

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

**Wirkung des Kaliumkanalblockers Glipizid
auf den Noradrenalinbedarf und das Überleben
in einem chronisch- instrumentierten,
endotoxinämischen Schafmodell**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität
vorgelegt von Klimm, Manuela
aus Görlitz
2012

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

Dekan: Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz
1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Lange
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Edwin Herrmann
Tag der mündlichen Prüfung: 06.08.2012

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Hugo von Aken -
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Lange
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Edwin Herrmann

Zusammenfassung

Wirkung des Kaliumkanalblockers Glipizid auf den Noradrenalinbedarf und das Überleben in einem chronisch- instrumentierten, endotoxinämischen Schafmodell

Klimm, Manuela

Einleitung und Fragestellung: Bei steigenden Inzidenzen von Sepsis und septischem Schock wird intensiv nach Alternativen zu bereits bestehenden Therapiemöglichkeiten geforscht. Insbesondere stellt die effektive Behandlung der gegen Katecholamine refraktären Vasodilatation und der damit verbundenen arteriellen Hypotension eine Herausforderung dar. Die Blockade Adenosin-3'5'-triphosphat (ATP)-sensitiver Kalium (K_{ATP})-Kanäle ist ein Ansatzpunkt zur Regulation des Tonus der glatten Gefäßmuskulatur. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, am Modell des chronisch instrumentierten, endotoxinämischen Schafes zu untersuchen, wie sich die selektive Blockade von K_{ATP} -Kanälen durch das Sulfonylharnstoffderivat Glipizid auf den Noradrenalinbedarf, das Überleben, die Makrohämodynamik und die Diurese auswirkt. Effektivität und Nebenwirkungsspektrum wurden durch Messung der kardiopulmonalen Hämodynamik, des globalen Sauerstofftransports, des Säure-Basen-Status und der Diurese bestimmt.

Methoden und Ergebnisse: Zwanzig Schafe (Gewicht: 37 ± 1 kg; Tierversuchsvorhaben G 9.93.2.10.36.07.126 vom 30.06.2009) wurden in zwei äquivalente Gruppen (Glipizidgruppe, Kontrollgruppe) randomisiert und für die hämodynamische Überwachung mit einem Pulmonalarterienkatheter, einer arteriellen Kanüle und einem Blasenkateter instrumentiert. Alle Tiere erhielten eine kontinuierliche Endotoxin-Infusion (*Salmonella typhosa*, $5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) welche stündlich verdoppelt wurde und die zu einer hypotensiven-hyperdynamen Zirkulation, einer pulmonalen Hypertonie und einem Anstieg der arteriellen Laktatkonzentration führte. Die kontinuierliche Infusion von Glipizid ($8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) war mit einem signifikanten Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandsindex, einer signifikanten Reduktion des Herzindex, des Sauerstoffangebotsindex und einer geringfügigen Diuresesteigerung vs. der Kontrollgruppe assoziiert. Die Behandlung mit Glipizid führte jedoch zu keiner signifikanten Verringerung des Noradrenalinbedarfs ($p > 0,05$). Weiterhin gingen die hämodynamischen Effekte mit keinem Überlebensvorteil gegenüber der mit 0,9% NaCl-Lösung und Noradrenalin behandelten Kontrollgruppe einher.

Schlussfolgerungen: Die kontinuierliche Infusion von Glipizid konnte die endotoxinbedingten Veränderungen in der Hämodynamik der Versuchstiere teilweise umkehren und stellt damit eine potenzielle adjuvante Möglichkeit zur Therapie der Sepsis-induzierten arteriellen Hypotension dar. Zukünftige Studien werden klären müssen, ob alternative Glipiziddosierungen mit einer signifikanten Verringerung des Noradrenalinbedarfs und einem Überlebensvorteil assoziiert sind.

Tag der mündlichen Prüfung: 06.08.2012

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich gebe hiermit die Erklärung ab, dass ich die Dissertation mit dem Titel:

„Wirkung des Kaliumkanalblockers Glipizid auf den Noradrenalinbedarf und das Überleben in einem chronisch – instrumentierten, endotoxinämischen Schafmodell“

in der: Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin

unter Anleitung von: Herr Priv.-Doz. Dr. med. M. Lange

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

Münster, 06.08.2012

Unterschrift

Für meine Eltern

Inhalt

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
TABELLENVERZEICHNIS	IX
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	X
1. EINLEITUNG	1
1.1 SEPSIS	1
1.1.1 Epidemiologie.....	1
1.1.2 Definition.....	1
1.1.3 Pathogenese	2
1.1.3.1 Erregerspektrum.....	3
1.1.3.2 LPS-vermittelte Entzündung	3
1.1.3.3 Sepsis-induzierte Vasodilatation	5
1.1.3.3.1 Gesteigerte Freisetzung von NO	6
1.1.3.3.2 Gesteigerte Öffnung von K ⁺ -Kanälen im septischen Schock.....	7
1.1.3.3.3 Aktivierung ATP-gesteuerter K ⁺ -Kanäle	8
1.1.3.3.4 Aktivierung Ca ²⁺ -gesteuerter K ⁺ -Kanäle.....	8
1.1.3.3.5 Relativer Mangel an Arginin - Vasopressin.....	9
1.1.4 Klinik der Sepsis.....	10
1.1.4.1 Multiorganversagen.....	11
1.1.5 Therapie.....	12
1.1.5.1 Kausale Therapie.....	12
1.1.5.2 Supportive Therapie	12
1.1.5.3 Adjuvante Therapie	13
1.2 DIE K_{ATP}-KANÄLE.....	14
1.2.1 Molekulare Struktur der K _{ATP} -Kanäle	14
1.2.1.1 Die Kir.6x - Untereinheit	14
1.2.1.2 Der Sulfonylharnstoffrezeptor (SUR)	16
1.2.2 Vorkommen und Funktion der K _{ATP} -Kanäle.....	18
1.2.3 Gewebespezifische Verteilung der K _{ATP} -Untereinheiten.....	19
1.2.4 Pharmakologie der K _{ATP} -Kanäle.....	20
1.3 GLIPIZID	21

1.3.1	Molekülstruktur von Glipizid	21
1.3.2	Rezeptorwirkung von Glipizid	21
1.3.3	Systemische Wirkung von Glipizid	22
1.3.4	Unerwünschte Effekte von Glipizid	23
1.3.5	Mögliche Bedeutung von Glipizid für die Therapie der Sepsis.....	23
1.4	FRAGESTELLUNG DER VORLIEGENDEN UNTERSUCHUNG.....	24
2.	MATERIAL UND METHODEN	25
2.1	VERSUCHSTIERE	25
2.2	INSTRUMENTIERUNG	25
2.2.1	Anästhesie.....	25
2.2.2	Pulmonalarterienkatheter.....	26
2.2.2.1	Vorbereitung und Sterilisation	26
2.2.2.2	Einführen des Pulmonalarterienkatheters.....	27
2.2.2.3	Ermittelte Parameter.....	27
2.2.3	Arterielle Kanüle.....	28
2.2.4	Harnblasenkatheter.....	28
2.2.5	Abschluss der Instrumentierung.....	29
2.3	DAS VERSUCHSPROTOKOLL.....	29
2.3.1	Einschlusskriterien.....	29
2.3.2	Endotoxinämie und endotoxinämischer Schock.....	30
2.3.3	Versuchsgruppen	30
2.3.4	Volumen- und Katecholamintherapie.....	30
2.3.5	Blutgasanalyse	31
2.3.6	Versuchsende.....	31
2.4	FORMELN ZUR BERECHNUNG DER PARAMETER DER SYSTEMISCHEN HÄMODYNAMIK UND DES GLOBALEN SAUERSTOFFTRANSPORTS	32
2.5	STATISTISCHE ANALYSEN	32
3.	ERGEBNISSE	34
3.1	AUSWIRKUNGEN DER KONTINUIERLICHEN ENDOTOXININFUSION (BL1 vs. BL2)34	
3.1.1	Systemische Hämodynamik.....	34
3.1.2	Pulmonale Hämodynamik	35
3.1.3	Globaler Sauerstofftransport.....	35
3.1.4.	Säure-Basen- und Elektrolythaushalt und Körpertemperatur.....	36
3.1.5.	Blutzuckerspiegel.....	37

3.1.6	Diurese.....	37
3.2.	AUSWIRKUNGEN DER KONTINUIERLICHEN GLIPIZIDINFUSION	38
3.2.1	Noradrenalinbedarf.....	38
3.2.2	Überlebenszeit während 12 Stunden.....	39
3.2.3	Systemische Hämodynamik.....	40
3.2.4	Pulmonale Hämodynamik	45
3.2.5	Globaler Sauerstofftransport	46
3.2.6	Säure-Basen- und Elektrolythaushalt und Körperkerntemperatur	49
3.2.7	Blutzuckerspiegel im Serum	49
3.2.8	Diurese	50
4.	DISKUSSION	51
4.1	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.....	51
4.2	DIE EIGNUNG DES SCHAFES ALS VERSUCHSTIER	52
4.3	AUSWIRKUNGEN DER KONTINUIERLICHEN ENDOTOXININFUSION (BL1 vs. BL2)	53
4.3.1	Systemische Hämodynamik.....	53
4.3.2	Pulmonale Hämodynamik	55
4.3.3	Globaler Sauerstofftransport.....	55
4.3.4	Säure-Basen und Elektrolythaushalt.....	56
4.4	AUSWIRKUNGEN DER KONTINUIERLICHEN GLIPIZIDINFUSION	56
4.4.1	Systemische Hämodynamik.....	56
4.4.2	Pulmonale Hämodynamik	57
4.4.3	Sauerstoffversorgung während der kontinuierlichen Glipizidinfusion	58
4.4.4	Säure - Basen und Elektrolythaushalt	58
4.4.5	Noradrenalinverbrauch	59
4.4.6	Auswirkungen auf das Überleben	59
4.5	BEZUG ZU ANDEREN STUDIEN.....	60
4.5.1	Resultate in Abhängigkeit von der Applikationsweise (enteral vs. iv)	61
4.5.2	Ursachen der Unterschiede zwischen enteraler und iv. Applikation.....	62
4.5.3	Einfluss der Dosis des verabreichten Sulfonylharnstoffderivates	63
4.5.3.1	Auf den Blutzuckerspiegel	63
4.5.3.2	Auf die Hämodynamik	64
4.5.4	Einfluss der LPS - Dosierung auf das Überleben.....	65
5.	METHODENKRITIK	66
6.	SCHLUSSFOLGERUNGEN	66

7. LITERATURVERZEICHNIS	68
8. DANKSAGUNG	81
9. LEBENSLAUF	82
10. ANHANG	84

Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
ADP	Adenosin-3'-5'-diphosphat
APC	Aktiviertes Protein C
ARDS	Acute respiratory distress syndrome ($\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 < 200$)
ATP	Adenosin-3'-5'-triphosphat
AVP	Arginin – Vasopressin
BE	Base Excess (Basenüberschuss)
BL	Baseline
BSA	Body surface area (Körperoberfläche)
CD	Cluster of Differentiation
cGMP	Zyklisches Guanosin-3'-5'-monophosphat
CI	Cardiac Index (Herzindex)
cNOS	konstitutionelle Stickstoffmonoxidsynthetase
cHb	Hemoglobin concentration (Hämoglobinkonzentration)
CO	Cardiac Output (Herzzeitvolumen)
CVP	Central Venous Pressure (zentraler Venendruck)
DIC	Disseminated intravascular coagulation (disseminiert intravaskuläre Gerinnung)
DO ₂ I	Oxygen delivery index (Sauerstoffangebotsindex)
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarization factor
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthetase
FiO ₂	Inspiratorische O ₂ -Fraktion
F	French (1 F = 1/3 mm)

G	Gauge (Maßeinheit für den Außendurchmesser von Kanülen; der Gauge-Wert entspricht dabei der Anzahl der Kanülen, die auf einen cm ² passen.)
GEE	Generalized Estimating Equations
GFG	Glycin-Phenylalanin-Glycin
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
HR	Heart rate (Herzfrequenz)
Hct	Hematocrit (Hämatokrit)
IFN	Interferon
IL	Interleukin
Indices	a = arteriell; cv = central venous
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxidsynthetase
iv.	intravenös
iz.	intrazellulär
K _{ATP} -Kanal	Adenosin-3'5'-triphosphat sensitiver Kalium-Kanal
Kdo	Ketodesoxyoctonsäure
KG	Körpergewicht
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid
LVSWI	Left ventricular stroke work index (linksventrikulärer Schlagarbeitsindex)
MAP	Mean arterial pressure (mittlerer arterieller Druck)
MDF	Myocardial depressant factor
MLCK	Myosin light-chain kinase (Myosinleichtkettenkinase)
MODS	Multi organ dysfunction syndrome

	(Multiorgandysfunktionssyndrom)
MOF	Multi organ failure (Multiorganversagen)
MPAP	Mean pulmonary arterial pressure (mittlerer pulmonalarterieller Druck)
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxidsynthetase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthetase
O ₂ -ER	Oxygen extraction rate (Sauerstoffextraktionsrate)
PAF	Plättchenagglutinierender Faktor
PAK	Pulmonalarterienkatheter
PaCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PCWP	Pulmonary capillary wedge pressure (pulmonalkapillärer Verschlussdruck)
PG	Prostaglandin
PGI ₂	Prostacyclin
pH	Potentia hydrogenii
PO ₂	Arterieller O ₂ -Partialdruck
PVRI	Pulmonary vascular resistance index (pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstandsindex)
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RVSWI	Right ventricular stroke work index (rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex)
SAP	Systemic arterial pressure (Systemischer arterieller Druck)
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SEM	Standard error of the mean (mittlere Standardabweichung)
SIRS	Systemic Inflammatory response syndrome
SO ₂	Oxygen saturation (Sauerstoffsättigung)

SvO ₂	Mixed venous oxygen saturation (gemischt-venöse Sauerstoffsättigung)
SUR	Sulfonylharnstoffrezeptor
SV	Stroke volume (Schlagvolumen)
SVI	Stroke volume index (Schlagvolumenindex)
SVR	Systemic vascular resistance (systemischer Gefäßwiderstand)
SVRI	Systemic vascular resistance index (systemischer Gefäßwiderstandsindex)
T	Körperkerntemperatur
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TX	Thromboxan
USA	United States of America
VO ₂ I	Oxygen consumption index (Sauerstoffverbrauchsindex)
WWU	Westfälische Wilhelms-Universität
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Klinische Kriterien von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock nach der ACCP/SCCM Konsensus Konferenz	2
Tabelle 1.2: Gewebespezifische Verteilung der K_{ATP} -Untereinheiten	19
Tabelle 2.1: Formeln zur Berechnung der systemischen Hämodynamik	32
Tabelle 2.2: Formeln zur Berechnung des globalen Sauerstofftransports	32
Tabelle 3.1: Parameter der systemischen Hämodynamik zu BL1 und BL2	34
Tabelle 3.2: Parameter der pulmonalen Hämodynamik zu BL1 und BL2	35
Tabelle 3.3: Einfluss der Endotoxinämie auf die Parameter der globalen Sauerstoffversorgung	36
Tabelle 3.4: Einfluss der Endotoxinämie auf die Parameter des Säure-Basen- und Elektrolythaushaltes und die Körperkerntemperatur	37
Tabelle 3.5: 12 Stunden Überleben nach Gruppen	39
Tabelle 4.1: In vivo Studien zu K_{ATP} -Kanal-Hemmung in Endotoxinämie und septischem Schock	60

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1:	Chemische Struktur von LPS	4
Abbildung 1.2:	Schematische Darstellung der NO-vermittelten Vasodilatation	7
Abbildung 1.3:	Topologie des ATP-abhängigen Kaliumkanals	15
Abbildung 1.4:	Molekularer Aufbau von spannungsabhängigen Kaliumkanälen	17
Abbildung 1.5:	Molekülstruktur von Glipizid	21
Abbildung 1.6:	Zellulärer Mechanismus der Glipizid-induzierten Vasokonstriktion	22
Abbildung 2.1:	Kurvenzug während des Einschwemmens eines Pulmonalarterienkatheters	27
Abbildung 3.1:	Verlauf des Noradrenalinbedarfs	38
Abbildung 3.2:	Überlebenszeiten der Glipizid- vs. der Kontrollgruppe	39
Abbildung 3.3:	Verlauf des mean arterial pressure	40
Abbildung 3.4:	Verlauf des systemic vascular resistance index	41
Abbildung 3.5:	Verlauf der heart rate	42
Abbildung 3.6:	Verlauf des cardiac index	43
Abbildung 3.7:	Verlauf des stroke volume index	44
Abbildung 3.8:	Verlauf des mean pulmonary arterial pressure	45
Abbildung 3.9:	Verlauf des pulmonary vascular resistance index	46
Abbildung 3.10:	Verlauf der arterial oxygen saturation	47
Abbildung 3.11:	Verlauf des oxygen delivery index	48
Abbildung 3.12:	Verlauf des oxygen consumption index	48
Abbildung 3.13:	Verlauf der arteriellen Laktatkonzentration	49
Abbildung 3.14:	Verlauf der Urinausscheidung	50

1. EINLEITUNG

1.1 Sepsis

1.1.1 Epidemiologie

Die Sepsis stellt weltweit eine der häufigsten Todesursachen bei kritisch kranken Patienten dar [91,113,116,125]. Die Mortalität ist seit Jahren, trotz weitreichender Fortschritte in der Intensivmedizin, unverändert hoch [53].

Allein in Deutschland erkranken pro Jahr 79.000 (116/100.000) Einwohner an einer Sepsis und 75.000 (110/100.000) an einer schweren Sepsis bzw. septischem Schock. Pro Jahr versterben daran ca. 60.000 Personen [23]. Betroffen sind 2 bis 3 % der Patienten einer Normalstation und 15% der Patienten einer Intensivstation [157].

Legt man für einen Patienten mit schwerer Sepsis Behandlungskosten von etwa 23 200 Euro zugrunde, so ergibt sich für das deutsche Gesundheitssystem eine jährliche Belastung von 1 bis 2 Milliarden Euro [97]. Diese Kosten machen damit 21 bis 46 % der Gesamtkosten der Intensivmedizin in Deutschland aus [152]. Aufgrund der demographischen Veränderungen ist zukünftig mit einer Zunahme von Inzidenz und Gesamtletalität zu rechnen. Diese Daten unterstreichen die immense medizinische und wirtschaftliche Bedeutung einer effizienten Behandlung dieses Krankheitsbildes [97].

1.1.2 Definition

Die Komplexität der pathophysiologischen Vorgänge macht eine Definition schwer. Im Jahr 1992 erstellte das "US Expert Panel for the American College of Chest Physicians and Society of Critical Care Medicine" (ACCP/SCCM) eine Übereinkunft zur Definition der Sepsis [22]. Seitdem werden das sogenannte „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS), Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock getrennt definiert.

Danach ist Sepsis ein SIRS (Tachykardie, Fieber, Leukozytose, Tachypnoe) mit einer nachgewiesenen Infektion [19]. Die klinischen Kriterien des SIRS und der verschiedenen Schweregrade der Sepsis sind in Tabelle 1.1 zusammengefasst.

Tabelle 1.1: Klinische Kriterien von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock nach der ACCP/SCCM Konsensus-Konferenz

Syndrom	Kriterien
SIRS (<i>mindestens 2 Kriterien</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • Herzfrequenz $>90 \text{ min}^{-1}$ • Körperkerntemperatur $<36 \text{ °C}$ oder $>38 \text{ °C}$ • Leukozytenzahl $>12000 \mu\text{l}^{-1}$ oder $<4000 \mu\text{l}^{-1}$ oder eine Linksverschiebung im Differenzialblutbild mit mehr als 10 % unreifen neutrophilen Granulozyten • Atemfrequenz $>20 \text{ Atemzüge} \cdot \text{min}^{-1}$ oder ein $p_a\text{CO}_2 <32 \text{ mmHg}$ (4,3 kPa)
Sepsis	Infektiöse Ätiologie des SIRS bzw. jede andere Ursache muss unwahrscheinlich sein
Schwere Sepsis	Sepsis und Organdysfunktion bzw. Hypoperfusion oder Hypotension
Septischer Schock	SAP $<90 \text{ mmHg}$ trotz Volumensubstitution bzw. Einsatz vasoaktiver Substanzen mit α -adrenerger Wirkkomponente zur Steigerung des MAP auf mindestens 60 mmHg

Legende: MAP = „mean arterial pressure“, SAP = “systolic arterial pressure”, SIRS = “systemic inflammatory response syndrome”.

1.1.3 Pathogenese

Vereinfacht ausgedrückt liegt der Entstehung einer Sepsis ein Versagen des Immunsystems zugrunde. Pathogenetisch grundlegend ist die Invasion von Erregern oder deren Toxinen in den Kreislauf.

Die vier häufigsten Eintrittspforten für Keime, die eine Sepsis oder eine schwere Sepsis auslösen, sind der Urogenitaltrakt, das Abdomen, die Atemwege sowie intravaskuläre Katheter [22].

In der Folge kommt es, meist über den Blutkreislauf, zu einer Ausbreitung der Infektion auf den gesamten Körper. Die im Falle einer Lokalinfektion sinnvolle Entzündungsreaktion mit Anlockung von Leukozyten durch auf Endothelzellen exprimierte Adhäsionsmoleküle, entwickelt sich nun zum eigentlichen Motor der Sepsis [159].

Die in einer überschießenden Reaktion aus Monozyten freigesetzten großen Mengen an pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen, wie z.B. Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin (IL)-1 β , IL-6 und Interferon (IFN- γ) [26], führen zu einer systemischen Entzündungsreaktion. Die in der Folge induzierte Öffnung Adenosin-3'5'-triphosphat-(ATP)-sensitiver K^+ (K_{ATP})-Kanäle, Ca^{2+} -gesteuerter K^+ (K_{Ca2+})-Kanäle sowie die Ausschüttung großer Mengen Stickstoffmonoxid (NO) durch die induzierbare NO-Synthetase (iNOS) [40,64], trägt zur Vasodilatation, dem Abfall des „mean arterial pressure“ (MAP) [78], der Bildung von Mikrothromben, Durchblutungsstörungen, verminderten Gewebeoxygenierung und Laktatazidose bei.

1.1.3.1 Erregerspektrum

Den Großteil der Erreger stellen grampositive Keime (v.a. Staphylokokkus aureus, Koagulase-negative Staphylokokken, Streptokokkus pneumoniae) und gramnegative Keime (v.a. Escherichia coli, Klebsiella sp. und Pseudomonas aeruginosa) dar. Zunehmende Bedeutung gewinnen Pilzinfektionen. So stieg die Zahl der durch Pilzinfektionen bedingten septischen Fälle in den USA zwischen 1979 und 2000 um 207 Prozent [91].

1.1.3.2 LPS-vermittelte Entzündung

Einer der wesentlichen Auslöser der Sepsis ist das in der Zellwand gramnegativer Bakterien befindliche Endotoxin (ein Lipopolysaccharid - oft als LPS abgekürzt) [99], (Abb:1.1), welches beim Zerfall der Bakterien freigesetzt wird und an körpereigenes LPS-bindendes Protein (LPB) andockt. Dieser LPS-LPB-Komplex aktiviert den CD 14-Rezeptor (Cluster of Differentiation), der entweder löslich im Plasma oder membrangebunden auf der Oberfläche von Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten vorliegt.

Lösliches CD14 kann LPS im Plasma binden und es auch an Gefäßendothelien transferieren, die das Oberflächenantigen CD14 nicht selbst exprimieren [119].

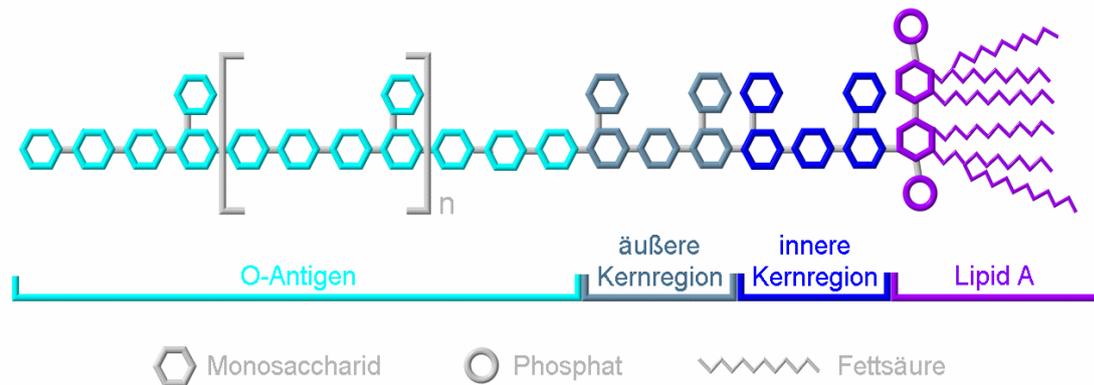


Abbildung 1. 1: Chemische Struktur von LPS [86]

Das LPS besteht aus einem Polysaccharidanteil (O-Antigen, äußere Kernregion, innere Kernregion) und einer Lipidkomponente - Lipoid A. Der Lipoid-A-Anteil des Endotoxins wird als Hauptträger der Immunogenität betrachtet [12]. Das O-Antigen wird aus bis zu 50 (n) Oligosacchariden, die sich aus drei bis acht verschiedenen Einzelzuckern zusammensetzen, gebildet. Der äußere Kern enthält die häufig vorkommenden Saccharide Glukose, Galaktose, Glukosamin und Galaktosamin, während der innere Kern den in der Natur selten synthetisierten Zucker Ketodesoxyoctonsäure (Kdo) und Heptosereste, die phosphoryliert sein können, enthält. Das Grundgerüst des Lipoid A ist ein phosphoryliertes Glukosamindisaccharid, welches vier Fettsäurereste trägt, von denen zwei wiederum sekundär acyliert sind.

Diese Verbindung löst eine Signaltransduktion und Aktivierung des Monozyten-Makrophagensystems mit überschießender Freisetzung von Mediatoren wie Zytokinen (TNF, IL, IFN) und Lipidmediatoren (Thromboxan (TX), Prostaglandine (PG), Leukotriene, plättchenagglutinierender Faktor (PAF)) aus, welche zur systemischen Immunantwort führen und vom septischen Schock über Organschäden bis hin zum „multi organ failure“ (MOF) reichen können [4].

