

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

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. van Aken-

**Vergleich der hämodynamischen Wirkungen von
Stickstoffmonoxidsynthaseinhibitoren mit Stickstoffmonoxidscavengern in
septischen Schafen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Katja Buntrock
aus Mettmann
2003

Dekan: Univ.-Prof. Dr. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. H.-G. Bone

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Mittelkötter

Tag der mündlichen Prüfung: 10.06. 2003

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin

-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. van Aken-

Referent: PD. Dr. med. H.-G. Bone

Koreferent: PD. Dr.med. Mittelkötter

ZUSAMMENFASSUNG

Vergleich der hämodynamischen Wirkungen von Stickstoffmonoxidsynthaseinhibitoren mit Stickstoffmonoxidscavengern in septischen Schafen

Katja Buntrock

In der vorliegenden Arbeit werden die hämodynamischen Wirkungen des Stickstoffmonoxidsynthaseinhibitors L-NAME mit dem Stickstoffmonoxidscavenger PHP in septischen Schafen miteinander verglichen. (Genehmigung der tierexperimentellen Arbeit 30.07.1996, 24.10.1996, Aktenzeichen 23.0835.1.0 (34/96), (54/96)). In der Einleitung wird das Krankheitsbild der Sepsis beschrieben, sowie herkömmliche und innovative Methoden der Therapie, z.B. mit NO-Synthaseinhibitoren oder NO-Scavengern. Die Schafe erhielten nach einer kontinuierlichen Endotoxininfusion entweder den NO-Synthaseinhibitor L-NAME oder den NO-Scavenger PHP als Bolusinjektion, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion. In dem sich anschliessenden Beobachtungszeitraum von 240 Minuten wurden die hämodynamischen Parameter registriert und später miteinander verglichen.

Sowohl L-NAME als auch PHP bewirkten einen Anstieg des MAP, SVR und einen Abfall der Herzfrequenz. Die L-NAME Infusion führte zu einem grösseren Anstieg des PAP und des PVR als die PHP Infusion und zu einem deutlicheren Abfall des CI.

Trotz der erfolgreichen experimentellen Anwendung bleibt die klinische Anwendung aufgrund negativer Studienergebnisse in nächster Zeit fraglich.

Gliederung

	Seite
Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	III
1 Einleitung	
1.1 Definition der Sepsis	1
1.2 Inzidenz und Mortalität der Sepsis	2
1.3 Pathophysiologie der Sepsis	3
1.4 Physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Stickstoffmonoxid	9
1.5 Klinisches Bild der Sepsis	13
1.6 Therapiemöglichkeiten bei Sepsis	18
1.6.1 Konventionelle Therapieverfahren	18
1.6.2 NO-Synthase-Inhibitoren	19
1.6.3 NO-Scavenger	24
1.7 Fragestellung der vorliegenden Arbeit	26
2 Material und Methoden	
2.1 Genehmigung des Versuchsvorhabens	28
2.2 Versuchstiere	28
2.2.1 Anzahl und Art der Versuchstiere	28
2.2.2 Tierhaltung	28
2.3 Instrumentierung	29
2.3.1 Narkotisierung der Tiere	29
2.3.2 Katheterisierung	29

2.4 Art der verwendeten Katheter	30
2.4.1 Pulmonalarterieller Katheter	30
2.4.2 Arterieller Zugang	31
2.5 Technische Ausstattung	31
2.6 Versuchsprotokoll	32
2.7 Messwerte und abgeleitete Parameter	33
2.8 Statistische Auswertung	34
3 Ergebnisse	
3.1 Endotoxinämie	35
3.2 Hämodynamische Effekte von PHP in endotoxinämischen Schafen	36
3.3 Hämodynamische Effekte von L-Name in endotoxämischen Schafen	36
4 Diskussion	
4.1 Fragestellung	43
4.2 Endotoxinämie als Sepsismodell	44
4.3 Diskussion der Ergebnisse	45
4.4 Ausblick	51
Literaturverzeichnis	54

Tabellenverzeichnis	Seite
Tabelle 1: Werte des Gasaustausches	42
Abbildungsverzeichnis	
Abbildung 1: Auslösende Ursachen der Sepsis	3
Abbildung 2: Systemische Entzündungsreaktionen	8
Abbildung 3: Arterieller Mitteldruck	38
Abbildung 4: Cardiac Index	38
Abbildung 5: Schlagvolumenindex	39
Abbildung 6: Pulmonalarterieller Druck	39
Abbildung 7: Systemvaskulärer Widerstandsindex	40
Abbildung 8: Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex	40
Abbildung 9: Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex	41
Abbildung 10: Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex	41

1 Einleitung

1.1 Definition der Sepsis

Die Begriffe ‘Sepsis’, ‘Infektion’ und ‘Bakteriämie’ wurden 1991 durch Mitglieder des ‘American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committees’ neu definiert [56].

Die Autoren sahen die Notwendigkeit einer Standardisierung dadurch gegeben, dass zahlreiche Studien zur Therapie der Sepsis wegen des unterschiedlichen Verständnisses des Begriffs ‘Sepsis’ unterschiedlich interpretiert wurden, oder dass die Begriffe ‘Sepsis’ oder ‘Sepsis Syndrom’ auch für systemische Entzündungsreaktionen ohne infektiöse Ursache verwendet wurden.

Um eine systemische Entzündungsreaktion, die nicht nur durch eine Infektion sondern auch durch andere nichtinfektiöse Erkrankungen, wie z.B. Pankreatitis, Ischämie oder hämorrhagischen Schock, hervorgerufen werden kann, zu beschreiben, wurde der Begriff ‘systemic inflammatory response syndrome (SIRS)’ festgelegt. Ein SIRS liegt vor, wenn mindestens zwei der nachfolgenden Kriterien nachzuweisen sind: Körpertemperatur $> 38\text{ °C}$ oder $< 36\text{ °C}$, Herzfrequenz > 90 Schläge/min., Atemfrequenz > 20 Atemzüge/min. oder $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mmHg}$, Leukozytose ($> 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($< 4000/\text{mm}^3$) oder Linksverschiebung (mindestens 10% unreife Granulozyten).

Ein SIRS mit nachgewiesener oder wahrscheinlicher infektiöser Ursache wird ‘Sepsis’ genannt.

Eine Infektion ist eine Entzündungsreaktion, die durch die Anwesenheit von Mikroorganismen in normalerweise sterilem Gewebe hervorgerufen wird.

Eine Bakteriämie bezeichnet die Anwesenheit von Bakterien im Blut.

Unter dem Begriff ‘schwere Sepsis’ wird die Sepsis mit Organdysfunktion verstanden. Kennzeichen dieser Dysfunktionen sind u.a. Oligurie, Laktatazidose, Bewusstseinsveränderungen und Hypotension (systolischer Blutdruck $< 90\text{ mmHg}$).

Besteht die Hypotension trotz Volumensubstitution weiter, wird die Bezeichnung 'septischer Schock' verwendet [56].

1.2 Inzidenz und Mortalität der Sepsis

Die Sepsis zählt zu den häufigsten Todesursachen auf Intensivstationen [68]. Einem Bericht des Center for Disease Control (Atlanta, USA) zufolge, nimmt die Inzidenz stetig zu. So wurde in den USA von 1979 bis 1987 eine Zunahme der Sepsisfälle von 139% festgestellt, d.h. ein Anstieg von 73,6 Fällen im Jahr 1979 auf 176 Fälle im Jahr 1987 pro 100000 Einwohnern [14].

1990 wurden in den USA 400000 Sepsisfälle pro Jahr geschätzt, 200000 mit septischem Schock. Die Zahl der daraus resultierenden Todesfälle wurde mit 100000 pro Jahr angegeben [68].

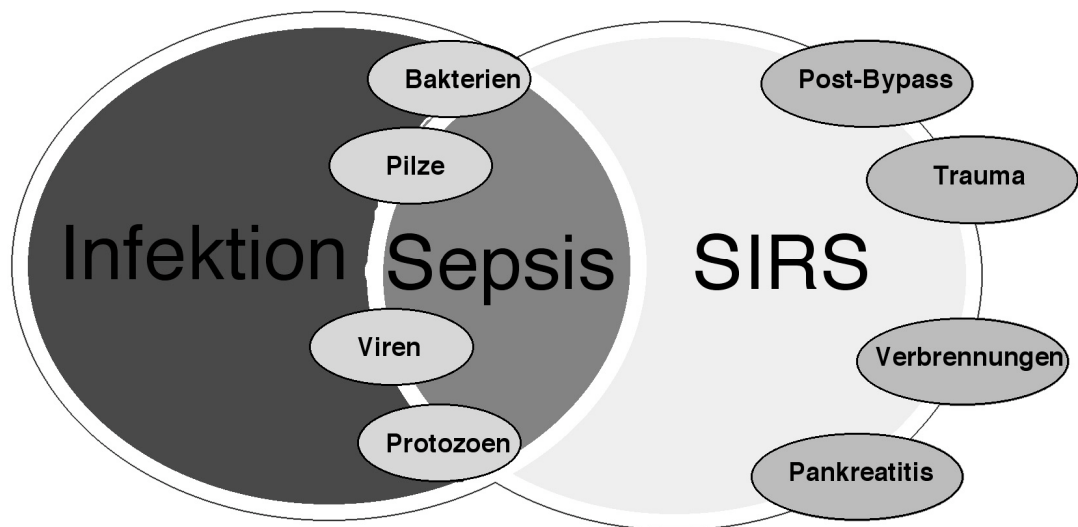
Von 1993 bis 1994 wurde in Italien eine große Studie mit 1101 Patienten auf 99 Intensivstationen durchgeführt. 58% der 1101 Patienten erkrankten an SIRS, 16,3% an Sepsis, 5,5% an schwerer Sepsis und 6,1% an septischem Schock. Die Mortalitätsrate lag bei den Patienten mit SIRS bei 26,5%, bei den Patienten mit Sepsis bei 36%, bei den Patienten mit schwerer Sepsis bei 52% und denen mit septischem Schock bei 81,8% [82].

1995 wurde in den USA bei 18% der Patienten auf Intensivstationen eine Sepsis festgestellt, schwere Sepsis bei 13% und septischer Schock bei 3%. Die Mortalität der Sepsis lag bei 16%, die der schweren Sepsis bei 20% und die des septischen Schocks bei 46% [74].

Die Gründe für die steigende Inzidenz sind vielfältig. Zum einen führt der zunehmende Einsatz zytotoxischer und immunsuppressiver Medikamente zum anderen die Zunahme invasiver Diagnostik- und Therapieverfahren, wie z.B. Gefäßkatheter oder Blasenkateter, zu einem Anstieg von Infektionen. Ebenso gibt

es immer häufiger Patienten mit multiplen Grunderkrankungen, höherem Lebensalter und schweren, chronischen Krankheiten, die auf Intensivstationen behandelt werden. Die steigende Anzahl von Erregern mit Antibiotikaresistenz begünstigen ebenfalls die Zunahme von Infektionen [68].

1.3 Pathophysiologie der Sepsis



R.C. Bone, JAMA (1995) 273:155

Abbildung1: Auslösende Ursachen der Sepsis

Der systemischen Entzündungsreaktion liegt eine Aktivierung des unspezifischen Immunsystems durch Toxine zugrunde. Diese Toxine können gramnegative oder grampositive Bakterienbestandteile, Pilze oder Viren sein, die in die Blutbahn gelangen. Dort führen sie zur Aktivierung von Makrophagen/Monozyten und anderen Zellen, wie z.B. Endothelzellen oder neutrophilen Granulozyten, die daraufhin proinflammatorische Mediatoren, aber auch antiinflammatorische Mediatoren bilden. Die systemische Entzündungsreaktion wird dann offenbar durch proinflammatorische Mediatoren hervorgerufen, deren Hemmung außer Kontrolle geraten ist. Zytokine wie TNF- α oder Interleukin-1 stimulieren eine weitere Folge von Reaktionen, z.B. die Produktion weiterer proinflammatorischer Mediatoren wie IL-6 und IL-8. Diese Mediatoren bewirken dann weitere Entzündungsreaktionen, aktivieren aber auch das Gerinnungssystem und das Komplementsystem. Es folgen Mikrozirkulationsstörungen, endotheliale Dysfunktion, Gewebeschäden und eine Zunahme der intestinalen Permeabilität, wobei den vasoaktiven Substanzen Stickstoffmonoxid und Endothelin-1 neben den übrigen Mediatoren eine große Bedeutung beigemessen wird [5, 104, 9, 69].

Endotoxin, dessen Wirkung bisher am ausführlichsten untersucht wurde, kann, wie andere Toxine auch, als Auslöser einer systemischen Entzündungsreaktion in Frage kommen. Endotoxine sind Lipopolysaccharide (LPS) der Außenmembran gramnegativer Bakterien, die erst bei Zellyse freigesetzt werden. Das LPS-Molekül kann in drei Abschnitte unterteilt werden: Lipid A, Kernzone und die variable Seitenkette. Das Lipid A ist ein Phospholipid, bestehend aus einem Glukosamindisaccharid, welches mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge verestert ist. Lipid A ist verantwortlich für die Toxizität der Endotoxine. Die sich anschließende Kernzone besteht aus fünf Polysacchariden (Ketodesoxyoctonat, Heptose, D-Glukose, D-Galaktose, D-Glukosamin). Darauf folgt die Seitenkette als äußere Region. Sie besteht aus Oligosaccharid-Einheiten, ist in Struktur und Zusammensetzung sehr variabel und wird O-spezifische Seitenkette genannt. Sie stellt eine antigene Determinante dar, die als O-Antigen bezeichnet wird und die Bildung von O-spezifischen Antikörpern hervorruft [18, 81]. Werden gramnegative Bakterien, die ins Blut gelangt sind, von Zellen des Immunsystems zerstört, kommt

es zur Freisetzung von LPS aus der Zellwand. Die Reaktion des Organismus auf LPS erfolgt durch die Erkennung von LPS durch ein LPS-Bindungsprotein (LPB), ein akute-Phase-Protein, und durch den CD-14 Rezeptor, der membrangebunden oder löslich vorkommt. CD-14 befindet sich auf der Membran von Monozyten und Makrophagen und bindet LPS, wobei festgestellt wurde, dass die Interaktionen durch LPB erleichtert werden. LPB dient als Transportprotein und bindet an Lipid A [65]. Durch die Bindung von LPS gemeinsam mit LBP an den CD-14 Rezeptor kommt es zur Zellaktivierung mit neuer Genexpression. Ebenso führt diese Bindung zu einer Aufnahme von LPS in die Zelle. Die Membranbindung aktiviert eine intrazelluläre Kinasekaskade. Durch diese Kinasen wird die Genexpression mittels Anstieg von mRNA, die Proteine wie z.B. Zytokine oder intrazelluläre Enzyme verschlüsselt, kontrolliert [101]. Die lösliche Form des CD-14 Rezeptors im Serum fördert die Bindung von LPS an endotheliale Zellen. Diese werden dadurch aktiviert und produzieren dann Zytokine und Adhäsionsmoleküle [104].

Über den LPS-LPB-Komplex, der an den CD-14 Rezeptor auf der Zelloberfläche bindet, erfolgt die Aktivierung der Monozyten. Monozyten besitzen die Fähigkeit zur Phagozytose, sind aber auch in der Lage Entzündungsmediatoren zu produzieren. Dadurch wird ein Anstieg der Expression der LPS-induzierten Gene bewirkt, woraus die Produktion von TNF- α und Interleukin-1 folgt [5]. Ebenso werden weitere Zytokine wie IL-6, -8 und PAF produziert [9, 69].

Im Rahmen der systemischen Entzündungsreaktion kommt es auch zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems. Das intrinsische Gerinnungssystem wird direkt aktiviert durch den Kontakt des Gerinnungsfaktors XII mit negativ geladenen Oberflächen, wie z.B. Zellwandbestandteilen grampositiver Bakterien, oder mit LPS gramnegativer Bakterien. In Folge dieses Gerinnungswegs wird 'tissue factor (TF)' produziert, der den extrinsischen Gerinnungsweg aktivieren kann [104]. Der Gerinnungsfaktor XII ist auch in der Lage über eine Aktivierung des Faktors VII den extrinsischen Gerinnungsweg zu starten. Die Gerinnungskaskade führt zur Bildung von Thrombin.

Gleichzeitig wird die Fibrinolyse stimuliert, indem Protein C eine Hemmung des Plasminogen-Aktivator-Inhibitors-1 bewirkt [48].

Neben der o.g. Gerinnungsaktivierung kommt es auch zu einer Aktivierung des Komplementsystems. Sowohl der alternative als auch der klassische Weg des Komplementsystems können durch LPS und Zellwandbestandteile grampositiver Bakterien aktiviert werden. Die Aktivierung des klassischen Weges erfolgt hauptsächlich durch Komplexe von Zellwandbestandteilen und Antikörpern, aber auch direkt durch Lipid A in Abwesenheit von Antikörpern.

Der alternative Weg wird durch die O-Polysaccharid Seitenkette direkt aktiviert. Es erfolgt dadurch die Bildung der Anaphylatoxine C3a und C5a, die eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität, eine Vasodilatation und eine vermehrte Synthese des Plättchen aktivierenden Faktors (PAF) bewirken. Ebenso wirken sie chemotaktisch und aktivierend auf neutrophile Granulozyten [104]. Durch den Komplementkomplex, der sich aus den Faktoren C5b, C6, C7, C8 und C9 zusammensetzt, wird die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche von Endothelzellen induziert. Ebenso wird die Freisetzung von Zytokinen, Proteasen und Enzymen aus Endothelzellen und Neutrophilen bewirkt. Anaphylatoxin C5a und der Komplementkomplex stimulieren die Expression des o.g. TF auf Monozyten und Endothelzellen [48].

Durch die Aktivierung des intrinsischen Gerinnungssystems über den Kontakt des Faktors XII mit LPS kommt es zur Bildung von Kallikrein aus Präkallikrein. Kallikrein bewirkt die Freisetzung von Bradykinin aus Kininogen. Bradykinin wirkt vasodilatierend und steigert die Gefäßpermeabilität. Durch Kallikrein wird Prorenin zu Renin, welches mittels des Angiotensinsystems eine Vasokonstriktion bewirkt. Kallikrein bewirkt zusammen mit dem Faktor XIIa die Bildung von Plasmin aus Plasminogen, die Aktivierung des klassischen Weges des Komplementsystems durch Reaktion mit der ersten Komponente und die Aggregation und Degranulation von neutrophilen Granulozyten. Kallikrein wirkt außerdem chemotaktisch [104, 48].

Neben dem Gerinnungs-, Komplement- und Enzymsystemen werden im Rahmen der systemischen Entzündungsreaktion auch andere Blutzellen, wie z.B. Monozyten oder neutrophile Granulozyten, beeinflusst. Polymorphkernige Neutrophile (PMN) werden entweder direkt durch LPS oder indirekt durch die Aktivität der Zytokine aktiviert. PMN setzen lysosomale Enzyme und freie Sauerstoffradikale frei, wodurch

es zu Schäden des Gefäßendothels, der Mitochondrien und des Kollagens kommen kann [9]. Weitere Folgen können intravaskuläre Hämolyse, Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur oder Erythrozytenschäden sein. Ebenso wird die Wirkung alpha-adrenerger Agonisten an der glatten Muskulatur gesteigert. Durch Aggregation können die polymorphkernigen Zellen Mikroembolien verursachen [104, 9].

