

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

***“Kardiopulmonale Effekte von Noradrenalin nach NO-Synthase-  
Inhibition mit L-NAME”***

**-Eine experimentelle Studie am nicht anästhesierten,  
instrumentierten Schaf-**

**Inaugural-Dissertation**

zur  
Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

**Elisabeth Agnes Gervink**

aus Nordhorn

2004

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. H. Jürgens

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

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. F. Schmäl

Tag der mündlichen Prüfung: 02.02.2004

**Aus dem Universitätsklinikum Münster**  
**Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin**  
**Direktor: -Univ.-Prof. Dr. H. Van Aken-**  
**1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. H.G. Bone**  
**2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. F. Schmä**

## **Zusammenfassung**

Elisabeth Gervink

### **“Kardiopulmonale Effekte von Noradrenalin nach NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME” -Eine experimentelle Studie am nicht anästhesierten, instrumentierten Schaf-**

Der septische Schock ist gekennzeichnet durch eine ausgeprägte systemische Vasodilatation und der daraus resultierenden Hypotension. Noradrenalin, steht bei schwerer Hypotension als Mittel der ersten Wahl zur Verfügung. Im Rahmen der Sepsistherapie zeigt sich jedoch häufig, dass die vasopressorische Aktivität der eingesetzten Substanz bei septischen Patienten im Vergleich zum nicht septischen Patienten stark vermindert ist. Es gibt viele Hinweise darauf, dass eine vom Organismus in der Sepsis produzierte Substanz, nämlich Stickstoffmonoxid (NO), wesentlich zum Herz-Kreislaufversagen und zur verringerten Wirksamkeit von Katecholaminen beiträgt.

In der vorliegenden Untersuchung wurde evaluiert, ob durch die Gabe des nicht selektiven NO-Synthase Inhibitors N<sup>G</sup>-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) die beeinträchtigte kardiovaskuläre Ansprechbarkeit von Noradrenalin im Rahmen experimenteller hyperdynamer Sepsis wieder hergestellt werden kann.

Zunächst wurden die hämodynamischen Effekte von Noradrenalin und L-NAME nach Genehmigung durch die Bezirksregierung Münster (Genehmigungsnummer: 23.0835.1.0 [53/95]) in gesunden Tieren untersucht. Nach einer Latenzphase von drei Tagen wurde durch die kontinuierliche Gabe von Endotoxin (*Salmonella typhosa*) eine Sepsis induziert und aufrechterhalten. Nach 24 Stunden wurden erneut die hämodynamischen Effekte von Noradrenalin und L-NAME in septischen Schafen untersucht.

Die Endotoxinämie induzierte nach 24h eine hyperdynamische Zirkulation. Durch die Gabe von L-NAME konnte die eingeschränkte kardiovaskuläre Wirkung von Noradrenalin wieder hergestellt werden. Damit erscheint die Blockade der NO-Synthase in der hyperdynamen Endotoxinämie als sinnvoller therapeutischer Ansatz um die kardiovaskuläre Ansprechbarkeit des septischen Patienten auf Katecholamine wieder herzustellen.

**Tag der mündlichen Prüfung: 02.02.2004**

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1-23</b>
<b>1.1</b>	<b>Sepsis</b>	<b>1</b>
1.1.1	Definition	1
1.1.2	Inzidenz und Mortalität der Sepsis	2
1.1.3	Ätiologie und Pathophysiologie der Sepsis	4
1.1.3.1	Freisetzung von Endotoxin und anderen bakteriellen Produkten	4
1.1.3.2	Mediatoren und Mediatorsysteme	6
1.1.3.3	Pathophysiologie der septischen Makro- und Mikro-zirkulationsstörungen	12
1.1.3.4	Sauerstoffversorgung in der Sepsis	13
1.1.3.5	Kardiale Funktionsstörungen bei Sepsis	15
1.1.3.6	Pulmonale Funktionsstörungen	16
<b>1.2</b>	<b>Physiologische und pathophysiologische Bedeutung des Stickstoffmonoxid</b>	<b>17</b>
<b>1.3</b>	<b>Systematik der Therapie der Sepsis</b>	<b>21</b>
<b>2.</b>	<b>Fragestellung und Zielsetzung</b>	<b>24 – 25</b>
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>26 – 32</b>
<b>3.1</b>	<b>Allgemeine Methodik</b>	<b>26</b>
<b>3.2</b>	<b>Instrumentierung</b>	<b>26</b>
<b>3.3</b>	<b>Monitoring</b>	<b>27</b>
<b>3.4</b>	<b>Versuchsprotokoll</b>	<b>29</b>
3.4.1	Nicht endotoxinämischer Teil	29
3.4.2	Experimentelle Endotoxinämie	30

3.4.3	Endotoxinämischer Teil	31
3.5	Statistik	32
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>33 – 50</b>
4.1	Hämodynamische Effekte von Noradrenalin und L-NAME in gesunden, nicht endotoxinämischen Schafen	33
4.2	Endotoxinämie	34
4.3	Hämodynamische Effekte von Noradrenalin und L-NAME in endotoxinämischen Schafen	35
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>51 - 65</b>
5.1	Hyperdynamie Endotoxinämie als experimentelles Sepsismodell	54
5.1.1	Wahl des Versuchstieres	55
5.2	Wirkung von Noradrenalin bei gesunden Schafen sowie endotoxinämischen Schafen nach NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME	57
<b>6.</b>	<b>Schlussfolgerung</b>	<b>66 – 68</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>69 - 84</b>
<b>8.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>85</b>
<b>9.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>86 - 87</b>
<b>10.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>88</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1 Sepsis**

#### **1.1.1 Definition**

Nach der Definition von Schottmüller aus dem Jahre 1914 liegt eine Sepsis aus infektiologisch-klinischer Sicht dann vor: “Wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen, und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden” (140). 1928 stellte Schwartzmann in seiner Studie (Studies on bacillus typhosus toxic substances) erstmals die Wirkung der Toxine von Bakterien im Rahmen der Sepsis in den Vordergrund, vor allem das Endotoxin der gramnegativen Keime (144). Die Annahme, wonach pathogene Mikroorganismen oder deren Produkte unmittelbar für die Pathophysiologie von Infektionserkrankungen, wie zum Beispiel einer Sepsis, verantwortlich sind, unterliegt einem Wandel. Nach heutigem Wissensstand geht man davon aus, dass die Sepsis eine systemische Abwehrreaktion des Organismus auf eine Infektion ist, im Sinne einer generalisierten Störung zellulärer und subzellulärer Funktionen des Wirtes (host defense failure disease). Diese immunologische Reaktion kann ausgelöst werden durch Zellbestandteile gramnegativer wie grampositiver Bakterien, aber auch durch Pilze oder Viren (18; 168). In der Bemühung, eine standardisierte Terminologie zu erstellen, wurden 1992 auf der Konsensuskonferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine Begriffe aus dem Problemkreis Sepsis neu definiert (19). Demnach wird die Sepsis aktuell definiert als die systemische Antwort des Organismus auf eine Infektion, unabhängig davon, ob die Erreger selbst oder ihre Toxine für das Krankheitsbild verantwortlich sind. Das “systemic inflammatory response syndrom” (SIRS) hat dieselben pathognomonischen Zeichen wie die Sepsis, es muss aber kein Nachweis eines infektiösen Herdes vorliegen. Die SIRS kann aufgrund einer Vielzahl von Schädigungsmöglichkeiten des Organismus auftreten. Dazu gehören nicht nur Infektionen, sondern auch nichtinfektiöse Ursachen (z.B. Pankreatitis, Trauma,

hämorrhagischer Schock oder immunvermittelte Organschäden). Von einer Sepsis spricht man demnach, wenn die systemisch inflammatorische Reaktion durch eine gesicherte infektiöse Ursache bedingt ist. Die Diagnose der systemischen Entzündungsreaktion oder SIRS wird gestellt, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien vorliegen:

Körpertemperatur  $> 38^{\circ}\text{C}$  oder  $< 36^{\circ}\text{C}$ , Tachykardie (Herzfrequenz über 90/min), respiratorische Insuffizienz (Tachypnoe, definiert durch eine Atemfrequenz von mehr als 20 Atemzügen/min oder Hyperventilation mit einem  $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mmHg}$ ) und Veränderungen im weißen Blutbild (Leukozytose  $> 12000/\text{mm}$  oder Leukozytopenie  $< 4000/\text{mm}$  oder der Nachweis von mehr als 10% unreifen neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut).

Die schwere Sepsis ("severe sepsis") ist gekennzeichnet durch das Auftreten einer Organdysfunktion, einer Hypoperfusion oder einer sepsisinduzierten Hypotension. Die Hypoperfusionszeichen werden definiert als Lactat-Erhöhung, Azidose, Oligurie oder eine akute Veränderung der Bewusstseinslage. Die sepsisinduzierte Hypotension wird definiert als systolischer Blutdruck  $< 90\text{ mmHg}$  oder als Abnahme des systolischen Blutdrucks um  $> 40\text{ mmHg}$  im Vergleich zum Ausgangswert nach Ausschluß anderer Ursachen.

Der septische Schock ist definiert als septische Hypotension, die trotz adäquater Volumensubstitution persistiert.

Patienten mit normalen Blutdruckwerten aufgrund einer Therapie mit inotropen oder vasokonstriktiven Substanzen, die aber dennoch Zeichen der Hypoperfusion oder Organdysfunktion aufweisen, werden als Patienten mit septischem Schock angesehen.

### **1.1.2 Inzidenz und Mortalität der Sepsis**

Die Sepsis gehört zu den häufigsten Todesursachen auf nicht kardiologischen Intensivstationen (87).

Nach Angaben des Center for Disease Control (USA) stieg die Zahl der Sepsisfälle (definiert als systemische Erkrankung, assoziiert mit der anhaltenden Anwesenheit von



pathogenen Mikroorganismen oder deren Toxinen im Blutstrom) in den Jahren zwischen 1979 und 1989 um 139% von 74 (1979) auf 176 Fälle (1987) pro 100.000 Einwohner (18). 1993 wurde die Zahl der Erkrankungen auf 400.000 geschätzt (65), 1995 erhöhte sich die Zahl der Erkrankungen schon auf 500.000 pro Jahr (126).

Trotz neuem Erkenntnisgewinn und differenzierter Behandlungsmaßnahmen steigt die Inzidenz der Sepsis und des septischen Schocks kontinuierlich an. Gründe für die steigende Inzidenz sind der verbreitete Einsatz invasiver Maßnahmen bei Diagnostik, Therapie und Überwachung, wie z.B. intravaskuläre Verweilkatheter, arterielle Katheter und Blasendauerkatheter. Der steigende Einsatz zytotoxischer und immunsuppressiver Medikamente sowie die Zunahme von Infektionen, bedingt durch eine Antibiotikaresistenz des Erregers, begünstigen ebenfalls die Entwicklung einer Sepsis. Hinzu kommt eine steigende Anzahl von Intensivpatienten mit multiplen Grunderkrankungen, (z.B. Diabetes mellitus, Malignom, Patienten mit hohem Lebensalter, Immunmangelerkrankungen, Autoimmunerkrankungen), die ein erhöhtes Infektionsrisiko aufweisen, sowie die Zunahme und Ausweitung operativer Eingriffe (10).

Sands et al. gehen in ihrer 1997 veröffentlichten Studie davon aus, dass etwa zwei Prozent aller Krankenhauspatienten eine Sepsis erleiden (136) und 9% aller auf eine Intensivstation aufgenommenen Patienten eine schwere Sepsis, das heißt eine Sepsis mit assoziierter Organdysfunktion aufweisen (28).

Bei 20-40% der Patienten führt die Sepsis zum septischen Schock (18; 147). Die Mortalität des septischen Schocks liegt bei 20-50%, im Gegensatz dazu liegt die Mortalität bei der Sepsis ohne Schock bei 16% (125; 129). In der Frühphase der Sepsis (72 Stunden) versterben die meisten Patienten nach einer retrospektiven Analyse an einer therapieresistenten Hypotension (13). Danach steht die Entwicklung eines Multiorganversagens (ARDS, Nieren- und Leberversagen) als Todesursache im Vordergrund (29). Bislang stand in den letzten 30 Jahren keine spezielle Sepsistherapie zur Verfügung, die zu einer signifikanten Senkung der Letalität im Rahmen der Sepsis geführt hat. Jedoch konnte in einer großen Multicenter-Phase-III-Studie zur Applikation von aktiviertem Protein C [drotrecogin alfa (aktiviert)] bei Sepsis mit Organversagen eine deutliche Reduktion der Letalität gezeigt werden (13).

### **1.1.3 Ätiologie und Pathophysiologie der Sepsis**

Seit der Erstbeschreibung durch Jacob 1909 haben sich die Kenntnisse über die Pathophysiologie der Sepsis und des septischen Schocks erheblich gewandelt (80). Standen am Anfang dieses Jahrhunderts die Wirkung des Erregers auf den Organismus und der Nachweis einer bakteriellen Infektion im Mittelpunkt, weiß man heute, dass die Sepsis eine generalisierte inflammatorische Reaktion auf eine Invasion von Mikroorganismen und deren Produkte ist. Die Aktivierung humoraler und zellulärer Mediatorsysteme führt durch Veränderung des vaskulären Tonus und der Gefäßpermeabilität letztlich zum Multiorganversagen (6; 13; 169). Die Ursache einer Sepsis können Infektionen mit gramnegativen Bakterien, grampositiven Erregern, pathogenen Viren, Pilzen sowie Rickettsien sein. Die Prävalenz der Erregertypen ist dabei abhängig vom allgemeinen Zustand des Patienten, von der Antibiotikavorbehandlung und der Hospitalisationsdauer. Als häufigste Infektionsquellen oder Eintrittspforten für pathogene Keime gelten die harnableitenden Organe, der Respirationstrakt, der Gastrointestinaltrakt, ausgedehnte Weichteil- und Extremitätenwunden sowie infizierte intravasale Katheter und Operationen. Bei 30% der Intensivpatienten, vor allem bei Patienten mit schwerer Grunderkrankung und Abwehrschwäche, läßt sich der Infektionsherd einer Sepsis nicht identifizieren (13; 43).

#### **1.1.3.1 Freisetzung von Endotoxin und anderen bakteriellen Produkten**

Die pathophysiologische Sequenz von Ereignissen im Rahmen der Sepsis beginnt mit dem Wachstum und der Akkumulation pathogener Erreger im Infektionsherd. Durch Überwindung körpereigener Abwehrmechanismen kommt es zur Invasion pathogener Mikroorganismen oder deren Toxinen (Endo- und Exotoxin) in die systemische Zirkulation. Die Einschwemmung kann dabei ein zeitlich begrenztes Ereignis sein (z.B. instrumenteller Eingriff) oder auch über einen längeren Zeitraum kontinuierlich und periodisch erfolgen (z.B. Katheterinfektion, bakterielle Peritonitis). Eventuell von Bedeutung für die Pathophysiologie der Sepsis ist die Translokation von Bakterien und Endotoxinen aus dem Darmlumen in die intestinalen Lymphbahnen, die Pfortader und

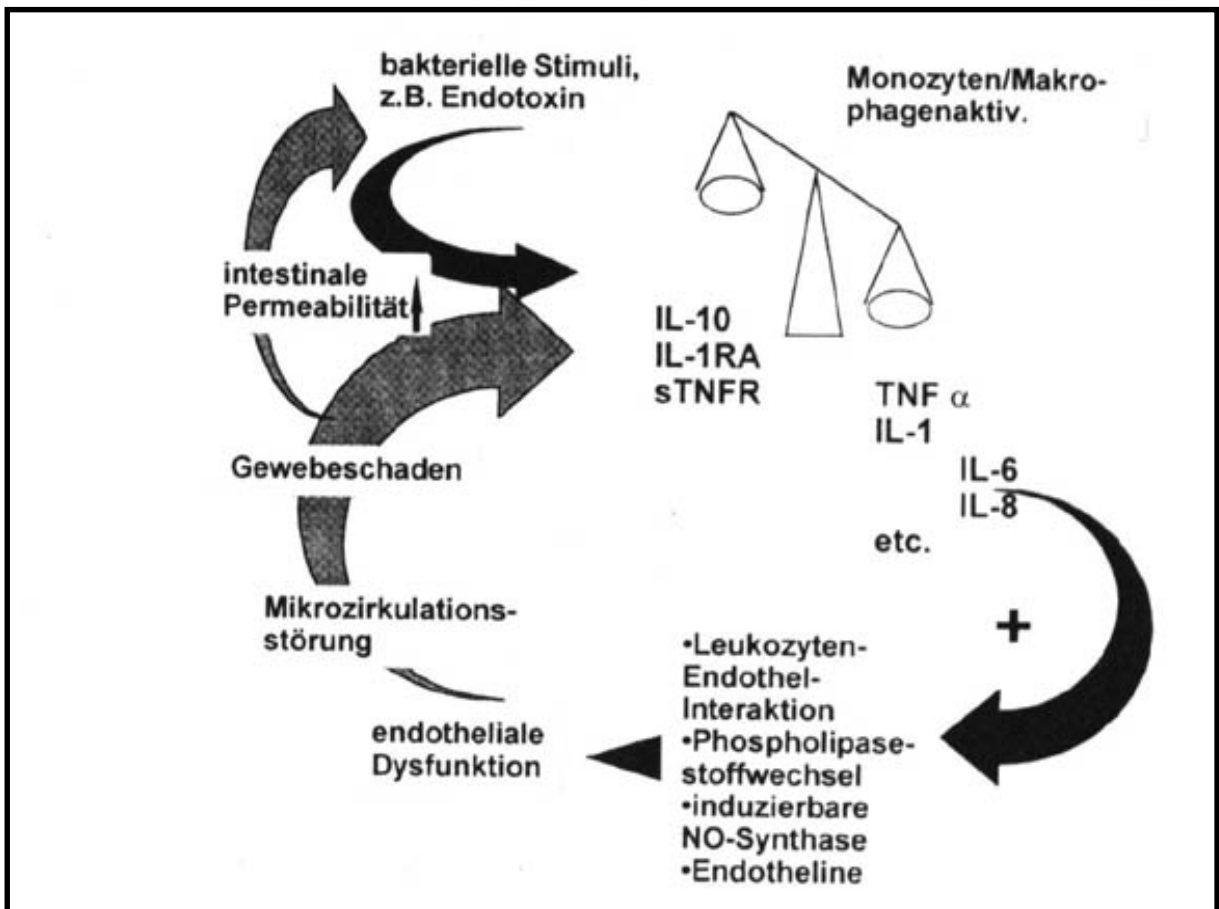
in die systemische Zirkulation aufgrund einer ausgeprägten intestinalen Permeabilitätsstörung. Die Mukosaschicht des Gastrointestinaltraktes dient als Barriere und verhindert die Einschwemmung von Bakterien und bakteriellen Toxinen in die Blutbahn. Verschiedene Noxen (Hypoperfusion, Ischämie/Reperfusion, Endotoxinämie, Bakteriämie, Sepsis) können zum Verlust der Barrierefunktion des Gastrointestinaltraktes führen. Aufgrund der Permeabilitätsstörung und der Translokation von Bakterien und bakteriellen Toxinen aus dem Darmlumen kann eine Sepsis sekundär unterhalten werden (99; 113). Bei gramnegativer Sepsis werden große Mengen Endotoxin freigesetzt, die im Organismus eine Antwortreaktion induzieren und dadurch die Entwicklung einer Sepsis begünstigen. Zeichen einer Endotoxinämie sind Fieber, Veränderungen der Leukozytenzahl, Blutdruckabfall und Durchfall. In schweren Fällen kommt es zur disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie, zu Mikrozirkulationsstörungen verschiedener Organe bis hin zum irreversiblen Schock (68; 190). Endotoxin, ein hitzestabiler Komplex aus Lipopolysacchariden, ist integraler Bestandteil der äußeren Lipidmembran der Zellwand gramnegativer Bakterien. Sie werden nach Lyse durch Antibiotika oder immunkompetente Zellen aus der Bakterienwand freigesetzt. Endotoxine oder Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien sind die am häufigsten untersuchten Triggersubstanzen der systemischen Endotoxinämie. Das Lipopolysaccharidmolekül besteht aus drei verschiedenen Abschnitten (Region I-III). Die O-spezifische Seitenkette (Region I) ist Bestandteil der Oberfläche der äußeren Zellwand. Es wirkt als thermostabile antigene Determinante und ruft im menschlichen Organismus die Bildung von spezifischen Antikörpern hervor. Region II verkörpert die Kernzone, an sie sind die O-spezifischen Seitenketten sowie Region III gebunden. Region III entspricht dem Lipid-A-Anteil und ist für die toxische Wirkung der Lipopolysaccharide verantwortlich. Der Lipid-A-Anteil ist fest mit der äußeren Membran der Bakterien verbunden und wird erst nach Lyse der Zellmembran freigesetzt. Aufgrund seiner toxischen Aktivität wird er als Endotoxin bezeichnet (131).

Über CD 14-Rezeptoren, die an Monozyten und Makrophagen exprimiert werden, kommt es nach Bindung von LPS mit "LPS Binding Protein" (LBP) als LPS-LBP-Komplex zu einer Aktivierung zellulärer Elemente (PAF, Zytokine, O<sub>2</sub>-Radikale usw.). Lösliche CD 14-Rezeptoren befähigen Zellen, auf LPS-LBP-Komplexe zu reagieren, die

keine CD 14-Rezeptoren besitzen. Dies führt unter anderem zur Bindung von LPS an Endothelzellen und stimuliert die Zellen zur Produktion von Adhäsionsmolekülen (120; 183).

### 1.1.3.2 Mediatoren und Mediatorsysteme

Obwohl die biochemischen und pathophysiologischen Mechanismen, die zur Sepsis und zum septischen Schock führen, noch unzureichend erforscht sind, wird allgemein davon ausgegangen, dass die exzessive Freisetzung von Endotoxinen in die systemische Zirkulation eine Immunreaktion induziert, die mit der Stimulation einer Vielzahl zirkulierender und gewebeständiger, mediatorbildender Zellen verbunden ist. Ziel sollte die Elimination und Beseitigung der pathogenen Keime und Endotoxine sein sowie die Einleitung reparativer Heilungsprozesse. Ist die physiologische Filterkapazität des retikuloendothelialen Systems überschritten oder ist die Endotoxinkonzentration im Plasma sehr hoch, kommt es zu einem sogenannten "spill-over" von Endotoxin in den systemischen und pulmonalen Kreislauf mit einer generalisierten Aktivierung von Makrophagen, Monozyten und Endothelzellen (115). Diese bewirken die Freisetzung von biologisch hochaktiven Entzündungsmediatoren wie Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-1 (IL-1), die den Beginn einer "sepsis cascade" bilden, die unter anderem verschiedene Interleukine (Interleukin 1, 2, 4, 6, 8 und 10), Arachidonsäure-Metabolite (Prostaglandine, Leukotriene, Thromboxan A<sub>2</sub>), Platelet-Activating-Factor (PAF), Adhäsionsmoleküle, Kinine und Endotheline umfasst (1; 160). Gleichzeitig kommt es zu einer Aktivierung komplexer Kaskaden des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems, des Komplementsystems und des Kallikrein-Kinin-Systems, die funktionell miteinander interagieren. Diese gegenseitige zelluläre Aktivierung und Potenzierung der Wirkungen ist typisch für den Ablauf einer Entzündungsreaktion, führt aber, wenn sie inadäquat ist und der Entzündungsprozess außer Kontrolle gerät, im Sinne eines "circulus vitiosus" zur Selbsterstörung des Gewebes.



**Abbildung 1:** Initiale Triggerung einer systemischen Entzündungsreaktion durch bakterielle Toxine und pathophysiologische Sequenz, die zum Gewebeschaden möglicherweise im Sinne eines “*circulus vitiosus*” führt (11).

Die Aktivierung des Komplementsystems stellt im Rahmen der Sepsis hinsichtlich der Mediatorfreisetzung und der hämodynamischen Effekte ein zentrales Ereignis dar. Endotoxin und Polysaccharide von Bakterienmembranen aktivieren das Komplementsystem. Die “klassischen Anaphylatoxine” C3a und C5a induzieren die Histaminfreisetzung aus Mastzellen und basophilen Granulozyten, erhöhen damit die Gefäßpermeabilität und das Auswandern der phagozytischen Zellen aus dem Gefäß in das Gewebe. C5a ist außerdem ein potentes, chemotaktisches Agens für neutrophile Leukozyten und fördert deren Aktivierung und Anhaftung an die Endothelzelloberfläche. Über die präterminalen und terminalen Komplementkomplexe

C5b-8 und C5b-9 wird in der Lunge die Synthese von Arachidonsäuremetaboliten induziert und die Freisetzung von Zytokinen, Proteasen und Enzymen (Thromboxan A<sub>2</sub> und Leukotriene) aus Leukozyten und Endothelzellen. C5a und der terminale Komplementkomplex bewirken die Expression von tissue factor (TF) auf Monozyten und Endothelzellen und damit die Aktivierung der Gerinnungskaskade. All diese Reaktionen führen zur Vasodilatation mit Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Ödembildung (153; 187).

Störungen im Bereich der Mikrozirkulation sind bereits in der Frühphase der Sepsis nachweisbar, wobei die Endothelzelle aufgrund ihrer "strategisch" bedeutsamen Lage, an der Grenze zwischen Gewebe und strömendem Blut bei der Entstehung von Mikrozirkulationsstörungen mit konsekutivem Organversagen eine entscheidende Rolle spielt. Aufgrund seiner anatomischen Position ist das Gefäßendothel besonders starken Einflüssen wie mechanischen Scherkräften, Hormonen und schädlichen Substanzen im Blut ausgesetzt. Das Endothel besitzt wichtige physiologische Regulationsmechanismen für die Aufrechterhaltung der Homöostase des Organismus. Bedeutende Funktionen sind die Regulation der transkapillären Permeabilität, außerdem beeinflusst das Endothel den Tonus großer und kleiner Gefäße durch aktive Freisetzung vasoaktiver Substanzen. Das Endothel ist aktiv an der Modulation entzündlicher und immunologischer Reaktionen beteiligt (62).

In vielfältiger Weise beeinflusst das Endothel das komplexe Geschehen der Hämostase. Die Oberfläche der Endothelzellen besitzt antikoagulatorische Eigenschaften, unter physiologischen Bedingungen werden Thrombozytenaggregation und Gerinnung gehemmt sowie die Fibrinolyse gefördert. Unter pathophysiologischen Bedingungen kann es durch Alteration der Gefäßwände zu einer Abschwächung der endothelialen Antithrombogenität und zu einer Umkehr der Eigenschaften ins Gegenteil kommen, die Oberfläche der Endothelzelle wird prothrombogen, das heißt proaggregatorische, prokoagulatorische und antifibrinolytische Eigenschaften dominieren (170).