Direkt ursächlich für das Kreislaufversagen im Rahmen einer Sepsis ist dabei die überschießende Aktivierung der humoralen und zellulären Abwehrmechanismen mit Aktivierung des Komplementsystems, Störungen der Gerinnungskaskade, des Kallikrein-Kinin-Systems und Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), der Hemmung catecholaminsensitiver Rezeptoren, Endothelzellschädigung sowie einer

exzessiven NO-Freisetzung. Maßgeblich beteiligt sind bei septischer Reaktion auf gramnegative Keime vor allem Makrophagen, auf grampositive Keime T-Lymphozyten. Die Sepsis mit grampositiven Erregern, die in manchen Studien das häufigste Isolat bei positiven Blutkulturen darstellten [122], soll durch verschiedene Exotoxine ausgelöst werden, welche auch zu einer Mediatorenausschüttung führen, allerdings langsamer und nicht so überschießend wie bei einer Sepsis durch gramnegative Erreger [6].

1.1.3.3 Sepsis-induzierte Vasodilatation

Ein Abfall des arteriellen Blutdrucks wird vom Körper gewöhnlich durch eine generalisierte Vasokonstriktion beantwortet, mit dem Ziel, einen adäquaten Perfusionsdruck und einen maximalen venösen Rückstrom zu gewährleisten.

In der Sepsis und im septischen Schock kommt es trotz massiver kompensatorischer Erhöhung des Plasma-Katecholaminspiegels und Aktivierung des RAAS, oft nicht zu einem ausreichenden Anstieg des Gefäßwiderstandes [14,79] und es resultiert ein vasodilatatorischer Schock, der durch eine massive Vasodilatation auf Ebene der Widerstandsgefäße und der Kapazitätsgefäße gekennzeichnet ist [79].

Das Ausmaß dieser Reaktion ist sowohl vom Typ des Blutgefäßes als auch vom zeitlichen Verlauf der Erkrankung abhängig [142]. Da die glatte Gefäßmuskulatur zu keiner dauerhaft adäquaten Konstriktion fähig ist, liegt es nahe, dass bei der Sepsis eine Funktionsstörung der Gefäßmuskelzellen vorliegt [79].

Als Ursache der gestörten Gefäßmuskelkontraktion und der daraus resultierenden Vasodilatation sind diverse Mechanismen beschrieben worden, welche anschließend näher erläutert werden sollen.

- a) Die Zytokin-gesteuerte Aktivierung der iNOS, welche zur exzessiven Bildung von NO führt.
- b) Die gesteigerte Öffnung von K_{ATP} -Kanälen.
- c) Die Öffnung von $K_{Ca^{2+}}$ -Kanälen.
- d) Ein relativer Mangel an Arginin-Vasopressin (AVP) [71].

1.1.3.3.1 Gesteigerte Freisetzung von NO

Im Jahr 1990 entdeckten verschiedene, von einander unabhängige Forschergruppen, dass eine gesteigerte Bildung von endogenem NO wesentlich zur pathologischen Vasodilatation [95,138] und verminderten vaskulären Ansprechbarkeit auf intravenöse Vasokonstriktoren [71] in Säugetieren mit endotoxinämischem Schock beiträgt.

NO kann durch verschiedene Isoformen der NO-Synthetase gebildet werden. Bisher sind drei verschiedene Isoformen der NO-Synthetase bekannt [130].

Die konstitutionellen NO-Synthetasen (cNOS) – zu denen die endotheliale NO-Synthetase (eNOS) im Endothel und die neuronale Form (nNOS) gehören, welche NO unter physiologischen Bedingungen synthetisieren und die induzierbare NO-Synthetase (iNOS), welche unter physiologischen Bedingungen nicht vorkommt, deren Synthese jedoch durch Stimulation, unter anderem mittels Endotoxin (z.B. LPS) und Zytokinen induziert werden kann. Die cNOS-Isoenzyme bilden, gesteuert durch temporäre Anstiege der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration, relativ geringe Mengen an NO – teils als physiologischer Vasodilatator, teils als Neurotransmitter [48,146]. Da die iNOS nicht in so hohem Maße wie eNOS und nNOS von der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration abhängig ist, ist sie – nach Induktion durch pro-inflammatorische Mediatoren [146] - in der Lage, dauerhaft große Mengen NO zu bilden [48,96]. Dieser nahezu ubiquitäre Überschuss an NO führt zu einer generalisierten Vasodilatation mit Abfall des „systemic vascular resistance index“ (SVRI) und konsekutiver arterieller Hypotonie [146] (Abb:1.2).

Im septischen Schock können hieraus infolge Hypotension, verminderter Gewebeperfusion und Gewebeoxygenierung, Störungen verschiedener Organfunktionen bis hin zum „multi-organ-dysfunction-syndrom“ (MODS), resultieren [95].

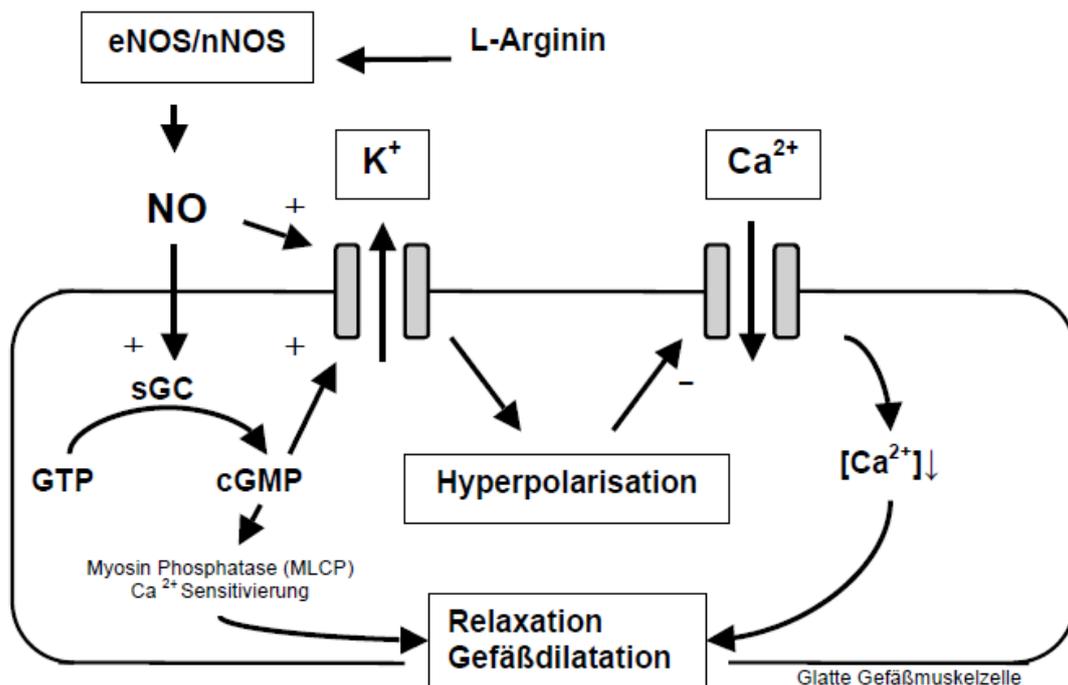


Abbildung 1. 2: Schematische Darstellung der NO vermittelten -Vasodilatation
[47,130]

NO diffundiert von der Endothelzelle zur glatten Gefäßmuskelzelle und stimuliert dort die lösliche Guanylatcyclase, die wiederum das intrazelluläre Cyclo-Guanosin 3',5'-Monophosphat (cGMP) ansteigen lässt. cGMP wird aus Guanosin-5'-triphosphat (GTP) gebildet. cGMP-vermittelte oder direkte Aktivierung von K⁺-Kanälen resultiert in K⁺-Ausstrom, Hyperpolarisation, Inhibition spannungsabhängiger Ca²⁺-Kanäle, Reduktion der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration und führt zur Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur mit konsekutiver Vasodilatation des Gefäßsystems [47,95,130].

1.1.3.3.2 Gesteigerte Öffnung von K⁺-Kanälen im septischen Schock

Nach der Art der Regulation werden drei Gruppen von K⁺-Kanälen unterschieden: K_{ATP}-Kanäle, K_{Ca2+}-Kanäle und spannungsabhängige (K_v^(voltage))-Kanäle.

Während K_v⁺-Kanäle keine Bedeutung in der Regulation des Gefäßtonus zu haben scheinen [66], weisen zahlreiche Untersuchungen auf die bedeutende Rolle der K_{ATP}-Kanäle und K_{Ca2+}-Kanäle in Bezug auf den vaskulären Widerstand im septischen Schock hin [25,28,32,78,81,104,111,135,145].

1.1.3.3 Aktivierung ATP-gesteuerter K^+ -Kanäle

Die K_{ATP} -Kanäle haben eine Bedeutung als metabolische Sensoren, die die zelluläre Erregbarkeit an den metabolischen Zustand der Zelle anpassen.

Physiologisch werden K_{ATP} -Kanäle besonders unter hypoxischen Bedingungen, wie zum Beispiel dem Abfall der zellulären ATP-Konzentration, zytosolischer Azidose oder einer erhöhten Laktatkonzentration, aktiviert [35,37,72].

Da die fortgeschrittene Sepsis typischerweise mit einem anaeroben Metabolismus und globaler Azidose einhergeht, werden K_{ATP} -Kanäle unter diesen Bedingungen systemisch aktiviert [79].

Verantwortlich für Konstriktion oder Dilatation eines Gefäßes sind die glatten Gefäßmuskelzellen, deren Kontraktion oder Relaxation u.a. über die zytosolische Ca^{2+} -Konzentration kontrolliert wird. Dabei wird das Öffnungs- und Schließungsverhalten dieser Ca^{2+} -Kanäle über das Membranpotenzial gesteuert, welches wiederum durch Aktivierung oder Hemmung von K^+ -Kanälen reguliert wird.

Durch die Aktivierung der K_{ATP} -Kanäle kommt es zu einem K^+ -Ionen-Ausstrom mit Hyperpolarisation der Plasmamembran. Es folgt eine vermehrte Schließung spannungsgesteuerter Ca^{2+} -Kanäle, ein verminderter Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle und letztendlich eine erniedrigte intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration. Dies führt zu einer generellen Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen mit konsekutiver Vasodilatation.

Trotz einer hierdurch bedingten theoretischen Steigerung des Blutflusses zu ischämischen Geweben [10,13,35,37,72,79,80], kann bei generalisierter Aktivierung von K_{ATP} -Kanälen eine schwere systemische Hypotension resultieren, die ihrerseits mit Organminderperfusion vergesellschaftet ist [101,154].

1.1.3.4 Aktivierung Ca^{2+} -gesteuerter Kaliumkanäle

Auch die $K_{Ca^{2+}}$ -Kanäle sind an der Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur beteiligt und haben eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des Membranpotenzials. Sie werden auf der Grundlage ihrer Leitfähigkeit in BK-Kanäle, IK-Kanäle, SK-Kanäle (großer, mittlerer und kleiner Leitwert) unterteilt. Bei der Regulation des Gefäßtonus sind vor allem die BK- Ca^{2+} -Kanäle und die SK- Ca^{2+} -Kanäle involviert. Die $K_{Ca^{2+}}$ -

Kanäle werden durch eine Abnahme der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration aktiviert und tragen ebenfalls zur Vasodilatation bei. Der Abfall der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration kann über NO, Prostacyclin (PGI_2) und EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) induziert werden. [149,158].

1.1.3.3.5 Relativer Mangel an Arginin-Vasopressin

AVP ist ein im Hypothalamus gebildetes, antidiuretisch wirkendes Peptidhormon und wird physiologisch auf Stimulation durch gesteigerte Plasmaosmolalität oder als Baroreflexantwort auf Hypotension in den systemischen Kreislauf freigesetzt [126]. Es bewirkt über Phospholipase C einen starken Effekt auf V1-Rezeptoren. Als Antwort auf eine gesteigerte intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration entsteht eine Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur [138]. Landry et al. konnten zeigen, dass die endogenen AVP-Spiegel septischer Patienten inadäquat niedrig sind und bereits geringe Dosen von exogenem AVP, die bei gesunden Menschen nur minimale hämodynamische Veränderungen hervorrufen, bei Katecholamin-refraktärer arterieller Hypotonie eine signifikante Steigerung des MAP und SVRI bewirken [76,77].

Ursächlich für diese Rezeptorhypersensitivität gegenüber exogenen V1-Agonisten sind wahrscheinlich die niedrigen AVP-Spiegel, die möglicherweise mit einer Modulation und verbesserter Ansprechbarkeit von vaskulären V1-Rezeptoren einhergehen [155]. Des Weiteren bewirkt AVP eine Schließung von K_{ATP} -Kanälen, sowie eine Hemmung der iNOS und des NO-vermittelten cGMP-Anstiegs [143,148].

Einige der möglichen Ursachen für diesen relativen AVP-Mangel in der Sepsis werden anschließend näher erläutert.

- a) Während der Sepsis scheint eine autonome Fehlregulation vorzuliegen, die möglicherweise im späteren Verlauf der Sepsis die vegetativ gesteuerte AVP-Freisetzung inhibiert [164].
- b) Die hohe Konzentration von NO in der Sepsis kann zu einer zentralen Inhibition der AVP-Freisetzung führen [57].

- c) Während moderate Katecholaminspiegel die AVP-Sekretion stimulieren (α -1 Rezeptoren), haben die in der Sepsis (teils iatrogen bedingt) oft exzessiv hohen Noradrenalin (NA) -Spiegel hemmenden Einfluss auf die hypothalamische AVP-Produktion [38].

Papanek et al. konnten zeigen, dass hohe Steroid-Konzentrationen die Freisetzung von AVP aus der Neurohypophyse hemmen [105].

Da man in der Sepsis häufig supranormale Cortisol-Spiegel findet [124], könnten diese ebenfalls zum relativen AVP-Mangel in der Sepsis beitragen.

AVP wurde als alternativer, nicht adrenerger Vasopressor zur Therapie des Kreislaufversagens während einer Sepsis identifiziert [65,109]. Jedoch sind seine pharmakologischen Eigenschaften in Patienten mit septischen Schock noch nicht vollständig erforscht. Zusätzlich zu seinen erwünschten, den Gefäßtonus und Blutdruck steigernden Effekten, weist exogen verabreichtes AVP unerwünschte Wirkungen auf. Dabei handelt es sich unter anderem um eine Steigerung des Vagustonus und eine Verminderung des Sympathikustonus via Reflexmechanismus.

Als Konsequenz resultieren eine verminderte „heart rate“ (HR) und ein verminderter cardiac output (CO) [84]. Weiterhin kann exogen verabreichtes AVP dosisabhängig zu überschießender mikroregionaler Vasokonstriktion und Minderperfusion z.B. im Splanchnikusgebiet führen.

1.1.4 Klinik der Sepsis

Die Veränderungen der Hämodynamik in der Sepsis sind typischerweise durch zwei unterschiedliche Stadien gekennzeichnet.

Zunächst kommt es zu einer hyperdynamen Kreislaufsituation, welche durch einen erniedrigten SVRI und MAP, sowie gesteigerten CO und HR gekennzeichnet ist [107]. Im Anschluss kann diese in das prognostisch ungünstigere, hypodynames Stadium übergehen. Voraussetzung für die hyperdynamische Kreislaufsituation ist eine ausreichende Volumensubstitution, da sich ohne diese sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell eine hypodynamische Zirkulation mit erniedrigtem CO einstellt [107]. Das

hyperdynamie Stadium wird als Versuch des Organismus interpretiert, durch Sympathikusstimulation, Zunahme der myokardialen Kontraktilität, post- und präkapillarer Vasokonstriktion, Öffnung arteriovenöser Shunts, Konstriktion venöser Kapazitätsgefäße, Aktivierung des RAAS sowie Freisetzung des antidiuretischen Hormons eine relative Hypovolämie zu kompensieren. Gelingt dies trotz Wirkung von endo- und exogenen Katecholaminen nicht, kommt es zum Übergang in das hypodynamie Stadium mit Abnahme des initial hohen CO [153].

Die genannten Stadien einer Sepsis müssen nicht in dieser Reihenfolge ablaufen. Verschiedene Abläufe können beobachtet werden.

1.1.4.1 Multiorganversagen

Die Kombination aus arterieller Hypotonie, septischer Kardiomyopathie und endothelialer Dysfunktion führt zu einer massiven Beeinträchtigung der Mikrozirkulation und der effizienten Gewebeoxygenierung in den Endorganen [68].

Der Körper versucht der verminderten Organperfusion, in Folge einer Erniedrigung des peripheren Gefäßwiderstandes, durch kompensatorischen Anstieg des CO entgegenzuwirken. Die myokardiale Kontraktilität ist jedoch in Folge der Einwirkung von „myocardial depressant factors“ (MDF; z.B. TNF- α , IL-1 β und NO) beeinträchtigt und geht mit einem erhöhten Füllungsdruck durch eine gestörte Ventrikelrelaxation einher [106,113]. Man spricht von einer sogenannten septischen Kardiomyopathie [109].

Im Laufe des MOF entsteht infolge Minderperfusion eine zelluläre Hypoxie die zu Organschädigungen wie dem „acute respiratory distress syndrome“ (ARDS) [17,103], Leber- und Nierenversagen [108,147], intestinaler Minderperfusion mit nachfolgender bakterieller Translokation [136,163], septischer Kardiomyopathie [75,132], Störungen der zerebralen Funktion [132] sowie Störungen des plasmatischen Gerinnungs- und Fibrinolysesystems [15,92,150] und der „disseminated intravascular coagulation“ (DIC) [1] führen kann. Die respiratorische Insuffizienz tritt im zeitlichen Verlauf der Sepsis frühzeitig auf und führt aufgrund der häufig raschen Verschlechterung der Situation, in etwa 85% der Fälle zur Notwendigkeit der Intubation und maschinellen Beatmung. Zwischen 25% und 42% der Sepsispatienten erfüllen die Kriterien eines ARDS [16,90].

Das MOF ist entscheidend für den Verlauf und die Prognose der Erkrankung. Hebert et al. beschrieben 1993 [63], dass das Risiko an einer Sepsis zu versterben mit jedem zusätzlichen Organversagen zum bereits bestehenden im Durchschnitt um 15 – 20% ansteigt [63]. Der frühestmögliche Therapiebeginn ist entscheidend für das Überleben.

1.1.5 Therapie

Voraussetzung für eine erfolgreiche Behandlung ist die Zeit bis zur Diagnosestellung und Beginn einer adäquaten intensivmedizinischen Therapie [125]. Die Therapie der Sepsis lässt sich unterteilen in eine kausale-, eine supportive- und eine adjuvante Therapie.

1.1.5.1 Kausale Therapie

Die kausale Therapie beinhaltet zum einen die Fokussanierung durch chirurgische Intervention, z.B. Exzision oder Abszessdrainage. Zum anderen ist die rasche Einleitung einer antimikrobiellen Therapie entscheidend.

Die frühzeitige, kalkulierte iv. Antibiotikatherapie reduziert die Letalität septischer Patienten signifikant [56,85] und sollte so früh wie möglich von einer spezifischen Therapie nach Antibiogramm abgelöst werden.

1.1.5.2 Supportive Therapie

Therapeutische Strategien der supportiven Therapie in der klinischen Praxis zielen auf die Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdrucks und einer Balance zwischen Sauerstoffangebot und –verbrauch ab [116].

Die erste Maßnahme stellt hier die aggressive Volumensubstitution dar, um einen suffizienten venösen Rückstrom und somit kardiale Vorlast sowie einen adäquaten CO zu erzielen [118,127]. Sobald die Volumentherapie allein nicht mehr ausreicht, um einen adäquaten Perfusionsdruck aufrechtzuerhalten, ist das positiv inotrop wirksame Katecholamin Dobutamin bei erniedrigtem CO, Medikament der ersten Wahl. Bei

Patienten mit arterieller Hypotension ist NA als Vasopressor indiziert, um die reduzierte „systemic vascular resistance“ (SVR) zu erhöhen [20].

Die Indikation zu weiterer supportiver Therapie wie Intubation, Beatmung oder Nierenersatzverfahren, bei akutem Nierenversagen, sollte großzügig gestellt werden [118].

Die makrohämodynamische Unterstützung der fortgeschrittenen Sepsis durch exogene Katecholamine wird jedoch mit längerer Anwendungsdauer oft durch eine verminderte Ansprechbarkeit der adrenergen Rezeptoren gegenüber Katecholaminen erschwert [112].

Setzt der Wirkungsverlust bereits nach kurzer Zeit ein, bezeichnet man dieses Phänomen als Tachyphylaxie [51].

Das Eintreten einer Tachyphylaxie gegenüber catecholaminergen Vasopressoren ist ein bekanntes Phänomen in der Sepsistherapie [7] und beruht im Wesentlichen in einer Downregulation bzw. Internalisierung von Katecholaminrezeptoren, Störungen der intrazellulären Signaltransduktion sowie Störungen des intrazellulären Ca^{2+} -Metabolismus [29,36,79]. Aus diesem Grund sind alternative Vasopressorenstrategien von großem klinischem Interesse.

1.1.5.3 Adjuvante Therapie

Die adjuvanten Therapiemaßnahmen vervollständigen das moderne Gesamtgerüst des komplexen Managements von Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock. Sie sollen inflammatorische Prozesse verhindern, diese modulieren, aber nicht in Gänze unterdrücken, da diese Entzündungsvorgänge zur Infektabwehr durchaus sinnvoll und wünschenswert sind. Zu den erfolgreichen Interventionen zählen aktiviertes Protein C (APC), Hydrocortison und Insulin. APC ist ein gentechnologisch hergestelltes Protein mit spezifischer Wirkung auf Blutgerinnung und Entzündungsprozesse und ist in Europa für die Therapie der schweren Sepsis und mindestens einem Zwei-Organ-Versagen zugelassen.

Hydrocortison als klassisches Stresshormon moduliert die anti-inflammatorische Response des Körpers durch Verminderung von Zytokinen, TNF- α und der NO-Synthetase. Nach den Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin zur „Prävention,

Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis“ von Februar 2010 wird niedrigdosiertes Hydrocortison in einer Dosierung von 200-300 mg/Tag, als Bolus 3-4 x täglich oder als Dauerinfusion, nur noch als Ultima-Ratio-Therapie bei Patienten mit therapierefraktärem septischem Schock, die trotz Volumentherapie und Vasopressorengabe in hoher Dosis nicht zu stabilisieren sind, eingesetzt. Von der Routinetherapie mit Hydrocortison bei Patienten mit septischem Schock wird aufgrund einer erhöhten Rate von Superinfektionen, Hyperglykämien und –natriämien sowie fehlendem Effekt auf die 28-Tage-Letalität, abgeraten.

Zu den weiteren adjuvanten Behandlungsmöglichkeiten zählt die intravenöse Insulintherapie zur Senkung erhöhter Glukosespiegel (Schwellenwert von >150 mg/dl [$>8,3$ mmol/l]) bei Patienten mit schwerer Sepsis bzw. septischem Schock. Eine engmaschige (1-2 stündliche) bettseitige Kontrolle der Blutglukosewerte ist hierbei zur Vermeidung von Hypoglykämien zwingend erforderlich [41].

1.2 Die K_{ATP} -Kanäle

Die Entdeckung des K_{ATP} -Kanals gelang mittels der Patch-Clamp-Technik in Herzmuskelzellen. Akinori Noma (1983) aus Japan gilt als Erstbeschreiber. Ein Jahr später konnten sie auch in den β -Zellen des Pankreas [33] und vielen anderen Geweben nachgewiesen werden [7,44].

1.2.1 Molekulare Struktur der K_{ATP} -Kanäle

Der funktionelle K_{ATP} -Kanal liegt als oktamerer Gesamtkomplex $(SUR/Kir6.x)_4$ in der Zellmembran vor (Abb:1.3, Abb:1.4).

1.2.1.1 Die Kir 6.x-Untereinheit

Die porenbildende Kir 6.x-Untereinheit gehört zur Gruppe der einwärts rektifizierenden K^+ -Kanäle. Eine Kir-Untereinheit besteht aus zwei Transmembrandomänen (M1 und M2) und einer Poren-Schleife (H5). Der N- und C-Terminus befinden sich intrazellulär.

In der Poren-Schleife der bekannten K^+ -selektiven Kanäle befindet sich die Tripeptid-Sequenz Glycin-Tyrosin-Glycin (GYG).

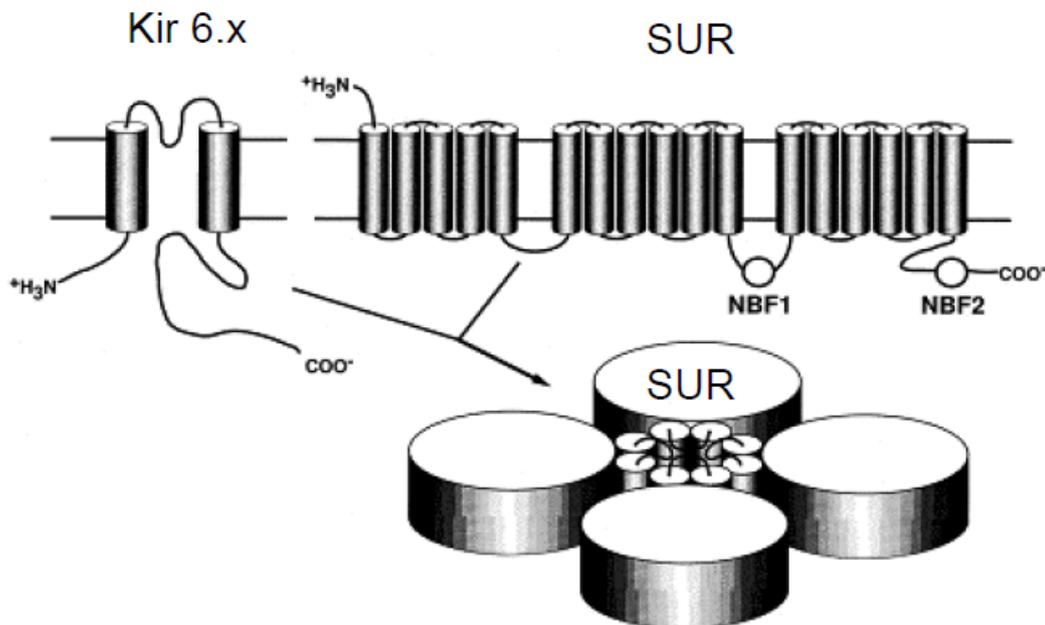


Abbildung 1.3: Topologie des ATP-abhängigen Kaliumkanals [54].

Bei der Kir 6.x-Untereinheit ist dieses Motiv zu Glycin- Phenylalanin-Glycin (GFG) abgewandelt, wobei die Selektivität der Pore erhalten bleibt.

Von Kir-6.x existieren zwei Subtypen, Kir-6.1 und Kir-6.2. Ihre kodierten Gene stimmen bezüglich der Aminosäuresequenzen zu ca. 70% überein [120], wobei Kir-6.1 eine geringere Leitfähigkeit als Kir-6.2 besitzt und weniger empfindlich auf ATP reagiert [11]. Das menschliche Gen für Kir-6.1 (KCNJ8) ist ca. 9,7 kb lang und auf dem kurzen Arm von Chromosom 12p, an Position p11.23 lokalisiert [66]. Es besitzt drei Exons, die Kir-6.1 mit 424 Aminosäuren und 45 kDa kodieren [2]. Kir-6.1 kann sowohl mit SUR-1 als auch SUR-2A und -2B funktionelle K_{ATP} -Kanäle bilden [66].