Die Aktivierung der o.g. Zellen dient auch der Produktion von Entzündungsmediatoren. Monozyten produzieren den größten Teil an TNF- α . Ebenso wie IL-1 kann TNF- α verschiedene Zellen wie z.B. Monozyten, PMN, B- und T-Lymphozyten oder Hepatozyten aktivieren, die Adhärenz an Endothelzellen steigern, die Bildung von IL-6, 8 induzieren oder pyrogen wirken. Die Produktion von TNF- α und IL-1 beginnt bereits innerhalb der ersten Stunde nach LPS-Kontakt [5, 104].

IL-6 ist ebenfalls ein wichtiger Entzündungsmediator, der auch pyrogen wirkt. Es bewirkt die Differenzierung der B-Zellen und somit die Antikörperproduktion. Die Produktion der Akute-Phase-Proteine in der Leber wird gesteigert [104]. IL-1 und IL-6 aktivieren T-Zellen, die dann Interferon, IL-2, IL-4 und den granulozytenstimulierenden Faktor produzieren [9]. IL-6 fördert die PMN Aktivierung und Akkumulation. IL-8 wirkt chemotaktisch auf Neutrophile und Lymphozyten. Es inhibiert die Adhäsion der Leukozyten an das Endothel. Die Endothelzellen dienen einerseits als Zielzellen der Entzündungsmediatoren, andererseits als Produzent wichtiger aktiver Mediatoren. Sie können dazu durch den Komplex aus löslichem CD-14 und LPS-LPB aktiviert werden.

Es folgt z.B. die Produktion von PAF, NO durch die NO-Synthase und Endothelin-1. NO relaxiert die glatte Muskulatur und verhindert die Thrombozytenaggregation, wohingegen Endothelin als Vasokonstriktor wirkt. Durch TNF- α und IL-1 wird die Expression von Adhäsionsmolekülen auf den Endothelzellen gesteigert, wodurch die PMN-Margination erleichtert wird. Ebenso erhöhen TNF- α und IL-1 die prokoagulatorische Aktivität der Endothelzellen und bewirken eine Unterdrückung der fibrinolytischen Aktivität, was eine Steigerung der intravasalen Gerinnung zur Folge hat [5, 104].

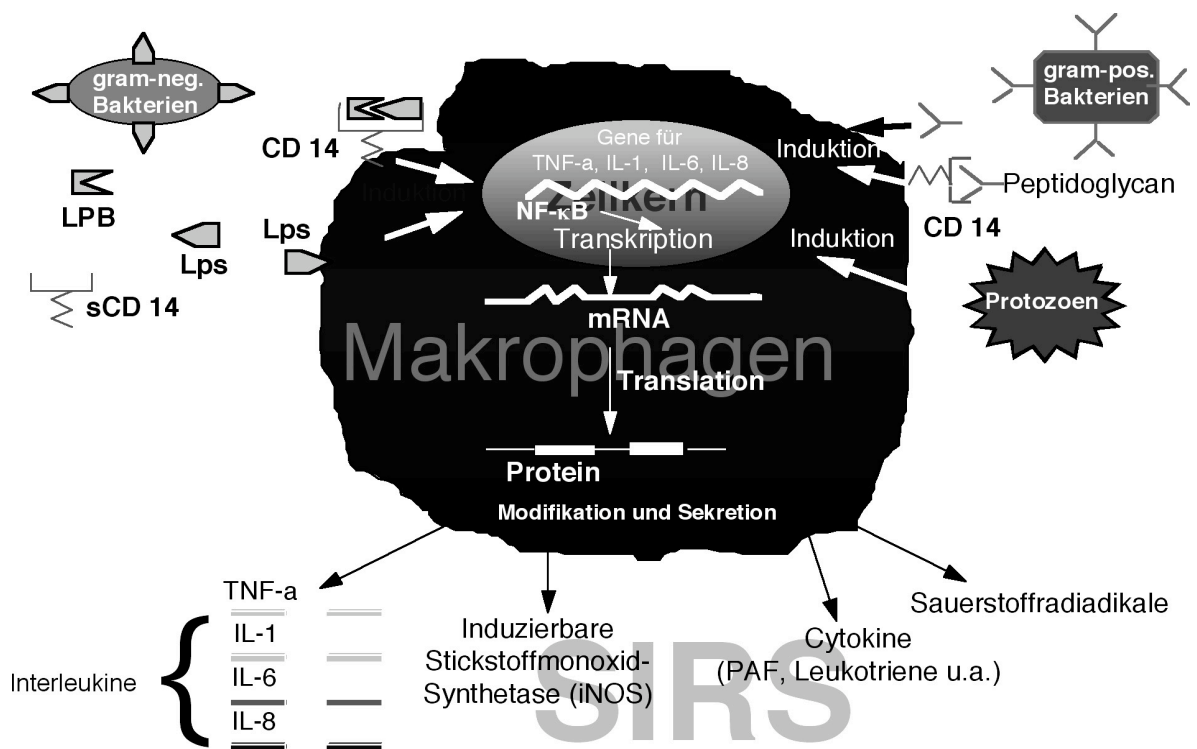


Abbildung 2: systemische Entzündungsreaktionen

1.4 Physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Stickstoffmonoxid

1987 wurde die Identität von Stickstoffmonoxid (NO) als 'endothelium derived relaxing factor' (EDRF) durch zwei unabhängige Arbeitsgruppen belegt [33, 67].

NO ist ein wichtiger endogener Vasodilatator, Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem und dient u.a. der Abwehr von Bakterien und Tumorzellen. Ebenso ist NO ein entscheidender Faktor in der Pathogenese der zytotoxischen Vorgänge und hämodynamischen Veränderungen im septischen Schock. Stickstoffmonoxid ist ein wasserlösliches, farbloses Gas. Die Halbwertszeit beträgt in Lösung ca. drei Sekunden, da NO schnell mit Superoxidanionen, Hämoglobin, Metallionen, Sulfhydrylgruppen in Aminosäuren oder Proteinen reagiert [4]. Als inaktive, stabile Endprodukte dieser Reaktionen entstehen Nitrit und Nitrat. NO wird mittels eines Enzyms, der sog. NO-Synthase (NOS), aus der Guanidinogruppe der Aminosäure L-Arginin gebildet.

Von dieser NO-Synthase existieren drei Isoformen: endothel cell-NOS (ecNOS), brain-NOS (bNOS) und die induzierbare Form (iNOS). Die NO-Synthasen beinhalten vier prosthetische Gruppen: Flavinadenindinukleotid, Flavinmononukleotid, Tetrahydrobiopterin (BH₄) und Eisen-Protoporphyrin IX, einen Häm-Komplex. Als Kofaktoren benötigen die NO-Synthasen NADPH und BH₄ [89]. Physiologischerweise wird NO durch die zwei konstitutiven Synthasen ecNOS und bNOS synthetisiert.

Die ecNOS ist ein Monomer mit einem Molekulargewicht von 133 Kilodaltons und ist an die Zellmembran gebunden. Die Endothelzelle reagiert auf physikalische oder chemische Stimuli, wie z.B. Stress oder Hypoxie, mit einer Freisetzung von NO in kleinen Mengen über einen kurzen Zeitraum (im Picomol-Bereich) [4]. Da die ecNOS ebenso wie die bNOS Kalzium- und Kalmodulin-abhängig ist, können verschiedene Mediatoren, wie z.B. Azetylcholin, Adenosintriphosphat (ATP), Serotonin oder Bradykinin über den Kalziumspiegel eine Stimulation der Synthase bewirken. Ebenso ist der pulsatile Blutfluss ein Stimulator für die endotheliale NO-Produktion [90]. Da NO lipophil ist, kann es leicht Zellmembranen penetrieren, um zur glatten Gefäßmuskelzelle zu gelangen. Dort bindet NO an das zweiwertige Eisen

der hämhaltigen Untereinheit des intrazellulären Enzyms Guanylatcyclase, wodurch dieses aktiviert wird. Dadurch wird die Konversionsrate von Guanosintriphosphat zu zyklischem-3'5'-Guanosinmonophosphat gesteigert. Der cGMP- Anstieg bewirkt eine Erniedrigung der intrazellulären Kalziumkonzentration, wodurch eine Relaxation in glatten Muskelzellen erfolgt. Damit reguliert NO den basalen Tonus der Gefäße. Da die Endothelzellen NO nicht nur in die Gefäßwand abgeben, sondern auch zur luminalen Seite in das fließende Blut, werden auch andere Organsysteme bzw.-bestandteile beeinflusst. NO hemmt so die Thrombozytenaggregation und -adhäsion, aber auch die chemotaktische Wirkung und Adhäsion der polymorphkernigen Leukozyten. Die konstitutiven NOS konnten nicht nur im Gefäßendothel sondern auch in anderen Zellen und Geweben wie z.B. Endo-, Myokard, Nebenniere, Mastzellen, Thrombozyten oder Mesangiumzellen nachgewiesen werden [66].

Die bNOS, die im zentralen und peripheren Nervensystem für die Produktion von NO zuständig ist, ist ein Dimer mit einem Molekulargewicht von 166 Kilodaltons. Das durch diese Synthese freigesetzte NO dient als Neurotransmitter und könnte eine Rolle bei der Nozizeption, bei visueller und olfaktorischer Wahrnehmung und bei der Gedächtnisbildung spielen. Ebenso ist es ein wichtiger Regulator der zerebralen Durchblutung und des neuronalen Stoffwechsels. Auch die neuronale Signaltransduktion wird durch das cGMP/Kalziumsystem reguliert. Exzessive Freisetzung von NO scheint in der Pathogenese zerebraler Erkrankungen, wie z.B. der Epilepsie oder zerebraler Ischämie, eine Bedeutung zu haben [60, 90].

Die induzierbare Form der NO-Synthase kommt unter physiologischen Bedingungen nicht vor. Ihre Bildung wird induziert durch Endotoxine, Zytokine wie TNF- α , Interleukin-1 oder Interferon- γ . Die iNOS ist ein Dimer, welches aus zwei Einheiten NOS mit einem Molekulargewicht von jeweils 131 Kilodaltons besteht. Im Gegensatz zu den o.g. NOS wird die iNOS nicht über den intrazellulären Kalziumspiegel reguliert, benötigt aber ebenso wie die konstitutiven Formen der NOS Kalmodulin, welches sie fest bindet. Die iNOS ist dann nicht mehr auf die Zufuhr von exogenem Kalmodulin angewiesen. Durch diese Synthese werden große Mengen an NO (im Nanomol-Bereich) über einen längeren Zeitraum produziert. Da die Exprimierung des Enzyms durch Induktion geschieht, die den Prozess der

Transkription neuer m-RNA und der Proteinbiosynthese beinhaltet, entfaltet es seine Wirkung erst 4-12 Stunden nach Auftreten des Stimulus [57]. Verschiedene Faktoren, wie z.B. Glukokortikoide, Thrombin, IL-4, -8, -10, -13, sind in der Lage, die Induktion zu hemmen. Nach erfolgter Induktion der NOS haben die o.g. Substanzen keinen weiteren Einfluss mehr auf die NO-Produktion.

Das durch die iNOS produzierte NO vermittelt seine Wirkungen sowohl cGMP-abhängig als auch -unabhängig. Über den cGMP-abhängigen Weg bewirkt NO eine fulminante Vasodilatation. Dahingegen werden zytotoxische Effekte cGMP-unabhängig vermittelt. Zu diesen Effekten zählen die Hemmung der mitochondrialen Schlüsselenzyme, wie z.B. NADH-Ubichinon-Reduktase, Succinat-Dehydrogenase und cis-Aconitase, sowie die DNA-Schädigung durch Hemmung der Ribonukleotid-Reduktase. Weiterhin kann eine DNA-Mutation durch Desaminierung hervorgerufen werden.

NO ist in der Lage, Cytochrom-P450 Enzyme zu hemmen und ADP-Ribosyltransfersasen zu aktivieren, wodurch auch neuro- und zytotoxische Effekte erklärt werden können. Desweiteren entstehen die zytotoxischen Wirkungen des von Makrophagen in der Immunantwort gebildeten NO dadurch, dass ein Teil des NO mit Superoxidanionen zu Peroxynitrit reagiert. Nachfolgend entstehen Hydroxylradikale und Nitrogendioxid. NO kann seine Produktion über einen negativen Feedback-Mechanismus regulieren, indem einerseits die Aktivität der iNOS gehemmt wird und andererseits die mRNA Expression verringert wird.

Die iNOS konnte nicht nur in Makrophagen sondern auch in anderen Zellen, wie z.B. Hepatozyten, Neutrophilen, Fibroblasten, Myo- oder Endokardzellen nachgewiesen werden. Die größte Aktivität der iNOS wurde allerdings in der Lunge beobachtet [90, 66].

Die verschiedenen Faktoren, welche die Induktion der iNOS hervorrufen, bewirken auch die Induktion anderer Enzyme, wie z.B. der GTP-Cyclooxygenase oder der Argininosuccinatsynthetase. Durch die GTP-Cyclooxygenase wird der notwendige Kofaktor BH4 produziert. Die Argininosuccinatsynthetase ist für die Herstellung von L-Arginin aus L-Citrullin verantwortlich. Dadurch steht der iNOS Substrat zur Verfügung. Ebenso bewirken die o.g. Faktoren in einigen Zellen, dass ein

Membrantransportsystem für L-Arginin aus dem Extrazellulärraum angetrieben wird, wodurch der iNOS intrazelluläres L-Arginin bereitgestellt wird [90, 4].

In mehreren Studien wurde gezeigt, dass Endotoxin die Funktion der Gefäße in vivo und in vitro verändert. In Ratten, die Endotoxin erhalten hatten, konnte 60 Minuten später eine verminderte Reaktion auf Noradrenalin nachgewiesen werden, die durch NOS-Inhibitoren reversibel war. Die gleiche Reaktion wurde an isolierten Gefäßen von Ratten festgestellt, wobei erst nach vier Stunden die Induktion von iNOS nachgewiesen werden konnte [25].

Nach LPS-Injektion können aber sofortige Reaktionen wie Hypotension und verminderte Ansprechbarkeit auf Vasokonstriktoren in Ratten und Hunden gezeigt werden, die durch NOS- Inhibitoren reversibel sind [93, 40].

So wurde an Ratten, die eine LPS-Injektion erhalten hatten, fünf Minuten später ein Blutdruckabfall beobachtet, der mehrere Stunden weiter anhielt. Die vasokonstriktorische Antwort auf Noradrenalin war sowohl nach dreißig als auch nach sechzig Minuten vermindert. Durch L-NAME Gabe nach sechzig Minuten stieg der Blutdruck und die vasopressorische Antwort auf Noradrenalin wurde wiederhergestellt [90].

Die Verabreichung von Dexamethason, das die durch LPS hervorgerufene Induktion der iNOS hemmt, konnte in den ersten sechzig Minuten nach LPS-Injektion keine Veränderung der Hypotension erreicht werden. Für Szabo und Mitarbeiter war das der Beweis, dass Hypotension und verminderte Antwort auf Noradrenalin durch eine gesteigerte Freisetzung von NO zustande kommen. In dieser frühen Phase wird NO durch die konstitutive NOS produziert. Eine Stunde nach LPS-Injektion kommt es zu einem Nitrit-Plasmaanstieg. Durch NOS-Inhibitoren kann der sofortige Blutdruckabfall nach LPS Gabe verhindert werden. Als Stimuli für die Freisetzung von NO aus dem Endothel dienen die durch LPS vermittelt gebildeten Mediatoren.

Im Gegensatz zu der Arbeitsgruppe von Szabo gibt es andere Arbeitsgruppen, die gezeigt haben, dass zu den sofortigen Wirkungen von Endotoxin auch eine Verminderung der Endothel abhängigen Vasodilatation zählt. Endotoxin führt zu einer teilweisen Hemmung der konstitutionellen NOS und somit zur Vasoplegie, da zusätzlich eine verminderte Ansprechbarkeit auf Katecholamine besteht [50].

Einige Stunden nach Beginn der Endotoxinämie ist die Bildung der iNOS erfolgt, so dass große Mengen an NO produziert werden, wodurch es zur ausgeprägten Vasodilatation und weiteren o.g. Reaktionen kommt.

1.5 Klinisches Bild der Sepsis

Bei der überwiegenden Anzahl der Patienten ist das klinische Bild der Sepsis gekennzeichnet durch eine hyperdynamische Kreislaufsituation mit einem Abfall des arteriellen Mitteldrucks, einem normalen oder erhöhten Herzzeitvolumen und einem verringerten peripheren Gefäßwiderstand.

An klinischen Symptomen zeigen sich Tachykardie, Tachypnoe, Hypotonie, Fieber und Schüttelfrost oder auch Hypothermie sowie eine warme und trockene Haut. Weiterhin können Bewusstseinstörung, Leukozytose oder Leukopenie, Thrombopenie und Laktatazidose hinzukommen [44, 46]. Oligurie und ein stark erhöhter Volumenbedarf sind häufig ein erstes Zeichen der beginnenden Sepsis. Die sich einstellenden Organfunktionsstörungen betreffen vor allem Lunge, Niere und das zentrale Nervensystem.

Bereits zu diesem Zeitpunkt besteht ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf, das auf Mikrozirkulationsstörungen zurückzuführen ist. Trotz des erhöhten HZV kann der gesteigerte Sauerstoffbedarf der Gewebe wegen einer Maldistribution des Blutflusses nicht gedeckt werden, so dass es zu Gewebeschäden mit Zellhypoxie und Azidose kommt. Nach Endotoxinkontakt wird das Blut umverteilt, so dass es in Herz, Niere, Darm und Leber zu Hypoperfusionen kommen kann.

Im Tierversuch mit Schweinen, die kontinuierlich Endotoxin erhielten, konnte 90 Minuten nach Beginn der Endotoxinzufuhr eine Umverteilung der Durchblutung in Herz und Niere nachgewiesen werden. Es folgte eine Abnahme des

Durchblutungsquotienten von Subendokard und Subepikard, sowie von Nierenkortex und Nierenmark [45]. An der Niere wurde ebenfalls in diesem Modell eine Abnahme der Kreatinin-clearance beobachtet [21].

Die Veränderungen am Myokard konnten unter anderem auch bei Menschen in einem Versuch an gesunden Probanden nachgewiesen werden, die eine i.v. Gabe von Endotoxin erhalten hatten. Nach 45-60 Minuten entwickelten die Probanden Fieber, gefolgt von verschiedenen Symptomen wie Arthralgien, Myalgien, Kopfschmerzen und Übelkeit, die sich in den nachfolgenden 2-3 Stunden voll ausprägten und nach 5-8 Stunden nachließen. Nach drei Stunden waren auch die hämodynamischen Parameter verändert: Der Cardiac Index (CI) und die Herzfrequenz waren erhöht, der peripher-vaskuläre Widerstand erniedrigt. Ebenso war eine Abnahme der Funktion des linken Ventrikels nachweisbar. Diese myokardiale Depression und ventrikuläre Dilatation sind beim septischen Patienten regelmäßig nachweisbar [89].

