, and A. F. Suffredini. 1993. Response of man to endotoxin. *Immunobiology* 187(3-5):403-16.
111. Martin, C., L. Papazian, G. Perrin, P. Saux, and F. Gouin. 1993. Norepinephrine or dopamine for the treatment of hyperdynamic septic shock? *Chest* 103(6):1826-31.
112. Martin, G. S., D. M. Mannino, S. Eaton, and M. Moss. 2003. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 348(16):1546-54.
113. McMahon, T. J., L. J. Ignarro, and P. J. Kadowitz. 1993. Influence of Zaprinst on vascular tone and vasodilator responses in the cat pulmonary vascular bed. *J Appl Physiol* 74(4):1704-11.
114. Meier-Hellmann, A. 2000. [Catecholamine therapy in sepsis]. *Anaesthetist* 49(12):1069-76.
115. Meier-Hellmann, A. 2003. [Standards in the diagnosis and treatment of sepsis]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 38(2):107-33; quiz 134-5.
116. Meier-Hellmann, A., K. Reinhart, D. L. Bredle, M. Specht, C. D. Spies, and L. Hannemann. 1997. Epinephrine impairs splanchnic perfusion in septic shock. *Crit Care Med* 25(3):399-404.
117. Meier-Hellmann, A., M. Specht, L. Hannemann, H. Hassel, D. L. Bredle, and K. Reinhart. 1996. Splanchnic blood flow is greater in septic shock treated with norepinephrine than in severe sepsis. *Intensive Care Med* 22(12):1354-9.

118. Menger MD, V. B., Messmer K. 1994. Sepsis and nutritional flow. *In* K. E. K. Reinhart, Sprung C, editor. Current perspectives in pathophysiology and therapy. Springer Verlag, Berlin. 163-173.
119. Meyer, J., M. Booke, R. Waurick, T. Prien, and H. Van Aken. 1996. Nitric oxide synthase inhibition restores vasopressor effects of norepinephrine in ovine hyperdynamic sepsis. *Anesth Analg* 83(5):1009-13.
120. Meyer, J., F. Hinder, J. Stothert, Jr., L. D. Traber, D. N. Herndon, J. T. Flynn, and D. L. Traber. 1994. Increased organ blood flow in chronic endotoxemia is reversed by nitric oxide synthase inhibition. *J Appl Physiol* 76(6):2785-93.
121. Meyer, J., C. W. Lentz, J. C. Stothert, Jr., L. D. Traber, D. N. Herndon, and D. L. Traber. 1994. Effects of nitric oxide synthesis inhibition in hyperdynamic endotoxemia. *Crit Care Med* 22(2):306-12.
122. Moncada, S., and A. Higgs. 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329(27):2002-12.
123. Moncada, S., R. M. Palmer, and E. A. Higgs. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43(2):109-42.
124. Moran, J. L., M. S. O'Fathartaigh, A. R. Peisach, M. J. Chapman, and P. Leppard. 1993. Epinephrine as an inotropic agent in septic shock: a dose-profile analysis. *Crit Care Med* 21(1):70-7.
125. Morel, D. R., J. S. Lacroix, A. Hemsén, D. A. Steinig, J. F. Pittet, and J. M. Lundberg. 1989. Increased plasma and pulmonary lymph levels of endothelin during endotoxin shock. *Eur J Pharmacol* 167(3):427-8.
126. Naess, P. A., K. A. Kirkeboen, G. Christensen, and F. Kiil. 1992. Inhibition of renal nitric oxide synthesis with NG-monomethyl-L-arginine and NG-nitro-L-arginine. *Am J Physiol* 262(6 Pt 2):F939-42.
127. Nathan, C., and Q. W. Xie. 1994. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 78(6):915-8.
128. Nelson, S. H., J. S. Ehardt, W. Lingnau, D. J. Dehring, L. Traber, and D. Traber. 1996. Differential effects of prolonged septicemia on isolated pulmonary arteries and veins from sheep. *Shock* 5(6):440-5.
129. Palmer, R. M., A. G. Ferrige, and S. Moncada. 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327(6122):524-6.

130. Parker, M. M., J. H. Shelhamer, S. L. Bacharach, M. V. Green, C. Natanson, T. M. Frederick, B. A. Damske, and J. E. Parrillo. 1984. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* 100(4):483-90.