Der Subtyp Kir-6.2 ist ein 390 Aminosäuren langes Protein, dessen Gen (KCNJ11) beim Menschen auf dem Chromosom 11p15.1 liegt [30,67]. Bei der Kir-6.2-Untereinheit ist bekannt, dass sie an Threonin 224 und Serin 372 durch Proteinkinase A sowie an Threonin 180 durch Proteinkinase C phosphoryliert werden kann [54].

1.2.1.2 Der Sulfonylharnstoffrezeptor (SUR)

SUR wird nach seiner Bindungsstelle für Sulfonylharnstoffe benannt. Die β -Untereinheit des K^+ -Kanals, der SUR, spielt eine wichtige Rolle für die Regulation der Kanalaktivität. Auf ihm liegen die Bindungsstellen für Öffner (z.B. Pinacidil) und Blocker (z.B.: Sulfonylharnstoffe wie Glibenclamid und Repaglinid) der Kanäle.

Von SUR sind zwei Subtypen bekannt, SUR-1 und SUR-2 [3].

SUR-1 wird von einem Gen auf Chromosom 11p15.1 mit 39 Exons [3], SUR-2 von einem Gen auf Chromosom 12p12.12 mit 38 Exons codiert [31]. Das Exon 18 von SUR-1, welches für einen Teil der ersten Nukleotidbindungsfalte kodiert, fehlt bei SUR-2 [2]. Bei SUR-2 findet alternatives Spleißen bei Exon 38 statt, es resultieren die Spleißvarianten SUR-2A (Exon 38a) und SUR-2B (Exon 38b). Weitere Spleißvarianten von SUR-1 [121] und SUR-2 [11,30,134] wurden beschrieben.

Die resultierenden Proteine sind 1581 (SUR-1) beziehungsweise 1549 (SUR-2A und SUR-2B) Aminosäuren lang [2]. Die SUR-2 Proteine sind zu ungefähr 67% identisch mit SUR-1, SUR-2A ist zu 97% identisch mit SUR-2B. Die letzten 42 Aminosäuren des C-Terminus von SUR-2B sind allerdings hoch homolog zu dem C-Terminus von SUR-1 [54]. Der Amino-Terminus liegt extrazellulär, der Carboxy-Terminus intrazellulär. SUR hat vermutlich 17 Transmembrandomänen. Zwischen der 11. und 12. Transmembrandomäne sowie am Carboxylende liegen zwei Nukleotidbindungsfalten mit Einleitung des so genannten Walker-A- und Walker-B-Motives. Diese sind an der Aktivierung des Kanals durch ATP/MgADP beteiligt. SUR-1 kann an Serin 1571 durch die Proteinkinase A phosphoryliert werden [54].

Im Jahr 1995 konnte der SUR erstmals aus der β -Zelle des Pankreas kloniert werden [3]. Eine angenommene Präsenz des SUR in der afferenten Arteriole [93] konnte durch Existenz des SUR-2B als Komponente des K_{ATP} -Kanals [162] bestätigt werden.

Russ et al., konnten im Jahr 1999 die Hyperpolarisation durch K_{ATP} -Kanalöffner mit Sulfonylharnstoffen an der afferenten Arteriole verhindern.

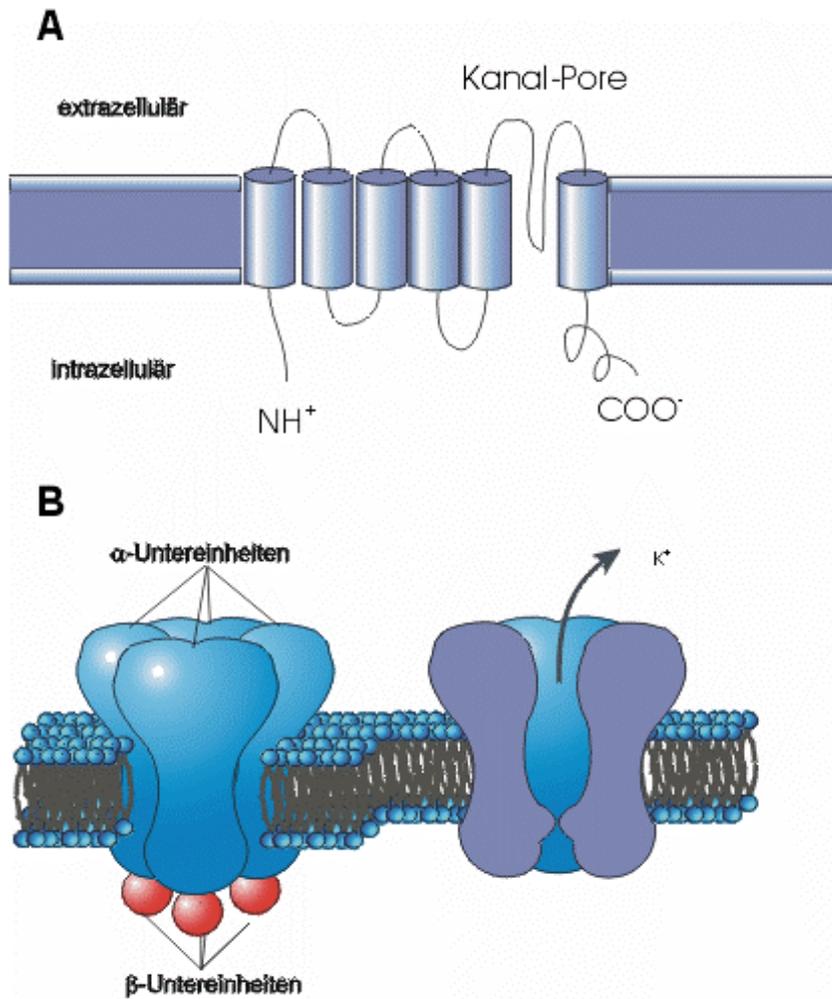


Abbildung 1.4: Molekularer Aufbau von spannungsabhängigen Kaliumkanälen [86].

- a) Ein K⁺_v-Kanal wird aus vier - transmembranären α -Untereinheiten gebildet, an die auf der zytoplasmatischen Seite der Membran vier β-Untereinheiten gebunden sein können.
- b) Eine α-Untereinheit ist ein Protein mit sechs hydrophoben Transmembrandomänen. Die Pore befindet sich zwischen der fünften und sechsten Transmembrandomäne, N- und C-Terminus befinden sich auf der zytoplasmatischen Membranseite.

1.2.2 Vorkommen und Funktion der K_{ATP} -Kanäle

Die K_{ATP} -Kanäle sind metabolisch regulierte Kanäle und sind in einer Reihe unterschiedlicher Gewebe und Zelltypen verbreitet (Tab:1.2). Sie befinden sich sowohl in der Zellmembran als auch intrazellulär, z.B. in der Mitochondrienmembran [69].

Während intrazelluläres ATP diese Kanäle schließt, werden sie durch zytoplasmatische Magnesiumnukleosiddiphosphate geöffnet. Dadurch verbinden sie den intrazellulären metabolischen Zustand der Zelle mit der elektrischen Aktivität der Zellmembran, was für die Physiologie und Pathophysiologie der Zelle entscheidend ist. In den meisten Geweben liegen die K_{ATP} -Kanäle unter physiologischen Bedingungen überwiegend geschlossen vor. Das bedeutet, dass sie im Gegensatz zu den $K_{IR-2.x}$ -Kanälen, eine untergeordnete Rolle in der Aufrechterhaltung des Ruhe- und Aktionspotenzials einnehmen. Vielmehr wird ihnen eine Art protektiver Notfallmechanismus zugesprochen. Die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen führt zu einer Verschiebung des Membranpotenzials in Richtung des K^+ -Gleichgewichtspotenzials von ~ 90 mV. Unter hypoxisch-ischämischen Bedingungen wird das Aktionspotenzial verkürzt, die Kontraktilität der Zelle erniedrigt und somit der Energieverbrauch der Zelle reduziert.

Am besten untersucht und verstanden ist die Funktion von K_{ATP} -Kanälen in den β -Zellen des Pankreas. Bei verminderter Glukosekonzentration wird das Verhältnis von ATP zu ADP (Adenosin-3'-5'-diphosphat) in den Zellen erniedrigt. Dies führt zu einer Öffnung der K_{ATP} -Kanäle mit konsekutiver Hyperpolarisation, was die Ca^{2+} -Konzentration senkt. Als Folge davon wird die Insulinausschüttung reduziert; umgekehrt verstärkt eine Erhöhung der Glukosekonzentration die Insulinausschüttung [9].

Tabelle 1.2: Gewebespezifische Verteilung der K_{ATP} -Untereinheiten.

Vorkommen	SUR1	SUR2A	SUR2B	Kir6.1	Kir6.2
Gehirn	± / +	+ / -	+ / ±	+ / ++	+ / ±
Herz	± / +	+ / +	+ / ++	+ / ++	+ / +
Lunge	- / +	- / -	+ / +	+ / ++	+ / ±
Leber	- / ±	- / -	+ / ±	+ / ++	+ / ±
Pankreas	++ / +	- / -	+ / ±	+ / ++	++ / ±
Milz	n. b. / ±	- / -	+ / +	n. b. / ++	n. b. / ±
Niere	- / ±	- / -	+ / +	+ / ++	- / ±
Magen	- / ±	- / -	+ / ++	+ / ++	- / ±
Dünndarm	- / n. b.	- / n. b.	+ / n. b.	+ / n. b.	- / n. b.
Kolon	- / n. b.	- / n. b.	+ / n. b.	+ / n. b.	- / n. b.
Nebenniere	- / n. b.	n. b. / n. b.	n. b. / n. b.	+ / n. b.	- / n. b.
Skelettmuskula	- / -	+ / +	+ / ±	+ / +	+ / +
Haut	n. b. / ±	n. b. / ++	n. b. / ±	n. b. / ++	n. b. / +
	Northern / *	RT-PCR / *	RT-PCR / *	Northern / *	Northern / *
	Inagaki et al., 1995c	Isomoto et al., 1996	Isomoto et al., 1996	Inagaki et al., 1995a	Inagaki et al., 1996

Links vom Schrägstrich steht das Expressionsniveau der K_{ATP} -Untereinheiten, die durch die unten in der Tabelle erwähnte Methode und Arbeit ermittelt wurden. Rechts vom Schrägstrich steht das über RT-PCR ermittelte Expressionsniveau (siehe dazu Mederos y Schnitzler et al., 2000). Grau markiert sind die deutlichen Unterschiede.

- nicht detektierbar, ± schwach vorhanden, + exprimiert, ++ stark exprimiert, n. b. nicht bestimmt.

* RT-PCR (Mederos y Schnitzler et al., 2000)

1.2.3 Gewebespezifische Verteilung der K_{ATP} -Untereinheiten

Je nach Kombination der Kir- und SUR-Untereinheiten werden die Eigenschaften der K_{ATP} -Kanäle in dem jeweiligem Gewebe unterschiedlich geprägt (vgl. Tab:1.2).

Kir 6.1, dessen ursprünglicher Name „ubiquitous expressed ATP-sensitive potassium channel“ (u K_{ATP} -1) [2], ist in vielen Geweben lokalisiert. Er gilt als die dominierende α -Untereinheit der K_{ATP} -Kanäle in der glatten Gefäßmuskulatur [139,162], während in anderen glatten Muskeln wahrscheinlich Kir-6.1 und Kir-6.2 als Heterotetramere vorliegen.

Kir-6.2 ist hauptsächlich in den β -Zellen des Pankreas, im Herzen, im Gehirn, in Skelettmuskeln und in nichtvaskulären glatten Muskeln vorhanden [2].

SUR-1 gilt als die regulierende Untereinheit des K_{ATP} -Kanals in den β -Zellen des Pankreas und in den meisten Neuronen [2,87].

SUR-2A ist charakteristisch für Herz- und Skelettmuskulatur [67].

SUR-2B lokalisiert sich überwiegend in der glatten Muskulatur sowie in Neuronen [70,87,128,139].

1.2.4 Pharmakologie der K_{ATP} -Kanäle

K_{ATP} -Kanäle sind Angriffsort einer Vielzahl verschiedener Substanzen mit modulierendem Einfluss auf die Kanalfunktion. So gibt es Substanzen, welche die Offenwahrscheinlichkeit der Kanäle erhöhen (K_{ATP} -Kanalöffner), und solche, die dieselbige erniedrigen (K_{ATP} -Kanalblocker). Bekannte K_{ATP} -Kanalblocker sind z.B. Sulfonylharnstoffderivate wie Glipizid, Glibenclamid und Tolbutamid [10,13,101]. Die Bindungsstelle der Sulfonylharnstoffe ist dabei mit der Öffnerbindungsstelle negativ allosterisch gekoppelt [21].

Zu den K_{ATP} -Kanalöffnern gehören Substanzen verschiedener Stoffklassen, wie Pinacidil, Diazoxid und Minoxidilsulfat. Sie besitzen ein relativ breites therapeutisches Spektrum in der Behandlung verschiedenster Erkrankungen wie des Bluthochdrucks (Diazoxid, Minoxidilsulfat), der Erbkrankheit FPHHI (Familiar Persistent Hyperinsulinaemic Hypoglycaemia of Infancy; Diazoxid), der akuten und chronischen myokardialen Ischämie, der Inkontinenz sowie des Asthma bronchiale [21]. Auch als Haarwuchsmittel werden sie als Externa eingesetzt (Regaine ®, Minoxidilsulfat).

1.3 Glipizid

Glipizid (Abb:1.5) ist ein Sulfonylharnstoffderivat und vermittelt seine Wirkungen durch Blockade von K^+ -Kanälen. Durch seinen Effekt auf die K^+ -Kanäle der β -Zellen der Langerhansschen Inseln im Pankreas, stimuliert Glipizid die Insulinsekretion und senkt dadurch den Blutzuckerspiegel. Glipizid wird daher bei Diabetes mellitus Typ 2 als orales Antidiabetikum eingesetzt.

Es unterliegt dem enterohepatischem Kreislauf und hat eine Halbwertszeit von 2 bis 5 Stunden. Die Elimination erfolgt renal und biliär.

Informationen über die pharmakologischen Wirkungen bei parenteraler Gabe liegen bisher nur aus tierexperimentellen Studien vor [81] und bedürfen weiterer Untersuchungen.

1.3.1 Molekülstruktur von Glipizid

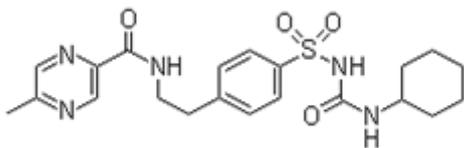
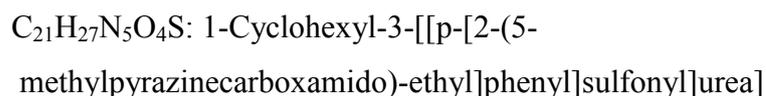


Abbildung 1.5: Molekülstruktur von Glipizid [158].



1.3.2 Rezeptorwirkung von Glipizid

Durch Bindung von Glipizid an den Sulfonylharnstoffrezeptor kommt es zu einer Schließung von K_{ATP} -Kanälen und somit zu einem verminderten K^+ -Ausstrom (Abb:1.6). Daraus resultiert eine Depolarisation der Plasmamembran der glatten Gefäßmuskelzelle. Diese Depolarisation bewirkt durch Aktivierung spannungsgesteuerter Ca^{2+} -Kanäle einen gesteigerten Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle. Sowohl die Depolarisation als auch die erhöhte Ca^{2+} -Konzentration tragen zu einem erhöhten Ca^{2+} -Shift aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytosol bei. Die

Bindung von zytosolischem Calcium an Calmodulin initiiert eine Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur durch Aktivierung der Myosin-Light-Chaine-Kinase (MLCK). Auf diese Weise kann Glipizid der vaskulären Relaxation entgegenwirken [10,13, 58].

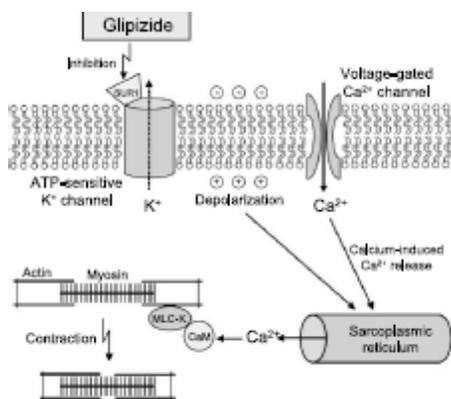


Abbildung 1.6: Zellulärer Mechanismus der Glipizid-induzierten Vasokonstriktion [79].

CnM – Calmodulin ; MLCK – Myosin-Light-Chaine-Kinase;
SUR-1 – Sulfonylharnstoffrezeptor 1

1.3.3 Systemische Wirkung von Glipizid

In verschiedenen tierexperimentellen Studien konnte bereits ein signifikanter Anstieg des MAP und SVRI nach pharmakologischer Inhibition der K_{ATP} -Kanäle durch intravenöse Verabreichung von Sulfonylharnstoffderivaten unter sepsisähnlichen Bedingungen nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde eine Steigerung der Diurese beobachtet [80,81]. Die in früheren Versuchsreihen untersuchten hämodynamischen Effekte einer Bolusinfusion stellten sich als vorübergehend dar [80], was die Bolusapplikation als nicht geeignet erscheinen lässt, um einer Vasoplegie im Rahmen einer systemischen Entzündung entgegen zu wirken [81]. Im Jahr 2007 wiesen Lange et al. eine dauerhafte Umkehr der durch Endotoxin induzierten Hypotension durch kontinuierliche Infusion von Glipizid, mit signifikant erhöhtem MAP und SVRI nach [81].

1.3.4 Unerwünschte Effekte von Glipizid

Als Ausdruck einer Überdosierung kann Glipizid bei oraler Verabreichung zu lebensbedrohlichen Hypoglykämien mit Symptomen wie Heißhunger, Schwitzen, Zittern, Unruhe, Reizbarkeit, depressiver Verstimmung, Kopfschmerzen, Schlafstörungen, neurologischen Ausfallerscheinungen wie Sprech-, Seh- oder Empfindungsstörungen, Lähmungserscheinungen, Bewusstlosigkeit bis hin zum Koma führen. Bei kontinuierlicher intravenöser Gabe kann es zu einem Abfall von CO, HR, oxygen delivery index (DO₂I) und oxygen consumption index (VO₂I) kommen, was in vorangegangenen tierexperimentellen Studien nachgewiesen werden konnte [80,81].

1.3.5 Mögliche Bedeutung von Glipizid für die Therapie der Sepsis

Sobald eine aggressive Volumentherapie und die Gabe von adrenergen Vasopressoren zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdrucks nicht mehr ausreichen, besteht eine theoretische Rationale für den Einsatz alternativer Methoden zur Vermeidung irreversibler Organdysfunktionen und eines letalen Ausgangs [125].

Da die Aktivierung von K_{ATP}-Kanälen eine wichtige Rolle in der Pathogenese des hyperdynamen vasodilatatorischen Schocks spielt, könnte deren Blockade durch das Sulfonylharnstoffderivat Glipizid eine nützliche therapeutische Option zur Behandlung der aus Sepsis und SIRS resultierenden arteriellen Hypotension darstellen [80].

1.4 Fragestellung der vorliegenden Untersuchung

Erkenntnisse zur Wirkung, parenteral applizierter Sulfonylharnstoffe im Sepsismodell liegen bisher nur aus wenigen tierexperimentellen Studien über einen sehr kurzen Untersuchungszeitraum vor. Hierbei wurden bisher hauptsächlich die Therapieeffekte auf die systemische Hämodynamik, den globalen Sauerstofftransport und den Säure-Basen-Haushalt getestet. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die bisherigen Erkenntnisse zur Wirkung parenteral applizierter Sulfonylharnstoffe im vasodilatorischen Schock zu vertiefen. Hierzu wurden wichtige Modifikationen am etablierten Großtiermodell der chronischen Endotoxinämie des Schafs vorgenommen, wodurch die Testung von Variablen mit hoher klinischer Relevanz ermöglicht wurde. Primäre Studienendpunkte waren die Effekte der iv. Infusion des Sulfonylharnstoffs und K_{ATP} -Kanalblockers Glipizid auf den NA-Bedarf und das 12-Stunden-Überleben im fulminanten endotoxämischen Schock im Schaf. Sekundäre Studienendpunkte umfassten die Effekte von Glipizid auf wichtige Variablen der Makrohämodynamik, des globalen Sauerstofftransports, des Säure-Basen-Haushalts und der Diurese.

Es sollen die folgenden Hypothesen getestet werden:

Die Nullhypothese (H_0) lautet:

Die kontinuierliche, gewichtsadaptierte Infusion des K_{ATP} -Kanalblockers Glipizid zeigt gegenüber der mit Placebo behandelten Kontrollgruppe keinen positiven Einfluss auf den Noradrenalinbedarf und das 12-Stunden-Überleben im endotoxämischen Schafmodell.

Die Alternativhypothese (H_1) lautet:

Die kontinuierliche, gewichtsadaptierte Infusion des K_{ATP} -Kanalblockers Glipizid zeigt gegenüber der mit Placebo behandelten Kontrollgruppe einen positiven Einfluss auf den Noradrenalinbedarf und das 12-Stunden-Überleben im endotoxämischen Schafmodell.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Nach der Genehmigung durch die Bezirksregierung Münster vom 14.06.2007, wurde der Versuch an 20 erwachsenen, weiblichen Schafen der Zuchtlinie „Westfälisches Schwarzkopfschaf“ mit einem Körpergewicht von 37 ± 1 kg und einem Lebensalter zwischen 4-6 Monaten, in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelms – Universität Münster (WWU), durchgeführt.

Für die Unterbringung und Pflege der Tiere standen Räumlichkeiten und Personal der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) zur Verfügung. Die Schafe hatten freien Zugang zu Futter und Wasser und wurden unter tierschutzgerechten Bedingungen, bei standardisiertem Hell-Dunkelrhythmus (12 Stunden hell, 12 Stunden dunkel) in konstanter Umgebungstemperatur von 20°C, gehalten. Die medizinische Versorgung erfolgte durch den Versuchsleiter (mit Unterstützung des Institutes für Versuchstierkunde).

Die Tiere wurden dauerhaft instrumentiert, um die kardiopulmonale Hämodynamik und den globalen Sauerstofftransport mittels eines etablierten Protokolls [46] zu bestimmen.

2.2 Instrumentierung

2.2.1 Anästhesie

Die Anästhesie wurde durch intramuskuläre Injektion von 17ml S - Ketamin 25mg/ml (Ketanest[®] S, Park-Davis, Berlin, Freiburg, Deutschland) und 3ml Midazolam 15mg/3ml (Dormicum[®], Hoffmann - La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) induziert.

Nach circa 10 Minuten erreichten die Tiere ein Toleranzstadium mit Fehlen von Schmerzäußerungen oder Abwehrbewegungen, bei erhaltener Spontanatmung.

Für die Instrumentierung wurden die Schafe in Rückenlage mit Gurten an den vier Extremitäten auf einem Operationstisch fixiert.

Nach endotrachealer Intubation mit einem Magill-Tubus (8,0 mm Innendurchmesser) erfolgte die Aufrechterhaltung der Anästhesie mittels mechanischer Beatmung in einem lungenprotektiven volumenkontrollierten Modus (Eva Respirator, Dräger

Medizintechnik, Lübeck, Deutschland), einer inspiratorischen O₂-Fraktion (FiO₂) von 1,0 und kontinuierlicher Gabe von Isofluran (Furane[®], 1-1.5 Vox% endtidal, Abbott, Wiesbaden, Deutschland). Das Atemminutenvolumen wurde anhand der Atemfrequenz reguliert. Zielwert war ein endtidales CO₂ von 35 ± 5 mmHg.

Die perioperative Infektionsprophylaxe erfolgte durch die iv. Gabe von 1000mg Ceftriaxon (Rocephin[®]; Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland).

2.2.2 Pulmonalarterienkatheter

Der Pulmonalarterienkatheter (PAK) dient der Ermittlung von Messwerten, die zur Berechnung von Parametern der systemischen und pulmonalen Hämodynamik benötigt werden. Er verfügt über mehrere Lumen und an der Katheterspitze befinden sich ein Ballon sowie ein Temperatursensor. Der PAK wird über eine Schleuse in eine große zentrale Vene eingebracht und kommt nach Passage der Vena cava superior, des rechten Vorhofs und des rechten Ventrikels mit der Spitze in einem Pulmonalarterienast zu liegen.

2.2.2.1 Vorbereitung und Sterilisation

Vor dem Einschweben des PAK wurden alle Lumen durch Spülen mit isotonischer Kochsalzlösung entlüftet und über Drei-Wege-Hähne mit dem Druckwandler set (3DT-XX BD (Becton Dickinson), Ohmeda LTD & CO KG, Erlangen, Deutschland) und einem Monitor (Monitor Hellige Servomed, Hellige Ltd, Freiburg, Deutschland), verbunden.

Nach Rasur und gründlicher Desinfektion der linken Halsseite, erfolgte eine Abdeckung des Halsbereiches mittels eines sterilen Lochtuches. Die anschließende Punktion der linken Vena jugularis mit einer 18G-Kanüle verlief unter ständiger Aspiration durch eine mit 10ml 0,9% NaCl-Lösung gefüllte Spritze. Die Anlage der Schleuse erfolgte in Seldinger- Technik (7.5 French (F) Edwards Swan Ganz[®], Edwards Critical Care Division, Irvine, CA; 8.5 F Catheter Introducer Set, pvb Medizintechnik GmbH, Kirchseeon, Deutschland). Für die dauerhafte Verwendung wurde die Schleuse mittels einer Tabaksbeutelnaht fixiert.

Um ein steriles Arbeiten zu sichern, war der PAK von der Anlage bis zum Versuchsende von einer sterilen Schutzhülle umgeben.

2.2.2.2 Einführen des Pulmonalarterienkatheters

Der PAK wurde über ein Ventil der Schleuse vorgeschoben. Die Lagekontrolle beim Vorschieben erfolgte über die von der Katheterspitze ableitbare Druckkurve auf dem Monitor (Abb: 2.1). Nach circa 15cm wurde eine Lage der Katheterspitze in der Vena cava superior angenommen, durch die Druckkurve auf dem Monitor überprüft und der Ballon mit Luft gefüllt, um dem Blutstrom besser folgen zu können. Bei Erreichen des rechten Ventrikels nach circa 30cm zeigte sich eine ventrikuläre Druckkurve und nach 50-60cm, bedingt durch den kompletten Verschluss des Pulmonalarterienastes, die so genannte „Wedge-Kurve“. Der Druck des linken Vorhofes wird somit messbar gemacht („pulmonary capillary wedge“ pressure - PCWP). Durch wiederholtes Blocken und Entblocken des Ballons konnte die korrekte Lage in der Pulmonalarterie vor jeder Messung verifiziert werden. Der PAK wurde in dieser Position in der Einführungsschleuse fixiert.