Lipopolysaccharide und Zytokine alterieren die Integrität der Endotheloberfläche und können über die Kontaktaktivierung des Hagemannfaktors (Faktor XII→Faktor XIIa) mit negativ geladenen Oberflächen (subendotheliale Matrix/Kollagen) zur Aktivierung des Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systems sowie des Kallikrein-Kinin-Systems führen.

Dies kann zur Fibrinolyse und massivem Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und der daraus resultierenden disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie mit oder ohne Ausbildung von Mikrothromben führen (44; 132).

Andererseits wirkt Bradykinin über die Stickstoffmonoxidsynthese und die Prostacyclinsynthese vasodilatierend und bewirkt eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität mit Austritt von Flüssigkeit und Proteinen in das Gewebe. All diese Veränderungen des Hämostasesystems führen zum sogenannten "capillary leakage syndrom" (175).

Die Zytokine TNF- $\alpha$ , Interleukin-1 und Interleukin-6 nehmen als proinflammatorische und immunregulatorische Mediatoren eine Schlüsselfunktion in der Entstehung einer Entzündungsreaktion und septischen Symptomatik ein. Interleukin-1 und TNF- $\alpha$  zeigen pleiotrope und synergistische biologische Wirkungen (172). IL-6 wirkt ähnlich wie TNF- $\alpha$  und IL-1. IL-6 ist mit TNF- $\alpha$  und IL-1 das wichtigste Stimulans für die Synthese von Akutphase-Proteinen (Fibrinogen, C-reaktives Protein, Complement Faktor 3) in den Hepatozyten der Leber (66). Gemeinsam mit IL-1 bewirkt es die Aktivierung der Lymphozytenproliferation und die Immunglobulinsynthese sowie die Stimulation der ACTH-Ausschüttung in der Hypophyse mit sekundärer Freisetzung des Stresshormons Kortison (175). Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass TNF- $\alpha$  und Interleukin-1 allein in der Lage sind, Symptome der Sepsis oder des SIRS auszulösen (135). Interleukin-1 zeigt im Gegensatz zu TNF- $\alpha$  im Organismus aber keine zytotoxischen Effekte. Beide Mediatoren werden bereits innerhalb der ersten Stunden nach Endotoxinexposition von Monozyten/Makrophagen und Endo-/Epithelzellen gebildet. Interleukin-1 und TNF- $\alpha$  sind endogene Pyrogene. Sie wirken auf das thermoregulatorische Zentrum des Hypothalamus (über Prostaglandinsynthese) und induzieren eine Erhöhung der Körpertemperatur (166). Sie aktivieren unter anderem Monozyten, Makrophagen, T und B Lymphozyten sowie Hepatozyten und bewirken die Synthese von PAF und Prostazyklin aus Endothelzellen. Weiterhin induzieren sie die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Leukozyten und Endothelzellen (Leukozyten: L-Selectine, CD11/CD18; Endothelzellen: P-Selectine, ELAM-1, ICAM-1), fördern deren Adhärenz an Endothelzellen und die Einwanderung von Entzündungszellen in den Infektionsherd (56; 92). Die verstärkte Adhärenz und Margination polymorphkerniger

Leukozyten an das Gefäßendothel wird noch zusätzlich durch eine Abnahme des Blutflusses und Veränderung der Fließeigenschaft des Blutes gefördert.

Diese Modulation der Neutrophilen-Adhärenz spielt eine wichtige Rolle bei der Ausbreitung des Entzündungsprozesses sowie bei der Entstehung von Organschäden durch Störung der nutritiven Organdurchblutung mit Entwicklung eines ARDS und konsekutivem Multiorganversagen (187).

Unter physiologischen Bedingungen findet eine kontinuierliche Interaktion zwischen Endothelzellen und Leukozyten statt. Die Adhärenz der polymorphkernigen Leukozyten dient der Emigration und Akkumulation in das Infektionsgebiet und zur Beseitigung des inflammatorischen Herdes. Die Endothelzelle dient nicht nur der Abwehrfunktion, sondern ist ebenfalls zu reparativen Leistungen befähigt, die eine wesentliche Rolle bei der Aufrechterhaltung der Organintegrität und Organfunktion besitzen. Die Leukozytenaggregation (leukocyte sticking) in den Kapillaren der terminalen Strombahn führt unter anderem durch hypoxiebedingte Zellschwellung der Endothelzellen zur Verlegung der Strombahn, ebenso setzen degranulierte polymorphkernige Leukozyten Proteasen (Elastase, Kathepsin, Kollagenase) (130), toxische Sauerstoffradikale ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ) (55), sowie Arachidonsäuremetaboliten (Thromboxan  $A_2$ , Leukotrien  $B_4$ ) (74) frei, die ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der Integrität des Endothels führen und durch ihre vasoaktiven Eigenschaften die Permeabilität der Gefäßwand erhöhen. Das morphologische Korrelat dieser Zell-Zell Interaktion ist ein massives Zellödem mit Verlust der gesamten Zellstruktur und Verlust ihrer regulativen und separierenden Funktion. Der Zellschaden am Endothel führt zu einer Permeabilitätszunahme mit Entwicklung eines "capillary leakage syndroms" durch Austritt von höher molekularen Proteinen aus dem Gefäßsystem in das Interstitium, welche aufgrund ihres hohen kolloidosmotischen Druckes Wasser nach sich ziehen und ein perivaskuläres und später ein interstitielles Ödem (z.B. in der Lunge) bewirken.

Die Aktivierung des Arachidonsäure-Metabolismus erfolgt über eine Freisetzung von Arachidonsäure aus dem Phospholipidpool zellulärer Membranen und spielt bei der Ausbreitung inflammatorischer Reaktionen eine wesentliche Rolle. In experimentellen und klinischen Studien konnte eine gesteigerte Synthese von Arachidonsäuremetaboliten nachgewiesen werden (7; 30). Sie werden in verschiedenen



biologischen Systemen, z.B. Leber, Lunge, Niere sowie Makrophagen und Thrombozyten gebildet. Über den Zyklusoxigenaseweg werden die Prostaglandine Thromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), Prostaglandin<sub>2a</sub> (PGF<sub>2a</sub>) und Prostacyclin<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) gebildet. TXA<sub>2</sub> und PGF<sub>2a</sub> werden in der Lunge gebildet. TXA<sub>2</sub> ist ein sehr potenter Vasokonstriktor, er induziert auch die Aggregation von Thrombozyten und Granulozyten. TXA<sub>2</sub> spielt wahrscheinlich bei der Entstehung von Mikrothromben mit Perfusionsfehlverteilung sowie gemeinsam mit PGF<sub>2a</sub> bei der Entstehung der pulmonalen Hypertension in der Frühphase des experimentellen Endotoxinschocks eine wesentliche Rolle (116). PGI<sub>2</sub> zeigt eine gegenteilige Wirkung. Im Rahmen der Sepsis erhöht Endotoxin die Aktivität der Prostacyclinsynthetase im Endothel und bewirkt dadurch die Bildung des vasodilatierenden Prostaglandins (PGE<sub>2</sub>). Die exzessive Bildung von PGI<sub>2</sub>/E<sub>2</sub> führt zur Reduktion des peripheren Widerstandes und hemmt die Aggregation von Leukozyten und Thrombozyten.

Über den Lipooxygenaseweg kommt es zur Bildung von Leukotrienen und anderen Eicosanoiden. Sie erhöhen die Gefäßpermeabilität und wirken stark chemotaktisch auf Granulozyten. Bei der Entstehung des ARDS spielen die Eicosanoide aufgrund ihrer permeabilitätssteigernden Wirkung eine wichtige pathogenetische Rolle (116). Der Platelet-Activating-Factor (PAF) wird nach Stimulation in Leukozyten, Makrophagen sowie in Endothelzellen generiert. PAF ist ein sehr potenter Lipidmediator, der die Wirkung anderer Mediatoren während inflammatorischer Prozesse verstärkt. PAF wirkt vasodilatierend und steigert die Gefäßpermeabilität (27).

Am Ende eines langen Aktivierungsprozesses kommt es letztlich zur Bildung finaler Mediatoren (Proteasen, reaktive Sauerstoffprodukte, Stickstoffmonoxid), die vasoaktive, permeabilitätssteigernde und zytotoxische Wirkungen zeigen und für die strukturellen Schädigungen an Endothel und spezifischen Organzellen verantwortlich sind.

### 1.1.3.3 Pathophysiologie der septischen Makro- und Mikrozirkulationsstörungen

Störungen der Mikrozirkulation und der Gefäßpermeabilität durch die protrahierte Aktivierung humoraler und zellulärer Mediatorsysteme führen zu komplexen pathophysiologischen Veränderungen während der Sepsis. Die Veränderung des Vasotonus, die Maldistribution des Blutflusses im Bereich der Mikrozirkulation sowie die Ausbildung eines “capillary leakage syndroms” führen letztlich zur Insuffizienz und zum Funktionsausfall multipler Organsysteme (z.B. Lunge, Leber, Darm und Niere). Zahlreiche Studien belegen, dass vor allem der Vasodilatator Stickstoffmonoxid eine Schlüsselposition bei der Entstehung der irreversiblen Gewebeschäden und Kreislaufveränderungen im Rahmen der Sepsis einnimmt (71; 87).

Der septische bzw. Endotoxinschock zeichnet sich in der Regel durch einen biphasischen Verlauf aus. Die charakteristischen Veränderungen während der hyperdynamen Phase des septischen Schocks sind gekennzeichnet durch einen Abfall des mittleren arteriellen Drucks bei normalem oder erhöhtem HZV und einer Reduktion des peripheren Gefäßwiderstandes, wahrscheinlich bedingt durch die Aktivierung des unspezifischen Immunsystems mit exzessiver Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren (127). Typisch für die hyperdynamen Phase des septischen Schocks ist die periphere Vasodilatation, bedingt durch die verminderte Ansprechbarkeit des Gefäßsystems auf Vasokonstriktoren, vor allem Katecholamine (“unresponsive hypotension”), wahrscheinlich bedingt durch die massive Ausschüttung von Stickstoffmonoxid (11; 174). Im Initialstadium des hyperdynamen Schocks zeigt der septische Patient neben Schüttelfrost, Fieber, Tachykardie und Hyperventilation mit respiratorischer Alkalose (später überdeckt von metabolischer Azidose), als klinisches Symptom eine warme trockene Haut und rosiges Aussehen (“warm shock”). Weitere Symptome sind Leukozytose/Leukopenie, Thrombopenie, Lactatacidose und alterierte Bewußtseinslage. Das Terminalstadium des septischen Schocks, die hypodynamen Phase (“cold shock”), ist heute bei Anwendung aller intensivmedizinischen Maßnahmen ein eher seltenes Ereignis und mit einer schlechten Prognose für den Patienten verbunden. Die hypodynamen Phase des septischen Schocks kann sich innerhalb von Stunden oder Tagen entwickeln und ist gekennzeichnet durch ein erniedrigtes HZV, erhöhtem

peripheren Gefäßwiderstand und Hypotonie, trotz ausreichender Volumentherapie und Gabe hoher Katecholamindosen. Klinische Zeichen sind eine blasse, feucht-kühle Haut.

#### **1.1.3.4 Sauerstoffversorgung in der Sepsis**

Der septische Schock ist charakterisiert durch einen erhöhten Sauerstoffbedarf bei gleichzeitig eingeschränkter Sauerstoffaufnahme mit daraus resultierender Störung des nutritiven Blutflusses auf der Ebene der Mikrozirkulation und nachfolgender spezifischer Organschädigung.

Im Rahmen der hyperdynamen Phase des septischen Schocks ist das systemische Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) infolge des hohen HZV gesteigert, aber es gibt Hinweise darauf, dass die periphere Sauerstoffversorgung nicht ausreicht, den gesteigerten Bedarf auf zellulärer Ebene zu decken (167). Bei gesunden Menschen ist der Sauerstoffverbrauch ( $VO_2$ ) des Organismus unabhängig vom Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ). Die Sauerstoffextraktionsrate liegt physiologisch bei ca. 20-30%. Durch Steigerung der Sauerstoffextraktionsrate kann der Körper bei gleichbleibendem Sauerstoffangebot einen gestiegenen Sauerstoffverbrauch ausgleichen. Wird eine kritische Grenze des Sauerstoffangebotes unterschritten, kann die Sauerstoffextraktionsrate nicht weiter erhöht werden und es sinkt der Sauerstoffverbrauch des Körpers zusammen mit dem Sauerstoffangebot (Oxygen-Supply-Dependence). Der Abfall des Sauerstoffangebotes kann hierbei bedingt sein durch ein reduziertes HZV, durch eine Anämie oder durch eine Hypoxämie (15). In verschiedenen Untersuchungen an Tieren und am Menschen, wurde die kritische Grenze des Sauerstoffangebots ( $DO_{2\text{ Crit}}$ ), bei dem der Sauerstoffverbrauch vom Sauerstoffangebot abhängt und somit eine Oxygen-Supply-Dependence vorliegt bestimmt.

Fasst man die sehr unterschiedlichen Ergebnisse zusammen, so lässt sich feststellen:

- 1) Dass eine Verschiebung des  $DO_2_{\text{crit}}$  in der Sepsis zu Werten oberhalb des normalen nicht sicher nachgewiesen ist.
- 2) Bei septischen Patienten mit einem sehr niedrigen  $DO_2$  kann eine  $VO_2/DO_2$ - Abhängigkeit vorliegen (143).
- 3) Eine  $VO_2/DO_2$ -Abhängigkeit kann ein transientes Ereignis bei septischen Patienten sein (47).

Auch wenn eine  $VO_2/DO_2$ -Abhängigkeit des Körpers bei Patienten im septischen Schock nicht gezeigt werden konnte, so gibt es jedoch Hinweise auf eine gestörte Autoregulation des regionalen Blutflusses unter anderem bedingt durch eine erhöhte Stickstoffmonoxidproduktion (106). In der hyperdynamen Sepsis ist die spontane arterioläre Vasomotion gestört, hieraus resultiert eine Zunahme der Perfusionsheterogenität und die Bildung von sogenannten "funktionellen a-v Shunts" (105). Folge ist eine Dissoziation der Kapillarperfusion in Areale mit Stase und Akkumulation von Stoffwechselmetaboliten in Bezirke mit erhöhtem Plasmafluß (108). Neben Störungen im Bereich der Autoregulation des Blutflusses tragen auch Störungen der Mikrozirkulation zu einer verminderten Sauerstoffversorgung in der Sepsis bei. Diese sind bedingt durch Mikrothromben (171), Endothelschädigungen, Permeabilitätsveränderungen und Gewebsödeme (170). Weitere Ursachen des zellulären Sauerstoffdefizites in der Sepsis ist die sogenannte zytopathische Hypoxie. Bei der zytopathischen Hypoxie kommt es trotz normaler oder supranormaler intrazellulärer  $pO_2$ -Werte zu einer unzureichenden Adenosintriphosphat-Bildung durch die Mitochondrien und zu einem vermehrten Anfall von Lactat (46). Das pathologische Korrelat dieser protrahierten Gewebshypoxie führt zu irreversiblen Zellschäden in allen vitalen Organsystemen, vor allem Herz, Lunge, Niere und Magen-Darm-Trakt, und kann mit einer deletären Prognose für den Intensivpatienten verbunden sein (54).

Als weitere Pathomechanismen, die das Missverhältnis von Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf im Gewebe unterhalten, ist die Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens, bedingt durch einen relativen oder absoluten intravasalen Volumenmangel, bekannt. Aus der Hypovolämie resultiert eine Abnahme der kardialen Vorlast mit Reduktion des HZV, der Gewebepfusion und Oxygenierung. Da das

systemische Sauerstoffangebot aber unter anderem vom HZV und dem Sauerstoffgehalt des arteriellen Blutes abhängt, ist zur Aufrechterhaltung einer suffizienten Gewebeperfusion und damit Organfunktion ein adäquates Blutvolumen notwendig. Eines der wichtigsten therapeutischen Ziele zur Optimierung des Sauerstofftransportes bei septischen Patienten sollte deshalb die frühzeitige Beseitigung des Volumendefizits sein (148). Das Anstreben eines supranormalen Sauerstoffangebotes ist in der Sepsistherapie bei kritisch kranken Patienten nach heutigem Kenntnisstand nicht indiziert (15).

#### **1.1.3.5 Kardiale Funktionsstörungen bei Sepsis**

Die septische Herzschiädigung ist ein wesentlicher Bestandteil des Multiorganversagens und wird häufig durch die Ausschüttung von Bakterientoxinen, kardiodepressiven Faktoren und Mediatoren (111) sowie durch eine Ischämie, metabolische Störungen und Störungen der kardialen Mikrozirkulation verursacht, in deren Gefolge eine Myokarddepression auftreten kann (178). Die genaue Bedeutung der einzelnen beschriebenen Wirkungen bezüglich ihrer klinischen Relevanz konnte bislang allerdings noch nicht hinreichend geklärt werden. Trotz normalem oder erhöhtem HZV während der hyperdynamen Sepsis kann die kardiale Pumpfunktion des septischen Patienten bereits eingeschränkt sein. Eine charakteristische kardiovaskuläre Veränderung ist die Hypotonie aufgrund der generalisierten Vasodilatation mit konsekutiver Erniedrigung des systemischen Gefäßwiderstandes auf 30% der Norm (112). Im Rahmen adaptativer Mechanismen kann durch eine Aktivierung des sympathikoadrenergen Systems der Vasotonus und bis zu einem gewissen Grade das HZV gesteigert werden, um einem weiteren Blutdruckabfall entgegenzuwirken (59). Typische Zeichen der septischen Kardiomyopathie sind ein in Relation zum erniedrigten Gefäßwiderstand inadäquat gesteigertes HZV, Schlagvolumen und linksventrikuläre Auswurfraction, bei reduzierter linksventrikulärer Nachlast. Die Compliance des Ventrikels ist erhöht, wobei auch eine massive Dilatation des Ventrikels vorliegen kann. Mögliche Ursachen dieser Störungen können zirkulierende myokardial depressiv wirkende Substanzen sein oder eine Fehlregulation und Dichteabnahme kardialer  $\beta$ -Adrenorezeptoren. Häufig finden

sich sowohl Relaxations- als auch Kontraktionsstörungen, bedingt durch eine regionale myokardiale Ischämie. Eine zusätzliche rechtsventrikuläre Funktionseinschränkung bedingt durch einen erhöhten pulmonalarteriellen Widerstand im Rahmen des septischen ARDS mit konsekutiver Rechtsherzbelastung kann aufgrund der erhöhten rechtsventrikulären Nachlast zu einer Einschränkung der rechtsventrikulären Pumpfunktion führen (91). Trotz dieser schwerwiegenden Veränderungen am Herzen heilt die septische Kardiomyopathie in der Regel komplikationslos aus (15; 121).

### **1.1.3.6 Pulmonale Funktionsstörungen**

Die Sepsis stellt eine der wichtigsten pathophysiologischen Ursachen für die Entstehung des akuten Lungenversagens (ARDS) dar. Nach Erhebungen aus den 90er Jahren ist die Sepsis mit einer Inzidenz von ca. 30-60 % einer der bedeutendsten Risikofaktoren für die Entwicklung eines akuten Lungenversagens (38; 76).

Die zugrundeliegende Pathologie des ARDS ist ein diffuser Entzündungsprozess, wahrscheinlich bedingt durch eine systemische Aktivierung zirkulierender Neutrophiler z.B. im Rahmen der Sepsis (179).

Klinische Zeichen der Initialphase des ARDS sind eine akute Gasaustauschstörung der Lunge, mit Verlängerung der O<sub>2</sub>-Diffusionsstrecke, aufgrund eines interstitiellen und alveolären Ödems bei endo- bzw. epithelialer Permeabilitätserhöhung und Atelektasenbildungen, bedingt durch eine Störung der alveolären Surfactantbildung. Das pathophysiologische Korrelat dieser Veränderungen ist die Bildung von Atelektasen, eine Abnahme der Lungencompliance sowie ein Ventilations/Perfusions-Mißverhältnis, bedingt durch eine Tonusveränderung im Gefäßsystem und Bildung intrapulmonaler Shunts (145). Radiologisches Zeichen des ARDS ist eine streifig-fleckförmige Verschattung, die ungleichmäßig über die Lunge verteilt ist und später in eine schleierartige Trübung der gesamten Lunge ("weiße Lunge") übergehen kann (90).

## 1.2 Physiologische und pathophysiologische Bedeutung des Stickstoffmonoxid

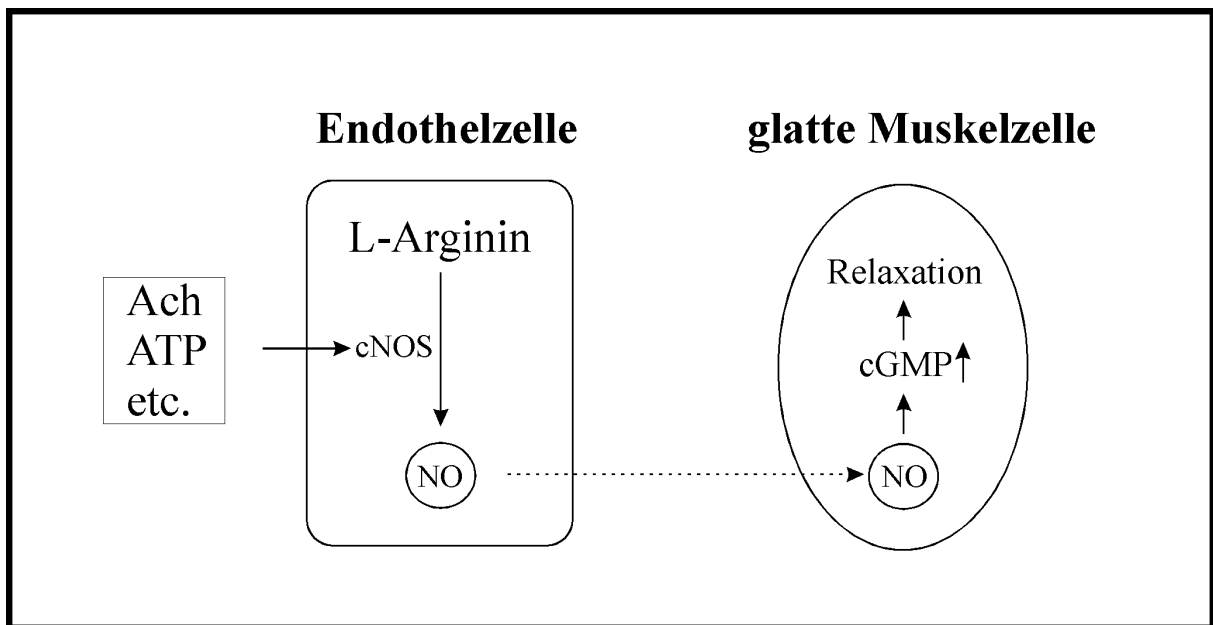
Lange Zeit galt das pluripotente Signalmolekül Stickstoffmonoxid als Umweltgift, zum Beispiel als Abgas von Automobilen, bevor Anfang der achtziger Jahre die Forscher Furchgott und Zawadski zeigten, dass der Neurotransmitter Acetylcholin nur in Gegenwart eines intakten Endothels eine Relaxation glatter Muskulatur in isolierten, vorkontrahierten Aortenringpräparaten auslöst (49). Hieraus entstand die Theorie über die Anwesenheit eines labilen humoralen Faktors, welcher zunächst als “endothelium-derived relaxing factor” (EDRF) bezeichnet wurde. 1987 gelang mehreren Forschergruppen gleichzeitig die Identifizierung des “endothelium-derived relaxing factor” als Stickstoffmonoxid (79; 117).

Anfang dieses Jahrhunderts wurde entdeckt, dass Säugetiere mehr Nitrate mit dem Urin ausscheiden, als sie mit der Nahrung aufnehmen (109). Zirka sechzig Jahre später wurde die überschüssige Nitratausscheidung auf die Produktion der intestinalen Flora zurückgeführt (157). Anfang der achtziger Jahre wurde diese Theorie revidiert und der Säugetierorganismus selbst als Produktionsstätte der Nitrate entdeckt (57). Von Green wurde dies auch für den Menschen nachgewiesen (58). 1985 konnte erstmals die Bildung von Nitrat in vorher stimulierten Makrophagen gezeigt werden. Diese Nitratproduktion konnte in Makrophagen nach Behandlung mit dem bakteriellen Zellwandbestandteil Endotoxin signifikant gesteigert werden (155).

Stickstoffmonoxid entsteht in einer von der NO-Synthase katalysierten, enzymatischen Reaktion durch Abspaltung und Oxidation des Guanidin-Nitrogen-Endes aus der semi-essentiellen Aminosäure L-Arginin unter Bildung von L-Citrullin. Durch die Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase mit nachfolgender Bildung von zyklischem 3', 5'-Guanosin-Monophosphat (cGMP) führt cGMP als “second messenger” über eine Verminderung der zellulären Calciumkonzentration zu einer Relaxation der glatten Muskelzelle (110).

NO wird durch eine Familie von Enzymen gebildet, die kollektiv als NO-Synthetasen (NOS) bezeichnet werden, von denen zur Zeit drei unterschiedlich exprimierte und regulierte Isoformen existieren. Die endotheliale NOS (eNOS, TypIII) und die neuronale NOS (nNOS, TypI) sind Kalzium und Calmodulin abhängig und werden konstitutiv

exprimiert. eNOS und nNOS produzieren eine geringe, aber konstante Menge NO (pikomolare Konzentration). Stickstoffmonoxid besitzt eine Halbwertszeit von etwa 3 bis 5 Sekunden, wird in kürzester Zeit durch Hämoglobin inaktiviert, zu Nitrit und Nitrat oxidiert und über die Niere ausgeschieden. Seine kurze Wirkzeit und seine lipophilen Eigenschaften, die es NO ermöglicht rasch durch Zellmembranen zu diffundieren, prädestiniert NO als idealen Transmitter. Zelluläre Wirkorte von endotheliale NO sind sowohl Thrombozyten und Granulozyten als auch glatte Muskelzellen und Endothelzellen (110). Die Aktivierung von NO (z.B. durch Scherkräfte) in diesen Zellsystemen bewirkt unter anderem eine Vasodilatation, eine Hemmung der Plättchenadhäsion und -aktivierung sowie der Plättchen- und Neutrophilenaggregation. Aufgrund dieser Wirkungen ist NO unter physiologischen Bedingungen eines der wichtigsten protektiven Systeme der Gefäßwand und wirkt somit den vasokonstriktischen Effekten des sympathischen Nervensystems sowie einer Thrombosebildung entgegen (87; 139).