Charakteristisch ist eine initiale Erniedrigung der Ejektionsfraktion des Herzens innerhalb der ersten 24 Stunden der Sepsis, wobei das Schlagvolumen und das Herzzeitvolumen aufrechterhalten werden. Der mittlere arterielle Blutdruck und die Druck-Volumenarbeit des Ventrikels verringern sich. Es entwickelt sich eine Dilatation des linken Ventrikels, messbar an dem vergrößerten enddiastolischen und endsystolischen Volumen. Diese kardialen Veränderungen sind reversibel und normalisieren sich nach 7-10 Tagen, wenn die Sepsis rückläufig ist.

Nach Beginn der Sepsis ist eine mikrovaskuläre Perfusionstörung nachweisbar. Zu diesen Veränderungen trägt die Vasoplegie bei, die durch die verminderte Ansprechbarkeit auf Katecholamine und einen Verlust der Autoregulation der Gefäße durch Hemmung der konstitutionellen NO-Synthase entsteht [57].

Ebenso bilden sich, durch die verschiedenen Mediatoren stimuliert, Thrombozyten- und Leukozytenaggregate in der Endstrombahn, die zu Mikrothromben führen. Die Entzündungsmediatoren bewirken eine Erhöhung der Gefäßwandpermeabilität, so dass es zur Plasmaexsudation mit Verminderung des Blutvolumens und somit zur Entstehung eines interstitiellen Ödems kommt. Die Lunge ist hiervon häufig am stärksten betroffen. Es kann zur Ausbildung eines Lungenödems oder aber auch eines ARDS kommen [101].

Bis zu 25% der Patienten entwickeln in der Sepsis ein ARDS ('adult respiratory distress syndrome'), welches eine Mortalität von 50% zeigt [101]. Intravasal finden sich Aggregationen neutrophiler Granulozyten sowie hyaline Mikrothromben, die aus Thrombozyten und Fibrinpolymeren bestehen, wodurch es zu Störung der Mikrozirkulation kommt. Diese Störung bewirkt zusammen mit der Mediatoraktivierung eine Schädigung des Endothels, die zu der o.g. Erhöhung der Permeabilität des Gefäßendothels und des Alveolarepithels führt. Folge ist ein interstitielles und proteinreiches alveoläres Lungenödem. Weiterhin treten Nekrosen der Typ I-Pneumozyten und der Kapillarendothelzellen auf. Die Surfactantsynthese ist durch das interstitielle und alveoläre Ödem aber auch besonders durch die Epithelnekrosen gestört, so dass es zur Atelektasenbildung kommt. Im weiteren Verlauf zeigt sich ein fibrinreiches Lungenödem, wobei die Alveolarsepten mit hyalinen Membranen ausgekleidet sind, die sich aus Fibrinpolymeren und nekrobiotischen Zellresten zusammensetzen. Aus diesem Zustand kann sich eine Lungenfibrose entwickeln.

In der Sepsis kommt es zu einer sympathikoadrenergen Stimulation, die im Splanchnikusgebiet eine relativ früh einsetzende Reduzierung der Durchblutung bewirkt, da dort eine hohe α -Rezeptordichte besteht. Durch diese Hypoperfusion wird die Darmmukosa geschädigt, wodurch sie vermehrt durchlässig wird. Damit verringert sich die physiologische Barrierefunktion der Mukosa, die den Übertritt von Bakterien und deren Toxinen in die systemische Zirkulation verhindert. Die Bakterien können nun durch diese geschädigte Mukosa in intestinale Lymphbahnen und über die Pfortader in die Leber gelangen, so dass das septische Krankheitsbild weiter unterhalten wird [22].

Die Sauerstoffextraktion der Gewebe ist in der Sepsis vermindert. Der Sauerstoffstatus im septischen Schock zeigt einen erhöhten Sauerstofftransport (DO_2) und eine normale oder erhöhte Sauerstoffaufnahme (VO_2), wobei die Sauerstoffextraktionsrate (O_2ER) erniedrigt ist, da DO_2 stärker zunimmt als VO_2 . Als weitere mögliche Ursachen für die verringerte Sauerstoffextraktion werden die Eröffnung funktioneller arteriovenöser Shunts, die zu Mikrozirkulationsstörungen und so zu einer Sauerstoffminderversorgung der Gewebe führt, sowie eine Erhöhung

der Sauerstoffaffinität für Hämoglobin und eine Verwertungsstörung für Sauerstoff aufgrund einer Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung diskutiert.

Durch den entstandenen Endothelschaden kann eine sog. disseminierte intravasale Gerinnung ausgelöst werden, wodurch es u.a. zur Bildung zahlreicher Mikrothromben in der Endstrombahn kommt.

Nach Aktivierung der Gerinnungskaskade durch den Endothelschaden und die verschiedenen o.g. Mediatoren bilden sich Mikrothromben aus Fibrin und Plättchenaggregaten, die auch 'hyaline Thromben' genannt werden. Die Bildung dieser Thromben verbraucht Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten in so großer Menge, dass sich eine Verbrauchskoagulopathie entwickelt. Daraus entsteht eine generalisierte Blutungsneigung, eine hämorrhagische Diathese. Parallel zur Aktivierung der Gerinnungskaskade wird die Blutungsneigung durch die Aktivierung der Fibrinolyse verstärkt, indem Fibrin- und Fibriongenspaltprodukte freigesetzt werden, welche die Blutgerinnung hemmen. Besonders betroffen von diesem Zustand der Hyperkoagulation und Blutungsneigung sind Gehirn, Lunge, Herz, Leber, Nieren und Nebennieren [6].

Beispielsweise können Mikroinfarkte in der Niere auftreten, wodurch sich dort ein akutes Nierenversagen und Nebennierenblutungen entwickeln können. Ebenso kann ein Lungenödem entstehen. Es zeigen sich Blutungen in Haut, Schleimhaut und parenchymatösen Organen. Als Folgen der Hypoperfusion und Ischämie können Gewebsnekrosen auftreten.

Bei wenigen septischen Patienten kann ein hypodynamer septischer Schock vorliegen. Geht ein hyperdynamer sepsischer Schock in das hypodynamische Stadium über, so zeigt dies eine deutliche Verschlechterung des Krankheitsbildes an. Das HZV ist erniedrigt, der periphere Gefäßwiderstand erhöht, die Hypotonie besteht trotz Volumentherapie und Katecholamingabe weiter.

Es kann sich ein Multiorganversagen ausbilden mit einer deutlichen Verschlechterung der Prognose: Die Mortalität steigt von 40-60% im frühen Stadium des Multiorganversagens bis auf 90-100% im späten Stadium an.

(Der Begriff Multiorganversagen wurde ersetzt durch den Begriff des 'Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS)' und bedeutet laut Definition der

ACCP/SCCM Konsensuskonferenz, dass das Auftreten von Organfunktionsstörungen bei einem akut Kranken die Intervention zur Aufrechterhaltung der Homöostase erforderlich macht.)

Häufig betroffen sind Lunge, ZNS, Niere und Leber.

Bewusstseinsstörungen, die bis zur Somnolenz oder sogar zum Koma reichen können, sind das Korrelat der septischen Enzephalopathie. Als Ursache wird die Bildung falscher Neurotransmitter diskutiert, die durch Aufnahme aromatischer Aminosäuren ins Gehirn entstehen. Die aromatischen Aminosäuren fallen vermehrt an, da sie von der Leber nicht mehr ausreichend verstoffwechselt werden. Im Gegensatz dazu sind die verzweigtkettigen Aminosäuren vermindert, da sie zur Energiegewinnung benötigt werden. Diese Aminosäuren (AS) verhindern normalerweise die Aufnahme der aromatischen AS ins Gehirn, was nun nicht mehr ausreichend möglich ist.

Wie o.g. entwickeln 25% der septischen Patienten ein ARDS mit einer Mortalität von über 50%.

Das akute Nierenversagen geht ebenfalls einher mit einer Mortalität von über 50%.

Verschiedene Mechanismen liegen dem Nierenversagen zugrunde. In den Tubuli bilden sich Nekrosen und hyaline Mikrothromben. Endotoxin induziert eine renale Vasokonstriktion, welche die Durchblutung neben der bestehenden Umverteilung des Blutflusses noch zusätzlich verschlechtert.

Die Leberbeteiligung ist durch einen Anstieg der Transaminasen und eine intrahepatische Cholestase gekennzeichnet, wodurch ein Ikterus entsteht. Die Abnahme des intrahepatischen Blutflusses und die sich daraus ergebende Hypoxie bewirken z.B. eine unzureichende β -Oxidation der Fettsäuren, so dass sich eine Leberparenchymverfettung mit möglichen nachfolgenden Leberparenchymnekrosen entwickelt.

1.6 Therapiemöglichkeiten bei Sepsis

1.6.1 Konventionelle Therapieverfahren

Die konventionelle Therapie der Sepsis besteht aus der Eradikation des Infektionsherdes, der Antibiotikatherapie und der symptomatischen Therapie mit Volumensubstitution und Gabe von Katecholaminen. Ziel ist die Bekämpfung der Infektion und die Normalisierung der hämodynamischen Veränderungen wie Hypotension, kardiovaskuläre Dysfunktion und Gewebehypoperfusion.

Da in einer großen retrospektiven Studie gezeigt wurde, dass refraktäre Hypotension eine Hauptursache der frühen Todesfälle im septischen Schock darstellt, ist die Behandlung der Hypotension ein wichtiges Therapieziel [80]. Wird durch Volumensubstitution keine ausreichende Erhöhung des Blutdrucks erreicht, werden Katecholamine, wie z.B. Dopamin oder Dobutamin, eingesetzt. Bei Gabe von Dobutamin wird neben der Blutdrucksteigerung ein stärkerer Anstieg der Sauerstoffaufnahme erzielt. Ist mit niedrigen oder mittleren Dosen von Dopamin oder Dobutamin keine Normalisierung des Blutdrucks zu erreichen, wird zusätzlich Adrenalin oder Noradrenalin infundiert, um den mittleren arteriellen Blutdruck auf 60 mmHg anzuheben.

In großen retrospektiven Studien wurde nachgewiesen, dass sich durch einen frühzeitigen Beginn der Antibiotikatherapie die Chancen des Patienten in Sepsis signifikant verbessern, und dass das Auftreten des septischen Schocks um die Hälfte reduziert wird. Wichtig ist die Identifizierung des Erregers mittels Blutkulturen [104, 69].

1.6.2 NO-Synthase-Inhibitoren

Da in zahlreichen Studien die Bedeutung von Stickstoffmonoxid in der Sepsis besonders in den hämodynamischen Veränderungen gezeigt wurde, beschäftigen sich viele Arbeitsgruppen mit der Hemmung der NO-Synthese.

Die NO-Synthase, die aus L-Arginin NO bildet, ist substratspezifisch. Etliche Analoga des L-Arginins wie z.B. das D-Enantiomer von Arginin, stellen daher keine Substrate der NO-Synthase dar. Deshalb kann die NO-Synthase durch L-Arginin Analoga stereospezifisch und kompetitiv inhibiert werden, wobei sowohl die konstitutionelle als auch die induzierbare NO-Synthase gehemmt werden [61].

Hibbs et al. beschrieb 1987 erstmals N^G-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) [30]. Er fand L-NMMA als Inhibitor der Zytotoxizität von Tumorzellen und der Nitrit und Citrullin-Biosynthese in aktivierten Makrophagen. Palmer zeigte dann, dass L-NMMA die Freisetzung von NO aus Endothelzellen und die endothelzellabhängige Relaxation durch Azetylcholin inhibiert. Da ebenso die Citrullin-Synthese aus L-Arginin gehemmt wurde, sah Palmer seine Annahme, dass Citrullin Koproduct der NO-Synthase ist, bestätigt [66].

In isolierten Aortenringen von Kaninchen bewirkt L-NMMA eine endothelabhängige Konstriktion. Dieses führte zu der Annahme, dass in diesem Gewebe NO kontinuierlich freigesetzt wird. Alle Effekte des L-NMMA sind reversibel durch die Gabe von L-Arginin.

Durch in vivo Versuche wurde die Wirkung von L-NMMA bestätigt.

Die i.v. Gabe von L-NMMA in anästhesierten Kaninchen zeigte einen Blutdruckanstieg, der durch L-Arginin nicht aber durch D-Arginin reversibel war. Ebenso wurden die Freisetzung von NO blockiert. Bei Ratten war neben dem Blutdruckanstieg durch L-NMMA eine Abnahme der glomerulären Filtrationsrate und des Gefäßwiderstandes in Niere, Mesenterium und den Karotiden zu beobachten [80].

Die intravenöse Injektion von L-NMMA in die Arteria brachialis gesunder Probanden führte zu einer Abnahme des regionalen Blutflusses um 50%. Weiterhin kam es zu einer Abschwächung der Vasodilatation durch infundiertes Azetylcholin,

nicht aber durch Glycerintrinitrat. Eine direkte Vasokonstriktion war in den arteriellen Gefäßen stärker vorhanden als in den venösen. Diese Ergebnisse führten ebenfalls zu der Annahme, dass im arteriellen Gefäßsystem eine kontinuierliche NO-Freisetzung besteht [98].

Neben L-NMMA wurden andere L-Arginin Analoga entdeckt, die alle in der Lage sind, die NO-Synthase zu hemmen. Die NO-Synthaseinhibitoren unterscheiden sich in Aufnahme, Verteilung, Verstoffwechslung und Potenz. L-NIO z.B. ist fünf mal potenter als die übrigen Analoga [77]. Die Inhibierungspotenz in Endothelzellen nimmt von L-NNA über L-NAME bis zu L-NMMA kontinuierlich ab. In Makrophagen hingegen ist dieses Verhältnis genau entgegengesetzt. Einige NO-Synthaseinhibitoren, wie z.B. N^G-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) oder L-NMMA, sind auch oral verabreicht aktiv [23]. Im Gegensatz zu L-NNA ist L-NAME in der Lage, leicht intrazelluläre Kompartimente zu erreichen [4, 80].

In zahlreichen Tierexperimenten wurde durch die Anwendung der NO-Synthaseinhibitoren bei Sepsis eine Normalisierung der Vasodilatation sowie eine Wiederherstellung der reduzierten Antwort auf Katecholamine, wie z.B. Noradrenalin, festgestellt.

Die kontinuierliche Gabe von Endotoxin erzeugt in Schafen eine hyperdynamische Kreislaufsituation, die der des menschlichen Organismus in Sepsis sehr ähnlich ist. Die Schafe weisen ein erhöhtes Herzzeitvolumen, einen verringerten systemvaskulären Widerstand und eine Erniedrigung des mittleren arteriellen Blutdrucks auf [58]. Durch die Gabe von L-NAME (25 mg/kg) normalisierten sich die hämodynamischen Veränderungen, obwohl die Endotoxininfusion fortgesetzt wurde. Durch die Reduktion des Herzzeitvolumens erfolgte auch eine Reduktion des Sauerstoffangebots, was aber nicht zu einer Verminderung des Sauerstoffverbrauchs führte [58]. Daraus wurde geschlossen, dass L-NAME eine Verringerung des Blutflusses in Geweben mit geringer metabolischer Aktivität verursacht hat. Nach 24 Stunden Endotoxininfusion wurde im gleichen Modell eine Erhöhung des Blutflusses in Gehirn, Herz, Leber, Niere und Darmtrakt beobachtet. Durch L-NAME wurde der Blutfluss auf Normalniveau reduziert. Organschädigungen durch L-NAME waren hierbei nicht zu beobachten, obwohl negativ inotrope Effekte auf das Myokard nicht

auszuschließen sind. Diese Untersuchungen zeigen die große Bedeutung von NO in der Sepsis und eröffnen eventuell eine neue Form der Therapie der hämodynamischen Veränderungen [58, 59].

Neben den positiven Effekten der NO-Synthaseinhibition sind aber auch mehrere negative Folgen beschrieben worden. So wurde z.B. eine erhöhte Schädigung von Leber, Gastrointestinaltrakt und Niere beschrieben, wenn Synthaseinhibitoren während der Endotoxinämie verabreicht wurden, die auf einer Organhypoperfusion und einem vermehrten Auftreten von Thrombosen beruhen [88].

Da die NO-Freisetzung aus aktivierten Makrophagen eine Bedeutung in der Abwehr von Bakterien zu haben scheint, spielt die NO-Synthaseinhibition möglicherweise eine Rolle in der Immunantwort. Bei Ratten, denen lebende E.coli Bakterien intraperitoneal injiziert wurden, wurde eine höhere Überlebensrate festgestellt, wenn sie L-NMMA und Imipinem/Cilastin nicht einzeln sondern in Kombination erhielten. Dieses Ergebnis weist auf einen möglichen Effekt der NO-Inhibition auf die Immunantwort hin [91].

Die Auswirkungen der Synthaseinhibition hängen entscheidend von der Konzentration des verabreichten Inhibitors ab. Bei Injektion hoher Dosen L-NMMA (300 mg/kg) in endotoxämische Ratten wurde ein initialer Blutdruckanstieg gefolgt von einem drastischen Abfall beobachtet, durch den alle Versuchstiere starben. Dieselbe Reaktion wurde nach Gabe hoher Dosen L-NMMA (300 mg/kg) in Kaninchen beobachtet [102].

Ebenso wie die Dosierung ist der Zeitpunkt der Gabe der Inhibitoren von Bedeutung. Die Injektion von L-NMMA in anästhesierten Kaninchen 30 min. vor der Endotoxingabe bewirkte eine Verstärkung der Vasokonstriktion, die durch Endotoxin induziert wurde, und erhöhte die Mortalität. Diese konnte durch gleichzeitige Gabe von S-Nitroso-N-Acetyl-Penicillamin, einem NO-Donor, gesenkt werden [102].

Die Ergebnisse zeigen, dass die prophylaktische Hemmung der konstitutionellen NO-Synthase in der Frühphase der Sepsis evtl. schädlich ist.

Die Behandlung von Patienten im septischen Schock mit NO-Synthaseinhibitoren ist noch in Erprobung.

Petros et al. beschrieb 1991 erstmalig die Gabe von NO-Synthaseinhibitoren im therapierefraktären septischen Schock [71]. Der erste Patient erhielt L-NMMA in einer Dosierung von 0,3-1,0 mg/kg als Bolusinjektion und reagierte mit einem Anstieg des Blutdrucks und systemvaskulären Widerstandes. Die vorher notwendige Noradrenalininfusion konnte beendet werden. Da die Boluseffekte nur von kurzer Dauer waren, bekam der zweite Patient einen L-NAME Bolus von 0,15 mg/kg gefolgt von einer L-NAME-Infusion von 5 µg/kg/min. Durch die Bolusinjektion stieg der Blutdruck an, und durch die kontinuierliche Infusion konnte die Noradrenalininfusion in den nächsten 48 Stunden abgestellt werden. Die L-NAME-Infusion wurde dann ebenfalls beendet und die hämodynamischen Parameter blieben weiter im Normbereich. Während der erste Patient von der Intensivstation verlegt werden konnte, erlitt der zweite Patient einen Rückfall und verstarb zwei Tage später im Multiorganversagen [71].

Schilling et al. behandelten einen septischen Patienten, der sich seit vier Wochen in therapierefraktärer Hypotension befand, mit L-NMMA. Eine Bolusinjektion von L-NMMA bewirkte einen Anstieg des MAP sowie eine Reduktion des HZV. Die Wirkung des Synthaseinhibitors war allerdings nur von kurzer Dauer, so dass mehrere Gaben notwendig waren. Nach vier Boli konnte die Noradrenalininfusion um die Hälfte reduziert und nach 24 Stunden ganz abgestellt werden. Nach einem Rückfall stabilisierte sich der Patient durch wiederholte Gaben von L-NMMA-Boli, so dass nach sechs Tagen die zuvor wieder notwendig gewordene Katecholamintherapie beendet werden konnte [84].