2.2.2.3 Ermittelte Parameter

Die hämodynamische Überwachung umfasste den „mean pulmonary arterial pressure“ (MPAP), den „central venous pressure“ (CVP), den PCWP sowie die „mixed venous oxygen saturation“ (SvO₂). Der CO wurde mittels Thermodilutionstechnik (9520A Cardiac Output Computer; Edward Lifescience, Irvine, CA, USA) durch dreimalige zentralvenöse Injektion von 10ml einer 2-5° C kalten isotonischen Kochsalzlösung bestimmt.

Cardiac Index (CI), SVRI, „pulmonary vascular resistance index“ (PVRI), „stroke volume index“ (SVI) sowie „left“ und „right ventricular stroke work index“ (LVSWI, RVSWI) wurden mittels Standardgleichungen bestimmt (Tab: 2.1). Die Messung der Körperkerntemperatur erfolgte kontinuierlich über den Temperatursensor an der Spitze des PAK.

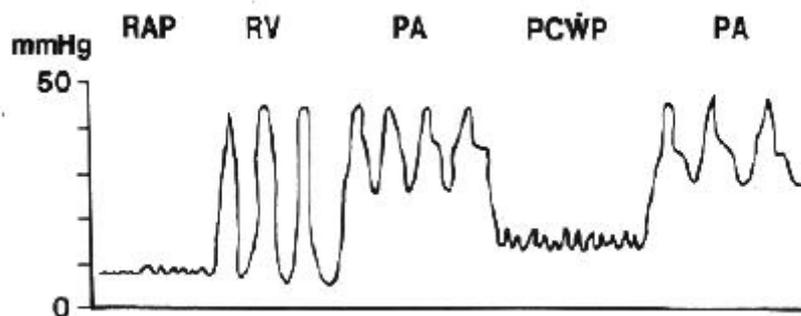


Abbildung 2. 1: Kurvenzug während des Einschwemmens des Pulmonalarterienkatheters [130].

Legende:

RAP: right atrial pressure; RV: right ventricle

PA: pulmonary artery; PCWP: pulmonary capillary wedge pressure

2.2.3 Arterielle Kanüle

Des Weiteren wurde ein Femoralarterienkatheter (18-Gauche (G) Leader Cath; Vygon GmbH, Aachen, Deutschland) in der A. femoralis sinistra für eine kontinuierliche Überwachung des arteriellen Blutdrucks platziert. Das Punktionsareal wurde gründlich gereinigt, desinfiziert, der Katheter in Seldinger - Technik eingebracht und auf Durchlässigkeit überprüft, über den Drucktransducer (DTX Pressure Transducer, Ohmeda, Erlangen, Deutschland) mit dem Überwachungsmonitor (Hellige Servomed, Hellige, Freiburg, Deutschland) verbunden und anschließend in der Leiste fixiert. Die HR wurde aus der mittleren Frequenz der arteriellen Druckkurvenspitzen errechnet.

2.2.4 Harnblasenkatheter

Zur Überwachung der Urinausscheidung und Probenentnahme erfolgte die Anlage eines Harnblasenkatheters (Porgès S.A., Les Plessis Robinson Cedex, Frankreich). Dieser wurde nach gründlicher Reinigung und Desinfektion des Urogenitalbereiches, transurethral mit einer sterilen anatomischen Pinzette in die Harnblase vorgeschoben. Die korrekte Lage wurde durch den über den Katheter zurückfließenden Urin bestätigt. Anschließend erfolgte die Fixierung durch Blocken des Ballons mit 10ml isotonischer Kochsalzlösung und die Konnektion mit einem Urinauffangbeutel.

2.2.5 Abschluss der Instrumentierung

Nach nochmaliger Spülung aller Druckleitungen mit isotonischer Kochsalzlösung (0,9%) und Kontrolle auf Durchlässigkeit, wurden sämtliche Katheter zum Schutz vor Beschädigung in das Fell eingebunden.

Nach Beendigung der Isofluranzufuhr und nach Wiedererlangen einer regelmäßigen Spontanatmung konnten die Schafe extubiert werden.

Für die weitere Versuchsdurchführung wurden die Tiere in speziellen Käfigen mit freiem Zugang zu Wasser und Futter untergebracht. Das Risiko einer Dislokation der Katheter war durch die spezielle Konstruktion der Käfige minimiert. Um eine postoperative Dehydratation zu vermeiden, erhielten alle Schafe eine intravenöse Infusion von $20 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ einer balancierten kristalloiden Lösung (Sterofundin® ISO, B. Braun Melsungen, Deutschland) für eine Zeitdauer von einer Stunde nach Abschluss der Anästhesie.

Vor weiteren Schritten folgte für die Tiere eine 24-stündige Erholungsphase.

2.3 Das Versuchsprotokoll

2.3.1 Einschlusskriterien

Folgende Einschlusskriterien mussten erfüllt sein, damit das Versuchstier in die Studie eingeschlossen wurde:

- HR < 100 / min
- MAP > 80 mmHg
- MPAP < 20 mmHg
- Körperkerntemperatur < 39,8 °C und
- Arterielleres Laktat $\leq 1,0 \text{ mmol/L}$.

Erfüllten die Versuchstiere diese Bedingungen, erfolgte eine vollständige Messung aller Variablen (Baseline 1; BL1).

2.3.2 Endotoxinämie und endotoxinämischer Schock

Alle Versuchstiere erhielten eine kontinuierliche Infusion mit *Salmonella typhosa* Endotoxin (LPS), (Sigma Chemicals, Deisenhofen, Deutschland), beginnend mit einer Dosis von $5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Die Dosierung wurde stündlich verdoppelt, bis der MAP auf $\leq 65 \text{ mmHg}$ fiel. Zur Sicherung des Basisflüssigkeitsbedarfs wurden in diesem Zeitraum $2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ Sterofundin ISO infundiert.

Der Abfall des MAP auf $\leq 65 \text{ mmHg}$ wurde als Eintritt des Schocks definiert. Bei Erreichen dieses Kriteriums erfolgte eine erneute vollständige Messung aller Variablen (Baseline 2; BL2). Die erreichte Dosierung des Endotoxins wurde für die sich nun anschließende 12-stündige Messreihe weitergeführt.

2.3.3 Versuchsgruppen

Die 20 Versuchstiere wurden randomisiert folgenden Versuchsgruppen zugeordnet:

- 1) Der Glipizidgruppe, welche eine kontinuierliche Infusion des Studienmedikamentes mit einer Dosis von $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ erhielt.
- 2) Der Kontrollgruppe, welcher die identische Menge einer 0,9% NaCl- Lösung verabreicht wurde.

Um eine Hypoglykämie zu verhindern, verabreichten wir ab BL2 beiden Versuchsgruppen eine kontinuierliche Infusion mit Glukose 40% ($15 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$). Die Infusionsrate wurde an den Blutglukosespiegel angepasst, um eine stabile Konzentration gemäß dem Versuchsprotokoll zu gewähren.

2.3.4 Volumen- und Katecholamintherapie

Die Volumentherapie wurde nach folgendem Schema durchgeführt: Mit BL2 erhielten die Tiere eine Bolusinfusion von 1000 ml Stereofundin[®] ISO und 500ml HES 130/0.4 (Voluven[®] 6%, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland), gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion von Sterofundin[®] ISO und Voluven[®] 6%, mit $12 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ und $3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, über die gesamte Zeitspanne des Versuchs. Bei Bedarf erfolgte eine Bolusgabe von $12 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ Sterofundin[®] ISO, um einen CVP von 8-12 mmHg, einen PCWP von 12-15 mmHg und eine SvO₂ von $\geq 65\%$ aufrechtzuerhalten.

Für die Einstellung des laut Protokoll vorgegebenen Ziel-MAP von 70 ± 5 mmHg waren folgende Möglichkeiten gegeben:

- a) Bei einem $\text{MAP} \leq 65$ mmHg, durch die kontinuierliche Infusion einer 10 %-igen NA-Lösung (Arterenol[®], 25ml, 1mg/ml Norepinephrin, Sanofi-Aventis) mit einer minimalen Infusionsrate von $2 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$, welche über einen Perfusor gesteuert wurde.
- b) Bei einem $\text{MAP} \geq 75$ mmHg, durch schrittweise Reduktion und gegebenenfalls Stoppen der NA-Infusion.
- c) Bei einem $\text{MAP} \geq 75$ mmHg trotz gestoppter NA-Infusion, durch Reduktion der Glipiziddosis von $8 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ um maximal 10% innerhalb von 60 Minuten bis auf eine minimale Infusionsdosis von $4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

2.3.5 Blutgasanalyse

Die arteriellen und gemischt-venösen Blutproben (je 0.5ml) zur Blutgasbestimmung wurden in heparinisierte Röhrchen (Sarstedt; Nümbrecht, Deutschland) entnommen.

Mit dem Blutgasanalysegerät ABL 725 mit SAT 100 Kalibrierung (Radiometer Kopenhagen; Kopenhagen, Dänemark) erfolgte die Bestimmung des pH-Wertes, der Partialdrücke von O_2 ($p\text{O}_2$) und CO_2 ($p\text{CO}_2$) sowie der „arterial“ und „mixed venous oxygen saturation“ ($S_a\text{O}_2$, $S_v\text{O}_2$). Zusätzlich wurden die „hemoglobin concentration“ (cHb), „hematocrit“ (Hct), die arterielle Laktatkonzentration und die Elektrolyte bestimmt. Der Oxymeter-korrigierte Base- Excess (BE_{ox}) errechnete sich aus cHb, dem Kohlenstoffdioxidpartialdruck ($p\text{CO}_2$), pH und der „arterial oxygen saturation“ ($S_a\text{O}_2$). DO_2I , VO_2I und die „oxygen extraction rate“ ($\text{O}_2\text{-ER}$) wurden über Standardformeln bestimmt (Tab: 2.2).

2.3.6 Versuchsende

Nach 12-stündiger Versuchsdauer wurden die überlebenden Tiere mit einer intravenösen Bolusinjektion von $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Propofol 1% (Disoprivan[®], Astra Zeneca, Schwetzingen, Deutschland) tief narkotisiert und mit einer letalen Dosis von 100ml K^+ -Chlorid-Lösung (7.45%) eingeschläfert. Der Tod trat in Folge einer Asystolie ein.

2.4 Formeln zur Berechnung der Parameter der systemischen Hämodynamik und des globalen Sauerstofftransports

Tabelle 2.1: Formeln zur Berechnung der systemischen Hämodynamik

Parameter	Bezeichnung	Berechnung
BSA	Body surface area	$BSA = \text{Gewicht} \cdot (\frac{2}{3}) \cdot 0,084$
CO	Cardiac output	$CO = HR \cdot SV = (T_b - T_i) \cdot V_i \cdot K$
CI ($L \cdot \text{min}^{-1} \cdot m^{-2}$)	Cardiac index	$CI = CO / BSA$
SVI ($ml \cdot \text{beat}^{-1} \cdot m^{-2}$)	Stroke volume index	$SVI = SV / BSA$
SVRI ($\text{dyn} \cdot \text{sek} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot m^{-2}$)	Systemic-vascular resistance index	$SVRI = \frac{MAP - CVP}{CI} \cdot 80$
PVRI ($\text{dyn} \cdot \text{sek} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot m^{-2}$)	Pulmonary-vascular resistance index	$PVRI = \frac{MPAP - PCWP}{CI} \cdot 80$
LVSWI ($g \cdot m \cdot m^{-2}$)	Left ventricular stroke work index	$LVSWI = \frac{CI \cdot (MAP - PCWP) \cdot 13,6}{HR}$
RVSWI ($g \cdot m \cdot m^{-2}$)	Right-ventricular stroke work index	$RVSWI = \frac{CI \cdot (MPAP - PCWP) \cdot 13,6}{HR}$

Tabelle 2.2: Parameter zur Berechnung des globalen Sauerstofftransports

Parameter	Bezeichnung	Berechnung
DO ₂ I ($ml \cdot \text{min}^{-1} \cdot m^{-2}$)	Oxygen delivery index	$CI \cdot SaO_2 \cdot ctHb \cdot 1,34 \cdot 10$
VO ₂ I ($ml \cdot \text{min}^{-1} \cdot m^{-2}$)	Oxygen consumption index	$CI \cdot (SaO_2 - SvO_2) \cdot ctHb \cdot 1,34 \cdot 10$
O ₂ -ER (%)	Oxygen extraction rate	$((SaO_2 - SvO_2) \cdot 100) / SaO_2$

2.5 Statistische Analysen

In der Auswertung der Ergebnisse werden nur Messwerte bis zur 10. Stunde berücksichtigt, da aufgrund des Versterbens einzelner Tiere der Stichprobenumfang in den einzelnen Gruppen ab der 11. Stunde zu stark reduziert ist.

Die Beschreibung der kontinuierlichen Variablen durch Mittelwert oder Median (25.-Perzentile – 75.Perzentile) erfolgte entsprechend ihrer Verteilung, als symmetrisch oder asymmetrisch.

Multivariable Modelle von “Generalized Estimating Equations” (GEEs) wurden zum Vergleich der Gruppen mit Unterschieden in hämodynamischen, pulmonalen und metabolischen Variablen benutzt. Nachgewiesen werden sollte eine lineare Veränderung über die Zeitdauer von 10 Stunden ab BL2. GEEs sind Methoden, welche eine Analyse wiederholter Messungen aufgrund einer Korrelation der Messwerte eines Individuums über die Zeit erlauben. Der Hauptvorteil dieser Methode ist die einheitliche Schätzung der mit Kovariablen assoziierten Parameter, auch wenn die Struktur der vermuteten Korrelation unkorrekt ist. Die stündliche NA-Dosis (in $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) wurde, in Anbetracht der vom MAP und zeitlichen Schwankungen abhängigen NA-Gabe, als Kovariable in das Modell eingeführt. Den Empfehlungen von Pepe und Anderson folgend, wurde eine unabhängige Korrelationsmatrix für die Schätzung der Modellparameter vorausgesetzt. GEE berücksichtigt auch die Veränderungen eines Parameters während des gesamten Überwachungszeitraums und liefert somit einheitlichere Ergebnisse, als Vergleiche von mehreren stündlichen Messungen, wie z.B. bei ANOVA für wiederholte Messungen. Dies ist insbesondere relevant, wenn eine der Gruppen eine hohe Frühsterblichkeit aufweist. Die Kontrollgruppe bildete die Basis für den Vergleich [51]. Werte mit $p \leq 0.05$ wurden als signifikant für alle Test-Hypothesen definiert.

Der Fischer-Test war indiziert, wenn die erwartete Häufigkeit in irgendeiner der Zellen der Kontingenztafel kleiner fünf betrug. ANOVA diente zur Analyse der Verteilung der kontinuierlichen Variablen auf Symmetrie bzw. Asymmetrie. Mittels Post-hoc-Vergleichen konnten Differenzen innerhalb und zwischen den Gruppen analysiert werden. Der T-Test für verbundene Stichproben ermöglichte den Vergleich der Messwerte zwischen BL1 und BL2 Messung. Mit dem Kaplan-Meier-Test und dem Log-rank-Test wurde die Überlebensrate zwischen der Glipizidgruppe und der Kontrollgruppe analysiert.

Die statistische Analyse erfolgte mit SPSS® v.17.0 und Microsoft Excel 2007.

3. Ergebnisse

3.1 Auswirkungen der kontinuierlichen Endotoxininfusion (BL1 vs. BL2)

Nach Beginn der gewichtsadaptierten, kontinuierlichen Endotoxininfusion fanden folgende Veränderungen zwischen BL1 bis zum Eintritt des endotoxinämischen Schocks statt:

3.1.1 Systemische Hämodynamik

Zum Zeitpunkt der BL1- und BL2-Messung zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in den gemessenen Parametern zwischen der Glipizid- und der Kontrollgruppe ($p > 0,05$). Zwischen BL1 und BL2 sind signifikante Reduktionen des MAP, SVI und LVSWI sowohl in der Glipizid- als auch in der Kontrollgruppe, sowie des SVRI in der Kontrollgruppe zu verzeichnen. Des Weiteren stieg die HR in beiden Gruppen und der RVSWI der Glipizidgruppe signifikant an ($p < 0,05$). Die Veränderungen zwischen BL1 und BL2 sind in Tabelle 3.1 dargestellt:

Tabelle 3.1: Parameter der systemischen Hämodynamik zu BL1 und BL2

Parameter	Gruppe	BL1	BL2
MAP (mmHg)	Glipizid	89 ± 1	69 ± 3*
	Kontrolle	88 ± 2	62 ± 2*
SVRI (dyn · s · cm ⁻⁵ · m ⁻²)	Glipizid	1125 ± 43	1051 ± 131
	Kontrolle	1218 ± 76	1106 ± 104*
CI (l · min ⁻¹ · m ⁻²)	Glipizid	6,1 ± 0,1	5,2 ± 0,5
	Kontrolle	5,3 ± 0,3	4,6 ± 0,5
SVI (ml · beat ⁻¹ · m ⁻²)	Glipizid	65 ± 2	41 ± 5*
	Kontrolle	62 ± 2	39 ± 4*
HR (beat · min ⁻¹)	Glipizid	90 ± 3	121 ± 7*
	Kontrolle	87 ± 10	115 ± 4*
LVSWI (g · m · m ⁻²)	Glipizid	70,0 ± 2,4	32,0 ± 3,9*
	Kontrolle	67,0 ± 2,7	29,0 ± 2,8*
RVSWI (g · m · m ⁻²)	Glipizid	8,0 ± 0,7	10,0 ± 1,2*
	Kontrolle	9,0 ± 0,4	8,0 ± 1,2

Legende: MAP = mean arterial pressure, SVRI = systemic vascular resistance index, CI = cardiac index, SVI = stroke volume index, HR = heart rate, LVSWI = left ventricular stroke work index, RVSWI = right ventricular stroke work index. * $p < 0,05$ BL1 vs. BL2;

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

3.1.2 Pulmonale Hämodynamik

Zum Zeitpunkt der BL1-Messung bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen im PVRI ($p < 0,05$). In der Glipizidgruppe erfolgte zwischen BL1 und BL2 ein signifikanter Anstieg des MPAP und PVRI.

Die Veränderungen zwischen BL1 und BL2 sind in Tabelle 3.2 dargestellt:

Tabelle 3.2: Parameter der pulmonalen Hämodynamik zu BL1 und BL2

Parameter	Gruppe	BL1	BL2
MPAP (mmHg)	Glipizid	16 \pm 1	22 \pm 1*
	Kontrolle	15 \pm 1	19 \pm 2
PVRI (dyn·s·cm ⁻⁵ · m ⁻²)	Glipizid	66 \pm 3	211 \pm 35*
	Kontrolle	140 \pm 13#	232 \pm 37

Legende: MPAP = mean pulmonary arterial pressure, PVRI = pulmonary vascular resistance index. * $p < 0,05$ BL1 vs. BL2; # $p < 0,05$ Kontrolle vs. Glipizid.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

3.1.3 Globaler Sauerstofftransport

Zwischen der Glipizid- und der Kontrollgruppe zeigten sich in den gemessenen Parametern nur in der SvO₂ zum Zeitpunkt der BL2 ein statistisch signifikanter Unterschied. Im Zeitraum zwischen BL1 und BL2 zeigten sich statistisch signifikante Senkungen in der SaO₂ der Kontrollgruppe und des SvO₂, VO₂I und der O₂-ER in der Glipizidgruppe.

Die Veränderungen zwischen BL1 und BL2 sind in Tabelle 3.3 dargestellt:

Tabelle 3.3: Einfluss der Endotoxinämie auf die Parameter der globalen Sauerstoffversorgung

Parameter	Gruppe	BL1	BL2
SaO ₂ (%)	Glipizid	94 ± 1	93 ± 1
	Kontrolle	95 ± 1	92 ± 2*
SvO ₂ (%)	Glipizid	65 ± 1	70 ± 2*
	Kontrolle	65 ± 2	64 ± 2 #
PaO ₂ (%)	Glipizid	106 ± 3	96 ± 7
	Kontrolle	106 ± 3	100 ± 4
DO ₂ I (ml/min)	Glipizid	856 ± 53	761 ± 47
	Kontrolle	727 ± 30	674 ± 77
VO ₂ I (ml/min)	Glipizid	267 ± 31	182 ± 17*
	Kontrolle	226 ± 14	179 ± 20
O ₂ -ER (%)	Glipizid	0,27 ± 0,02	0,25 ± 0,03*
	Kontrolle	0,31 ± 0,01	0,31 ± 0,02

Legende: SaO₂ = arterial oxygen saturation, SvO₂ = venous oxygen saturation, PaO₂ = arterial oxygen pressure, DO₂I = oxygen delivery index, VO₂I = oxygen consumption index, O₂-ER = oxygen extraction rate. * p<0,05 BL1 vs. BL2, # p<0,05 Kontrolle vs. Glipizid. Die Messwerte stehen für den Mittelwert ± SEM.

3.1.4 Säure-Basen- und Elektrolythaushalt und Körperkerntemperatur

In den Parametern des Säure-Basen- und Elektrolythaushaltes zeigten sich zum Zeitpunkt der BL1- und BL2-Messung keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Glipizid- und der Kontrollgruppe. Im pHa beider Gruppen, sowie im HCO₃⁻ und BE der Kontrollgruppe waren statistisch signifikante Senkungen nachweisbar (p<0,05). Das Laktat stieg zwischen der BL1- und BL2-Messung in beiden Gruppen statistisch signifikant an (p<0,05).

Die Veränderungen zwischen BL1 und BL2 sind in Tabelle 3.4 dargestellt:

Tabelle 3.4: Einfluss der Endotoxinämie auf die Parameter des Säure-Basen- und Elektrolythaushaltes und die Körperkerntemperatur

Parameter	Gruppe	BL1	BL2
pHa (-log ¹⁰ cH ⁺)	Glipizid	7,48 ± 0,01	7,45 ± 0,01*
	Kontrolle	7,46 ± 0,01	7,40 ± 0,01*
HCO ₃ ⁻ (mmol·l ⁻¹)	Glipizid	26,0 ± 0,7	23,6 ± 1,1
	Kontrolle	25,4 ± 0,7	21,8 ± 1,2*
BE (mmol·l ⁻¹)	Glipizid	3,1 ± 0,4	1,8 ± 1,0
	Kontrolle	2,5 ± 0,5	-0,5 ± 1,2*
Laktat (mmol·l ⁻¹)	Glipizid	0,8 ± 0,1	3,1 ± 0,3*
	Kontrolle	0,8 ± 0,1	3,0 ± 0,3*
T (C°)	Glipizid	39,6 ± 0,1	41,2 ± 0,2
	Kontrolle	39,5 ± 0,2	41,4 ± 0,2

Legende: pHa = arterieller pH-Wert, HCO₃⁻ = Hydrogencarbonat, BE = Base Excess, Laktat = arterielle Laktatkonzentration, T = Körperkerntemperatur.

* p<0,05 BL1 vs. BL2; Die Messwerte stehen für den Mittelwert ± SEM.

3.1.5 Blutzuckerspiegel

Weder zum Zeitpunkt der BL1- und BL2- Messung, noch zwischen BL1 und BL2 bestanden statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Glipizid- und der Kontrollgruppe (p>0,05). Die Serum-Glukose der Glipizidgruppe stieg von 81 ± 5 auf 87 ± 3 mmol·l⁻¹ und in der Kontrollgruppe von 80 ± 3 auf 87 ± 4 mmol·l⁻¹.

3.1.6 Diurese

Zwischen der Glipizid- und der Kontrollgruppe zeigte sich weder zu BL1 noch zu BL2 ein statistisch signifikanter Unterschied in der Diurese (p>0,05). Auch zwischen BL1 und BL2 waren keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Urinausscheidung nachweisbar (p>0,05). In der Glipizidgruppe erfolgte ein Anstieg von 56 ± 13 ml·h⁻¹ auf 70 ± 27 ml·h⁻¹ und in der Kontrollgruppe eine Reduktion von durchschnittlich 37 ± 4 ml·h⁻¹ auf 28 ± 7 ml·h⁻¹.

3.2 Auswirkungen der kontinuierlichen Glipizidinfusion

Mit Eintritt des endotoxinämischen Schocks wurde die kontinuierliche, gewichtsadaptierte Infusion von Glipizid ($8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) in der Glipizidgruppe bzw. die Infusion von 0,9% isotonischer NaCl-Lösung in der Kontrollgruppe begonnen.

