
Universitätsklinikum Ulm
Aus der Klinik für Anästhesiologie der Universitätsklinik Ulm
Sektion Anästhesiologische
Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung

Prof. Dr. Dr. med. h. c. P. Radermacher

**Hämodynamische Beeinflussung des hyperdynamischen
septischen Schocks im Großtiermodell**

-

Noradrenalin und ein selektiver V1a- Agonist

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Matthias Christoph Michael Klotz
aus Münster

2010

Amtierender Dekan: Prof. Dr. T. Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. P. Radermacher

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Kornmann

Tag der Promotion: 10.06.2011

Inhaltsverzeichnis

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	I
<u>Verzeichnis der Abkürzungen</u>	III
1. <u>Einleitung</u>	1
1.1 Definitionen der Sepsis	1
1.2 Hypotension im septischen Schock und die derzeitige Standardtherapie	1
1.3 Vasopressintherapie als mögliche Alternative	2
1.4 Vasopressin und sein Rezeptorprofil	3
1.5 Fragestellung	5
2. <u>Material und Methoden</u>	6
2.1 Das Schwein als Versuchstier	6
2.2 Das Studienkonzept	9
2.3 Gemessene Parameter und histologische Aufarbeitung	11
2.4 Datenverarbeitung und statistische Auswertung	21
3. <u>Ergebnisse</u>	23
3.1 Allgemeine Erhebungsdaten	23
3.2 Systemische Hämodynamik	23
3.3 Die Medikamentenapplikation	25
3.4 Der Flüssigkeitshaushalt	25
3.5 Sauerstoffangebot und –Verbrauch sowie der Sauerstoffpartialdruck	27
3.6 Systemische - metabolische Parameter	28
3.7 Lokale - metabolische Parameter	28
3.8 Parameter der Nierenfunktion	29
3.9 Troponin und histologische Ergebnisse	30
4. <u>Diskussion</u>	35

4.1 Das Studienmodell	35
4.2 Systemische Hämodynamik	36
4.3 Der Flüssigkeitshaushalt	39
4.4 Sauerstoffangebot und –Verbrauch sowie der Sauerstoffpartialdruck	41
4.5 Metabolische Parameter	42
4.6 Parameter der Nierenfunktion	45
4.7 Troponin und histologische Ergebnisse	45
5. <u>Zusammenfassung</u>	<u>49</u>
6. <u>Literaturverzeichnis</u>	<u>51</u>
7. <u>Danksagung</u>	
8. <u>Lebenslauf</u>	

Verzeichnis der Abkürzungen

°C:	Grad Celsius
µg:	Mikrogramm
µl:	Mikroliter
Abb.:	Abbildung
Abs:	Absatz
ACCP:	American College of Chest Physicians
ARDS:	Acute Respiratory Distress Syndrome
AVP:	Vasopressin
BE:	Basenabweichung
Best.-Nr.:	Bestellnummer
bidest:	bidestilliert
bpm:	beats per minute
ca:	circa
cAMP:	cyclisches Adenosinmonophosphat
cmH ₂ O:	Zentimeter Wassersäule
CO ₂ :	Kohlenstoffdioxid
dest.:	Destilliert
DIC:	Disseminierte intravasale Gerinnung
DO ₂ :	Sauerstoffangebot
EKG:	Elektrokardiogramm
F VIII:	Faktor VIII
FiO ₂ :	inspiratorischer Sauerstoffanteil
g(DO ₂):	(Sauerstoffangebot) im Darm
GFR:	Glomeruläre Filtrationsrate
h(DO ₂):	(Sauerstoffangebot) der Leber
H.E.:	Hämatoxylin-Eosin
h:	Stunde
H ₂ O:	Wasser
Hb:	Hämoglobin
HES:	Hydroxyethylstärke
HF:	Herzfrequenz
hv:	hepatovenös

Abkürzungsverzeichnis

HZV:	Herzzeitvolumen
I/E Ratio:	Verhältnis von Inspirationsdauer zu Expirationsdauer
KC:	Kreatinin-Clearance
KCL:	Kaliumchlorid
kg:	Kilogramm
KOH:	Kaliumhydroxid
L/P-Q:	Laktat-Pyruvat-Quotient
l:	Liter
LDH:	Laktatdehydrogenase
Lsg.:	Lösung
MAP:	mittlerer, arterieller Druck
min:	Minute
ml:	Milliliter
mM:	millimolar
mmHg:	Millimeter Quecksilbersäule
mmol:	millimol
MPAP:	Mittlerer pulmonal arterieller Druck
MZP:	Messzeitpunkt
NAD:	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
nm:	Nanometer
NO:	Stickstoffmonoxid
O ₂ :	Sauerstoff
P _a CO ₂ :	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PAOP:	pulmonal arterieller Okklusionsdruck
pCO ₂ :	Kohlendioxidpartialdruck
PEEP:	Positive end expiratory pressure
pM:	Pikomolar
pmol:	Pikomol
pO ₂ :	Sauerstoffpartialdruck
pv:	portalvenös
RAAS:	Renin-Angiotension-Aldosteron-System
s (pH):	arterieller (pH)
s.u.:	siehe unten

Abkürzungsverzeichnis

SCCM:	Society of Critical Care Medicine
SIRS:	Systemic inflammatory response syndrome
sys:	systolisch
TdT:	Terminale Desoxynucleotidyl Transferase
U:	Units
VO ₂ :	Sauerstoffverbrauch
vs.:	versus
VWF:	von Willebrand-Faktor
ZVD:	Zentralvenöser Druck

1. Einleitung

1.1 Definitionen der Sepsis

Der Begriff „Sepsis“ bezeichnet einen Zustand, bei dem zusätzlich zu einem „Septic Inflammatory Response Syndrom“ eine Infektion kausal wahrscheinlich oder bewiesen ist. Eine Bakteriämie kann bei Sepsis vorliegen, ist aber für die Diagnosestellung nicht erforderlich [1, 18, 21]. Die Bezeichnung „schwere Sepsis“ grenzt sich hiervon durch eine manifeste, aus der Sepsis resultierende Organschädigung ab. In diesem Stadium liegt meist eine Hypotension, welche jedoch durch die Gabe von Volumenersatzmitteln beherrscht werden kann, vor [18, 128]. Sobald Vasopressoren zur adäquaten Aufrechterhaltung des Kreislaufs zum Einsatz kommen, spricht man definitionsgemäß von einem septischen Schock [18, 128]. Diese Definitionen und Kriterien lehnen sich an den Beschluss der Konsensuskonferenz der „Society of Critical Care Medicine“ und des „American College of Chest Physicians“ im Jahr 1991 [1, 18, 21]. Zur detaillierten Erörterung der Begrifflichkeiten und Kriterien siehe www.sccm.org [146].

1.2 Hypotension im septischen Schock und die derzeitige Standardtherapie

Der septische Schock ist Folge eines drastischen Abfalls des peripheren Gefäßwiderstandes, welches eine generalisierte Fehlverteilung des Blutvolumens und eine funktionelle Hypovolämie nach sich zieht. Der Verlauf des septischen Schocks wird in zwei auf einander folgende Phasen eingeteilt. Zunächst entwickelt sich eine hyperdynamische Phase, in welcher der Blutdruck trotz des abgefallenen peripheren Widerstands normgerecht und die Sauerstoffsättigung des venösen Blutstroms erhöht ist. Durch ein gesteigertes Herzminutenvolumen kompensiert der Organismus hier den abgefallenen peripheren Widerstand. Sobald diese Kompensation vom System nicht mehr aufrecht erhalten werden kann, geht der septische Schock in eine hypodynamische Phase über. Die Dekompensation äußert sich hierbei mit einem stark abgefallenem Blutdruck sowie einem Anstieg des peripheren Widerstands. Folglich werden eine Zunahme der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz mit konsekutiver Minderperfusion des Gewebes sowie eine Abnahme des zentralvenösen Drucks und der Diurese beobachtet [3, 24, 127].

Zur Behandlung bzw. zur Herstellung eines ausreichenden peripheren Perfusionsdrucks werden beim septischen Schock vasoaktive Substanzen benötigt [3, 18, 29]. Derzeit gilt als Standard eine frühe, zielgerichtete Therapie [124, 125], welche unter anderem eine

Beatmung [31, 108, 127], Breitspektrum-Antibiotika [15, 22, 23, 31, 39, 69, 81, 88, 148], intravenösen Volumenersatz [29, 31, 58, 76] sowie Vasopressoren beinhaltet. Die Vasopressoren kommen zum Einsatz, sobald trotz adäquater Volumensubstitution eine Hypotension besteht ($\text{MAP} < 65 \text{ mmHg}$). Dabei stellen derzeit Dobutamin und Noradrenalin die am häufigsten eingesetzten Vasopressoren dar, wobei dem Noradrenalin hierbei als Vasopressor eine größere Bedeutung zufällt [3, 18, 29, 76, 81]. Noradrenalin (NoA) bewirkt über vaskuläre α -1-Rezeptoren eine Vasokonstriktion mit konsekutiver Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes und des mittleren, arteriellen Drucks [29, 30, 58]. Weitere Wirkungen des Noradrenalins sind ein Anstieg der kardialen Leistung mit einer Steigerung der linksventrikulären Funktion und des Schlagvolumen-Index sowie einer Steigerung der Urinausscheidung und der Kreatininclearance [30]. Dadurch wird versucht die Gewebhypoxie, die Entzündungsreaktion sowie die Gerinnungseffekte bei Sepsis zu verringern [76]. Im Verlauf der Sepsis verringert sich jedoch der steigernde Einfluss des Noradrenalins auf die linksventrikuläre Funktion und den Schlagvolumen-Index, wobei die Fähigkeit den MAP aufrechtzuerhalten zunächst noch bestehen bleibt [71, 84]. Die Verwendung von Noradrenalin zur Behandlung der Hypotension bei Sepsis bzw. des septischen Schock hat aber auch mögliche Nebenwirkungen auf die Mikrozirkulation des Gastrointestinaltrakts. Die Verabreichung von Noradrenalin reduziert deutlich den mesenterialen, arteriellen Blutfluss sowie den der Mikrozirkulation der jejunalen Mukosa. Der Versuch zur Steigerung des mikrozirkulatorischen Blutflusses durch die Gabe von Noradrenalin versagt trotz gestiegenen Perfusionsdrücken und gestiegenen systemischen Blutflussraten in den meisten abdominalen Organen, da Noradrenalin den Blutfluss von den mesenterialen Organen weglenkt und somit den mikrozirkulatorischen Blutfluss in der jejunalen Mukosa und in den abdominalen Organen deutlich reduziert [80].

1.3 Vasopressintherapie als mögliche Alternative

Auf der Suche nach Therapiealternativen zum Noradrenalin zeigte sich, dass Arginin-Vasopressin (AVP) zusätzlich zu seiner Blutdruck steigernden Wirkung in niedrigen Serumkonzentrationen eine koronare, zerebrale und pulmonale Vasodilatation des arteriellen Gefäßsystems bewirkt [61, 63]. Das Interesse Vasopressin als mögliche Therapiealternative des septischen Schocks einzusetzen wurde immer größer und es konnte schließlich in einer Studie gezeigt werden, dass eine kontinuierliche Vasopressininfusion von 0,01-0,04 U/min bei Patienten mit einem schweren septischen Schock zu einer deutlichen Stabilisierung und Steigerung des mittleren arteriellen

Blutdrucks mit steigender Urinausscheidung führt. Die dabei benötigte Menge an Katecholaminen war deutlich reduziert [64]. Weitere Studien brachten den Hinweis, dass der Organismus bei fortgeschrittener Sepsis ein besseres Ansprechen des Blutdrucks auf Vasopressin im Vergleich zu Noradrenalin zeigt [13, 62, 129]. Eine weitere Überlegung dafür, warum unter einer AVP- Therapie Katecholamine eingespart werden können, erklärt man sich durch eine Abnahme der Katecholaminrezeptoren sowie der Zunahme an NO [31]. Die somit gewonnenen Daten aus der Forschung und Berichte anderer Autoren über positive hämodynamische Effekte des Vasopressins bei Patienten im septischen Schock [33, 62, 64, 83, 92, 99, 106, 115, 129, 140] stützen somit den Gebrauch von niedrig dosierten Vasopressininfusionen im Rahmen des hämodynamischen Managements des septischen Schocks [98, 137]. Aus diesem Grund ist die Meinung einiger Forscher, bei erwachsenen Patienten im septischen Schock kontinuierlich Vasopressin in niedriger Dosierung (0,01-0,04 U/min) zu infundieren [62, 63, 129].

1.4 Vasopressin und sein Rezeptorprofil

Vasopressin ist ein physiologisches Peptidhormon der Neurohypophyse [77]. Seine Hauptwirkungen werden durch zwei Rezeptortypen, den sogenannten V1- und V2-Rezeptor vermittelt. Der V1- Rezeptor kann wiederum in einen V1a und V1b unterteilt werden. Speziell der V1a- Rezeptor des Vasopressins scheint beim Erhalt des Blutdrucks sowie der Regulation des zirkulierenden Blutvolumens eine sehr wichtige und entscheidende Rolle zu spielen [77]. Während die Aktivierung des V1a- Rezeptors die positiven hämodynamischen Effekte, wie zum Beispiel das verbesserte Ansprechen auf Vasopressoren und einer Stabilisierung des Blutdrucks, bewirkt, vermittelt die Aktivierung des V2- Rezeptors in der Niere eine Antidiurese [40, 107, 119, 126] mit konsekutiver Natrium- und Wasserretention. Ferner scheint die Aktivierung des V2-rezeptors in endothelialen Zellen eine Aktivierung der Gerinnungskaskade zu bewirken (Aktivierung VWF, F VIII) [16, 100, 109, 142]. Diese Nebeneffekte des Vasopressins sind bei Patienten im septischen Schock von Nachteil. Bei Patienten mit einem septischen Schock stellt sich üblicherweise eine steigende Gefäß- bzw. Kapillarpermeabilität ein. Eine V2-vermittelte Flüssigkeitsretention würde somit zu einer schnelleren Entwicklung eines Lungenödems führen. Des Weiteren vermittelt der V2- Rezeptor neben seinen renalen Funktionen eine Freisetzung von NO aus dem Gefäßendothel, welches somit, wie bereits oben beschrieben, zu einer Vasodilatation führt [60, 77]. Zusätzlich besteht durch die vermehrte Freisetzung von Gerinnungsfaktoren die Gefahr einer disseminierten, intravaskulären Gerinnung [8].

Ferner haben Studien von Daniel L. Traber und Mitarbeitern in einem Schafmodel mit Pneumonie-induzierter Sepsis gezeigt, dass die Aktivierung des V2-Rezeptors zum Teil zu einer Hemmung der sonst so günstigen Wirkung des AVPs, nämlich dem Entgegenwirken der sepsisinduzierten Permeabilitätssteigerung, führt [86, 122].

Aufgrund der Tatsache, dass bereits zahlreiche Studien über den Vergleich von Vasopressin- gegenüber Noradrenalininfusionen während des septischen Schocks durchgeführt wurden [36], soll nun in dieser Studie ein Vergleich hinsichtlich der Auswirkungen auf den Organismus des Schweins zwischen Noradrenalin und einem selektiven V1a- Agonisten FE 202158 angestellt werden.

1.5 Fragestellung

In dieser Studie wird ein Vergleich der Therapie des frühen septischen Schocks in der hyperdynamischen Phase zwischen einer Noradrenalin und einem im Wirkungszeitprofil dem Vasopressin entsprechenden, selektiven V1a- Agonisten, FE 202158, am Großtiermodell durchgeführt. Es soll hier speziell untersucht werden, in wie fern der selektive V1a- Agonist ein potentes Mittel darstellt den Blutdruck suffizient aufrecht zu erhalten oder sogar gegenüber dem Noradrenalin Vorteile zu zeigen und in wie weit sich nachteilige Effekte gegenüber dem Noradrenalin einstellen. Der Fokus der Studie richtet sich hierbei auf systemische, hämodynamische sowie metabolische Veränderungen. Auch die Frage, ob sich durch den selektiven V1a- Agonisten toxische Veränderungen an Niere, Leber, Herz, Lunge und Darm einstellen, soll untersucht werden, um letztlich eine Aussage darüber machen zu können, ob eine klinische Studie am septischen Menschen zu vertreten ist. Hieraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Wird durch den selektiven V1a- Agonisten während der frühen Phase des septischen Schocks eine Stabilisierung des Blutdrucks erreicht und übertrifft diese die Leistung des Noradrenalins?
2. Hat der selektive V1a- Agonist schädigendes Potential auf die Organe des Abdominaltrakts, Niere, Lunge und Herz?
3. Zeigt der selektive V1a- Agonist gegenüber Noradrenalin Vorteile hinsichtlich systemischen, hämodynamischen oder metabolischen Veränderungen?

2. Material und Methoden

2.1 Das Schwein als Versuchstier

Um die Ergebnisse so aussagekräftig wie möglich darzustellen war es ein Anliegen ein Tiermodell zu wählen, welches den Kriterien eines menschlichen, septischen Modells entspricht. Aus diesem Grund wurde eine 40 Stunden, hyperdynamische, fäkal-peritonitisinduzierte, septische Studie am Schwein gewählt [28, 37, 38, 139, 147]. Insgesamt wurden für die Versuche 25 deutsche Landschweine beiderlei Geschlechts verwendet. Separat davon wurden an fünf Schweinen Vorversuche durchgeführt, die Aufschluss über die Durchführbarkeit der chirurgischen Präparation und Instrumentierung geben sollten. Da die Angaben in der Literatur nicht unmittelbar auf dieses Projekt übertragbar waren, musste außerdem die zu verwendende Menge autologer Faeces getestet werden, die benötigt wurde, um die Sepsis auszulösen. Die verbleibenden 25 Tiere wurden für die eigentliche Studie verwendet.

Die Versuche wurden nach den Richtlinien „Umgang mit Labortieren“ des „Bundesinstituts für Gesundheit“ durchgeführt. Das Versuchsprotokoll wurde sowohl von dem Tierschutzbeauftragten der Universität Ulm als auch vom Regierungspräsidium Tübingen, Baden-Württemberg, genehmigt (§ 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes).

2.1.1 Auswahl der Versuchstiere und Beginn des Versuches

Für die Versuchsdurchführung wurden Schweine mit einem Körpergewicht zwischen 45-55 kg Körpergewicht ausgewählt. Diese wurden 18 Stunden vor dem Experimentbeginn bei uneingeschränkter Flüssigkeitsaufnahme einer Nahrungskarenz unterzogen. Nach der Prämedikation und der aurikulären Venenkanülierung wurde die Anästhesie mit Pentobarbital und Ketamin begonnen. Daraufhin erfolgte die orotracheale Intubation mit folgender mechanischer Beatmung:

- Maschinelle Beatmung gemäß dem Protokoll des ARDS-Netzwerk [2]
- Tidalvolumen 8 ml/kg Tiergewicht mit einem „Peak Airway Pressure“ < 40 Zentimeter Wassersäule (cmH₂O)
- PEEP 10 cmH₂O
- I/E ratio 1:1,5

-
- Volumen kontrollierte Beatmung
 - Respirationsrate angepasst, um einen PaCO₂ von 35-45 mmHg zu erreichen
 - wenn ein PaO₂/FiO₂ < 300 mmHg → I/E ratio 1:1, PEEP 12 cmH₂O
 - wenn PaO₂/FiO₂ < 200 mmHg → PEEP 15 cm H₂O

Die Anästhesie wurde mit einer kontinuierlichen Pentobarbitalinfusion, intermittierender Buprenorphinapplikation und Alloferin zur Relaxation aufrechterhalten.

2.1.2 Chirurgische Instrumentierung

In die rechte und linke Femoralarterie wurden Katheter zur kontinuierlichen Blutdruckkontrolle und Blutprobengewinnung eingeführt. Desweiteren wurden femorale sowie ein pulmonaler Thermodilutionskatheter über die rechte vena jugularis platziert. Die Vena jugularis wurde auch zur Implantation eines Katheters in die vena hepatica unter sonographischer Kontrolle freigelegt. Über die linke vena jugularis interna wurde ein zentralvenöser Zugang eingebracht. Ferner wurden die Carotiden freigelegt, um einen kombinierten, sogenannten „Conductance/Millar-tip- Katheter“ in den linken Ventrikel zu legen. Nach einer medianen Laparotomie wurden kalibrierte Doppler-Fluss-Sonden um die art. Hepatica und die Portalvene herum eingebracht, um eine kontinuierliche Darstellung des Blutflusses zu gewinnen. Ein weiterer Katheter wurde in der Portalvene platziert. Die Zugangswege wurden anschließend mit Nähten geschlossen. Eine punktionelle Epizystostomie wurde durchgeführt, um die Diurese zu beobachten. Nach der chirurgischen Intervention wurde dem Tier eine 8-stündige Phase der Erholung eingeräumt. Zur Veranschaulichung des Versuchsaufbaus während der 8-stündigen Überwachungs- und Erholungsphase siehe Abbildung 5.1.3.