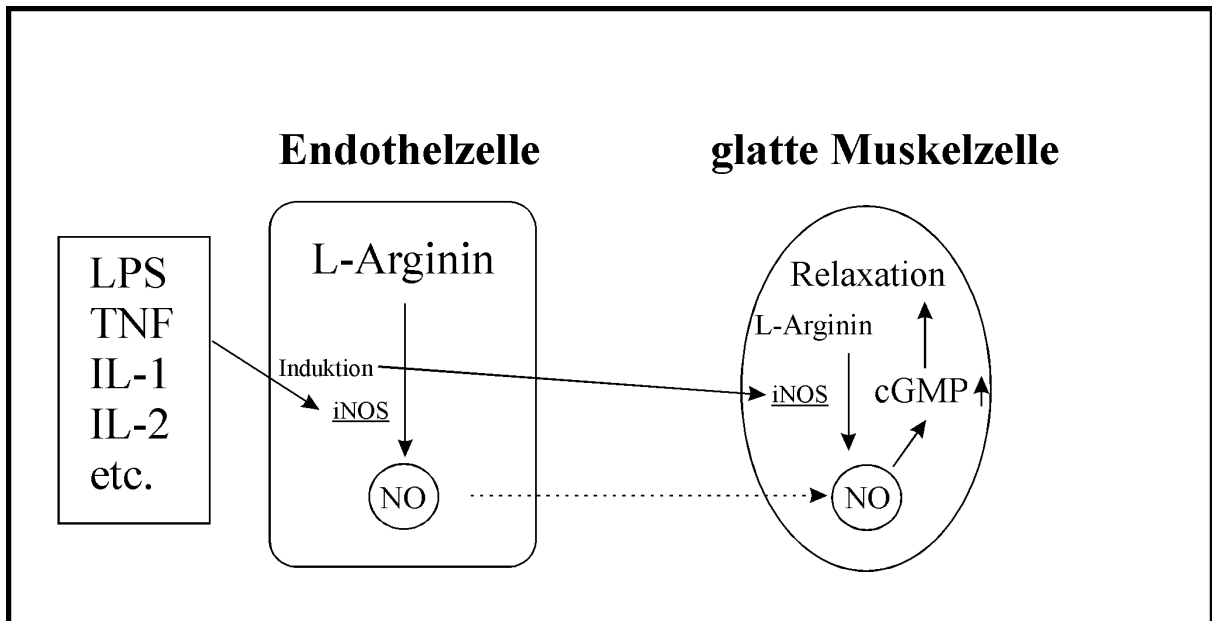


**Abbildung 2:** Konstitutionelle NO- Produktion und Endothel-abhängige Vasodilatation

Im Gegensatz zur konstitutiven NO-Synthase wird die induzierbare NO-Synthase im Rahmen systemischer Entzündungsreaktionen in Makrophagen, Fibroblasten,



neutrophilen Granulozyten und in glatten Gefäßmuskelzellen exprimiert (173). Nach Stimulation durch Endotoxin, Zytokine, Tumor-Nekrosefaktor- $\alpha$  und verschiedene Interleukine wird Stickstoffmonoxid freigesetzt. Nach Induktion dieser NO-Synthase vergehen allerdings einige Stunden (ca. 4-8 Stunden), bevor exzessive Mengen Stickstoffmonoxid (nano- bis mikromolare Konzentrationen) freigesetzt werden (185).



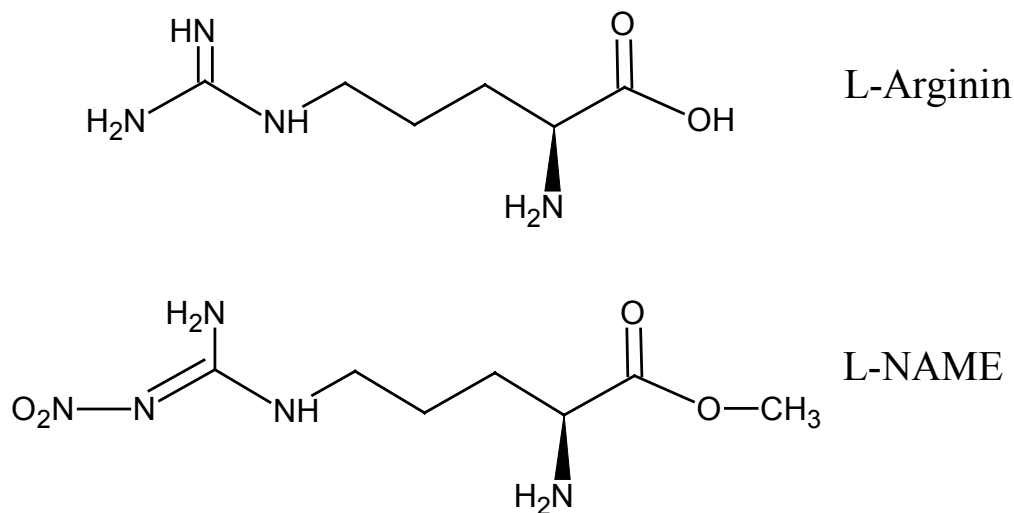
**Abbildung 3:** Induzierte NO-Produktion

Die NO-Ausschüttung im Rahmen inflammatorischer Prozesse kann derart umfangreich sein, dass die konstitutive NO-Synthase praktisch inaktiviert wird (101). Palmer und Kollegen konnten nachweisen, dass die massive Ausschüttung von Stickstoffmonoxid die Endothelzelle derart schädigen kann, dass eine weitere NO-Produktion, vor allem durch die konstitutive NO-Synthase, nicht mehr möglich ist (118).

Zur Induktion der NO-Synthase ist sowohl die Genexpression als auch die Proteinsynthese essentiell, woraus sich die zeitliche Verzögerung von 4-8 Stunden zwischen Kontakt mit dem Immunostimulanz (z.B. TNF- $\alpha$ ) und dem Beginn der NO-Synthese erklären läßt. Die Induktion kann durch Inhibitoren der Proteinsynthese wie Cyclohexamid sowie Kortikosteroide gehemmt werden (107).

Nach Induktion der iNOS kommt es zur generalisierten NO-Produktion mit den typischen Zeichen eines erniedrigten peripheren Widerstands, einer maximalen Vasodilatation mit gesteigerter mikrovaskulärer Permeabilität und einer fehlenden Ansprechbarkeit auf Katecholamine (39). Diese NO-Produktion kann im Gegensatz zur konstitutiven NO-Synthetase Stunden oder Tage andauern. Der Nachweis von erhöhten Nitrit und Nitratspiegeln, den stabilen Endprodukten des Stickstoffmonoxid, sowohl in septischen Patienten (81) als auch in septischen Tieren (155) legt die Vermutung nahe, dass NO im Rahmen des septischen Schockgeschehens eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des hyperdynamen Kreislaufversagens zukommt (110). Daher stellt die Blockade der NO-Synthase-Inhibition möglicherweise eine sinnvolle therapeutische Möglichkeit in der Aufhebung der therapieresistenten Vasodilatation und der damit verbundenen verminderten Ansprechbarkeit von Katecholaminen im Rahmen der Sepsis dar.

Durch eine falsche, dem L-Arginin ähnliche Aminosäure, dem N-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) sowie dem N-Mono-Methyl-L-Arginin (L-NMMA) wird die induzierbare aber auch die konstitutive NO-Synthase kompetitiv und stereospezifisch gehemmt.



**Abbildung 4:** Struktur von L-Arginin und N<sup>G</sup>-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME). Intrazellulär wird der NO-Synthase-Inhibitor L-NAME in seinen aktiven Metaboliten N<sup>G</sup>-Nitro-L-Arginin überführt.

Der Einsatz von NO-Synthase Inhibitoren ergab zunächst widersprüchliche Ergebnisse. So führte die kompetitive Hemmung von Stickstoffmonoxid mit dem NO-Synthase-Inhibitor L-NMMA zu einer Aufhebung der systemischen Vasodilatation und Erhöhung des peripher venösen Widerstands, verstärkte aber gleichzeitig die negativen Auswirkungen auf Leber, Niere und Mucosa des Gastrointestinaltraktes, wahrscheinlich bedingt durch die Aufhebung des protektiven Einflusses von NO auf die Mikrozirkulation durch lokale Vasodilatation und Hemmung der Plättchenaggregation (81; 137).

### **1.3 Systematik der Therapie bei Sepsis**

Trotz umfangreicher Fortschritte der modernen Medizin gehört die Sepsis weiterhin zu den häufigsten Todesursachen von Patienten auf Intensivstationen. Aufgrund der Heterogenität der zugrunde liegenden Erkrankungen und Störungen ist die Bedeutung globaler Therapiestrategien besonders entscheidend. Im Vordergrund der konservativen Sepsistherapie steht die frühzeitige Elimination des septischen Herdes und der zirkulierenden Keime und Toxine durch die frühzeitige chirurgische Sanierung einer Weichteilinfektion oder einer Peritonitis oder die Entfernung infizierten Kathetermaterials. Der Beginn einer resistenzgerechten antimikrobiellen Therapie sowie die Ausschöpfung aller supportiven Maßnahmen (Beatmung, Volumen- und Katecholamintherapie) zur Optimierung der Gewebsoxygenierung und Aufrechterhaltung der Herz-Kreislauffunktionen stellen einen wichtigen Eckpfeiler im Rahmen des therapeutischen Managements des Patienten mit Sepsis dar. Aufgrund der pathophysiologischen Veränderungen bei der Sepsis, die durch eine periphere Vasodilatation zu einem relativen und durch ein „capillary leak“ zu einem absoluten Volumenmangel führen, liegt bei Patienten mit Sepsis in der Regel ein ausgeprägter Volumenbedarf vor. Deshalb sollte an erster Stelle der supportiven Maßnahmen die frühe und konsequente hämodynamische Therapie stehen (104). Um ausreichende kardiale Füllungsdrücke zu erreichen benötigen die meisten Patienten in der Initialphase der Sepsis mindestens 4–6 Liter Kristalloide oder 1,5–3 Liter Kolloide. Titriert werden

sollte die Volumentherapie anhand der Parameter ZVD, PCWP, Blutdruck, Herzfrequenz, Cardiac-Index, linksventrikulärem Schlagarbeits-Index, sowie kapillärer Perfusion und Urinproduktion. Rivers et al. konnten in ihrer 2001 publizierte Arbeit zeigen, dass die frühzeitige Anhebung des ZVD auf Werte zwischen 8-12 mmHg, eines MAP  $\geq 65$  mmHg, eines Urinvolumens  $\geq 0,5$  ml/kg/h und einer zentralvenösen Sauerstoffsättigung  $\geq 70\%$  über mindestens 6 Stunden zu einer signifikanten Senkung der Hospitalsterblichkeit bei schwerer Sepsis und septischem Schock führte (133).

Sollte durch die ausreichende Gabe von Volumen kein adäquater arterieller Mitteldruck erreicht werden, ist der Einsatz von Katecholaminen notwendig. Als Vasopressor der Wahl steht Noradrenalin zur Verfügung. Aufgrund der Stimulation von  $\alpha$ -Adrenorezeptoren bewirkt Noradrenalin bei hyperdynamen septischen Patienten einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes. Hierdurch kommt es zu einem Wiedereinsetzen der Urinproduktion, häufig ohne den zusätzlichen Einsatz von Diuretika.

Bei septischen Patienten wird ein Hb-Wert zwischen 8–10 g/dl empfohlen, wobei der minimale Hämoglobinwert bei septischen Patienten von 7–8 g/dl nicht unterschritten werden sollte (170).

Zur Verminderung der Atemarbeit und des O<sub>2</sub>-Verbrauches sollte die Entscheidung zur Intubation beim septischen Patienten großzügig gestellt werden. Durch die Intubation und Beatmung kann eine Reduzierung des O<sub>2</sub>-Verbrauches von bis zu 25% erreicht werden (104).

Im Rahmen der adjuvanten Therapiemodelle konnte in der PROWESS-Studie gezeigt werden, dass durch die Gabe von aktiviertem Protein C (drotrecogin alpha) eine deutliche Reduktion der Letalität erreicht werden konnte. Wesentliches Risiko der Therapie mit drotrecogin alpha war allerdings eine erhöhte Inzidenz von Blutungen, vor allem bei prädisponierten Patienten (14). Sämtliche anderen Ansätze, in das inflammatorische Geschehen durch immunmodulierende Strategien einzugreifen sind bisher nicht gesichert.

In einer prospektiv-randomisierten und kontrollierten Studie an Intensivpatienten mit Beatmung konnte gezeigt werden, dass durch eine intensivierete Blutglucose Einstellung

mit Insulin auf Werte zwischen 80 und 110 mg/dl eine Sterblichkeitsreduktion erzielt werden konnte (12).

Eine weitere Therapieoption stellt die Gabe von Hydrocortisonstressdosen beim katecholaminpflichtigen septischen Schock dar. Empfohlen wird die niedrig dosierte Gabe von 50 mg Hydrokortison täglich oder die kontinuierliche Gabe von 300 mg Hydrocortison über 5 Tage oder länger (2; 75).

## 2. Fragestellung und Zielsetzung

Der septische Schock, gekennzeichnet durch eine ausgeprägte systemische Vasodilatation und der daraus resultierenden Hypotension, ist eine Form des distributiven Schocks. Trotz erhöhtem HZV kommt es durch Umverteilungsphänomene zur Minderperfusion lebenswichtiger Organe (34). Folglich stellt die Wiederherstellung eines ausreichenden Perfusionsdruckes ein wichtiges therapeutisches Ziel dar. Als etabliertes Therapieregime gilt nach wie vor eine ausreichende Volumentherapie in Kombination mit einem  $\alpha$ -mimetischen Katecholamin. Bei schwerer Hypotension steht Noradrenalin, ein  $\alpha$ -agonistisches Katecholamin, als Mittel der ersten Wahl zur Verfügung. Im Rahmen der Sepsistherapie zeigt sich jedoch häufig, dass die vasokonstriktorische Effektivität der eingesetzten Substanzen bei septischen Patienten im Vergleich zum nicht septischen Patienten stark vermindert ist (123). Dies kann eine adäquate Steigerung des Blutdrucks unmöglich machen und stellt deshalb einen entscheidenden Faktor für die hohe Letalität dieses foudroyanten Krankheitsbildes dar. Zur Stabilisierung des deletären Kreislaufzustandes werden in der Sepsis erheblich höhere Konzentrationen von  $\alpha$ -adrenergen Katecholaminen benötigt, als dies ohne Sepsis der Fall wäre. Es gibt viele Hinweise darauf, dass die exzessive Freisetzung von Stickstoffmonoxid während der Sepsis eine Schlüsselposition bei der Entstehung der therapierefraktären systemischen Vasodilatation einnimmt (86; 97; 124). In vitro Studien zeigten, dass durch die Gabe von NO-Synthase-Inhibitoren, aber auch durch Hemmung der Guanylatzyklase mittels Methylenblau, die Endotoxin vermittelte Vasodilatation aufgehoben werden konnte (42; 48; 114). Ebenfalls konnte in vitro die verminderte vaskuläre Reaktivität auf Katecholamine normalisiert werden. In Tierexperimenten und auch bei einer geringen Anzahl von Patienten konnte das Endotoxin vermittelte Herz-Kreislaufversagen durch Gabe von NO-Synthase-Inhibitoren normalisiert werden (4; 20; 81; 85).

Die Wirkung von NO-Synthase-Inhibitoren bei gleichzeitiger Katecholamintherapie während einer hyperdynamen Kreislaufsituation ist in vivo bislang noch nicht kontrolliert prospektiv untersucht worden.

Auf dem Boden dieser Befunde stellt die kompetitive Hemmung der NO-Synthase bei gleichzeitiger Katecholamintherapie hinsichtlich der Stabilisierung der deletären hämodynamischen Situation ein wichtiges therapeutisches Ziel dar.

In der vorliegenden Arbeit sollten die hämodynamischen Auswirkungen der NO-Synthase-Inhibition bei experimenteller Sepsis untersucht werden. Insbesondere sollte folgende Frage geklärt werden:

Kann durch die Gabe von N-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) die hämodynamische Effektivität von exogen zugeführtem Noradrenalin beim gesunden Schaf sowie bei der hyperdynamen Endotoxinämie des Schafs verbessert werden?

Als Modell der experimentellen hyperdynamen Sepsis wurde die Endotoxinämie beim wachen, chronisch instrumentierten Schaf gewählt. In dem vorliegenden Experiment wurde durch die kontinuierliche Gabe von Endotoxin bei Schafen eine hyperdynamische Kreislaufsituation mit erhöhtem HZV und vermindertem peripher venösem Widerstand induziert. Im Rahmen dieser Arbeit sollten die hämodynamischen Veränderungen, die auch beim septischen Patienten beobachtet werden, nachgeahmt werden.

Zunächst wurden die hämodynamischen Effekte von Noradrenalin und L-NAME in gesunden, nicht endotoxinämischen Schafen untersucht. Nach einer Ruhephase von drei Tagen wurde durch die kontinuierliche Gabe von Endotoxin eine Sepsis induziert. 24 Stunden nach Applizierung von Endotoxin war die hyperdynamische Sepsis voll ausgeprägt, so dass die hämodynamischen Effekte von Noradrenalin und L-NAME im endotoxinämischen Schaf untersucht werden konnten.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Allgemeine Methodik

Nach Genehmigung durch die Bezirksregierung Münster wurden alle Versuche in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster durchgeführt. Es wurden Tiere aus einem landwirtschaftlichen Zuchtbetrieb verwendet. Während der gesamten Versuchsreihe wurden die Schafe in Spezialkäfigen untergebracht. Die Tiere hatten jederzeit freien Zugang zu Wasser und Futter. Die Versuche wurden an acht chronisch instrumentierten, weiblichen Schafen durchgeführt, die ein Körpergewicht von  $43.7 \pm 0.9$  Kilogramm aufwiesen.

#### 3.2 Instrumentierung

Zur Einleitung der Narkose wurde Ketanest (Ketanest; Parke-Davis GmbH, Berlin, FRG) in einer Dosierung von 15-20 mg/kg intramuskulär injiziert. Die Anästhesie konnte nach anfänglicher Beatmung mit einer Spezialmaske und anschließender endotrachealer Intubation mit einem 8.5 Tubus, (Willy Rüscher AG, Kernen, FRG) mit 2.0-3.5 Vol.% Halothan in Sauerstoff (Halothan; Hoechst, Frankfurt, FRG) weitergeführt werden. Nach der Intubation wurden die Schafe für die Instrumentierung auf den Rücken gedreht. Nach Rasur und Hautdesinfektion der rechten Halsseite wurde unter manueller Stauung die Vena jugularis interna punktiert und nach Seldinger-Technik eine Schleuse (Introducer) eingeführt. Über diese Schleuse wurde ein Swan-Ganz-Thermodilutionskatheter (8.5 F Catheter Introducer Set; pvb Medizintechnik GmbH, Kirchseeon, FRG, model 93A-831-7.5F G, Baxter, Unterschleißheim, FRG) bis in die Arteria pulmonalis vorgeschoben.

Die korrekte Lage des pulmonalarteriellen Katheters wurde anhand der für die verschiedenen Gefäße und Herzkammern charakteristischen Druckkurven überprüft.



Der Introducer wurde mit einem nicht resorbierbarem Faden (Ethicon, Norderstedt, FRG) an der Haut des Tieres fixiert. Der Swan-Ganz-Thermodilutionskatheter hingegen wurde mit Bändern im Fell des Schafes befestigt, um ein Herausrutschen des Katheters bei Bewegungen des Tieres zu verhindern.

Danach wurde die Haut in der rechten Leiste gesäubert und desinfiziert. Die Arteria femoralis wurde punktiert und nach Seldinger-Technik ein Katheter (18 G Leader Cath; Vygon GmbH, Aachen FRG) eingeführt, welcher ebenfalls mit einen Faden an der Haut des Tieres befestigt wurde. Anschließend wurden die Katheter täglich mit 500 IE. Heparin Natrium, verdünnt auf 10 Milliliter NaCl 0.9%, durchgespült. Nach der Instrumentierung und dem Ausleiten der Narkose, konnten die Tiere nach Rückkehr der Schutzreflexe problemlos extubiert werden.

### 3.3 Monitoring

Alle Untersuchungen wurden an wachen Schafen durchgeführt, um eine mögliche Beeinflussung der kardiovaskulären und pulmonalen Funktion durch Anästhetika auszuschalten. Sämtliche Daten wurden am stehenden Versuchstier erhoben. Vor Beginn der Messungen wurden die Druckaufnehmer (zur Erhebung des kardiopulmonalen Status) mit dem Swan-Ganz-Thermodilutionskatheter verbunden.

Mit Hilfe des Swan-Ganz-Thermodilutionskatheters besteht die Möglichkeit, die Pulmonalarteriendrucke und indirekt die Füllungsdrücke des linken Herzens zu erfassen, ebenso läßt sich nach der Thermodilutionsmethode das HZV bestimmen und der zentrale Venendruck messen.

Der Pulmonalkatheter ist ein mehrlumiger Katheter. Das distale Lumen verbindet den Druckaufnehmer mit der Öffnung an der Katheterspitze. Hierüber werden die Pulmonalarteriendrucke gemessen. Das proximale Lumen verbindet einen zweiten Druckaufnehmer mit der Öffnung für den rechten Vorhof. Es dient zur Erfassung des zentralen Venendrucks und Messung des HZV. Über die Gaszuleitung wird Luft (ca. 0.5-1.5ml) in den Ballon an der Katheterspitze injiziert (zur Okklusion der Arteria pulmonalis), um bei geblocktem Ballon und korrekter Lage den pulmonalkapillären

Verschlussdruck zu messen. Die Thermistorverbindung wird mit dem HZV-Computer verbunden, über ihn werden das HZV und die Körperkerntemperatur ermittelt. Der Infusionsschenkel dient der Applikation von Infusionslösungen.

Der Nullreferenzpunkt des Druckwandlers wurde etwa 10 cm oberhalb des Sternums ermittelt (wobei der Nullpunkt dem atmosphärischen Druck entspricht). Pulmonalarterieller Druck (PAP), zentralvenöser Druck (ZVD), pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP) sowie der mittlere arterielle Druck (MAP) [alle Drücke wurden in mmHg gemessen] wurden über Druckwandler aufgenommen und auf einem Monitor angezeigt. Das Herzzeitvolumen wurde anhand der Thermodilutionsmethode bestimmt. Hierzu wurde eine definierte kalte Indikatormenge (10 Milliliter NaCl 0.9%, 0-2 Grad Celsius) in den proximalen Schenkel des Swan-Ganz-Thermodilutionskatheter injiziert, dessen Thermistor an einen HZV-Computer (model 9520 Cardiac Output Computer; Edwards Laboratories, USA) angeschlossen war. Das HZV wurde als Mittelwert aus drei Bestimmungen ermittelt. Zur Analyse der arteriellen und gemischtvenösen Blutgase wurde ein Oximeter verwendet (ABL520, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Cardiac-Index ( $l \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ), systemvaskulärer und pulmonalvaskulärer Widerstandsindex ( $\text{dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^2$ ) sowie Sauerstoffangebot ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ) und Sauerstoffverbrauch ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ) wurden mit Standardformeln berechnet (152).

<b>CI</b>	: HZV dividiert durch die Körperoberfläche
<b>SVI</b>	: CI dividiert durch die Herzfrequenz
<b>SVRI</b>	: $(\text{MAP} - \text{ZVD}) / \text{CI}$
<b>PVRI</b>	: $(\text{MPAP} - \text{LAP}) / \text{CI}$
<b>RVSWI</b>	: $(\text{MPAP} - \text{ZVD}) \text{ SVI}$
<b>LVSWI</b>	: $(\text{MAP} - \text{LAP}) \text{ SVI}$
<b>DO<sub>2</sub></b>	: arterieller O <sub>2</sub> -Gehalt pro Liter multipliziert mit CI
<b>VO<sub>2</sub></b>	: arteriell-gemischtvenöse O <sub>2</sub> -Gehaltsdifferenz pro Liter multipliziert mit CI
<b>OE</b>	: $\text{VO}_2 / \text{DO}_2$

Die oben genannten Werte, wurden auf die Körperoberfläche bezogen, um eine bessere Vergleichbarkeit unterschiedlicher Gewichte und Größen zu gewährleisten. Anhand eines Größe/Gewicht Nomogramms wurde die Körperoberfläche berechnet.

### **3.4 Versuchsprotokoll**

Alle Experimente wurden nach Erhebung der Ausgangsdaten an spontan atmenden Schafen durchgeführt. Die Tiere wurden im gesunden und endotoxinämischen Zustand untersucht.

Nach der Instrumentierung und einer mindestens dreitägigen Erholungsphase wurde bei den Tieren initial die Körperkerntemperatur über den Thermistor des Swan-Ganz-Katheters ermittelt. Die erste Versuchsreihe am gesunden Tier wurde begonnen, wenn sie keine klinischen Zeichen einer Infektion zeigten (Fieber, Tachykardie, Tachypnoe). Zunächst wurden sämtliche Schenkel des Swan-Ganz-Thermodilutionskatheters mit 500 IE Heparin Natrium, verdünnt auf 10 Milliliter NaCl 0.9%, durchgespült. Anschließend wurden der proximale und der distale Schenkel des Swan-Ganz-Katheters an ein kontinuierliches Spülsystem (1000 ml NaCl 0.9% +10.000 IE Heparin Natrium) sowie an einen Druckwandler (DTX-TM Druckwandler Kit; Ohmeda GmbH, Erlangen, FRG) und einen Monitor (Hellige Servomed; Hellige GmbH, Freiburg, FRG) angeschlossen. Danach wurde über den Infusionsschenkel des Swan-Ganz-Katheters via eines Infusomaten (Braun, Melsungen, FRG) eine Ringer-Lactat Infusion in einer Geschwindigkeit von  $2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , verabreicht.

#### **3.4.1 Nicht endotoxinämischer Teil**

Zunächst wurde der Effekt von N-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME, Sigma, Deisenhofen, FRG) auf die vasokonstriktorische Wirkung von Noradrenalin (Arterenol, Hoechst, Frankfurt, FRG) in gesunden Schafen untersucht.