3.2.1 Noradrenalinbedarf

Die mit Glipizid behandelte Versuchsgruppe benötigte durchschnittlich $0,205 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{KG} \cdot \text{min}^{-1}$ NA, während die Kontrollgruppe $0,411 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{KG} \cdot \text{min}^{-1}$ NA verbrauchte (siehe Abb:3.1). Dies entspricht einer Reduktion von 49,9 %, ist jedoch nach der „over-time-analysis“ mit GEE statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Zum Zeitpunkt der 3h-Messung lag der NA-Bedarf der Glipizidgruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

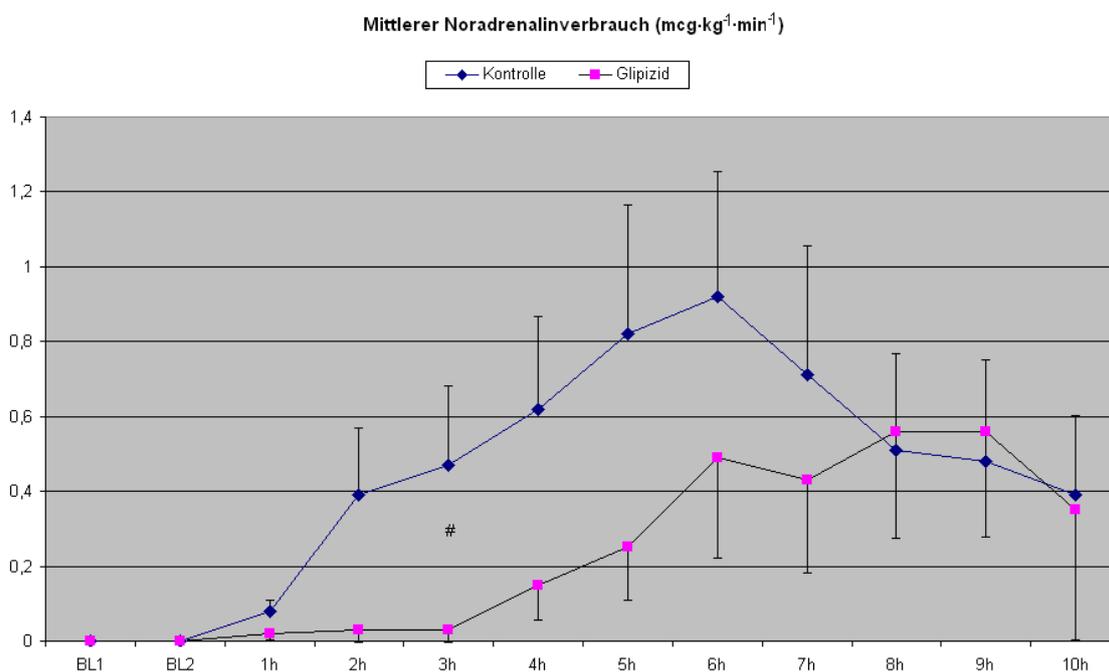


Abbildung 3.1: Verlauf des Noradrenalinbedarfs

$p < 0,05$ Kontrolle vs. Glipizid; die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

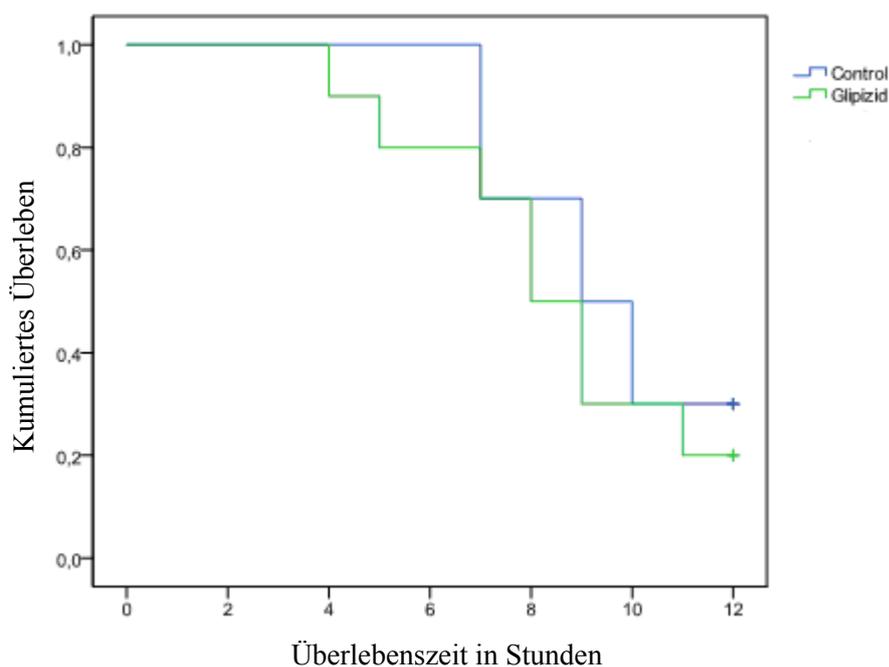
3.2.2 Überlebenszeit während 12 Stunden

Von den 20 instrumentierten Versuchstieren erreichten fünf das Versuchsende nach 12 Stunden. Dabei handelte es sich um zwei Tiere der Glipizidgruppe und drei Tiere der Kontrollgruppe. Das Überleben in den einzelnen Gruppen ist in Tabelle 3.6 und Abbildung 3.2 dargestellt:

Tabelle 3.5: 12-Stunden-Überleben nach Gruppen

Gruppe / n	BL2	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	9h	10h	11h	12h
Kontrolle 10	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	5	3	3
Glipizid 10	10	10	10	10	10	9	8	8	7	5	3	3	2

Abbildung 3. 2: Überlebenszeiten der Glipizid- vs. der Kontrollgruppe



Die Überlebenskurven der Glipizid- vs. der Kontrollgruppe zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p > 0,05$).

3.2.3 Systemische Hämodynamik

MAP

Nach der „overtime-analysis“ mit GEE lag der MAP in der Glipizidgruppe über den Zeitraum von 10h um durchschnittlich 4 mmHg und damit statistisch nicht signifikant, über den Werten der Kontrollgruppe. Zwischen den beiden Gruppen bestanden zu den einzelnen Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede (jeweils $p > 0,05$), (Abb: 3.3).

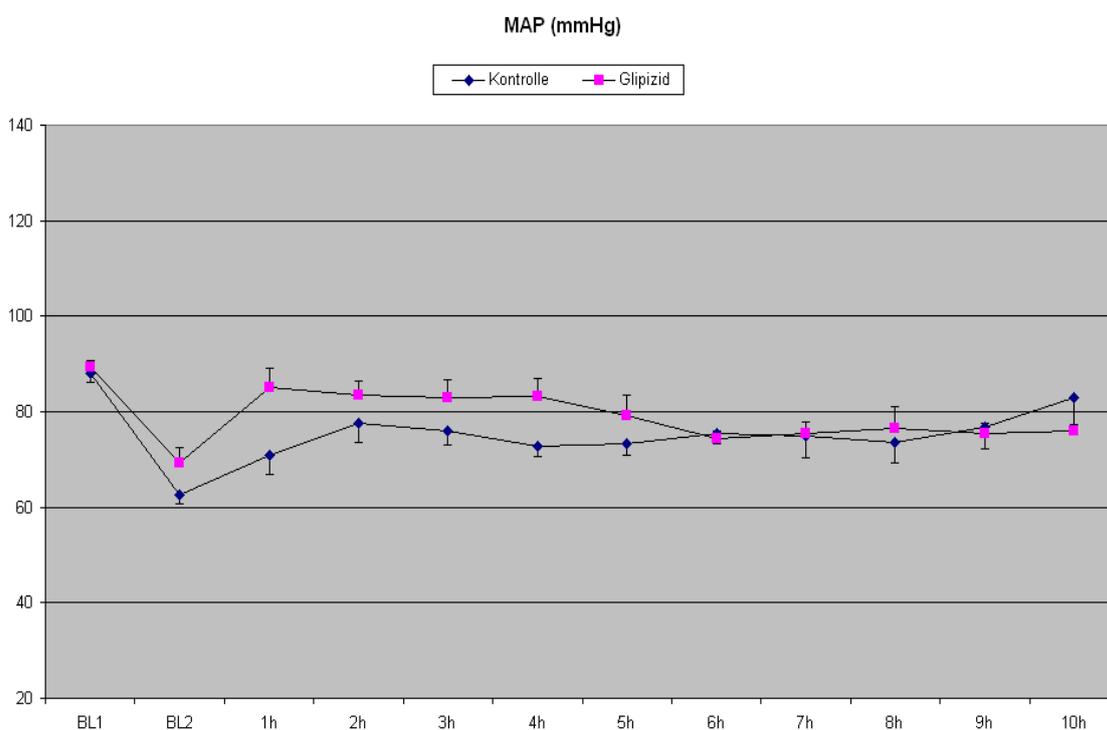


Abbildung 3.3: Verlauf des mean arterial pressure.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

SVRI

Über den Zeitraum von 10h lag der SVRI in der Glipizidgruppe um durchschnittlich $287 \text{ dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^{-2}$ und damit statistisch signifikant über den Werten der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen bestanden zu den Zeitpunkten der 3h- und 4h- Messung. Zum Zeitpunkt der 3h-

Messung lag der SVRI in der Glipizidgruppe um $278 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$ und zum Zeitpunkt der 4h- Messung um $371 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$ über den Werten der Kontrollgruppe (jeweils $p<0,05$), (Abb: 3.4).

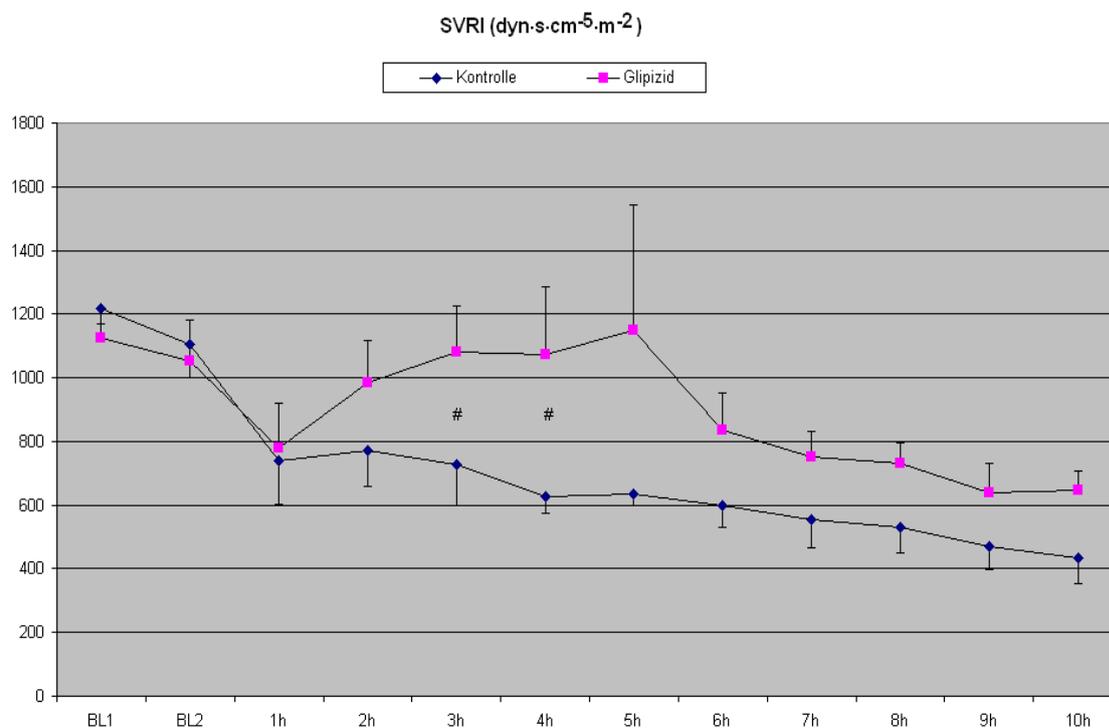


Abbildung 3.4: Verlauf des systemic vascular resistance index.

$p<0,05$ Kontrolle vs. Glipizid. Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

CVP

Der CVP war nach Berechnung mit GEE in der Glipizidgruppe über den Zeitraum von 10h, um durchschnittlich 3 mmHg und somit statistisch signifikant, gegenüber der Kontrollgruppe verringert ($p<0,05$). Zwischen den beiden Gruppen bestanden jedoch zu den einzelnen Messzeitpunkten keine statistisch signifikanten Unterschiede ($p>0,05$).

HR

In der Glipizidgruppe war die HR über den Zeitraum von 10h um durchschnittlich 8 Schläge·min⁻¹ und somit statistisch nicht signifikant, gegenüber der Kontrollgruppe erniedrigt ($p > 0,05$). Auch zu den einzelnen Messzeitpunkten waren zwischen beiden Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisbar ($p > 0,05$; Abb: 3.5).

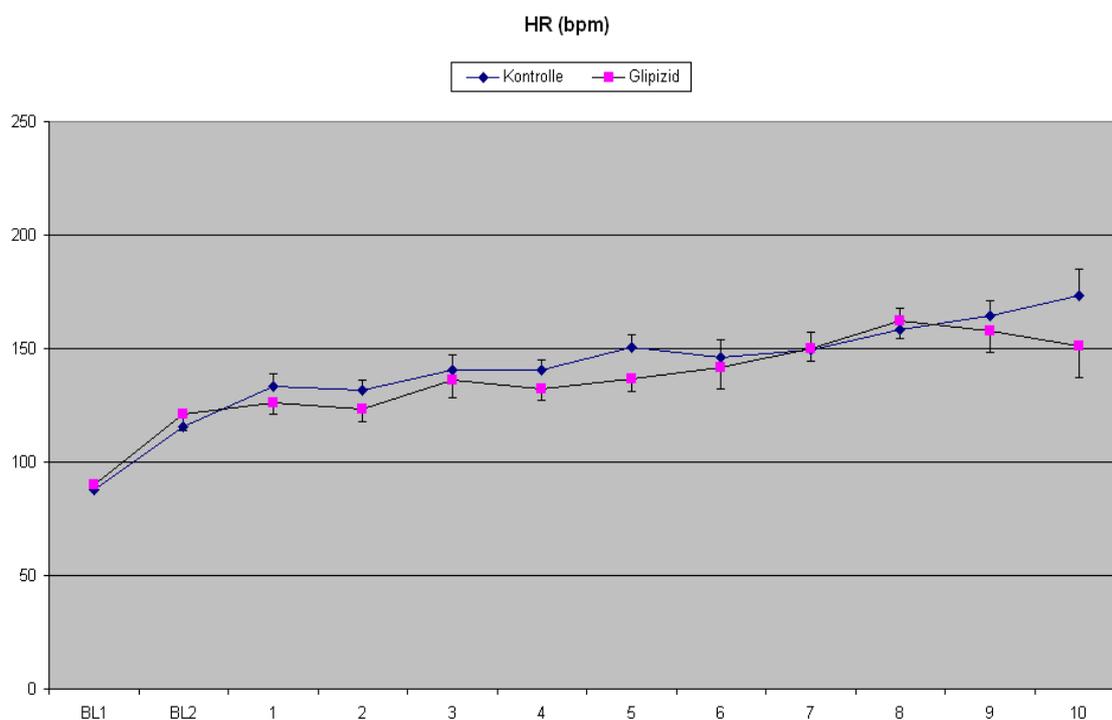


Abbildung 3.5: Verlauf der heart rate.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

CI

In der Glipizidgruppe ließ sich über den gesamten Zeitraum von 10h eine statistisch signifikante Reduktion des CI um durchschnittlich 1,7 L·min⁻¹·m⁻² gegenüber der Kontrollgruppe nachweisen ($p < 0,05$). Zu den einzelnen Messzeitpunkten bestanden jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen (jeweils $p > 0,05$; Abb:3.6).

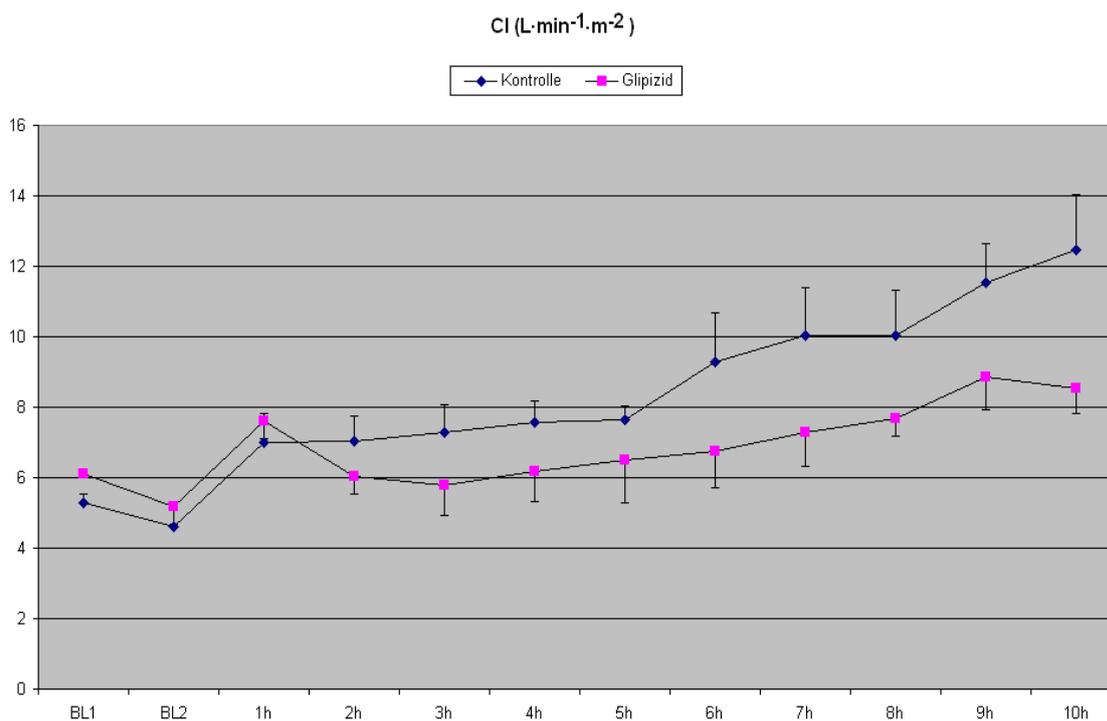


Abbildung 3.6: Verlauf des cardiac index.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

SVI

Nach der „over-time-analysis“ mit GEE konnte eine statistisch signifikante Verringerung des SVI der Glipizidgruppe um durchschnittlich $8 \text{ mL}\cdot\text{beat}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($p < 0,05$). Zum Zeitpunkt der 3h-Messung bestand ebenfalls eine statistisch signifikante Erniedrigung des SVI in der Glipizid- vs. der Kontrollgruppe ($p < 0,05$; Abb:3.7).

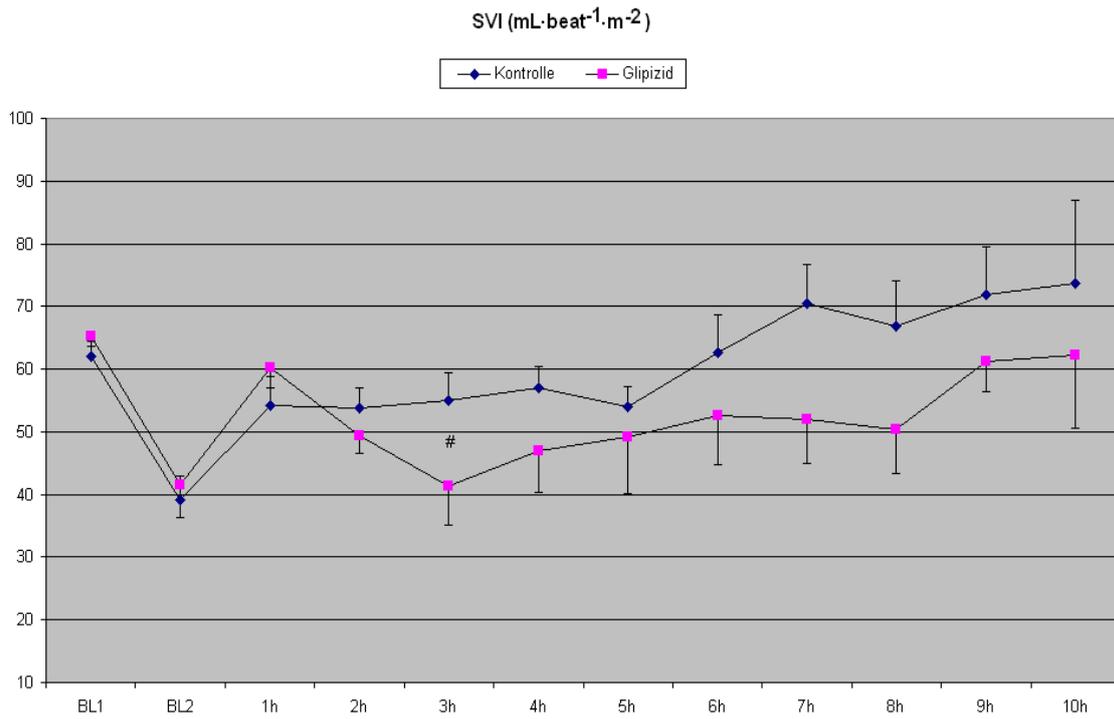


Abbildung 3.7: Verlauf des stroke volume index; # $p < 0,05$ Kontrolle vs. Glipizid.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

3.2.4 Pulmonale Hämodynamik

MPAP

Sowohl nach der „over-time-analysis“ mit GEE über den Zeitraum von 10h als auch zwischen den einzelnen Messzeitpunkten der beiden Gruppen, konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede im MPAP nachgewiesen werden (jeweils $p > 0,05$), (Abb.: 3.8).

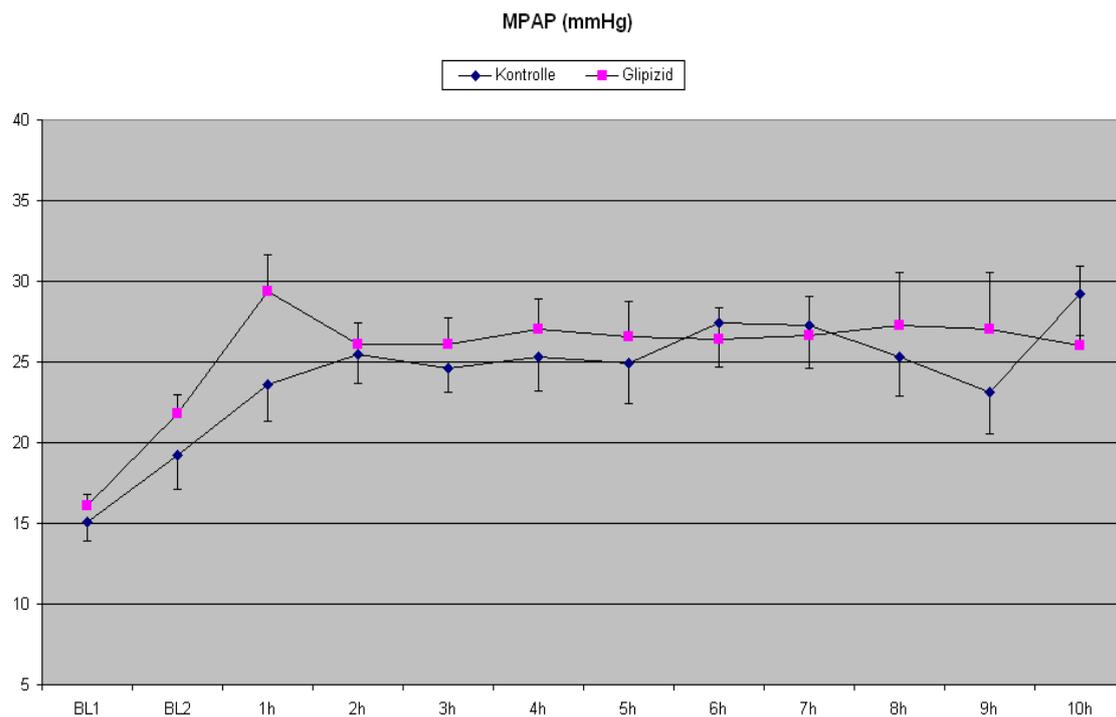


Abbildung 3.8: Verlauf des mean pulmonary arterial pressure.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

PVRI

Der PVRI in der Glipizidgruppe lag über den Zeitraum von 10h um durchschnittlich $52 \text{ dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^{-2}$ und damit statistisch nicht signifikant über den Werten der Kontrollgruppe. Auch zu den einzelnen Messzeitpunkten waren zwischen beiden Gruppen keine statistisch signifikante Unterschiede nachweisbar (jeweils $p > 0,05$), (Abb: 3.9).

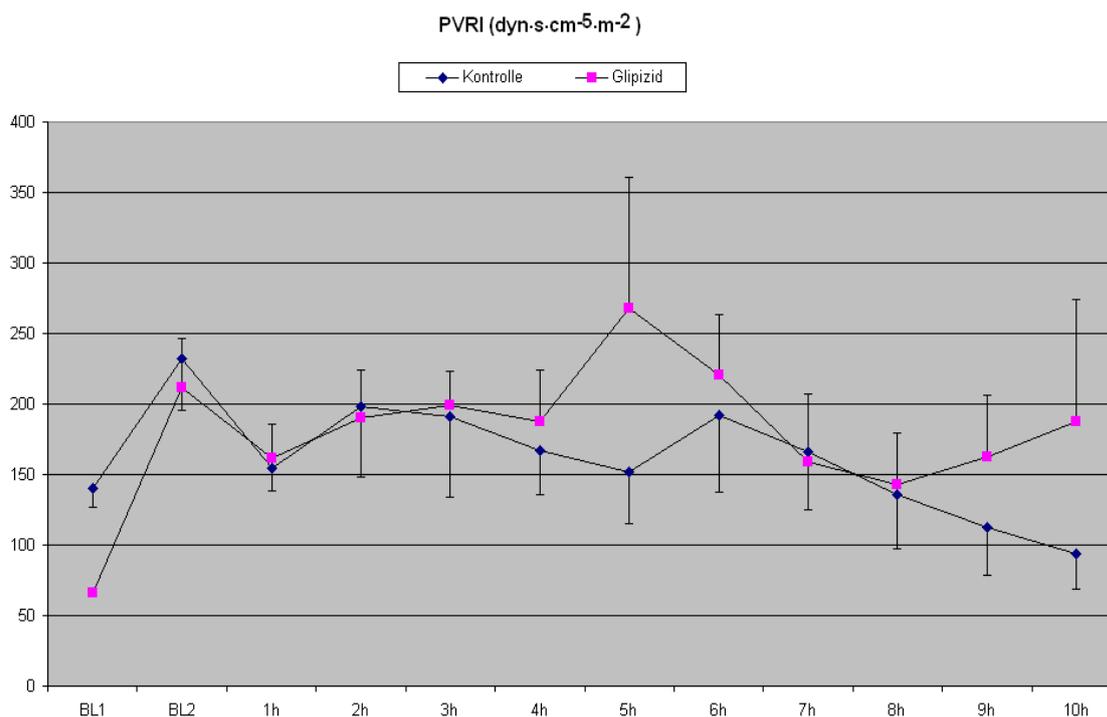


Abbildung 3.9: Verlauf des pulmonary vascular resistance index.

$p < 0,05$ Kontrolle vs. Glipizid.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

3.2.5 Globaler Sauerstofftransport

PaO₂, SaO₂, PaCO₂, SvO₂

Bezüglich SaO₂ (Abb:3.10), PaO₂, SvO₂ und PaCO₂ ließen sich zwischen beiden Gruppen weder bei der „over-time-analysis“ mit GEE über den Zeitraum von 10h, noch zwischen den einzelnen Messzeitpunkten, statistisch signifikante Unterschiede nachweisen (jeweils $p > 0,05$).