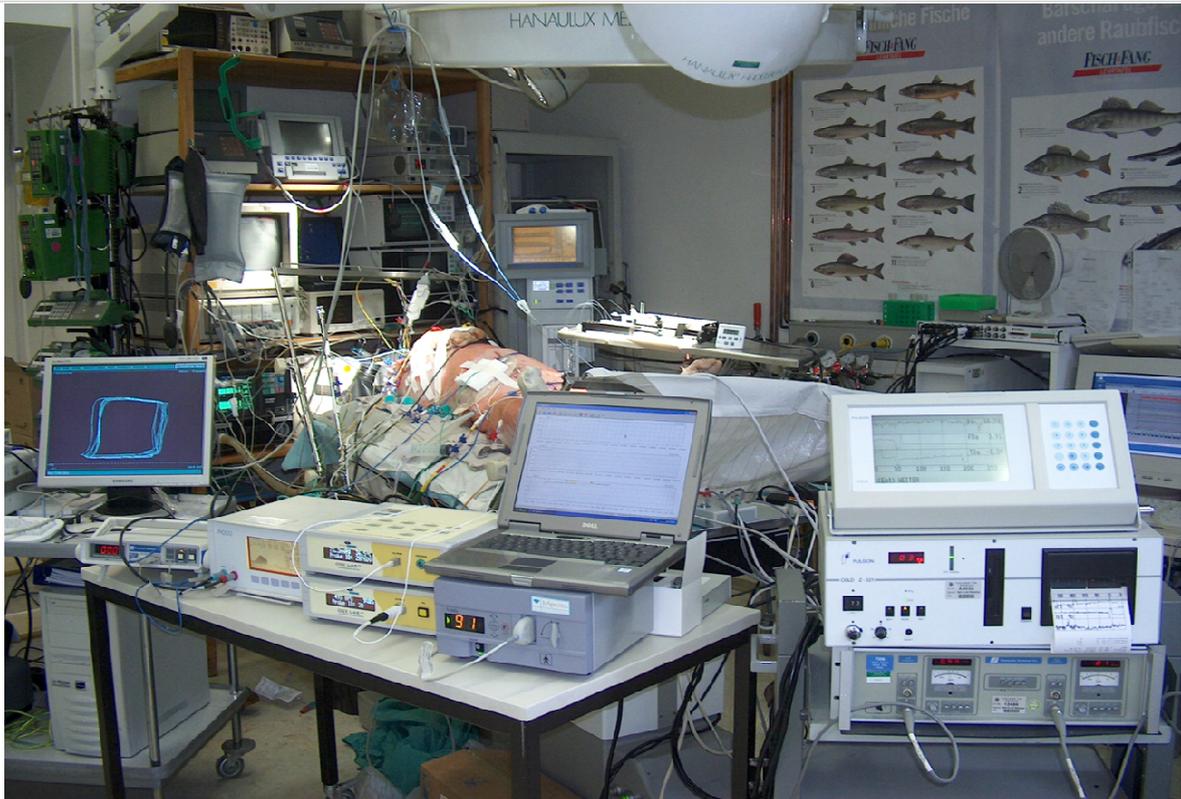


Abbildung 1: Das Versuchstier während der Erholungsphase nach der chirurgischen Instrumentierung

2.1.3 Die Induktion des septischen Schocks und der Versuchsablauf

Zur Induktion des septischen Schocks wurde vor den experimentellen Reihen eine standardisierte Lösung aus Fäkalien hergestellt. Hierfür wurde vor dem experimentellen Start von den 5 präoperativen Schweinen 0,5g pro kg Tiergewicht autologe Fäkalien gesammelt, in 5 Liter Ringerlactat aufgelöst und der Überstand bei -80°C aufbewahrt. Am Tag des Experiments wurde ein Anteil von 100ml dieser Lösung bei 38°C für 12 Stunden inkubiert und nach der Grundmessung über die abdominellen Dauerkatheter in die Peritonealhöhle infundiert. Diese Anteile der Lösung wurden in jedem individuellen Experiment verwendet, um sowohl eine qualitative (Spezies) als auch quantitative (Bakterienlast), gleichmäßige bakterielle Besiedelung in jedem der Experimente zu erreichen. Diese Art der Inokulation wurde gemäß der Literaturangaben zu experimentellen Langzeitstudien über fäkale Peritonitis am Schwein und Schaf angewandt [73, 137] und ergab in den Pilotexperimenten einen septischen, catecholaminpflichtigen Schock, trotz sowohl einer hyperdynamischen Zirkulation, als auch einem Hypermetabolismus und Organdysfunktion über 24 Stunden. So konnte die sich sonst bei höheren Anteilen von Fäkalien abzeichnende hämodynamische Depression und die frühe Mortalität vermieden werden [56, 57, 79]. Zur Stabilisierung des Kreislaufs wurde eine

6%-ige Hydroxyethylstärke-Infusion (15 ml/kg/h; 10 ml/kg/h wenn der PAOP > 18 mmHg) zusammen mit einer kontinuierlichen Ringerlactat-Lösung (7,5 ml/kg/h) infundiert. Dabei wurde folgendes Dosierungsschemata angewandt:

Tabelle 1: Dosierungsschema der Volumenersatzmittel für beide Versuchsgruppen

Legende: ¹Hydroxyethylstärke, ²Ringerlactat-Lösung, ³pulmonalarterieller Okklusionsdruck

Infusion	ml/kg/h	Bemerkung
6% HES ¹	15	
6% HES ¹	10	wenn PAOP ³ > 18mmHg
Ringerlactat-Lsg ²	7,5	

Sobald sich bei den Versuchstieren eine Schocksymptomatik abzeichnete und der Einsatz von Vasopressoren unmittelbar bevorstand, wurde das Versuchstier einer der unten aufgeführten Versuchsgruppen randomisiert zugewiesen. Die Phase der Observation wurde in jeder Gruppe für weitere 12 Stunden fortgeführt. Nachdem alle benötigten Daten gewonnen wurden, wurden die Tiere mittels einer Kaliumchlorid (KCL)- Injektion unter der weiterbestehenden Pentobarbitalnarkose getötet. Daraufhin erfolgte die Organentnahme von Leber, Niere, Darm, Herz und Lunge, welche portioniert und in 6%-igem Formalin eingelegt wurden.

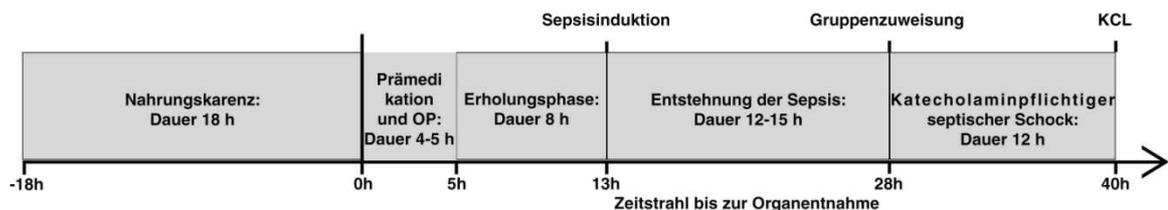


Abbildung 2: zeitliche Übersicht des Versuchsablaufs, **Legende:** KCL= Kaliumchloridlösung

2.2 Das Studienkonzept

2.2.1 Gruppenbildung und experimentelles Design

Das experimentelle Design umfasst zwei Gruppen. Die erste Gruppe galt als Kontrollgruppe, welcher als Vasopressor lediglich Noradrenalin diente. Die zweite Gruppe, die V1a- Gruppe, wurde der Kontrollgruppe gegenübergestellt. In der V1a-Gruppe wurde zusätzlich zum Noradrenalin ein selektiver V1a- Agonisten als Vasopressor verabreicht. Folgende Standardtherapie erfolgte in jeder Gruppe:

In jeder Versuchsgruppe wurde eine fäkale Peritonitis induziert, welche mit Volumenersatzstoffen als therapeutische Basis behandelt wurde. Somit gab es zwischen den einzelnen Versuchsgruppen keine Unterschiede hinsichtlich chirurgischer Instrumentierung, Peritonitisinduktion sowie Volumensubstitution. Als Volumenersatzstoff wurden $15 \frac{ml}{kg \times h}$ Hydroxyethylstärke [116] verabreicht. Sobald eine PAOP von > 18 mmHg vorlag, wurden nur $10 \frac{ml}{kg \times h}$ HES infundiert. Gemäß dem Protokoll des ARDS Network wurden die Tiere während der fäkalen Peritonitis mit dem niedrigsten verträglichen FiO_2 bei einer Hb-Sättigung von $> 88\%$ beatmet.

Auch schon die Pilotexperimente zeigten, dass sich eine katecholaminpflichtige Sepsis wie bereits oben beschrieben etwa 12-15 Stunden nach Induktion der Peritonitis einstellte. Ferner konnte in den vorrausgehenden Experimenten gezeigt werden, dass der $FiO_2 < 50\%$ gehalten werden konnte, um somit die Anwendbarkeit der indirekten Kalometrie zu gewährleisten und ohne dabei eine hypoxaemieinduzierte Organdysfunktion zu bewirken. Weiter konnte in den Pilotexperimenten die Eignung und Durchführbarkeit der hier verwendeten Messtechniken und Apparationen bewiesen werden.

Die Zuordnung der Versuchstiere in die einzelnen Gruppen erfolgte randomisiert.

Es wurden zwei Gruppen gebildet:

- Gruppe 1: Kontrollgruppe, $n = 13$: Sobald die alleinige Volumensubstitution den mittleren arteriellen Blutdruck nicht mehr aufrecht erhalten konnte, wurde eine kontinuierliche Noradrenalininfusion hinzugefügt. Es folgte dann eine Noradrenalingabe mit $0,05 \frac{\mu g}{kg \times min}$ mit einer Steigerung um $0,05 \frac{\mu g}{kg \times min}$ alle 5 min bis der Zielblutdruck wieder erreicht wurde. Die Wirksamkeit der Noradrenalininfusion hinsichtlich der Erhaltung des Zielblutdrucks wurde alle 5 Minuten überprüft. Um eine tachykardiebedingte Ischämie zu vermeiden wurde die Noradrenalininfusionsrate ab einer Herzfrequenz von 160 Schlägen/min nicht weiter gesteigert. Wie bereits oben erläutert konnte entsprechend der Erfahrung aus einzelnen Pilotexperimenten abschätzt werden, dass ungefähr 10-15 Stunden nach der Peritonitisinduktion sich eine Noradrenalinabhängigkeit einstellen würde.
- Gruppe 2 - V1a-Gruppe, $n = 12$: Statt der kontinuierlich titrierten Noradrenalininfusion, wurde ein selektiver V1a- Rezeptoragonist, FE 202158

verwendet. Sobald mittels alleiniger Volumensubstitution der mittlere, arterielle Druck nicht aufrecht erhalten werden konnte, wurde er als Infusion mit $1 \frac{\text{pmol}}{\text{kgxmin}}$ verabreicht und dann in weiteren $1 \frac{\text{pmol}}{\text{kgxmin}}$ Schritten bis zu einer Maximalinfusionsrate von $5 \frac{\text{pmol}}{\text{kgxmin}}$ auftitriert, wobei mindestens 30 min zwischen den einzelnen Schritten liegen mussten. Analog zu Studien an der Muttersubstanz Vasopressin ging man davon aus, dass das Schwein eine V1a-Clearance von $\sim 40 \frac{\text{ml}}{\text{kgxmin}}$ hat [93] und somit $1 \frac{\text{pmol}}{\text{kgxmin}}$ des selektiven V1a- Agonisten zu einem steady state mit einer Plasma-V1a-Konzentration von $\sim 25\text{pM}$ führen sollte. Sollte diese V1a-Infusionsrate nicht ausreichen, wurde eine titrierte Noradrenalin-Infusion nach dem oben erwähnten Schema hinzugefügt.

Im septischen Schweinmodel konnte gezeigt werden, dass Vasopressininfusionsraten von 2,5-5 pmol/kg/min sehr wirksam sind, um den mittleren arteriellen Blutdruck in Vorstadien des Schocks aufrechtzuerhalten [98]. Dies bewegt sich im Bereich mit 0,01-0,04 U/min ($\sim 0,3-1,3 \text{ pmol/kg/min}$ für einen 70 kg schweren Menschen) wie es auch in der Behandlung des septischen Schocks beim Menschen benötigt wird [59], dieses sollte zu einer steady-state Plasmakonzentration von $\sim 20-90 \text{ pM}$ (V1a-Clearance beim Menschen ist $\sim 15\text{ml/kg/min}$; Argent 1992, [27, 134]) vorausgesetzt es liegt eine gleichartige Potenz des V1a am V1a-Rezeptors beim Menschen und beim Schwein vor.

Tabelle 2: Gruppenübersicht mit Tierzahl (n) und verwendeten Vasopressoren,

Legende: ¹ Noradrenalin

Gruppen	n	Vasopressoreinsatz
Kontrollgruppe	13	lediglich NoA ¹
V1a- Gruppe	12	selektiver V1a- Agonist + ggf. NoA ¹

2.3 Gemessene Parameter und histologische Aufarbeitung

Alle unten aufgelisteten Messungen und Probengewinnungen wurden, sofern nicht anders erwähnt, vor der Sepsisinduktion sowie nach 12, 18 und 24 Stunden nach der Induktion des septischen Schocks gewonnen.

Zum genauen zeitlichen Ablauf des Versuches und den Blutentnahmen siehe Schema:

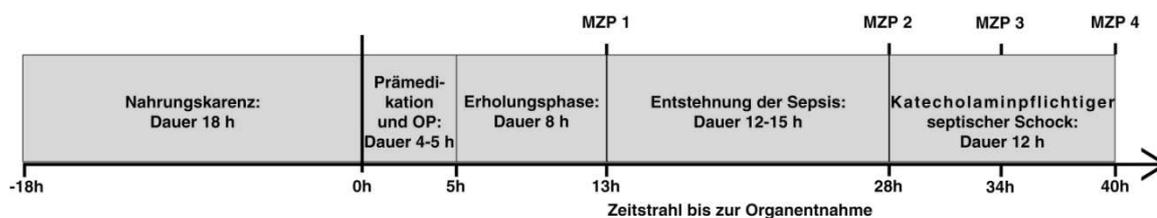


Abbildung 3: zeitliche Übersicht des Versuchsablaufs mit Messzeitpunkten,

Legende: MZP = Messzeitpunkt

2.3.1 Systemische Hämodynamik

In diesem Abschnitt werden folgende Parameter der systemischen Hämodynamik behandelt und im weiteren Verlauf in folgenden Einheiten angegeben:

Tabelle 3: Auflistung bestimmten der Parameter der systemische Hämodynamik mit zugehöriger Abkürzung und Einheit.

Parameter	Abkürzung	Einheit	[Einheit]
Herzfrequenz	HF	beats per minute	Bpm
mittlerer, arterieller Druck	MAP	Millimeter Quecksilbersäule	mmHg
Herzzeitvolumen	HZV	Liter pro Minute	l/min
Zentralvenöser Druck	ZVD	Millimeter Quecksilbersäule	mmHg
mittlerer, pulmonalarterieller Druck	MPAP	Millimeter Quecksilbersäule	mmHg
pulmonalarterieller Okklusionsdruck	PAOP	Millimeter Quecksilbersäule	mmHg

Mittlerer, arterieller Blutdruck (MAP), mittlerer pulmonalarterieller (MPAP) und zentralvenöser Druck (ZVD) wurden kontinuierlich mit einem Hewlett-Packard-Patientenmonitor aufgezeichnet. Die Herzfrequenz wurde aus der EKG-Ableitung berechnet. Der pulmonalarterielle Verschlussdruck (PAOP) wurde intermittierend mit Hilfe einer Softwareoption des Patientenmonitors berechnet. Das Herzzeitvolumen (HZV) wurde nach der Thermodilutionsmethode als Mittelwert von 4 Injektionen 10 ml kalter, physiologischer Kochsalzlösung, die über den Atemzyklus verteilt gegeben wurde, automatisch berechnet [43].

2.3.2 Nierenfunktionsparameter und der Flüssigkeitshaushalt

In diesem Abschnitt werden folgende Parameter des Flüssigkeitshaushalts behandelt und aus Gründen der Übersichtlichkeit und besseren Vergleichbarkeit (mit Ausnahme der Flüssigkeitsbilanz) auf das Tiergewicht in Kilogramm und Produktion je Stunde bezogen:

Tabelle 4: Auflistung der unter „2.3.2 Nierenfunktionsparameter und Flüssigkeitshaushalt“ verwendeten Parameter mit zugehöriger Abkürzung und Einheit.

Parameter	Abkürzung	Einheit	[Einheit]
Urinproduktion	Urinproduktion	Milliliter pro Kilogramm pro Stunde	ml/kg/h
applizierte Hydroxyethylstärke	HES	Milliliter pro Kilogramm pro Stunde	ml/kg/h
Flüssigkeitsbilanz	Flüssigkeitsbilanz	Milliliter	ml

Zur Bestimmung der Urinproduktion wurde der Urin zweimal über 12 Stunden gesammelt, wobei sich die erste Sammelperiode auf den Zeitraum von der Sepsisinduktion bis 12 Stunden danach erstreckt und die zweite Sammelperiode die darauffolgenden 12 Stunden widerspiegelt. Der zuerst gewonnene Urin wurde mit Urin 9 und der darauffolgende mit Urin 17 bezeichnet. Die Urinproduktion wurde auf das Tiergewicht in Kilogramm und die Produktion pro Stunde bezogen. Die angegebenen Daten zur applizierten Menge Hydroxyethylstärke wurden an Hand der dokumentierten Applikationsmengen addiert und dann auf das Tiergewicht in Kilogramm pro Stunde bezogen. Die Flüssigkeitsbilanz resultiert aus den gemessenen Mengen von ausgeschiedenem Urin und applizierter Flüssigkeit.

Retentionsparameter:

Oligurie, Azotämie, Proteinurie und unspezifische Harnveränderungen sind häufige renale Komplikationen bei septischen Zuständen. Die Nierenfunktion kann anhand mehrerer Parameter gut abgeschätzt werden [120, 132]. In diesem Abschnitt wurde zur Bestimmung der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) die Kreatinin- Clearance ermittelt. Die Kreatininclearance wird im weiteren Verlauf in folgender Einheit angegeben:

Tabelle 5: Darstellung des behandelten Retentionsparameters, mit seiner zugehörigen Abkürzung und Einheit.

Parameter	Abkürzung	Einheit	[Einheit]
Kreatinin- Clearance	KC	Milliliter pro Minute	ml/min

Die Kreatinin- Clearance (KC):

Das Plasmakreatinin wurden mit im Handel erhältlichen Kits bestimmt (Creatinine (Liquid) JAFFE, Bestellnummer CR 511, Randox Laboratories GmbH). Zur Berechnung der KC wurde zunächst die produzierte Urinmenge pro Zeit gemessen und anschließend die Clearance mittels folgender Formel berechnet:

$$KC = \frac{\frac{\text{Urinvolumen [ml]}}{\text{Zeit [min]}} \cdot \text{Urinkreatinin} \left[\frac{\text{mmol}}{\text{l}}\right]}{\text{Plasmakreatinin} \left[\frac{\text{mmol}}{\text{l}}\right]} \quad [120, 132]$$

Abbildung 4: Berechnungsformel der Kreatininclearance (KC)

Der Urin zur Bestimmung der Kreatinin- Clearance entstammt den gleichen Proben wie der Urin zur Bestimmung der absoluten Urinproduktion. Daraus resultiert, dass die erste Bestimmung der Kreatinin- Clearance sich auf den Zeitraum zwischen Sepsisinduktion und 12 Stunden danach, und die zweite Bestimmung der KC sich auf den darauffolgenden 12-Stunden-Zeitraum bezieht. Anders formuliert resultieren die Daten zu Urin 9 aus dem Zeitraum zwischen MZP 1 und MZP 2 und die Daten zu Urin 17 aus dem Zeitraum zwischen MZP 3 und MZP 4.

2.3.3 Sauerstoffangebot und – Verbrauch sowie der Sauerstoffpartialdruck

Über die im hepato- und portalvenösen Gebiet sowie über die in den Femoralarterien eingebrachten Katheter konnten zu den angegebenen Messzeitpunkten mittels spezieller heparinisierten Spritzen Blutproben entnommen werden, welche durch ein Blutgasanalysegerät (Radiometer, Kopenhagen) verarbeitet werden konnten. Daraus resultierten unter anderem folgende, hier in der Arbeit diskutierten Parameter:

Tabelle 6: Auflistung der in der Blutgasanalyse ermittelten Parameter mit ihrer zugehörigen Abkürzung und Einheit.

Parameter	Abkürzung	Einheit	[Einheit]
arterieller Sauerstoffpartialdruck	pO ₂	Millimeter Quecksilbersäule	mmHg
arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck	pCO ₂	Millimeter Quecksilbersäule	mmHg
arterieller pH- Wert	spH	keine Einheit	
Hepatovenöser pH-Wert	hvpH	keine Einheit	
Portalvenöser pH-Wert	pvpH	keine Einheit	
arterielle Basenabweichung	sBE	Millimol pro Liter	mmol/l
Hepatovenöse Basenabweichung	hvBE	Millimol pro Liter	mmol/l
Portalvenöse Basenabweichung	pvBE	Millimol pro Liter	mmol/l

Im Rahmen des Sauerstoffangebots und –Verbrauchs wurden folgende Parameter untersucht:

Tabelle 7: Auflistung der unter „2.3.3 Sauerstoffangebot und –Verbrauch sowie der Sauerstoffpartialdruck“ behandelten Parameter, mit ihrer zugehörigen Abkürzung und Einheit.

Parameter	Abkürzung	Einheit	[Einheit]
arterielles Sauerstoffangebot	sDO ₂	Milliliter pro Minute pro Kilogramm	ml/min/kg
arterieller Sauerstoffverbrauch	sVO ₂	Milliliter pro Minute pro Kilogramm	ml/min/kg
Sauerstoffangebot des Darms	gDO ₂	Milliliter pro Minute pro Kilogramm	ml/min/kg
Sauerstoffverbrauch des Darms	gVO ₂	Milliliter pro Minute pro Kilogramm	ml/min/kg
Sauerstoffangebot der Leber	hDO ₂	Milliliter pro Minute pro Kilogramm	ml/min/kg
Sauerstoffverbrauch der Leber	hVO ₂	Milliliter pro Minute pro Kilogramm	ml/min/kg
Inspiratorischer Sauerstoffanteil	FiO ₂	Prozent	%
Verhältnis pO ₂ zu FiO ₂	Horowitz-Index	mmHg pro Prozent	mmHg/%

Die Bestimmung des absoluten Sauerstoffverbrauchs erfolgte nach dem Prinzip der indirekten Kalometrie mittels Deltatrac (Deltatrac, Helsinki). Der Deltatrac ermöglicht die nicht invasive Bestimmung von Kohlendioxidabgabe, respiratorischem Quotienten und

Energiebedarf am beatmeten Versuchstier. Daraus konnten die übrigen Parameter ermittelt werden [48, 104].