131. Parrillo, J. E., M. M. Parker, C. Natanson, A. F. Suffredini, R. L. Danner, R. E. Cunnion, and F. P. Ognibene. 1990. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 113(3):227-42.

132. Petros, A., G. Lamb, A. Leone, S. Moncada, D. Bennett, and P. Vallance. 1994. Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* 28(1):34-9.

133. Pittet, J. F., C. M. Pastor, and D. R. Morel. 2000. Spontaneous high systemic oxygen delivery increases survival rate in awake sheep during sustained endotoxemia. *Crit Care Med* 28(2):496-503.

134. Pleiner, J., E. Heere-Ress, H. Langenberger, A. E. Sieder, M. Bayerle-Eder, F. Mittermayer, G. Fuchsjäger-Mayrl, J. Böhm, B. Jansen, and M. Wolzt. 2002. Adrenoceptor hyporeactivity is responsible for Escherichia coli endotoxin-induced acute vascular dysfunction in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22(1):95-100.

135. Pollard, V., D. S. Prough, D. J. Deyo, B. Conroy, T. Uchida, A. Daye, L. D. Traber, and D. L. Traber. 1997. Cerebral blood flow during experimental endotoxemia in volunteers. *Crit Care Med* 25(10):1700-6.

136. Pou, S., W. S. Pou, D. S. Bredt, S. H. Snyder, and G. M. Rosen. 1992. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 267(34):24173-6.

137. Price, S., J. A. Mitchell, P. B. Anning, and T. W. Evans. 2003. Type II nitric oxide synthase activity is cardio-protective in experimental sepsis. *Eur J Pharmacol* 472(1-2):111-8.

138. Rackow, E. C., and M. E. Astiz. 1991. Pathophysiology and treatment of septic shock. *Jama* 266(4):548-54.

139. Rank, N., C. Michel, C. Haertel, A. Lenhart, M. Welte, A. Meier-Hellmann, and C. Spies. 2000. N-acetylcysteine increases liver blood flow and improves liver function in septic shock patients: results of a prospective, randomized, double-blind study. *Crit Care Med* 28(12):3799-807.

-
140. Rees, D. D., S. Cellek, R. M. Palmer, and S. Moncada. 1990. Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: an insight into endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun* 173(2):541-7.
141. Reid, K., D. H. Surridge, A. Morales, M. Condra, C. Harris, J. Owen, and J. Fenemore. 1987. Double-blind trial of yohimbine in treatment of psychogenic impotence. *Lancet* 2(8556):421-3.
142. Reinelt, H., P. Radermacher, P. Kiefer, G. Fischer, U. Wachter, J. Vogt, and M. Georgieff. 1999. Impact of exogenous beta-adrenergic receptor stimulation on hepatosplanchnic oxygen kinetics and metabolic activity in septic shock. *Crit Care Med* 27(2):325-31.
143. Reinhart, K., T. Menges, B. Gardlund, J. Harm Zwaveling, M. Smithes, J. L. Vincent, J. M. Tellado, A. Salgado-Remigio, R. Zimlichman, S. Withington, K. Tschaikowsky, R. Brase, P. Damas, H. Kupper, J. Kempeni, J. Eiselstein, and M. Kaul. 2001. Randomized, placebo-controlled trial of the anti-tumor necrosis factor antibody fragment afelimomab in hyperinflammatory response during severe sepsis: The RAMSES Study. *Crit Care Med* 29(4):765-9.
144. Revelly, J. P., L. Liaudet, P. Frascarolo, J. M. Joseph, O. Martinet, and M. Markert. 2000. Effects of norepinephrine on the distribution of intestinal blood flow and tissue adenosine triphosphate content in endotoxic shock. *Crit Care Med* 28(7):2500-6.
145. Rivers, E., B. Nguyen, S. Havstad, J. Ressler, A. Muzzin, B. Knoblich, E. Peterson, and M. Tomlanovich. 2001. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 345(19):1368-77.
146. Rudis, M. I., M. A. Basha, and B. J. Zarowitz. 1996. Is it time to reposition vasopressors and inotropes in sepsis? *Crit Care Med* 24(3):525-37.
147. Salvemini, D., R. Korbut, E. Anggard, and J. Vane. 1990. Immediate release of a nitric oxide-like factor from bovine aortic endothelial cells by *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(7):2593-7.
148. Sander, M., B. Chavoshan, and R. G. Victor. 1999. A large blood pressure-raising effect of nitric oxide synthase inhibition in humans. *Hypertension* 33(4):937-42.
149. Sands, K. E., D. W. Bates, P. N. Lancken, P. S. Graman, P. L. Hibberd, K. L. Kahn, J. Parsonnet, R. Panzer, E. J. Orav, and D. R. Snydman. 1997. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *Jama* 278(3):234-40.