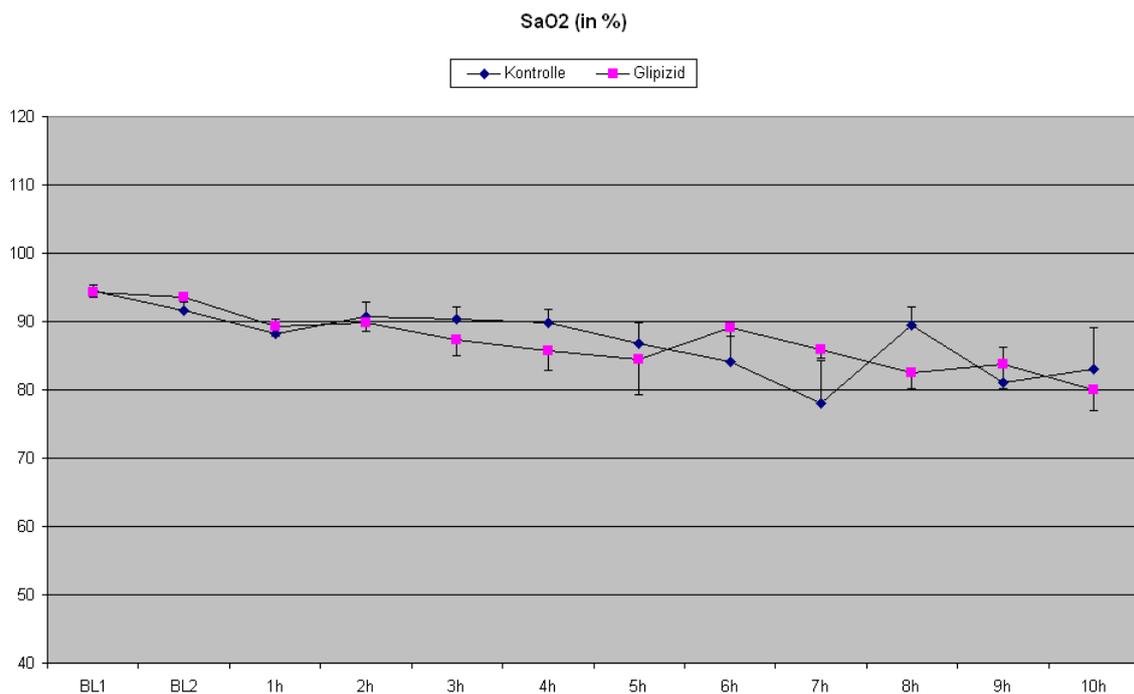


Abbildung 3.10: Verlauf der arterial oxygen saturation.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

DO₂I, VO₂I, O₂-ER

Der DO₂I war über den Zeitraum von 10h in der Glipizidgruppe statistisch signifikant um durchschnittlich $220 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ vs. der Kontrollgruppe vermindert ($p < 0,05$; Abb: 3.11). Zum Zeitpunkt der 3h- und 4h-Messung bestand ebenfalls eine statistisch signifikante Verringerung des DO₂I der Glipizid- vs. der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Der VO₂I der Glipizidgruppe war gegenüber der Kontrollgruppe um $71 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ sowie zum Zeitpunkt der 3h-Messung statistisch signifikant reduziert (jeweils $p < 0,05$; Abb: 3.12).

Die O₂-ER der Glipizidgruppe war nach der „over-time-analysis“ mit GEE sowohl über den gesamten Versuchszeitraum, als auch zu den einzelnen Messzeitpunkten vs. der Kontrollgruppe, statistisch nicht signifikant reduziert ($p > 0,05$).

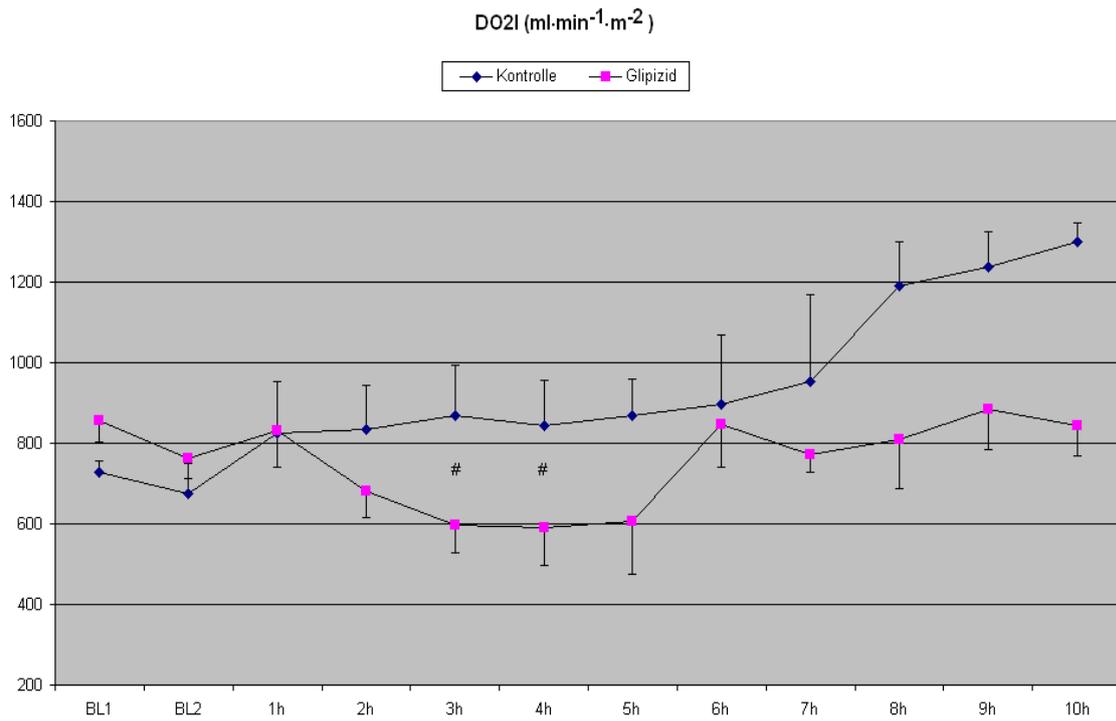


Abbildung 3.11: Verlauf des oxygen delivery index. # p<0,05 Kontrolle vs. Glipizid

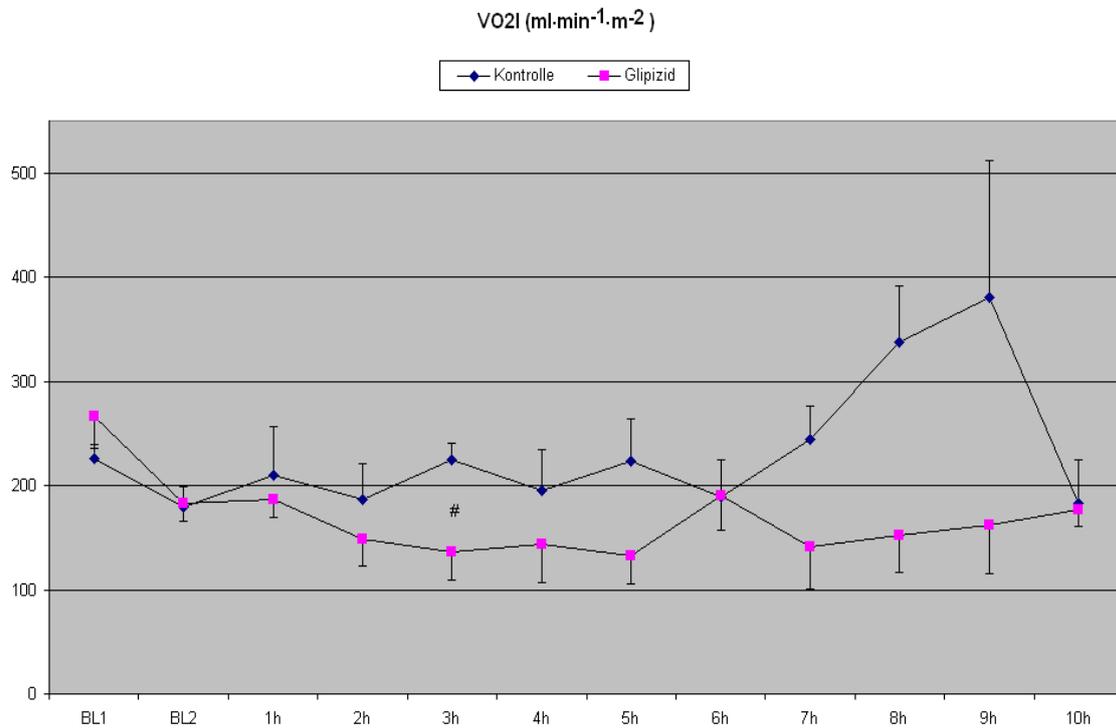


Abbildung 3.12: Verlauf des oxygen consumption index. # p<0,05 Kontrolle vs. Glipizid. Die Messwerte stehen für den Mittelwert ± SEM.

3.2.6 Säure-Basen- und Elektrolythaushalt und Körperkerntemperatur

In den untersuchten Parametern: Körperkerntemperatur, pH-Wert, HCO_3^- , BE und arterielle Laktatkonzentration (Abb: 3.13) ließen sich nach der „over-time-analysis“ mit GEE, weder über den gesamten Versuchszeitraum von 10h, noch zwischen den einzelnen Messzeitpunkten, statistisch signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen nachweisen (jeweils $p > 0,05$).

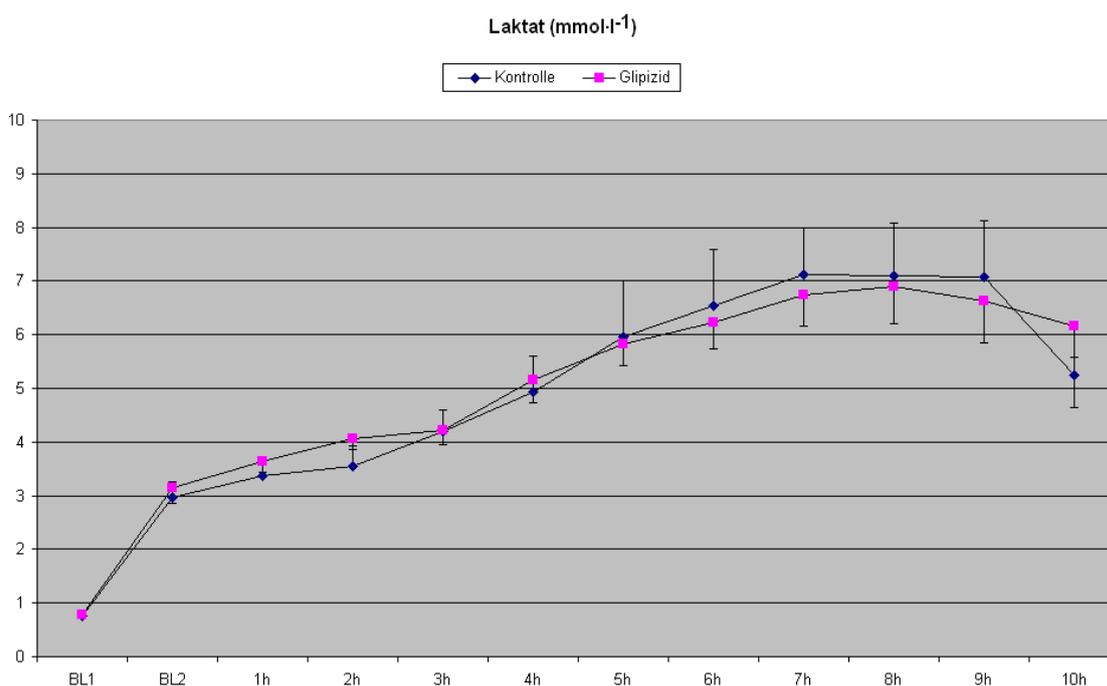


Abbildung 3.13: Verlauf der arteriellen Laktatkonzentration.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

3.2.7 Blutzuckerspiegel im Serum

Die Tiere der Glipizidgruppe hatten über den Versuchszeitraum einen um durchschnittlich $1,47 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ und damit statistisch nicht signifikant vs. der Kontrollgruppe erhöhten Blutzuckerspiegel. Auch zwischen den einzelnen Messzeitpunkten der beiden Gruppen waren keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisbar (jeweils $p > 0,05$).

3.2.8 Diurese

Die Tiere der Glipizidgruppe produzierten über den Zeitraum von 10h durchschnittlich $105 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ mehr Urin, als die Tiere der Kontrollgruppe, was statistisch nicht signifikant war ($p>0,05$). Zum Zeitpunkt der 1h-Messung lag die Diureseleistung der Glipizidgruppe jedoch mit $68 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ statistisch signifikant über derjenigen der Kontrollgruppe ($p<0,05$), (siehe Abb.: 3.14).

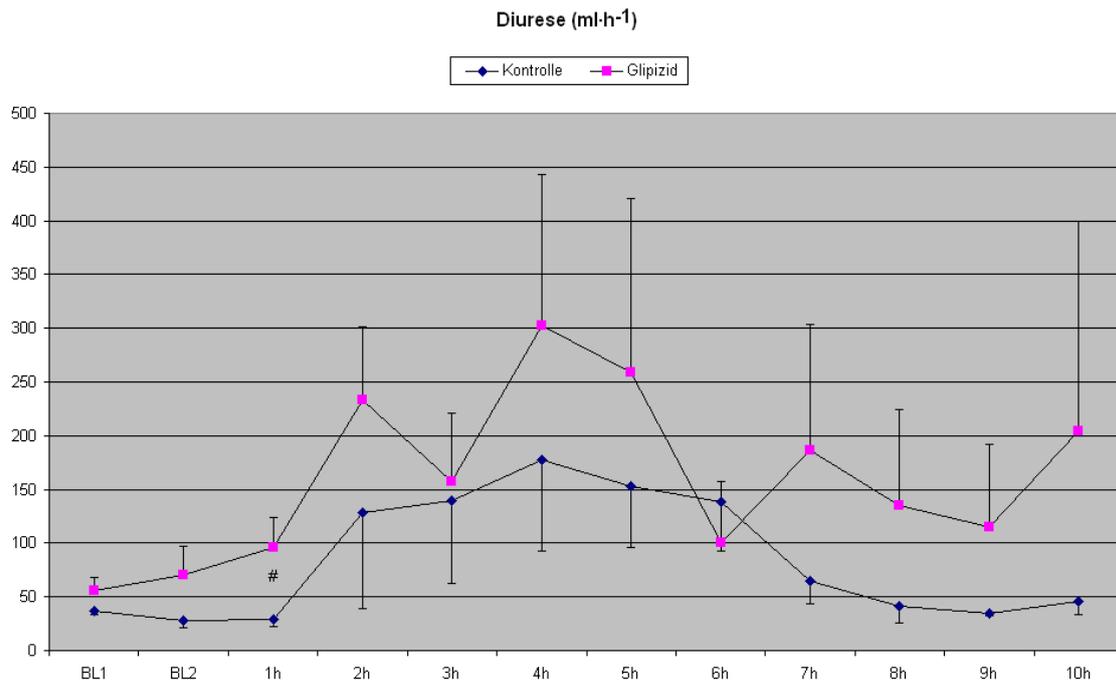


Abbildung 3.14: Verlauf der Urinausscheidung. # $p<0,05$ Kontrolle vs. Glipizid.

Die Messwerte stehen für den Mittelwert \pm SEM.

4. Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Effekte einer kontinuierlichen Infusion des K⁺-Kanal-Blockers Glipizid auf den NA-Bedarf, das Überleben, die Makrohämodynamik und die Diurese in einem chronisch instrumentierten, endotoxinämischen Schafmodell zu untersuchen.

Hierbei lassen sich folgende Unterschiede in der mit Glipizid und NA behandelten Versuchsgruppe gegenüber der mit 0,9% NaCl-Lösung und NA behandelten Kontrollgruppe feststellen. Zu den wichtigsten Ergebnissen zählen:

- => Der NA-Verbrauch war gegenüber der Kontrollgruppe um 49,9 % reduziert. Dieses Ergebnis ist jedoch nicht statistisch signifikant.
- => Der SVRI war trotz NA-Einsparung statistisch signifikant um durchschnittlich $287 \text{ dyn} \cdot \text{sek} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^{-2}$ gegenüber der Kontrollgruppe erhöht.
- => Der CI lag statistisch signifikant um durchschnittlich $-1,7 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ unter den Werten der Kontrollgruppe, bei statistisch signifikant erniedrigtem SVI.
- => Glipizid hatte keinen signifikanten Einfluss auf die pulmonale Hämodynamik. MPAP und PVRI waren gegenüber der Kontrollgruppe nicht statistisch signifikant erhöht.
- => DO₂I und VO₂I waren beide statistisch signifikant gegenüber der Kontrollgruppe reduziert.
- => Durch die Therapie mit Glipizid konnte kein Überlebensvorteil gegenüber der mit 0,9% NaCl-Lösung behandelten Kontrollgruppe erzielt werden.

4.2 Die Eignung des Schafes als Versuchstier

Bei jeder Versuchsreihe die an einem Tiermodell durchgeführt wird stellt sich die Frage, inwiefern die Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind und welchen therapeutischen Nutzen sie in der Krankheitsbekämpfung darstellen. Um Vergleiche zum Menschen zu ermöglichen ist es gelungen, für das jeweils zu untersuchende Krankheitsbild Modelle zu entwickeln, die aussagekräftige Beobachtungen zulassen. Zur Nachahmung der menschlichen Sepsis in einem Großtiermodell eignen sich insbesondere das Schaf und das Schwein.

Mehrere Forschungsprojekte in denen das Schwein als Versuchstier eingesetzt wurde, zeigten eine zum Teil direkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Humanmedizin [5]. Das Hausschwein im Tierversuch zeichnet sich vor allem dadurch aus, dass das Herz-Kreislauf-System des Schweins, dem Herz-Kreislauf-System und Kreislaufverhalten des Menschen am ähnlichsten ist. Insbesondere Schweine mit einem Körpergewicht von ca. 30-40kg, weisen ein vergleichbares Verhältnis von Herzgröße zu Körpergewicht wie der Mensch auf [62].

Somit können Versuchsergebnisse leichter auf klinische Studien übertragen werden. Während das Schwein jedoch wesentlich weniger sensitiv auf Endotoxin reagiert als der Mensch [117] und bedeutend höhere Endotoxin-Dosierungen notwendig sind um gleichartig septische Reaktionen beobachten zu können [34], hat sich in bereits vorangegangenen Studien das septische Schafmodell als für den Menschen besonders klinisch relevant dargestellt [117, 140]. Da die hämodynamischen, pulmonalen und metabolischen Reaktionen auf Endotoxinämie durch gramnegative Bakterien (z.B. *Salmonella typhosa* und *Pseudomonas aeruginosa*) in Mensch und Schaf nahezu die gleichen sind, d.h. dass bei beiden Spezies Endotoxin-Dosen der gleichen Größenordnung zu septischen Reaktionen gleichen Ausmaßes führen [134,140] und auch die Lungen denen der Menschen ähneln, wird das Schaf seit mehr als 30 Jahren in der Sepsisforschung verwendet [60].

Zur Durchführung dieser Studie wurde das chronisch instrumentierte Schaf als Versuchstier gewählt, da es sich beim endotoxinämischen Schaf um ein wissenschaftlich etabliertes und anerkanntes Sepsismodell handelt, dem in Fachkreisen eine Relevanz bei der Übertragung der gewonnen Erkenntnisse auf den Menschen zugesprochen wird [94, 117,140].

Vorteil des Schafes als Sepsismodell ist die Größe der Tiere, die es im Gegensatz zu kleineren Tierarten wie Ratten oder Mäusen erlaubt, ein invasives hämodynamisches Monitoring durchzuführen. Des Weiteren ist es möglich, an regelmäßig wiederkehrenden Messzeitpunkten Blutproben zu entnehmen, ohne dass es aufgrund eines zu geringen Blutvolumens zu Anämie oder Hypovolämie der Tiere kommt. Außerdem ist eine dem Menschen ähnliche Volumenssubstitutionstherapie durchführbar, wie sie im septischen Schock unter klinischen Bedingungen üblich ist. Da es in Deutschland viele Schafzuchtbetriebe gibt, ist es meist problemlos möglich, Tiere der gleichen Rasse und des gleichen Alters zu beziehen, was sowohl die Standardisierung als auch die statistische Auswertung vereinfacht.

Nachteilig für die Verwendung von Großtiermodellen sind der größere Aufwand in der Haltung sowie der nicht unerhebliche Platzbedarf mit den damit verbundenen Kosten.

Eine weitere Einschränkung in der Vergleichbarkeit des Schafes im Sepsismodell zu einem Patienten mit Sepsis ist die Tatsache, dass die Tiere vor Induktion der Endotoxinämie gesund waren, im Gegensatz zu Patienten mit Sepsis, die zunehmend an relevanten Komorbiditäten leiden.

4.3 Auswirkungen der kontinuierlichen Endotoxininfusion (BL1 vs. BL2)

4.3.1 Systemische Hämodynamik

Im Rahmen der Endotoxinämie kommt es zu einer generalisierten Vasodilatation mit Abnahme des systemischen Gefäßwiderstandes. Den typisch klinischen Befund der systemischen Hämodynamik in der Frühphase der Sepsis beim Menschen stellt eine hypotensive-hyperdynamische Kreislaufsituation dar, welche unter Ausschöpfung der kardialen Reserven eine adäquate Gewebepfusion gewährleisten soll. Typisch sind ein erniedrigter MAP und SVRI sowie ein gesteigerter CI und HR [107]. Voraussetzung für diese hyperdynamische Kreislaufsituation ist allerdings eine ausreichende Volumenssubstitution, da sich ohne diese sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell eine hypodynamische Zirkulation mit erniedrigtem CI einstellt [8,105]. Diese ist zwar ebenfalls durch eine Tachykardie gekennzeichnet, weist allerdings einen erniedrigten SVI auf.

In unserer Versuchsreihe zeigten nach Beginn der kontinuierlichen LPS-Infusion alle Versuchstiere eine hypotensive-hypodyname Zirkulation mit erniedrigtem MAP, SVRI, CI und SVI bei gesteigerter HR. Als Erklärung für den reduzierten CI gibt es verschiedene Ansätze:

Da sich der CI aus dem Produkt von HR und SV dividiert durch die „body surface area“ (BSA) berechnet, muss bei steigender HR und gleichbleibender BSA eine Erniedrigung des SV vorliegen, wie auch aus unseren Ergebnissen hervorgeht. Dies kann zum einen auf venöses Pooling infolge Vasodilatation, auf eine unzureichende Volumensubstitution oder pulmonale Vasokonstriktion zurückzuführen sein. Sowohl die Vasodilatation als auch die pulmonale Vasokonstriktion sind für unsere Studie zutreffend.

Der SVRI ist in einer hypodynamen Kreislaufsituation häufig initial gesteigert und fällt im weiteren Verlauf ab [153].

Die hypodyname Zirkulation war zusätzlich durch eine signifikante Erniedrigung des LVSWI gekennzeichnet, welche regelmäßig bei Patienten im Frühstadium des septischen Schocks auftritt und unter anderem zu einer Abnahme des MAP führen kann. Die Reduktion des LVSWI in der Sepsis bzw. Endotoxinämie deutet auf eine funktionelle Schädigung des Herzmuskels hin, ein Krankheitsbild, das auch als „septische Kardiomyopathie“ bezeichnet wird [45, 114].

Über die Ursache der septischen Kardiomyopathie gibt es zwei Theorien:

Die erste legt eine kardiale Organdysfunktion aufgrund globaler myokardialer Hypoperfusion zugrunde, während die zweite von der Existenz der sogenannten „Myocardial depressant factors“ (MDF; z.B. TNF- α , IL-1 β und NO) ausgeht [74], die zu einer septischen Kardiomyopathie führen und die Herzleistung beeinträchtigen können [4].

4.3.2 Pulmonale Hämodynamik

Die kontinuierliche Endotoxininfusion führte in beiden Versuchsgruppen sowohl im MPAP als auch im PVRI zu ansteigenden Werten, welche jeweils für die Glipizidgruppe statistisch signifikant waren. Des Weiteren bestand zum Zeitpunkt der BL1-Messung ein in der Kontrollgruppe statistisch signifikant erhöhter PVRI. Die Ergebnisse werfen die Frage auf, ob zwischen den einzelnen Tieren der beiden Versuchsgruppen konstitutionell bedingte Unterschiede bestanden.

Der gesteigerte MPAP ist in Folge der pulmonalen Vasokonstriktion mit Anstieg des PVRI, zu interpretieren. Eine andere potenzielle Möglichkeit wäre die Erhöhung des MPAP als Resultat einer hyperdynamen Zirkulation mit gesteigertem CI, was jedoch in unserer Versuchsreihe nicht zutrifft.

Die Kriterien einer pulmonalen Hypertonie waren zum Zeitpunkt des Eintritts des endotoxinämischen Schocks nicht erfüllt, da der MPAP in beiden Gruppen < 25 mmHg betrug. Eine pulmonale Hypertonie liegt vor, wenn der mittlere Blutdruck in der Pulmonalarterie vom Normalwert (< 20 mmHg) auf mehr als 25 mmHg in Ruhe und 30 mmHg unter Belastung ansteigt. Im Bereich von 30 bis 40 mmHg können erste klinische Symptome, insbesondere unter Belastung, beobachtet werden. Im Bereich von 50 bis 70 mmHg nimmt die Herzauswurfleistung kontinuierlich ab. Der pulmonalarterielle Druck kann weiter auf über 100 mmHg ansteigen [158].

4.3.3 Globaler Sauerstofftransport

Parallel zum Abfall des CI kam es im vorliegenden Versuch zum nicht signifikanten Abfall des DO_2I bei statistisch signifikant verminderter O_2 -ER in der Glipizidgruppe und unveränderter O_2 -ER in der Kontrollgruppe, so dass in beiden Gruppen ein reduzierter VO_2I ($p_{\text{Glipizid}} < 0,05$) resultierte. Die SvO_2 in der Glipizidgruppe stieg ebenfalls statistisch signifikant an, während die SvO_2 in der Kontrollgruppe unverändert blieb. Der VO_2I ist bei der systemischen Inflammation als variabel zu betrachten und kann sowohl erniedrigt, konstant als auch gesteigert sein. Der septische Organismus ist häufig durch eine verminderte Fähigkeit zur Sauerstoffextraktion gekennzeichnet, was

auch bei gesteigertem DO_2I zu einer Reduktion des aeroben Zellstoffwechsels führen kann. Die Unfähigkeit der einzelnen Zelle, den ihr angebotenen Sauerstoff adäquat zu verstoffwechseln wird auch als „zytopathische Hypoxie“ bezeichnet [49, 60].

4.3.4 Säure-Basen und Elektrolythaushalt

In Folge der reduzierten Parameter DO_2I , PaO_2 und SaO_2 bei zunehmend anaerober Stoffwechsellage, kam es zu einer signifikanten Verringerung des pHa in beiden Versuchsgruppen. Damit verbunden waren eine Abnahme von HCO_3^- und des BE sowie ein statistisch signifikant ansteigender Laktatwert in beiden Gruppen.

Die Messung der Laktatkonzentration erlaubt eine gewisse Abschätzung der Schwere der Erkrankung, da Werte von mehr als $2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ bei septischen Patienten mit einer erhöhten Letalität einhergehen [52].