2.3.4 Pyruvatbestimmung

Zur Pyruvatbestimmung wurden folgende Chemikalien in folgender Reihenfolge verwendet:

Perchlorsäure (HClO₄): 0,6 mol/l Best.-Nr. 125377

Pufferlösung: 14 g Triethanolamin-hydrochlorid (Best.-Nr. 127426, Fa. Roche Diagnostics GmbH) und 0,28 g EDTA-Na₂H₂ (Best.-Nr. 808261, Fa. Roche Diagnostics GmbH) in 80 ml Aqua bidest. gelöst und mit NaOH (5 mol/l) auf pH 7,6 eingestellt, anschließend auf 100 ml mit Aqua dest. aufgefüllt.

Lösung 2: 30 mg NADH (Best.-Nr. 127345, Fa. Roche-Diagnostics GmbH) und 60 mg NaHCO₃ in 6 ml Aqua dest.

Standard: 12,6 mg Pyruvat (Best.-Nr. P 2256, Fa. Sigma) in 100 ml Aqua dest., dann 1:10 mit Aqua bidest. verdünnt.

Zur Probengewinnung der Pyruvatbestimmung wurde zu den genannten Messzeitpunkten arterielles Blut in Lithium-Heparin-Monovetten entnommen und umgehend für 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand (Plasma) weiterverwendet. Durch Zugabe von eiskalter Perchlorsäure im Volumen-Verhältnis von 1:1 wurde eine Denaturierung der Proteine erreicht und diese anschließend nach erneutem Zentrifugieren für 10 Minuten bei 3000 U/min vom überstehenden Plasma getrennt. Das so gewonnene proteinfreie Plasma wurde entweder sofort für die Messung verwendet oder bei -80 °C für die spätere Verwendung konserviert.

Bei der Messung der Pyruvatkonzentration erfolgte die enzymatische Umwandlung des Pyruvats in Laktat unter Verbrauch von NADH/H. Die Abnahme der NADH/H-Konzentration war der photometrischen Messung zugänglich. Folgende Reaktion der Laktatdehydrogenase (LDH) wurde dabei ausgenutzt:

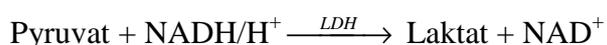


Abbildung 5: Reaktionsgleichung für Pyruvat und Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADH/H⁺) in Gegenwart des Enzyms Laktatdehydrogenase (LDH) zu Laktat und Nicotinamidadenindinukleotid (NAD⁺)

Für die Messung wurden 1,5 ml des proteinfreien Plasmas mit Hilfe von Kaliumhydroxid (KOH) auf einen pH-Wert von 7-8 eingestellt. Um den pH- Wert optimal einzustellen wurde ggf. Perchlorsäure zur Rücktitrierung verwendet. Nach der Einstellung des pH-Wertes wurden die Proben zunächst 30 Minuten auf Eis gestellt und dann erneut 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert.

Von dem entstandenen Überstand wurden 500 µl für die Messung verwendet. Hierfür wurde zunächst in einer Küvette folgendes vorgelegt:

- 500 µl Aqua bidest.
- 500 µl Pufferlösung (pH 7,6)
- 50 µl Lösung 2

Zusammen mit den Proben wurde ein Standard gemessen.

Für die Leerwertmessung wurde folgende Zusammensetzung verwendet:

- 1 ml H₂O bidest.
- 500 µl Pufferlösung
- 50 µl Lösung 2

Es erfolgte eine Extinktionsmessung bei 365 nm gegen Luft. Zunächst wurde ein Ausgangswert mit oben genannter Zusammensetzung gemessen, anschließend erfolgte die Zugabe von 10 µl einer LDH-Lösung zu allen genannten Messansätzen. Nach einer Inkubationszeit von 6, 8 bzw. 10 Minuten erfolgte jeweils wieder eine Messung der Extinktion bei 365 nm gegen Luft.

Durch die Zugabe der Laktatdehydrogenase und unter Anwesenheit der notwendigen Kofaktoren kam es unter Verbrauch von NADH/H⁺ und unter Entstehung von NAD⁺ zu einer Umwandlung von Pyruvat in Laktat. Die Veränderung der NADH-Konzentration, welche mit der Pyruvatkonzentration korreliert, konnte in der photometrischen Messung bei 365 nm gemessen werden [55].

Für die Berechnung der Pyruvatkonzentration ergab sich nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz folgende Rechnung:

$$c_{\text{Pyruvat}} = \frac{V \cdot M}{\varepsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta E = \left[\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right] \quad [82].$$

Abbildung 6: Formel zur Berechnung der Pyruvatkonzentration im Serum (c_{Pyruvat})

Legende: V = Küvettenvolumen, c_{Pyruvat} = Pyruvatkonzentration, M = molare Menge, ϵ = Extinktionskoeffizient, $\Delta E = (E_1 - E_2)_{\text{Probe}} - (E_1 - E_2)_{\text{Leerwert}}$ mit E = Extinktion, d = Schichtdicke der Küvette, v = Volumen appliziertem Serum

2.3.5 Laktatbestimmung im Serum

Zur Laktatbestimmung wurden folgende Chemikalien in aufgezeigter Reihenfolge benutzt:

Puffer: PIPES-Puffer (Piperazine-1,4-bis(2-ethanesulfonic acid) 100mmol/l, pH 7,2; TOOS 2,1 mmol/l; Natriumacetat 1 g/l).

Enzym-Reagenz: 0,4 mmol/l 4-aminophenazone; Peroxidase ≥ 1000 U/l; Laktatoxidase ≥ 600 U/l; Ascorbatoxidase ≥ 10.000 U/l.

Standard: Laktat 4,44 mmol/l

(Best.-Nr. LC 2389, Fa. Randox)

Zur Probengewinnung wurde zu den genannten Messzeitpunkten arterielles Blut in Lithium-Heparin-Monovetten entnommen und umgehend für 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand (Plasma) entnommen. Das so gewonnene Plasma wurde entweder sofort für die Messung verwendet oder bei -80 °C für die spätere Verwendung konserviert.

Für die Messung der Laktatkonzentration erfolgte zunächst eine Oxidierung des Laktates durch die Laktatoxidase, wobei Pyruvat und Wasserstoffperoxid entstanden. Anschließend erfolgte eine durch die Peroxidase vermittelte Reaktion, deren Endprodukt der fotometrischen Messung zugänglich war.

In einer Küvette wurden 10 μ l Plasma mit 1000 μ l der Reagenzlösung zusammengebracht und 10 min bei Zimmertemperatur inkubiert. Anschließend erfolgte die fotometrische Messung bei 550 nm gegenüber einem Reagenzienleerwert. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit Hilfe eines Standards und Anwendung des Lambert Beer'schen Gesetzes [6, 94, 117].

Anhand den oben genannten Bestimmungen der Laktat- und Pyruvatkonzentration im Serum konnte der Laktat- Pyruvat- Quotient im systemisch, arteriellen Blut sowie hepato- und portalvenös berechnet werden. Daraus resultierten folgende Parameter:

Tabelle 8: Auflistung der Parameter des Laktat-Pyruvat-Quotientens

Parameter	Abkürzung	Einheit	[Einheit]
arterieller Laktat-Pyruvat-Quotient	sL/P-Q	keine Einheit	
hepatovenöser Laktat-Pyruvat-Quotient	hvL/P-Q	keine Einheit	
portalvenöser Laktat-Pyruvat-Quotient	pvL/P-Q	keine Einheit	

2.3.6 Proteinbestimmung im Serum

Die Probengewinnung zur Bestimmung des Proteins im Serum erfolgte analog der Probengewinnung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Serum (s. dazu unter 5.3.5).

Die Messung der Gesamtproteinkonzentration im Plasma erfolgt nach der Biuret-Methode. Hierbei macht man sich eine Farbreaktion von Proteinen mit Kupfer-Ionen in alkalischer Lösung zunutze [96, 112].

20 µl Plasma wurden mit 1 ml einer Biuret-Reagenz, welche sich aus 0,1 mol/l Natronlauge, 16 mmol/l Kalium-Natrium-Tartrat, 15,3 mmol/l Kaliumiodid sowie 6,1 mmol/l Kupfersulfat (Fa. Roche Diagnostics) zusammensetzt, zusammengebracht. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten erfolgte dann die photometrische Messung des Gemisches gegen einen Reagenzienleerwert bei 546 nm.

2.3.7 Troponinbestimmung

Die Troponinbestimmung im Serum erfolgte mittels eines im Handel erhältlichen, enzymgesteuerten immunologischen Kit. (High Sensitivity Pig Cardiac Troponin-I Elisa Kit, Life Diagnostics Inc., Katalog Nummer 2010-4-HSP).

2.3.8 Histologische Aufarbeitung der Schnitte

Nach der intravenösen Kaliumchloridinjektion, und somit dem Versuchsende, wurden umgehend Lunge, Leber, Niere, Herz und Darm aus dem Tier entnommen, portioniert und in 6%-igem Formalin eingelegt. Aus diesen entnommen Organen stammen die Proben für die folgenden histologischen Aufarbeitungen und Bestimmungen.

Herstellung der Paraffinschnitte:

Die portionierten Teile der Leber, Herz, Niere, Darm und Lunge konservierten nach der Organentnahme für mindestens 48 Stunden in 6%-igem Formalin. Daraufhin wurden diese

Organteile entwässert, in Paraffin gebracht und mittels eines Mikrotoms (Leica Mikrotom 2030 Mot) auf Objektträgern fixiert. Es folgten nun die Hämatoxylin-Eosin (H.E.)- sowie die immunhistologische Tunelfärbung.

Hämatoxylin- Eosin- Färbung:

Zur morphologischen Beurteilung der entnommenen Organe wurde eine H.E.-Färbung durchgeführt.

Wie oben beschrieben wurden aus den Organteilen Paraffinschnitte hergestellt. Es folgte daraufhin die H.E.-Färbung in einem H.E.- Automaten (Tissue Tek II, Färbeautomat, Histo Tek).

Die Beurteilung erfolgte mit einem Lichtmikroskop (Zeiss, Axioplan 2, Objektiv: 20-40x + Okular 10x)

Immunhistologische Tunelfärbung:

Während des septischen Schocks tritt der Zelltod sowohl durch Nekrose als auch durch Apoptose auf [118]. Mittels der Tunelfärbung werden apoptotische Nuclei angefärbt.

Es wurden hierfür wie oben beschrieben Paraffinschnitte angefertigt.

Zu Beginn wurden die Schnitte mittels Xylol in 3 Zyklen entparaffiniert. Anschließend wurden die Schnitte in absteigenden Konzentrationen Alkohol rehydriert. Anschließend wurden die Proben mit einem 19 millimolarem (mM) Tris-Puffer (pH 8,0) sowie einem Fettstift (PAP-PEN) behandelt und daraufhin für exakt 15 Minuten bei 37°C in einer feuchten Kammer mit aufgetragener Proteinase K (Firma ICN, Bestellnr.: 193504) inkubiert. Nachdem die Schnitte in einem 50 mM TBS-Puffer (pH 7,6) gespült wurden, wurden sie für 30 Minuten in 0,1%iges, mit TBS-Puffer verdünntes Wasserstoffperoxid gestellt, um eine Anfärbung durch eine endogene Peroxidase zu unterbinden. Es folgte eine erneute Spülung mit TBS-Puffer sowie die Auftragung eines TdT- Spülpuffers und einer Inkubationslösung auf die einzelnen Proben. Diese bestand aus Terminal Desoxynucleotidyl Transferase (TdT 15U, Firma: Promega Bestellnr.: M1871), Digoxigenin-11-dUTP (Firma: Roche Boehringer Mannheim, Kat-Nr.: 1093088) und TdT-Puffer (5-fach, Firma Promega). Es folgte eine Inkubierung des Ansatzes für 120 Minuten bei 37°C in feuchter Kammer. Daraufhin wurden die Proben in TBS gespült und anschließend in 2%iges, mit TBS- Puffer verdünntes Pferdeserum gebracht, in dem sie 5 Minuten verbrachten. Daraufhin wurde ein Anti-Dig Antikörper (Anti-Dig Fab Schaf, 1:200, mit 2%-igem Pferdeserum verdünnt) für eine Stunde aufgetragen. Bevor der zweite

Antikörper (anti-Schaf POD Firma Jackson Bestell-Nr.:713-036-147, 1:500 mit 2%-igem Pferdeserum verdünnt) für eine weitere Stunde aufgetragen wurde, erfolgte erneut eine kurze Spülung in TBS-Puffer. Auch hiernach wurden die Schnitte in TBS-Puffer gespült. Als Detektionssystem wurde AEC (Firma Sigma, Firma Fluka) verwendet. Dieses wurde für 20 Minuten aufgetragen und die Reaktion unter dem Mikroskop verfolgt. Anschließend wurde diese Reaktion mittels Leitungswasser gestoppt. Als Gegenfärbung wurde Hämalun verwendet, welches danach für 10 Minuten ausgewaschen wurde. Zum Abschluss erfolgte eine Eindeckung der Schnitte mit Kaisers Glyceringelatine (Firma Merck, Bestell-Nr.: 1.09242.0100) [44, 50, 135].

Die Präparate wurden unter Mithilfe und Beratung von PD. Dr. Frank Leithäuser (Abteilung Pathologie, Universität Ulm) verblindet bei einer 400-fachen Vergrößerung (Objektiv: 40x + Okular 10x) mit dem Lichtmikroskop (Zeiss, Axioplan 2) bewertet. Um wiederum ein Maximum an Kompatibilität und Validität zu gewährleisten wurden 60 hochauflösende Gesichtsfelder ausgezählt. Bei der Auszählung wurden nur die Nuklei berücksichtigt, die auch morphologisch mit dem Ablauf einer Apoptose übereinstimmten.

2.4 Datenverarbeitung und statistische Auswertung

Im Rahmen der deskriptiven Statistik wurden für die Messergebnisse der zwei Versuchsgruppen bzw. der verschiedenen Messzeitpunkte der Median, die Minimal- und Maximalwerte berechnet und im laufenden Text oder Tabellen aufgeführt. In den Diagrammen wurde zugunsten der Klarheit der Darstellung der Median, die 25. und 75. Perzentile sowie Minima und Maxima dargestellt. Signifikante Ergebnisse sind in den Diagrammen mit Hilfe von Symbolen gekennzeichnet.

Folgende statistische Testverfahren kamen in der Auswertung zum Einsatz:

- Mann-Whitney Rank Sum Test: Vergleich der Messergebnisse der 2 Medikamentengruppen bei gleichem MZP
- Wilcoxon Signed Rank Test: Vergleich der Messergebnisse einer Medikamentengruppe bei nur 2 MZP
- Friedman-Test (RM Anova on Ranks): Vergleiche der verschiedenen MZP einer Medikamentengruppe. Bei signifikanten Unterschieden kam im folgenden die Student-Newman-Keuls Method (All Pairwise Multiple Comparison Procedures-Test) zur Anwendung

Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde ein $p < 0,05$ festgelegt.

Zur Dokumentation der Daten wurde das Programm Microsoft Office 2000/2007 verwendet. Die Berechnung der statistischen Daten erfolgte mit dem Programm Sigmastat for Windows 98/2000 Version 2.03., die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm Sigma Plot 2002 Version 8.0..

3. Ergebnisse

3.1 Allgemeine Erhebungsdaten

Für die Versuche wurden 25 Landschweine, beiderlei Geschlechts, verwendet. Der NoA-Gruppe wurden 13 Tiere zugeteilt. Das Durchschnittsgewicht lag hier bei 47 kg mit einer Geschlechterverteilung von männlichen zu weiblichen Tieren von 5:8. Die V1a-Gruppe beinhaltete 12 Tiere. Einzelheiten zu Durchschnittsgewicht sowie Geschlechterverteilung siehe Tabelle 6.1:

Tabelle 9: Gruppenübersicht, **Legende:** n = Anzahl der Versuchstiere; kg = Durchschnittstiergewicht; m:w = Geschlechterverteilung männlich: weiblich

Gruppe	n	Kg	m:w
Kontroll	13	47	05:08
V1a	12	48	04:08

3.2 Systemische Hämodynamik

Vor dem Versuchsbeginn zeigten sich zwischen den einzelnen Versuchsgruppen hinsichtlich der Herzfrequenz, des mittleren arteriellen Drucks, des mittleren pulmonalarteriellen Drucks sowie bezüglich des Herzzeitvolumens keine signifikanten Unterschiede. Nur bei den Werten des zentralvenösen Drucks und des pulmonalarteriellen Okklusionsdrucks wurde bereits vor Versuchsbeginn ein nennenswerter Unterschied mit signifikant höheren Werten der Kontrollgruppe beobachtet. Nach der Sepsisinduktion sowie im weiteren Versuchsablauf zeigte sich in beiden Gruppen ein progredienter Anstieg der Herzfrequenz, des ZVD und des MPAP. Demgegenüber konnte nur bei der V1a-Gruppe ein Anstieg des HZV im Verlauf des Versuches gemessen werden. Unter Ausklammerung des MAP zeigte sich nur beim HZV und ZVD gegen Ende des Versuches ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen mit höheren gemessenen Werten zu Gunsten der mit ausschließlich Noradrenalin therapierten Versuchsgruppe.

Zur Veranschaulichung der gemessenen Parameter soll folgende Tabelle dienen, welche die wichtigsten, gemessenen Signifikanzen darstellt:

Tabelle 10: Darstellung der Mediane (Quartile) der Herzfrequenz (HF) in Schlägen pro Minute (bpm), des mittleren, arteriellen Drucks (MAP) in Millimetern Quecksilbersäule [mmHg] und des Herzzeitvolumens (HZV) in Litern pro Minute [l/min] für die Kontrollgruppe und die Vergleichsgruppe (V1a).

Legende: ^a: p < 0,05 zwischen Kontroll- und V1a- Gruppe, ^b: p < 0,05 innerhalb der Gruppe im Vergleich zum Zustand vor Sepsisinduktion.

Parameter	Gruppe	Vor Sepsisinduktion	12 Stunden nach Sepsisinduktion	18 Stunden nach Sepsisinduktion	24 Stunden nach Sepsisinduktion
HF (bpm)	V1a	90 (82 bis 102)	123 (107 bis 153)	154 (119 bis 160)	158 (154 bis 160) ^b
	Kontroll	87 (75 bis 96)	115 (100 bis 132)	115 (106 bis 127)	150 (124 bis 160) ^b
HZV (l/min)	V1a	5,3 (4,8 bis 6,2)	5,2 (4,4 bis 6)	5,2 (4 bis 6,1) ^a	5,6 (4 bis 6,7)
	Kontroll	4,7 (4,5 bis 5,6)	5,7 (4 bis 6,1)	6,7 (5,7 bis 7,7) ^a	6,3 (5 bis 9,1) ^b

Mittlerer, arterieller Druck

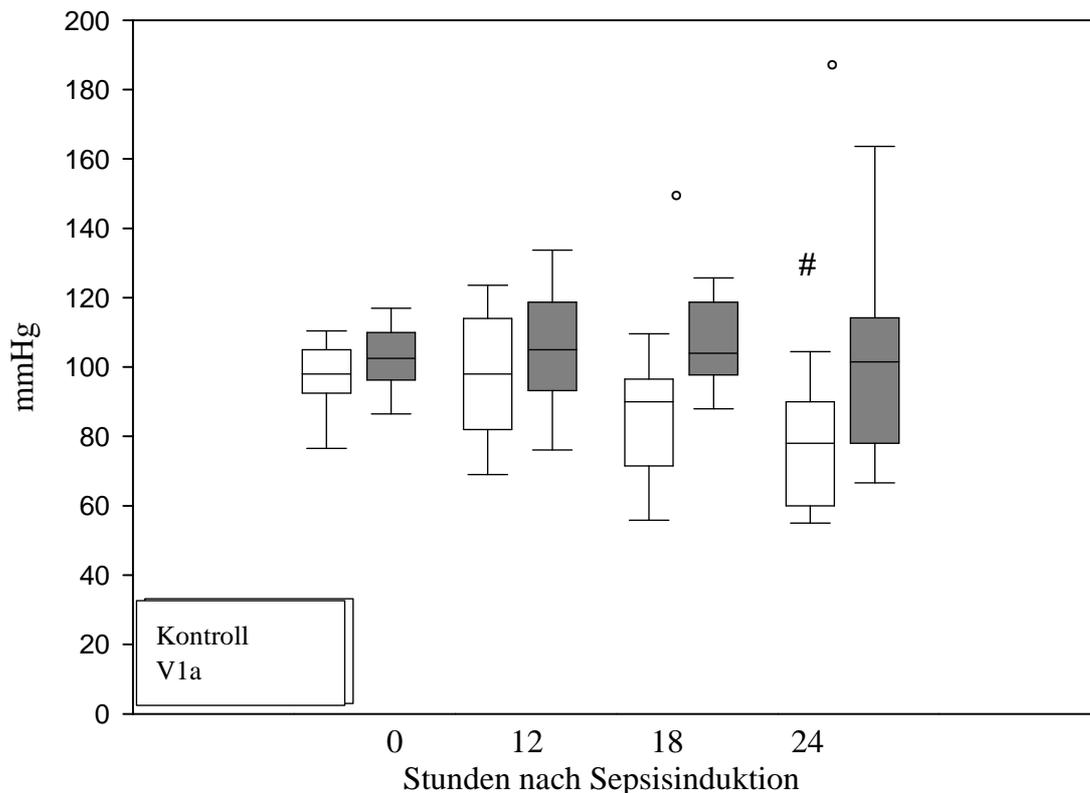


Abbildung 7: Darstellung des mittleren, arteriellen Blutdrucks in Millimeter Quecksilbersäule [mmHg]. Vergleich der Kontrollgruppe gegenüber der V1a- Gruppe. Die Werte sind als Boxplots dargestellt. #, ° zeigen Signifikanzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit p < 0,005 an.