Petros et al. untersuchten in einer randomisierten Doppelblindstudie die Wirkungen von L-NMMA bei 12 Patienten mit schwerer Sepsis. L-NMMA wurde in den Konzentrationen 0,3 und 1 mg/kg verabreicht und führte zu einem dosisabhängigen Anstieg des MAP, des system-vaskulären Widerstandes, des pulmonalem Gefäßwiderstandes, des ZVD, des pulmonalarteriellen Verschlussdruckes und zu einem Abfall des HZV und der Herzfrequenz. Die kontinuierliche Infusion von L-NMMA bewirkte anhaltende hämodynamische Veränderungen. In der Gruppe der Patienten, die L-NMMA erhalten hatten, überlebten zwei von fünf Patienten die 28-

tägige Studie, während in der Kontrollgruppe einer von sechs Patienten überlebte [72].

Kiehl et al. untersuchten bei zehn Patienten im septischen Schock die Wirkung von L-NAME. Die Patienten erhielten eine kontinuierliche Infusion von L-NAME in einer Dosierung von 0,3 mg/kg/h über einen Zeitraum von 24 bis zu 96 Stunden. Während der ersten 24 Stunden konnte ein Anstieg des MAP, des SVR und des LVSWI beobachtet werden. Ebenso war eine Reduzierung des Katecholaminverbrauchs festzustellen. Bei fünf Patienten, bei denen sich die Ansprechbarkeit für Katecholamine wieder erhöht hatte, konnte die L-NAME-Infusion reduziert werden. Zwei der zehn Patienten überlebten den septischen Schock [39].

Grover et al. führten eine Studie mit 32 Patienten mit septischen Schock auf zehn Intensivstationen in Europa und den USA durch, um die Wirkungen des NO-Synthaseinhibitors N^G-methyl-L-arginin-hydrochlorid zu testen und eine Dosierung zu finden, bei welcher sich der MAP über 70 mmHg befindet. Die Patienten erhielten N^G-methyl-L-arginin-hydrochlorid in Dosierungen von 1, 2,5, 5, 10 oder 20 mg/kg/h über einen Zeitraum von acht Stunden. Währenddessen wurde die Katecholamintherapie auf Noradrenalin und/oder Dobutamin beschränkt. Während der Infusion des NO-Synthaseinhibitors konnte in allen Gruppen eine Reduzierung der Katecholamine bis zu 80% erreicht werden. Der MAP blieb über 70 mmHg [27]. Leider konnte in einer anschließenden Multicenterstudie kein Überlebensvorteil durch die Gabe von L-NMMA bei septischen Patienten gezeigt werden [26].

Die experimentellen Ergebnisse zeigen, dass NO-Synthaseinhibitoren im menschlichen Organismus zu einem Anstieg des MAP und des systemvaskulären Widerstands führen, wodurch eine Reduktion der Katecholamingabe erreicht werden kann. Die Inhibierung der NO-Synthase scheint aber nur in Patienten mit hyperdynamen Kreislaufverhältnissen sinnvoll, wenn die Hypotension trotz konventioneller Maßnahmen bestehen bleibt. Da eine Erniedrigung des HZV und der Herzfrequenz sowie eine Erhöhung des pulmonalarteriellen Widerstandes beobachtet wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die Verabreichung im hypodynamen septischen Patienten zu einer Verschlechterung des Zustandes führte.

Nachdem die erste Phase III-Multicenter-Studie zum Einsatz von NO-Synthaseinhibitoren in der Sepsis negative Ergebnisse zeigte, ist der baldige Einsatz von NO-Synthaseinhibitoren zur Behandlung des septischen Schocks fraglich.

1.6.3 NO-Scavenger

Die Bindung (Scavenging) des in der Sepsis verstärkt produzierten NO stellt eine weitere Möglichkeit der Therapie der Sepsis dar und wird seit einiger Zeit erforscht [7, 37, 79].

Schon vor über 100 Jahren wurde beschrieben, dass Hämoglobin NO mit hoher Affinität bindet [29]. NO bindet hierbei an die Häm-Gruppe des Hämoglobins. Dabei wird NO zu Nitrit oxidiert und Hämoglobin zu Methämoglobin reduziert. Neben dieser quantitativ wichtigsten und schnellen Reaktion gibt es auch noch andere Möglichkeiten der Reaktion zwischen NO und Hämoglobin. Bei der Reaktion von NO mit der deoxygenierten Form von Ferrohämoglobin, Deoxyhämoglobin, entsteht Nitrosohämoglobin. Die Reaktion von NO mit Methämoglobin ist leicht reversibel, schwach und langsam. Durch die Bindung von NO mit leicht reaktiven SH-Gruppen der β -Ketten der Hämoglobinmoleküle (Cys β 93) entsteht Nitrosylhämoglobin [35, 100, 2]. NO diffundiert nur in geringem Maße durch die Erythrozytenmembran und bindet an das intrazelluläre Hämoglobin. Freies Hämoglobin jedoch diffundiert aus den Gefäßen in den subendothelialen Spalt und bindet dort das von der iNOS produzierte NO [2, 86].

Unmodifiziertes freies Hb ist toxisch und führt u.a. zu Nierenschäden durch die beim Abbau des Hämoglobinmoleküls entstehenden $\alpha\beta$ -Dimere. Es hat eine kurze intravasale Verweildauer und eine hohe Sauerstoffaffinität. Aus diesem Grund werden als NO-Scavenger Hämoglobinlösungen aus Rinderhämoglobin, rekombinantem Humanhämoglobin oder chemisch modifiziertem Hämoglobin

verwendet, die durch Pyridoxilierung, Polymerisierung oder z.B. cross-linking modifiziert wurden. Als ein modifiziertes Hämoglobin wird z.B. pyridoxyliertes Hämoglobin Polyethylenkonjugat (PHP) verwendet. Dieses wird durch chemische Modifikation aus veralteten menschlichen Erythrozytenkonzentraten synthetisiert. Durch die Pyridoxilierung mit Pyridoxal-5'-phosphat wird die Sauerstoffaffinität gesenkt. Die Konjugierung mit Polyoxyethylen bewirkt eine Vergrößerung des Molekulargewichtes und somit eine längere intravasale Verweildauer. PHP hat ein Molekulargewicht von 90000 dalton, einen P_{50} von 20 mmHg, einen kolloidonkotischen Druck von 32 mmHg und eine Osmolalität von 460 mosm [103, 54]. Der Methämoglobingehalt einer PHP-Lösung beträgt 3,5%. Die Plasmahalbwertszeit des PHP hängt von der Dosierung und der Spezies ab. Bei einer Dosierung von 1,0 –1,5 g/kg beträgt die Halbwertszeit bei Ratten 14, bei Kaninchen 21, bei Pavianen 25 und bei Hunden 43 Stunden. [34].

Die Fähigkeit des Hämoglobins zur NO-Bindung wurde in vitro an isolierten Aortenringen demonstriert. Kilbourne et al. behandelten diese mit Endotoxin, so dass NO freigesetzt wurde [41]. Die kontraktile Antwort auf Noradrenalin konnte durch die Zugabe von freiem Hämoglobin gesteigert werden. Ähnliche Ergebnisse wurden an isolierten Aortenringen von Kaninchen demonstriert, die mit modifiziertem menschlichen Hämoglobin behandelt wurden [78]. Ebenso wurde in mehreren Studien in vivo gezeigt, dass durch die Gabe von Hämoglobin der MAP und der PAP ansteigen [53, 28]. Schultz et al. infundierten gesunden Ratten Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb), wodurch der MAP anstieg und die Herzfrequenz abfiel. Eine Reduktion des MAP wurde dann mit einer Infusion von L-Arginin und Nitroglycerin erzielt [85].

Bone et al. testeten erstmals in einer prospektiven Studie an Schafen die Behandlung der Sepsis mit modifiziertem Hämoglobin [8]. Hierbei erhielten die Schafe eine kontinuierliche Infusion von *Pseudomonas aeruginosa*. Es wurde nach ca. 8-12 Stunden eine hyperdynamische Kreislaufsituation induziert, die dem klinischen Bild der Sepsis sehr ähnlich ist. Nach 24 Stunden wurde den Schafen PHP in drei Dosierungen verabreicht. Sie erhielten einen Bolus 50 mg/kg, 100 mg/kg oder 200 mg/kg PHP. Infolge dieser Infusion stieg der mittlere arterielle Blutdruck und der

systemvaskuläre Widerstand an. Die Veränderungen blieben sechs bis zwölf Stunden bestehen, wobei keine Dosisabhängigkeit zu beobachten war. Der pulmonalarterielle Druck stieg durch den durch Hämoglobin verursachten Anstieg des PVRI weiter an, wodurch allerdings kein Lungenödem oder eine Verschlechterung der Sauerstoffsättigung erzeugt wurde. In dieser Studie konnte eine Normalisierung der hyperdynamen Kreislaufsituation durch die Gabe von PHP beobachtet werden.

1.7 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Sepsis zählt immer noch zu den häufigsten Todesursachen auf Intensivstationen [68]. Die Inzidenz und Mortalität ist weiter steigend [73]. Laut Sands et al. weist von 100 Patienten, die in eine Klinik eingeliefert werden, jeder zweite eine klinisch relevante Infektion auf oder erwirbt diese im Rahmen des stationären Aufenthaltes [83]. Die steigende Inzidenz erklärt sich durch die Zunahme invasiver Maßnahmen bei Diagnostik, Therapie und Überwachung des Patienten, wie z.B. die Verwendung intravasaler Verweilkatheter, arterieller Kanülen oder Blasenkateter. Ebenso werden vermehrt immunsupprimierende oder zytotoxische Medikamente verwendet, die Infektionen weiter begünstigen. Ein weiteres Problem ist die steigende Antibiotikeresistenz vieler Erreger, wodurch die Therapie der Sepsis zunehmend erschwert wird. Desweiteren nimmt die Anzahl der Patienten mit multiplen Grunderkrankungen und hohem Lebensalter stetig zu [87].

Durch konventionelle Therapieverfahren konnte bislang weder die Mortalität noch die Inzidenz gesenkt werden, so dass die Suche nach innovativen Therapien notwendig ist [68, 52].

Sepsis ist eine generalisierte, inflammatorische Reaktion auf eine Invasion von Mikroorganismen und mündet letztendlich im Multiorganversagen. Eine wichtige

Rolle in der sog. Sepsiskaskade spielt das Stickstoffmonoxid, wodurch eine systemische Vasodilatation erzeugt wird [10].

In vielen Studien konnte die Wirksamkeit von NO-Synthaseinhibitoren gezeigt werden [96, 70, 94, 1, 24].

In der vorliegenden Studie wurden die hämodynamischen Effekte von NO-Synthaseinhibitoren und NO-Scavengern im endotoxämischen Schaf miteinander verglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Genehmigung des Versuchsvorhabens

Gemäß § 8 Abs.1 des Tierschutzgesetzes wurde das Versuchsvorhaben durch das Regierungspräsidium Münster genehmigt (Tierversuchsnummer G 34/96 und G 54/96).

2.2 Versuchstiere

2.2.1 Anzahl und Art der Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an 16 weiblichen Schafen mit einem Gewicht von 23-45 kg durchgeführt.

Die Schafe stammten von einem Züchter aus der hiesigen Region.

2.2.2 Tierhaltung

Die Schafe wurden bis zum Versuchsbeginn in Gruppen in einem überdachten Freilauf der zentralen tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen-Wilhelms-Universität gehalten.

Während der Versuche befanden sich die Tiere in Metallkäfigen, in denen sie auf einem Metallgitter ca. einen Meter über dem Boden standen, so dass die Exkremente in ein Auffangbecken fallen konnten. Sie hatten zu jeder Zeit des Experiments freien Zugang zu Wasser und Futter. Nach Möglichkeit wurden die Tiere paarweise im Labor gehalten und untersucht.

2.3 Instrumentierung

2.3.1 Narkotisierung der Tiere

Die Schafe erhielten vor dem Wiegen und der anschließenden Instrumentierung eine intramuskuläre Injektion von Ketamin (10-15 mg/kg Ketanest, Parke-Davis GmbH, Berlin) in die Glutealmuskulatur. Zur Aufrechterhaltung der Narkose während der Instrumentierung wurde bei Bedarf Propofol (2 mg/kg Disoprivan, Zeneca AG, Schwetzingen) intravenös injiziert.

2.3.2 Katheterisierung

Die narkotisierten, spontan Raumlufatmenden Schafe wurden zur Instrumentierung auf den Rücken gelagert. Zuerst wurde die Haut im Bereich der Vena jugularis rasiert und desinfiziert.

Die Platzierung der Katheterschleuse (8,5 F Catheter Introducer Set, pvb Medizintechnik GmbH, Kirchseon) erfolgte nach der Seldinger-Technik.

Unter manueller Stauung wurde das Gefäß mit einer Punktionskanüle punktiert und der Seldinger-Draht vorgeschoben. Nach Zurückziehen der Stahlkanüle über den Draht wurde die Punktionsstelle durch einen kleinen Schnitt mit einem Skalpell erweitert, um die Schleuse problemlos in das Gefäß vorschieben zu können. Anschließend wurde der Draht entfernt und die Einführungsschleuse mittels einer Hautnaht befestigt.

Nach Legen des intravenösen Zugangs wurde im Bereich der Arteria femoralis die Haut gereinigt und desinfiziert. Die Katheterisierung erfolgte ebenfalls mittels Seldinger-Technik.

Dazu wurde das Gefäß perkutan mit einer Punktionskanüle punktiert und ein Draht vorgeschoben. Nach Zurückziehen der Kanüle über den Draht wurde der arterielle

Katheter (18 G Leader Cath, Vygon GmbH, Aachen) vorgeschoben, in der Abdominalaorta plaziert und mittels Hautnaht mit drei Stichen befestigt.

2.4 Art der verwendeten Katheter

2.4.1 Pulmonalarterieller Katheter

24 Stunden nach der Instrumentierung wurde der pulmonalarterielle Katheter (7,5 F Edwards Swan Ganz-Catheter, Edwards Critical Care Division, Irvine, USA) über die liegende Einführungsschleuse vorgeschoben.

Die Schafe befanden sich dafür in Rückenlage und wurden narkotisiert.

Zuerst wurden die Anschlüsse des pulmonalarteriellen Katheters mit einem Druckaufnehmer (DTX Druckwandler Kit, Ohmeda GmbH, Erlangen) verbunden und an einen Verstärker angeschlossen. Der Druckaufnehmer wurde abgeglichen und kalibriert.

Nun wurde der pulmonalarterielle Katheter unter kontinuierlicher Beobachtung der Druckkurve auf dem Monitor langsam durch die Schleuse vorgeschoben. Sobald sich der Ballon in der oberen Hohlvene befand, wurde der Ballon mit 1,5 ml Luft gefüllt, damit er beim weiteren Vorschieben in eine Lungenarterie eingeschwenkt werden konnte und die Herzwand vor der harten Katheterspitze geschützt wurde.

Der pulmonalarterielle Katheter wurde nun durch den rechten Vorhof über die Trikuspidalklappe und den rechten Ventrikel über die Pulmonalklappe in die Arteria pulmonalis vorgeschoben, wobei die Lage des Katheters jederzeit durch die typischen Druckkurven auf dem Monitor festzustellen war. Bei Erscheinen der Wedge-Kurve wurde der Ballon entblockt und die Pulmonalarterienkurve sichtbar.

Der Katheter wurde dann mittels Leinenfäden auf dem Rücken des Tieres im Fell befestigt.

2.4.2 Arterieller Zugang

Der arterielle Katheter wurde an ein Spülsystem (10 i.E. Heparin Na/1 ml NaCl 0,9%) angeschlossen, mit einem Druckaufnehmer verbunden und das System an einen Verstärker angeschlossen. Der Druckaufnehmer wurde abgeglichen und kalibriert.

Die Druckaufnehmer wandeln die mechanische in elektrische Energie um; z.B. wird der Druck in der Arterie, der durch den Auswurf des Blutes aus dem Herzen entsteht, über eine arterielle Kanüle auf die Membran des Druckaufnehmers übertragen, in ein elektrisches Signal umgewandelt und so zum Verstärker geleitet. Dieser nimmt das schwache elektrische Signal des Druckaufnehmers auf und verstärkt es. Danach wird das verstärkte Signal analog als Kurve auf dem Bildschirm aufgezeichnet oder digital als Druckwert in mmHg angezeigt.

So können der systolische, der diastolische Blutdruck sowie der Mitteldruck abgelesen werden.

Die arterielle Druckkurve wurde so kontinuierlich auf dem Monitor angezeigt.

Der arterielle Zugang diente ebenfalls zur Entnahme von Blutproben zur Blutgasanalyse.

2.5 Technische Ausstattung

Zur Überwachung des arteriellen Blutdrucks, des pulmonalarteriellen Drucks und des zentralen Venendrucks wurden die Schafe zu den Untersuchungen an einen Monitor (Hellige Servomed, Hellige GmbH, Freiburg) angeschlossen.

Der HZV-Computer (9520A Cardiac Output Computer, Edwards Laboratories, Santa Anna, CA, USA), der an die Thermistorverbindung des Pulmonalkatheters angeschlossen wurde, diente der Messung des Herzzeitvolumens nach der Thermodilutionsmethode.

Das Herzzeitvolumen wurde aus drei unmittelbar hintereinander gemessenen Werten gemittelt.

Der HZV-Computer zeigte außerdem die Bluttemperatur kontinuierlich an .

Das BGA-Messgerät (ABL 520, Radiometer Kopenhagen AB, Kopenhagen, Dänemark) diente der Auswertung der arteriellen und gemischtvenösen Blutproben zur Beurteilung des pulmonalen Gasaustausches und des Säure-Basen-Haushaltes. Ermittelt wurden die folgenden Messwerte:

Sauerstoffpartialdruck, Kohlendioxidpartialdruck, Hämoglobinkonzentration, Base-Excess, Plasmabikarbonat, Standardbikarbonat, Pufferbasen, Sauerstoffsättigung und pH-Wert.

2.6 Versuchsprotokoll

Nach dem Einschwemmen des Pulmonalkatheters 24 Stunden nach der Instrumentierung wurde eine kontinuierliche Ringer-Laktat-Infusion (2 ml/kg/h) gestartet.

Tiere wurden in die Studie eingeschlossen, wenn sich die Körpertemperatur unter 39,6 Grad Celsius, die Herzfrequenz unter 100 Schläge pro Minute, das Herzzeitvolumen unter 6 l/min. und der pulmonalarterielle Druck unter 20 mmHg befanden.

Ermittelt wurden arterielle und gemischtvenöse Blutgase sowie das Herzzeitvolumen (HZV), der pulmonalarterielle Druck (PAP), der Wedge-Druck (PCWP), der mittlere arterielle Blutdruck (MAP), der zentrale Venendruck (ZVD), die Herzfrequenz und die Körpertemperatur. Wenn diese Voraussetzungen erfüllt waren, wurde eine Baselinemessung durchgeführt.