4.4 Auswirkungen der kontinuierlichen Glipizidinfusion

4.4.1 Systemische Hämodynamik

Zum Zeitpunkt der BL2-Messung wiesen die Tiere eine hypodyname Zirkulation mit niedrigem CI auf. Mit Einsetzen einer adäquaten Therapie bestehend aus Volumen- und Katecholamininfusion kam es zur Konversion in eine hyperdynamie Zirkulation mit erhöhtem CI, wobei die Steigerung des CI bei den mit Glipizid behandelten Tieren statistisch signifikant um durchschnittlich $1,7 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ gegenüber der Kontrollgruppe geringer war. Dies lässt sich auf den gegenüber der Kontrollgruppe um durchschnittlich $287 \text{ dyn} \cdot \text{sek} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^{-2}$ statistisch signifikant erhöhten SVRI, auf eine statistisch signifikant erniedrigte HR, sowie auf eine statistisch nicht signifikante Erniedrigung des SVI zurückführen. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen vorheriger Studien [81].

Ein Zusammenhang der Vasokonstriktion mit dem um 49,9% verminderten NA-Verbrauch war in der vorliegenden Studie jedoch aufgrund fehlender Signifikanz nicht

nachweisbar. Es kann lediglich ein Trend zur Reduktion des NA-Verbrauchs gegenüber der Kontrollgruppe beschrieben werden.

Um die allein durch Glipizidgabe erzielte Vasokonstriktion darzustellen, wurde mittels des statistischen Programms GEE der Anteil von NA an der gesamten Steigerung des SVRI herausgerechnet. Demnach beträgt die allein durch Glipizid bewirkte Steigerung des SVRI über den Zeitraum von 10 Stunden, $246 \text{ dyn}\cdot\text{sek}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$. Diese Ergebnisse bekräftigen die Aussage über die effektive Wirkung von Glipizid auf den systemischen Gefäßwiderstand, als Resultat der Blockade von K_{ATP} -Kanälen.

Im MAP zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen, da er nach Vorgaben des Protokolls, durch eine adäquate Volumentherapie und durch die infolge der medikamentösen Therapie einsetzenden Vasokonstriktion im Bereich von $70 \pm 5 \text{ mmHg}$ eingestellt wurde.

Die statistisch signifikante Verminderung des SVI um $8 \text{ mL}\cdot\text{beat}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ in der Glipizidgruppe vs. der Kontrollgruppe, lässt sich auf die effektive, durch Glipizid induzierte Vasokonstriktion zurückführen. Dies lässt sich durch den signifikant gesteigerten SVRI der Glipizidgruppe veranschaulichen. Die Steigerung des SVRI in der Glipizidgruppe erhöht die Nachlast, erschwert die Herzarbeit und führt über die Zunahme des Gefäßwiderstandes im großen Körperkreislauf, zu einer Verminderung des SVI.

Bezüglich der HR bestanden zwischen beiden Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede. Das kontinuierliche, jedoch nicht signifikante Ansteigen der HR in beiden Gruppen dient der Steigerung des CO bei Hypotonie und kann als Kompensationsmechanismus auf die vasodilatationsbedingte Hypotonie verstanden werden.

4.4.2 Pulmonale Hämodynamik

Die Glipizidinfusion zeigte keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Parameter der pulmonalen Hämodynamik gegenüber der Kontrollgruppe. Die Werte des PVRI in der Glipizidgruppe lagen über den Zeitraum von 10 Stunden um durchschnittlich $52 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$ höher als in der Kontrollgruppe ($p>0,05$). Die Werte des MPAP um

durchschnittlich 0,9 mmHg ($p > 0,05$). Da der MPAP ab Stunde 2 in beiden Gruppen ein Plateau zwischen 25 bis 27 mmHg erreichte, kann per definitionem von einer pulmonarteriellen Hypertonie gesprochen werden.

Der generelle Anstieg von beiden Parametern ab BL1 in beiden Gruppen, kann im Rahmen einer progredienten Lungenschädigung interpretiert werden.

4.4.3 Sauerstoffversorgung während der kontinuierlichen Glipizidinfusion

Im Zusammenhang mit der progredienten Lungenschädigung kam es in beiden Gruppen zu einem kontinuierlichen Abfall von SaO_2 und PaO_2 über den Versuchszeitraum, während SvO_2 und PaCO_2 anstiegen. Insgesamt ließen sich zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der genannten Parameter nachweisen. DO_2I und VO_2I verhielten sich über den Zeitraum von 10 Stunden entsprechend dem Verlauf des CI der beiden Gruppen. Demnach stiegen beide Parameter jeweils in der Kontrollgruppe an, während in der Glipizidgruppe signifikante Verminderungen nachgewiesen werden konnten. Diese Reduktionen stehen im Zusammenhang mit dem verminderten CI, da SaO_2 , SvO_2 und cHb statistisch nicht signifikant verändert waren.

4.4.4 Säure-Basen-Elektrolythaushalt und Diurese

In den Parametern pH-Wert, HCO_3^- , BE und Laktat waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen nachweisbar.

Des Weiteren ließ sich eine statistisch nicht signifikante, um durchschnittlich $105 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ gegenüber der Kontrollgruppe gesteigerte Diurese feststellen, welche u.a. auf eine vermehrte Nierendurchblutung in Folge der effektiveren systemischen Vasokonstriktion bei den mit Glipizid behandelten Tieren zurückgeführt werden kann.

4.4.5 Noradrenalinverbrauch

NA wurde wenn nötig, zusätzlich zum jeweiligen Studienmedikament zur Aufrechterhaltung eines MAP von 70 ± 5 mmHg verabreicht. Durchschnittlich wurden in der Glipizidgruppe $0,205 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{KG}\cdot\text{min}^{-1}$ NA verabreicht während in der Kontrollgruppe $0,411 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{KG}\cdot\text{min}^{-1}$ infundiert wurden. Dies entspricht einer Differenz von 49,9 % und stellt damit eine große, jedoch nicht signifikante Einsparung an Katecholamin gegenüber der Kontrollgruppe dar.

Der verringerte NA-Bedarf in der Glipizidgruppe bekräftigt den steigernden Einfluss von Glipizid auf den MAP und insbesondere auf den SVRI und stellt eine therapeutische Alternative zu der infolge „Downregulation“ und Desensibilisierung von α 1-Rezeptoren stattfindenden Wirkungsabschwächung von Katecholaminen auf das Gefäßsystem dar [95].

4.4.6 Auswirkungen auf das Überleben

Die Glipizidgabe war nicht mit einem Überlebensvorteil gegenüber der alleinigen NA-Gabe assoziiert. CI, SVI und DO_2I wurden bei der Gabe von Glipizid mit einer Dosierung von $8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ nachteilig gegenüber der ausschließlich mit NA behandelten Kontrollgruppe beeinflusst. Diese Beobachtungen sind vergleichbar mit einer Studie von Lange et al. [81], in welcher sich bei kontinuierlicher Infusion von Salmonella typhosa Endotoxin ($10 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) und Glipizid ($8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), jedoch ohne zusätzliche Gabe von NA zur Aufrechterhaltung eines konstanten MAP, statistisch signifikante Abfälle im CI, DO_2I und VO_2I darstellen ließen. Der Abfall des DO_2I steht offensichtlich im Zusammenhang mit dem Abfall des CI, da die Glipizidgabe mit keinen Änderungen der cHb und SO_2 einherging. Der Abfall des CI und der DO_2I , in einer Situation von gesteigertem O_2 -Bedarf wie er während Sepsis und SIRS auftritt, birgt somit das Risiko einer Verschlechterung der Mikrozirkulation und des DO_2 [81].

Weiterhin kommt es durch Hemmung von K_{ATP} -Kanälen zu einer Funktionsbeeinträchtigung mitochondrialer und pankreatischer β -Zell- K_{ATP} -Kanäle, welche normalerweise der Interaktion mit wichtigen physiologischen Schutzmechanismen gegenüber ischämisch und chemischen Einflüssen dienen [43, 123].

So hat die Hemmung von mitochondrialen K_{ATP} -Kanälen nachteiligen Einfluss auf den Energieverbrauch auf zellulärem Level. Der Nachteil der Hemmung der pankreatischen β -Zell- K_{ATP} -Kanäle besteht in der blutzuckersenkenden Wirkung und dem damit verbundenen erhöhten Risiko einer Hypoglykämie.

4.5 Bezug zu anderen Studien

In den letzten Jahren wurden mehrere „In-vivo-Studien“, sowohl im Tierversuch als auch an Patienten, zu der Wirkung von Sulfonylharnstoffderivaten in Endotoxinämie und septischem Schock durchgeführt (siehe Tab: 4.1). Hierbei kamen verschieden Applikationsweisen zur Anwendung.

Tabelle 4.1: In vivo Studien zu K_{ATP} -Kanal Hemmung in Endotoxinämie und septischem Schock [82]

Artikel	Thema	Intervention	Ergebnis
Vanelli et al., 1995 (144)	10 endotoxinämische Schweine vs. gesunde Schweine	Nachbehandlung mit iv. Bolus Glibenclamid (10 mg/kg)	-rascher signifikanter Anstieg in SVR und SAP für 30 min, keine Veränderungen in CI und Blutglukose
Landry and Oliver, 1997 (77)	15 Hunde mit Endotoxinämie oder Laktatazidose vs. gesunde Hunde	Nachbehandlung mit iv. Bolus Glibenclamid (0,15 mg/kg)	-rascher signifikanter Anstieg von SVR und SAP für 20 min, keine Veränderungen in CI und Blutglukose
Gardiner et al., 1999 (55)	90 endotoxinämische Ratten vs. gesunde Ratten	Vor- und Nachbehandlung mit iv Bolus Glibenclamid (20 mg/kg) vs. Nicht-Behandlung	- signifikanter Anstieg im SAP, signifikanter Abfall im renalen und mesenteriellem Blutfluss
Lange et al., 2006 (78)	6 endotoxinämische Schafe vs. gesunde Schafe	Nachbehandlung mit iv. Bolus Glipizid (4 mg/kg)	-rascher Anstieg in SVR und SAP für 45 min, keine Veränderungen in CI, signifikante Reduktion der Blutglukose
Lange et al., 2007 (81)	14 endotoxinämische Schafe	Nachbehandlung mit kontinuierlichem iv. Glipizid (Bolus von 5mg/kg gefolgt von 8mg/kg/h) vs. keine	-Anstieg in SVR und SAP, Abfall von CI und DO_2I , keine Veränderung der Blutglukose bei iv. Glukoseersatz

		Therapie	
Warillow et al., 2006 (151)	10 Patienten mit septischen Schock	Nachbehandlung mit enteralem Glibenclamid-Bolus (20mg) vs. keine Therapie	-keine signifikante Norepinephrindosisreduktion, kein signifikanter Anstieg in SAP, Dosisabhängiger Abfall des Blutglukosespiegels.
Morelli et al., 2007 (98)	30 Patienten mit septischem Schock	Nachbehandlung mit enteral verabreichtem Bolus (10,20,30 mg) Glibenclamid	-keine signifikante Reduktion der Norepinephrindosis, kein signifikanter Anstieg in SAP, Dosisabhängiger Abfall des Blutglukosespiegels

Legende: SVR- Systemic vascular resistance; SAP- Systemic arterial pressure;
CI- Cardiac index

4.5.1 Resultate in Abhängigkeit von der Applikationsweise (enteral vs. iv.)

Studien zur enteralen Therapie mit Glibenclamid wurden im Jahr 2006 von Warillow et al. und im Jahr 2007 von Morelli et al. publiziert (siehe Tab: 4.1).

Warillow et al. [151] untersuchten die Auswirkungen von 20mg enteral verabreichtem Glibenclamid in 10 Patienten mit septischem Schock. Glibenclamid zeigte hierbei keine Effekte auf die hämodynamischen Variablen, den NA-Bedarf oder die Laktatkonzentration, bewirkte jedoch einen signifikant erniedrigten Blutglukosespiegel.

Morelli et al. [98] untersuchten die Auswirkungen von 10, 20, bzw. 30mg enteral verabreichtem Glibenclamid an 30 Patienten mit septischem Schock. Glibenclamid führte hier zu einem dosisabhängig erniedrigten Blutglukosespiegel, konnte jedoch weder die hämodynamischen Variablen verbessern noch den NA-Bedarf senken.

Studien zur intravenösen Bolusgabe von Glibenclamid wurden von Vanelli et al. (1995), Landry and Oliver (1997) und Gardiner et al. (1999) publiziert (siehe Tab: 4.1). Auch hier zeigten sich kurzfristige und signifikante Anstiege im systemic arterial pressure (SAP) und SVR bei unverändertem CI und unveränderten Blutglukosewerten.

Studien mit intravenöser-Bolusgabe sowie kontinuierlicher Infusion von Glipizid im Schaf mit Endotoxinämie, erfolgten durch Lange et al. im Jahr 2006 und 2007 [80,81] (siehe Tab: 4.1) und untersuchten die Wirkung des Sulfonylharnstoffs Glipizid auf die kardiopulmonale Hämodynamik und den globalen Sauerstoffverbrauch.

Nach Bolusgabe von $4\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Glipizid ließ sich ein kurzfristiger, aber signifikanter Anstieg im MAP und SVR, sowie ein signifikanter Abfall der Blutglukosewerte darstellen. CI, DO_2I , arterielle Laktatkonzentration und pH_a wurden durch Glipizid nicht signifikant beeinflusst [80].

Bei kontinuierlicher Glipizidinfusion ($8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) zeigte sich eine Umkehr der endotoxininduzierten hyperdynamischen Zirkulation, wobei sich signifikante Anstiege in MAP, SVR und Urinproduktion, sowie signifikante Reduktionen von CI und HR nachweisen ließen. Von einer signifikanten Hypoglykämie ist bei Erhöhung der Glipiziddosis auf $8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ und kontinuierlicher Infusion auszugehen, da zur Aufrechterhaltung einer Normoglykämie Glukose 5%, kontinuierlich iv. substituiert wurde [81].

4.5.2 Ursachen der Unterschiede zwischen enteraler und iv. – Applikation

Bei der enteralen Therapie mit Glibenclamid ließ sich keine signifikante Steigerung des MAP bzw. Reduktion der NA-Dosis nachweisen [98,151], dafür aber dosisabhängige Abfälle des Blutglukosespiegels (siehe Tab: 4.1). Eine Resorption muss also stattgefunden haben und die blutzuckersenkende Wirkung ist über eine Interaktion mit den β_1 -Rezeptoren des Pankreas zu erklären. Ursächlich für die fehlende Wirkung auf die Hämodynamik könnte eine Modulation der Molekülstruktur durch Verdauungsenzyme und infolgedessen eine verminderte Resorption von Glibenclamid in die Blutbahn sein. Auch der in der Sepsis reduzierte gastrointestinale Blutfluss könnte die Verteilung enteral applizierter Wirkstoffe behindern [83]. Für die dosisabhängige Senkung des Blutglukosespiegels ist der direkte Effekt auf die K^+ -Kanäle der β -Zellen der Langerhansschen Inseln im Pankreas verantwortlich, über welchen Glibenclamid die Insulinsekretion stimuliert und dadurch den Blutglukosespiegel senkt.

Sowohl bei der iv.-Bolusgabe von Glipizid ($4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) [80], als auch bei kontinuierlicher Infusion von Glipizid ($8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) über einen Zeitraum von 3h [81], zeigten sich signifikante Anstiege des MAP und SVR (jeweils $p<0,05$), sowie ein signifikant erniedrigter Blutzuckerspiegel ($p<0,05$). Der rasche Anstieg von MAP und SVR stehen wahrscheinlich in direktem Zusammenhang mit der intravenösen Applikation und schnelleren Besetzung der SUR-Bindungsstelle des K_{ATP} -Kanals der glatten Gefäßmuskulatur. Diese Erkenntnisse bekräftigen die Bedeutung der Applikationsweise.

4.5.3 Einfluss der Dosis des verabreichten Sulfonylharnstoffderivates

4.5.3.1 Auf den Blutzuckerspiegel

Bei Morelli et al. ließen sich in Abhängigkeit von der Höhe des enteral verabreichten Glibenclamidbolus (10mg, 20mg, 30mg), dosisabhängige Abfälle des Blutzuckerspiegels feststellen.

Während bei der iv.-Bolusgabe von Glibenclamid in den Dosierungen $0,15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (bei Landry and Oliver, 1997) und $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (bei Vanelli et al., 1995) keine Veränderungen des Blutzuckerspiegels nachweisbar waren, zeigte sich bei einer Dosierung von $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Gardiner et al., 1999) eine signifikante Reduktion des Blutzuckerspiegels.

Dagegen reichte ein iv.-Bolus von $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Glipizid [80] aus, um ebenfalls einen signifikanten Abfall des Blutzuckerspiegels zu erzielen. Dementsprechende Ergebnisse sind bei kontinuierlicher iv.- Applikation von $8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ Glipizid zu erwarten.

Die dargestellten Ergebnisse werfen insbesondere die Frage auf, warum es bei relativ hohen iv. applizierten Glibenclamiddosen zu keiner Beeinflussung des Blutzuckerspiegels kam, während bereits relativ geringe iv.-Dosen Glipizid, zu signifikanten Reduktionen führten.

Zieht man bestehende Vergleichsstudien über die Äquivalenzdosen zwischen Glibenclamid und Glipizid hinzu, erhält man folgende Aussagen:

Nach einer Vergleichsstudie an Diabetikern durch Kitabchi et al, 2000 [73], ließen sich ähnliche Äquivalenzdosen und Effektivität zwischen Glipizid und Glibenclamid nachweisen.

Nach einem Review von DeFronzo RA, (1999) [39], haben „Glibenclamid und Glipizid pharmakokinetisch geringe, aber klinisch nicht relevante Unterschiede und sind in ihrer Effektivität vergleichbar. Demnach entsprechen 10mg Glibenclamid gleich 10mg Glipizid und 4mg Glimepirid.“

In weiteren Quellen finden sich folgende Angaben: 3,5 mg Glibenclamid sind etwa 1g Tolbutamid, etwa 5mg Glipizid und 250mg Chlorpropramid. Die ED 30 (Dosis, die die Blutglucose um 30% senkt) beträgt etwa 0,032 mg/kg Kg (nach längerer Anwendung ggf. weniger) [160].

Da sich die genannten Studien zum Teil widersprechen, sollte eine Klärung der Äquivalenzdosen Grundlage weiterer Untersuchungen sein. Auch muss berücksichtigt werden, dass es sich um verschiedene experimentelle Modelle in verschiedenen Spezies handelt und die Ergebnisse nicht 1:1 übertragbar sind.

4.5.3.2 Auf die Hämodynamik

Unabhängig von der Dosis zeigten sich bei beiden Studien mit enteral appliziertem Glibenclamid keine signifikanten Veränderungen bezüglich der hämodynamischen Parameter [98,151] (siehe Tab: 4.1). Dies kann dadurch bedingt sein, dass die enteral verabreichten Mengen denen zur Behandlung eines Diabetes mellitus Typ 2 entsprechen und wahrscheinlich zu niedrig waren, um vasoaktiv wirksam zu sein.

Bei der iv.-Bolusgabe von Glibenclamid kam es bei einer Dosis von $0,15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [77] zu einem signifikantem 20min Anstieg von SVR und MAP, bei einer Dosis von $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [144] zu einem signifikantem 30min Anstieg in SVR und MAP, und bei einer Dosis von $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [55] zu einem signifikant gesteigerten MAP, bei signifikanter Reduktion des renalen und mesenteriiellen Blutflusses.

Bei iv.-Gabe von Glipizid mit einem Bolus von $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [80], konnte ein signifikanter Anstieg von SVR und MAP für ca. 45 min erzielt werden, während bei kontinuierlicher

Infusion von $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ [81] Glipizid signifikante Anstiege von SVR und MAP und ein signifikanter Abfall von CI und HR über einen Zeitraum von 3h nachgewiesen werden konnten.

Alle dargestellten Beispiele beschreiben signifikante Ergebnisse, jedoch mit einer großen Spannbreite im Dosisbereich. Auch hier müssen weitere Untersuchungen Klarheit über die jeweiligen Äquivalenzdosen erbringen.

4.5.4 Einfluss der LPS-Dosierung auf das Überleben

Trotz der beschriebenen positiven Effekte auf die Hämodynamik hat die Gabe von Glipizid in der vorliegenden Studie zu keiner Verbesserung des Überlebens geführt. Eine Erklärung hierfür könnte in der Dosis des verabreichten LPS und der damit verbundenen Schwere des endotoxinämischen Schocks liegen.

Während bei früheren Studien mit einem ähnlichen Sepsismodell [81], $10 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ LPS über 19h verabreicht wurden, verdoppelte sich in unserer Studie die anfängliche LPS-Dosis von $5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ stündlich bis zum Eintritt des endotoxinämischen Schocks und wurde mit der bei BL2 erreichten Dosis weitergeführt. Somit wurde pro Tier eine höhere Dosis LPS verabreicht. Wir gehen davon aus, dass der endotoxinämische Schock so schwerwiegend war, dass der positive Einfluss von Glipizid auf die Makrohämodynamik nicht mit einer Verbesserung des Überlebens assoziiert war.

5. Methodenkritik

Als limitierend für die Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Studie auf den Menschen, ist die Durchführung an Schafen mit Endotoxinämie, anstatt an Patienten mit Sepsis anzusehen.

Auch bezüglich der Anzahl der verwendeten Versuchstiere, ließe eine größere Stichprobenzahl signifikantere Ergebnisse erwarten.

Des Weiteren sind die hämodynamischen Ergebnisse, insbesondere der Einfluss von Glipizid auf den MAP und SVRI, nur eingeschränkt beurteilbar, da der Blutdruck laut Protokoll durch zusätzliche NA-Gabe bzw. Reduktion des Studienmedikamentes, in einem normotensiven Bereich eingestellt wurde. Deshalb wurde in der vorliegenden Studie das Hauptaugenmerk auf das Kurzzeitüberleben und den NA-Verbrauch gelegt. Beide Parameter besitzen wahrscheinlich eine höhere klinische Relevanz, als die Parameter der Makrohämodynamik.

Des Weiteren stellt die Hemmung von K_{ATP} -Kanälen nur einen Mechanismus zur Reversion der septischen Vasodilatation dar. So bleiben NO-Ausschüttung und AVP-Mangel weiterhin unbeeinflusst.

6. Schlussfolgerung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Effekte einer kontinuierlichen Infusion des K^+ -Kanal-Blockers Glipizid auf den NA-Bedarf, das Überleben, die Makrohämodynamik, den globalen Sauerstofftransport und die Diurese in einem chronisch instrumentierten, endotoxinämischen Schafmodell zu untersuchen.

Wie in vorangegangenen Studien zur Wirkung von kontinuierlich iv. appliziertem Glipizid [81] konnte die sepsisinduzierte Hypotension durch einen signifikanten Anstieg im SVRI umgekehrt werden. Gegenüber der Kontrollgruppe bestanden zudem statistisch signifikante Reduktionen im CI, SVI, DO_2I und VO_2I der mit Glipizid behandelten Gruppe. Die pulmonale Hämodynamik und der Blutzuckerspiegel wurden nicht beeinflusst. Der NA-Verbrauch war vermindert, jedoch nicht ausreichend für eine

statistische Signifikanz. Auch konnte keine Verlängerung der Überlebenszeit gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

Die alleinige Erhöhung des SVRI ist demnach nicht ausreichend, um das Überleben zu verlängern.

Trotz der effektiven Umkehr der sepsisinduzierten Hypotonie ist aufgrund der prinzipiell als kritisch einzustufenden Verminderung von DO_2I und VO_2I in einer Situation mit gesteigertem O_2 -Bedarf und des fehlenden prognostischen Nutzens, von der Anwendung von Glipizid in Patienten mit SIRS und Sepsis, derzeit abzuraten.

Aufgrund der demographischen Entwicklung und der daraus resultierenden zukünftigen Zunahme der Inzidenzen von SIRS und Sepsis sollte trotz der teilweise negativen Resultate dieser Studie, die pathophysiologische Wichtigkeit der K_{ATP} -Kanäle nicht unterschätzt werden. Weitere Studien werden nötig sein, um eine Verbesserung der Therapiemöglichkeiten von Sepsis und septischem Schock zu erforschen.

Es ist jedoch nicht davon auszugehen, dass die komplexen pathophysiologischen Störungen, wie sie in der Sepsis stattfinden, durch die Reversion lediglich eines Mechanismus umkehrbar sind. Vielmehr könnte eine Kombinationstherapie bestehend aus Hemmstoffen gegen eine gesteigerte iNOS-Produktion, eine AVP-Substitution bei AVP-Mangel und eine gewebespezifische Hemmung von K_{ATP} -Kanälen z.B. in Widerstandsgefäßen oder von spezifischen Untereinheiten der den K_{ATP} -Kanal formenden Pore [83], dazu beitragen, die an der sepsisbedingten Vasoplegie beteiligten Pathomechanismen effektiver und mit weniger Nebenwirkungen als in den bisher publizierten Studien, umzukehren [81].

7. Literaturverzeichnis

- [1] Adrie C, Vincent J (2002): Thrombotic microangiopathies. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine: 641-648.
- [2] Aguilar-Bryan L, Clement JPT, Nelson DA (1998): Sulfonylurea receptors and ATP-sensitive potassium ion channels. Methods Enzymol 292: 732-744.
- [3] Aguilar-Bryan L et al. (1995): Cloning of the beta cell high-affinity sulfonylurea receptor: a regulator of insulin secretion. Science 268(5209): 423-426.
- [4] Aird WC (2003): The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. Blood 101(10): 3765-3777.
- [5] Almond GW (1996): Research applications using pigs. Vet Clin North Am Food Anim Pract 12: 707-716.
- [6] Andersson J et al. (1992): Bacterial toxin-induced cytokine production studied at the single-cell level. Immunol Rev 127: 69-96.
- [7] Annane D et al. (1998): Impaired pressor sensitivity to noradrenaline in septic shock patients with and without impaired adrenal function reserve. Br J Clin Pharmacol. 46: 589-597.
- [8] Asfar P et al. (2003): Low dose Terlipressin improves systemic and splanchnic hemodynamics in fluid-challenged endotoxic rats. Crit Care Med 31: 215-220.
- [9] Ashcroft FM, Gribble FM (1999): ATP-sensitive K⁺-channels and insulin secretion: their role in health and disease. Diabetologia 42(8): 903-919.
- [10] Ashcroft SJ, Ashcroft FM (1990): Properties and functions of ATP-sensitive K⁺-channels. Cell Signal 2: 197-214.
- [11] Babenko AP, Aguilar-Bryan L, Bryan J. (1998): A view of sur/KIR6.X, K_{ATP} channels. Annu Rev Physiol 60: 667-687.
- [12] Bannerman DD, Goldblum SE (1999): Direct Effects of Endotoxin on the Endothelium: Barrier Function and Injury. Lab Invest 79: 1181-1199.
- [13] Beech DJ et al. (1993): K⁺-channel activation by nucleotide diphosphates and its inhibition by glibenclamide in vascular smooth muscle cells. Br J Pharmacol 110: 573-582.