Hinsichtlich des mittleren, arteriellen Drucks zeigte sich 24 Stunden nach der Sepsisinduktion bei den Tieren der Kontrollgruppe ein signifikanter Abfall. In der V1a-Gruppe konnte hingegen kein signifikanter Abfall des MAP verzeichnet werden. Es zeigte sich jedoch ein signifikanter Unterschied des MAP 18 und 24 Stunden nach Sepsisinduktion zwischen den beiden Gruppen. Zur Verdeutlichung der Werteverteilung innerhalb der beiden Versuchsgruppen siehe Abb. 7.

3.3 Die Medikamentenapplikation

Die Analyse der Noradrenalinzufuhr ergab, dass die Tiere der Kontrollgruppe durchschnittlich nach 12 Stunden die erste Noradrenalinapplikation bekamen (Mittelwert 11,7h). Auch die V1a-Gruppe beanspruchte die Gabe von Noradrenalininfusionen. Der Mittelwert der ersten Applikation lag hierbei bei ca. 18 Stunden (Mittelwert 18,3h). Die Dosisverabreichung wurde sowohl in Mikrogramm pro Kilogramm Tiergewicht pro Minute als auch in ml pro Stunde analysiert. Hierbei zeigte sich in beiden Gruppen während des Versuches eine zeitliche progrediente Steigerung des Noradrenalinbedarfs, wobei der Bedarf der Kontrollgruppe den der V1a-Gruppe signifikant überstieg. Folgende Tabelle zeigt die Mediane der einzelnen Gruppen zu den entsprechenden Zeiten:

Tabelle 11: Darstellung der Mediane (Quartile) der Noradrenalinapplikation in Mikrogramm pro Kilogramm Tiergewicht pro Minute [$\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$] für die Kontrollgruppe und die Vergleichsgruppe (V1a).

Legende: NoA = Noradrenalin, ^a: $p < 0,05$ zwischen Kontroll- und V1a-Gruppe

Parameter	Gruppe	Vor Sepsisinduktion	12 Stunden nach Sepsisinduktion	18 Stunden nach Sepsisinduktion	24 Stunden nach Sepsisinduktion
NoA Applikation ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)	V1a	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0 bis 0,3)	0,4 (0,2 bis 1,1) ^a
	Kontroll	0 (0-0)	0,1 (0 bis 0,2)	0,6 (0,2 bis 0,7)	1,6 (0,9 bis 2) ^a

3.4 Der Flüssigkeitshaushalt

Zu Versuchsbeginn zeigten sich keine nennenswerten Unterschiede zwischen den beiden Vergleichsgruppen. 12 Stunden nach Sepsisinduktion zeigte sich ein deutlicher Anstieg der applizierten Hydroxyethylstärke sowie der Flüssigkeitsbilanz. Hinsichtlich der gemessenen Ascitesmenge konnten nur kleine Veränderungen verzeichnet werden. In der Versuchsgruppe des selektiven V1a- Agonisten zeigte sich sowohl 18 als auch 24 Stunden nach der Sepsisinduktion eine signifikant höhere Urinausscheidung gegenüber der Kontrollgruppe. Auch in der Gesamtbilanz über den Zeitraum des ganzen Versuches zeigte

sich bei den V1a- Tieren eine nennenswert höhere Urinausscheidung als bei den Kontrolltieren. Innerhalb der beiden Gruppen waren die Veränderungen der Urinproduktion aber zu gering um eine deutliche Signifikanz zu ergeben. Hinsichtlich der Flüssigkeitsbilanz zeigte sich zum Versuchsende zwischen den beiden Gruppen eine Diskrepanz mit einer positiveren Bilanz bei den Kontrollieren. Die Bestimmung des Serumproteins ergab in der Kontrollgruppe 24 Stunden nach der Sepsisinduktion deutlich höhere Werte als in der V1a- Gruppe. Zur Veranschaulichung der berechneten Signifikanzen und der Werteverteilung innerhalb der oben beschriebenen Parameter siehe folgende Tabelle und Schaubild:

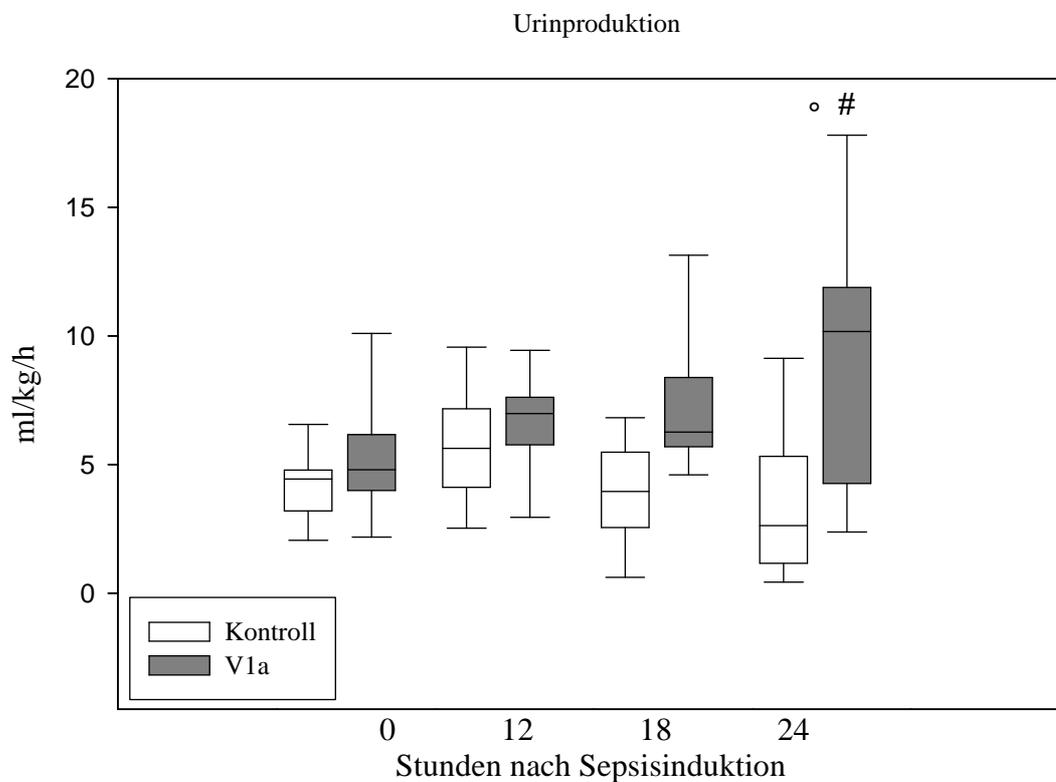


Abbildung 8: Darstellung des Urinvolumens pro Tiergewicht pro Zeit angegeben in Millilitern pro Kilogramm pro Stunde [ml/min/h]. Vergleich der Kontrollgruppe gegenüber der V1a-Gruppe. Abgebildet sind jeweils der Median, 25%- und die 75%- Perzentile sowie Minimum und Maximum. #, ° zeigen Signifikanzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,005$ an.

Tabelle 12: Darstellung der Mediane der Urinproduktion in Millilitern pro Kilogramm Tiergewicht pro Stunde [ml/kg/h] sowie der Flüssigkeitsbilanz in Millilitern [ml] und des Serumproteins in Gramm pro Liter [g/l] für die Noradrenalingruppe (NoA) und die Vergleichsgruppe (V1a)

Legende: ^a p < 0,05 zwischen der Noradrenalin und der V1a- Gruppe, ^b p < 0,05 innerhalb der Gruppe im Vergleich zum Zustand vor Sepsisinduktion.

Parameter	Gruppe	Vor Sepsisinduktion	12 Stunden nach Sepsisinduktion	18 Stunden nach Sepsisinduktion	24 Stunden nach Sepsisinduktion
Flüssigkeitsbilanz (ml)	V1a	5350 (4810 bis 5850)	9210 (7850 bis 9840) ^b	3740 (2230 bis 4680)	2720 (1930 bis 4300) ^a
	Kontroll	5250 (4690 bis 5720)	8530 (7840 bis 10360) ^b	4240 (3630 bis 5070)	4250 (3250 bis 4700) ^a
Serum-protein (g/l)	V1a	29,6 (27,2 bis 33,5)	10,6 (9,8 bis 14,1)	10,6 (9,2 bis 14,2)	11,9 (9,2 bis 13,6) ^{ab}
	Kontroll	25,6 (24,6 bis 28)	11,1 (8,6 bis 13,3)	9,7 (6,6 bis 10,9)	8,7 (6 bis 10) ^{ab}

3.5 Sauerstoffangebot und -Verbrauch sowie der Sauerstoffpartialdruck

Es zeigten sich sowohl bei den V1a- als auch bei den Kontrolltieren innerhalb der beiden Gruppen ein Abfall des Sauerstoffpartialdrucks sowie ein Anstieg des Sauerstoffangebots des Darms und der Leber während des Versuches. Die Werte des gDO_2 und hDO_2 zeigten hier 12 Stunden nach Versuchsbeginn die höchsten Werte, welche im weiteren Verlauf wieder auf das Ausgangsniveau absanken. Ein Anstieg des systemischen Sauerstoffangebots konnte nur in der Kontrollgruppe beobachtet werden, wohingegen nur bei den V1a- Tieren einen Anstieg des systemischen Sauerstoffverbrauchs verzeichnet wurde. Insgesamt gestalteten sich diese beiden Veränderungen aber als so gering, sodass sich, außer einem leicht größeren, systemischen Sauerstoffangebot in der Kontrollgruppe 18 Stunden nach Sepsisinduktion, während des Versuches keine signifikanten Werte zwischen den beiden Versuchsgruppen ergaben. Die sonstigen Werte gestalteten sich als unauffällig. Ferner zeigten sich auch bei den übrigen Parametern des O_2 -Haushalts keine signifikanten Unterschiede. Zur Veranschaulichung der berechneten Signifikanzen der hier beschriebenen Parameter siehe folgende Tabelle:

Tabelle 13: Darstellung der Mediane des systemischen Sauerstoffangebots und das der Leber in Millilitern pro Kilogramm Tiergewicht pro Minute [ml/kg/min] für die Kontrollgruppe und die V1a-Gruppe (V1a).

Legende: ^a $p < 0,05$ zwischen Kontroll- und V1a- Gruppe, ^b $p < 0,05$ innerhalb der Gruppe im Vergleich zum Zustand vor Sepsisinduktion. Werte auf ganze Zahlen gerundet.

Parameter	Gruppe	Vor Sepsisinduktion	12 Stunden nach Sepsisinduktion	18 Stunden nach Sepsisinduktion	24 Stunden nach Sepsisinduktion
Arteriell Sauerstoff- angebot (ml/kg/h)	V1a	11 (10 bis 14)	14 (13 bis 16)	14 (12 bis 16) ^a	13 (11 bis 17) ^b
	Kontroll	10 (9 bis 11)	14 (12 bis 17)	18 (15 bis 23)	17 (12 bis 21)
Sauerstoff- angebot der Leber (ml/kg/h)	V1a	1 (1 bis 1)	3 (2 bis 3)	2 (2 bis 3) ^a	2 (1 bis 2)
	Kontroll	1 (1 bis 2)	3 (3 bis 4)	3 (2 bis 4)	3 (2 bis 3)

3.6 Systemisch - metabolische Parameter

Zwischen den beiden Versuchsgruppen zeigten sich nur bei den Messungen der $p\text{CO}_2$ - und der spH -Werte signifikante Unterschiede, welche jedoch zum Zeitpunkt der Sepsisinduktion auftraten und sich aber im Laufe des Versuches wieder einander annäherten, sodass kein signifikanter Unterschied mehr entstand. Die V1a- Tiere zeigten hierbei einen höheren $p\text{CO}_2$ und einen niedrigeren spH gegenüber den Kontrolltieren. Innerhalb beider Versuchsgruppen wurde während des Versuches sowohl ein Anstieg des sL/P-Q als auch ein Anstieg des $p\text{CO}_2$ verzeichnet. Hinsichtlich des systemischen pH - Wertes zeigten nur die mit ausschließlich Noradrenalin therapierten Tiere während des Versuches einen signifikanten Abfall des pH . Ferner konnte in der Kontrollgruppe ab 18 Stunden nach Sepsisinduktion ein Abfall der Werte der Basenabweichung gemessen werden. Zur Veranschaulichung der berechneten Signifikanzen siehe folgende Tabelle:

Tabelle 14: Darstellung der Mediane des arteriellen pH , des partiellen Kohlenstoffdioxidpartialdrucks ($p\text{CO}_2$) in Millimetern Quecksilbersäule [mmHg], des arteriellen Laktat-Pyruvat-Quotientens (sL/P-Q) und der arteriellen Basenabweichung (sBE) in Millimol pro Liter (mmol/l) für die Kontrollgruppe und die V1a-Gruppe (V1a).

Legende: ^a $p < 0,05$ zwischen Kontroll- und V1a- Gruppe, ^b $p < 0,05$ innerhalb der Gruppen im Vergleich zum Zustand vor Sepsisinduktion.

Parameter	Gruppe	Vor Sepsisinduktion	12 Stunden nach Sepsisinduktion	18 Stunden nach Sepsisinduktion	24 Stunden nach Sepsisinduktion
arterieller pH	V1a	7,52 (7,50 bis 7,54) ^a	7,51 (7,49 bis 7,54)	7,49 (7,47 bis 7,53)	7,49 (7,37 bis 7,53)
	Kontroll	7,56 (7,54 bis 7,59) ^a	7,51 (7,45 bis 7,53)	7,48 (7,45 bis 7,50)	7,44 (7,38 bis 7,45) ^b
pCO ₂ (mmHg)	V1a	40 (39 bis 42) ^a	40 (38 bis 42)	41 (39 bis 42)	41 (40 bis 50)
	Kontroll	37 (35 bis 39) ^a	41 (40 bis 43)	41 (39 bis 45)	44 (39 bis 46) ^b
sL/P-Q	V1a	9,4 (8,5 bis 9,9)	11,3 (10,6 bis 12,1)	13,5 (10,7 bis 15,0)	14,9 (13,6 bis 26,5) ^b
	Kontroll	8,4 (7,9 bis 8,6)	11,8 (11,1 bis 12,9)	13,2 (11,1 bis 16,1)	15,2 (14,6 bis 17,0) ^b
sBE (mmol/l)	V1a	10,6 (8,2 bis 12,1)	9,6 (7,6 bis 11,2)	8,3 (6,4 bis 10,2)	6,4 (3,0 bis 10,8)
	Kontroll	10,3 (8,5 bis 12,2)	10,1 (7,1 bis 11,3)	6,5 (4,2 bis 8,0)	4,1 (-0,2 bis 6,2) ^b

3.7 Lokale - metabolische Parameter

In diesem Abschnitt zeigten sich nur in der hepatovenösen und portalvenösen Basenabweichung signifikante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen. Diese Unterschiede traten ab 18 Stunden nach Sepsisinduktion auf. Die Kontrolltiere zeigten hierbei einen ausgeprägteren Verbrauch an Pufferbasen als die mit dem V1a-Agonisten behandelten Tiere. Innerhalb der beiden Gruppen zeigte sich sowohl portalvenös wie auch hepatovenös ein deutlicher Anstieg des Laktat-Pyruvat-Quotientens. Auch bezüglich des portalvenöser pH-Werte verhielten sich die Versuchsgruppen ähnlich und zeigten im Laufe des Versuches einen Abfall. Das Absinken der Werte der hepatovenösen Basenabweichung und des hepatovenösen pHs waren bei den Kontrolltieren ausgeprägter und zeigten nur bei dieser Gruppe eine statistische Unabhängigkeit. Zur Veranschaulichung der berechneten Signifikanzen der hier beschriebenen Parameter siehe folgende Tabelle:

Tabelle 15: Darstellung der Mediane der hepatovenösen (hv) und der portalvenösen (pv) Basenabweichung (BE) in Millimol pro Liter [mmol/l] für die Kontrollgruppe und die Vergleichsgruppe (V1a).

Legende: ^a p < 0,05 zwischen der Kontroll- und der V1a- Gruppe; ^b p < 0,05 innerhalb der Gruppe im Vergleich zum Zustand vor Sepsisinduktion.

Parameter	Gruppe	Vor Sepsisinduktion	12 Stunden nach Sepsisinduktion	18 Stunden nach Sepsisinduktion	24 Stunden nach Sepsisinduktion
hvBE (mmol/l)	V1a	12,2 (9,6 bis 13,4)	10,9 (9,6 bis 12,5)	10,2 (9,7 bis 11,6) ^a	8,7 (5,9 bis 12,7)
	Kontroll	12,5 (10,0 bis 14,1)	10,5 (8,0 bis 12,1)	8,4 (5,8 bis 9,2) ^a	5,8 (0,5 bis 7,4) ^b
pvBE (mmol/l)	V1a	12 (9,6 bis 13,3)	9,8 (9,3 bis 11,4)	9,9 (8,3 bis 10,8) ^a	8,4 (4,8 bis 10,8) ^b
	Kontroll	10,5 (9,5 bis 12,4)	10,1 (8,3 bis 11,2)	6,7 (4,1 bis 8,5) ^a	4,8 (0,1 bis 6,2) ^b

3.8 Parameter der Nierenfunktion

Zur Bestimmung der Kreatinin-Clearance wurden Urinproben in 2 verschiedenen Zeitintervallen bestimmt. Die Daten zu Urin 9 beziehen sich auf den Zeitraum von der Sepsisinduktion bis zum MZP 2, also 12 Stunden danach. Die Daten zu Urin 9 beziehen sich auf die Zeit zwischen MZP 3 und MZP 4, also der Zeit zwischen 12 und 24 Stunden nach der Sepsisinduktion. Die Daten der Kreatinin-Clearance zeigten eine stärkere Abnahme der Nierenfunktion bei den Kontrolltieren als bei den V1a-Tieren, jedoch waren diese Unterschiede nicht signifikant. Das folgende Diagramm zeigt die Werteverteilung der Kreatinin-Clearance zu den einzelnen Messzeitpunkten:

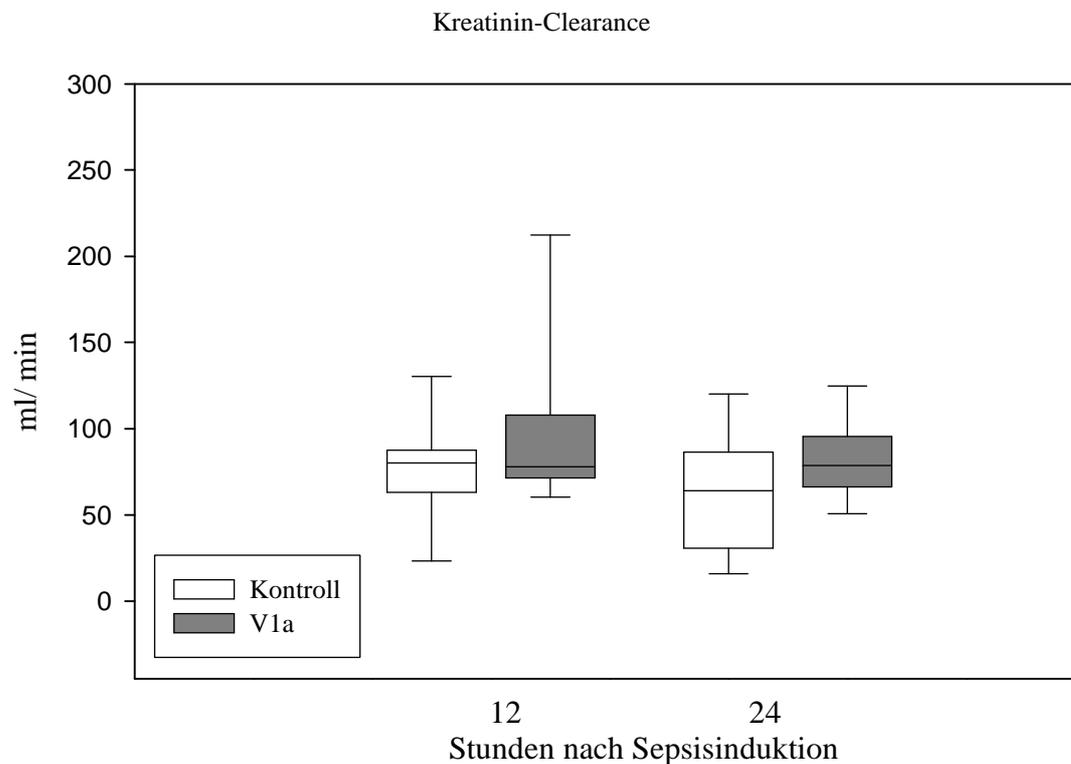


Abbildung 9: Darstellung der Kreatinin- Clearance in Millilitern pro Minute [ml/min] Vergleich der Kontrollgruppe gegenüber der V1a- Gruppe. Die Darstellung erfolgt in Boxplots.