Sämtliche Medikamente wurden über Perfusoren (Perfusor, Braun, Melsungen, FRG) verabreicht, um eine genau definierte Infusionsmenge applizieren zu können. Es wurde

eine Infusion mit Ringer-Lactat in einer Geschwindigkeit von  $2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  gestartet. Nach Erhebung der Ausgangsdaten wurde über einen Zeitraum von 30 Minuten mittels eines Perfusors eine exakte Menge Noradrenalin titriert, um einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes (MAP) von 15 mmHg zu erzielen. Im weiteren wird die Menge Noradrenalin, die nach dieser Methode ermittelt wurde, als "Dosis NAns" bezeichnet. Nach Ermittlung der "Dosis NAns" wurde die Noradrenalin Zufuhr gestoppt. Aufgrund der kurzen Wirkdauer von Noradrenalin (ca. 1-2 Minuten) kam es nach kurzer Zeit zum Abfall des mittleren arteriellen Druckes auf das Ausgangsniveau. Dreißig Minuten nach Wiedererreichen der Ausgangslage wurde ein Bolus von  $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  L-NAME injiziert und anschließend eine kontinuierliche Infusion in einer Dosis von  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  fortgeführt. Dreißig Minuten nach Bolusgabe von L-NAME und kontinuierlicher Applikation wurden die Effekte von L-NAME anhand eines kardio-pulmonalen Status kontrolliert. Anschließend wurde erneut die Noradrenalin Zufuhr in der vorher ermittelten "Dosis NAns" verabreicht. Nach weiteren 30 Minuten wurde erneut ein kardio-pulmonaler Status erhoben, um die Effekte von Noradrenalin im gesunden Schaf bei gleichzeitiger Gabe von L-NAME zu dokumentieren. Nach Erhebung der Daten wurde die Zufuhr von Noradrenalin und L-NAME gestoppt. Sämtliche Infusionsleitungen sowie die Druckaufnehmer wurden von den Kathetern diskonnektiert. Anschließend wurden sie erneut mit 500 I.E. Heparin Natrium, verdünnt auf 10 ml NaCl 0,9%, durchgespült. Mit einer Halskrawatte wurden die Katheter noch zusätzlich schutzfixiert. Die Tiere hatten nun die Möglichkeit, sich drei Tage zu erholen, bevor die Endotoxinämie eingeleitet wurde.

#### **3.4.2 Experimentelle Endotoxinämie**

Nach einer dreitägigen Ruhephase wurde bei den Tieren erneut ein kardiopulmonaler Status erhoben. Nach Ermittlung der Ausgangsdaten im nicht endotoxinämischen Zustand wurde bis zum Ende der Versuchsreihe die kontinuierliche Gabe von Endotoxin (Endotoxin von *Salmonella typhosa*, Sigma, Deisenhofen, FRG) in einer Dosierung von  $10 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  gestartet. Da während der hyperdynamen Endotoxinämie ein höherer

Volumenbedarf besteht, wurde die kontinuierliche Ringerlactat Zufuhr auf  $7 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  erhöht. 24 Stunden nach Verabreichung von Endotoxin war die hyperdynamische Endotoxinämie stabil ausgeprägt, so dass die Ausgangsdaten im endotoxinämischen Zustand ermittelt werden konnten.

### 3.4.3 Endotoxinämischer Teil

Nach Erhebung der Ausgangsdaten im endotoxinämischen Zustand wurden die Effekte von L-NAME auf die vasokonstriktorische Wirkung von Noradrenalin in endotoxinämischen Schafen untersucht. Erneut wurde die Noradrenalin Zufuhr in der sogenannten "Dosis NAns" gestartet. War dreißig Minuten nach Beginn der Noradrenalin-Infusion der mittlere arterielle Druck weiterhin unter 15 mmHg, so wurde nach dem gleichen Verfahren, wie oben beschrieben, Noradrenalin titriert, um einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15 mmHg zu erzielen. Diese so ermittelte Menge Noradrenalin wird im weiteren als "Dosis NAs" bezeichnet. Eine halbe Stunde nach Beendigung der Noradrenalin-Zufuhr wurde, wie schon oben beschrieben, ein Bolus von  $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  L-NAME injiziert und anschließend eine kontinuierliche Infusion in einer Dosis von  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  gestartet. Wiederum wurde ein Zeitraum von einer halben Stunde abgewartet, bevor ein kardiopulmonaler Status erhoben wurde. Anschließend wurde Noradrenalin in der oben beschriebenen "Dosis NAns" gestartet. Nach weiteren 30 Minuten wurde die höhere Dosis Noradrenalin (NAs) verabreicht. Beide Dosen Noradrenalin wurden anschließend zusammen mit L-NAME über einen Zeitraum von 30 Minuten verabreicht.

Nach Beendigung sämtlicher Versuchsreihen wurden die Schafe mit Propofol (Disoprivan 1%; Zeneca GmbH, Plankstadt, FRG) in einer Dosierung von 10-20 mg/kg narkotisiert. Anschließend wurden die Tiere mit einer intravenös verabreichten gesättigten Kaliumchloridlösung getötet.

### 3.5 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte auf einem Apple Macintosh Computer mit der Software StatviewII (Version 1.04, Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA). Die Daten wurden als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (S.E.M) angegeben. In den Fällen, in denen die Fehlerbalken in den Abbildungen nicht sichtbar sind, liegen sie innerhalb der Symbole. Das Signifikanzniveau ist a priori auf  $p < 0.05$  festgesetzt worden. Differenzen innerhalb einer Gruppe wurden analysiert mit univarianter Varianzanalyse für wiederholte Messungen und mit nachfolgendem Dunnett's-Test auf statistische Signifikanz geprüft (40). Vergleiche zwischen Gruppen wurden mit einer 2-Wege-Varianzanalyse für wiederholte Messungen mit nachfolgendem t-Test für unverbundene Stichproben (korrigiert nach Bonferroni) auf Signifikanz überprüft. Für jeden einzelnen t-Test ergab sich ein Signifikanzniveau von  $p < 0.05$ .

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Hämodynamische Effekte von Noradrenalin und L-NAME in gesunden, nicht endotoxinämischen Schafen

Im nicht endotoxinämischen Zustand wurde Noradrenalin in einer Dosis von  $0.18 \pm 0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  appliziert, um einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15 mmHg zu erreichen (Dosis NAns). Systemvaskulärer und pulmonalvaskulärer Widerstand sowie alle weiteren gemessenen Parameter zeigten nach Gabe von Noradrenalin keinen signifikanten Anstieg.

Unter Noradrenalintherapie kam es zu keiner signifikanten Veränderung des arteriellen pH-Wertes und des arteriellen Kohlendioxidpartialdruckes sowie der arteriellen Sauerstoffspannung (Tabelle 1). Ebenso wenig kam es zu einer signifikanten Veränderung des Sauerstoffangebotes und des Sauerstoffverbrauches (Abbildung 8 und 9). Die gesunden nicht endotoxinämischen Schafe erhielten die gleiche Dosis L-NAME ( $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) wie die endotoxinämischen Schafe, um einen Vergleich der Effekte von L-NAME in beiden Gruppen zu ermöglichen.

Die Zufuhr von L-NAME bewirkte in den gesunden Schafen einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes (Abbildung 1) sowie des systemvaskulären Widerstandsindex (Abbildung 4). Parallel dazu kam es zu einer Reduktion des Cardiac-Index (Abbildung 2), der sowohl auf eine Erniedrigung der Herzfrequenz (Abbildung 3) als auch auf eine Reduktion des Schlagvolumen-Index (Abbildung 7) zurückzuführen war. Ebenfalls kam es unmittelbar nach Gabe von L-NAME zu einem signifikanten Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes (Abbildung 6), der über den gesamten Zeitraum der Untersuchung erhöht war. Rechts- und linksventrikuläre Füllungsdrücke sowie der zentralvenöse Druck (Tabelle 2) wiesen keine signifikanten Veränderungen auf.

Unter Gabe von L-NAME kam es ebenfalls zu keiner signifikanten Veränderung des arteriellen pH-Wertes und des arteriellen Kohlendioxidpartialdruckes (Tabelle 1). Nach L-NAME Gabe kam es jedoch zu einer Verringerung der gemischtvenösen  $\text{O}_2$ -Sättigung

(Tabelle 1). L-NAME führte ebenfalls zu einer signifikanten Verringerung des Sauerstoffangebotes (Abbildung 8).

Bei gleichzeitiger Gabe von L-NAME und Noradrenalin in "Dosis NAns" veränderte sich der Anstieg des mittleren arteriellen Druckes (Abbildung 1) von  $15 \pm \text{mmHg}$  auf  $32 \pm 8 \text{ mm Hg}$ . Ebenso kam es zu einem weiteren Anstieg des systemvaskulären Widerstandsindex (Abbildung 4), der Cardiac-Index (Abbildung 2) veränderte sich nur gering.

Arterieller pH-Wert und arterieller Kohlendioxidpartialdruck zeigten ebensowenig wie die arterielle Sauerstoffspannung Veränderungen, die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung war nach Gabe von Noradrenalin und L-NAME unverändert (Tabelle 1).

## 4.2 Endotoxinämie

Innerhalb der ersten 24 Stunden nach Verabreichung des Endotoxins verstarben drei Tiere wahrscheinlich im Rahmen der hypodynamen Phase der Sepsis oder aufgrund einer schweren respiratorischen Störung. Die Daten dieser Tiere wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

Die kontinuierliche Verabreichung von Endotoxin führte bei den übrigen Tieren zu einer febrilen Reaktion (Tabelle 3) mit ausgeprägter Vasodilatation und hyperdynamer Kreislauftsituation, die 24 Stunden nach Applikation von Endotoxin voll ausgeprägt war. Die Endotoxin-Infusion bewirkte einen deutlichen Abfall des mittleren arteriellen Druckes (Abbildung 7), trotz Anstieg des Cardiac-Index (Abbildung 2) und führte zu einer signifikanten Reduktion des systemvaskulären Widerstandsindex (Abbildung 4). Der Anstieg der Herz-Zeit-Volumina ist nahezu ausschließlich auf den Anstieg der Herzfrequenz (Abbildung 3) zurückzuführen, da sich der Schlagvolumen-Index (Abbildung 7) nur geringfügig veränderte. In Anbetracht der adaptierten Flüssigkeitssubstitution im Rahmen der hyperdynamen Endotoxinämie blieb der zentralvenöse Druck auf Ausgangsniveau (Tabelle 3). Rechts- und linksventrikuläre Schlagarbeitsindices (Tabelle 3) zeigten ebenfalls keine signifikanten Veränderungen.

Im Gegensatz zur systemischen Zirkulation zeigte der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex (Abbildung 5) keine signifikante Veränderung durch die



Endotoxininfusion, wobei der Anstieg des pulmonalarteriellen Mitteldruckes (Abbildung 6) aufgrund des erhöhten Cardiac-Index (Abbildung 2) deutlich war. Der erhöhte Cardiac-Index (Abbildung 2) war mit einem gesteigerten Sauerstoffangebot (Abbildung 8) verbunden. Der Sauerstoffverbrauch (Abbildung 9) blieb dagegen bei gleichzeitig erniedrigter Sauerstoffextraktionsrate (Abbildung 10) unverändert.

Die arterielle Oxygenierung war 24 Stunden nach Endotoxingabe kaum beeinträchtigt, so dass der arterielle Sauerstoffpartialdruck auf Ausgangsniveau blieb (Tabelle 4).

### **4.3 Hämodynamische Effekte von Noradrenalin und L-NAME in endotoxinämischen Schafen**

Während der Endotoxinämie war die vasopressorische Wirkung von Noradrenalin in einer Dosierung von  $0.18 \pm 0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  (Dosis NAns) deutlich erniedrigt. Die Infusionsrate des Noradrenalins musste auf eine Dosierung von  $0.34 \pm 0.06 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  (Dosis NAs) gesteigert werden, um einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15 mmHg zu erzielen.

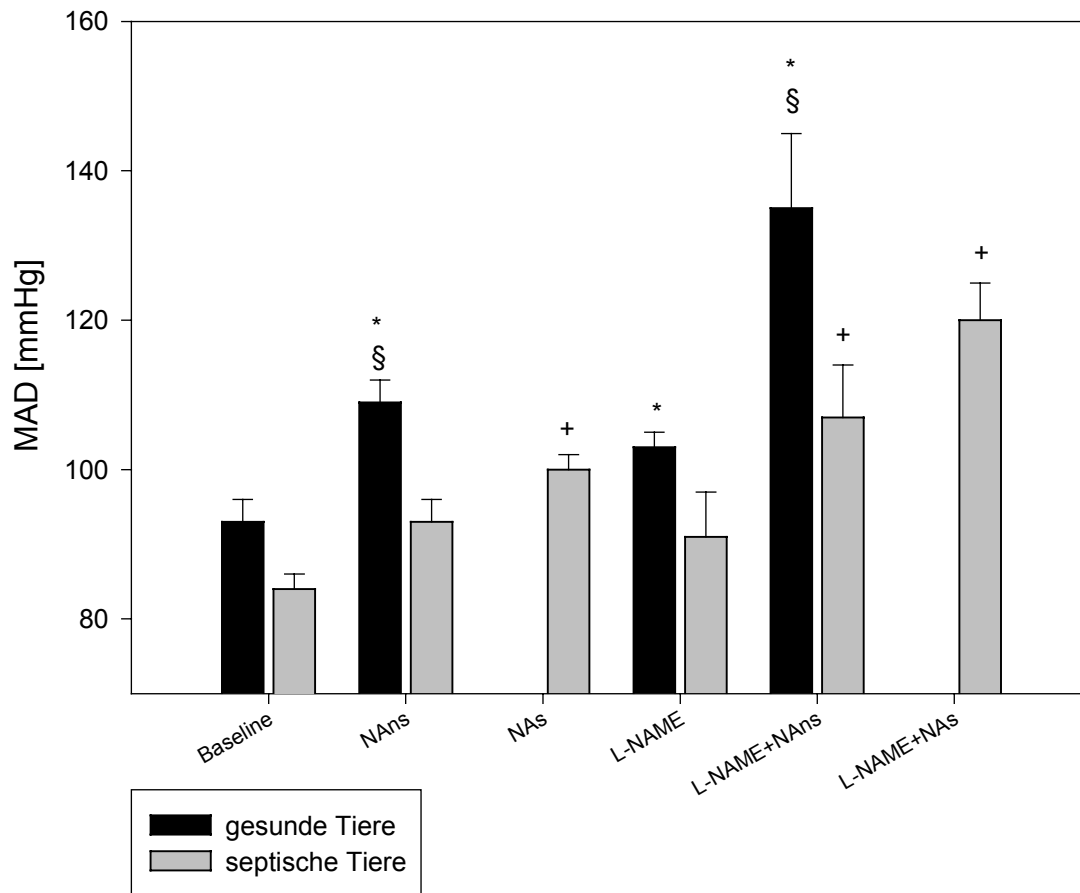
Der Anstieg des systemvaskulären Widerstandsindex war unter Monotherapie mit Noradrenalin nicht so stark ausgeprägt wie unter der Gabe von L-NAME (Abbildung 4). Die Erhöhung des Cardiac-Index (Abbildung 2) ging bei den mit Noradrenalin behandelten Tieren mit einer gleichzeitigen Erhöhung des Sauerstoffangebotes (Abbildung 8) einher, bei unverändertem Sauerstoffverbrauch (Abbildung 9). Der zentrale Venendruck und die Körperkerntemperatur (Tabelle 4) zeigten weder unter Monotherapie mit Noradrenalin oder L-NAME, noch unter simultaner Gabe von Noradrenalin und L-NAME signifikante Veränderungen.

Die Inhibition der Stickstoffmonoxid-Synthase mit L-NAME bewirkte eine sofortige Normalisierung der hyperdynamen Kreislauftsituation. Cardiac-Index (Abbildung 2), mittlerer arterieller Druck (Abbildung 1) sowie der systemvaskuläre Widerstand (Abbildung 4) stellten sich auf Ausgangsniveau ein. Die Reduktion des HZV auf Baseline-Niveau beruhte sowohl auf einer Reduktion der Herzfrequenz (Abbildung 3) als auch auf einer Abnahme des Schlagvolumen-Index (Abbildung 7). Unter simultaner

Therapie mit Noradrenalin und L-NAME war bei signifikant erhöhter Nachlast (Abbildung 4) der links- und rechtsventrikuläre Schlagarbeitsindex deutlich erhöht (Tabelle 4). Dies war weder bei den Tieren, die mit Noradrenalin, noch bei den Tieren, die mit L-NAME behandelt wurden, nachweisbar.

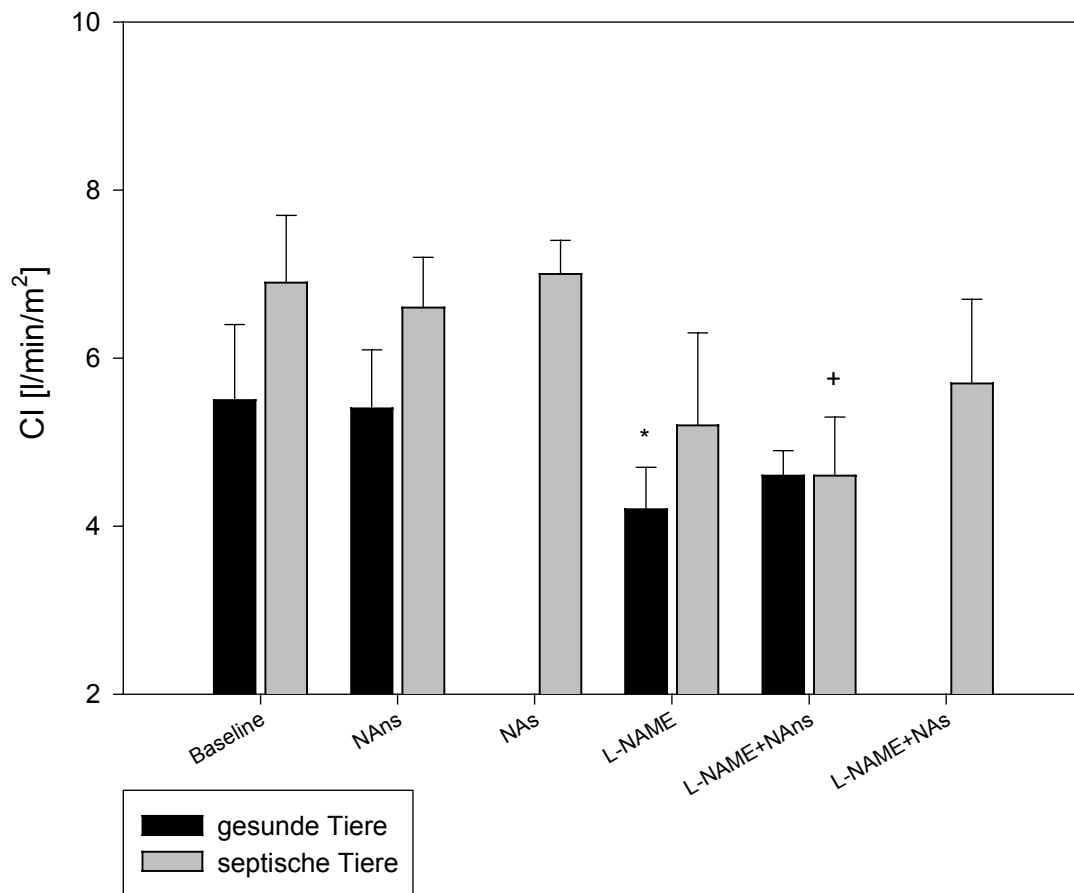
Mit Reduktion des Cardiac-Index (Abbildung 2) kam es zu einer signifikanten Reduktion des Sauerstoffangebotes (Abbildung 8). Diese war verknüpft mit einer geringfügigen Reduktion des Sauerstoffverbrauchs (Abbildung 9), die Sauerstoffextraktionsrate war deutlich erhöht (Abbildung 10). Im pulmonalen Kreislauf kam es zu einem signifikanten Anstieg des pulmonalarteriellen Mitteldruckes (Abbildung 6), bedingt durch einen ausgeprägten Anstieg des pulmonalvaskulären Widerstandsindex (Abbildung 5).

Ebenso kam es nach Gabe von L-NAME zu einer Wiederherstellung der vasokonstriktorischen Wirkung von Noradrenalin in niedriger sowie in hoher Dosierung. In niedriger Dosierung stieg der mittlere arterielle Druck von  $9 \pm 2$  auf  $16 \pm 2$  mmHg an, in hoher Dosierung von  $16 \pm 0$  mmHg auf  $28 \pm 4$  mmHg. Die Effekte von L-NAME zeigten bei einer Dosierung von  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  in gesunden sowie in endotoxinämischen Schafen eine identische Wirkung.



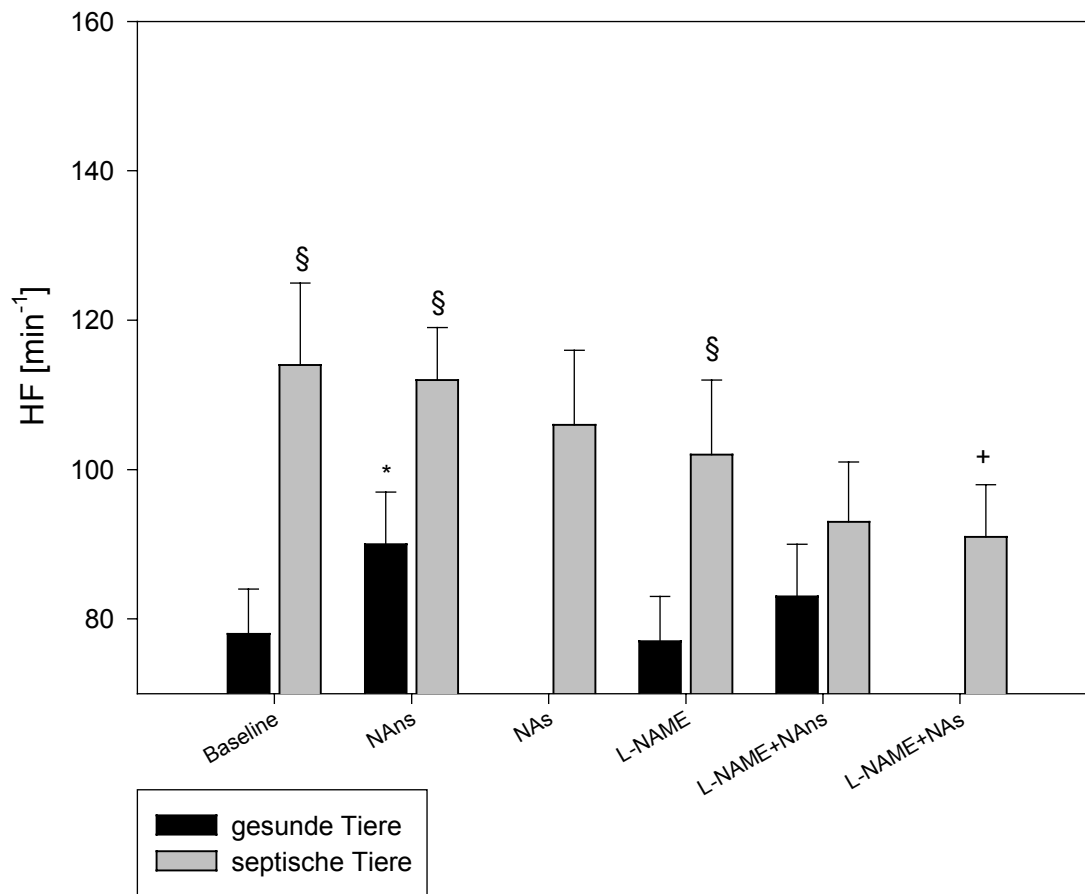
**Abbildung 1:** Mittlerer arterieller Druck (MAD) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch, § =  $p < 0,05$  gesund versus septisch



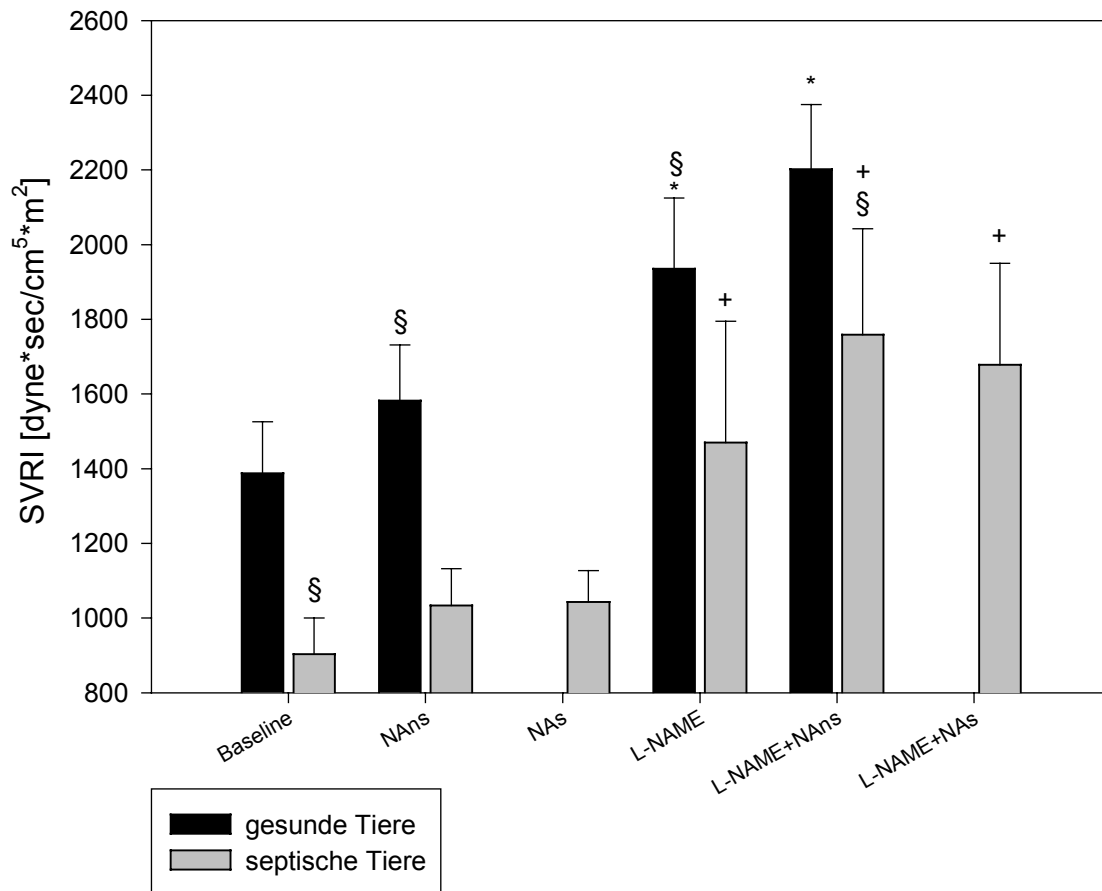
**Abbildung 2:** Cardiac-Index (CI) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch



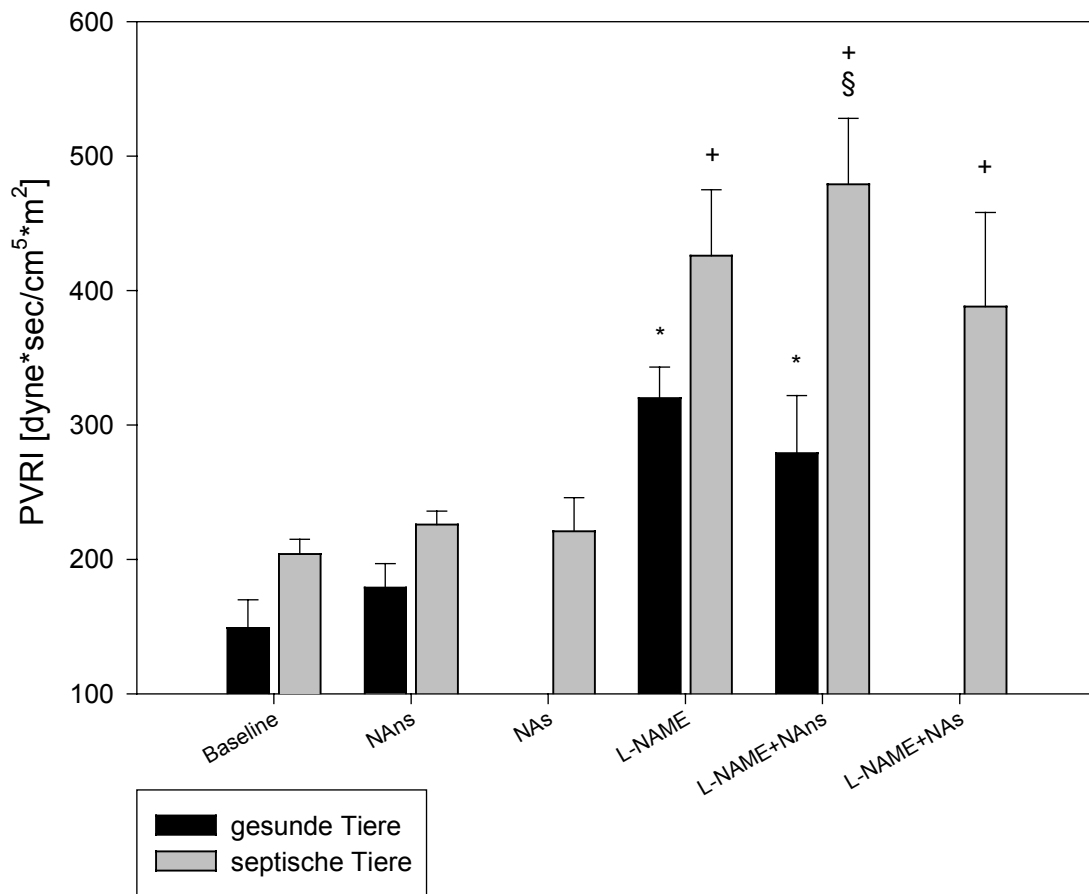
**Abbildung 3:** Herzfrequenz (HF) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch, § =  $p < 0,05$  gesund versus septisch



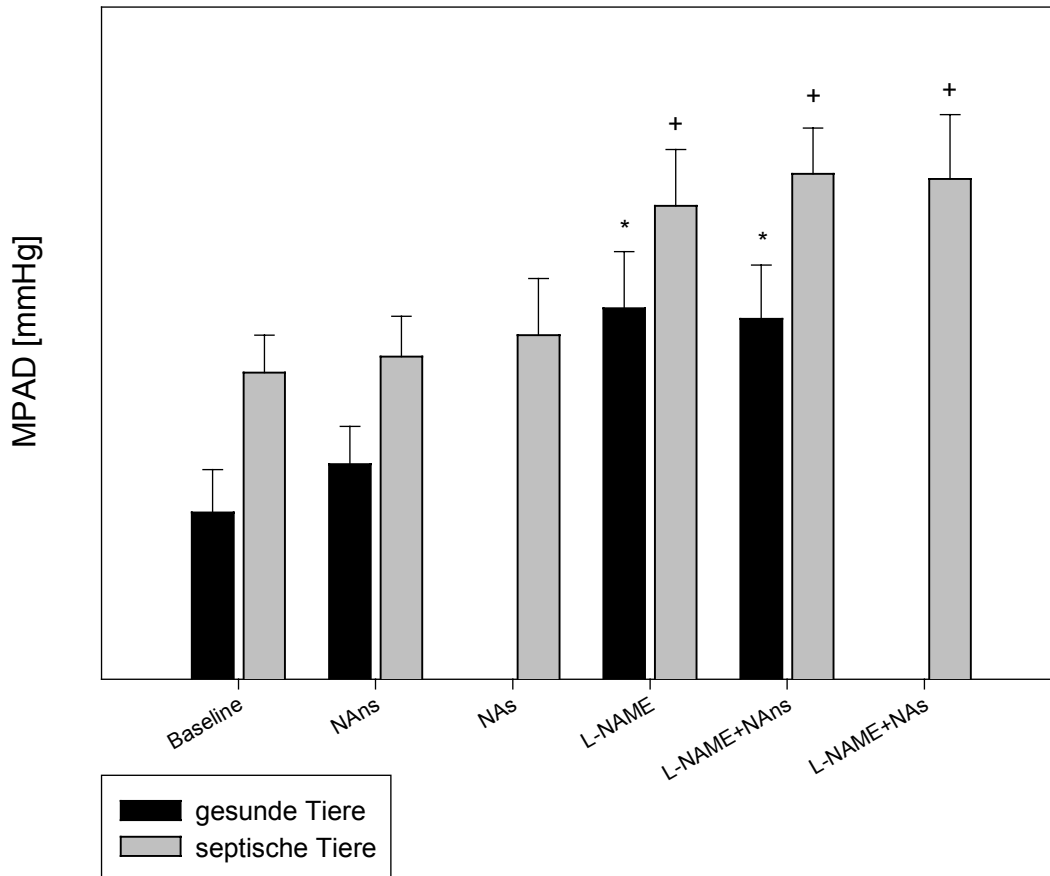
**Abbildung 4:** System vaskulärer Widerstandsindex (SVRI) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\*=  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch, § =  $p < 0,05$  gesund versus septisch



**Abbildung 5:** Pulmonal vaskulärer Widerstandsindex (PVRI) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

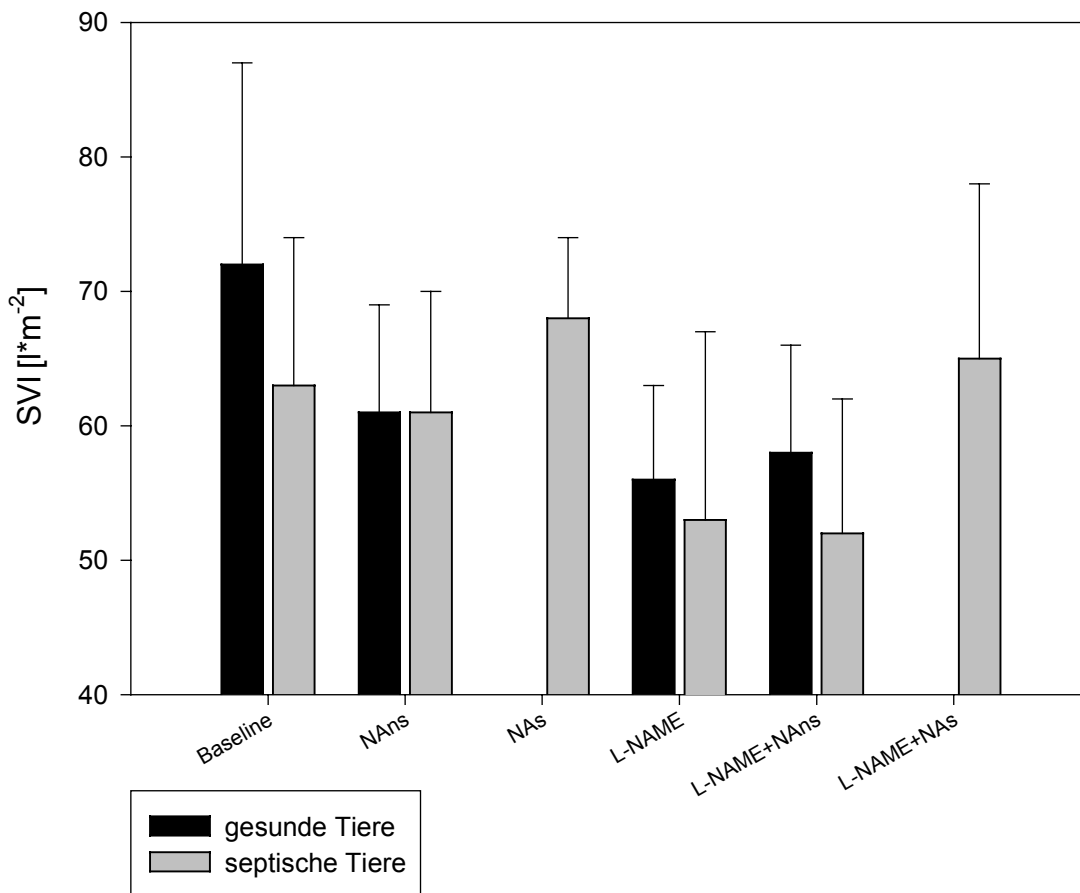
\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch, § =  $p < 0,05$  gesund versus septisch



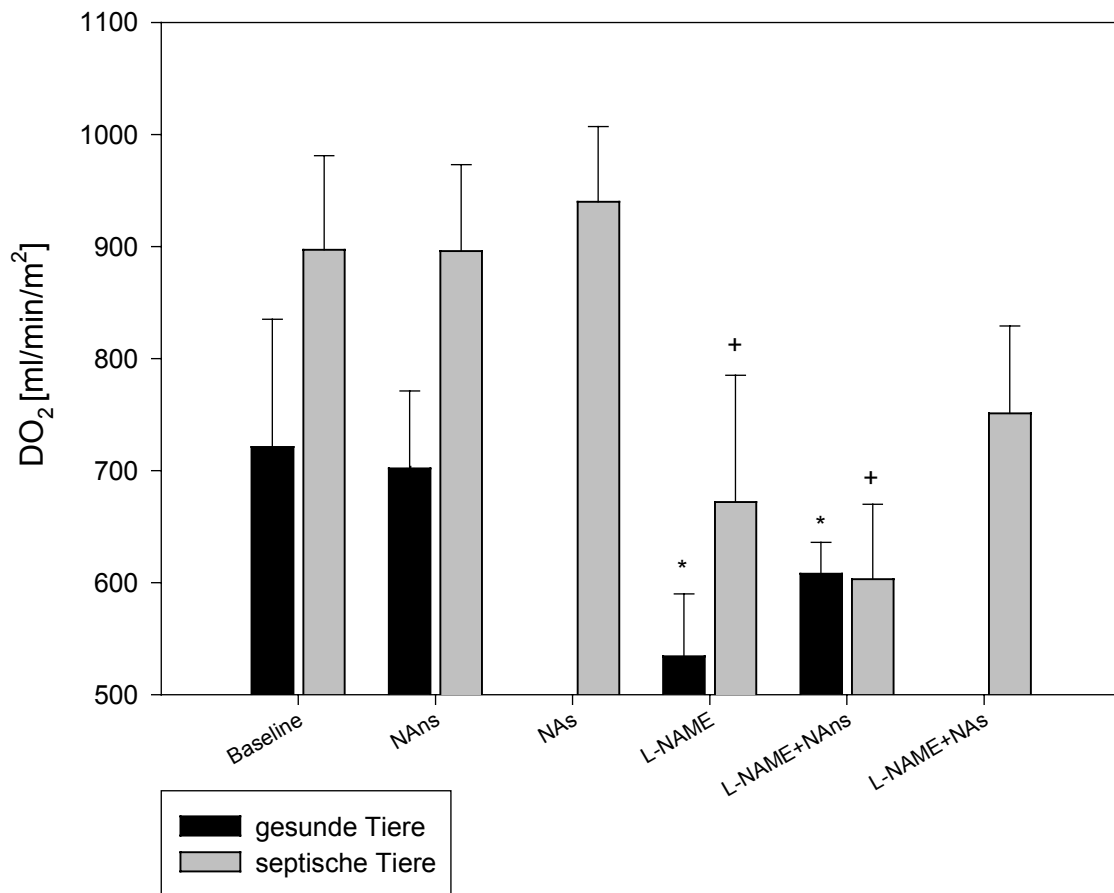
**Abbildung 6:** Mittlerer pulmonal arterieller Druck (MPAD) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch



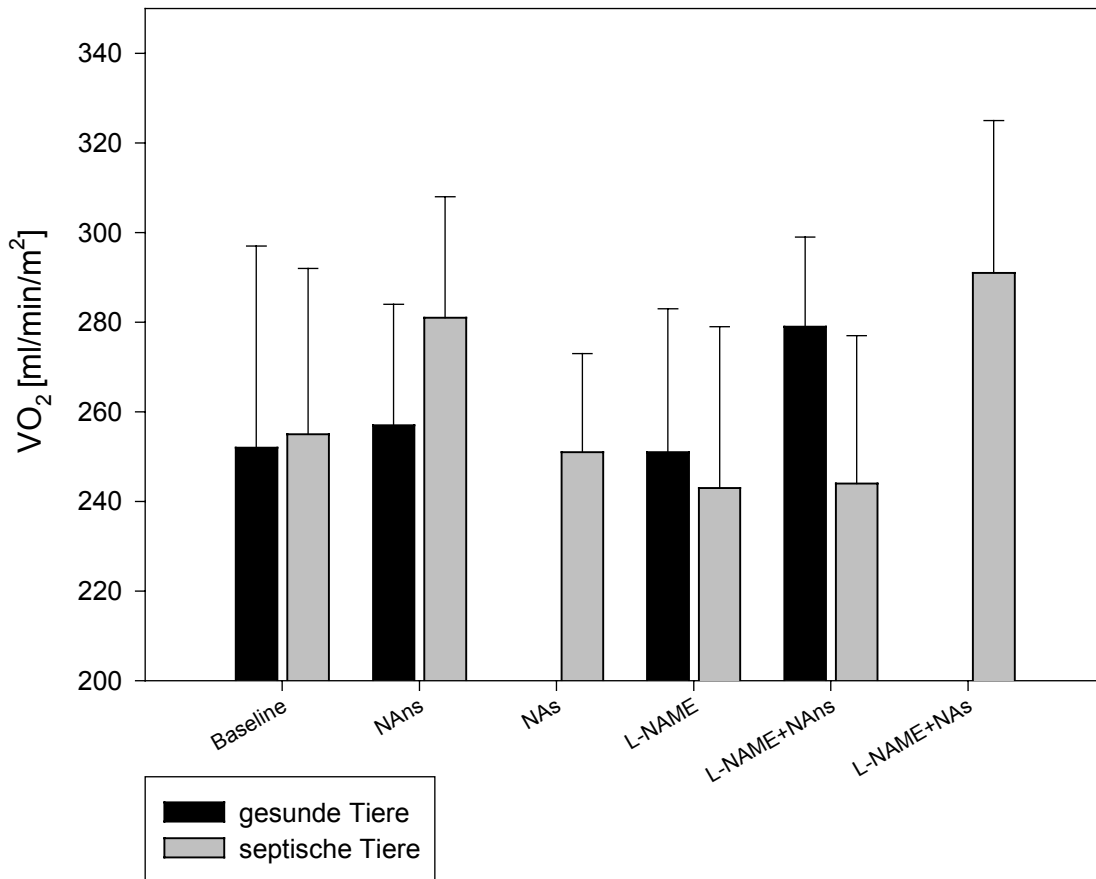


**Abbildung 7:** Schlagvolumen-Index (SVI) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

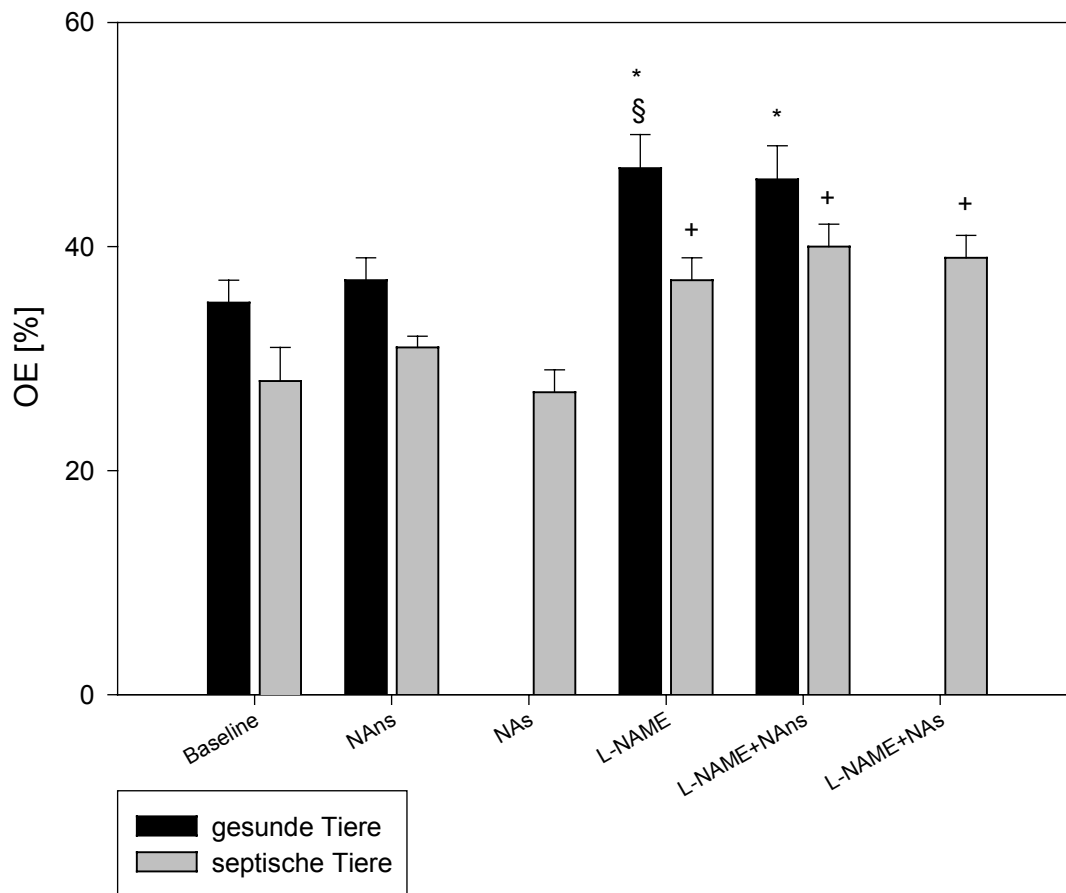


**Abbildung 8:** Sauerstoffangebot (DO<sub>2</sub>) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch



**Abbildung 9:** Sauerstoffverbrauch ( $VO_2$ ) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.



**Abbildung 10:** Sauerstoffextraktionsrate (OE) bei gesunden und septischen Schafen nach Gabe von Noradrenalin bzw. L-NAME. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes bei gesunden Schafen erzielt (Dosis NAns). Danach wurde Noradrenalin gestoppt. Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert. Bei Schafen wurde nach 24-stündiger Sepsis mit der Noradrenalinindosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

\* =  $p < 0,05$  versus Baseline gesund, + =  $p < 0,05$  versus Baseline septisch, § =  $p < 0,05$  gesund versus septisch

	Baseline	NAns	L-NAME	L-NAME+ NAns
apH	7,51 ± 0,01	7,50 ± 0,01	7,47 ± 0,02	7,49 ± 0,01
PaCO <sub>2</sub> [mm Hg]	36 ± 2	34 ± 1	35 ± 2	35 ± 1
SvO <sub>2</sub> [%]	63 ± 2	61 ± 2	51 ± 3	51 ± 3
PaO <sub>2</sub> [mm Hg]	100 ± 4	93 ± 1	103 ± 7	97 ± 5

**Tabelle 1:** Gasaustausch bei gesunden Schafen. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes erzielt (Dosis NAns). Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-NAME verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert.

apH = Arterieller pH-Wert

PaO<sub>2</sub> = Arterieller Sauerstoffpartialdruck

PaCO<sub>2</sub> = Arterieller Kohlendioxidpartialdruck

SvO<sub>2</sub> = gemischt-venöse Sauerstoffsättigung

	Baseline	NAns	L-NAME	L-NAME+ NAns
LVSWI [ $\text{g}\cdot\text{m}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	$81 \pm 19$	$80 \pm 11$	$69 \pm 11$	$94 \pm 13$
RVSWI [ $\text{g}\cdot\text{m}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	$13 \pm 3$	$12 \pm 1$	$16 \pm 1$	$15 \pm 2$
ZVD [mmHg]	$7 \pm 1$	$8 \pm 2$	$7 \pm 2$	$9 \pm 2$
Temp. [ $^{\circ}\text{C}$ ]	39	40	40	40

**Tabelle 2:** Links- und rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex, zentralvenöser Druck und Körperkerntemperatur in gesunden Schafen. Durch die individuelle Verabreichung von Noradrenalin wurde ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes erzielt (Dosis NAns). Nach einer Pause von 30 Minuten wurde L-Name verabreicht, und anschließend Noradrenalin in der zuvor gegebenen Dosis (NAns) zusätzlich infundiert

LVSWI = linksventrikulärer Schlagarbeitsindex

RVSWI = rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex

ZVD = zentralvenöser Druck

Temp. = Körperkerntemperatur

	Baseline	Sepsis	NAns	NAs	L-NAME	L-NAME +NAns	L-NAME +NAs
LVSWI [g*m*m <sup>-2</sup> ]	74 ± 8	62 ± 11	68 ± 11	82 ± 7	60 ± 16	70 ± 16	96 ± 19
RVSWI [g*m*m <sup>-2</sup> ]	13 ± 1	14 ± 2	13 ± 1	16 ± 2	16 ± 3	15 ± 3	18 ± 2
ZVD [mmHg]	8 ± 2	10 ± 2	10 ± 2	10 ± 2	10 ± 2	13 ± 2	12 ± 2
Temp [°C]	40 ± 0	41 ± 0	41 ± 0	41 ± 0	41 ± 0	41 ± 6	41 ± 0

**Tabelle 3:** Links- und rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex, zentralvenöser Druck und Körperkerntemperatur in der hyperdynamen Phase der Endotoxinämie. Nach 24- stündiger Sepsis wurde mit der Noradrenalinosis, die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde, gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

LVSWI = linksventrikulärer Schlagarbeitsindex

RVSWI = rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex

ZVD = zentralvenöser Druck

Temp. = Körperkerntemperatur

	Baseline	Sepsis	NAns	NAs	L-NAME	L-NAME +NAns	L-NAME +NAs
apH	7,48 ± 0,02	7,52 ± 0,01	7,53 ± 0,01	7,51 ± 0,01	7,51 ± 0,01	7,51 ± 0,01	7,52 ± 0,01
PaCO <sub>2</sub> [mm Hg]	36 ± 3	31 ± 2	32 ± 3	32 ± 2	34 ± 2	34 ± 2	34 ± 2
SvO <sub>2</sub> [%]	63 ± 2	69 ± 2	66 ± 2	70 ± 2	61 ± 2	58 ± 2	60 ± 2
PaO <sub>2</sub> [mm Hg]	108 ± 8	101 ± 8	90 ± 8	95 ± 7	103 ± 9	99 ± 6	106 ± 9

**Tabelle 4:** Gasaustausch, Sauerstoffangebot, -verbrauch und Sauerstoffextraktionsrate bei Schafen, in denen durch die kontinuierliche Gabe von S.-typhosa-Endotoxin eine Sepsis induziert und aufrecht erhalten wurde. Nach 24- stündiger Sepsis wurde mit der Noradrenalinosis die zuvor im gesunden Tier ermittelt wurde gestartet (Dosis NAns). Anschließend wurde individuell Noradrenalin solange erhöht, bis ein Anstieg des mittleren arteriellen Druckes von 15mmHg erreicht wurde (Dosis NAs). Beide Dosierungen (Dosis NAns und Dosis NAs) wurden anschließend zusammen mit L-NAME verabreicht.

apH = Arterieller pH-Wert

PaO<sub>2</sub> = Arterieller Sauerstoffpartialdruck

PaCO<sub>2</sub> = Arterieller Kohlendioxidpartialdruck

SvO<sub>2</sub> = gemischt-venöse Sauerstoffsättigung



## 5. Diskussion

Sepsis und septischer Schock werden zu einer Gruppe von Krankheitsbildern gezählt, die unter dem Oberbegriff SIRS (systemic inflammatory response syndrome) zusammengefasst werden. Unter SIRS versteht man eine unkontrollierte systemische Entzündungsreaktion des Organismus auf unterschiedliche Stimuli wie Infektionen, Ischämie, Trauma, Endotoxin, Zytokine oder andere inflammatorische Mediatoren. Trotz neuem Erkenntnisgewinn, moderner Antibiotikatherapie und konsequenter Intensivtherapie stellt die hohe Letalität der Sepsis weiterhin ein bis heute ungelöstes Problem dar.

Der septische Schock ist charakterisiert durch eine massive systemische Vasodilatation mit erniedrigtem peripherem Gefäßwiderstand und erhöhtem Cardiac output. Es gibt zahlreiche Hinweise darauf, dass die exzessive Freisetzung von Stickstoffmonoxid als gemeinsame Endstrecke einer Vielzahl anderer Mediatoren und Toxine zumindest für das Herz-Kreislaufversagen bei Sepsis, septischem Schock oder Multiorganversagen verantwortlich zu machen ist (33; 87). Dabei werden Stickstoffmonoxid folgende Wirkungen zugeschrieben (159; 180):

- Vasodilatation, die zu Blutdruckabfall und Schock führen kann
- Verlust der Autoregulation der Mikrozirkulation, was zu zellulärer Hypoxie und Organversagen führen kann
- negative Inotropie, die zu kardialen Versagen beiträgt
- Wirkungsverlust endogener und exogener Katecholamine, was eine effektive Therapie des Herz-Kreislaufversagens verhindern kann
- Erhöhung der Gefäßpermeabilität, was zu Ödemen und Organversagen führen kann
- Zytotoxizität, was direkt zu Zellschäden und Organversagen führen kann.

Bei Patienten mit Sepsis und septischen Schock konnten hohe Dosen Nitrit und Nitrat (einem stabilen Abbauprodukt des NO-Metabolismus) im Plasma und Urin gefunden

werden, wobei die Höhe der Spiegel mit dem Ausmaß der negativen kardiovaskulären Veränderungen korrelierte (37, 52).