- [14] Benedict CR, Rose JA (1992): Arterial norepinephrine changes in patients with septic shock. *Circ Shock* 38: 165-172.
- [15] Bernard GR et al. (2001): Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 344: 699-709.
- [16] Bernard GR et al. (1997): The effects of Ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. *N Engl J Med* 336: 912-918.
- [17] Bersten A, Sibbald W (1989): Acute lung injury in septic shock. *Crit Care Clin* 5: 49-79.
- [18] Bone HG, Sielenkamper A, Booke M (1999): Oxygen delivery in sepsis. After 10 years more questions than answers. *Anaesthetist* 48(2): 63-79.
- [19] Bone RC (1994): Sepsis and its complications: the clinical problem. *Crit Care Med* 22(7): S8-11.
- [20] Bone RC et al. (1992): Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 101(6): 1644-1655.
- [21] Bray KM, Quast U (1992): A specific binding site for K⁺-channel openers in rat aorta. *J Biol Chem* 267(17): 11689-11692.
- [22] Brun-Buisson C (2000): The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive Care Med* 26 Suppl 1: S64-74.
- [23] Brunkhorst FM et al. (2005): Epidemiology of severe sepsis and septic shock in Germany: results from the German 'Prevalence' Study. *Critical Care* 9(1): 196.
- [24] Buchheit KH et al. (2002): KCO912: a potent and selective opener of ATP-dependent potassium (K_{ATP}) channels which suppresses airways hyperreactivity at doses devoid of cardiovascular effects. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 365(3): 220-230.
- [25] Buckley JF, Singer M, Clapp LH (2006): Role of K_{ATP}-channels in sepsis. *Cardiovasc Res* 72(2): 220-230.
- [26] Charles A, Dinarello MD (1997): Proinflammatory and Anti-inflammatory Cytokines as Mediators in the Pathogenesis of Septic Shock. *Chest* 112: 321-329.

- [27] Chen SJ et al. (2000): Hyperpolarization contributes to vascular hyporeactivity in rats with lipopolysaccharide-induced endotoxic shock. *Life Sci* 68(6): 659-668.
- [28] Chen SJ, Wu CC, Yen MH (1999): Role of nitric oxide and K^+ -channels in vascular hyporeactivity induced by endotoxin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 359(6): 493-499.
- [29] Chernow B, Roth BL (1996): Pharmacological manipulation of the peripheral vasculature in shock: clinical and experimental approaches. *Circ. Shock* 18: 141-155.
- [30] Chutkow WA et al. (1999): Alternative splicing of Sur2 Exon 17 regulates nucleotide sensitivity of the ATP-sensitive potassium channel. *J Biol Chem* 274(19): 13656-13665.
- [31] Chutkow WA et al. (1996): Cloning, tissue expression, and chromosomal localization of SUR2, the putative drug-binding subunit of cardiac, skeletal muscle, and vascular K_{ATP} -channels. *Diabetes* 45(10): 1439-1445.
- [32] Clapp LH, Tinker A. (1998): Potassium channels in the vasculature. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 7(1): 91-98.
- [33] Cook DL, Hales CN (1984): Intracellular ATP directly blocks K^+ -channels in pancreatic B-cells. *Nature* 311(5983): 271-273.
- [34] Danner RL et al. (1999): Endotoxemia in human septic shock. *Chest* 99:169-175.
- [35] Dart C, Standen NB (1995): Activation of ATP-dependent K^+ -channels by Hypoxia in Smooth-Muscle Cells Isolated from the Pig Coronary-Artery. *Journal of Physiology-London* 483(1): 29-39.
- [36] Davies AO, Lefkowitz RJ (1981): Corticosteroid-Induced Alteration of Agonist Binding to Beta-Adrenergic Receptors. *Clinical Research* 29(2): A289-A289.
- [37] Davies NW (1990): Modulation of ATP-sensitive K^+ -channels in skeletal muscle by intracellular protons. *Nature* 343(6256): 375-377.
- [38] Day TA, Randle JC, Renaud LP (1985): Opposing α - and β -adrenergic mechanisms mediate dose-dependent actions of norepinephrine on supraoptic vasopressin neurons in vivo. *Brain Res* 358: 171-179.
- [39] DeFronzo RA (1999): Pharmacologic Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus. *Ann Intern Med* 131: 281-303.

- [40] Demling RH (1980): The pathogenesis of respiratory failure after trauma and sepsis. *Surg Clin North Am* 60(6): 1373-1390.
- [41] Deutsche Sepsis-Gesellschaft und Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (2010): Leitlinien zur Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis – Adjunktive Therapie.
- [42] Docke WD et al. (1997): Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med* 3(6): 678-681.
- [43] Domoki F et al. (1999): Mitochondrial potassium channel opener diazoxide preserves neuronal-vascular function after cerebral ischemia in newborn pigs. *Stroke* 30: 2713-2718; discussion 2718-2719.
- [44] Edwards G, Weston AH (1994): K_{ATP} - fact or artefact? New thoughts on the mode of action of the potassium channel openers. *Cardiovasc Res* 28(6): 735-737; discussion 741-735.
- [45] Ellrodt AG et al. (1985): Left ventricular performance in septic shock: Reversible segmental and global abnormalities. *Am Heart J* 110:402-409.
- [46] Ertmer C et al. (2010): Renal effects of saline based 10% pentastarch vs. 6% tetrastarch infusion in ovine endotoxemic shock. *Anesthesiology* 112(4): 936-947.
- [47] Faraci FM, Heistad DD (1998): Regulation of the cerebral circulation: Role of endothelium and potassium channels. *Phys.Reviews* 78(1): 53-97.
- [48] Feihl F, Waeber B, Liaudet L (2001): Is nitric oxide overproduction the target of choice for the management of septic shock? *Pharmacol Ther* 91(3): 179-213.
- [49] Fink M (1997): Cytopathic hypoxia in sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 110: 87-95.
- [50] Fitzmaurice GM, Laird NM, Ware JH (2004): *Applied Longitudinal Analysis*. Wiley Interscience.
- [51] Forth W et al. (1996): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford 7. Auflage.
- [52] Friedman G et al. (1995): Combined measurements of blood lactate concentrations and gastric intramucosal pH in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 176: 1665-1671.

- [53] Friedman G, Silva E, Vincent JL (1998): Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med* 26(12): 2078-2086.
- [54] Fujita A, Kurachi Y (2000): Molecular aspects of ATP-sensitive K⁺-channel in the cardiovascular system and K⁺-channel openers. *Pharmacol Ther* 85(1): 39-53.
- [55] Gardiner SM et al. (1999): Regional haemodynamic responses to infusion of lipopolysaccharide in conscious rats: effects of pre- or post-treatment with glibenclamide. *Br J Pharmacol* 128(8): 1772-1778.
- [56] Garnacho-Montero J et al. (2003): Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med* 31(12): 2742-2751.
- [57] Giusti-Paiva A et al. (2002): Inducible nitric oxide synthase pathway in the central nervous system and vasopressin release during experimental septic shock. *Crit Care Med* 30: 1306-1310.
- [58] Gribble FM, Ashcroft FM (1999): Differential sensitivity of beta-cell and extrapancreatic K_{ATP}-channels to gliclazide. *Diabetologia* 42(7): 845-848.
- [59] Hallatschek W (2004): Die Regulation des humanen Lipopolysaccharid bindenden Proteins (hLBP).
- [60] Halmagyi DF, Gillett DJ (1966): Norepinephrine response in normal and hypotensive sheep. *J Appl Physiol*.
- [61] Hambrock A, Löffler-Walz C, Quast U (2002): Glibenclamide binding to sulphonylurea receptor subtypes: dependence on adenine nucleotides. *Br J Pharmacol* 136(7): 995-1004.
- [62] Hannon JP, Bossone CA, Wade CE (1990): Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. *Lab Animal Sci* 40: 293-298.
- [63] Hebert PC et al. (1993): A simple multiple system organ failure scoring system predicts mortality of patients who have sepsis syndrome. *Chest* 104(1): 230-235.
- [64] Hinder F et al. (1999): Role of nitric oxide in sepsis-associated pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med* 159(1): 252-257.
- [65] Holmes CL et al. (2001): Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. *Chest* 120: 989-1002.

- [66] Inagaki N et al. (1996): A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K^+ -channels. *Neuron* 16(5): 1011-1017.
- [67] Inagaki N et al. (1995): Reconstitution of IK_{ATP} : an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. *Science* 270(5239): 1166-1170.
- [68] Ince C, Sinaasappel M (1999): Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock. *Crit Care Med* 27(7): 1369-1377.
- [69] Inoue I et al. (1991): ATP-sensitive K^+ -channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature* 352(6332): 244-247.
- [70] Isomoto S et al. (1996): A novel sulfonylurea receptor forms with BIR (Kir6.2) a smooth muscle type ATP-sensitive K^+ -channel. *J Biol Chem* 271(40): 24321-24324.
- [71] Julou-Schaeffer G et al. (1990): Loss of vascular responsiveness induced by endotoxin involves L-arginine pathway. *Am J Physiol* 259(4 Pt 2): H1038-1043.
- [72] Keung EC, Li Q (1991): Lactate activates ATP-sensitive potassium channels in guinea pig ventricular myocytes. *J Clin Invest* 88(5): 1772-1777.
- [73] Kitabchi AE et al. (2000): Comparative efficacy and potency of long-term therapy with glipizide or glyburide in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Med Sci*:143-148.
- [74] Krishnagopalan S, Kumar A, Parillo JE (2002): Myocardial dysfunction in the patient with sepsis. *Curr Opin Crit Care* 8 (5):376-388.
- [75] Kumar A et al. (1999): Role of nitric oxide and cGMP in human septic serum-induced depression of cardiac myocyte contractility. *Am J Physiol* 276(1 Pt 2): R265-276.
- [76] Landry DW et al. (1997): Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation in septic shock. *Circulation* 95: 1122-1125.
- [77] Landry DW et al. (1997): Vasopressin pressor hypersensitivity in vasodilatory septic shock. *Crit Care Med* 25(8): 1279-1282).
- [78] Landry DW, JA Oliver (1992): The ATP-sensitive K^+ -channel mediates hypotension in endotoxemia and hypoxic lactic acidosis in dog. *J Clin Invest* 89(6): 2071-2074.
- [79] Landry DW, JA Oliver (2001): The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 345(8): 588-595.

- [80] Lange M et al. (2006): Short-term effects of glipizide (an adenosine triphosphate-sensitive potassium channel inhibitor) on cardiopulmonary hemodynamics and global oxygen transport in healthy and endotoxemic sheep. *Shock* 26(5): 516-521.
- [81] Lange M et al. (2007): Continuously infused Glipizide reverses the hyperdynamic circulation in ovine endotoxemia. *Shock* 27(6): 701-706.
- [82] Lange M et al. (2007): Role of Adenosine Triphosphat - sensitive potassium channel inhibition in shock states: physiology and clinical implications. *Shock* Vol. 28; 4: 394-400.
- [83] Lange M, Morelli A, Westphal M (2008): Inhibition of potassium channels in critical illness. *Current Opinion in Anesthesiology* 21:105-110.
- [84] Laszlo FA, Laszlo F Jr, Wied DE (1991): Pharmacology and clinical perspectives of vasopressin antagonists. *Pharmacol Rev* 43:73-108.
- [85] Leibovici L et al. (1998): The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med* 244(5): 379-386.
- [86] Liman ER, Tytgat J, Hess P (1992): Subunit stoichiometry of a mammalian K^+ -channel determined by constructing of multimere cDNAs. *Neuron* 9 (5): 861-871.
- [87] Liss B, Roeper J (2001): Molecular physiology of neuronal K_{-ATP} -channels (review). *Mol Membr Biol* 18(2): 117-127.
- [88] Malhi H et al. (2000): K_{ATP} -channels regulate mitogenically induced proliferation in primary rat hepatocytes and human liver cell lines - Implications for liver growth control and potential therapeutic targeting. *Journal of Biological Chemistry* 275(34): 26050-26057.
- [89] Martikainen TJ et al. (2003): The effects of vasopressin on systemic and splanchnic hemodynamics and metabolism in endotoxin shock. *Anesth Analg* 97(6): 1756-1763.
- [90] Martin GS, Bernard GR (2001): Airway and lung in sepsis. *Intensive Care Med* 27 Suppl 1: S63-79.
- [91] Martin GS et al. (2003): The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 348(16): 1546-1554.

- [92] Matthay MA (2001): Severe sepsis-a new treatment with both anticoagulant and antiinflammatory properties. *N Engl J Med* 344(10): 759-762.
- [93] Metzger F, Quast U (1996): Binding of [H-3]-P1075, an opener of ATP-sensitive K^+ -channels, to rat glomerular preparations. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology* 354(4): 452-459.
- [94] Meyer J et al. (1992): Reversal of hyperdynamic response to continuous endotoxin administration by inhibition of NO synthesis. *J Appl Physiol*: 73:324-328.
- [95] Meyer J et al. (1996): Nitric oxide synthase inhibition restores vasopressor effects of norepinephrine in ovine hyperdynamic sepsis. *Anesthesia and Analgesia* 83(5): 1009-1013.
- [96] Mocanda S, Palmer RM, Higgs EA (1996): Nitric oxide synthase inhibition restores vasopressor effects of norepinephrine in ovine hyperdynamic sepsis. *Anaesth Analg* 83:1009-1013.
- [97] Moerer O, Quintel M (2009): Definition, Epidemiologie und ökonomische Aspekte der Sepsis bei Erwachsenen. *Der Internist Vol. 50* (7):788-798.
- [98] Morelli A et al. (2007): Glibenclamide dose response in patients with septic shock: effects on norepinephrine requirements, cardiopulmonary performance, and global oxygen transport. *Shock* 28(5): 530-535.
- [99] Morrison DC, Ulevitch RJ (1978): The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. A review. *Am J Pathol* 93(2): 526-618.
- [100] Musser JB et al. (2004): Hemorrhagic shock in swine: nitric oxide and potassium sensitive adenosine triphosphate channel activation. *Anesthesiology* 101(2): 399-408.
- [101] Nelson MT, Quayle JM (1995): Physiological roles and properties of K^+ -channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol* 268(4 Pt 1): C799-822.
- [102] Nichols CG, Lederer WJ (1991): The Mechanism of K_{ATP} -channel Inhibition by Atp. *Journal of General Physiology* 97(5): 1095-1098.
- [103] Niederman MS, Fein AM (1990): Sepsis syndrome, the adult respiratory distress, and nosocomial pneumonia. A common clinical sequence. *Clinics in Chest Medicine* 11(4): 633-656.
- [104] O'Brien A et al. (2005): The pore-forming subunit of K_{ATP} -channel is an important molecular target for LPS-induced vascular hyporeactivity in vitro. *Brit. J Pharmacol* 144: 367-375.

- [105] Papanek PE, Sladek CD, Raff H (1997): Corticosterone inhibition of osmotically stimulated vasopressin from hypothalamic-neurohypophysial explants. *Am J Physiol* 272(pt 2): R158-R162.
- [106] Parker MM et al. (1990): Right Ventricular Dysfunction and Dilatation, Similar to Left-Ventricular Changes, Characterize the Cardiac Depression of Septic Shock in Humans. *Chest* 97(1): 126-131.
- [107] Parrillo JE (1993): Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 328(20): 1471-1478.
- [108] Pastor CM, Billiar TR (1995): Regulation and functions of nitric oxide in the liver in sepsis and inflammation. *New Horiz* 3(1): 65-72.
- [109] Patel BM et al. (2002): Beneficial effects of short-term vasopressin infusion during severe septic shock. *Anesthesiology* 96: 576–582.
- [110] Pepe MS, Anderson GL (1994): A Cautionary Note on Inference for Marginal Regression-Models with Longitudinal Data and General Correlated Response Data. *Communications in Statistics-Simulation and Computation* 23(4): 939-951.
- [111] Pickkers P et al. (2006): In vivo evidence for nitric oxide-mediated calcium-activated potassium-channel activation during human endotoxemia. *Circulation* 114(5): 414-421.
- [112] Pinner RW et al. (1996). Trends in infectious diseases mortality in the United States. *JAMA* 275(3): 189-193.
- [113] Poelaert J et al. (1997): Left ventricular systolic and diastolic function in septic shock. *Intensive Care Med* 23(5): 553-560.
- [114] Porembka DT (1993): Cardiovascular abnormalities in sepsis. *New Horiz* 1 (2): 324-341.
- [115] Quast U et al. (1993): Binding of the K⁺-channel opener [3H]P1075 in rat isolated aorta: relationship to functional effects of openers and blockers. *Mol Pharmacol* 43(3): 474-481.
- [116] Rangel-Frausto MS et al. (1995): The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA* 273(2): 117-123.
- [117] Redl H et al. (1993): Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia. *Immunobiol*: 187:330-345.

- [118] Reinhart K et al. (2006): Diagnosis and therapy of sepsis. Guidelines of the German Sepsis Society Inc. and the German Interdisciplinary Society for Intensive and Emergency Medicine. *Internist (Berl)* 47(4): 356, 358-360, 362-358.
- [119] Roland SM (2003): Sepsis und septischer Schock. *Harrisons Innere Medizin*. ABW Wissenschaftsverlag: 882-888.
- [120] Sakura H et al. (1995): Characterization and variation of a human inwardly-rectifying-K-channel gene (KCNJ6): a putative ATP-sensitive K⁺-channel subunit. *FEBS Lett* 367(2): 193-197.
- [121] Sakura H et al. (1999): A variant of SUR1 may constitute part of the ATP-sensitive potassium channel of hypothalamic neurons. *Diabetes* 48: A260-A260.
- [122] Sands KE et al. (1997): Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *JAMA* 278(3): 234-240.
- [123] Sato T et al. (2006): Effects of sulfonylureas on mitochondrial ATP-sensitive K⁺-channels in cardiac myocytes: implications for sulfonylurea controversy. *Diabetes Metab Res Rev*: 22:341-347.
- [124] Schein RMH et al. (1990): Plasma cortisol levels in patients with septic shock. *Crit Care Med* 18:259-263.
- [125] Schoenberg MH, Weiss M, Radermacher P (1998): Outcome of patients with sepsis and septic shock after ICU treatment. *Langenbecks Arch Surg* 383(1): 44-48.
- [126] Schrier RW, Berl T, Anderson RJ (1979): Osmotic and nonosmotic control of vasopressin release. *Am J Physiol*: 236:F321-F332.
- [127] Schuerholz T, Marx G (2008): Management of sepsis. *Minerva Anesthesiol* 74(5): 181-195.
- [128] Seino S (1999): ATP-sensitive potassium channels: a model of heteromultimeric potassium channel/receptor assemblies. *Annu Rev Physiol* 61: 337-362.
- [129] Seino S, Miki T (2003): Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K⁺-channels. *Prog Biophys Mol Biol* 81(2): 133-176.
- [130] Sobey CG, Faraci FM (1998).
- [131] Sprung CL et al. (1990): Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *Crit Care Med* 18(8): 801-806.

- [132] Suffredini AF (1998): Myocardial dysfunction in sepsis: clinical and experimental investigations. *Schweiz Med Wochenschr* 128(39): 1444-1452.
- [133] Suffredini AF et al. (1989): The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med* 321(5): 280-287.
- [134] Szamosfalvi B et al. (2002): Putative subunits of the rat mesangial K_{ATP} : a type 2B sulfonylurea receptor and an inwardly rectifying K^+ -channels. *Kidney Int* 61(5): 1739-1749.
- [135] Taguchi H et al. (1996): Vascular expression of inducible nitric oxide synthase is associated with activation of Ca^{2+} -dependent K^+ -channels. *J Pharmacol Exp Ther* 279(3): 1514-1519.
- [136] Teboul JL, Vallet B (1996): Hemodynamic management of septic shock. From a global approach to a gastrointestinal approach. *Presse Med* 25(11): 549-554.
- [137] Thibonnier M (1992): Signal transduction of V1-vascular vasopressin receptors. *Regul Pept* 38: 1-11.
- [138] Thiernemann C, Vane J (1990): Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo. *Eur J Pharmacol* 182(3): 591-595.
- [139] Thorneloe KS et al. (2002): Protein kinase C modulation of recombinant ATP-sensitive K^+ -channels composed of Kir6.1 and/or Kir6.2 expressed with SUR2B. *J Physiol* 541(Pt 1): 65-80.
- [140] Traber DL et al. (1988): Cardiopulmonary responses to continuous administration of endotoxin. *Am J Physiol*: 254: H833-H839.
- [141] Traber DL (2000): Animal models: the sheep. *Crit Care Med* 28(2): 591-592.
- [142] Tucker J et al. (1998): Microvascular endothelial cell control of peripheral vascular resistance during sepsis. *Arch Surg* 133(12): 1335-1342.
- [143] Umino T et al. (1999): AVP inhibits LPS- and IL-1 (beta)-stimulated NO and cGMP via V(1) receptor in cultured rat mesangial cells. *Am J Physiol* 276: F433-441.

- [144] Vanelli G, Hussain SN, Aqugugini G (1995): Glibenclamide, a blocker of ATP-sensitive potassium channels, reverses endotoxin-induced hypotension in pig. *Experimental Physiology* 80(1): 167-170.
- [145] Vanelli G et al. (1997): Cardiovascular responses to glibenclamide during endotoxaemia in the pig. *Vet Res Commun* 21(3): 187-200.
- [146] Vincent JL et al. (2000): Effects of Nitric Oxide in Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 1781-1785.
- [147] Vollmar B (1995): Microcirculation and oxygen supply to the liver in hemorrhagic shock and sepsis. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 30 Suppl 1: S52-54.
- [148] Wakatsuki T, Nakaya Y, Inoue I (1992): Vasopressin modulates K⁺-channel activities of cultured smooth muscle cells from porcine coronary artery. *Am J Physiol* 263: H491-H496.
- [149] Waldron GJ, Cole WC (1999): Activation of vascular smooth muscle K⁺-channels by endothelium-derived relaxing factors. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 26 (2): 180-184.
- [150] Warren BL et al. (2001): Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 286(15): 1869-1878.
- [151] Warrillow S, Egi M, Bellomo R. (2006): Randomized, double-blind, placebo-controlled crossover pilot study of a potassium channel blocker in patients with septic shock. *Crit Care Med* 34(4): 980-985.
- [152] Wehr A (2005): Therapie der Sepsis: Herausforderung für die Intensivmedizin. *Deutsches Ärzteblatt* 102(10): A-685.
- [153] Westphal M et al. (2004): New approach to an ovine model of hypodynamic endotoxaemia. *Eur J Anaesthesiol* 21(8): 625-631.
- [154] Westphal M et al. (2004): Dopexamine reverses the vasopressin associated impairment in tissue oxygen supply but decreases systemic blood pressure in ovine endotoxaemia. *Anesth Analg* 99: 878-885.
- [155] Westphal M et al. (2003): Effects of titrated arginine vasopressin on hemodynamic variables and oxygen transport in healthy and endotoxaemic sheep. *Crit Care Med* 31(5):1502-1508.
- [156] Westphal M et al. (2003): Terlipressin dose response in healthy and endotoxaemic sheep: Impact on cardiopulmonary performance and global oxygen transport. *Intensive Care Med* 29(2): 301-308.

- [157] Wheeler AP, Bernard GR (1999): Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 340(3): 207-214.
- [158] Wikipedia – the free encyclopedia.
- [159] Winkeltau G. (1998): Die diffuse Peritonitis. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH 2(4).
- [160] www.arzneistoffe.net/Glibenclamid.html.
- [161] Yamada K et al. (2001): Protective role of ATP-sensitive potassium channels in hypoxia-induced generalized seizure. *Science* 292(5521): 1543-1546.
- [162] Yamada and Sunaga (1997).
- [163] Yang S et al. (1999): Differential alterations in systemic and regional oxygen delivery and consumption during the early and late stages of sepsis. *J Trauma* 47(4): 706-712.
- [164] Zerbe RL, Henry DP, Robertson GL (1983): Vasopressin response to orthostatic hypotension: etiologic and clinical implications. *Am J Med* 74: 265-271.

8. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Martin Westphal, für die Überlassung dieses Themas und die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe.

Des Weiteren danke ich PD Dr. med. Martin Lange für die geduldige Korrektur.

Herrn Bernado Pinto, für die praktische Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit und für die wertvollen Anregungen.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken möchte ich für die Ermöglichung meines Promotionsvorhabens und die Überlassung der Räumlichkeiten sowie Materialien und Geräte, danken.

Herzlicher Dank gilt insbesondere meiner Kollegin Frau Aygul Yanbulatova, mit deren Hilfe die Fertigstellung der Versuchsreihen beschleunigt wurde.

Vielen Dank auch an den Koreferent PD Dr. Edwin Herrmann.

Weiterhin möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelm-Universität bedanken.

Ein herzliches Dankeschön auch an Frau Nadja Hoppe für die technische Unterstützung.

Meinen Eltern sei diese Arbeit gewidmet, da sie mir durch ihre Unterstützung die Fertigstellung dieser Arbeit erst ermöglichten.

9. Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen ist der Lebenslauf nicht in der elektronischen Version verfügbar.

10. Anhang



Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz
Nordrhein-Westfalen

LANUV NRW, Postfach 10 10 52, 45610 Recklinghausen

Gegen Empfangsbekanntnis

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

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

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

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

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

Verantwortlicher Leiter: Herr PD Dr. med. Martin Westphal
Stellvertretender Leiter: Herr Dr. med. Sebastian Rehberg

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

30.06.2009.

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

Auskunft erteilt:
Herr Skoff
Direktwahl 02361/305-709
Fax 02361/305-786
poststelle@lanuv.nrw.de

Aktenzeichen
9.93.2.10.36.07.126
bei Antwort bitte angeben
Ihre Nachricht vom:
Ihr Aktenzeichen:

Datum: 14.06.2007

Hauptsitz:
Leibnizstraße 10
45659 Recklinghausen
Telefon 02361 305-0
Fax 02361 305-786
poststelle@lanuv.nrw.de
www.lanuv.nrw.de

Dienstgebäude:
Hauptsitz Recklinghausen

Öffentliche Verkehrsmittel:
Ab Hbf Recklinghausen mit Bus
236 bis Haltestelle
"Siemensstraße" oder mit Bus
SB20 bis Haltestelle
"Blitzkuhlenstraße" und 15 Min.
Fußweg

Bankverbindung:
Landeskasse Düsseldorf
Konto-Nr.: 41 000 12
West LB AG
(BLZ 300 500 00)
BIC-Code: WELADED
IBAN-Code: DE 41 3005
0000 0004 1000 12