3.9 Troponin und histologische Ergebnisse

3.9.1 Die Troponinbestimmung

Weder innerhalb der beiden Gruppen noch zwischen diesen zeigten sich signifikante Unterschiede hinsichtlich der Troponinwerte. Bei den V1a- Tieren lagen alle Werte im Referenzbereich (Referenzbereich Troponin 0,1-2,0 $\mu\text{g/l}$). Nur bei den Kontrolltieren traten bei zwei Exemplaren minimal erhöhte Troponinwerte auf.

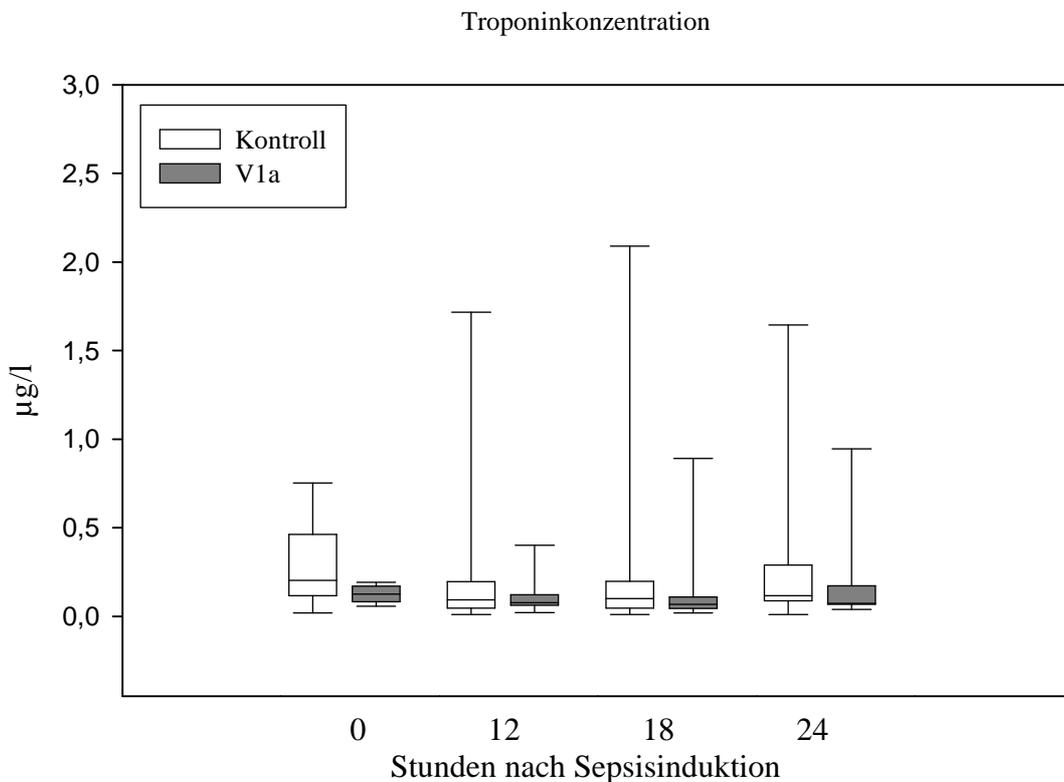


Abbildung 10: Darstellung der Troponinkonzentration im Blut, angegeben in Mikrogramm pro Liter [$\mu\text{g/l}$] Vergleich der Kontrollgruppe gegenüber der V1a- Gruppe. Die Darstellung erfolgt in Boxplots.

3.9.2 Hämatoxylin-Eosin (H.E.)-Färbungen

Quantitativ konnten keine einheitlichen Veränderungen an den Organen festgehalten werden, welches eine statistische Auswertung somit nicht ermöglichte. Qualitativ konnten in einigen Präparaten des Herzmuskelgewebes hypereosinophile Streifen mit Ausrichtung

quer zu einer Muskelfibrille, sogenannte Kontraktionsbänder, welche das morphologische Korrelat einer frischen ischämischen Herzmuskelschädigung darstellen, nachgewiesen werden [12]. Diese zeigten sich aber nur in einigen Organen und dort nur vereinzelt. In den Schnitten der Leber zeigte sich z.T. eine Blutstauung sowie eine Cholestase mit Gallenkonkrementen in den Gallengängen. Ferner konnte hier eine unspezifische portale Entzündungsreaktion mit mononukleärem Entzündungsinfiltrat beobachtet werden. Die Nieren zeigten vereinzelt hydropische Schwellungen, wie es im Schock häufig beobachtet wird [41]. In den Lungen zeigte sich außer einem Lungenemphysem keine Auffälligkeiten. Die Schnitte des Darms zeigten Vergrößerungen der Peyer-Plaques und eine generelle Eosinophilie.

Insgesamt zeigten sich keine einheitlichen spezifischen Veränderungen, welche quantitativ erfasst und statistisch ausgewertet werden konnten.

Auf den folgenden Fotos sind einige der oben geschilderten Veränderungen abgebildet:

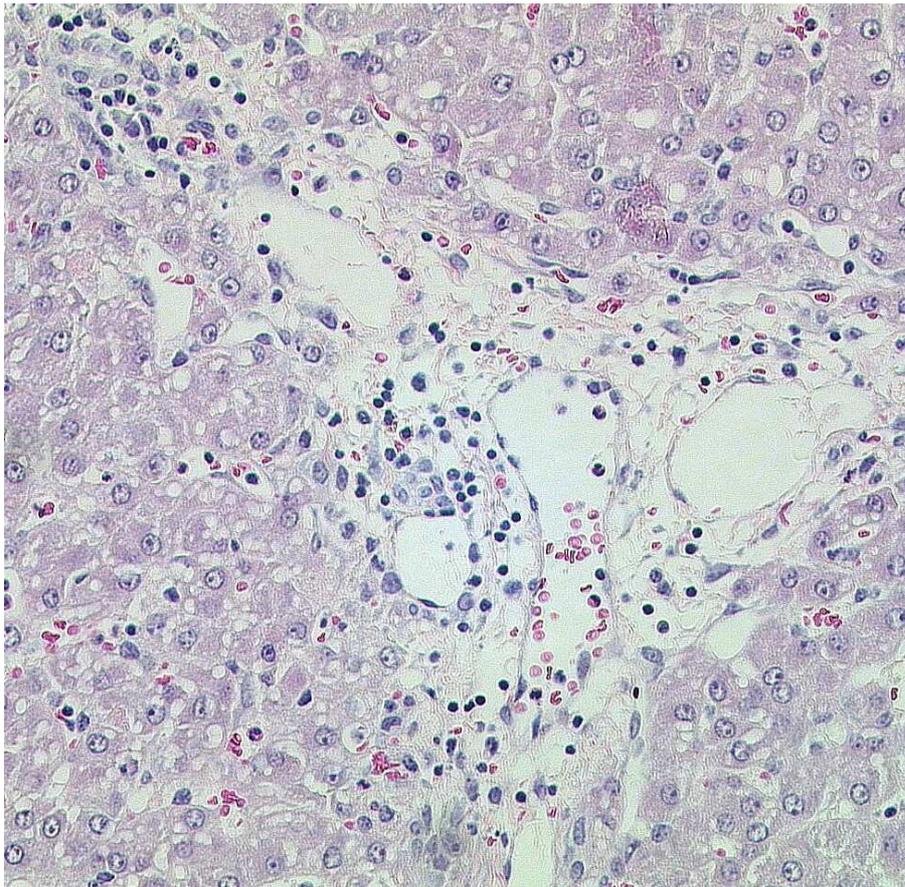


Abbildung 11: H.E.-Schnitt der Leber bei 200-facher Vergrößerung: Der Ausschnitt zeigt ein Portalfeld mit mononukleärem Entzündungsinfiltrat.

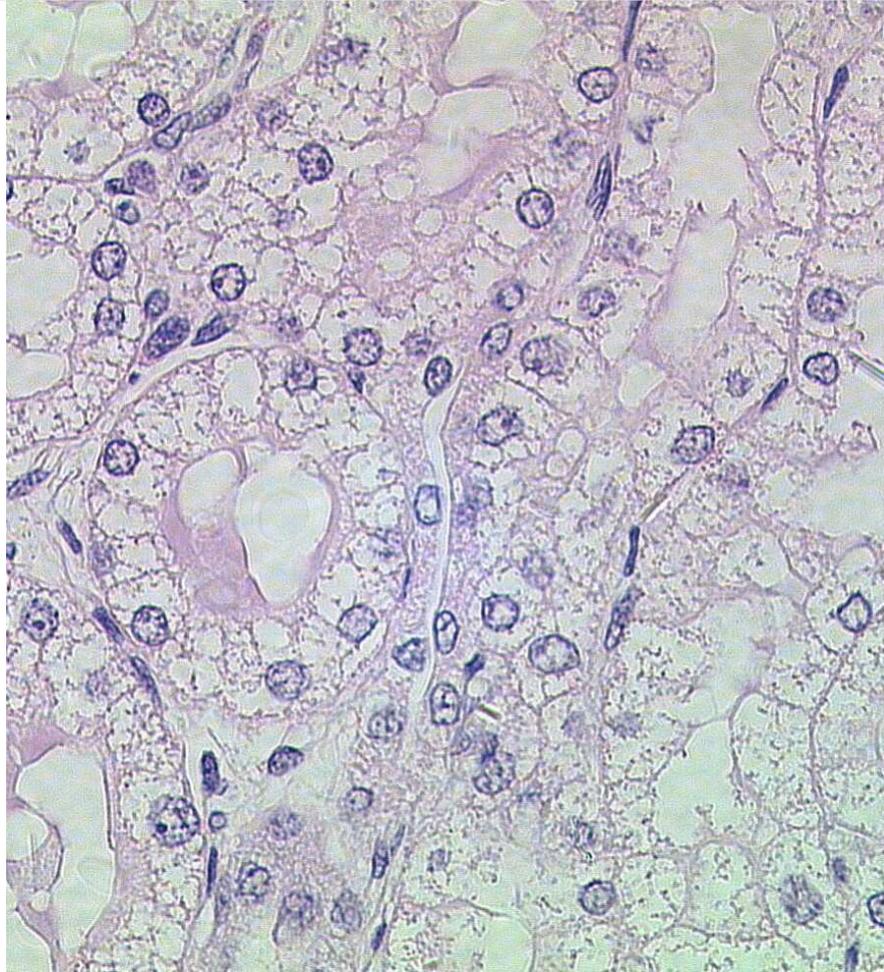


Abbildung 12: H.E.-Schnitt einer Niere bei 200-facher Vergrößerung: Der Bildausschnitt ist aus dem Nierenmark. Zu sehen sind angeschnittene Tubuli mit z.T. hydroptisch geschwollenen Tubuluszellen.

3.9.3 Die immunhistologische Tunel- Färbung

Bei den Präparaten der Tunel-Färbung zählten wir in 60 Gesichtsfeldern bei 200-facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop alle angefärbten Zellkerne mit morphologischem Korrelat einer Apoptose aus. Hierbei zeigten sich hinsichtlich der Anzahl an Apoptosen in keinem Organ statistisch-relevante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen. Folgende Tabelle zeigt eine Übersicht bezüglich der registrierten Apoptosen von Niere und Herz:

Tabelle 16: Darstellung der ermittelten Apoptosen auf 60 Gesichtsfelder bei 200-facher Vergrößerung für die Kontrollgruppe und die Vergleichsgruppe (V1a). Angegeben sind die Mediane (Quartile) der Apoptosen.

Organ	Gruppe	Apoptosen
Niere	Kontroll	11 (5 bis 16)
	V1a	4 (2 bis 9)
Herz	Kontroll	5 (3 bis 6)
	V1a	5 (4 bis 7)

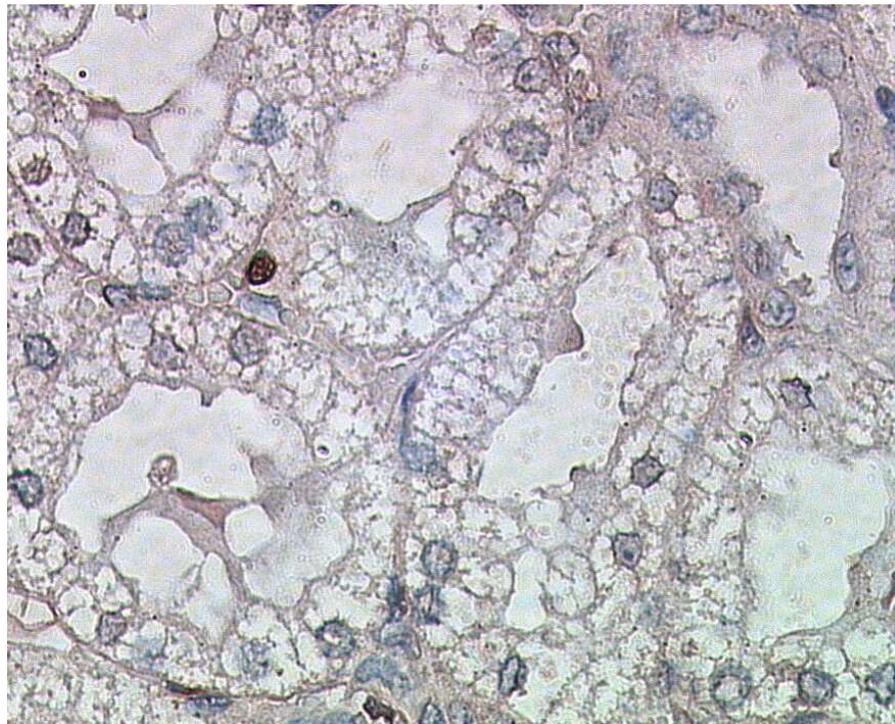


Abbildung 13: Immunhistologische Tunelfärbung der Niere. Ausschnitt aus dem Nierenparenchym bei 200-facher Vergrößerung. Im Zentrum ist eine apoptotische Tubulusepithelzelle zu sehen.

4. Diskussion

In der vorgestellten Arbeit wurde untersucht, ob beim Hausschwein im hyperdynamen, septischen Schock ein selektiver V1a- Agonist im Vergleich zum derzeitigen Standardmedikament Noradrenalin einen positiven Effekt auf Hämodynamik, Herzkreislaufsituation sowie den Flüssigkeitshaushalt hat. Deshalb erhielten die Versuchstiere der V1a- Gruppe in unserem Experiment den selektiven V1a- Agonisten FE 202158 und wurden der Kontrollgruppe, welche lediglich Noradrenalin als Vasopressor erhielt, gegenüber gestellt. Es sollte dabei ferner geklärt werden, ob unter der V1a- Therapie toxisch-bedingte Veränderungen an Niere, Herz, Leber, Lunge und Darm in Erscheinung treten und in wie fern sich solche Veränderungen zwischen den Versuchsgruppen unterscheiden.

4.1 Das Studienmodell

In dieser Arbeit kam ein bewährtes Tier- Modell zur Anwendung, welches aufgrund der Dauer und der hyperdynamischen Kreislaufsituation gemäß vieler Autoren die Kriterien eines klinisch relevanten septischen Schocks, wie er auch auf Intensivstationen auftritt, erfüllt [28, 38, 45, 47, 139]. Bei operativen Patienten mit einem septischen Schock stellt die fäkale Peritonitis die wichtigste Ätiologie dar [46, 101, 130]. Die Versuche sollten somit der klinischen Routine möglichst nahe kommen. Es soll hier daraufhin hingewiesen werden, dass die dazu verwendete Tierspezies sich aus mehreren Gründen besonders gut für die Studie eignete [32, 47]. Erstens ist dieses Tiermodell der menschlichen Sepsis aufgrund einer hyperdynamischen Zirkulation bei niedrigem peripheren Widerstand, persistierendem Metabolismus, akutem Versagen des Respirationstraktes, welches eine Beatmung erforderlich macht, sowie Multiorganversagen sehr ähnlich, zweitens ist hier anders als bei anderen Spezies hinsichtlich der Lokalisation und Konfiguration der intrathorakalen sowie abdominalen Organen eine optimale anatomische Analogie gegeben, der Stoffwechsel zeigt gleichwertig physiologische als auch pathophysiologische Homologien zum Menschen und drittens, erlaubt das Modell einen unkomplizierten Zugang zu dem Splanchnikusgebiet und lässt somit die Verwendung von Instrumenten zur Beurteilung der regionalen Hämodynamik, des Sauerstofftransports und der Stoffwechselfunktion zu. Als letzten Punkt, der für dieses große Tiermodell spricht, lässt sich die einfache Übertragung der Ergebnisse auf die Intensivmedizin aufgrund der oben

angeführten Analogie in physiologischen und metabolischen Prozessen anführen [25, 47, 102, 110]. Das Schwein besitzt somit im Gegensatz zu anderen Spezies hinsichtlich Anatomie, Metabolismus als auch physiologischen und pathophysiologischen Prozessen die beste Homologie zum Menschen [32, 47]. Die Sepsis wurde in dieser Studie mittels einer fäkalen Peritonitis induziert. Dieses Vorgehen wird in der Literatur als eine besonders adäquate Reproduktion des septischen Schocks beim Menschen angesehen [9, 10, 56, 73, 79, 133]. Diese Vermittlung des septischen Schocks hat gegenüber der sonst üblichen kontinuierlichen Endotoxininfusion mehrere Vorteile: Der septische Schock beruht bei der fäkalen Peritonitis auf der Einschwemmung lebender Mikroorganismen in die Abdominalhöhle und nicht wie bei der kontinuierlichen Endotoxineinfuhr auf den Effekten einzelner Bakterienbestandteile. Es kommt somit zu einer polymikrobiellen Sepsis wie sie auch bei der Mehrzahl der Patienten auf operativen Intensivstationen vorliegt [7, 70, 130]. Ferner ist die Auslösung eines septischen Schocks durch eine Peritonitis die wichtigste und bedeutendste Ätiologie eines septischen Schocks bei operativen, nicht kardiochirurgischen Patienten [101, 123].

4.2 Systemische Hämodynamik

Der septische Schock verläuft in zwei unterschiedlichen, aufeinanderfolgenden Phasen ab. Die frühe und zuerst auftretende Phase ist durch einen noch normgerechten mittleren, arteriellen Druck, eine Steigerung des Herzminutenvolumens, eine hohe Sauerstoffsättigung des venösen Blutstroms mit konsekutiver niedriger arteriovenöser Sauerstoffdifferenz, eine Reduktion des peripheren Widerstands sowie meist durch eine metabolischen Azidose gekennzeichnet und wird in der Literatur als hyperdynamische Phase des septischen Schocks bezeichnet. Während dieser Phase der Sepsis steigt der Blutfluss in Herz, Darm und Niere an [30, 133]. Die Veränderungen entstehen hier unter anderem durch eine starke Sympathikusaktivierung sowie einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Der hyperdynamischen Phase folgt aufgrund eines Zusammenbruchs der kompensatorischen Maßnahmen eine hypodynamische Phase, welche durch einen starken Blutdruckabfall, einen Anstieg des peripheren Widerstands mit erhöhter arteriovenöser Sauerstoffdifferenz gekennzeichnet ist und somit letztlich mit einer Minderperfusion des peripheren Gewebes einhergeht. Diese Erscheinungen lassen sich unter anderem auf septisch induzierte Vasodilatation, einen erniedrigten peripheren Widerstand sowie einer pathologisch erhöhte Gefäßpermeabilität zurückführen [35, 49, 138]. Weitere typische Ereignisse während der hypodynamischen Phase sind eine Abnahme des zentralvenösen

Drucks und der Diurese [3, 24, 42, 127]. Da unsere Tiere nur über einen Zeitraum von 24 Stunden unter septischen Bedingungen beobachtet wurden, ist davon auszugehen, dass sich die Versuchstiere noch in der frühen, hyperdynamen Phase des septischen Schocks befanden. Diese Annahme konnte durch die im Folgenden beschriebenen Parameter bestätigt werden.

Es gibt bereits zahlreiche Studien, welche den Einfluss von Noradrenalin während des septischen Schock unter ähnlichen Bedingungen, wie sie in unseren Versuchsreihen vorlagen, untersuchten. Typische Veränderungen die hier beobachtet wurden sind trotz gleichbleibendem Blutfluss eine Verstärkung des Herzauswurfvolumens, des Blutdrucks sowie der Herzleistung [30, 133]. Ferner gibt es Studien zum Vergleich zwischen Noradrenalin und V1-Rezeptor-selektiven Substanzen. Barrett et al untersuchten z.B. den Einfluss von Noradrenalin und Terlipressin, einem Vasopressinanalogen mit höherer V1-Rezeptorselektivität als das physiologische Vasopressin, hinsichtlich dem hämodynamischen Ansprechen septischer Versuchstiere. Es konnte hier bei fortgeschrittener Sepsis eine deutliche Reduktion des Ansprechens hinsichtlich einer Blutdrucksteigerung auf Noradrenalin nachgewiesen werden, während das Ansprechen des septischen Organismus auf den selektiven V1-Rezeptor-Agonisten weiterhin intakt war. Dabei nahmen unter Noradrenalin die arteriellen Kontraktionen des septischen Tieres im Verlauf ab, wohingegen die Potenz des selektiven V1-Rez-Agonisten zu steigen schien [13]. Andere Studien konnten weiter zeigen, dass niedrigdosierte V1-selektive Substanzen als Zusatz zu einer Noradrenalintherapie den arteriellen Blutdruck sicherer aufrechterhalten konnten als eine Noradrenalin-Monotherapie und rebound-Hypotensionen effektiver vermieden werden konnten [85].