-
150. Schierhout, G., and I. Roberts. 1998. Fluid resuscitation with colloid or crystalloid solutions in critically ill patients: a systematic review of randomised trials. *Bmj* 316(7136):961-4.
151. Schneider, F., P. Lutun, M. Hasselmann, J. C. Stoclet, and J. D. Tempe. 1992. Methylene blue increases systemic vascular resistance in human septic shock. Preliminary observations. *Intensive Care Med* 18(5):309-11.
152. Schottmüller, H. 1914. Wesen und Behandlung der Sepsis. *Verhandl. dt. Kongress Inn. Med.* 31:257-280.
153. Schumann, R. R., S. R. Leong, G. W. Flaggs, P. W. Gray, S. D. Wright, J. C. Mathison, P. S. Tobias, and R. J. Ulevitch. 1990. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 249(4975):1429-31.
154. Schwartzmann, G. 1928. Studies on typhosus toxis substances. I. Phenomenon of local skin reactivity to B. typhosus culture filtrate. *J. Exp. Med.* 38:247-268.
155. Schwinn, D. A. 1993. Adrenoceptors as models for G protein-coupled receptors: structure, function and regulation. *Br J Anaesth* 71(1):77-85.
156. Sharma, S., and A. Kumar. 2003. Septic shock, multiple organ failure, and acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Pulm Med* 9(3):199-209.
157. Shintani, F., T. Kinoshita, S. Kanba, T. Ishikawa, E. Suzuki, N. Sasaki, R. Kato, M. Asai, and T. Nakaki. 1996. Bioactive 6-nitronorepinephrine identified in mammalian brain. *J Biol Chem* 271(23):13561-5.
158. Sielenkamper, A. W., J. Meyer, H. Kloppenburg, K. Eicker, and H. Van Aken. 2001. The effects of sepsis on gut mucosal blood flow in rats. *Eur J Anaesthesiol* 18(10):673-8.
159. Smiley, R. M., M. M. Kwatra, and D. A. Schwinn. 1998. New developments in cardiovascular adrenergic receptor pharmacology: molecular mechanisms and clinical relevance. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 12(1):80-95.
160. Spain, D. A., M. A. Wilson, and R. N. Garrison. 1994. Nitric oxide synthase inhibition exacerbates sepsis-induced renal hypoperfusion. *Surgery* 116(2):322-30; discussion 330-1.
161. Spath, J. A., Jr., P. J. Sloane, M. H. Gee, and K. H. Albertine. 1994. Loss of endothelium-dependent vasodilation in the pulmonary vessels of sheep after prolonged endotoxin. *J Appl Physiol* 76(1):361-9.