Um eine hypoton-hyperdynamische Kreislaufsituation der Schafe zu erzielen, wurde eine kontinuierliche Zufuhr von Salmonella typhosa Endotoxin (10 ng/kg typhosa LPS, Sigma Chemicals, Deisenhofen) für die nächsten 28 Stunden begonnen.

Die Ringer-Laktat-Infusion wurde so gesteigert, dass der zentralvenöse Druck und der pulmonalkapilläre Verschlussdruck konstant blieben.

Innerhalb der ersten 24 Stunden der Endotoxinämie verstarben vier Schafe. Die bis dahin erhobenen Daten dieser Tiere wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.

Nach 24 Stunden kontinuierlicher Endotoxin-Zufuhr wurden ein hämodynamischer Status erhoben und Blutgasanalysen durchgeführt.

Die sechs Schafe der L-NAME Gruppe erhielten erneut einen Bolus von 2,5 mg/kg L-NAME, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion von 0,5 mg/kg/h L-NAME über einen Zeitraum von vier Stunden.

Die sechs Schafe der PHP Gruppe erhielten erneut einen Bolus von PHP (100 mg/kg) intravenös injiziert. Anschließend wurde eine kontinuierliche PHP-Infusion (20 mg/kg/h) gestartet.

Zu den Zeitpunkten 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach Start der Infusion wurden in den nächsten vier Stunden bei beiden Gruppen die folgenden Messwerte ermittelt: HZV, PAP, PCWP, ZVD, MAP, Herzfrequenz, Körpertemperatur sowie arterielle und gemischtvenöse Blutgase.

28 Stunden nach Beginn der Endotoxin-Infusion wurde den Schafen hochdosiert Propofol (10 mg/kg) intravenös verabreicht, und sie wurden nach anschließender Injektion einer gesättigten KCl-Lösung (50 ml) getötet.

2.7 Messwerte und abgeleitete Parameter

Aus den direkt gemessenen Werten des zentralvenösen Drucks (ZVD), des pulmonalkapillären Verschlussdrucks (PCWP), des Herzzeitvolumens (HZV) und des pulmonalarteriellen Drucks (PAP) konnten die folgenden hämodynamischen Parameter abgeleitet werden: Cardiac Index (CI), Schlagvolumenindex (SVI), linksventrikulärer Schlagarbeitsindex (LVSWI), rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex (RVSWI), systemvaskulärer Widerstandsindex (SVRI),

pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (PVRI), Sauerstofftransportkapazität (DO_2), Sauerstoffaufnahme (VO_2), Sauerstoffextraktionsrate (O_2ER).

CI	= HZV / KO	[l / min / m ²]
SVI	= CI / HF · 1000	[ml / Schlag / m ²]
LVSWI	= (MAP- PCWP) · SVI (· 0.0136)	[g · m / m ²]
RVSWI	= (PAP- ZVD) · SVI (· 0.0136)	[g · m / m ²]
SVRI	= (MAP- ZVD) / CI · 80	[dyn · sec / cm ⁵ / m ²]
PVRI	= (PAP- PCWP) / CI · 80	[dyn · sec / cm ⁵ / m ²]
DO_2	= CI · Ca O ₂	[ml / min / m ²]
VO_2	= CI · (Ca O ₂ - Cv O ₂)	[ml / min / m ²]
O_2ER	= $\text{VO}_2 / \text{DO}_2 \cdot 100$	[%]

(KO = Körperoberfläche/ HF = Herzfrequenz)

2.8 Statistische Auswertung

Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben.

Das Signifikanzniveau ist auf $p < 0,05$ festgesetzt worden.

Differenzen innerhalb einer Gruppe zwischen einzelnen Zeitpunkten im Vergleich zur Baseline septisch sind mit Varianzanalyse und nachfolgendem Fishers Test auf Signifikanz überprüft worden.

3 Ergebnisse

3.1 Endotoxinämie

Innerhalb der ersten 24 Stunden der Endotoxinämie verstarben vier der sechzehn Schafe. Die bisher erhobenen Daten dieser Tiere wurden in der weiteren Analyse nicht berücksichtigt.

Die übrigen 12 Schafe zeigten 24 Stunden nach der kontinuierlichen Endotoxin-Gabe das Bild des hyperdynamen Initialstadiums der Sepsis mit erniedrigtem mittleren arteriellen Druck von $73,0 \pm 3,0$ mmHg, erhöhtem Herzindex von $10,7 \pm 0,2$ l/min/m² und erniedrigtem systemvaskulären Widerstand. Ebenso war der mittlere pulmonalarterielle Druck erhöht. Dies wurde verursacht durch das erhöhte Herzzeitvolumen und nicht durch einen erhöhten pulmonal-vaskulären Widerstand.

Während der ersten 24 Stunden der Sepsis veränderte sich der arterielle Sauerstoffpartialdruck nicht. Im Gegensatz dazu stieg der gemischt venöse Sauerstoffpartialdruck von $38,2 \pm 2,0$ auf $44,7 \pm 0,7$ mmHg an. Die Sauerstoffextraktionsrate erniedrigte sich während der Endotoxinämie signifikant von $0,44 \pm 0,03$ auf $0,26 \pm 0,01$. Die Sauerstoffaufnahme blieb unverändert. Die Sauerstofftransportkapazität stieg von 887 ± 36 auf 1310 ± 70 ml/min.

Durch die kontinuierliche Ringer-Laktat-Infusion blieben der pulmonalkapilläre Verschlussdruck und der zentralvenöse Druck konstant.

3.2 Hämodynamische Effekte von PHP in endotoxinämischen Schafen

Nach Gabe des PHP-Bolus und Start der kontinuierlichen PHP-Infusion konnte 30 Minuten später ein Anstieg des MAP auf präseptische Baselinewerte beobachtet werden. Der MAP blieb während des gesamten Behandlungszeitraumes auf diesem Niveau. Der Anstieg des MAP ging einher mit einem Abfall der Herzfrequenz und des Herzindex. Herzfrequenz und CI veränderten sich im weiteren Verlauf nicht mehr. Der systemvaskuläre Widerstand stieg nach 30 Minuten leicht an, konnte aber im weiteren Verlauf nicht die präseptischen Werte erreichen.

Der mittlere pulmonalarterielle Druck stieg 30 Minuten nach Beginn der PHP-Infusion an und blieb während der nächsten 240 Minuten erhöht. Der pulmonale Gefäßwiderstand stieg ebenfalls an, allerdings wurden die präseptischen Baselinewerte erst nach 120 Minuten erreicht. Das Sauerstoffangebot (DO_2) war erhöht und zeigte erst nach zwei Stunden eine rückläufige Tendenz. Sowohl die Sauerstoffaufnahme (VO_2) als auch die Sauerstoffextraktionsrate blieb während der vier Stunden der PHP-Infusion praktisch unverändert.

Ebenso zeigten der linksventrikuläre und der rechtsventrikuläre Schlagarbeitsindex keine signifikanten Veränderungen.

3.3 Hämodynamische Effekte von L-NAME in endotoxämischen Schafen

Nach der Bolusgabe und dem Start der Infusion von L-NAME konnte nach 30 Minuten ein Anstieg des MAP auf präseptisches Baseline-Niveau beobachtet werden. Dieser Anstieg des MAP ging einher mit einem Abfall der Herzfrequenz. Der Herzindex sank ebenfalls nach 30 Minuten fast auf präseptische Werte, stieg in den nächsten 120 Minuten allerdings wieder leicht an.

Auch der systemvaskuläre Widerstand stieg unter der L-NAME Infusion deutlich an.

Der pulmonalarterielle Mitteldruck und der pulmonalvaskuläre Widerstand waren nach 30 Minuten erhöht, wobei in den folgenden 180 Minuten keine Veränderung zu beobachten war.

LVSWI und RVSWI wurden durch die L-NAME Infusion nicht signifikant beeinflusst.

Die Sauerstoffaufnahme zeigte keine Veränderung, wobei die Sauerstofftransportkapazität unter der L-NAME Gabe auf Baselinewerte abfiel.

Der Schlagvolumenindex, der in der Endotoxinämie angestiegen war, sank während der L-NAME Infusion.

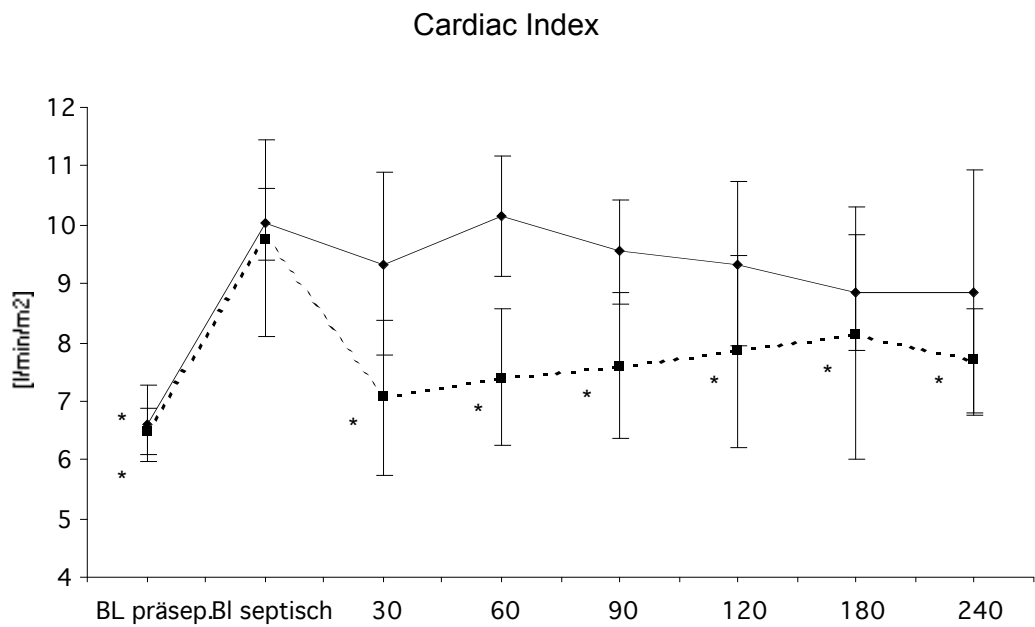
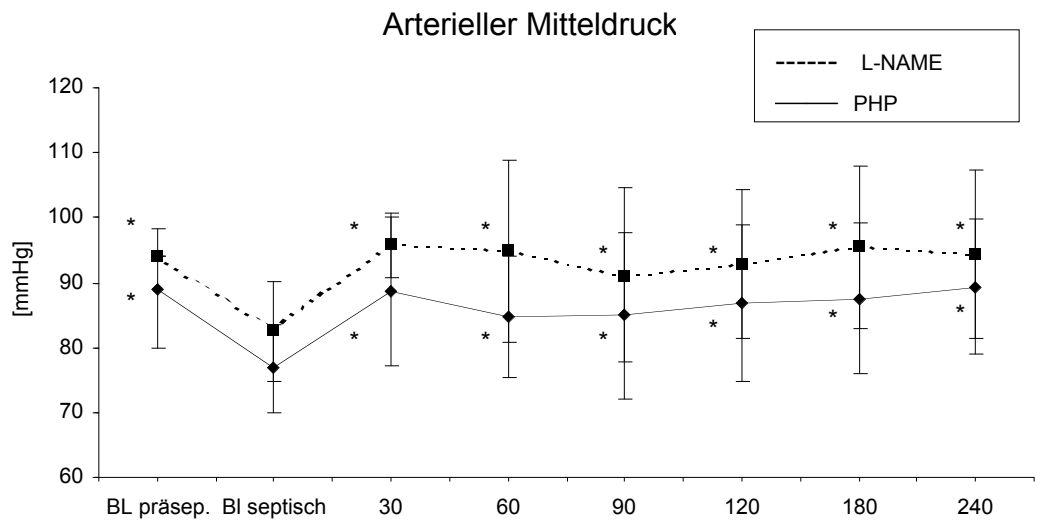
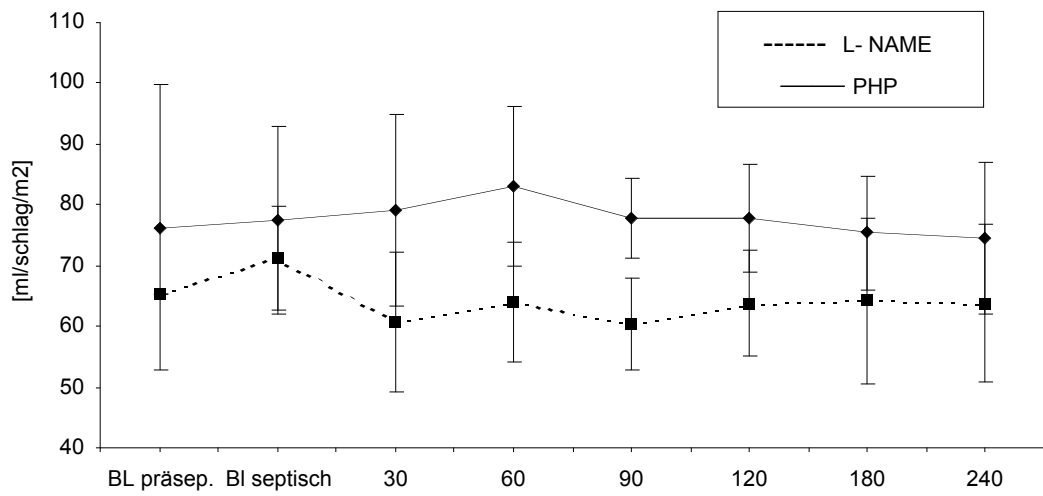


Abbildung 3: Arterieller Mitteldruck

Abbildung 4: Cardiac Index

dargestellte Werte: Baseline präseptisch, septisch und zu den Zeitpunkten 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach Gabe von PHP oder L-NAME, * $p < 0,05$ vs BL septisch

Schlagvolumenindex



Pulmonalarterieller Druck

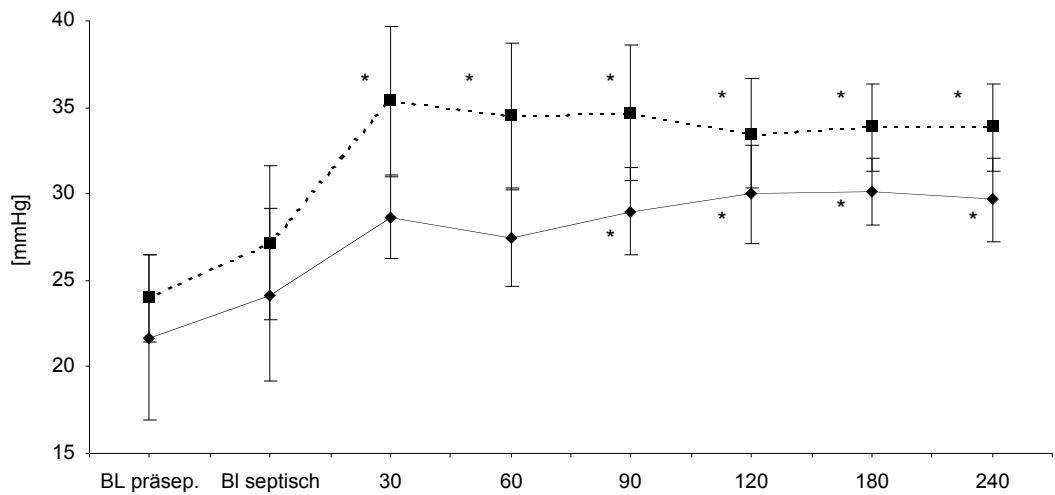
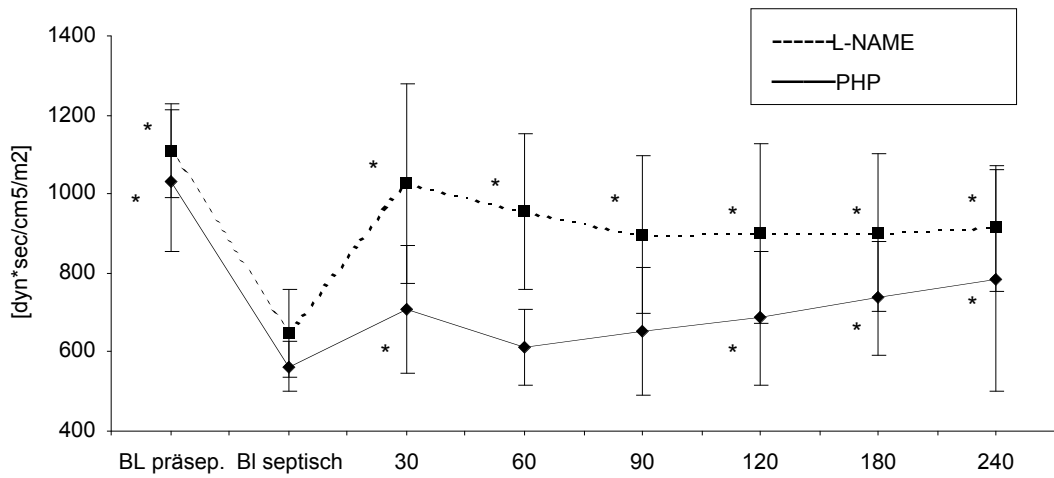


Abbildung 5: Schlagvolumenindex

Abbildung 6: Pulmonalarterieller Druck

dargestellte Werte: Baseline präseptisch, septisch, und zum Zeitpunkt 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach Gabe von PHP oder L-NAME, * $p < 0,05$ vs BL septisch

Systemvaskulärer Widerstandsindex



Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex

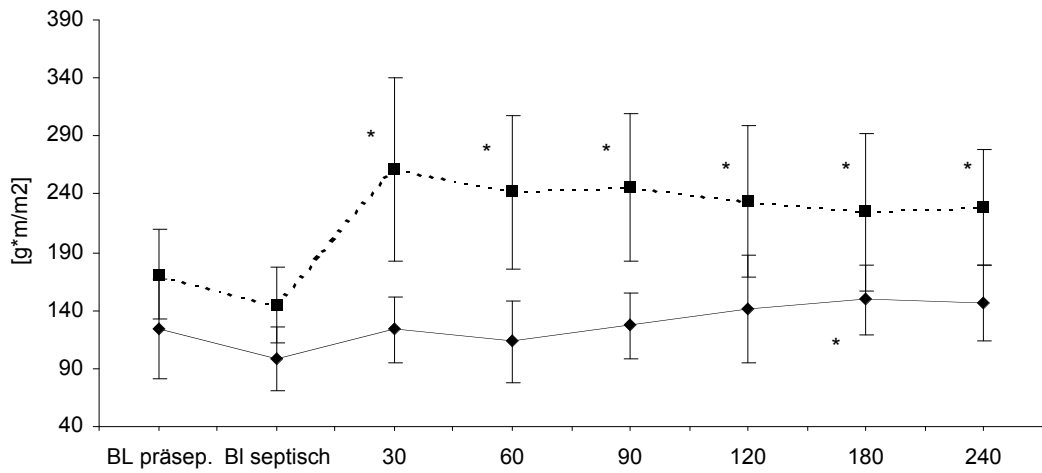
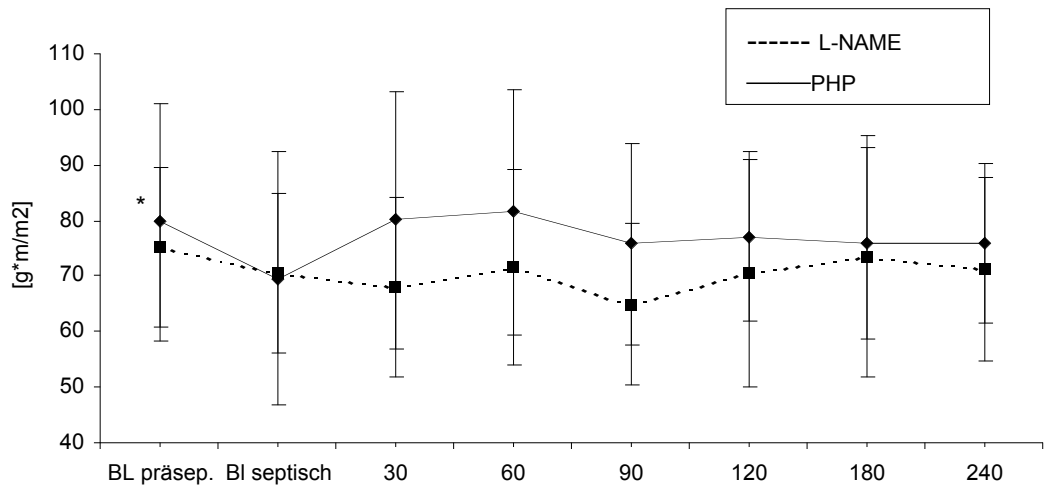