Bereits 12 Stunden nach der Sepsisinduktion zeigte sich bei beiden Versuchsgruppen ein signifikanter Anstieg der Herzfrequenz. Aufgrund der Tatsache, dass 12 Stunden nach Sepsisinduktion bereits exogen Noradrenalin zugeführt wurde, lässt sich diese Beobachtung schlüssig erklären. Endogene Faktoren, wie z.B. eine vermehrte Katecholaminausschüttung des Tieres durch die Sepsis [42, 87] oder kompensatorische Mechanismen des kardiovaskulären Systems das Herzminutenvolumen aufrecht zu erhalten [30, 87], welche die Herzfrequenz steigernd beeinflussen können, wirken hierbei sicherlich mit ein, sind aber im Verhältnis zum exogen zugeführten Noradrenalin verschwindend gering und sollen somit hier bei der Erklärung des Anstiegs der Herzfrequenz nicht im Vordergrund stehen.

Das kennzeichnende Merkmal des septischen Schocks ist der Abfall des mittleren, arteriellen Drucks. Durch die gruppenspezifische Therapie mit Vasopressoren und Volumenersatzmitteln konnte der MAP beider Versuchsgruppen im physiologischen Referenzbereich gehalten werden. 24 Stunden nach der Sepsisinduktion zeigten sich jedoch in der V1a- Gruppe signifikant höhere Werte als in der Kontrollgruppe.

In Pilotexperimenten ohne zeitnahe Vasopressorenzufuhr zeigte sich ein deutlicher Abfall des mittleren, arteriellen Drucks. Da in unserem Experiment die Werte des MAP unter Noradrenalin- bzw. V1a- Agonisten- Therapie annähernd konstant gehalten werden konnten, lässt sich somit folgern, dass die verabreichten Substanzen dem Abfall des MAP entgegenwirkten. Die Beobachtung, dass zum Versuchsende die V1a- Tiere einen signifikant höheren mittleren, arteriellen Druck als die Kontrollgruppe aufwiesen, könnte die Annahme erhärten, dass durch einen selektiven V1a-Agonisten ein besserer Erhalt des MAP gewährleistet wird. Diese V1- Rezeptor-vermittelte Beobachtung wurde bereits von mehreren Autoren beim Vasopressin beschrieben und könnte darauf schließen lassen, dass durch die Aktivierung des V1- Rezeptors eine effektivere und suffizientere Vasokonstriktion am Gefäßendothel als durch Noradrenalin hervorgerufen wird [13, 83, 92]. Da in unseren Versuchen aber der Bedarf an zusätzlich applizierten Katecholaminen der V1a- Gruppe jedoch sehr hoch war, zweifeln wir an solch einer überlegenen Wirkung des V1a- Rezeptor-Agonisten.

Während der arterielle Druck meist erst nach Volumenverlusten von 20 Prozent und mehr auf pathologische Werte abfällt, vermindert sich der zentral venöse Druck schon bei Verlusten von etwa 10 Prozent an Blutvolumen. Der ZVD ist somit ein guter Marker für einen Volumenmangel [143]. Bei unserem Versuch zeigten die Kontrolltiere 24 Stunden nach Sepsisinduktion signifikant höhere ZVD-Werte als die V1a-Tiere. Unter der Berücksichtigung der Ergebnisse, dass die Kontrolltiere bei gleicher Volumenapplikation wie die V1a-Tiere, einer niedrigeren Urinausscheidung als die V1a- Tiere und letztlich einer höheren Flüssigkeitsbilanz 24h nach Sepsisinduktion, lässt sich die Beobachtung des höheren ZVDs der Kontrolltiere gegen Versuchsende schlüssig erklären.

Hinsichtlich des Herzminutenvolumens zeigte sich nur in der Kontrollgruppe im Verlauf eine Zunahme der Werte. Zum Versuchsende resultierten daraus auch höhere Werte des HZV der Kontrolltiere gegenüber der V1a- Gruppe. Da auch das Herzminutenvolumen wie der ZVD vom Blutvolumen abhängig ist, lässt sich der Gruppenunterschied durch die höhere Flüssigkeitsbilanz der Kontrollgruppe erklären.

Der Bedarf an Noradrenalin der V1a-Gruppe während unseres Versuches war höher als erwartet. Die verabreichte Menge an Noradrenalin war zwar in der Kontrollgruppe signifikant höher als der der V1a-Gruppe, gegen Versuchsende waren die Infusionsraten jedoch nahezu identisch. Anhand dieser Beobachtung lässt sich an einer suffizienten, blutdruckstabilisierenden Wirkung des selektiven V1a-Agonisten zweifeln bzw. scheint Noradrenalin dem selektiven V1a-Agonisten hinsichtlich der Aufrechterhaltung des mittleren, arteriellen Drucks überlegen zu sein. Des Weiteren verhielten sich die hämodynamischen Parameter der V1a- Gruppe nahezu analog zu denen der Kontrollgruppe. Folglich lässt sich vermuten, dass die Beobachtungen in der V1a- Gruppe vielmehr durch den Einfluss des Noradrenalins als durch die Wirkung des selektiven V1a-Rezeptor- Agonisten bedingt sein könnten.

4.3 Der Flüssigkeitshaushalt

Im Rahmen des Multiorganversagens entwickelt sich bei Sepsis typischerweise eine Oligurie, welche relativ früh nach dem Eintreten der Sepsis in Erscheinung tritt [144]. Diese Beobachtung wurde auch in unserer Kontrollgruppe gemacht, in welcher die Versuchstiere mit Fortschreiten des Versuches eine deutliche Abnahme der Urinproduktion zeigten. Bekannt ist, dass durch Noradrenalin eine bereits kompromittierte Urinausscheidung unter septischen Bedingungen gesteigert wird, da durch die noradrenalinbedingte Steigerung des Herz-Zeit-Volumens und des mittleren, arteriellen Drucks letztlich der glomeruläre Filtrationsdruck gesteigert wird, welches sich in einem Anstieg des Urinvolumens äußert [30, 103, 131, 133]. Zu einer Kompensation der Oligurie durch Noradrenalin können wir keine Aussage machen, da in unseren Versuchen der Vergleich zu einer Placebogruppe fehlte. Wir konnten aber beobachten, dass sich bei den mit dem selektiven V1a- Rezeptor- Agonisten behandelten Tieren kein signifikanter Abfall der Urinausscheidung zeigte. Vielmehr zeigte sich dort sogar eine leichte Zunahme der Urinproduktion, sodass es gegen Versuchsende zu einer signifikant höheren Urinausscheidung gegenüber der Kontrollgruppe kam. Auch in der Flüssigkeitsbilanz zeigten sich in der Kontrollgruppe gegen Versuchsende deutlich positivere Werte als in der V1a-Gruppe, welches eine vermehrte Flüssigkeitseinlagerung anzeigte. Da sich bei der applizierten Menge an Hydroxyethylstärke und Volumenersatzmitteln keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ergaben, ist die höhere Flüssigkeitsbilanz der Kontrollgruppe als Ausdruck der geringeren Urinausscheidung zu werten. Die Beobachtung der höheren Urinproduktion und der niedrigen Flüssigkeitsbilanz gegenüber

der Kontrollgruppe in unserer V1a-Gruppe, kann durch den signifikant höheren mittleren, arteriellen Druck in der V1a- Gruppe erklärt werden, da dadurch, wie oben beschrieben, die Urinausscheidung erhöht und somit die Flüssigkeitsbilanz erniedrigt wird. Ferner lässt sich die vorgegebene Annahme erhärten, dass unsere Substanz FE 202158 eine absolute Selektivität für den V1a- Rezeptor aufweist und somit eine fehlende Wirkung am V2- Rezeptor hat. Der V2- Rezeptor führt bei Aktivierung, z.B. durch das physiologische antidiuretische Hormon, Vasopressin, zu einem Einbau von Aquaporinkanälen in die Zellmembran der tubulären Zellen des Sammelrohrs, welches somit zu einer Flüssigkeitsretention und letztlich einer Antidiurese führt [20]. Hätte unsere Substanz FE 202158 eine Affinität zu diesem Rezeptortyp aufgewiesen und diesen stimuliert, wäre eine deutlich geringere Urinproduktion bei höherer Flüssigkeitsbilanz der Tiere beobachtet worden [20]. Auch in der Serumproteinkonzentrationen spiegelte sich die geringere Urinausscheidung der Kontrollgruppe wieder; hier zeigten sich signifikant niedrigere Serumproteinkonzentrationen als in der V1a-Gruppe. Studien konnten zeigen, dass bereits während der frühen, hyperdynamen Phase der Sepsis ein Abfall des Gesamtproteins vorliegt [4, 5, 54]. Diese Beobachtung konnten wir innerhalb beider Versuchsgruppen machen und führen dies auf die applizierten Volumensubstitutionsmittel in erster Linie sowie auf das Fortschreiten des septischen Schocks zurück.

4.4 Sauerstoffangebot und –Verbrauch sowie der Sauerstoffpartialdruck

Zu den häufigen Komplikationen des septischen Krankheitsbildes zählen kardiopulmonale, gastrointestinale, renale und neurologische Komplikationen sowie Komplikationen und Störungen in der Blutgerinnung. Dabei ist die Lunge das am häufigsten betroffene Organ, gefolgt von der Leber und dem Gastrointestinaltrakts [17, 121]. Im weiteren Verlauf kommt es zu einem progredienten Multiorganversagen [35, 49]. Unter Mitbeteiligung der Lunge kommt es zu einem stetigen Abfall der Sauerstoffsättigung und des gesamten Sauerstoffangebotes im Blut. Weiterer Ausdruck der progredienten Diffusionsstörung der Lunge ist ein Anstieg des partiellen Kohlenstoffdioxid drucks im Blut [17]. Diese Beobachtung konnten wir in unserem Tiermodell annähernd gleichermaßen in beiden Gruppen machen. Der Horovitzindex gilt als ein Marker für das Ausmaß einer Lungenschädigung. Er beschreibt das Verhältnis von arteriellem pO_2 zu dem inspiratorischen Sauerstoffanteil (FiO_2). Bei Lungengesunden liegt der Horovitzindex zwischen 350-450. Ein Wert unter 300 gilt als Hinweis für einen mäßig schweren Lungenschaden, ein Wert unter 200 als Kriterium für einen schweren Lungenschaden

[145]. Bei unseren Versuchen zeigte sich in beiden Versuchsgruppen ein signifikanter Abfall des Quotienten. Da bei einigen Versuchstieren die Werte des Horovitzindex 24 Stunden nach Sepsisinduktion bereits unter 200 lagen, gehen wir bei diesen Tieren von einem schweren Lungenschaden aus. Zwischen den beiden Versuchsgruppen unterschieden sich die Werte des Horovitzindex nur 18 Stunden nach Sepsisinduktion und zeigten in der V1a- Gruppe signifikant höhere Werte als in der Kontrollgruppe. 6 Stunden später zeigte sich jedoch keine Signifikanz mehr. Da sich bei den Werten des Horovitzindex außer 18 Stunden nach Sepsisinduktion zwischen beiden Versuchsgruppen keine nennenswerten Unterschiede zeigten, gehen wir nicht von einem protektiven Schutz des V1a- Agonisten bezüglich einer Lungenschädigung bei Sepsis aus.

Hinsichtlich des systemischen Sauerstoffangebots zeigten nur die Werte der Kontrollgruppe einen signifikanten Anstieg, welches zu deutlich höheren sDO_2 -Werten der Kontrollgruppe gegenüber der V1a- Gruppe gegen Versuchende führte. Ferner wurde in beiden Gruppen ein Anstieg des Sauerstoffangebotes des Darms beobachtet, welcher jedoch in der Kontrollgruppe deutlich ausgeprägter war. Auch der Anstieg des Sauerstoffangebots der Leber stieg in beiden Gruppen an, zeigte jedoch bereits 18 Stunden nach Sepsisinduktion deutlich höhere, statistisch unabhängige Werte in der Kontrollgruppe.

Aufgrund der Beobachtung, dass nur in der Kontrollgruppe 24 Stunden nach Sepsisinduktion ein signifikanter Anstieg der FiO_2 verzeichnet wurde, könnten die höheren DO_2 -Werte gegenüber der V1a-Gruppe dadurch erklärt werden.

Bezüglich des Sauerstoffverbrauchs zeigten sich keine einschlägigen Unterschiede innerhalb und zwischen den beiden Versuchsgruppen.

4.5 Metabolische Parameter

Pyruvat ist das Endprodukt der Glycolyse, welches unter aeroben Bedingungen überwiegend in das Mitochondrium geschleust wird, um dort am Citratzyklus teilzunehmen. Weitere Möglichkeiten des Pyruvats dem Stoffwechsel beizutragen, sind z.B. die Überführung in Alanin, um dem Aminosäurenstoffwechsel zur Verfügung zu stehen oder durch die Laktatdehydrogenase zu Laktat reduziert zu werden. Da unter anaeroben Bedingungen der für die Atmungskette essentielle Sauerstoff, welche dem Citratzyklus angeschlossen ist, mangelt, wird das in der Glycolyse gebildete Pyruvat vorwiegend zu Laktat reduziert. Die Reduktion des Pyruvats zu Laktat generiert für die

Glycolyse wertvolles NAD^+ , sodass diese auch unter vollständigem Sauerstoffmangel ablaufen kann [51, 95, 105]. Unter anaeroben Bedingungen verschiebt sich somit das Laktat-Pyruvatverhältnis zu Gunsten des Laktats und bewirkt somit eine Erhöhung des L-P-Quotienten. Parallel stellt sich dazu eine Azidose ein. Man bezeichnet diese als Laktatazidose [11, 51, 52, 95]. Eine weitere mögliche Ursache für eine Laktatazidose sind Katecholamine, welche unter Mitwirkung von cAMP den Glycogenabbau und die Laktatbildung fördern [51, 90]. Eine Klassifikation der Laktatazidose unterteilt diese in Typ A, welche durch ein Missverhältnis des Sauerstoffbedarfs bzw. der Sauerstoffversorgung bei Minderperfusion gekennzeichnet ist, und einer Laktatazidose Typ B, welche sich durch keine eingeschränkte Sauerstoffzufuhr, aber durch eine pathologische Umverteilung auszeichnet. Auch bei septischen Stoffwechseleränderungen tritt typischerweise eine Laktatazidose auf. Es spielen hierbei sowohl die Effekte der Minderperfusion als auch die Effekte der fehlerhaften Umverteilung und die der Katecholamintherapie eine Rolle [51, 52].

Typisches Zeichen der schweren Sepsis sowie des septischen Schocks ist unter anderem als Zeichen der Sauerstoffminderversorgung eine Erhöhung des Laktat-Pyruvat-Quotientens (L-P-Q). Eine Anhebung des L-P-Q über den Normwert 10:1 tritt typischerweise bei anaeroben Zuständen auf [11, 67]. Der L-P-Q bietet somit eine gute Möglichkeit zur Darstellung einer inadäquaten Laktatproduktion und -Utilization, z.B. als Ausdruck einer Gewebeminderperfusion oder einer Hypoxie [78]. Das gemessene Laktat-Pyruvat-Verhältnis im Blut entspricht dem im Gewebe [114].

Auch in unserem Versuch konnte sowohl bei den V1a-Tieren, als auch bei den Kontrolltieren systemisch, hepatovenös sowie portalvenös ein Anstieg des L-P-Q beobachtet werden. Es zeigten sich dabei jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Wie oben bereits erwähnt, beschrieben bereits viele andere Autoren das Phänomen der Laktatazidose bei Sepsis und zeigten, dass die Azidose bei Sepsis und während des septischen Schocks weniger Ausdruck anaerober Glycolyse und somit zellulärer Hypoxie, sondern vielmehr Ausdruck von einem Zusammenspiel mehrerer Faktoren wie z.B. vermindertem effektiven Blutvolumen mit konsekutiver zellulärer Hypoxie, Gewebeischämie durch arterio-venöse Shunts, kompromittierter Aktivität der Pyruvat-Dehydrogenase, erhöhter Aminosäurenverfügbarkeit durch erhöhten Eiweißabbau, verminderter Laktatclearance aufgrund von Leber- und Nierenversagen und verstärkter Erythrozytenproduktion ist [51, 52, 68, 91].

Während unseres Versuches zeigte sich bei den Tieren zunächst eine metabolische Alkalose. Im Verlauf zeigte sich jedoch ein Verbrauch von Pufferbasen. Dies war vor allem bei den Kontrolltieren deutlich zu erkennen. Sowohl die arteriellen pH- Messungen als auch die hepato- und portalvenösen Messungen zeigten in der Kontrollgruppe einen signifikanten Abfall. Innerhalb der Gruppe der V1a- Tiere konnte nur im portalvenösen Blut ein signifikanter Abfall des pH- Werts 24h nach Sepsisinduktion festgestellt werden. Unsere Beobachtungen bezüglich des Stoffwechsels und der pH- Wertänderungen unter septischen Bedingungen konnten bereits 1997 von Levy et al beschrieben werden. Sie beobachteten bei septischen Patienten, welche mit Noradrenalin therapiert wurden, eine intestinale Azidose, systemisch-metabolische Änderungen sowie eine ausgesprochen inadäquate Sauerstoffverwertung des Splanchnikusgebiets [90]. Somit decken sich unsere Beobachtungen mit denen anderer Autoren [74, 111].

Noradrenalin bewirkt eine Vasokonstriktion, welche im Gewebe, speziell im Leber-Splanchnikus-Gebiet, deutlich ausgeprägter ist und somit bei Schocksymptomatik zu einer Zentralisation des Kreislaufs führt. Eine Folge ist ein Anstieg von Parametern des anaeroben Stoffwechsels, wie z.B. Lactat, sowie eine metabolische Azidose [80]. Die Beobachtung, dass im Gegensatz zur Kontrollgruppe bei der V1a- Gruppe der pH- Wert nur im portalvenösen Blut signifikant abfällt, kann wieder durch die Tatsache erklärt werden, dass zum einen der V1a- Agonist auf den pH- Wert keinen großen Einfluss zu haben scheint und zum anderen, dass die Noradrenalinapplikation in der V1a- Gruppe geringer ausfiel als in der Kontrollgruppe. Die Beobachtung der ausgeprägteren Azidose der Kontrollgruppe spiegelte sich auch in der Basenabweichung wider. Die Kontrolltiere zeigten hierbei einen deutlich höheren Verbrauch von Pufferbasen, welches durch die oben geschilderten Punkte nachvollziehbar ist.

4.6 Parameter der Nierenfunktion

Die Kreatinin-Clearance ist definiert als das Blutplasmavolumen, welches pro Zeiteinheit von Kreatinin befreit wird. Sie bietet eine gute Möglichkeit die glomeruläre Filtrationrate widerzuspiegeln, da Kreatinin vorwiegend glomerulär filtriert und nur zu einem sehr geringen Teil tubulär sezerniert wird. Deshalb wird die Kreatinin- Clearance auch im klinischen Alltag als Marker für die Nierenfunktion eingesetzt [14, 53]. Während unseres Versuches zeigten sich keine signifikanten Änderungen in der Kreatinin- Clearance. Zwar wurden bei den Kontrolltieren etwas niedrigere Werte im Laufe des Versuches als bei denen der V1a- Tieren gemessen, diese zeigten aber keine Signifikanz. Korrespondierend

zu den Beobachtungen von Giantomasso und May wäre unter einer Noradrenalintherapie im septischen Schock mit einem Anstieg der Kreatinin-Clearance zu rechnen gewesen, welches sich wie bereits beschrieben in unserer Kontrollgruppe nicht zeigte [30].

Wheeler et al. beschrieben 1999 in ihrer Veröffentlichung eine Oligurie mit assoziiertem akuten Nierenversagen durchschnittlich 2 Tage nach Sepsisbeginn [144]. Die Tatsache, dass sich ein akutes Nierenversagen mit Oligurie zwar relativ früh bei Sepsis entwickelt, unsere Tiere aber nur bis 24 Stunden nach Sepsisinduktion beobachtet wurden, könnte dafür sprechen, dass der Beobachtungszeitraum zu kurz für einen signifikanten Abfall der Kreatinin-Clearance war. Da auch in der V1a- Gruppe keine statistisch unabhängige Veränderung der Nierenparameter festgestellt wurde, kann somit auf unseren Beobachtungszeitraum bezogen, eine akute Schädigung der Niere durch den selektiven V1a- Rezeptor- Agonisten FE 202158, ausgeschlossen bzw. für sehr unwahrscheinlich erklärt werden.

4.7 Troponin und histologische Ergebnisse

4.7.1 Troponin

Troponin ist ein guter Marker für Schädigungen des Herzmuskelgewebes, da es nur im Myocard gebildet wird und somit bei erhöhten Werten im Serum eine Schädigung des Herzmuskelgewebes anzeigt [72, 113]. Aus vorrausgehenden Studien ist bekannt, dass auch die Koronargefäße wie alle anderen Gefäße auf einen Vasopressinreiz mit einer V1a- Rezeptor-vermittelten Vasokonstriktion reagieren. Daraus resultierte die Überlegung, ob der selektive V1a- Rezeptoragonist FE 202158 zu Herzscheidigungen mit folgenden stenokardische Erscheinungen und Herzmuskelischämien führen könnte, da dies bereits in einer anderen Studie über die Pathophysiologie des V1-Rezeptors untersucht und bestätigt wurde [77].

Während der gesamten Versuchszeit zeigten sich bei beiden Versuchsgruppen normgerechte Troponinkonzentrationen im Serum. Nur bei zwei Versuchstieren der Kontrollgruppe wurden im Laufe des Versuches leicht erhöhte Troponinwerte festgestellt, welches aber keine statistisch unabhängige Aussage zuließ. Da sich auch histologisch an den Präparaten der Herzen (s.u.) kein sicheres morphologisches Korrelat einer myokardialen Ischämie feststellen ließ, gehen wir davon aus, dass sich der Einfluss des applizierten V1a- Agonisten gegenüber dem des Noradrenalin hinsichtlich einer akuten Ischämie des Herzmuskelgewebes in unseren verwendeten Dosierungen nicht unterscheidet bzw. keinen akut schädigenden Einfluss auf das Herzmuskelgewebe darstellt.