NO ist ein kleines Molekül, ein freies Radikal, das ungehindert durch Zellmembranen diffundiert. Es entsteht während der Umwandlung seines Substrates L-Arginin zu Citrullin durch die Aktivität mehrerer NO-Synthasen. Unter physiologischen Bedingungen werden kontinuierlich kleine Mengen NO gebildet (konstitutionelle Form) diese tragen in bedeutender Weise zur Regulation des Blutdruckes und der Organdurchblutung bei. Die konstitutionelle NO-Synthase ist nicht nur in Endothelzellen, sondern auch im Endokard und Myokard, in Nervenzellen, in Thrombozyten sowie in Epithelzellen vorhanden. NO hat eine sehr kurze biologische Halbwertszeit von nur wenigen Sekunden, es wird inaktiviert durch Hämoglobin, Myoglobin und freie Radikale, zu Nitrit und Nitrat oxidiert und über die Niere ausgeschieden (110). NO wird im Organismus vermutlich auch an Hydroxylgruppen von Plasmaproteinen gebunden. Den resultierenden S-Nitroso-Proteinen werden die pharmakodynamischen Eigenschaften von NO zugeschrieben. Sie besitzen eine Halbwertszeit von einigen Stunden und ihnen wird ebenfalls ein erhebliches vasodilatatorisches Potential zugeschrieben (154). Im Rahmen systemischer Entzündungsreaktionen, wird nach Stimulation durch Endo- und Exotoxin, Zytokine sowie verschiedene Interleukine induzierbares Stickstoffmonoxid freigesetzt. Nach einer zeitlichen Verzögerung von etwa 4-12 Stunden mit der initialen Noxe werden über einen langen Zeitraum (ca. 72 Stunden) große Mengen von NO produziert. Das freie Intervall zwischen Induktion und Beginn der NO-Freisetzung kommt dadurch zustande, dass die Induktion des Enzymsystems sowohl Genexpression als auch Proteinsynthese erfordert (182). Die Induktion kann durch Gabe von Glukokortikoiden und Zyklohexamid gehemmt werden. Um eine Induktion der iNOS zu verhindern, müssen diese Substanzen allerdings in einem engem zeitlichen Zusammenhang zur Immunstimulation gegeben werden; nach Induktion beeinflussen Kortikoide die NO-Produktion nicht mehr (50; 128). Unter experimentellen Bedingungen kann durch frühzeitige Gabe von Glukokortikoiden die Induktion der NO-Synthase und somit der septische Schock verhindert werden. Unter klinischen Bedingungen ist dies aber nicht der Fall. Wenn der Patient mit Sepsis und Hypotension auffällig wird, ist das

Enzymsystem vermutlich schon induziert, was die fehlende Wirkung von Methylprednisolon bei septischen Patienten erklären könnte (17).

Aus der in großen Mengen freigesetzten iNOS resultiert eine generalisierte periphere Gefäßstörung mit einer deutlich verminderten kardiovaskulären Ansprechbarkeit gegenüber Katecholaminen, die zu einer sogenannten „Vasoplegie“ oder „vaskulären Hyporeaktivität“ führt und in bedeutender Weise zur therapierefraktären Hypotension im septischen Schock beiträgt. Diese NO-vermittelte vaskuläre Hyporeaktivität ist für Kapazitäts-, Widerstands- und venöse Gefäße beschrieben (73; 159). Die Gabe von inhibitorisch wirkenden L-Arginin-Analoga bei systemischer Inflammation bewirkte in zahlreichen tierexperimentellen Studien und auch in Studien zur Hemmung der NO-Synthase beim Menschen einen deutlichen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes und hob die ausgeprägte systemische Vasodilatation auf (16; 23; 81, 124; 167). In der vorliegenden Arbeit sollten die hämodynamischen Veränderungen, die bei septischen Patienten auftreten, nachgestellt werden. Ziel dieser Untersuchung war, durch den Einsatz des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME, nach erfolgter Induktion und Expression der induzierbaren NO-Synthase die exzessive Stickstoffmonoxidproduktion soweit zu inhibieren, dass ein moderater Anstieg des Blutdrucks mit akzeptablen Noradrenalindosen zu erreichen war.

Die Effekte von NO-Synthase-Inhibitoren sind in einer Reihe tierexperimenteller Studien untersucht worden. Die klinische Relevanz dieser Untersuchungen ist abhängig vom Studiendesign. Ein gravierender Nachteil vieler Sepsismodelle ist oft das Fehlen der für den Menschen charakteristischen hyperdynamen Kreislaufsituation.

In der Arbeit wurde evaluiert, ob durch NO-Synthase-Inhibition die beeinträchtigte kardiovaskuläre Ansprechbarkeit von Noradrenalin im Rahmen experimenteller hyperdynamer Sepsis wieder hergestellt werden kann. Als NO-Synthase-Inhibitor wurde L-NAME gewählt. L-NAME ist ein nicht-selektiver Inhibitor der NO-Synthase, wobei es die induzierbare Form der NO-Synthase als auch die konstitutive Form der NO-Synthase stereospezifisch und kompetitiv hemmt. L-NAME wurde als kontinuierliche Infusion appliziert, um gleichmässige Effekte zu erzielen.

Als Modell der experimentellen hyperdynamen Sepsis wurde die Endotoxinämie beim wachen, chronisch instrumentierten Schaf gewählt. Hierzu wurde bei Schafen durch die

kontinuierliche Gabe von Endotoxin (Endotoxin von *Salmonella typhosa*) eine hyperdynamische Kreislaufsituation mit erhöhtem HZV und vermindertem peripher venösem Widerstand induziert.

### **5.1 Hyperdynamie Endotoxinämie als experimentelles Sepsismodell**

Die ersten tierexperimentellen Studien an Schafen zur Erforschung der Sepsis wurden 1963 durchgeführt (61). Seitdem wurden zahlreiche verschiedene Formen der experimentellen Endotoxinämie im wachen, chronisch instrumentierten Schaf als valide Modelle der Sepsis akzeptiert (16; 25; 70; 94).

Endotoxin ist ein hitzestabiler Komplex aus Lipopolysacchariden und integraler Bestandteil der Wand gramnegativer Bakterien. Endotoxine spielen eine zentrale Rolle bei der Vermittlung der pathophysiologischen Veränderungen während der Sepsis, des septischen Schocks und dem septischen Organversagen (72; 122). Die exzessive Freisetzung von Endotoxin in die systemische Zirkulation induziert im Organismus eine Immunreaktion, die mit der Stimulation einer Vielzahl zirkulierender und gewebeständiger, mediatorbildender Zellen verbunden ist. Bei Patienten mit gramnegativer Sepsis sind Endotoxine im Blut nachweisbar (6; 35). Klinische Zeichen der Endotoxinämie sind hämodynamische Instabilität mit Blutdruckabfall, Erniedrigung des peripher venösen Widerstandes und myokardialer Depression. In schweren Fällen kommt es zur disseminierten intravasalen Verbrauchskoagulopathie, zu Mikrozirkulationsstörungen verschiedener Organe bis hin zum irreversiblen Schock (6). Bei gesunden Freiwilligen führt die intravenöse Gabe von Endotoxin (4 ng/kg) nach 3-5 Stunden zu einer hyperdynamischen Kreislaufsituation mit Steigerung des HZV auf ungefähr 150% und Erniedrigung des systemvaskulären Widerstands auf ca. 50% (102, 156).

Die experimentelle Verwendung von Endotoxin bietet im Gegensatz zu Bakterien einige Vorteile. *E.-coli*-Bakterien lassen sich aufgrund ihrer hohen Teilungsrate nur sehr schlecht dosieren und bieten sich daher eher als Kurzinfusion bzw. zur Bolusapplikation an. Weiterhin stellt die Endotoxinämie ein primär keimfreies Sepsismodell dar, da es

durch Endotoxin zu keiner Kontamination der Umgebung kommt. Hinzu kommt, dass Endotoxine die am häufigsten untersuchten Triggersubstanzen der Sepsis sind.

### 5.1.1 Wahl des Versuchstieres

Um die Effektivität von Noradrenalin und NO-Synthaseinhibitoren zu untersuchen, erschien das Schaf als Versuchstier in diesem hyperdynamen Sepsismodell aus folgenden Gründen am geeignetsten:

- Das Schaf bietet sich für die experimentelle Endotoxinämie an, da es bezüglich der Empfindlichkeit auf Endotoxin dem Menschen ähnlicher ist als andere Spezies. Mensch und Schaf reagieren auf die Administration von Endotoxin mit einer hyperdynamen Kreislaufreaktion mit Steigerung des HZV und Erniedrigung des systemvaskulären Widerstands (25; 119).
- Einen therapeutisch relevanten Angriffspunkt für eine Intervention mit vasokonstriktorisch wirksamen Substanzen, zu denen auch die NOS-Inhibitoren zählen, ist der peripher erniedrigte Widerstand, der eine der Ursachen der Hypotonie beim septischen Schock ist.
- Schafe entwickeln, ähnlich wie Patienten im Rahmen der hyperdynamen Endotoxinämie ein Multiorganversagen (21).

Die Administration von Endotoxin führt bei vielen anderen Spezies zwar zu ähnlichen hämodynamischen Veränderungen, hinsichtlich der Sensitivität bestehen jedoch große Unterschiede. Im Rahmen tierexperimenteller Sepsisstudien wurden Ratten Endotoxindosen im Milligrammbereich verabreicht (z.B. 10 mg/kg) (3), Hunden und Hasen wurden Endotoxindosen im Bereich zwischen 40 und 500 Mikrogramm pro Kilogramm verabreicht (83; 184). Schafe reagieren wesentlich sensibler auf die Applikation von Endotoxin. Die kontinuierliche Verabreichung von  $20 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  Endotoxin führte beim wachen, chronisch instrumentierten Schaf zu einer hyperdynamen Kreislaufreaktion mit Steigerung des HZV und Erniedrigung des peripher venösem Widerstandes (25). Bezüglich der Sensibilität auf Endotoxin sind demnach Schafe dem Menschen wesentlich ähnlicher als andere Spezies.

- Aufgrund ihres ruhigen Wesens tolerierten die Schafe schon nach einer kurzen Eingewöhnungszeit schmerzfreie Manipulation, ohne mit Zeichen von Stress in Form messbarer kardiovaskulärer Veränderungen zu reagieren.

Sämtliche Versuche wurden an wachen, nicht anästhesierten, spontan atmenden Schafen durchgeführt, um die negative Beeinflussung von Anästhetika und anderen Medikamenten auf das kardiovaskuläre System sowie die Interaktion mit Stickstoffmonoxid auszuschließen. So konnten sämtliche kardiovaskulären Reaktionen, die während der experimentellen Endotoxinämie auftraten, auf die zu testenden Substanzen zurückgeführt werden.

- Aufgrund ihrer Körpergröße lässt sich bei Schafen, ähnlich wie beim septischen Intensivpatienten, ein invasives hämodynamisches Monitoring mit pulmonalarteriellen und femoralarteriellen Kathetern durchführen. Außerdem konnten Blutentnahmen durchgeführt werden, zum Beispiel zur Bestimmung von Blutgasanalysen, ohne auf Dauer bei den Tieren eine Anämie oder Hypovolämie zu induzieren.

## **5.2 Wirkung von Noradrenalin bei gesunden Schafen sowie endotoxinämischen Schafen nach NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME**

In der vorgelegten Untersuchung wurde der Effekt der NO-Synthase-Inhibition auf die Noradrenalinwirkung bei gesunden und septischen Schafen untersucht. Ziel dieser Untersuchung war, die verminderte Wirkung von Noradrenalin auf den mittleren arteriellen Druck beim septischen Tier im Vergleich zum gesunden Tier darzustellen.

Noradrenalin zählt zu den Katecholaminen mit der höchsten vasokonstriktorischen Potenz, welches derzeit zur Therapie der Hypotension im Rahmen des septischen Schocks zur Verfügung steht. Da die Wiederherstellung eines ausreichenden Perfusionsdruckes ein wichtiges therapeutisches Ziel darstellt, steht Noradrenalin in Kombination mit einer adäquaten Volumentherapie als Mittel der ersten Wahl zur Verfügung (150).

Noradrenalin ist ein potenter  $\alpha$ - und  $\beta_1$ -mimetischer Agonist, während die  $\beta_2$ -adrenerge Wirkung deutlich geringer ist. Aufgrund der dominierenden Stimulation von  $\alpha$ -Adrenorezeptoren bewirkt Noradrenalin an den peripheren Gefäßen eine Vasokonstriktion. Trotz einer Erhöhung des peripheren Widerstandes bleibt das HZV über eine  $\beta_1$  vermittelte Steigerung der Kontraktilität weitgehend unbeeinflusst. Der vorherrschende klinische Effekt einer Noradrenalin-Anwendung ist eine Steigerung des systemischen Perfusionsdruckes (103; 141).

Im Rahmen des septischen Schocks zeigt sich jedoch häufig, dass die vasokonstriktorischen Effekte von Noradrenalin und anderen Vasokonstriktoren (z. B. Angiotensin II, Vasopressin, Serotonin, Histamin) stark vermindert sind, so dass exzessive Mengen von Noradrenalin eingesetzt werden müssen, um eine adäquate Steigerung des Blutdrucks zu erzielen (24; 159).

Ursache dieser verminderten Effektivität von Noradrenalin im Rahmen septischer Zustände ist unter anderem die überwiegend  $\beta$ -mimetische Wirkung, während im Gesunden eine überwiegend  $\alpha$ -mimetische Wirkung von Noradrenalin zu verzeichnen ist. So konnten Booke und Mitarbeiter in ihrer Untersuchung an gesunden und septischen Schafen zeigen, dass die Administration von Noradrenalin in gesunden Tieren eine Vasokonstriktion mit signifikanter Erhöhung des systemvaskulären

Widerstandes bewirkte. Im Gegensatz dazu führte die Gabe von Noradrenalin in septischen Schafen zu einem signifikanten Anstieg des Cardiac-Index bei fast unverändertem systemvaskulären Widerstand. Trotz signifikant erhöhter Dosis von Noradrenalin im Rahmen der hyperdynamen Sepsis kam es zu keiner Erhöhung des peripheren Widerstandes, bedingt durch eine Vasokonstriktion (25). Diese Befunde lassen darauf schließen, dass im Rahmen der hyperdynamen Sepsis eine deutlich höhere Dosis Noradrenalin nötig ist, die eine überwiegend  $\beta$ -mimetische Wirkung zeigt, während im gesunden Tier eine überwiegend  $\alpha$ -mimetische Wirkung von Noradrenalin zu verzeichnen ist. Ähnliche Befunde konnten Landin et al. in ihren Experimenten an Schafen erheben (94).

Es gibt aber auch Hinweise darauf, dass es im Rahmen des septischen Schocks zu einer sogenannten "Downregulation" von Katecholaminrezeptoren kommt (39). Der diesem Phänomen zugrunde liegende Mechanismus ist allerdings noch nicht vollständig geklärt. Unter einer echten "Downregulation" versteht man eine verminderte Ansprechbarkeit von Katecholaminen, bedingt durch eine negative Rückkopplung aufgrund kontinuierlich erhöhter Katecholaminspiegel im Plasma. Im Rahmen der Sepsis sind die Plasmakatecholaminspiegel deutlich erhöht und erst im Endstadium kommt es zu einer signifikanten Reduktion der Plasmakatecholaminspiegel (24). T. L. Hwang und Mitarbeiter konnten in ihren Untersuchungen an Gewebeproben von septischen Patienten zeigen, dass Patienten mit leichter Sepsis eine deutlich erhöhte  $\alpha$ -Rezeptordichte aufwiesen, während diese bei mittelschwerer Sepsis unverändert und bei schwerer Sepsis deutlich erniedrigt waren. Diese Ergebnisse korrelierten mit vorherigen experimentellen Untersuchungen an Ratten, die ebenfalls am Beginn einer Sepsis eine hohe  $\alpha$ -Rezeptordichte vorwiesen, die später abnahm (78).

Um die Effektivität von Vasokonstriktoren wie Noradrenalin oder NO-Synthase-Inhibitoren im Rahmen der Sepsis zu erforschen, wurden verschiedene Untersuchungen mit NO-Synthase-Inhibitoren in hypodynamen als auch in hyperdynamen Sepsismodellen durchgeführt (25; 94; 164; 165; 184).

Landin und Kollegen untersuchten zum Beispiel die Effekte von L-NAME und Noradrenalin in einem akuten Modell des hypodynamen septischen Schocks in anästhesierten Schafen. Sie verabreichten 60 Minuten nach Induktion einer Sepsis mit



lebenden E.coli extrem hohe Dosen L-NAME. Die Inhibition der NO-Synthase normalisierte die kardiovaskuläre Sensibilität und verbesserte die Ansprechbarkeit auf Noradrenalin in septischen Schafen ähnlich wie in gesunden Schafen (94). Allerdings ist in diesem Sepsismodell davon auszugehen, dass durch die frühe NO-Synthase-Inhibition eine Stunde nach Beginn der Sepsis noch keine Induktion der iNOS bestanden hat und dass sowohl in septischen als auch in gesunden Schafen ausschließlich die konstitutionelle NOS inhibiert wurde.

Wright und Mitarbeiter führten Untersuchungen mit dem unspezifischen NO-Synthase-Inhibitor N-Mono-Methyl-L-Arginin (L-NMMA) in anästhesierten Kanninchen durch. Sie verabreichten entweder 30 Minuten vor oder nach einer Endotoxin-Infusion L-NMMA, das heißt zu einem Zeitpunkt, in dem die induzierbare NO-Synthase noch nicht aktiv war. Die zwangsläufige Inhibition der konstitutionellen Isoform verstärkte die initiale Endotoxin induzierte Vasokonstriktion und resultierte in einer erhöhten Mortalität (184).

Bei hypodynamen Sepsismodellen muss man jedoch davon ausgehen, dass in den ersten Stunden nach Induktion der Sepsis eine ausgeprägte Vasokonstriktion vorliegt und zu diesem Zeitpunkt keine erhöhte Ausschüttung von iNOS zu erwarten ist, da Genexpression und Proteinsynthese einen Zeitraum von 4-12 Stunden benötigen. Und erst dann kommt es zu einer zeitlich verzögerten generalisierten systemischen Vasodilatation (182). Vor allem in den ersten Stunden der Sepsis ist noch die konstitutive NOS aktiv und eine NO-Synthase-Inhibition in dieser frühen Phase der Sepsis würde die Endothel-abhängige Vasodilatation aufheben und die schon vorbestehende septische Vasokonstriktion weiter verstärken. Man kann also davon ausgehen, dass die Gabe von L-NAME oder Noradrenalin in dieser Phase der Sepsis eher kontraindiziert ist, da die Vasokonstriktion noch weiter verstärkt wird. Gegen den Einsatz von Vasokonstriktoren, sei es nun L-NAME oder Noradrenalin, in der Frühphase der Sepsis spricht vor allem die potentielle Gefahr einer regional überschießenden Vasokonstriktion. Diese könnte über eine regionale Minderperfusion zur zellulären Hypoxie mit konsekutiver Verschlechterung des Gesamtbildes führen.

In unserem Sepsismodell wurde 24 Stunden nach kontinuierlicher Verabreichung von Endotoxin eine NO-Synthase-Inhibition mit L-NAME durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt kann man von einer Aktivierung der iNOS ausgehen.

Um jedoch die Effektivität von Vasokonstriktoren, sei es L-NAME oder Noradrenalin wirksam zu testen, ist ein hyperdynamisches Sepsismodell erforderlich, bei dem die Vasoplegie und Hypotension im Vordergrund steht.

In der vorliegenden Untersuchung führte die Gabe von L-NAME bei gesunden Schafen zu einer Erhöhung des systemvaskulären und pulmonalvaskulären Widerstandes bei gleichzeitiger Abnahme des Cardiac-Index. Entsprechende Befunde konnten in verschiedenen Untersuchungen, z.B. an Schafen (70), Hunden (88), Ratten (146) und Schweinen (165) erhoben werden. Ob die vasokonstriktorische Wirkung von L-NAME ausschließlich auf der direkten Hemmung der NOS beruht, oder ob auch unspezifische Wirkungen der Substanz oder indirekte Effekte durch eine Wechselwirkung mit anderen Substanzen eine Rolle spielen, kann noch nicht abschließend beurteilt werden. L-NAME scheint nicht zur Freisetzung von endogenen Vasokonstriktoren zu führen. Nach Injektion des NOS-Inhibitors N-Nitro-L-Arginin kam es bei Schafen zu keiner signifikanten Erhöhung der Plasmaspiegel von Noradrenalin, Renin, Vasopressin oder Endothelin (163).

Diese Ergebnisse der vorgelegten Untersuchung stehen im Einklang mit der Vorstellung, dass beim gesunden Schaf das Gefäßsystem durch die basale Freisetzung der konstitutionellen NO-Synthase in einem ständig vasodilatatorischen Zustand gehalten wird und es durch den nicht-selektiven NO-Synthase-Inhibitor L-NAME zu einer Blockade der konstitutionellen Isoformen der NOS kommt. Welche Bedeutung die konstitutionelle NOS allerdings für den basalen Vasotonus hat, kann noch nicht abschließend beurteilt werden. Es existieren jedoch Hinweise darauf, dass die konstitutionelle NOS während entzündlicher Prozesse inaktiviert wird (101; 151).

Entsprechende Befunde konnte Nelson in seinen Untersuchungen an isolierten Gefäßen von Schafen zeigen, bei denen eine Sepsis mit *Pseudomonas aeruginosa* induziert wurde. Gefäße von nicht septischen Schafen reagierten nach Gabe von Noradrenalin mit einer verstärkten maximalen Kontraktionsantwort und der vaskuläre cGMP-Spiegel war höher, wenn das Endothel entfernt wurde, als bei intakten Gefäßen. Im Rahmen der

Sepsis war die Reaktion auf Noradrenalin und eine stark erhöhte cGMP- Konzentration unabhängig vom Vorhandensein des Endothels (114). Lorente konnte bei anästhesierten Schafen beobachten, dass 30 Minuten nach Ende einer Infusion mit lebenden E.-coli-Bakterien der Azetylcholin induzierte Blutdruckabfall signifikant kleiner war als bei der nicht bakteriämischen Kontrollgruppe (98). Diese Befunde sind vereinbar mit der Vorstellung, dass die konstitutionelle NOS in Gefäßen gesunder, nicht septischer Schafe gebildet wird, und unterstreicht die wesentliche Rolle der konstitutionellen NOS in der Regulation der Hämodynamik.

In der vorliegenden Untersuchung induzierte die kontinuierliche Gabe von Endotoxin bei den wachen, spontan atmenden Schafen eine hyperdynamische Kreislaufreaktion mit einem signifikant erhöhtem HZV und deutlich erniedrigtem, mittlerem arteriellen Druck. Die Ansprechbarkeit auf Noradrenalin war ebenfalls deutlich vermindert. Der Zustand der hyperdynamischen Endotoxinämie war nach etwa 20-24 Stunden maximal ausgeprägt. Dieses zeitliche Intervall steht in Einklang mit den Eigenschaften der induzierbaren NOS. Im Gegensatz zur konstitutionellen NO-Synthase wird die Aktivität der induzierbaren NO-Synthase nur durch Substratzufuhr reguliert. Das heißt, dass die induzierbare NO-Synthase, ist sie einmal gebildet, NO produziert, bis sie abgebaut ist (biologische Halbwertszeit etwa 7 Stunden). Die exzessive Freisetzung von NO im Rahmen der Endotoxinämie kann eine direkte Schädigung der Endothelzelle bewirken, so dass eine weitere NO-Produktion, insbesondere durch die konstitutive NOS, nicht mehr möglich ist. Die Induktion der iNOS wird durch proinflammatorische Zytokine und Endotoxin verstärkt, wobei Genexpression und Proteinsynthese die zeitliche Latenz zwischen Induktion und NO-Produktion erklären (82; 142; 182).

Die zeitliche Entwicklung der eingeschränkten Hämodynamik mit einer verminderten Ansprechbarkeit auf Katecholamine lässt eine Schlüsselrolle der iNOS im Rahmen der hyperdynamischen Endotoxinämie vermuten.

Die Inhibition der NOS mit L-NAME beendete den hyperdynamischen Zustand. Die Gabe von L-NAME bei septischen Schafen führte zu einer deutlichen Senkung des HZV. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit mehreren Untersuchungen im Rahmen der Sepsis oder Endotoxinämie, bei denen eine Inhibition der NOS mit L-NAME zu einer deutlichen Abnahme des HZV führte (16; 25; 189).

Die beobachtete Reduktion des HZV beruht jedoch nicht nur auf einer Erniedrigung der Herzfrequenz, sondern auch auf einer Verringerung des Schlagvolumens. Endotoxin induziert eine kardiale Dysfunktion beim Schaf, wobei sowohl die systolischen als auch die diastolischen Eigenschaften des Myokards verändert sind: Trotz des erhöhten HZV besteht eine Verringerung der linksventrikulären Ejektionsfraktion, der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit sowie eine Abflachung der endsystolischen Druck-Volumen-Relation (32). Einige Autoren vermuten, daß induzierte NO-Produktion zur kardialen Dysfunktion in der Sepsis beitragen könnte (4), denn auch im Myokard kann eine zweite NO-Synthase induziert werden (142). In Zellkulturen von Myozyten und an isolierten Papillarmuskeln bewirkte die induzierte NO-Synthase negativ inotrope Effekte (26; 45). NO-Synthase-Hemmer steigerten die Kontraktilität bzw. verhinderten die Kontraktilitätsminderung (26; 45). Die Reduktion des HZV nach L-NAME bewirkte eine signifikante Reduktion des Sauerstoffangebotes. Eine gleichzeitige signifikante Verringerung des Sauerstoffverbrauches war jedoch nicht zu erkennen. Das bedeutet, daß L-NAME in der hyperdynamen Phase der Sepsis den Blutfluss vorwiegend in solchen Gebieten reduziert, die keine oder nur geringe metabolische Aktivität besitzen (107). Diese Befunde stehen im Einklang mit der Vorstellung, dass die konstitutionelle NOS eine wichtige regulative Funktion der systemischen Perfusion übernimmt, während die induzierbare NOS keine regulativen Funktionen hat, sondern eher für eine Fehlverteilung des Blutstromes sorgt.

Nach Gabe von L-NAME normalisierte sich die Endotoxin-induzierte systemische Vasodilatation und die eingeschränkte vasokonstriktorische Reaktion auf Noradrenalin konnte wiederhergestellt werden. Die vollständige Normalisierung der Hämodynamik nach Gabe von L-NAME lässt darauf schließen, dass die systemische Vasodilatation wesentlich durch die massive Produktion von iNOS hervorgerufen wird. Diese Befunde stehen im Einklang mit Ergebnissen verschiedener hyperdynamer Sepsismodelle bei Schafen (69), Schweinen (186) und bei Patienten (81; 97), bei denen nach Gabe von L-NAME eine Stabilisierung des kardiovaskulären Systems eintrat.