Abbildung 7: Systemvaskulärer Widerstandsindex

Abbildung 8: pulmonalvaskulärer Widerstandsindex

dargestellte Werte: Baseline präseptisch, septisch, und zu den Zeitpunkten 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach Gabe von PHP oder L-NAME, * $p < 0,05$ vs BL septisch

Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex



Rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex

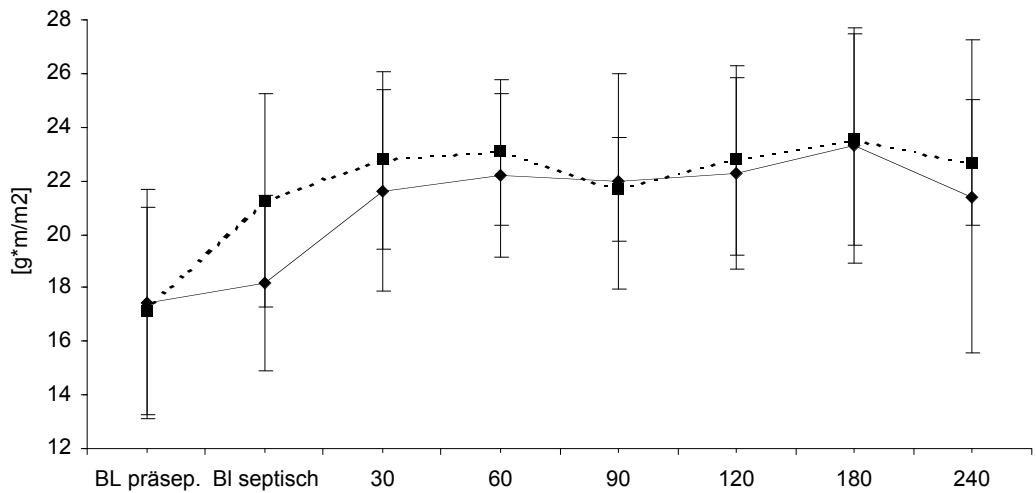


Abbildung 9: linksventrikulärer Schlagarbeitsindex

Abbildung 10: rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex

dargestellte Werte: Baseline präseptisch, septisch, und zu den Zeitpunkten 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach Gabe von PHP oder L-NAME, * $p < 0,05$ vs BL septisch

		BL-präsept.	BL sept.	30	60	90	120	180	240
pH	PHP	7,5±0,1	7,5±0,0	7,5±0,0	7,5±0,1	7,5±0,1	7,5±0,1	7,5±0,0	7,5±0,0
	L-NAME	7,5 ±0,0	7,5±0,0	7,53±0,1	7,5±0,0	7,5±0,0	7,5±0,0	7,5±0,0	7,5±0,0
PaCO₂ (mmHg)	PHP	34,1±5	28,9±2,5	29,5±5	30,3±3,7	30,4±4,9	29±5,8	29,4±5,5	29,5±5,5
	L-NAME	31,4±3	29,1±4,6	29,7±3,2	29,4±4,5	32,2±4,3	30,7±4,4	30,4±5	30,1±4,1
Pa O₂ (mmHg)	PHP	89,4±5,3	81,7±3,7	86,7±8,7	86,3±3,4	81,7±5,5	841±13,4	87±7,3	79,7±10,2
	L-NAME	85,5±10,4	85,5±17,8	85,9±10,8	88,0±13,8	80,4±12,4	87 ±17,6	86,2±19,9	84,2±10,5
Sa O₂ (%)	PHP	97±1,6	95,4±1,8	96,4±2,8	96,9±1,5	95,9±2,2	95,3±5,1	96,8±2	94,4±4,6
	L-NAME	93,1±4,5	93,4±4,4	94,5±3,3	94,6±2,5	91±3,6	94,8±3,8	93,5±6,6	95,5±2,6
PvCO₂ (mmHg)	PHP	40,5±3,4	30,9±1,9	33,1±3,4	33,5±4,9	34±4,8	33,4±4,6	34,4±4,6	33,2±4,3
	L-NAME	35,7±2,4	32,1±4,7	34,5±3,1	34,4±3,4	36±3,6	35,9±3,1	35,2±5,1	33,9±4,1
PV O₂ (mmHg)	PHP	38,2±5 *	43,1±5	44,7±3,0	45,4±3,3	43,2±3,3	43,7±2,9	43,3±3,6	40,7±3,4
	L-NAME	37,3±4,4	40,6±4,3	37,8±3,7	39,4±2,9	36,9±3,1 *	39,1±3,3	36,1±3,4 *	36,9±3,2
Sv O₂ (%)	PHP	54,2±9,4	67,5±7,3	70,5±3,4	70,8±3,5	68,1±4,6	68,2±3,1	68,5±1,8	64,6±5,1
	L-NAME	64,7±5,1	70,7±4,6	63,7±6,7	65,8±6,9	62,3±9,4	65,5±6,8	62,2±11,3	62,8±7,9
D O₂ (ml/min)	PHP	958,2±163,4*	1319,9±134,5	1217,2±283,5	1331,6±214,1	1189,5±84,9	1167,3±124,6	1124,5±112,4*	1101,3±205,8*
	L-NAME	943,5±99,8*	1281,3±99,9	931,6±218,4*	1007,5±211,2*	1039±233,9*	1045,2±244,9*	1073,8±330,6*	1002,1±184,6*
V O₂ (ml/min)	PHP	428±138,8	382,5±89,9	328,6±58,8	366,9±92,2	350,5±68,6	333,1±32,2	331,2±19,5	347,3±56,7
	L-NAME	293,4±70,1	319±26,3	300,8±48,4	301,2±29,3	349,6±110,8	317,2±48,8	359,5±146,5	338,4±68,6
O₂extr.	PHP	0,4±0,1*	0,3±0,1	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0
	L-NAME	0,3±0,1	0,3±0,0	0,3±0,1*	0,4±0,8	0,3±0,1*	0,3±0,1	0,4±0,1*	0,4±0,1*

Tabelle 1: Dargestellt Werte des Gasaustausches (Mittelwerte ± Standardabweichung), Baseline präseptisch, septisch und zu den Zeitpunkten 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach Gabe von PHP oder L-NAME, * p<0,05 vs BL septisch

4 Diskussion

4.1 Fragestellung

Die Sepsis, der septische Schock und das Multiorganversagen gehören heute zu den häufigsten Todesursachen auf Intensivstationen [68]. In den letzten 15 Jahren hat die Inzidenz stetig zugenommen [17]. Da durch die konventionellen Therapieverfahren, wie z.B. chirurgische Intervention, antibiotische Therapie, Einsatz von vasoaktiven und positiv inotropen Pharmaka und maschineller Beatmung, die Mortalität nicht gesenkt werden konnte, sind neue Therapieansätze notwendig.

Es scheint, als seien solche Therapieansätze erfolgversprechend, die neben den makrozirkulatorischen Veränderungen auch die mikrozirkulatorischen Veränderungen berücksichtigen.

Eine Sepsis entsteht durch die Aktivierung des inflammatorischen Systems durch bakterielle Bestandteile, wie z.B. Endotoxin. Durch Endotoxin wiederum wird die Freisetzung mehrerer Mediatoren, wie z.B. TNF- α oder Interleukin-1 bewirkt. Die Produktion von NO steht am Ende der Sepsiskaskade und mündet in systemischer Vasodilatation [99, 63].

Viele der bisher durchgeführten Studien beschäftigten sich mit der Hemmung der initialen Mediatorenbildung. So wurden z.B. TNF- α -Antikörper oder Interleukin-1-Rezeptorantagonisten entwickelt [51]. Im Gegensatz dazu wird durch die Hemmung der NO-Synthese versucht, die hämodynamischen Effekte, welche die Mediatoren verursachen, zu korrigieren. Gerade in den ersten 72 Stunden versterben viele septische Patienten durch die eingetretene therapierefraktäre Hypotension, deren Ursache die durch NO bewirkte Vasodilatation ist.

In mehreren tierexperimentellen Studien konnte bisher gezeigt werden, dass durch Hemmung der NO-Synthese, z. B. mittels L-NAME, ein Anstieg des MAP und systemvaskulären Widerstandes möglich war [58]. Ebenso wurde die Möglichkeit untersucht, NO nach der Produktion durch sog. NO-Scavenger zu binden. In diesen Studien konnte ein Anstieg des MAP und systemvaskulären Widerstands in

septischen Tieren nachgewiesen werden [3, 8, 16, 62]. In dieser Studie wurden die hämodynamischen Effekte von NO-Synthaseinhibitoren und NO-Scavengern im endotoxämischen Schaf miteinander verglichen.

4.2 Endotoxinämie als Sepsismodell

Die experimentelle Endotoxinämie ist als valides Sepsismodell etabliert [13, 31, 62]. Viele Erkenntnisse der Pathophysiologie der Sepsis wurden im tierexperimentellen Sepsismodell gewonnen.

Um die hyperdynamische Sepsis in den Schafen zu erzeugen, wurde Endotoxin infundiert. Endotoxin spielt eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Sepsis und ist bei Patienten mit gramnegativer Sepsis regelmäßig nachweisbar [3, 62, 11]. Die Gabe von Endotoxin bewirkt bei gesunden Probanden eine hyperdynamische Kreislaufsituation mit erhöhtem Herzzeitvolumen und erniedrigtem systemvaskulären Widerstand [55].

Für die vorliegende Studie wurden Schafe als Versuchstiere ausgewählt. Die Dosis an Endotoxin, die beim Menschen eine hyperdynamische Kreislaufsituation hervorruft, ist derjenigen äquivalent, die für die Schafe verwendet wird, um die gleichen Reaktionen hervorzurufen [76]. Im Gegensatz dazu sind andere Tierarten nicht direkt mit dem Menschen vergleichbar. So benötigt man z.B. zur experimentellen Sepsis bei Hunden, Hasen oder Ratten wesentlich höhere Dosen an Endotoxin [49]. Ein weiterer Vorteil der Schafe ist, dass sie genau wie Patienten auf Intensivstationen instrumentiert und überwacht werden können. Bei den Schafen ist nach 24 Stunden der Endotoxingabe eine hyperdynamische Kreislaufsituation eingetreten, wie sie auch bei Patienten mit gramnegativer Sepsis zu beobachten ist [95].

Dadurch, dass die Versuche an wachen, chronisch instrumentierten und Raumluft atmenden Schafen durchgeführt wurden, können Interaktionen mit anderen Medikamenten, wie z.B. Anästhetika, ausgeschlossen werden.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

Während der 24 Stunden der kontinuierlichen Endotoxininfusion entwickelten die Schafe eine hyperdynamische Kreislaufsituation, gekennzeichnet durch signifikant erniedrigten MAP und SVR, erhöhte Herzfrequenz und erhöhtem CI. Diese Veränderungen sind typisch für Patienten im septischen Schock.

Es kann davon ausgegangen werden, dass zu diesem Zeitpunkt eine Aktivierung der induzierbaren NO-Synthase stattgefunden hat, da dieses Enzym normalerweise 4-12 Stunden nach Beginn der Sepsis nachzuweisen ist [42].

Die Schafe erhielten dann den NO-Synthaseinhibitor L-NAME oder den NO-Scavenger PHP. Die Veränderungen, die während der ersten 24 Stunden der Endotoxininfusion eintraten, wurden hier nicht untersucht.

L-NAME wurde in vielen Studien in Dosierungen von 1 mg/kg bis zu 25 mg/kg zur Synthaseinhibition verwendet. In der vorliegenden Studie wurde eine Dosierung gewählt, die in vorherigen Experimenten in endotoxämischen Schafen eine Erhöhung des MAP auf präseptische Werte erzeugt hat. Dieser Effekt wurde mit einem Bolus L-NAME von 2,5 mg/kg gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion von 0,5 mg/kg L-NAME erzielt. Auf höhere Dosen wurde verzichtet, da sie einen Anstieg über präseptisches Baselinenniveau bewirken.

Für die Verwendung von PHP wurden ebenfalls Dosierungen gewählt, die in vorherigen Experimenten einen Anstieg des MAP auf Baselinenniveau bewirkten, ohne über diese Ausgangswerte zu steigen. Die Schafe erhielten einen Bolus PHP von 100 mg/kg gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion in der Dosierung von 20

mg/kg/h. Malcolm et al. verwendeten für ihre Versuche mit Ratten, die modifiziertes Hämoglobin erhielten, Dosierungen von 62,5-1000 mg/kg, wobei die steigende Dosierung auch stärkere Auswirkungen auf den MAP hatte. Dosierungen über 1000 mg/kg erzielten aber keine weiteren Effekte [53].

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass PHP genau wie L-NAME in septischen, hyperdynamen Schafen einen Anstieg des MAP auf Baseline Niveau bewirkt. Im Gegensatz zu L-NAME ist der Abfall des CI nach PHP Infusion nicht so ausgeprägt und der PAP, SVR und PVR-Anstieg ist geringer.

Nach der Infusion von 100 mg/kg PHP stieg der MAP auf präendotoxämisches Baseliniveau. Dieser Effekt des PHP war schon innerhalb der ersten dreißig Minuten nach Start der Infusion zu beobachten und blieb über den Beobachtungszeitraum von vier Stunden bestehen.

Der durch PHP verursachte MAP-Anstieg wurde schon von mehreren Autoren beschrieben. Bone et al. infundierten Schafen, die *Pseudomonas aeruginosa* über 48 Stunden erhielten, nach 24 Stunden PHP in Dosierungen von 50 mg/kg, 100 mg/kg und 200 mg/kg. Alle drei Dosierungen bewirkten einen Anstieg des mittleren arteriellen Drucks auf Baseline Niveau, des systemvaskulären Widerstands und des pulmonalarteriellen Drucks, sowie eine Abnahme des Cardiac Index. Kida et al. beschrieben sogar einen Anstieg des mittleren arteriellen Drucks um 40 mmHg nach Infusion von PHP in verschiedenen Dosierungen bei nicht endotoxämischen Ratten [38]. Der Anstieg des MAP erfolgt aufgrund einer Vasokonstriktion. Diese entsteht dadurch, dass Hämoglobin in der Lage ist, das produzierte NO abzufangen. Obwohl NO-Scavenging der Hauptgrund für den Anstieg des MAP nach PHP-Infusion zu sein scheint, spielen möglicherweise auch noch andere Mechanismen, die in dieser Studie nicht untersucht wurden, eine Rolle. Bone et al. untersuchten in ihrem Sepsismodell auch die Endothelin-1 Spiegel und stellten fest, dass diese nach Infusion von PHP um das 30-fache anstiegen. Da Endothelin-1 die vasokonstriktiven Antworten auf sympathische Stimulation steigert, könnte dieses auch die hämodynamischen Veränderungen erklären.

Der Anstieg des SVR, der die Erhöhung des MAP bewirkte, war allerdings geringer als in der L-NAME Gruppe, wobei der SVR auch in der L-NAME Gruppe nicht über

Baselineniveau anstieg. In anderen Studien wurden negative Ergebnisse nach NO-Synthaseinhibition beschrieben. Nach Gabe von N-omega-amino-L-arginin (10 oder 1 mg/kg/h) bei endotoxämischen Kaninchen stieg u.a. der SVRI über Baselineniveau, so dass es vermutlich zu einer Minderperfusion der Organe mit erhöhter Mortalität kam [15].

Ebenfalls war der Abfall des Cardiac Index geringer in der PHP Gruppe. Der größere Abfall des CI in der L-NAME Gruppe lässt sich durch eine größere Verminderung des Schlagvolumens erklären. Die Herzfrequenz fiel wie in der L-NAME Gruppe ab. Der Abfall des CI nach NO-Synthaseinhibition in Endotoxinämie oder Sepsis wurde schon von mehreren Autoren beschrieben. Lingnau et al. infundierten Schafen, die zuvor über 24 Stunden *Pseudomonas aeruginosa* erhalten hatten, entweder die NO-Synthaseinhibitoren L-NAME oder L-NMMA. Der CI fiel nach der NO-Synthaseinhibition und blieb über einen Zeitraum von 12 Stunden erniedrigt [49].

Einerseits scheint die erhöhte Nachlast zu einem reduzierten CO zu führen, andererseits gibt es immer mehr Hinweise darauf, dass der höhere SVR nicht allein verantwortlich ist für den CO Abfall nach NO-Synthaseinhibition. Um zu zeigen, dass der CO-Abfall nach NO-Synthaseinhibition nicht abhängig ist von der Erhöhung des SVR, infundierten Zappellini et al. anästhesierten Hunden, die L-NAME erhalten hatten, die Vasodilatoren Nitroprussid-Natrium oder Iloprost. Durch die Nitroprussid-Natrium Gabe wurde sowohl der Anstieg des SVR als auch der Abfall des CO abgeschwächt. Nach Infusion von Iloprost, einem Prostazyklin-Analogen, sank der durch NO-Synthaseinhibition verursachte Hypertonus und der SVR. Dadurch konnte der Abfall des CO, verursacht durch die NO-Synthaseinhibition, aber nicht verhindert werden [105].

In anderen Studien wurden weitere Ursachen für die kardio-depressive Wirkung der NO-Synthaseinhibitoren, wie z.B. Konstriktion der Koronargefäße oder Myokardischämie ausgeschlossen. Klabunde et al. untersuchten, ob der NO-Synthaseinhibitor N^G-monomethyl-L-arginin eine koronare Vasokonstriktion hervorruft und dadurch die Veränderungen der kardialen Funktion nach Gabe von NO-Synthaseinhibitoren zu erklären sei. Dazu erhielten anästhesierte Hunde eine Bolusinjektion von L-NMMA in einer Dosierung von 30 mg/kg. Es konnten in dem

Zeitraum von fünf bis 20 Minuten nach Injektion keine Veränderungen des koronaren Blutflusses oder myokardialen Sauerstoffverbrauchs festgestellt werden, obwohl auch in diesem Experiment gleichzeitig das CO um 29% sank [43].