-
162. Sriskandan, S., and J. Cohen. 1995. The pathogenesis of septic shock. *J Infect* 30(3):201-6.
163. Strunk, V., K. Hahnenkamp, M. Schneuing, L. G. Fischer, and G. F. Rich. 2001. Selective iNOS inhibition prevents hypotension in septic rats while preserving endothelium-dependent vasodilation. *Anesth Analg* 92(3):681-7.
164. Suffredini, A. F., J. H. Shelhamer, R. D. Neumann, M. Brenner, R. J. Baltaro, and J. E. Parrillo. 1992. Pulmonary and oxygen transport effects of intravenously administered endotoxin in normal humans. *Am Rev Respir Dis* 145(6):1398-403.
165. Szabo, C., G. Ferrer-Sueta, B. Zingarelli, G. J. Southan, A. L. Salzman, and R. Radi. 1997. Mercaptoethylguanidine and guanidine inhibitors of nitric oxide synthase react with peroxynitrite and protect against peroxynitrite-induced oxidative damage. *J Biol Chem* 272(14):9030-6.
166. Szabo, C., J. A. Mitchell, C. Thiemermann, and J. R. Vane. 1993. Nitric oxide-mediated hyporeactivity to noradrenaline precedes the induction of nitric oxide synthase in endotoxin shock. *Br J Pharmacol* 108(3):786-92.
167. Theuer, C. J., M. A. Wilson, G. D. Steeb, and R. N. Garrison. 1993. Microvascular vasoconstriction and mucosal hypoperfusion of the rat small intestine during bacteremia. *Circ Shock* 40(1):61-8.
168. Thiemermann, C., and J. Vane. 1990. Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo. *Eur J Pharmacol* 182(3):591-5.
169. Traber, D. L. 2000. Animal models: the sheep. *Crit Care Med* 28(2):591-2.
170. Tracey, W. R., M. Nakane, F. Basha, and G. Carter. 1995. In vivo pharmacological evaluation of two novel type II (inducible) nitric oxide synthase inhibitors. *Can J Physiol Pharmacol* 73(5):665-9.
171. Tsuneyoshi, I., Y. Kanmura, and N. Yoshimura. 1996. Nitric oxide as a mediator of reduced arterial responsiveness in septic patients. *Crit Care Med* 24(6):1083-6.
172. van Deventer, S. J., H. R. Buller, J. W. ten Cate, A. Sturk, and W. Pauw. 1988. Endotoxaemia: an early predictor of septicaemia in febrile patients. *Lancet* 1(8586):605-9.

-
173. van Langevelde, P., K. M. Kwappenberg, P. H. Groeneveld, H. Mattie, and J. T. van Dissel. 1998. Antibiotic-induced lipopolysaccharide (LPS) release from *Salmonella typhi*: delay between killing by ceftazidime and imipenem and release of LPS. *Antimicrob Agents Chemother* 42(4):739-43.
174. Van Zwieten, P. A. 1988. The role of adrenoceptors in circulatory and metabolic regulation. *Am Heart J* 116(5 Pt 2):1384-92.
175. Vieillard-Baron, A., S. Prin, K. Chergui, O. Dubourg, and F. Jardin. 2003. Hemodynamic instability in sepsis: bedside assessment by Doppler echocardiography. *Am J Respir Crit Care Med* 168(11):1270-6.
176. Vila, E., N. M. Vivas, A. Taberner, J. Giraldo, and S. M. Arribas. 1997. Alpha 1-adrenoceptor vasoconstriction in the tail artery during ageing. *Br J Pharmacol* 121(5):1017-23.
177. Vincent, J. L. 2001. Hemodynamic support in septic shock. *Intensive Care Med* 27 Suppl 1:S80-92.
178. Vincent, J. L., P. Van der Linden, M. Domb, S. Bleicic, G. Azimi, and A. Bernard. 1987. Dopamine compared with dobutamine in experimental septic shock: relevance to fluid administration. *Anesth Analg* 66(6):565-71.
179. W Schuetz, T. A., A Gauss. 2000. Grundsätze der Katecholamintherapie. *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerztherapie* 35:67-81.
180. Wang, P., S. M. Tait, and I. H. Chaudry. 2000. Sustained elevation of norepinephrine depresses hepatocellular function. *Biochim Biophys Acta* 1535(1):36-44.
181. Warren, B. L., A. Eid, P. Singer, S. S. Pillay, P. Carl, I. Novak, P. Chalupa, A. Atherstone, I. Penzes, A. Kubler, S. Knaub, H. O. Keinecke, H. Heinrichs, F. Schindel, M. Juers, R. C. Bone, and S. M. Opal. 2001. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *Jama* 286(15):1869-78.
182. Watson, D., R. Grover, A. Anzueto, J. Lorente, M. Smithies, R. Bellomo, K. Guntupalli, S. Grossman, J. Donaldson, and J. R. Le Gall. 2004. Cardiovascular effects of the nitric oxide synthase inhibitor NG-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88) in patients with septic shock: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002). *Crit Care Med* 32(1):13-20.
183. Waurick, R., H. G. Bone, J. Meyer, M. Booke, A. Meissner, T. Prien, and H. Van Aken. 1997. Haemodynamic effects of dopexamine and nitric oxide syn-

these inhibition in healthy and endotoxaemic sheep. *Eur J Pharmacol* 333(2-3):181-6.