Die oben geschilderte Beobachtung einer potentiellen Schädigung des Herzmuskelgewebes bestätigte sich somit in unseren Versuchsreihen nicht. Der Einfluss des selektiven V1a-Rezeptor- Agonisten schien sich somit nicht negativ auf das Myokardgewebe auszuwirken und zeigte sogar im Gegensatz zu den Tieren der Noradrenalin- Gruppe bei keinem einzigen Versuchstier erhöhte Troponin- Serumkonzentrationen.

4.7.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbungen

Histologische Veränderungen bei bakterieller Sepsis ergeben sich sowohl beim Eintritt des Multiorganversagens, aber bereits auch schon früher, wenn es zu Gewebeschädigungen oder Gewebeveränderungen aufgrund von Minderperfusion, Stoffwechseländerungen oder entzündlicher Infiltration kommt. Auch therapiebedingte Effekte lassen sich zum Teil histologisch nachvollziehen. Bereits während der frühen, hyperdynamischen Phase des septischen Schocks konnten Hersch et al umfassende histologische Veränderungen am Myocard, in der gestreiften Muskulatur, der Leber, dem Darm sowie im Pankreas feststellen. Allen Organen war eine interstitielle Proteinansammlung, eine intrazelluläre Ödembildung, mitochondriale Destruktionen und ungleichmäßige Nekrosen gemein. Hierbei zeigten sich im Pankreas die ausgeprägtesten Veränderungen. In der Leber war deutlich eine Ansammlung von neutrophilen Granulozyten zu beobachten. Ein typischer Aspekt der späten Sepsis ist eine mikrovaskuläre Thrombenbildung im Rahmen einer disseminierten intravasalen Gerinnung, welche diese nicht beobachten konnten. Sie konnten somit zusammenfassend sagen, dass die Gewebeschädigung sowohl durch eine Ansammlung eines proteinreichen, interstitiellen Extravasats, als auch durch das systemische Multiorganversagen zu Stande kommt [54].

Auch unter Mitwirkung eines sehr erfahrenen Pathologen gestaltete sich die Auswertung unserer histopathologischen Schnitte als schwierig. Eindeutig spezifische Veränderungen ließen sich nicht quantifizieren. Die qualitative Auswertung zeigte im Herzen bei wenigen Tieren Kontraktionsbänder, welche sich als hypereosinophile Streifen quer zur Ausrichtung in einer Muskelfibrille darstellen und durch Hypoxie entstehen können [12]. Diese Beobachtung konnte nur bei zwei Präparaten gemacht werden und ließ allgemein keine Aussage über eine Herzmuskelschädigung zu, da sonstige morphologische Korrelate in den Schnitten fehlten. In den Lungen zeigten sich außer einem leichten Emphysem keine weiteren Auffälligkeiten. In den H.E.- Schnitten der Leber ließ sich eine unspezifische, portale Entzündungsreaktion mit mononukleärem Entzündungsinfiltrat, welches im Rahmen der Sepsis für eine Mitbeteiligung der Leber spricht [54], nachweisen. In den

Gallengängen zeigten sich vereinzelt Konkremente, welche somit im Rahmen der hepatischen Mitbeteiligung für eine Stauungsleber sprechen könnten. Im Darm konnte eine Entzündungsreaktion des Organismus mit konsekutiver Vergrößerung der Peyer-Plaques festgestellt werden. Ferner zeigte sich in der Darmmukosa eine Eosinophilie, welche aber sehr wahrscheinlich auf die Operation zurückzuführen ist. In der Niere stellten sich hydroptische Schwellungen der Tubulusepithelzellen dar, welche typischerweise häufig im Schock beobachtet werden [54]. Weiter konnte hier nicht eindeutig ein entzündliches Infiltrat nachgewiesen werden. Zusammenfassend konnten bei unseren Tieren unspezifische Zeichen einer Entzündungsreaktion unter Mitbeteiligung von Leber, Darm und Niere nachgewiesen werden. Die emphysematösen Veränderungen der Lunge sind sehr unspezifisch und könnten in unseren Versuchen auf leicht erhöhte Tidalvolumina zurückzuführen sein. Diese Beobachtungen decken sich zum Teil mit denen von anderen Autoren, welche histopathologische Veränderungen unter septischen Bedingungen untersucht haben [54]. Da sich zwischen den beiden Versuchsgruppen keine wesentlichen Unterschiede in der Morphologie der Schnitte zeigten, kann somit eine akute Schädigungen von Leber, Lunge, Darm, Niere und Herz durch unseren selektiven V1a-Agonisten ausgeschlossen werden bzw. als sehr unwahrscheinlich angesehen werden. Da beide Gruppen Noradrenalin erhalten haben und sich keine histopathologischen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen zeigten, kann man davon ausgehen, dass diese beschriebenen Veränderungen zum einen durch den septischen Schock und zum anderen durch die Noradrenalin vermittelten Effekte zu Stande kamen.

4.7.3 Tunel-Färbung

Zelltod tritt bei Sepsis sowohl durch Nekrose als auch durch Apoptose auf. Speziell oxidativer Stress, wie er auch bei Sepsis auftritt, vermittelt im Gewebe die Einleitung der Apoptose. Wie bereits schon mehrfach von anderen Autoren beschrieben, lässt sich bei Sepsis Apoptose in vielen Organen nachweisen. Am häufigsten und ausgeprägtesten tritt sie im lymphatischen sowie im intestinalen Gewebe in Erscheinung [65, 97, 136]. Die Tunelfärbung bietet eine Möglichkeit zur Auswertung von Apoptosen. Man muss hierbei jedoch beachten, dass sie keine absolute Spezifität für apoptotische Zellkerne bietet, da auch zum Teil nekrotische Zellen mit angefärbt werden [19, 26, 34, 75]. Deshalb musste bei der Auswertung zusätzlich die Morphologie, insbesondere die Kondensation des Chromatins berücksichtigt werden, da dadurch eine Apoptose sicher von einer Nekrose unterschieden werden kann [89]. Des Weiteren liegt auch die Sensitivität der Tunel-

Methode nur zwischen 61 - 90 Prozent [26, 75]. Wie bereits von Hotchkiss et al beschrieben, zeigten sich auch bei unseren Tieren im lymphatischen Gewebe die ausgeprägtesten Apoptosezahlen. Auch in Leber, Herz und Niere zeigten sich Apoptosen, welche aber nur vereinzelt vorkamen und zwischen den Gruppen keine relevanten Unterschiede ergaben [65, 66, 141]. Aufgrund dieser Beobachtungen gehen wir daher nicht von einem starken Unterschied in der Wirkung zwischen Noradrenalin und unserem selektiven V1a-Agonisten auf die apoptotischen Vorgänge der untersuchten Gewebe aus.

5. Zusammenfassung

Schwere Sepsis und septischer Schock stellen immer noch einen großen Anteil der Erkrankungen auf Intensivstationen dar. Trotz zahlreicher Studien wurde bisher noch keine Möglichkeit gefunden die immer noch sehr hohe Letalität zu senken. Eine sehr vielversprechende Alternative zum derzeit als Standardtherapie verwendeten Noradrenalin bietet das Vasopressin (AVP), welches bisher in einigen Studien sehr vielversprechende Vorteile gegenüber dem Noradrenalin zeigte. Anhand der Analyse des Rezeptorprofils des AVPs und der Tatsache, dass die erwünschten Effekte bei der Therapie des septischen Schocks überwiegend vom V1a- Rezeptor vermittelt werden, sollte in der vorliegenden Studie ein selektiver V1a- Rezeptoragonist zum Einsatz kommen, um somit die Nebenwirkungen der AVP- Therapie, welche durch die üblichen Rezeptoren entstehen, zu umgehen. Die Dosierung des V1a- Rezeptor- Agonisten FE 202158 orientierte sich an einigen Studien, welche Clearance, Halbwertszeit und Dosierungen des AVPs untersuchten und wurde als titrierte Infusion ggf. unter Zugabe einer titrierten Noradrenalininfusion verabreicht. Als Versuchstiere kamen 25 deutsche Hausschweine zur Anwendung, welche in Allgemeinnarkose präpariert wurden und anschließend nach einer 8-stündigen Erholungsphase einer Sepsis durch fäkale, peritoneale Inokulation unterzogen wurden. In den folgenden 24 Stunden wurden die Versuchstiere einem Monitoring unterzogen und in regelmäßigen Abständen wurden nach dem Protokoll Proben entnommen. Während der Versuche beobachteten wir, dass die V1a- Tiere trotz des verabreichten selektiven V1a- Agonisten einen sehr hohen Bedarf an Noradrenalin forderten, um hämodynamisch stabil zu bleiben. Dadurch drängte sich bereits hier der Verdacht auf eine nur geringe hämodynamische Wirkung des selektiven V1a- Rezeptor- Agonisten auf. Somit unterschieden sich die Parameter der Hämodynamik zwischen den Gruppen nur minimal. Im Laufe des Versuches konnte bei den V1a- Tieren eine höhere Urinausscheidung mit geringerer Flüssigkeitseinlagerung beobachtet werden. Diese Feststellung ließ darauf schließen, dass unser selektiver V1a- Rezeptor- Agonist keine nennenswerten Wirkungen am V2- Rezeptor vermittelte, wie es vom Studienprotokoll gewünscht war. Auch hinsichtlich der Sauerstoffversorgung und des Metabolismus spiegelten sich in der V1a- Gruppe die Effekte des hohen Noradrenalinbedarfs wider. Eigene Effekte des V1a- Agonisten wurden hierbei nicht beobachtet bzw. für sehr unwahrscheinlich erklärt. Die Untersuchungen der Herzenzyme zeigten entgegen den Beobachtungen anderer Studien,

dass der Einfluss des V1a- Rezeptor- Agonisten auf das Herzmuskelgewebe nicht schädigender als der des Noradrenalins zu sein schien. Dies konnte auch in den Untersuchungen der histopathologischen und immunhistologischen Schnitte nachgewiesen werden. Die Veränderungen an Leber, Lunge, Herz, Darm und Niere unterschieden sich zwischen den beiden Versuchsgruppen nicht, sodass nicht von einer toxischeren Wirkung des selektiven V1a-Agonisten auf diese Organe im Vergleich zum Noradrenalin ausgegangen wird. Abschließend kann man sagen, dass der selektive V1a- Rezeptor-Agonist FE 202158 durch seine V1a- vermittelte Wirkung nicht überzeugen konnte, da die Tiere, welche mit ihm behandelt wurden, einen sehr hohen Bedarf an Noradrenalin aufwiesen, um aus hämodynamischer Sicht stabil zu bleiben. Es soll aber auch betont werden, dass keine nachteiligen bzw. schädigende Effekte des FE 202158 beobachtet wurden, da sich die bestimmten Parameter nicht von denen der Noradrenalingruppe unterschieden. Aufgrund der unzureichenden Wirkung und des zusätzlichen, hohen Noradrenalinbedarfs würden wir den klinischen Einsatz dieses selektiven V1a- Rezeptor-Agonisten FE 202158 nicht empfehlen. Ferner soll aber auch betont werden, dass der Einsatz dieses V1a- Agonisten mit großer Wahrscheinlichkeit keine zusätzlichen toxischen Wirkungen hervorrufen wird.

6. Literaturverzeichnis

1. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 20: 864-874, 1992.
2. Correction: The Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 343: 520, 2000.
3. Adukauskiene D, Rimdeika R, Vitkauskiene A, Pilvinis V, Cicinskaite I. [The new aspects of treatment of severe sepsis and septic shock]. *Medicina (Kaunas)* 42: 265-272, 2006.
4. Akhundov AG. [Clinical role of protein fractions in the blood serum in acute suppurative infections and in sepsis.]. *Sov Med* 26: 76-82, 1962.
5. Akhundov AG. [Protein fractions in blood serum in acute suppurative infection and sepsis.]. *Khirurgiia (Mosk)* 33: 124-128, 1957.
6. Amerov AK, Chen J, Arnold MA. Molar absorptivities of glucose and other biological molecules in aqueous solutions over the first overtone and combination regions of the near-infrared spectrum. *Appl Spectrosc* 58: 1195-1204, 2004.
7. Andrews P, Azoulay E, Antonelli M, Brochard L, Brun-Buisson C, Dobb G, Fagon JY, Gerlach H, Groeneveld J, Mancebo J, Metnitz P, Nava S, Pugin J, Pinsky M, Radermacher P, Richard C, Tasker R, Vallet B. Year in review in intensive care medicine, 2004. III. Outcome, ICU organisation, scoring, quality of life, ethics, psychological problems and communication in the ICU, immunity and hemodynamics during sepsis, pediatric and neonatal critical care, experimental studies. *Intensive Care Med* 31: 356-372, 2005.
8. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29: 1303-1310, 2001.
9. Antonsson JB, Engstrom L, Rasmussen I, Wollert S, Haglund UH. Changes in gut intramucosal pH and gut oxygen extraction ratio in a porcine model of peritonitis and hemorrhage. *Crit Care Med* 23: 1872-1881, 1995.
10. Arvidsson D, Almquist P, Haglund U. Effects of positive end-expiratory pressure on splanchnic circulation and function in experimental peritonitis. *Arch Surg* 126: 631-636, 1991.
11. Astiz ME, Rackow EC. Assessing perfusion failure during circulatory shock. *Crit Care Clin* 9: 299-312, 1993.
12. Baroldi G, Mittleman RE, Parolini M, Silver MD, Fineschi V. Myocardial contraction bands. Definition, quantification and significance in forensic pathology. *Int J Legal Med* 115: 142-151, 2001.
13. Barrett LK, Orié NN, Taylor V, Stidwill RP, Clapp LH, Singer M. Differential effects of vasopressin and norepinephrine on vascular reactivity in a long-term rodent model of sepsis. *Crit Care Med* 35: 2337-2343, 2007.
14. Bennett WM, Porter GA. Endogenous creatinine clearance as a clinical measure of glomerular filtration rate. *Br Med J* 4: 84-86, 1971.
15. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ, Jr. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 344: 699-709, 2001.

16. Bernat A, Hoffmann P, Dumas A, Serradeil-le Gal C, Raufaste D, Herbert JM. V2 receptor antagonism of DDAVP-induced release of hemostasis factors in conscious dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 282: 597-602, 1997.
17. Bloomfield R, Noble DW. Exploring the role of etomidate in septic shock and acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 34: 1858; author reply 1858-1859, 2006.
18. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. *Chest* 136: e28, 2009.
19. Bonegio R, Lieberthal W. Role of apoptosis in the pathogenesis of acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 11: 301-308, 2002.
20. Bouley R, Hawthorn G, Russo LM, Lin HY, Ausiello DA, Brown D. Aquaporin 2 (AQP2) and vasopressin type 2 receptor (V2R) endocytosis in kidney epithelial cells: AQP2 is located in 'endocytosis-resistant' membrane domains after vasopressin treatment. *Biol Cell* 98: 215-232, 2006.
21. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. French Bacteremia-Sepsis Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 617-624, 1996.
22. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, Mercier JC, Offenstadt G, Regnier B. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. *JAMA* 274: 968-674, 1995.
23. Burgmann H. [New antibiotics for severe sepsis--the break-through?]. *Dtsch Med Wochenschr* 133: 372-373, 2008.
24. Cinel I, Dellinger RP. Current treatment of severe sepsis. *Curr Infect Dis Rep* 8: 358-365, 2006.
25. Crick SJ, Sheppard MN, Ho SY, Gebstein L, Anderson RH. Anatomy of the pig heart: comparisons with normal human cardiac structure. *J Anat* 193: 105-119, 1998.
26. Darzynkiewicz Z, Galkowski D, Zhao H. Analysis of apoptosis by cytometry using TUNEL assay. *Methods* 44: 250-254, 2008.
27. Davison JM, Sheills EA, Philips PR, Barron WM, Lindheimer MD. Metabolic clearance of vasopressin and an analogue resistant to vasopressinase in human pregnancy. *Am J Physiol* 264: F348-353, 1993.
28. Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock*: 1-11, 1998.
29. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 32: 858-873, 2004.
30. Di Giandomasso D, May CN, Bellomo R. Norepinephrine and vital organ blood flow during experimental hyperdynamic sepsis. *Intensive Care Med* 29: 1774-1781, 2003.
31. Dietel M SN, Zeitz M. *Harrisons Innere Medizin abw- Verlag*, 2088-2097, 2005.
32. Dodds W. The pig model for biomedical research. *Fed Proc*: 247-256, 1982.
33. Dunser MW, Mayr AJ, Ulmer H, Ritsch N, Knotzer H, Pajk W, Luckner G, Mutz NJ, Hasibeder WR. The effects of vasopressin on systemic hemodynamics in catecholamine-resistant septic and postcardiotomy shock: a retrospective analysis. *Anesth Analg* 93: 7-13, 2001.

34. Espinoza JC, Kuznar J. Visualization of the infectious pancreatic necrosis virus replication cycle by labeling viral intermediates with a TUNEL assay. *Vet Microbiol* 143: 101-105.
35. Evans TW. Hemodynamic and metabolic therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 345: 1417-1418, 2001.
36. Farand P, Hamel M, Lauzier F, Plante GE, Lesur O. Review article: organ perfusion/permeability-related effects of norepinephrine and vasopressin in sepsis. *Can J Anaesth* 53: 934-946, 2006.
37. Fink MP. Animal models of sepsis and its complications. *Kidney Int* 74: 991-993, 2008.
38. Fink MPH, S O. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res* 49: 186-196, 1990.
39. Fisher CJ, Jr., Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Schein RM, Benjamin E. Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 334: 1697-1702, 1996.
40. Frank E, Landgraf R. The vasopressin system--from antidiuresis to psychopathology. *Eur J Pharmacol* 583: 226-242, 2008.
41. Fritsch H, Urbaschek B, Urbaschek R. [Histological studies on endotoxin shock in miniature swine]. *Z Kreislaufforsch* 61: 1071-1081, 1972.
42. Gahhos FN, Chiu RC, Bethune D, Dion Y, Hinchey EJ, Richards GK. Hemodynamic responses to sepsis: hypodynamic versus hyperdynamic states. *J Surg Res* 31: 475-481, 1981.
43. Gardner RM. Direct blood pressure measurement--dynamic response requirements. *Anesthesiology* 54: 227-236, 1981.
44. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 119: 493-501, 1992.
45. Giacometti A, Cirioni O, Ghiselli R, Mocchegiani F, Viticchi C, Orlando F, D'Amato G, Del Prete MS, Kamysz W, ILukasiak J, Saba V, Scalise G. Antiendotoxin activity of protegrin analog IB-367 alone or in combination with piperacillin in different animal models of septic shock. *Peptides* 24: 1747-1752, 2003.
46. Girardis M, Rinaldi L, Donno L, Marietta M, Codeluppi M, Marchegiano P, Venturelli C. Effects on management and outcome of severe sepsis and septic shock patients admitted to the intensive care unit after implementation of a sepsis program: a pilot study. *Crit Care* 13: R143, 2009.
47. Goldfarb RD, Dellinger RP, Parrillo JE. Porcine models of severe sepsis: emphasis on porcine peritonitis. *Shock* 24 Suppl 1: 75-81, 2005.
48. Gonzalez-Arevalo A, Gomez-Arnau JI, delaCruz J, Lacoma F, Galdos P, Garcia-del-Valle S. Oxygen consumption measurement: agreement between the closed-circuit PhysioFlex anesthesia machine and the Deltatrac II indirect calorimeter. *Anesth Analg* 97: 1680-1685, 2003.
49. Graziani G, Buskermolen M, Oldani S, Brambilla G. [Sepsis, acute renal failure and multiple organ dysfunction syndrome.]. *G Ital Nefrol* 23 Suppl 36: 13-21, 2006.
50. Gunduz K, Demireli P, Vatansever S, Inanir I. Examination of bcl-2 and p53 expressions and apoptotic index by TUNEL method in psoriasis. *J Cutan Pathol* 33: 788-792, 2006.