Stickstoffmonoxid und die induzierbare Form der NO-Synthase wurden nach Endotoxingabe in Myokardzellen nachgewiesen, so dass NO möglicherweise als Mediator für die myokardiale Depression in der Sepsis in Frage kommt [12]. Kumar et al. konnten in vitro zeigen, dass die verminderte Kontraktilität von Myokardzellen nach der Inkubation mit Serum von septischen Patienten durch Zugabe eines NO-Synthaseinhibitors aufgehoben wurde [47].

Über die Effekte von modifiziertem Hämoglobin auf den CI existieren unterschiedliche Ergebnisse. Hughes et al. verabreichten gesunden Probanden modifiziertes Hämoglobin vom Rind in Dosierungen von 16,5-45 g. Die Gabe des Hämoglobins bewirkte einen Anstieg des PVR mit Abfall der Herzfrequenz und Abfall des Cardiac Index [32]. Im Gegensatz dazu kam Aranow zu anderen Ergebnissen. Nach Infusion von *Escherichia coli* erhielten sieben Schweine dreißig Minuten nach Beginn der Infusion 150 mg/kg modifiziertes menschliches Hämoglobin i.v.. Der zu beobachtende Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks war nicht von einem Abfall des Cardiac Index begleitet [3]. Mourelatos infundierte septischen Ratten entweder 100 oder 250 mg/kg modifiziertes Hämoglobin oder Albumin. Der Cardiac Index war sofort nach der Infusion von Hämoglobin geringer als bei den Ratten, welche die Albumininfusion erhielten. Nach 24 Stunden allerdings war der CI in der Hämoglobin-Gruppe signifikant höher als in der Albumin-Gruppe. Bei den mit Hämoglobin behandelten septischen Tieren konnte eine reduzierte Mortalität festgestellt werden [62]. Otterbein et al. stellten ebenfalls eine reduzierte Mortalitätsrate bei endotoxämischen Ratten fest, die vor der Endotoxinämie Hämoglobin erhalten hatten. Die positiven Wirkungen der Vorbehandlung mit Hämoglobin wurden z.T. durch die Aktivierung des Enzyms Hämoxigenase erklärt, welches freie Sauerstoffradikale reduzieren kann [64].

Die bekannten Nebeneffekte von NO-Synthasehemmern und NO-Scavengern mit Anstieg von PVR und PAP waren auch hier zu beobachten. Nach der 24-stündigen Endotoxininfusion kam es zu einer Erhöhung des mittleren pulmonalarteriellen

Drucks in beiden Gruppen und zu einem leichten Abfall des pulmonalvaskulären Widerstandes, der in der L-NAME Gruppe etwas stärker ausgeprägt war als in der PHP-Gruppe. Diese Veränderungen sind typisch für Patienten in Sepsis oder septischem Schock. Auch bei ausgeprägter Hypotension und erhöhtem Herzzeitvolumen sind die pulmonalarteriellen Drücke normal oder leicht erhöht. Der Anstieg des PAP lässt sich am ehesten mit der Erhöhung des HZV erklären. Der durch PHP verursachte Anstieg des PVR war allerdings geringer als in der L-NAME Gruppe und der PAP Anstieg erfolgte deutlich langsamer als durch L-NAME verursacht, wobei die Gründe für die unterschiedlichen pulmonalen Effekte noch unklar sind. Nach Gabe von L-NAME verdoppelte sich innerhalb von 30 Minuten der PVR und der PAP stieg um fast 10 mmHg an. In der PHP-Gruppe waren diese Veränderungen wesentlich weniger deutlich ausgeprägt: Der PVR blieb fast unverändert und der PAP stieg um ca. 5 mmHg an. Aranow kam auch hier zu anderen Ergebnissen. Durch die Infusion von modifiziertem menschlichen Hämoglobin in endotoxämische Schweine wurde die schon durch die Endotoxinämie verursachte pulmonale Hypertension weiter verschlechtert und eine arterielle Hypoxämie verursacht. Der Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks durch NO-Scavenging und NO-Synthaseinhibition lässt die Vermutung zu, dass NO eine Rolle bei der Limitierung der pulmonalen Vasokonstriktion spielt. Sowohl alveoläre als auch bronchiale Epithelzellen stellen die konstitutive und die induzierbare Form der NO-Synthase her. Außerdem wird die Transskription dieser Enzyme durch Hypoxämie inhibiert. Die verringerte Biosynthese von NO scheint eine Mechanismus zu sein, der zur hypoxischen Vasokonstriktion führt. Z.B. wird die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion durch NO-Inhalation abgeschwächt und durch NO-Synthaseinhibitoren verstärkt [11]. Wird Endotoxin infundiert, so ist die hypoxische Vasokonstriktion nach einer Stunde aufgehoben [92]. Fischer et al. untersuchten im Schafmodell die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion. Die Schafe wurden seitengetreunt beatmet, wobei eine Lungenhälfte mit einem hypoxischen Gasgemisch beatmet wurde. 50% des Blutes dieser Lunge wird normalerweise zur besser oxygenierten Lunge umgeleitet. Bei bakterieller Sepsis sinkt dieser Anteil auf 23%. PHP hatte keinen Einfluss auf die hypoxische pulmonale

Vasokonstriktion. Durch die NO-Synthaseinhibitoren trat allerdings eine Verbesserung, wenn auch nicht Normalisierung, auf [19, 20].

NO-Scavenging und NO-Synthasehemmung verstärken den schon erhöhten durch Endotoxin induzierten pulmonalen Gefässtonus. Die arterielle Oxygenierung blieb unverändert. Es scheint daher unwahrscheinlich, dass durch den Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks nach der Infusion von PHP Lungenödeme verursacht wurden. Bone et al. zeigten, dass sich nach PHP-Infusion in septischen Schafen die feucht/trocken Gewicht-Verhältnisse der Lungen nicht von den Schafen der Kontrollgruppe unterschieden, die kein PHP erhalten hatten. Aranow et al. beschrieben im Gegensatz dazu bei septischen Schweinen, die cross-linked hemoglobin infundiert bekommen hatten, eine signifikante Erniedrigung des Sauerstoffpartialdrucks im Gegensatz zur Kontrollgruppe. Allerdings könnten diese unterschiedlichen Ergebnisse auch darauf zurückgeführt werden, dass Bone et al. nach 24 Stunden der Sepsis PHP infundierten, während Aranow et al. schon dreißig Minuten nach Start der Endotoxininfusion cross-linked hemoglobin infundierten. Da in der vorliegenden Studie dieselben Bedingungen wie in der o.g. Studie von Bone et al. vorlagen, scheint deren Ergebnis für diese Studie wahrscheinlicher. Während des vierstündigen Beobachtungszeitraumes war der Abfall des CI in der L-NAME Gruppe assoziiert mit einer Erniedrigung des Sauerstoffangebots. Gleichzeitig stieg aber die Sauerstoffextraktionsrate an, so dass der Sauerstoffverbrauch konstant blieb. In dieser Studie wurde nicht weiter untersucht, ob die Veränderung des Sauerstoffangebots Auswirkungen auf die Ergebnisse hat.

Der pulmonalkapilläre Wedgedruck stieg nach der PHP-Infusion an. Im Gegensatz dazu blieb der PCWP nach Gabe von L-NAME unverändert, obwohl beide Substanzen mit dem gleichen Lösungsmittel verabreicht wurden. Heneka et al. untersuchten in ihrer Studie auch, ob die Gabe von Hydroxyethylstärke Lösung einen Einfluss auf den MAP oder die Herzfrequenz bei endotoxämischen Ratten hatte. Sie stellten nach der HES-Infusion keine Veränderungen fest. Da HES einen kolloidosmotischen Druck von 27 mmHg, PHP aber einen niedrigeren von 21 mmHg hat, schlussfolgerten sie, dass für die Wirkung von PHP kolloidosmotische Effekte nicht in Frage kommen [28].

Neben den o.g. Nebeneffekten von NO-Scavengern und NO-Synthaseinhibitoren konnten auch in anderen Studien weitere Vorteile von polymerisiertem Hämoglobin gegenüber NO-Synthaseinhibitoren gezeigt werden. Heneka et al. infundierten septischen Ratten polymerisiertes Hämoglobin (pHb) und N^G-nitro-L-arginin. Durch beide Substanzen normalisierte sich der MAP, aber nur pHb verursachte einen Anstieg der glomerulären Filtrationsrate und des renalen Blutflusses auf Baselinenniveau [28].

Die intravenöse Gabe von PHP bei septischen Schafen bewirkte eine Normalisierung der durch Sepsis verminderten glomerulären Filtrationsrate und eine Steigerung der zuvor reduzierten Urinausscheidung [36]. Allerdings gibt es auch hier wieder gegenteilige Studien, die auch negative Effekte auf die regionale Durchblutung aufzeigen. Nach einer Austauschtransfusion mit modifiziertem Hämoglobin vom Rind wurde bei gesunden Katzen ein 40-70% Rückgang der Nieren-, Nebennieren- und Darmdurchblutung festgestellt [97].

4.4 Ausblick

Die klinische Anwendung von NO-Synthaseinhibitoren und NO-Scavengern bei septischen Patienten ist noch in Erprobung.

Reah et al. untersuchten die vasokonstriktiven Eigenschaften von modifiziertem Hämoglobin bei 14 intensivpflichtigen Patienten mit SIRS oder septischem Schock. Die Patienten erhielten DCLHb (diaspirin cross-linked Hämoglobin) als Bolus von 100 ml über 15 Minuten, wiederholt nach 60 Minuten, bis zu einem Maximum von 500 ml. Vor der Hämoglobingabe wurde der MAP mittels Katecholaminen bei 65 mmHg stabilisiert. Durch die Bolusgabe von DCLHb konnten nach 5 Minuten die Katecholamine reduziert werden. Die Parameter MAP, HR, CVP, PCWP, MPAP, SVRI und die Urinausscheidung zeigten keine signifikanten Veränderungen

gegenüber den Werten gemessen vor der Infusion von DCLHb. CI und DO_2 waren dagegen erniedrigt. Als Nebenwirkung der DCLHb Gabe wurde ein Anstieg des Serumbilirubins und ein Abfall der Thrombozyten bei den behandelten Patienten beobachtet. Die Mortalitätsrate blieb durch die Hämoglobingabe unbeeinflusst. Es verstarben 11 der 14 Patienten [75].

1991 beschrieben Petros et al. erstmalig die Anwendung von NO-Synthaseinhibitoren bei Patienten mit therapierefraktärem septischem Schock. Nach L-NMMA Gabe in einer Dosierung von 0,3-1 mg/kg als Bolus wurde ein Anstieg des MAP und des SVR beobachtet, so dass die zuvor notwendige Noradrenalininfusion beendet werden konnte. Die Effekte der Bolusgabe waren nur von kurzer Dauer, so dass ein zweiter Patient nach einem Bolus von 0,15 mg/kg L-NAME eine kontinuierliche Infusion von 5 g/kg/min erhielt. Innerhalb der nächsten 48 Stunden konnte die Noradrenalininfusion beendet werden. Nach Beendigung der L-NAME Infusion blieben die hämodynamischen Parameter weiter im Normbereich. Der erste Patient konnte von der Intensivstation verlegt werden, der zweite verstarb nach einem Rückfall im Multiorganversagen [71].

1994 untersuchten Petros et al. in einer randomisierten Doppelblindstudie die Wirkungen von L-NMMA bei 12 Patienten mit schwerer Sepsis. Die Patienten erhielten L-NMMA in Konzentrationen von 0,3 und 1 mg/kg gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion. Dosisabhängig konnte ein Anstieg des MAP, SVR, PVR und des PCWP beobachtet werden, wohingegen HZV und HF abfielen. Die 28-tägige Studie überlebten in der L-NMMA Gruppe zwei der fünf Patienten, während in der Kontrollgruppe fünf der sechs Patienten verstarben [72].

Kiehl et al. veröffentlichten 1997 die Ergebnisse der L-NAME Gabe bei zehn Patienten im septischen Schock. Die Patienten erhielten eine L-NAME Infusion in einer Dosierung von 0,3 mg/kg/h über einen Zeitraum von 24-96 Stunden. Innerhalb der ersten 24 Stunden wurde ein MAP und SVR Anstieg beobachtet. Bei fünf Patienten konnte die L-NAME Infusion reduziert werden, nachdem sich die Ansprechbarkeit für Katecholamine wieder erhöht hatte. Den septischen Schock überlebten zwei der zehn Patienten [39].

Grover et al. führten eine größere Studie mit 32 Patienten mit septischen Schock durch, die den NO-Synthaseinhibitor N^G-methyl-L-arginin-hydrochlorid erhielten, mit dem Ziel, eine Dosierung zu finden, bei welcher sich der MAP über 70 mmHg befindet. Die Patienten erhielten N^G-methyl-L-arginin-hydrochlorid in Dosierungen von 1, 2.5, 5, 10 oder 20 mg/kg/h über einen Zeitraum von acht Stunden. Während der Infusion konnte in allen Gruppen eine deutliche Reduktion der Katecholamine erzielt werden [27].

Eine sich anschließende große Phase-III-Studie mit 797 Patienten im septischen Schock musste vorzeitig abgebrochen werden, da in der Gruppe der Patienten, die L-NMMA erhielten, eine erhöhte Mortalität zu verzeichnen war [26].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Anwendung von NO-Synthaseinhibitoren am septischen Patienten bisher keine Senkung der Mortalitätsrate bewirken konnte. Die ausstehende Phase-III-Studie für die Anwendung von NO-Scavengern wird zur Zeit in den USA durchgeführt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung weisen darauf hin, dass die Ergebnisse dieser Phase-III-Studie besser ausfallen könnten, als die grossen klinischen Studien mit NO-Synthaseinhibitoren.

Literaturverzeichnis

1. Aisaka, K., Gross, S.S., Griffiths, O.W., Levi, R.

N^{G} -methylarginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea pig: does nitric oxide regulate blood pressure in vivo ?

Biochem Biophys Res Commun (1989) 160: 881-886

2. Alayash, A.I., Cashon, R.E.

Reactions of nitric oxide and hydrogen peroxide with hemoglobin-based blood substitutes

Ann NY Acad Sci (1994) 738: 378-381

3. Aranow, J.S., Wang, H., Zhuang, J., Fink, M.P.

Effekt of human hemoglobin on systemic and regional hemodynamics in a porcine model of endotoxemic shock

Crit Care Med (1996) 24: 807-814

4. Avontuur, J.A.M., Bruining, H.A., Ince, C.

Sepsis and Nitric Oxide. Oxygen Transport to Tissue

XVII, Edited by Ince et al., Plenum Press, New York (1996):551-563

5. Bauer, M.

Pathophysiologie der Sepsis

Anaesthesist (1996) 45: 312-322

6. Böhler, H., Nawroth, P.P.

Sepsis und DIC

Die gelben Hefte (1996) 36: 59-68

7. Bone, H.G., Traber, L.D., Schenarts, P.J., Spaulding, T., Traber, D.L.

Hemodynamic effects of pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate (PHP) in conscious sheep during septic shock

Anesthesiology (1995) 83: A231

8. Bone, H.G., Schenarts, P.J., Booke, M., McGuire, R., Harper, D., Traber, L.D., Traber, D.L.

Oxalated pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate normalizes the hyperdynamic circulation in septic sheep

Crit Care Med (1997) 25: 1010-1018

9. Bone, R.C.

The Pathogenesis of Sepsis

Annals of Internal Medicine (1991) 115: 457-469

10. Bone, R.C.

The Sepsis Syndrome. Definition and General Approach to Management
Clin Chest Med (1996) 17: 175-181

11. Booke, M., Bradford, D.W., Hinder, F., Harper, D., Brauchle, R.W., Traber, L.D., Traber, D.L.

Effekts of inhaled nitric oxide and nebulized prostacycline on hypoxic pulmonary vasoconstriction in anaesthetized sheep
Crit Care Med (1996) 24: 1841-1848

12. Brady, A.J., Poole Wilson, P.A., Harding, S.E., Warren, J.B.

Nitric oxide production within cardiac myocytes reduces their contractility in endotoxemia
Am J Physiol (1992) 263: H1963-H1966

13. Brigham, K.L., Meyrick, B.

Endotoxin and lung injury
Am Rev Respir Dis (1986) 133: 913-927

14. Centers for Disease Control

Increase in National Hospital Discharge Survey rates for septicemia-United States
MMWR Morb Mortal Wkly Rep (1990) 39: 909-912

15. Cobb J.P., Natanson, C., Hoffman, W.D., Lodato, R.F., Banks, S., Koev, C.A., Solomon, M.A., Elin, R.J., Hosseini, J.M., Danner, R.L.