Diese Befunde stehen auch im Einklang mit zahlreichen Untersuchungen, bei denen gezeigt werden konnte, dass die verminderte kontraktile Reaktion auf Vasopressoren ein typisches Merkmal isolierter Gefäße von Tieren war, denen Endotoxin oder Bakterien

verabreicht wurden (114; 149). Die Endotoxin-assoziierte, verminderte Kontraktilität der Gefäße war dabei mit einem erhöhten vaskulären Gehalt an cGMP verbunden.

Nelson konnte in seinen Untersuchungen zeigen, dass eine in-vivo-Behandlung der Schafe mit dem NOS-Inhibitor N-Mono-Methyl-L-Arginin (L-NMMA) als auch eine in-vitro-Blockade der NOS mit N-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) zu einer drastischen Reduktion der cGMP-Konzentration in Gefäßen führte und die kontraktile Antwort auf Vasopressoren verbessert werden konnte (114).

Diese Mechanismen der Wiederherstellung der Ansprechbarkeit des kardiovaskulären Systems und der Katecholaminsensibilität sind sehr komplex und lassen sich vermutlich auf verschiedene komplizierte Interaktionen zurückführen. Unter anderem geht man von komplexen Interaktionen von NO mit dem sympathischen und parasympathischen Nervensystem sowie den Katecholaminrezeptoren aus. NO dient im zentralen als auch im peripheren Nervensystem als Neurotransmitter und inhibiert die durch das sympathische Nervensystem bedingte Vasokonstriktion. Dieser Mechanismus beruht zum einen auf der Hemmung peripher sympathischer Neurone (100; 161), zum anderen auf der Hemmung der zentralen sympathischen Nervenaktivität durch negative Rückkopplung (64; 93).

Zanzinger und Mitarbeiter konnten in ihren Untersuchungen an Katzen, deren Stammhirn gekühlt wurde und somit jegliche sympathische Nervenaktivität unterbunden wurde, zeigen, dass nach Inhibition der NO-Synthase mit L-NAME keine vasokonstriktorische Wirkung erzielt werden konnte, wohl aber bei Katzen mit normaler sympathischer Nervenaktivität (188). Letztendlich schlossen die Autoren aus ihren Beobachtungen, dass durch die Inhibition der NO-Synthase der hemmende Einfluss des NO auf das sympathische Nervensystem abnimmt und folglich eine ungehemmte sympathische Nervenaktivität zu einer Vasokonstriktion führt. Leider wurde in diesen Katzenmodellen das HZV nicht gemessen, so dass eine Vasokonstriktion aufgrund eines gesteigerten peripher-venösen Widerstandes und eine Reduktion des HZV als Ursache der Effekte nicht ausgeschlossen werden können.

Gegen diese Theorie, dass das vasokonstriktorische Potential der NO-Synthase-Inhibition abhängig vom Sympathikotonus sein soll, sprechen Arbeiten, in denen in-

vitro an isolierten, also denervierten Gefäßringen, durch NO-Synthase-Inhibition, eine Vasokonstriktion ausgelöst werden konnte (9).

Inzwischen gibt es Hinweise darauf, dass NO eine inhibitorische Wirkung an der distalen sympathischen Nervenendigung der glatten Muskulatur besitzt und zudem in sympathischen Nervenfasern selbst NO-Synthase vorhanden ist, so dass es bei Stimulation der sympathischen Nervenfasern, z.B. durch Scherkräfte, zu einer Synthese von NO kommt, um eine überschießende Vasokonstriktion zu vermeiden (53; 89). Dieser Effekt lässt sich allerdings auch nach Anregung der sympathischen Nervenfasern ohne vorherige Scherkräfte erzielen. Daraus lässt sich schließen, dass die Inhibition der nervalen NO-Synthase eine Aufhebung der negativen Rückkopplung durch NO bewirkt. Dies führt zu einer verstärkten Vasokonstriktion aufgrund einer vermehrten Stimulation der  $\alpha$ - Rezeptoren (77; 162).

Neben seiner Wirkung auf das sympathische Nervensystem sind aber auch Interaktionen von NO mit dem parasympathischen Nervensystem bekannt. Man weiß, dass eine vom muskarinartigen Rezeptor (z.B. am Herzen) bewirkte Stimulation der NO-Synthase zu einer Erhöhung des intrazellulären Gehaltes an cGMP führt, welches wiederum eine negativ-inotrope Wirkung zeigt (51; 96).

Eine erhöhte parasympathische Aktivität bewirkt somit eine verminderte Ansprechbarkeit des Herzens auf  $\beta$ -mimetische Pharmaka und sympathische Nervenstimulation (67; 95).

So konnte in verschiedenen Untersuchungen gezeigt werden, dass im Rahmen der Sepsis die verminderte Ansprechbarkeit des Herzens auf  $\beta$ -adrenerge Substanzen durch die Inhibition der NO-Synthase wieder hergestellt werden konnte (8).

Die im endotoxinämischen Teil verminderte Wirkung von Noradrenalin auf den mittleren arteriellen Druck, könnte bedingt sein durch eine reduzierte vaskuläre oder kardiale Ansprechbarkeit auf Noradrenalin. Die Gabe des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME normalisierte die kardiovaskuläre Sensibilität und bewirkte einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes. Die Effektivität gleicher Noradrenalindosen wurde durch L-NAME beim gesunden Schaf in gleicher Weise verbessert wie bei septischen Schafen. Dieser unspezifische Effekt legt die Vermutung nahe, dass es unabhängig

davon ist, ob Stickstoffmonoxid von der konstitutionellen oder induzierbaren NO-Synthase gebildet wird.

Trotz völlig unterschiedlichem Studiendesign (60 Minuten nach Induktion der Sepsis, Durchführung einer hochdosierten Gabe von L-NAME zur NO-Synthase-Inhibition), erzielten Landin und Mitarbeiter ähnlich unspezifische Ergebnisse in ihrem Experiment an septischen Schafen (94). Allerdings ist in diesem Sepsismodell davon auszugehen, dass durch die frühe Inhibition der NO-Synthase noch keine Induktion der iNOS bestanden hat.

Neben NO werden auch andere Mediatoren beschrieben, die mitverantwortlich sind für die Vasodilatation in der Sepsis. Eine erhöhte Ausschüttung von Prostaglandinen und des atrialen natriuretischen Peptids (ANP) wurden ebenfalls als Ursache des systemischen Widerstandsverlustes in der Sepsis diskutiert (34). So bewirkte z.B. die Gabe eines spezifischen ANP-Antagonisten bei septischen Schafen sowohl *in vitro* (41) als auch *in vivo* eine Vasokonstriktion (68) und unterstreicht damit die vasodilatatorische Wirkung des ANP im Rahmen der Sepsis.

## 6. Schlussfolgerung

Die vorliegende experimentelle Endotoxinämie ist als valides Sepsismodell im wachen chronisch instrumentierten Schaf anerkannt. Im Rahmen der Untersuchung konnten die Auswirkungen der kontinuierlichen Gabe des NO-Synthase-Inhibitors L-NAME auf die Hämodynamik in der hyperdynamen Endotoxinämie gezeigt werden.

Die Fragestellung der vorliegenden Arbeit konnte damit wie folgt beantwortet werden:

Durch die kontinuierliche Gabe des unselektiven NO-Synthase-Inhibitors (L-NAME) wurde die beeinträchtigte kardiovaskuläre Ansprechbarkeit von Noradrenalin im Rahmen experimenteller hyperdynamer Sepsis wieder hergestellt.

Die Inhibition der NO-Synthase ist ein therapeutisch viel versprechender Ansatz. NO wird als später Bestandteil der Mediatorokaskade systemischer Entzündungsreaktionen für die ausgeprägte Vasodilatation verantwortlich gemacht, welche bei Versagen myokardialer Kompensationsmechanismen zu Hypotension und septischem Schock führt, einer der häufigsten Todesursachen auf nicht-kardiologischen Intensivstationen (87).

Die Sepsis wird nur selten in der Frühphase diagnostiziert und die Mehrheit der Patienten befindet sich zum Zeitpunkt der Diagnose im hyperdynamen Stadium. Diese klinische Konstellation stellt die wesentliche potentielle Indikation für NO-Synthase-Inhibitoren dar. Aus diesen vorliegenden Befunden ergibt sich der Vorteil, dass die NO-Synthase-Inhibition auch im späteren Verlauf der Sepsis durchgeführt werden kann, während andere Maßnahmen nur zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Sepsis Erfolg versprechen.

Wie eine Vielzahl von Untersuchungen an Tieren belegt, können NO-Synthase-Inhibitoren zur kardiovaskulären Therapie eingesetzt werden, da sie auch in der hyperdynamen Sepsis effektive Vasopressoren sind.

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass L-NAME im Rahmen der Sepsis, im Gegensatz zu Noradrenalin, keinen Wirkungsverlust erfährt. L-NAME



musste während septischer Zustände nicht höher dosiert werden. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Effektivität des Noradrenalins durch die zusätzliche Gabe von L-NAME sowohl in gesunden als auch in septischen Schafen in gleicher Weise verbessert wurde.

Auf dem Boden dieser Befunde stellt die Hemmung der NO-Synthase durch L-NAME bei gleichzeitiger Verabreichung von Noradrenalin hinsichtlich der Stabilisierung der deletären hämodynamischen Situation ein vielversprechendes therapeutisches Konzept dar.

Als erste Arbeitsgruppe setzten Petros und Mitarbeiter 1991 NO-Synthase-Inhibitoren im therapierefraktären septischen Schock bei 2 Patienten ein. Die intravenöse Bolusgabe von L-NMMA (0.3-1 mg/kg) führte zunächst bei beiden Patienten zu einer Anhebung des Blutdrucks. Da bei Patient 2 die Wirkung nur kurzfristig war, wurde zusätzlich L-NAME (0.15 mg/kg, gefolgt von 0.3 mg/kg/h) infundiert. Bei beiden Patienten konnte die Noradrenalin-Infusion beendet werden. Während Patient 1 nach 48 Stunden keiner Intensivtherapie mehr bedurfte, verstarb der andere Patient im Multiorganversagen (107). Die erste kontrollierte Studie am Menschen wurde von Lorente und Kollegen durchgeführt. Auch in dieser Studie bewährte sich der Einsatz der NO-Synthase-Inhibitoren als effektiver Vasopressor. So bewirkte der Einsatz von L-NAME bei septischen Patienten in einer Dosierung von 20 mg/kg eine erwartungsgemäße Vasokonstriktion mit konsekutivem Abfall des Herz-Zeit-Volumens und der Herzfrequenz. Allerdings war die NO-Synthase-Inhibition in dieser Untersuchung mit einem ausgeprägten Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes verbunden (98). Eine durch NO-Synthase Inhibition bewirkte pulmonale Hypertonie könnte eine Beeinträchtigung der Rechtsherzfunktion bewirken, die in einer kardialen Dekompensation enden kann. Ebenso können schwerwiegende Probleme auftreten wenn die Sepsis gleichzeitig mit einem Lungenversagen assoziiert ist, da auch hier die pulmonale Hypertonie im Vordergrund steht. Im Rahmen einer Phase-II-Studie konnte jedoch gezeigt werden, dass sich die inhalative Therapie mit NO im Lungenversagen bezüglich der Reduktion der Letalität als unwirksam erwies (36), so dass die inhalative Therapie mit NO lediglich als letzte Therapieoption bei schwerer Hypoxie oder bei pulmonaler Hypertonie mit Rechtsherzversagen eingesetzt werden sollte (176).

In unserer Studie am Tiermodell zeigte sich eine eindeutige Effektivität von L-NAME beim Einsatz an septischen Schafen.

Ob die von uns erhobenen Daten auf Patienten übertragbar sind bleibt aber offen und sollte in weiteren Studien überprüft werden.

1999 konnten Grover und Mitarbeiter in einer Phase-III-Studie, die den Effekt einer NO-Blockade durch L-NAME bei septischen Patienten untersuchte zeigen, dass es durch Gabe von L-NAME zu einem signifikanten Anstieg der Letalität kam, so dass die Studie abgebrochen wurde (60). Erklärt wurde dieser Anstieg der Letalität durch die Unselektivität der NO-Blockade.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die NO-Synthase-Inhibitoren im Rahmen septischer Zustände potentielle Vasokonstriktoren sind und dadurch eine Stabilisierung der instabilen Hämodynamik bewirken. Jedoch sollten NO-Synthase-Inhibitoren die konventionelle Katecholamintherapie nicht ersetzen, sondern eventuell zur Supplementierung einer Katecholamintherapie eingesetzt werden.

Aufgrund der unselektiven NO-Blockade durch L-NAME ist der Einsatz aber nach wie vor kritisch zu bewerten und sollte daher in weiteren Studien überprüft werden.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Adrie, CH., Pinsky, MR. (1999): The inflammatory balance in human sepsis. *Intensivmedizin* 36: 419-428
2. Annane, D., Sebille, V., Charpentier, C. et al. (2002): Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 288: 862-871
3. Auguet, M., Guillon, JM., Delaflotte, S., Etiemble, E., Chabrier, PE., Braquet, P. (1991): Endothelium independent protective effect of N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine on endotoxin-induced alterations of vascular reactivity. *Life Sci* 48: 189-193
4. Avontuur, JAM., Rudolf, P., Nolthenius, T., Buijk, SLCE., Kanhai, KJK., Bruining, HA. (1998): Effect of L-NAME, an inhibitor of nitric oxide Synthesis, on cardiopulmonary function in human septic shock. *Chest* 113: 1640-1646
5. Avontuur, JAM., Nolthenius T., van Bodegom, RP., Bruining, HA. (1998): Prolonged inhibition of nitric oxide synthesis in severe septic shock: A clinical study. *Crit Care Med* 26: 660-667
6. Balk, RA. (2000): Pathogenesis and management of multiple organ dysfunction or failure in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 16: 337-352
7. Ball, HA., Cook, JA., Wise, WC., Halushka, PV. (1986): Role of thromboxane, prostaglandins and leukotrienes in endotoxic and septic shock. *Intensiv Care Med* 12: 116-126
8. Balligand, JL., Ungureanu, D., Kelly, RA., Kobzik, L., Pimental, D., Michel, T., Harding, SE. (1993): Abnormal contractile function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac myocytes follows exposure to activated macrophage-conditioned medium. *J Clin Invest* 91: 2314-2319
9. Bansal, V., Toga, H., Raj, JU. (1993): Tone dependent nitric oxide production in ovine vessels in vitro. *Respir Physiol* 93: 249-260
10. Bates, DW., Sands, KE., Miller, E., Lanke, PN., Hibberd, PL., Graman, PS., Schwartz, JS., Kahn, KL., Snyderman, DR., Parsonnet, J., Moore, R., Black, E., Johnson, BL., Jha, A., Platt, R. (1998): Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. *J Infect Dis* 176: 1538-1551

11. Bauer, M. (1996): Pathophysiology of sepsis. Current concepts. *Anästhesist* 45: 312-322
12. Berghe van den, G., Wouters, P., Weckers, F. et al. (2001): Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 345: 1359-1367
13. Bernard, GR., Vincent, JL., Laterre, PF. et al. (2001): Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 344: 699-709
14. Bochud, PY., Calandra, T. (2003): Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *B Med J* 326: 262-266
15. Bone, HG., Sielenkämper, A., Booke, M. (1999): Sauerstoffangebot in der Sepsis. *Anästhesist* 48: 63-79
16. Bone, HG., Waurick, R., Van Aken, H., Booke, M., Prien, T., Meyer, J. (1998): Comparison of the haemodynamic effects of nitric oxide synthase inhibition and nitric oxide scavenging in endotoxaemic sheep. *Intensive Care Med* 24: 48-54
17. Bone, RC., Fisher, CJ., Clemmer, TP., Slotman, GJ., Metz, CA., Balk, RA., The Methylprednisolone Sepsis Study Group. (1989): Sepsis syndrome: a valid clinical entity. *Crit Care Med* 17: 389-393
18. Bone, RC. (1991): The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 115: 457-469
19. Bone, RC., Balk, RA., Cerra, FB., Dellinger, RP., Fein, AM., Knaus, WA., Schein, RMH., Sibbald, WJ., the ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. (1992): Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 101: 1656-1662
20. Booke, M., Meyer, J., Linnau, W., Hinder, F., Traber, LD., Traber, DL. (1995): Use of nitric oxide inhibitors in animal models of sepsis. *New Horizons* 3: 123-138
21. Booke, M., Traber, LD., Traber, DL. (1995): Use of nitric oxide synthase inhibitors to reserve hyperdynamic circulation and MOF. Role of nitric oxide in sepsis and ARDS. *Fink, MP., Payen, D., Hrsg., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg* : 217-231
22. Booke, M., Hinder, F., McGuire, R., Traber, LD., Traber, DL. (1996): Nitric oxide synthase inhibition versus norepinephrine in ovine sepsis: effects on regional blood flow. *Shock* 5: 362-370

23. Booke, M., Hinder, F., McGuire, R., Traber, LD., Traber, DL. (1996): Nitric oxide synthase inhibition versus norepinephrine for the treatment of hyperdynamic sepsis in sheep. *Crit Care Med* 24: 835-844
24. Booke, M., Möllhoff, T., Meyer, J. (1998): Katecholamintherapie in der Sepsis. *Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung* 2: 27-31
25. Booke, M., Hinder, F., McGuire, R., Traber, LD., Traber, DL. (2000): Noradrenaline and nomega-monomethyl-L-arginine (L-NMMA): effects on haemodynamics and regional blood flow in healthy and septic sheep. *Clin Sci* 98: 193-200
26. Brady, AJ., Wilson, PA., Harding, SE., Warren, JB. (1992): Nitric oxide production within cardiac myocytes reduces their contractility in endotoxemia. *Am J Physiol* 263: H1963-H1966
27. Braquet, P., Paubert-Braquet, M., Vargaftig, BB. (1987): Platelet activating factor, a potential mediator of shock. *Advanc Prostagl Thrombox Leukotr Res* 17: 818
28. Brun-Bruissson, C., Dayon, F., Carlet, J., et al.(1995): Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. *JAMA* 274: 968-974.
29. Brun-Buisson, C. (2000): The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive Care Med* 26: 64-74
30. Bull, BS., Bull, MH. (1994): Hypothesis: disseminated intravascular inflammation as the inflammatory counterpart of disseminated intravascular coagulation. *Proc Nat I Acad Sci USA* 91: 8190-8194
31. Buxton, IL., Cheek, DJ., Eckman, D., Westfall, DP., Sanders, KM., Keef, KD. (1993): N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Cir Res* 72: 387-395
32. Court, O., Kumar, A., Parrillo, JE., Kumar, A. (2002): Clinical review: Myocardial depression in sepsis and septic shock. *Crit Care* 6: 500-508
33. Crouser, ED., Dorinsky, PM. (1996): Metabolic consequences of sepsis: correlation with altered intracellular calcium homeostasis. *Clin Chest Med* 17: 249-261
34. Dal Nogare, AR. (1991): Septic shock. *Am J Med Sci* 302: 50-65
35. Danner, RL., Elin, RJ., Hosseini, JM., Wesley, RA., Reilly, JM., Parillo, JE. (1994): Endotoxemia in critically ill patients. *Clin Res* 36: 370a

36. Dellinger, RP., Zimmermann, JL., Taylor, RW. et al. (1998): Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group. *Crit Care Med* 26: 15-23
37. Doughty, L., Carcillo, JA., Kaplan, S., Janosky, J. (1998): Plasma nitrite and nitrate concentrations and multiple organ failure in pediatric sepsis. *Crit Care Med* 26: 157-162.
38. Doyle, RL., Szaflarski, N., Modin, GW., Wiener-Kronish, JP., Matthay, MA. (1995): Identification of patients with acute lung injury. Predictors of mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 1818-1824
39. Dünser, M., Wenzel, V., Mayr, AJ., Hasibeder, WR. (2002): Arginin-Vasopressoren im vasodilatatorischen Schock. *Anästhesist* 51: 650-659
40. Dunnett, CW. (1964): New tables for multiple comparison with a control. *Biometrics* 20: 482-491
41. Ehardt, JS., Nelson, SH., Hinder, F., Booke, M., Traber, LD., Traber, DL. (1995): Effects of an atrial natriuretic peptide (ANP) inhibitor, HS 142-1, in isolated blood vessels from septic sheep. *FASEB J* 9 (4): 5153 (Abstr.)
42. Endres, S., Eigler, A. (1997): Hemmung der NO-Synthase im septischen Schock. *Der Internist* 38: 466-469
43. Engelmann, L. (2002): Gibt es reale Chancen zur Letalitätssenkung bei Sepsis? *Medizin im Dialog Sonderausgabe Sepsis*: 2-7
44. Esmon, CT., Fukudome, K., Mather, T., et al. (1999): Inflammation, sepsis, and coagulation. *Hematologica* 84: 254-259
45. Evans, HG., Lewis, MJ., Shah, AM. (1993): Interleukin-1beta modulates myocardial contraction via dexamethasone sensitive production of nitric oxide. *Cardiovasc Res* 27: 1486-1490
46. Fink, M. (1997): Cytopathic hypoxia in sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 110: 87-95
47. Friedman, G., De Backer, D., Shala, M., Vincent, JL. (1998): Oxygen supply dependency can characterize septic shock. *Intensive Care Med* 24: 118-123
48. Fleming, I., Gray, GA., Julou Schaeffer, G., Parratt, JR., Stoclet, JC. (1990): Incubation with endotoxin activates the L-arginine pathway in vascular tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 171: 562-568
49. Furchgott, RF., Zawadski, JV. (1980): The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376

50. Geller, DA., Nussler, AK., Di Silvio, M., Lowenstein, CJ., Shapiro, RA., Wang, SC., Simmons, RL., Billiar, TR. (1993): Cytokines, endotoxin, and glucocorticoids regulate the expression of inducible nitric oxide synthase in hepatocytes.  
Proc Natl Acad Sci USA 90: 522-526
51. George, WJ., Wilkerson, RD., Kadowitz, PJ. (1973): Influence of acetylcholine on contractile force and cyclic nucleotide levels in the isolated perfused heart.  
J Pharmacol Exp Ther 184: 228-235
52. Gomez-Jimenez, J, Salgado A, Mourelle M. et al. (1995): L-arginine: nitric oxide pathway in endotoxemia and human septic shock. Crit Care Med 23: 253-258
53. Goodson, AR., Leibold, JM., Guttermann, DD. (1994): Inhibition of nitric oxide synthesis augments centrally induced sympathetic coronary vasoconstriction in cats.  
Am J Physiol 267: H1272-H1278
54. Goris, RJA. (1993): Shock, sepsis, and multiple organ failure: the result of whole-body inflammation.
55. Granger, DN., Benoit, JN., Suzuki, M. und Grisham, MB. (1989): Leukocyte adherence to venular endothelium during ischemia-reperfusion.  
Am J Physiol 20: 683-688
56. Granger, DN., Kubes, P. (1994): The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. J Leukocyte Biol. 55: 662-675
57. Green, LC., Tannenbaum, SR., Goldman, P. (1981): Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. Science 212: 56-58
58. Green, LC., De Luzuriaga, KR., Wagner, DA., Rand, W., Istfan, N., Young, UR., Tannenbaum, SR.(1981): Nitrite biosynthesis in man. Proc Natl Acad Sci USA 78:7764-7768
59. Grocott-Mason, R., Shah, A. (1998): Cardiac dysfunction in sepsis: new theories and clinical implications. Intensive Care Med 24: 286-295
60. Grover, R., Lopez, A., Lorente, J. et al. (1999): Multicenter, randomized, placebo controlled, double blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival of patients with septic shock. Crit Care Med 27 (Suppl 1): A33
61. Halmagyi, DFJ., Starzeki, B., Horner, GJ. (1963): Mechanism and pharmacology of endotoxin shock in sheep. J Appl Physiol 3: 544-552

62. Hack, CE., Zeerleder, S. (2001): The endothelium in sepsis: source of and a target for inflammation. *Crit Care Med* 29 (Suppl.): 21-27
63. Han, X., Shimoni, Y., Giles, WR. (1994): An obligatory role of nitric oxide in autonomic control of mammalian heart rate. *J Physiol* 476: 309-314
64. Harada, S., Tokunaga, S., Momohara, M., Masaki, H., Tagawa, T., Imaizumi, T., Takeshita, A. (1993): Inhibition of nitric oxide formation in the nucleus tractus solitarius increases renal sympathetic nerve activity in rabbits. *Cir Res* 72: 511-516
65. Hazinski, MF., Iberti, TJ., Mac Intyre, NR., Parker, MM., Tribett, D., Prion, S., Chmel, H. (1993): Epidemiology, pathophysiology and clinical presentation of gram-negative sepsis  
*Am J Crit Care* 2: 224-235
66. Heinrich, PC., Castell, JV., Andus, T. (1990): Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 265: 621-636
67. Henning, RJ., Khalil, IR., Levy, MN. (1990): Vagal stimulation attenuates sympathetic enhancement of left ventricular function. *Am J Physiol* 258: H1470-H1475
68. Hinder, F., Booke, M., McGuire, R., Traber, LD., Traber, DL. (1995): Blockage of the receptor for atrial natriuretic peptide during ovine sepsis increases pulmonary transvascular fluid flux without evidence of high protein edema. *Anesthesiology* 81: A 335 (Abstract)
69. Hinder, F., Meyer, J., Booke, M., Ehard, JS., Salsbury, JS., Traber, LD., Traber, DL. (1998a): Endogenous NO and the pulmonary microvasculature in healthy sheep and during systemic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 1542-1549
70. Hinder, F., Stubbe, HD., Van Aken, H., Waurick, R., Booke, M., Meyer, J. (1999): Role of nitric oxide in sepsis-associated pulmonary edema.  
*Am J of Res and Crit Care Med* 159: 252-257
71. Hinshaw, LB. (1996): Sepsis/septic shock: Participation of the microcirculation: An abbreviated review. *Crit Care Med* 24: 1072-1078
72. Hoffman WD., Natanson C. (1993): Endotoxin in septic shock. *Anesth Analg* 77: 613-624
73. Hollenberg, SM, Easington, CR, Osman, J., Broussard, M., Parillo, JE. (1999): Effects of nitric oxide synthase inhibition on microvascular reactivity in septic mice. *Shock* 12: 262-267