51. Gunnerson KJ, Saul M, He S, Kellum JA. Lactate versus non-lactate metabolic acidosis: a retrospective outcome evaluation of critically ill patients. *Crit Care* 10: R22, 2006.
52. Gutierrez G, Wulf ME. Lactic acidosis in sepsis: another commentary. *Crit Care Med* 33: 2420-2422, 2005.
53. Hahn T, Yao S, Dunford LM, Thomas J, Lohr J, Arora P, Battiwalla M, Smiley SL, McCarthy PL, Jr. A comparison of measured creatinine clearance versus calculated glomerular filtration rate for assessment of renal function before autologous and allogeneic BMT. *Biol Blood Marrow Transplant* 15: 574-579, 2009.
54. Hersch M, Gnidec AA, Bersten AD, Troster M, Rutledge FS, Sibbald WJ. Histologic and ultrastructural changes in nonpulmonary organs during early hyperdynamic sepsis. *Surgery* 107: 397-410, 1990.
55. Hill S, Winning B, Jenner H, Knorpp C, Leaver C. Role of NAD(+)-dependent 'malic' enzyme and pyruvate dehydrogenase complex in leaf metabolism. *Biochem Soc Trans* 24: 743-746, 1996.
56. Hildebrand LB, Krejci V, Banic A, Erni D, Wheatley AM, Sigurdsson GH. Dynamic study of the distribution of microcirculatory blood flow in multiple splanchnic organs in septic shock. *Crit Care Med* 28: 3233-3241, 2000.
57. Hildebrand LB, Krejci V, tenHoevel ME, Banic A, Sigurdsson GH. Redistribution of microcirculatory blood flow within the intestinal wall during sepsis and general anesthesia. *Anesthesiology* 98: 658-669, 2003.
58. Hollenberg SM, Ahrens TS, Annane D, Astiz ME, Chalfin DB, Dasta JF, Heard SO, Martin C, Napolitano LM, Susla GM, Totaro R, Vincent JL, Zanotti-Cavazzoni S. Practice parameters for hemodynamic support of sepsis in adult patients: 2004 update. *Crit Care Med* 32: 1928-1948, 2004.
59. Holmes CL. Is low-dose vasopressin the new reno-protective agent? *Crit Care Med* 32: 1972-1974, 2004.
60. Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science review: Vasopressin and the cardiovascular system part 1--receptor physiology. *Crit Care* 7: 427-434, 2003.
61. Holmes CL, Patel BM, Russell JA, Walley KR. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. *Chest* 120: 989-1002, 2001.
62. Holmes CL, Walley KR. Arginine vasopressin in the treatment of vasodilatory septic shock. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 22: 275-286, 2008.
63. Holmes CL, Walley KR. Vasopressin in the ICU. *Curr Opin Crit Care* 10: 442-448, 2004.
64. Holmes CL, Walley KR, Chittock DR, Lehman T, Russell JA. The effects of vasopressin on hemodynamics and renal function in severe septic shock: a case series. *Intensive Care Med* 27: 1416-1421, 2001.
65. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 27: 1230-1251, 1999.
66. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Karl IE. Role of apoptotic cell death in sepsis. *Scand J Infect Dis* 35: 585-592, 2003.
67. Huckabee WE. Relationship of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism. IV. Local tissue components of total body O₂-debt. *Am J Physiol* 196: 253-260, 1959.
68. Hunt TK. Excess pyruvate and lactate production occurs in sepsis and is not caused by anaerobic glycolysis. *Ann Surg* 226: 108-109, 1997.
69. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest* 118: 146-155, 2000.

70. Karlsson S, Varpula M, Ruokonen E, Pettila V, Parviainen I, Ala-Kokko TI, Kolho E, Rintala EM. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. *Intensive Care Med* 33: 435-443, 2007.
71. Karzai W, Reilly JM, Hoffman WD, Cunnion RE, Danner RL, Banks SM, Parrillo JE, Natanson C. Hemodynamic effects of dopamine, norepinephrine, and fluids in a dog model of sepsis. *Am J Physiol* 268: H692-702, 1995.
72. Kavsak P, Jaffe AS. Sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med* 361: 2575-2576; author reply 2576-7, 2009.
73. Kazarian KK, Perdue PW, Lynch W, Dziki A, Nevola J, Lee CH, Hayward I, Williams T, Law WR. Porcine peritoneal sepsis: modeling for clinical relevance. *Shock* 1: 201-212, 1994.
74. Kellum JA. Metabolic acidosis in patients with sepsis: epiphenomenon or part of the pathophysiology? *Crit Care Resusc* 6: 197-203, 2004.
75. Kelly KJ, Sandoval RM, Dunn KW, Molitoris BA, Dagher PC. A novel method to determine specificity and sensitivity of the TUNEL reaction in the quantitation of apoptosis. *Am J Physiol Cell Physiol* 284: C1309-1318, 2003.
76. Kietzmann T, Roth U, Jungermann K. Induction of the plasminogen activator inhibitor-1 gene expression by mild hypoxia via a hypoxia response element binding the hypoxia-inducible factor-1 in rat hepatocytes. *Blood* 94: 4177-4185, 1999.
77. Koshimizu TA, Nasa Y, Tanoue A, Oikawa R, Kawahara Y, Kiyono Y, Adachi T, Tanaka T, Kuwaki T, Mori T, Takeo S, Okamura H, Tsujimoto G. V1a vasopressin receptors maintain normal blood pressure by regulating circulating blood volume and baroreflex sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 7807-7812, 2006.
78. Kreisberg RA. Lactate homeostasis and lactic acidosis. *Ann Intern Med* 92: 227-237, 1980.
79. Krejci V, Hildebrand LB, Erni D, Sigurdsson GH. Endothelin receptor antagonist bosentan improves microcirculatory blood flow in splanchnic organs in septic shock. *Crit Care Med* 31: 203-210, 2003.
80. Krejci V, Hildebrand LB, Sigurdsson GH. Effects of epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract in sepsis. *Crit Care Med* 34: 1456-1463, 2006.
81. Landgarten MJ, Kumar A, Parrillo JE. Cardiovascular Dysfunction in Sepsis and Septic Shock. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2: 451-459, 2000.
82. Landon J, Fawcett JK, Wynn V. Blood pyruvate concentration measured by a specific method in control subjects. *J Clin Pathol* 15: 579-584, 1962.
83. Landry DW, Levin HR, Gallant EM, Seo S, D'Alessandro D, Oz MC, Oliver JA. Vasopressin pressor hypersensitivity in vasodilatory septic shock. *Crit Care Med* 25: 1279-1282, 1997.
84. Lange M, Broking K, Hucklenbruch C, Ertmer C, Van Aken H, Lucke M, Bone HG, Westphal M. Hemodynamic effects of titrated norepinephrine in healthy versus endotoxemic sheep. *J Endotoxin Res* 13: 53-57, 2007.
85. Lange M, Ertmer C, Westphal M. Vasopressin vs. terlipressin in the treatment of cardiovascular failure in sepsis. *Intensive Care Med* 34: 821-832, 2008.
86. Lange M, Hamahata A, Enkhbaatar P, Esehie A, Connelly R, Nakano Y, Jonkam C, Cox RA, Traber LD, Herndon DN, Traber DL. Assessment of vascular permeability in an ovine model of acute lung injury and pneumonia-induced *Pseudomonas aeruginosa* sepsis. *Crit Care Med* 36: 1284-1289, 2008.
87. Leibovici L, Gafter-Gvili A, Paul M, Almanasreh N, Tacconelli E, Andreassen S, Nielsen AD, Frank U, Cauda R. Relative tachycardia in patients with sepsis: an independent risk factor for mortality. *QJM* 100: 629-634, 2007.

88. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med* 244: 379-386, 1998.
89. Leithäuser F., Schäuerle A. Persönliche Mitteilung. Abteilung für Pathologie des Universitätsklinikums Ulm, 2008.
90. Levy B, Bollaert PE, Charpentier C, Nace L, Audibert G, Bauer P, Nabet P, Larcan A. Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: a prospective, randomized study. *Intensive Care Med* 23: 282-287, 1997.
91. Levy B, Sadoune LO, Gelot AM, Bollaert PE, Nabet P, Larcan A. Evolution of lactate/pyruvate and arterial ketone body ratios in the early course of catecholamine-treated septic shock. *Crit Care Med* 28: 114-119, 2000.
92. Lim TW, Lee S, Ng KS. Vasopressin effective in reversing catecholamine-resistant vasodilatory shock. *Anaesth Intensive Care* 28: 313-317, 2000.
93. Ling WD, Brooks DP, Crofton JT, Share L, Bohr DF. Increased urinary clearance of lysine vasopressin in the deoxycorticosterone acetate-hypertensive pig. *Am J Physiol* 257: R1467-1473, 1989.
94. Liu Y, Wei RQ, Liu XN, Wang M. [Determination of the content of poly (lactic acid-co-phenylalanine) by infrared spectroscopy]. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi* 29: 661-664, 2009.
95. Löffler. *Biochemie & Pathobiochemie*. 7: 398-970, 2003.
96. Luca GC, Reis BF. Simultaneous photometric determination of albumin and total protein in animal blood plasma employing a multicommutated flow system to carried out on line dilution and reagents solutions handling. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 60: 579-583, 2004.
97. Ma T, Han L, Hu WQ. [Study of the role of endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis signal pathway in sepsis-induced splenic lymphocyte apoptosis.]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 21: 48-50, 2009.
98. Malay MB, Ashton JL, Dahl K, Savage EB, Burchell SA, Ashton RC, Jr., Sciacca RR, Oliver JA, Landry DW. Heterogeneity of the vasoconstrictor effect of vasopressin in septic shock. *Crit Care Med* 32: 1327-1331, 2004.
99. Malay MB, Ashton RC, Jr., Landry DW, Townsend RN. Low-dose vasopressin in the treatment of vasodilatory septic shock. *J Trauma* 47: 699-703; discussion 703-5, 1999.
100. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. 1-Deamino-8-d-arginine vasopressin: a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrands' diseases. *Lancet* 1: 869-872, 1977.
101. McLaughlan GJ, Anderson ID, Grant IS, Fearon KC. Outcome of patients with abdominal sepsis treated in an intensive care unit. *Br J Surg* 82: 524-529, 1995.
102. McLaughlin RF, Jr., Tyler WS, Canada RO. Subgross pulmonary anatomy of the rabbit, rat, and guinea pig, with additional notes on the human lung. *Am Rev Respir Dis* 94: 380-387, 1966.
103. Meadows D, Edwards JD, Wilkins RG, Nightingale P. Reversal of intractable septic shock with norepinephrine therapy. *Crit Care Med* 16: 663-666, 1988.
104. Meier J, Wolkhammer S, Habler O. The DeltaCrit System (DCS): a computer program for standardized bedside detection of critical oxygen delivery using the Deltatrac II metabolic monitor. *Comput Biol Med* 33: 395-405, 2003.
105. Millar BC, McCarron M, Murphy PG, Moore JE. Novel employment of lactate dehydrogenase release from porcine aortic endothelial cells (PAEC) as a quantitative marker of cytotoxic activity in thermophilic *Campylobacter* spp. from

- human faecal isolates, poultry and environmental sources. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 50: 275-279, 2003.
106. Morales DL, Gregg D, Helman DN, Williams MR, Naka Y, Landry DW, Oz MC. Arginine vasopressin in the treatment of 50 patients with postcardiotomy vasodilatory shock. *Ann Thorac Surg* 69: 102-106, 2000.
107. Nakamura S, Hirano T, Tsujimae K, Aoyama M, Kondo K, Yamamura Y, Mori T, Tominaga M. Antidiuretic effects of a nonpeptide vasopressin V(2)-receptor agonist, OPC-51803, administered orally to rats. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 1005-1011, 2000.
108. The Acute Respiratory Distress Network. Ventilation with lower tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. 2000.
109. Neuenschwander S, Pliska V. Effects of neurohypophyseal hormone analogues on blood clotting factor VIII and fibrinolytic activity in sheep. *Eur J Pharmacol* 323: 205-213, 1997.
110. Neuhaus J, Dorschner W, Mondry J, Stolzenburg JU. Comparative anatomy of the male guinea-pig and human lower urinary tract: histomorphology and three-dimensional reconstruction. *Anat Histol Embryol* 30: 185-192, 2001.
111. Noritomi DT, Soriano FG, Kellum JA, Cappi SB, Biselli PJ, Liborio AB, Park M. Metabolic acidosis in patients with severe sepsis and septic shock: a longitudinal quantitative study. *Crit Care Med* 37: 2733-2739, 2009.
112. Okutucu B, Dincer A, Habib O, Zihnioglu F. Comparison of five methods for determination of total plasma protein concentration. *J Biochem Biophys Methods* 70: 709-711, 2007.
113. Omland T, de Lemos JA, Sabatine MS, Christophi CA, Rice MM, Jablonski KA, Tjora S, Domanski MJ, Gersh BJ, Rouleau JL, Pfeffer MA, Braunwald E. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease. *N Engl J Med* 361: 2538-2547, 2009.
114. Park R. Lactic acidosis. *West J Med* 133: 418-424, 1980.
115. Patel BM, Chittock DR, Russell JA, Walley KR. Beneficial effects of short-term vasopressin infusion during severe septic shock. *Anesthesiology* 96: 576-582, 2002.
116. Perner A, Heslet L. [Incidence of sepsis and mortality]. *Ugeskr Laeger* 166: 3511, 2004.
117. Petibois C, Gionnet K, Goncalves M, Perromat A, Moenner M, Deleris G. Analytical performances of FT-IR spectrometry and imaging for concentration measurements within biological fluids, cells, and tissues. *Analyst* 131: 640-647, 2006.
118. Pinheiro da Silva F, Nizet V. Cell death during sepsis: integration of disintegration in the inflammatory response to overwhelming infection. *Apoptosis*, 2009.
119. Pouzet B, Serradeil-Le Gal C, Bouby N, Maffrand JP, Le Fur G, Bankir L. Selective blockade of vasopressin V2 receptors reveals significant V2-mediated water reabsorption in Brattleboro rats with diabetes insipidus. *Nephrol Dial Transplant* 16: 725-734, 2001.
120. Rafey MA, Lipkowitz MS. How accurate are formulas that calculate creatinine clearance? *Nat Clin Pract Urol* 4: 188-189, 2007.
121. Regel G, Grotz M, Weltner T, Sturm JA, Tscherne H. Pattern of organ failure following severe trauma. *World J Surg* 20: 422-429, 1996.
122. Rehberg S, Enkhbaatar P, Traber DL. Arginine vasopressin in septic shock: supplement or substitute for norepinephrine? *Crit Care* 13: 178, 2009.
123. Riche FC, Dray X, Laisne MJ, Mateo J, Raskine L, Sanson-Le Pors MJ, Payen D, Valleur P, Cholley BP. Factors associated with septic shock and mortality in

- generalized peritonitis: comparison between community-acquired and postoperative peritonitis. *Crit Care* 13: R99, 2009.
124. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 345: 1368-1377, 2001.
 125. Rivers EP, Coba V, Whitmill M. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock: a contemporary review of the literature. *Curr Opin Anaesthesiol* 21: 128-140, 2008.
 126. Rochdi MD, Vargas GA, Carpentier E, Oligny-Longpre G, Chen S, Kovoor A, Gitelman SE, Rosenthal SM, von Zastrow M, Bouvier M. Functional characterization of vasopressin type 2 receptor substitutions (R137H/C/L) leading to nephrogenic diabetes insipidus and nephrogenic syndrome of inappropriate antidiuresis: implications for treatments. *Mol Pharmacol* 77: 836-845.
 127. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 355: 1699-1713, 2006.
 128. Russell JA, Singer J, Bernard GR, Wheeler A, Fulkerson W, Hudson L, Schein R, Summer W, Wright P, Walley KR. Changing pattern of organ dysfunction in early human sepsis is related to mortality. *Crit Care Med* 28: 3405-3411, 2000.
 129. Russell JA, Walley KR, Singer J, Gordon AC, Hebert PC, Cooper DJ, Holmes CL, Mehta S, Granton JT, Storms MM, Cook DJ, Presneill JJ, Ayers D. Vasopressin versus norepinephrine infusion in patients with septic shock. *N Engl J Med* 358: 877-887, 2008.
 130. Schoenberg MH, Weiss M, Radermacher P. Outcome of patients with sepsis and septic shock after ICU treatment. *Langenbecks Arch Surg* 383: 44-48, 1998.
 131. Schreuder WO, Schneider AJ, Groeneveld AB, Thijs LG. Effect of dopamine vs norepinephrine on hemodynamics in septic shock. Emphasis on right ventricular performance. *Chest* 95: 1282-1288, 1989.
 132. Shrewsbury TW, Banoub A, Fleming K, Snyder H, Stehlik J. Spreadsheet use to calculate creatinine clearance from serum creatinine. *J Extra Corpor Technol* 39: 260-262, 2007.
 133. Simon F, Giudici R, Scheuerle A, Groger M, Asfar P, Vogt JA, Wachter U, Ploner F, Georgieff M, Moller P, Laporte R, Radermacher P, Calzia E, Hauser B. Comparison of cardiac, hepatic, and renal effects of arginine vasopressin and noradrenaline during porcine fecal peritonitis: a randomized controlled trial. *Crit Care* 13: R113, 2009.
 134. Solis-Herruzo JA, Gonzalez-Gamarra A, Castellano G, Munoz-Yague MT. Metabolic clearance rate of arginine vasopressin in patients with cirrhosis. *Hepatology* 16: 974-979, 1992.
 135. Strater J, Gunthert AR, Bruderlein S, Moller P. Microwave irradiation of paraffin-embedded tissue sensitizes the TUNEL method for in situ detection of apoptotic cells. *Histochem Cell Biol* 103: 157-160, 1995.
 136. Stromberg PE, Woolsey CA, Clark AT, Clark JA, Turnbull IR, McConnell KW, Chang KC, Chung CS, Ayala A, Buchman TG, Hotchkiss RS, Coopersmith CM. CD4+ lymphocytes control gut epithelial apoptosis and mediate survival in sepsis. *FASEB J*, 2009.
 137. Sun Q, Tu Z, Lobo S, Dimopoulos G, Nagy N, Rogiers P, De Backer D, Vincent JL. Optimal adrenergic support in septic shock due to peritonitis. *Anesthesiology* 98: 888-896, 2003.
 138. Takakura K, Taniguchi T, Muramatsu I, Takeuchi K, Fukuda S. Modification of alpha1 -adrenoceptors by peroxyntirite as a possible mechanism of systemic hypotension in sepsis. *Crit Care Med* 30: 894-899, 2002.

139. Traber DL. Expired nitric oxide and shock in higher order species. *Crit Care Med* 27: 255-256, 1999.
140. Tsuneyoshi I, Yamada H, Kakihana Y, Nakamura M, Nakano Y, Boyle WA, 3rd. Hemodynamic and metabolic effects of low-dose vasopressin infusions in vasodilatory septic shock. *Crit Care Med* 29: 487-493, 2001.
141. Turnbull IR, Buchman TG, Javadi P, Woolsey CA, Hotchkiss RS, Karl IE, Coopersmith CM. Age disproportionately increases sepsis-induced apoptosis in the spleen and gut epithelium. *Shock* 22: 364-368, 2004.
142. Vischer UM, Ingerslev J, Wollheim CB, Mestries JC, Tsakiris DA, Haefeli WE, Kruithof EK. Acute von Willebrand factor secretion from the endothelium in vivo: assessment through plasma propeptide (vWf:AgII) Levels. *Thromb Haemost* 77: 387-393, 1997.
143. Wang XT, Liu DW, Chai WZ, Long Y, Cui N, Shi Y, Zhou X, Zhang Q. [The role of central venous pressure to evaluate volume responsiveness in septic shock patients]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 47: 926-930, 2008.
144. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 340: 207-214, 1999.
145. Wiedemann HP, Wheeler AP, Bernard GR, Thompson BT, Hayden D, deBoisblanc B, Connors AF, Jr., Hite RD, Harabin AL. Comparison of two fluid-management strategies in acute lung injury. *N Engl J Med* 354: 2564-2575, 2006.
146. www.sccm.org. Society of Critical Care Medicine. 2010.
147. Zanotti-Cavazzoni SL, Goldfarb RD. Animal models of sepsis. *Crit Care Clin* 25: 703-719, 2009.
148. Zubert S, Funk DJ, Kumar A. Antibiotics in sepsis and septic shock: like everything else in life, timing is everything. *Crit Care Med* 38: 1211-1212.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. P. Radermacher für die Überlassung des Themas und die unterstützende Betreuung während des Projektes. Auch für die schnelle Korrektur und klaren Verbesserungsvorschläge möchte ich mich bei ihm bedanken.

Auch Herrn Prof. Dr. E. Calzia möchte ich für die Betreuung danken, der stets ein offenes Ohr hatte.

Einen ganz besonderen Dank möchte ich meinem Studienkollegen Felix Meincke aussprechen, der mir während der Wochenenden und den langen Abenden bei den Versuchen Gesellschaft leistete und bei Problemstellungen immer bereit war an einer Lösung mitzuarbeiten.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei dem Team der Parkstraße bedanken, welche bei der Einarbeitung in neue Methoden oder bei Problemstellungen immer hilfsbereit und geduldig waren.

Großen Dank möchte ich Frau Prof. Dr. Angelika Schäuerle und Herrn PD. Dr. Frank Leithäuser aussprechen, welche sich viel Zeit genommen haben, bei der Auswertung der histo- und immunhistopathologischen Schnitte zur Seite zu stehen.

Meinem Vater Dr. Christoph Klotz danke ich ganz herzlich für die Unterstützung bei der grafischen Darstellung sowie das Lesen der Korrektur.

Das allergrößte Dankeschön möchte ich meiner Freundin sowie meinen beiden Eltern aussprechen, welche durch ihr Verständnis und ihre liebevolle Unterstützung den Grundstein für diese Arbeit gebildet haben.

8. Lebenslauf

Name	Klotz
Vornamen	Matthias Christoph Michael
Geburtsdatum	10 Juli 1982
Geburtsort	Münster
 Beruflicher Werdegang	
Seit 07/2010	Assistenzarzt, Stiftung orthopädische Universitätsklinik Heidelberg, Univ.-Prof. Dr. med. V. Ewerbeck
04/2010-06/2010	Assistenzarzt, Abteilung für Orthopädie des Universitätsklinikums Aachen, Univ.-Prof. Dr. med. F-U. Niethard
01/2010-03/2010	Postdoctoral Research Fellowship Hospital for Special Surgery, New York, Dr. T. Sculco MD, Dr. T. Wright PhD
12/2009	Staatsexamen Universität Ulm
03/2006-12/2009	Doktorand bei Prof. Dr. med. P. Radermacher Sektion für Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung der Abteilung Anästhesiologie, Universität Ulm
09/2005	Physikum Universität Ulm
04/2004-12/2009	Studium der Humanmedizin Universität Ulm
01/2003-10/2003	Zivildienst mit Ausbildung zum Rettungssanitäter und Tätigkeiten im Rettungsdienst Johanniter-Unfall-Hilfe Münster
06/2002	Abitur Kolleg St. Blasien, St. Blasien (Schwarzwald)