N omega-amino-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, raises vascular resistance but increases mortality rates in awake canines challenged with Endotoxin
J Exp Med (1992) 176: 1175-82

16. Crowley, J.P., Metzger, J., Gray, A., Pivacek, L.E., Cassidy, G., Valeri, C.R.

Infusion of stroma-free cross-linked hemoglobin during acute gram-negative bacteremia
Circ Shock (1993) 41: 144-149

17. Dal Nogare, A.R.

Septic shock.
Am J Med Sci (1991) 302: 50-65

18. Dunn, D.L.

Role of Endotoxin and Host Cytokines in Septic Shock
Chest (1991) 100, 3 Supplement: 164-168

19. Fischer, S.R., Bone, H.G., Powell, W.C., McGuire, R., Traber, L.D.

Pyridoxalated hemoglobin polyethylene conjugate does not restore hypoxic pulmonary vasoconstriction in ovine sepsis
Crit Care Med (1997) 25: 1551-1559

20. Fischer, S.R., Deyo, D.J., Bone, H.G., McGuire, R., Traber, L.D.
Nitric oxide synthase inhibition restores hypoxic pulmonary vasoconstriction in sepsis
Am J Resp Crit Care Med (1997) 156: 833-839
21. Frey, L., Kreimeier, U., Schwarz, G., v.Hirschhausen, E., Messmer, K.
Deterioration of renal function during hyperdynamic endotoxemia correlates with redistribution of intra-renal blood flow
Eur Surg Res (1990) 22 : 66
22. Frey, L.
Frühphase der Sepsis-Bestimmung der pH_i
In: Sepsis in der Frühphase
Hartenauer, U. (Hrsg.)
München: MMV Medizin-Verlag (1995): 27-37
23. Gardiner, S.M., Compton, A.M., Bennet, T., Palmer, R.M.J., Moncada, S.
Regional haemodynamic changes during oral ingestion of L-NMMA and L-NAME in conscious Brattleboro rats
Br J Pharmacol (1990) 101: 10-12
24. Gardiner, S.M., Compton, A.M., Bennet, T.
Effects of N^G-nitro-L-arginine methyl ester or indomethacin on differential regional and cardiac haemodynamic actions of arginine vasopressin and lysine vasopressin in conscious rats
Br J Pharmacol (1991) 102: 65-72
25. Gray, G.A., Schott, C., Julou-Schaeffer, G., Fleming, I., Parratt, J.R., Stoclet, J.C.
The effect of inhibitors of the L-arginine/NO pathway on endotoxin-induced loss of vascular responsiveness in anaesthetized rats
Br J Pharmacol (1991) 103: 1218-1224
26. Grover, R., Lopez, A., Lorente, J., Steingrub, J., Bakker, J., Willats, S., McLuckie, A., Takala, J.
Multicenter, randomized, placebo-controlled, double blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock
Crit Care Med (1999) 27: A33
27. Grover, R., Zaccardelli, D., Colice, G., Guntupalli, K., Watson, D., Vincent, J.L.
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 (1999) 27: 913-922

28. Heneka, T., Löschmann, P-A., Osswald, H.
Polymerized hemoglobin restores cardiovascular and kidney function in endotoxin-induced shock in the rat
J Clin Invest (1997) 99: 47-54
29. Hermann, L.
Über die Wirkungen des Stickoxydulgases auf das Blut
Arch Anat Lpz (1865): 469-481
30. Hibbs, J.B., Taintor, R.R., Vavrin, Z.
Macrophage cytotoxicity: a role for L-arginine deiminase activity and imino nitrogen oxidation to nitrite
Science (1987) 235: 473-476
31. Hoffman, W.D., Natanson, C.
Endotoxin in septic shock
Anesth Analg (1993) 77: 613-624
32. Hughes, S.G., Antal, E.J., Locker, P.K., Francom, S.F., Adams, W.J., Jacobs, E.E.
Physiology and pharmacokinetics of a novel hemoglobin-based oxygen carrier in humans
Crit Care Med (1996) 24: 756-764
33. Ignarro, L.J., Byrns, R.E., Buga, G.M., Wood, K.S.
Endothelium derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical
Crit Res (1987) 61: 866-879
34. Iwashita, Y.
Hemoglobin conjugated with polyoxyethylene
In: Artificial Red Cell, Tsuchida, E. (Ed) NY, John Wiley & Sons (1995): 151-176
35. Jia, L., Boaventura, C., Bonaventura, J., Stamler, J.S.
S-Nitrosohaemoglobin- a dynamic activity of blood involved in vascular control
Nature (1996) 380: 221-226
36. Jourain, M., Brazcal, B., Traber, L.D., Traber, D.L.
Modified hemoglobin improved renal function during sepsis in sheep
Proc Am Burn Assoc (1997)18: 150
37. Katsuyama, S.S., Cole, D.J., Drummond, J.C., Bradley, K.
Nitric oxide mediates the hypertensive response to a modified hemoglobin solution (DCLHb) in rats
Artif Cells Blood Subst Immobil Biotechnol (1994) 22: 1-7

38. Kida, Y., Maeda, M., Iwatw, S., et al.
Effects of pyridoxalated hemoglobin polyethylen conjugate and other hemoglobin-related substances on arterial blood pressure in anaesthetized and conscious rats
Artif Organs (1995) 19: 117-128
39. Kiehl, M.G., Ostermann, H., Meyer, J., Kienast, J.
Nitric oxide synthase inhibition by L-NAME in leukocytopenic patients with severe septic shock
Int Care Med (1997) 23: 561-566
40. Kilbourn, R.G., Gross, S.S., Jubran, A.
N^G-methyl-L-arginine inhibits TNF -induced hypotension
Proc Nat Acad Sci (1990) 87: 3629-3632
41. Kilbourn, R.G., Joly, G., Cashon, B.
Cell-free hemoglobin reverses the endotoxin-mediated hyporesponsivity of rat aortic rings to alpha-adrenergic agents
Biochem Biophys Res Commun (1994) 199: 155-162
42. Kilbourn, R.G., Belloni, P.
Endothelial cell production of nitrogen oxides in response to interferon gamma in combination with tumor necrosis factor, interleukin-1, or endotoxin
J Natl Cancer Inst (1990) 82: 772-776
43. Klabunde, R.E., Ritger, R.C., Helgren, M.C.
Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium- derived relaxing factor (nitric oxide) formation / release in anesthetized dogs
Eur J Pharmacol (1991) 199 : 51-59
44. Kreimeier, U., Peter, K.
Schock
In: Praxis der Intensivbehandlung
Lawin, P., van Aken, H., Brüssel, TH., Prien, TH.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1993): 658-701
45. Kreimeier, U., Brueckner, U.B., Gerspach, S., Veitinger, K., Messmer, K.
A porcine model of hyperdynamic endotoxemia: pattern of respiratory, macrocirculatory and regional blood flow changes
J Invest Surg (1993) 6: 143-156
46. Kreimeier, U., Holzer, K., Thiel, M., Meßmer, K.
Veränderungen des nutritiven Blutflusses in der Frühphase der Sepsis
In: Sepsis in der Frühphase
Hartenauer, U. (Hrsg.)
München MMV, Medizin-Verlag (1995): 67-90

47. Kumar, A., Kosuri, R., Thota, V.
NO and cGMP generation mediates human septic serum-induced in vitro cardiomyocyte depression
Chest (1993) 104: 128
48. Leithäuser, B., Matthias, F.R.
Mikrozirkulation und Hämostase bei entzündl. Prozessen
Med Klin (1997) 92: 426-431
49. Lingnau, W., McGuire, R., Dehring, D.J., Traber, L.D., Linares, H.A., Nelson, S.H., Kilbourn, R.G., Traber, D.L.
Changes in regional hemodynamics after nitric oxide inhibition during ovine bacteremia
Am J Physiol (1996) Jan: R 207-216
50. Lorente, J.A., Landin, L., Renes, E., DePablo, R., Jorge, P., Rodena, E., Liste, D.
Role of NO in the hemodynamic changes of sepsis
Crit Care Med (1993) 21: 759-767
51. Lowry, S.F.
Anticytokine therapies in sepsis
New Horizons (1993) 1: 120-126
52. Lowry, S.F.
Sepsis and its complications: clinical definitions and therapeutic prospects
Crit Care Med (1994) 22: 1-2
53. Malcolm, D.S., Hamilton, I.N., Schultz, S.C., et al.
Characterization of the hemodynamic response to intravenous dapsirin crosslinked hemoglobin solution in rats
Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol (1994) 22: 91-107
54. Malechsky, P.S., Takahashi, T., Iwasaki, K., Harasaki, H., Nose, Y.
Conjugated human hemoglobin as a physiological oxygen carrier- pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate (PHP)
Int J Artif Organs (1990) 13 : 442-450
55. Martich, G.D., Parker, M.M., Cunnion, R.E., Suffredini, A.F.
Effects of ibuprofen and pentoxifylline on the cardiovascular response of normal humans to endotoxin
J Appl Physiol (1992) 73: 925-931
56. Members of the ACCP/SCCM Consensus Conference Committee
Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis
Crit Care Med (1992) 20: 864-874

57. Meyer, J.
Stickstoffmonoxid und septischer Schock
In: Sepsis in der Frühphase
Hartenauer, U. (Hrsg.)
München: MMV, Medizin-Verlag (1995): 49-66
58. Meyer, J., Lentz, C.W., Stothert, J.C., Traber, L.D., Herndon, D.N., Traber, D.L.
Effects of nitric oxide synthesis inhibition in hyperdynamic endotoxemia
Crit Care Med (1994) 22: 306-312
59. Meyer, J., Traber, L.D., Nelson, S., Lentz, C.W., Nakazawa, H., Noda, H., Herndon, D.N., Traber, D.L.
Reversal of hyperdynamic response to continuous endotoxin administration by inhibition of NO-synthesis
J Appl Physiol (1992) 73: 324-328
60. Moncada, S., Higgs, A.
The L-Arginine NO Pathway
N Engl J Med (1993) 329: 2002-2012
61. Moncada, S., Palmer, R.M.J., Higgs, E.A.
Nitric oxide: Physiology, Pathophysiology and Pharmacology
Pharmacol Rev (1991) 43: 109-142
62. Mourelatos, M.G., Enzer, N., Ferguson, J.L., Rypins, E.B., Burhop, K.E., Law, W.R.
The effects of diaspirin crosslinked hemoglobin in sepsis
Shock (1996) 5: 141-148
63. Nava, E., Palmer, R.M., Moncada, S.
Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: How much is beneficial?
Lancet (1991) 338: 1555-1557
64. Otterbein, L., Sylvester, S.L., Choi, A.M.K.
Hemoglobin provides protection against lethal endotoxemia in rats: The role of heme oxygenase-1
Am J Respir Cell Mol Biol (1995) 13: 595-601
65. Pajkrt, D., Deventer van, S.J.H.
The Cellular Response in Sepsis
In: Pathology of Septic Shock
Rietschel, E.T., Wagner, H. (Hrsg.)
Springer Verlag (1996): 119-132

66. Palmer, J.
The Discovery of NO in the Vessel Wall
Arch Surg (1993) 128: 396-401
67. Palmer, R.M., Ferrige, A.G., Moncada, S.
Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor
Nature (1987) 327: 524-526
68. Parillo, J.E.
Septic shock in humans
Annals of Internal Med (1990) 113: 227-242
69. Parillo, J.E.
Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock
N Engl J Med (1993) Vol. 328, No.20: 1471-1477
70. Perrella, M.A., Hildebrand, F.L., Margulies, K.B., Burnett, J.C.
Endothelium-derived relaxing factor in regulation of basal cardiopulmonary and renal function
Am J Physiol (1991) 261: R323-R328
71. Petros, A., Bennet, D., Vallance, P.
Effects of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock
Lancet (1991) 338: 1557-1558
72. Petros, A., Lamb, A.L., Moncada, S., Bennet, D., Vallance, P.
Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock
Cardiovasc Res (1994) 28: 34-39
73. Pinner, R.V.
Trends in infectious disease mortality in the United States
JAMA (1996) 275: 189-193
74. Rangel-Fausto, M.S., Pittet, D., Costigan, M., Hwang, T., Davie, C.S. et al.
The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS)
JAMA (1995) 273: 117-123
75. Reah, G., Bodenham, A.R., Mallick, A., Daily, E.K., Przybelski, R.J.
Initial evaluation of diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) as a vasopressor in critically ill patients
Crit Care Med (1997) 25: 1480-1488

76. Redl, H., Bahrami, S., Schlag, G. et al.
Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia
Immunobiology (1993) 187: 330-345
77. Rees, D.D., Palmer, R.M.J., Schulz, R., Hodson, H.F., Moncada, S.
Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo
Br J Pharmacol (1990) 101: 746-752
78. Rioux, F., Petitclerc, E., Audet, R. et al.
Recombinant human hemoglobin inhibits both constitutive and cytokine-induced nitric oxide-mediated relaxation of rabbit isolated aortic rings
J Cardiovasc Pharmacol (1994) 24: 229-237
79. Rioux, F., Drapeau, G., Marceau, F.
Recombinant human hemoglobin selectively inhibits vasorelaxation elicited by nitric oxide donors in rabbit isolated aortic rings
J Cardiovasc Pharmacol (1995) 25: 587-594
80. Ruokonen, E., Takala, J., Kari, A., Alhava, E.
Septic shock and multiple organ failure
Crit Care Med (1991) 19: 1146-1151
81. Sahl, H.G.
Aufbau und Morphologie der Bakterienzelle
In: Lehrbuch der med. Mikrobiologie
Brandis, H., Eggers, H.J., Köhler, W., Pulverer, G. (Hrsg.)
G.Fischer Verlag, Stuttgart (1994): 63-79
82. Salvo, I., de Cian, W., Musico, M., Langer, M., Paden, R., Wolfler, A., Montani, C., Magni, E.
The Italian SEPSIS study
Intensiv care medicine (1995) 21: 244-249
83. Sands, K.E., Bates, D.W., Lankester, P.N. et al.
Epidemiology of sepsis syndrome in eight academic medical centers
JAMA (1997) 278: 234-240
84. Schilling, J., Cakmakci, M., Bättig, U., Geroulanos, S.
A new approach in the treatment of hypotension in human septic shock by N^G-monomethyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthetase
Int Care Med (1993) 19: 227-231

85. Schultz, S.C., Grady, B., Cole, F., Hamilton, I., Burhop, K., Malcom, D.S.
A role for endothelin and nitric oxide in the pressor response to diasperin cross-linked hemoglobin
J Lab Clin Med (1993) 12: 301-308
86. Sharma, V.S., Traylor, T.G., Gardiner, R. et.al.
Reaction of nitric oxide with heme proteins and model compounds of hemoglobin
Biochemistry (1987) 26: 3837-3843
87. Shapiro, I., Gelfand, J.A.
Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy
New Horizons (1993) 1: 13-27
88. Shultz, P.J., Rajj, L.
Endogenously synthesized nitric oxide prevents endotoxin-induced glomerular thrombosis
J Clin Invest (1992) 90: 1718-1725
89. Suffredini, A.F., Fromm, R.E., Parker, M.M., Kovacs, J.A., Wesley, R.A., Parillo, J.E.
The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin
N Engl J Med (1989) 321: 280-287
90. Szabo, C.
Alterations in NO Production in Various Forms of Circulatory Shock
New Horizons (1995) 3: 2-32
91. Teale, D.M., Atkinson, A.M.
Inhibition of nitric oxide synthesis improves survival in a murine peritonitis model of sepsis that is not cured by antibiotics alone
J Antimicrob Chemother (1992) 30: 839-842
92. Theissen, J.L., Loick, H.M., Curry, B.B., Traber, L.D., Herndon, D.N., Traber, D.L.
Time course of hypoxic pulmonary vasoconstriction after endotoxin infusion in unanaesthetized sheep
J Appl Physiol (1991) 70: 21120-2125
93. Thiemermann, C., Vane, J.
Inhibition of NO synthesis reduces the hypotension induced by LPS in the rat
Eur J Pharmacol (1990) 182: 591-595

94. Tolins, J.P., Shultz, P.J., Raij, L.
Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of vascular tone and remodeling. Update on humoral regulation of vascular tone
Hypertension (1991) 17: 909-916
95. Traber, D.L., Redl, H., Schlag, G. et al.
Cardiopulmonary responses to continuous administration of endotoxin
Am J Physiol (1988) 254: H 833-H 839
96. Tresham, J.J., Dusting, G.J., Coghlan, J.P., Whitworth, J.A.
Haemodynamic and hormonal effects of N-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide biosynthesis, in sheep
Clin Exp Pharmacol Physiol (1991) 18: 327-330
97. Ulatowski, J.A., Nishikawa, T., Matheson-Urbaitis, B., Bucci, E., Traystman, R.J.K.
Regional blood flow alterations after bovine $\beta\beta$ -cross-linked hemoglobin transfusion and nitric oxide Synthaseinhibition
Crit Care Med (1996) 24 : 558-565
98. Vallance, P., Collier, J., Moncada, S.
Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man
Lancet (1989)336: 997-1000
99. Vallance, P., Moncada, S.
Role of endogenous nitric oxide in septic shock
New Horizons (1993) 1: 77-86
100. Wennmalm, A., Benthin, G., Edlund, A., Kieler-Jensen, N., Lundin, S., Petersson, A.S., Waagstein, F.
Nitric oxide synthesis and metabolism in man
Ann N Y Acad Sci (1994) 714: 158-164
101. Wenzel, R.P., Pinsky, M.R., Ulevitch, R.J., Young, L.
Current Understanding of Sepsis
CID (1996) 22: 407-413
102. Wright, C.E., Rees, D.D., Moncada, S.
Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxine shock
Cardiovasc Res (1992) 26: 48-57
103. Yabuki, A., Yamaji, K., Ohki, H. et al.
Characterization of a pyridoxalated hemoglobin-polyoxyethylene conjugate as a physiologic oxygen carrier
Transfusion (1990) 30: 516-520

104. Zanetti, G., Baumgartner, J.D., Glauser, M.P.
Sepsis and septic shock
Schweiz Med Wochenschr (1997) 127: 489-499

105. Zappellini, A., Moreno, H., Antunes, E., de Nucci, G.
Dissociation between the increase in systemic vascular resistance induced by acute nitric oxide synthesis inhibition and the decrease in cardiac output in anesthetized dogs
J Cardiovasc Pharmacol (1997) 29: 45-48

Danksagung

Für die Überlassung des Themas, die hilfreiche und geduldige Betreuung danke ich ganz besonders Herrn Privatdozent Dr. H.-G. Bone.

Ebenfalls danken möchte ich all denen, die mir durch Ihre Geduld und Aufmunterung bei der Entstehung dieser Arbeit sehr geholfen haben. Mein besonderer Dank gilt hierbei meinen Eltern Hermann und Dorothea Buntrock, die jahrelang meine uneingeschränkt Arbeit unterstützt haben.

Lebenslauf

Name: Katja Buntrock

Geboren am: 10. 09. 1970 in Mettmann als Tochter von Hermann und Dorothea Buntrock

Staatsangeh.: deutsch

Familienstand: ledig

1977 - 1981 Wiesegrundschule, Soest

1981 - 1990 Aldegrever-Gymnasium, Soest

28.05.1990 Abitur am Aldegrever-Gymnasium in Soest

1990 - 1993 Krankenpflegeausbildung im Evang. Krankenhaus, Düsseldorf

WS 1993 Aufnahme des Medizinstudiums an der Westf.-Wilhelms-Universität, Münster

13.03.1996 Ärztliche Vorprüfung

25.03.1997 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

19.03.1999 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

1999 – 2000 Praktisches Jahr im kantonalen Spital Wolhusen, Schweiz, und Stadtkrankenhaus Soest

08.05.2000 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

2000 - 2002 AiP in der Klinik der Landeshauptstadt Düsseldorf, Gerresheim

01.01.2002 Approbation

seit 01.01.2002 Assistenzärztin in der Klinik der Landeshauptstadt Düsseldorf, Gerresheim, Abteilung für Anästhesiologie

Düsseldorf, 06.08.2002

Anhang

A: Genehmigungsbescheid der Bezirksregierung Münster vom 30.07.1996

B: Genehmigungsbescheid der Bezirksregierung Münster vom 24.10.1996



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster . 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin
Herrn Dr. Hans-Georg Bone
Albert-Schweitzer-Str. 33

Dienstgebäude
Alter Steinweg 22-24
Telefon: (0251) 411-0
Durchwahl: 2110
Zimmer: G 106
Frau Möllers

Aktenzeichen
23.0835.1.0 (34/96)

190. Juli 1996

48149 Münster

Betr.: Tierschutz;
hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 09.05.1996

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Bone,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Neufassung vom 17. Februar 1993 (BGBl. I S. 254) in geltender Fassung wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

Rolle von Kohlenmonoxid und von dem Kohlenmonoxid-bildenden Enzym Hämoxygenase bei hyperdynamer Sepsis im chronisch instrumentierten Schaf.

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
Priv.-Doz. Dr. J. Meyer
Klinik u. Poliklinik für
Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster

Herr
Dr. H.-G. Bone
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster, 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin
Herrn Dr. Hans-Georg Bone
Albert-Schweitzer-Str. 33

Dienstgebäude
Alter Steinweg 22-24
Telefon: (0251) 411-0
Durchwahl: 2110
Zimmer: G 106
Frau Möllers

Aktenzeichen
23.0835.1.0 (54/96)

24. Oktober 1996

48149 Münster

Betr.: Tierschutz;
hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 05.09.1996

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Bone,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Neufassung vom 17. Februar 1993 (BGBl. I S. 254) in geltender Fassung wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Expression mediatorproduzierender Enzyme und Endothelinrezeptoren während der kontinuierlichen Endotoxinämie im wachen Schaf.

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
Priv.-Doz. Dr. Jörg Meyer
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Albert-Schweitzer-Str. 33

Herr
Dr. Hans-Georg Bone
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster

48149 Münster