74. Holtzman, MJ. (1991): Arachidonic acid metabolism. Implications of biological chemistry for lung function and disease. *Am Rev Respir Dis* 143: 188-203
75. Hotchkiss, RS, Karl, I. (2003): The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl Med* 348: 138-150
76. Hudson, LD., Milberg, JA., Anardi, D., Maunder, RJ. (1995): Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 151: 293-301
77. Hu, ZW., Miller, JW., Hoffmann, BB. (1994): Induction of enhanced release of endothelium-derived relaxing factor after prolonged exposure to  $\alpha$ -adrenergic agonists: role in desensitization of smooth muscle contraction. *J Cardiovas Pharmacol* 23: 337-343
78. Hwang, TL., Lau, YT., Huang, SF., Chen, MF., Liu, MS. (1994): Changes of  $\alpha$ -adrenergic receptors in human liver during intraabdominal sepsis. *Hepatology* 20: 638-642
79. Ignarro, LJ., Buga, GM., Wood, KS., Byrne, RE., Chaudhuri, G. (1987): Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Nat Acad Sci* 84: 9265-9269
80. Jacob, L. (1909): Über Allgemeininfektion durch Bakterium coli commune. *Dt Arch Klein Med* 97: 303-347
81. Kiehl, MG., Ostermann, H., Meyer, J., Kienast, J. (1997): Nitric oxide synthase inhibition by L-NAME in leukocytopenic patients with severe septic shock. *Intensive Care Med* 23: 561-566
82. Kilbourn, RG., Belloni, P. (1990a): Endothelial cell production of nitrogen oxides in response to interferon gamma in combination with tumor necrosis factor, interleukin-1, or endotoxin. *J Natl Cancer Inst* 82: 772-776
83. Kilbourn, RG., Jubran, A., Gross, SS., Griffith, OW., Levi, R., Adams, J., Lodato, RF. (1990c): Reversal of endotoxin-mediated shock by N<sup>G</sup>-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 172: 1132-1138
84. Kilbourn, RG., Joly, G., Cashon, B., DeAngelo, J., Bonaventura, J. (1994): Cell-free hemoglobin reverses the endotoxin-mediated hyporesponsivity of rat aortic rings to alpha-adrenergic agents. *Biochem Biophys Res Commun* 199: 155-162

85. Kilbourn, RG., Szabo, C., Traber, DL. (1997): Beneficial versus detrimental effects of nitric oxide synthase inhibition in circulatory shock: lessons learned from experimental and clinical studies. *Shock* 7: 235-246
86. Kilbourn, RG., Traber, DL., Szabo, C. (1997): Nitric oxide and shock. *Disease-a-Month* 43: 281-348
87. Kirkeboen, KA., Strand, OA. (1999): The role of nitric oxide in sepsis: an overview. *Acta Anaesthesiol Scand* 43: 275-288
88. Klabunde, RE., Ritger, RC., Helgren, MC. (1991): Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) formation/release in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol* 199: 51-59
89. Klimaschewski, L., Kummer, W., Mayer, B., Couraud, JY., Preissler, U., Philippin, B., Heym, C. (1992): Nitric oxide synthase in cardiac nerve fibres and neurons of rat and guinea pig heart. *Circ Res* 71: 1533-1537
90. Koch, T., Duncker, HP., Rosenkranz, S., Neuhof, H., van Ackern, K. (1992): Alterations of filtration coefficients in pulmonary edema of different pathogenesis. *J Appl Physiol* 73: 2396-2402
91. Krafft, P., Fridrich, P., Pernerstorfer, T., Fitzgerald, RD., Koc, D., Schneider, B. et al. (1996): The acute respiratory distress syndrome: definitions, severity and clinical outcome- an analysis of 101 clinical investigations. *Int Care Med* 22: 519-529
92. Krombach, F. (1996): Molekulare Mechanismen der Leukozyten-Endothel-Interaktion. *Intensivmed* 33: 375-385
93. Kumagai, H., Averill, DB., Khosla, MC., Ferrario, CM. (1993): Role of nitric oxide and angiotensin II in the regulation in sympathetic nerve activity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 21: 476-484
94. Landin, L., Lorente, JA., Renes, E., Canas, P., Jorge, P., Liste, D. (1994): Inhibition of nitric oxide synthesis improves the vasoconstrictive effect of noradrenaline in sepsis. *Chest* 106: 250-256
95. Landsberg, JS., Parker, JD., Gauthier, DF., Colucci, WS. (1994): Effects of intracoronary acetylcholine and atropine on basal and dobutamine-stimulated left ventricular contractility. *Circulation* 89: 164-168

96. Loffelholz, K., Pappano, AJ. (1985): The parasympathic neuroeffector junction of the heart. *Pharmacol Rev* 37: 1-24
97. Lorente, JA., Landin, L., De Pablo, R., Renes, E., Liste, D. (1993): L-arginine pathway in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 21:1287-1295
98. Lorente, JA., Landin, L., Renes, E., De Pablo, R., Jorge, P., Rodenda, E., Liste, D. (1993b): Role of nitric oxide in the hemodynamic changes of sepsis. *Crit Care Med* 21: 759-767
99. MacFie, J., O'Boyle, C., Mitchell, CJ., Bickley, PM., Johnstone, D., Sudwort, P. (1999): Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora and septic morbidity. *Gut* 45: 223-228
100. Maclean, MR., Graham, J., McGrath, JC. (1994): Endogenous nitric oxide modulates vasopressor responses, but not depressor responses, to spinal sympathetic nerve stimulation in pithed rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 23: 319-325
101. Mac Naul, KL., Hutchinson, NI. (1993): Differential expression of iNOS and cNOS mRNA in human vascular smooth muscle cells and endothelial cells under normal and inflammatory conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 196: 1330-1334
102. Martich, GD., Boujoukos, AJ., Suffrendi, AF. (1993): Response of man to endotoxin. *Immunobiology* 187: 403-416
103. Martin, C., Leone, M., Ayem, ML. (2000): How to use norepinephrine in septic shock patients. *Intensivmed und Notfallmed* 37: 507-513
104. Meier-Hellmann, A. (2003): Standards in der Diagnostik und Therapie der Sepsis. *Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 38: 107-135
105. Menger, MD., Vollmar, B., Messmer, K. (1994): Sepsis and nutritional flow. In: Reinhart, K., Eyrich, K., Sprung, C. (eds.) *Sepsis-current perspectives in pathophysiology and therapy*. Springer, Berlin Heidelberg New York: 163-173
106. Meyer, J., Hinder, F., Stothert, JC., Traber, LD., Herndon, D., Traber, DL. (1994): Effects of nitric oxide synthesis inhibition in hyperdynamic endotoxemia. *Crit Care Med* 22: 306-312
107. Meyer, J. (1995): Hemmung der NO-Synthase im septischen Schock. In: Hartenauer, U. (eds.): *Sepsis in der Frühphase*. MMV Medizin Verlag München: 165-173
108. Messmer, K. (1989): Microcirculatory changes in endotoxemia and septic shock. In: Rheinart, K., Eyrich, K. (eds): *Sepsis*. Springer, Berlin: 36-41

109. Mitchell, HH., Schonle, HA., Grindly, HS. (1916): The origin of the nitrates in the urine.  
J Biol Chem 24: 461-490
110. Moncada, S., Palmer, RM., Higgs, EA. (1991): Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. Pharmacol Rev 43:109-142
111. Müller-Werdan, U., Reithmann, C., Werdan, K. (1996): Cytokines and the heart: Molecular mechanisms of septic cardiomyopathy. RG. Landes Company, Georgetown USA/Capman & Hall, New York USA/Springer Heidelberg
112. Müller-Werdan, U., Prondzinsky, R., Witthaut, R., Stache, N., Heinroth, K., Kuhn, C., Schmidt, H., Busch, I., Werdan, K. (1997): Das Herz bei Sepsis und MODS.  
Wien Klein Wochenschr (Suppl.1): 3-24
113. Naaber, P., Smidt, I., Tammé, K., Liigant, A., Tapfer, H., Mikelsaar, M., Talvik, R. (2000): Translocation of indigenous microflora in an experimental model of sepsis.  
J Med Microbiol 49: 431-439
114. Nelson, SH., Ehardt, JS., Lingnau, W., Dehring, DJ., Traber, LD., Traber, DL. (1996): Differential effects of prolonged septicemia on isolated pulmonary arteries and veins from sheep. Shock 5: 440-445
115. Nolan, JP. (1981): Endotoxin, reticuloendothelial function, and liver injury.  
Hepatology 1: 458-465
116. Oettinger, W., Berger, D., Beger, HG. (1987): The clinical significance of prostaglandins and thromboxane as mediators of septic shock.  
Klin Wschr 65: 61-68
117. Palmer, RMJ., Ferrige, AJ., Moncada, S. (1987): Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 327: 524-526
118. Palmer, RM., Hickery, MS., Charles, IG., Moncada, S., Bayliss, MT. (1993): Induction of nitric oxide synthase in human chondrocytes. Biochem Biophys Res Commun 193: 398-405
119. Parker, MM., Parillo, JE. (1990): Myocardial function in septic shock. J Crit Care 5: 47-61
120. Parsons, PE., Gillespie, MK., Moore, EE., et al. (1995): Neutrophil response to endotoxin in the adult respiratory distress syndrome: role of CD<sub>14</sub>. Am J Respir Cell Mol Biol 13: 152-160

121. Parillo, JE. (1989): The cardiovascular pathophysiology of sepsis. *Ann Rev Med* 40: 469-485
122. Parillo, JE. (1993): Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 328: 1471-1477
123. Payen, D., Bernard, C., Beloucif, S. (1996): Nitric oxide and sepsis. *Clin Chest Med* 17: 333-350
124. Petros, A., Lamb, G., Leone, A., Moncada, S., Bennet, D., Vallance, P. (1994): Effects of a nitric oxide synthase inhibition in humans with septic shock. *Cardiovascular Research* 28: 34-39
125. Pinner, RV. (1996): Trends in infectious disease mortality in the United States. *JAMA* 275: 189-193
126. Pittet, D., Thievent, B., Wenzel, RP., Li, N., Auckenthaler, Suter, PM (1996): Bedside Prediction of Mortality from Bacteremic Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 684-693
127. Prielipp, RC., Butterworth, J. (1999): Cardiovascular failure and pharmacological support after cardiac surgery. *New Horiz* 7: 472-488
128. Radomski, MW., Palmer, RM., Moncada, S. (1990b): Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 10043-10047
129. Rangel-Fausto, MS., Pittet, D., Castigan, M., et al. (1995): The natural history of the systemic inflammatory response syndrome. *JAMA* 273: 117-123
130. Redl, H., Schlag, G., Dinges, HP., Bahrami, S., Buurman, WA., Schade, U., Ceska, M. (1991): Trauma and sepsis induced activation of granulocytes, monocytes/macrophages and endothelial cells in primates. In: Schlag, G., Redl, H., Siegel, JH., Traber, DL. (eds.): *Shock, sepsis, and organ failure. Second Wiggers Bernard Conference, 1990.* Springer Verlag, Berlin: 297-322
131. Rietschel, ET., Brade, L., Brandenburg, K., et al. (1987): Chemical structure and biological activity of bacterial and synthetic lipid. *A Rev Infect Dis* 9: 527-536
132. Ries, H. (1998): Hämostasestörungen im Umfeld von Sepsis und SIRS. *Internist* 39: 479-484
133. Rivers, E., Ngyuen, B., Havstad, S., Ressler, J., Muzzin, A., Knoblich, B., Peterson, E., Tomlanovich, M. (2001): Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 345: 1368-1377

134. Robertson, FM., Offner, PJ., Ciceri, DP., Becker, WK., Pruitt JR, (1994): Detrimental hemodynamic effects of nitric oxide synthase inhibition in septic shock. Arch Surg 129: 149-155
135. Roger, C., Bone, MD. (1991): The Pathogenesis of Sepsis. Annal of Internal Medicine 115: 457-469
136. Sands, KE., Bates, DW., Lankester, PN., et al. (1997): Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. JAMA 278: 234-240
137. Schäffer, M., Witte, M., Gottwald, T., Köveker, G., Becker, HD. (1997): Stickstoffmonoxid: Mediator der Gewebsreparation? Dtsch Med Wschr 122: 339-345
138. Schlag, G., Redl, H. (eds.): Pathophysiology of shock, sepsis and organ failure. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg: 7-24
139. Schmidt, HW., Walter, U., Kochsiek, K. (1997): Bildung und Wirkung von Stickstoffmonoxid im vaskulären System. Der Internist 38: 406-410
140. Schottmüller, H. (1914): Wesen und Behandlung der Sepsis. Verh Dtsch Ges Inn Med 31: 257-280
141. Schütz, W., Anhäupl, A., Gauss, A. (2000): Grundsätze der Katecholamintherapie. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 35: 67-81
142. Schulz, R., Nava, E., Moncada, S. (1992): Induction and potential biological relevance of a  $Ca^{2+}$ -independent nitric oxide synthase in the myocardium. Br J Pharmacol 105: 575-580
143. Schumacker, PT. (1998): Oxygen supply dependency in critical illness: an evolving understanding. Intensive Care Med 24: 97-99
144. Schwartzmann, G. (1928): Studies on Bacillus typhosus toxic substances. A Phenomenon of local skin reactivity to B typhosus culture filtrate. J Exp Med 38: 247-268
145. Seeger, W. (1993): Prophylaxe des akuten Lungenversagens. Med Klin 88: 231-246
146. Shan, Q., Bourreau, JP. (2000): Cardiac and vascular effects of nitric oxide synthase inhibition in lipopolysaccharide-treated rats. Eur J Pharm 406: 257-264

147. Shapiro, L., Gelfand, JA. (1993): Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy.  
New Horizons 1: 13-22
148. Shoemaker, WC. (1995): Diagnosis and treatment of the shock syndromes.  
In: Shoemaker, WC., Ayres, SM., Grenvik, A., Holbrook, PR. (eds.): Textbook of Critical Care.  
Vol Third Edition Philadelphia: Saunders, WB. : 85-102
149. Sibbald, WJ., Fox, G., Martin, C. (1991): Abnormalities of vascular reactivity in the sepsis syndrome. Chest 100: 155-159
150. Sibbald, WJ., Vincent, JL. (1995): Round table conference on clinical trials for the treatment of sepsis. Crit Care Med 23: 394-399
151. Spath, JA., Sloane, PJ., Gee, MH., Albertine, KH. (1994): Loss of endothelium-dependent vasodilation in the pulmonary vessels of sheep after prolonged endotoxin.  
J Appl Physiol 76: 361-369
152. Sprung, CL., Rackow, EC., Civetta, JM. (1989): Direkte Messung mit Hilfe des Pulmonalarterienkatheters und abgeleitete Messgrößen.  
Sprung, CL. (Hrsg.): Pulmonalarterienkatheter Methodik und klinische Anwendung. Springer Verlag, Berlin: 99-134
153. Sriskandan, S., Cohen, J. (1995): The pathogenesis of septic shock.  
Journal of infection 30: 201-206
154. Stamler, JS., Jia, L., Eu, JP., Mc Mahon, TJ., Demchenko, T., Bonaventura, J., Gernet, K., Piantadosi, CA. (1997): Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. Science 276: 2034-2037
155. Stuehr, DJ., Marletta, MA. (1985): Mammalian nitrate biosynthesis: Mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide.  
Proc Natl Acad Sci USA 82: 7738-7742
156. Suffredini, AF., Fromm, RE., Parker, MM., Brenner, M., Kovacs, JA., Wesley, RA., Parillo, JE. (1989): The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. N Engl J Med 321: 280-287
157. Tannenbaum, SR., Fett, D., Young, VR., Land, PD., Bruce, WR. (1978): Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in human intestine. Science 200: 1487-1488

158. Teerlink, JR., Gray, GA., Clozel, M., Clozel, JP. (1994): Increased vascular responsiveness to norepinephrine in rats with heart failure is endothelium dependent. Dissociation of basal and stimulated nitric oxide release. *Circulation* 89: 393-401
159. Thiemermann, C. (2001): Globale und regionale Zirkulationsstörungen bei Sepsis. *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 38: 3831-3838
160. Thijs, LG., Hack, CE. (1995): Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med* 21: 258-263
161. Thorin, E., Atkinson, J. (1994): Modulation by the endothelium of sympathetic vasoconstriction in an in-vitro preparation of the rat tail artery. *Br J Pharmacol* 111: 351-357
162. Toda, N., Yoshida, K., Okamura, T. (1991): Analysis of the potentiating action of N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine on the contraction of the dog temporal artery elicited by transmural stimulation of noradrenergic nerves. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 343: 221-224
163. Tresham, JJ., Dusting, GJ., Coghlan, JP., Whitworth, JA. (1991): Haemodynamic and hormonal effects of N-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide biosynthesis, in sheep. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 18: 327-330
164. Treggiari, MM., Romand, JA., Burgener, D., Suter, PM., Aneman, A. (2002): Effect of increasing norepinephrine dosage on regional blood flow in a porcine model of endotoxin shock. *Crit Care Med* 30: 1334-1339
165. Träger, K., Radermacher, P., Rieger, KM., Grover, R., Vlatten, A., Iber, T., Adler, J., Georgieff, M., Santak, B. (2000): Norepinephrine and N(G)-monomethyl-L-arginine in hyperdynamic septic shock in pigs: effects on intestinal oxygen exchange and energy balance. *Crit Care Med* 28: 2007-2014
166. Tschaikowsky, K., Georgieff, M. (1990): Cytokines-Immune Modulators in sepsis, shock and organ failure. *Anästhesiologie und Intensivmedizin* 31: 114-119
167. Vincent, JL. (1993): Oxygen transport in severe sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 98: 29-31
168. Vincent, JL., Thijs, L., Reinhart, K., Hazelzet, J., Brun-Buisson, CH., Carlet, J., LeGall, JR., Suter, P., Takala, J., Cohen, J., Edwards, D., Glauser, M., Guillo, A., Hemmer, M., Lamy, M., Langer, M., Rello, J., Schuster, HP., Bihari, D., Goris, J. (1994): The problem of sepsis: An expert report of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 20: 300-304



169. Vincent, JL. (2000): Update on sepsis: pathophysiology and treatment. *Acta Clin Belg* 55: 79-87
170. Vincent, JL. (2001): Microvascular endothelial dysfunction: a renewed appreciation of sepsis pathophysiology. *Crit Care Med* 5: 1-5
171. Vervloet, MG., Thijs, LG., Hack, CE. (1998): Derangements of coagulation and fibrinolysis in critically ill patients with sepsis and septic shock. *Semin Thromb Hemost* 24: 33-44
172. Waage, A., Espevik, T. (1988): Interleukin-1 potentiates the lethal effect of tumor necrosis factor-alpha/cachectine in mice. *J Exp Med* 167: 1987-1992
173. Wallerath, T., Gath, I., Aulitzky, WE., Pollock, JS., Kleinert, H., Förstermann, U. (1997): Identifikation of the NO synthase isoforms expressed in human neutrophil granulocytes, megakaryocytes and platelets. *Thrombosis and Hemostasis* 77: 163-167
174. Wan, S., Yim, AP., Vincent, JL. (1999): Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *New Horiz* 7: 462-471
175. Warr, TA., Mohan Rao, LV., Rapaport, SI. (1990): Disseminated intravascular coagulation in rabbits induced by administration of endotoxin or tissue factor: effect of anti-tissue factor antibodies and measurement of plasma extrinsic pathway inhibitor activity. *Blood* 320: 1207-1209
176. Weigand, MA., Bardenheuer, HJ., Böttiger, BW. (2003): Klinisches Management bei Patienten mit Sepsis. *Anästhesist* 52: 3-22
177. Welbourn, CRB., Young, V. (1992): Endotoxin, septic shock and acute lung injury: neutrophils, macrophages and inflammatory mediators. *Br J Surg* 79: 998-1003
178. Werdan, K. (2001): Einsatz hämodynamisch aktiver Substanzen bei septischer Kardiomyopathie. *Intensivmed* 38: 138-143
179. Windsor, ACJ., Mullen, PG., Fowler, AA., Sugerman, HJ. (1993): Role of neutrophil in adult respiratory distress syndrome. *Br J Surg* 85: 10-17
180. Wolfe, TA., Dasta, JF. (1995): Use of nitric oxide synthase inhibitors as a novel treatment for septic shock. *Ann Pharmacother* 29: 36-46
181. Wong, HR., Carcillo, JA., Burckart, G., Shah, N., Janosky, JE. (1995): Increased serum nitrite and nitrate concentrations in children with the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 23: 835-842

182. Wood, ER., Berger, H., Sherman, PA., Lapetina, EG. (1993): Hepatocytes and macrophages express an identical cytokine inducible nitric oxide synthase gene.  
Bioch Biophys Res Comm 191: 767-774
183. Wright, SD., Ramos, RA., Tobias, PS., Ulevitch, RJ., Mathison, JC. (1990):  
CD 14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein.  
Science 249: 1431-1433
184. Wright, CE., Rees, DD., Moncada, S. (1992): Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. Cardiovasc Res 26: 48-57
185. Xie, Q., Nathan, C. (1994): The high-output nitric oxide pathway: role and regulation.  
J Leukocyte Biol 56: 576-582
186. Youn, YK., Knox, J., LaLonde, C., Demling, R. (1993): Pentoxifylline does not prevent endotoxin induced lung and liver lipid peroxidation in the adult sheep.  
Cir Shock 39: 39-43
187. Zanetti, G., Baumgartner, JD., Glauser, MP. (1997): Sepsis and septic shock.  
Schweiz Med Wochenschr 127: 489-499
188. Zanziger, J., Czachurski, J., Sellar, H. (1994): Inhibition of sympathetic vasoconstriction is a major principle of vasodilatation by nitric oxide in vivo.  
Circ Res 75: 1073-1077
189. Zappellini, A., Moreno, JNH., Antunes, E., de Nucci, G. (1997): Dissociation between the increase in systemic vascular resistance induced by acute nitric oxide synthesis inhibition and the decrease in cardiac output in anesthetized dogs. J Cardiovasc Pharmacol. 29: 45-48
190. Zimmermann, JJ. (1995): Defining the role of oxyradicals in the pathogenesis of sepsis.  
Crit Care Med 23: 616-617

## 8. Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei allen, die dazu beigetragen haben, dass diese Arbeit entstehen konnte, vor allem bei:

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. H. Van Aken für die freundliche Überlassung dieses Themas.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. med. H.-G. Bone für die intensive Betreuung und die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente, sowie bei der Auswertung der Ergebnisse und der Durchsicht der Niederschrift.

Mein besonderer Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. med. R. Waurick der mir Dank seiner Erfahrung bei der Erstellung von Doktorarbeiten viele Ratschläge und wertvolle Hilfen zur Verfügung stellte.

Mein Dank gilt ebenso den Mitarbeitern der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der WWU- Münster und ganz besonders Herrn J. Kleimann für seine kompetente Hilfe bei der Durchführung der Experimente.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken, insbesondere bei meinem Neffen Herrn Chr. Kranz für seine unermüdliche Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit, obwohl er selbst in eigene umfangreiche Forschungsarbeiten eingebunden war.

Ebenso bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. med. G. Eikenbusch für ihre wertvolle Hilfe bei der Ausfertigung und Korrektur der Arbeit.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Freundin Ruth Boche für ihre Geduld und Toleranz, die mich in jeglicher Hinsicht darin unterstützt hat diese Arbeit fertig zustellen.

## 9. Lebenslauf

Name	Elisabeth Agnes Gervink
Geburtsdatum/-ort	02. Februar 1962 in Nordhorn
Adresse	Hansaring 6, 48155 Münster
Familienstand	Ledig
Eltern	Bernhard und Elisabeth Gervink
Derzeitige Beschäftigung	Assistenzärztin, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin Universitätsklinikum Münster (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Van Aken)

### Schulbildung

---

1969-1973	Grundschule in Nordhorn und Steinfurt
1973-1979	Volksschule in Steinfurt
1989-1992	Westfalen-Kolleg Dortmund Erlangung der Hochschulreife

### Berufliche Ausbildung

---

1981-1984	Krankenpflegeschule St. Vincenz-Hospital Coesfeld Ausbildung zur Krankenschwester
-----------	---

### Berufliche Fortbildung

---

1987-1989	Weiterbildungsstätte für Anästhesie und Intensiv- Medizin des Universitätsklinikums Münster Weiterbildung zur Fachkrankenschwester für Anästhesie und Intensivmedizin
-----------	--

### Studium

---

1992-1993	Studium der Biologie, WWU Münster
1993-2000	Studium der Humanmedizin an der WWU Münster

#### **Examina**

Sommer 1995	Ärztliche Vorprüfung
Sommer 1996	Erstes Staatsexamen
Frühjahr 1999	Zweites Staatsexamen
Frühjahr 2000	Drittes Staatsexamen

**Berufliche Beschäftigung**

---

1984-1985	Beschäftigung als Krankenschwester auf der interdisziplinären Intensivstation des St. Marienhospital Lüdinghausen
1985-1989	Beschäftigung als Krankenschwester auf den operativen Intensivstationen und Anästhesie des Universitätsklinikums Münster
1989-2000	Intermittierende Beschäftigung als Fachkrankenschwester für Anästhesie und Intensivmedizin auf den operativen Intensivstationen des Universitätsklinikums Münster
2000-2002	Beschäftigung als Ärztin im Praktikum und Assistenzärztin in der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin der Raphaelsklinik Münster (Direktor: Dr. med. N. Mertes)

## 10. Abkürzungsverzeichnis

ACH	Acetylcholin
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
ANP	atriales natriuretisches Peptid
apH	arterieller pH-Wert
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
CI	Cardiac-Index
cGMP	zyklisches Guanosin-Monophosphat
cNOS	konstitutionelle NO-Synthase
DO <sub>2</sub>	Sauerstoffangebot
ECAM	extrazelluläres Adhäsionsmolekül
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor
eNOS	endotheliale NO-Synthase
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
ICAM	intrazelluläres Adhäsionsmolekül
IL	Interleukin
LAP	linksatrialer Druck
LBP	Lipopolysaccharide Binding Protein
L-NAME	N <sup>G</sup> -Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester
L-NMMA	N <sup>G</sup> -Monomethyl-L-Arginin
LPS	Lipopolysaccharid (Endotoxin)
LVSWI	linksventrikulärer Schlagarbeitsindex
MAD	mittlerer arterieller Druck
MPAD	mittlerer pulmonal arterieller Druck
iNOS	induzierbare NO-Synthase
nNOS	neuronale NO-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthasen
OE	Sauerstoffextraktionsrate
PaCO <sub>2</sub>	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	pulmonalarterieller Druck
PCWP	pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PGF	Prostaglandin F
PGI	Prostacyclin I
PVRI	pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
RVSWI	rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SVI	Schlagvolumen-Index
SvO <sub>2</sub>	gemischt-venöse Sauerstoffsättigung
SVRI	systemvaskulärer Widerstandsindex
Temp	Temperatur
TF	Tissue Factor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TXA	Prostanoide Thromboxan A
VO <sub>2</sub>	Sauerstoffverbrauch
ZVD	Zentral-venöser Druck