184. Wei, X. Q., I. G. Charles, A. Smith, J. Ure, G. J. Feng, F. P. Huang, D. Xu, W. Muller, S. Moncada, and F. Y. Liew. 1995. Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Nature* 375(6530):408-11.

185. Weigand, M. A., H. J. Bardenheuer, and B. W. Bottiger. 2003. [Clinical management of patients with sepsis]. *Anaesthesist* 52(1):3-22.

186. Westphal, M., H. Stubbe, A. W. Sielenkamper, C. Ball, H. Van Aken, R. Borgulya, and H. G. Bone. 2003. Effects of titrated arginine vasopressin on hemodynamic variables and oxygen transport in healthy and endotoxemic sheep. *Crit Care Med* 31(5):1502-8.

187. Wheeler, A. P., and G. R. Bernard. 1999. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 340(3):207-14.

188. Wu, C. C., H. Ruetten, and C. Thiemermann. 1996. Comparison of the effects of aminoguanidine and N omega-nitro-L-arginine methyl ester on the multiple organ dysfunction caused by endotoxaemia in the rat. *Eur J Pharmacol* 300(1-2):99-104.

189. Wyler, F., J. M. Neutze, and A. M. Rudolph. 1970. Effects of endotoxin on distribution of cardiac output in unanesthetized rabbits. *Am J Physiol* 219(1):246-51.

190. Xie, Q. W., H. J. Cho, J. Calaycay, R. A. Mumford, K. M. Swiderek, T. D. Lee, A. Ding, T. Troso, and C. Nathan. 1992. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science* 256(5054):225-8.

191. Yang, S., D. J. Koo, I. H. Chaudry, and P. Wang. 2000. The important role of the gut in initiating the hyperdynamic response during early sepsis. *J Surg Res* 89(1):31-7.

192. Yang, S., M. Zhou, I. H. Chaudry, and P. Wang. 2001. Norepinephrine-induced hepatocellular dysfunction in early sepsis is mediated by activation of alpha2-adrenoceptors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 281(4):G1014-21.

193. Yipp, B. G., G. Andonegui, C. J. Howlett, S. M. Robbins, T. Hartung, M. Ho, and P. Kubes. 2002. Profound differences in leukocyte-endothelial cell responses to lipopolysaccharide versus lipoteichoic acid. *J Immunol* 168(9):4650-8.

194. Zeni, F., B. Freeman, and C. Natanson. 1997. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 25(7):1095-100.
195. Zhang, H., P. Rogiers, N. Smail, A. Cabral, J. C. Preiser, M. O. Peny, and J. L. Vincent. 1997. Effects of nitric oxide on blood flow distribution and O₂ extraction capabilities during endotoxic shock. *J Appl Physiol* 83(4):1164-73.
196. Zhong, J., T. C. Hwang, H. R. Adams, and L. J. Rubin. 1997. Reduced L-type calcium current in ventricular myocytes from endotoxemic guinea pigs. *Am J Physiol* 273(5 Pt 2):H2312-24.

8 Danksagungen

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken, FRCA, FANCA für die Überlassung dieser Arbeit und seine großzügige Unterstützung. Meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Hans-Georg Bone bin ich aufgrund seines außerordentlichen Engagements und der sehr guten Betreuung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet. Herrn Prof. Dr. med Jörg Meyer als ehemaligem Arbeitsgruppenleiter danke ich für die vielen wertvollen Ratschläge und die Möglichkeit, die Arbeit in dieser Arbeitsgruppe durchgeführt haben zu können. Ebenfalls möchte ich an dieser Stelle ganz ausdrücklich Herrn Dr. med. René Waurick für seine kompetente und wertvolle Hilfestellung bei der experimentellen Durchführung und der Betreuung der Arbeit bedanken. Herzlich danken möchte ich außerdem Herrn Dr. med. Henning Stubbe für die freundschaftliche Zusammenarbeit und kompetenten Ratschläge bei der experimentellen Durchführung und Niederschrift dieser Arbeit, obwohl er selbst umfangreich in Klinik und experimentelle Forschung eingebunden war. Herrn Jens Konze bin ich für seine hervorragende Korrekturarbeit zu großem Dank verpflichtet. Nicht zuletzt danke ich von ganzem Herzen meiner lieben Frau Catherine, die mich mit viel Geduld und Aufmerksamkeit bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt hat.

9 Lebenslauf