

Aus der Klinik für Anästhesiologie

Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. P. Schmucker

**Veränderung der organspezifischen Kapillarpermeabilität  
durch hämorrhagischen Schock und Blockade  
des Renin-Angiotensin-Systems**

**-Eine tierexperimentelle Studie-**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von

Kathrin Binkowski

aus Potsdam

Lübeck 2006

1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. Jan Schumacher
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. rer. nat. Horst Pagel
Tag der mündlichen Prüfung:	07.12.2007
zum Druck genehmigt. Lübeck, den	07.12.2007

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach  
- Dekan der Medizinischen Fakultät-

*Meinen lieben Eltern*

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>6</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>7</b>
1.1. Flüssigkeitskompartimente	9
1.2. Der hämorrhagische Schock	10
1.3. Pathophysiologie des Schocks	10
1.4. Kompensationsmöglichkeiten bei Hypovolämie und Hämorrhagie	12
1.5. Pathophysiologie des hypoxischen Zellschadens	13
1.5.1. Auswirkungen des Schocks auf verschiedene Organe	15
1.5.2. Risiken der Flüssigkeitsreperfusion	15
1.6. Physiologie des RAAS	16
1.7. ACE-Inhibitoren, AT-1-Rezeptor-Antagonisten und Gefäßpermeabilität	18
1.8. Fragestellungen der Studien	20
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>22</b>
2.1. Versuchsvorbereitungen	22
2.1.1. Tierversuchsgenehmigung	22
2.1.2. Versuchstiere	22
2.1.3. Einleitung und Narkose	23
2.1.4. Präparation und Vorbereitung	23
2.1.4.1. Tracheotomie und Beatmung	24
2.1.4.2. Venöser und arterieller Zugang	25
2.1.4.2.1. Venöser Zugang	25
2.1.4.2.2. Arterieller Zugang	25
2.1.4.3. Thorakotomie	26
2.2. Versuchseinleitung und -durchführung	27
2.2.1. Gruppeneinteilung	27

2.2.2. Versuchsablauf	28
2.2.2.1. Medikamentenphase	29
2.2.2.2. Hämorrhagie- und Schockphase	29
2.2.2.3. Evansblauphase	30
2.3. Evansblaumethode	32
2.4. Auswertung und Ergebnisermittlung	32
2.5. Ergebnisse der Teilveröffentlichungen und Publikation	33
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>34</b>
3.1. Herzzeitvolumen	34
3.2. Mittlerer arterieller Blutdruck	35
3.3. Mittlerer arterieller Blutdruck differenziert nach Studienmedikation	37
3.4. Herzfrequenz	38
3.5. Basenüberschuss, pH-Wert und Standardbicarbonat	39
3.6. Arterieller Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidpartialdruck	41
3.7. Serumlaktat	43
3.8. Hämoglobinkonzentration	44
3.9. Evansblaukonzentration in den Organen der Kontroll- und Schockgruppe	45
3.10. Effektstärke	46
3.11. Evansblaukonzentrationen differenziert nach Applikation der Studienmedikation	47
3.12. Interaktion von Medikamenten und hämorrhagischem Schock	48
<b>4. Diskussion</b>	<b>49</b>
4.1. Diskussion der Methode	49
4.1.1. Versuchstiere	49
4.1.2. Basisnarkose	49
4.1.3. Studienmedikamente	50

4.1.3.1. ACE-Hemmer	51
4.1.3.2. AT-1-Rezeptor-Antagonisten	52
4.2. Diskussion der Ergebnisse	52
4.2.1. Auswahl der Untersuchungsorgane	52
4.2.2. Induktion des Schocks	53
4.2.3. Gefäßpermeabilität und deren Messung	54
4.2.3.1. Endothelpermeabilität	54
4.2.3.2. Möglichkeiten zur Messung der Endothelpermeabilität	55
4.3. Evansblaumethode	56
4.4. Klinische Parameter	56
4.4.1. Herzzeitvolumen und Herzfrequenz	56
4.4.2. Mittlerer arterieller Blutdruck	56
4.4.3. Säure-Basenhaushalt	57
4.4.4. Serumlaktat	58
4.4.5. Arterielle Blutgase	58
4.4.6. Hämoglobinkonzentration	59
4.5. Albuminextravasation	59
4.5.1. Evansblauextravasation in Kontroll- und Schockgruppe	59
4.5.2. Evansblauextravasation nach Studienmedikamentenapplikation	61
4.5.3. Interaktion von Medikamenten und hämorrhagischem Schock	62
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>63</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>65</b>
<b>7. Danksagung</b>	<b>75</b>
<b>8. Lebenslauf</b>	<b>76</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Conversions-Enzym
AT-1	Angiotensin-1
AT-2	Angiotensin-2
BE	Basenüberschuss
BK	Bradykinin
Can	Candesartan
EB	Evansblau (Farbstoff)
Ena	Enalaprilat
EZR	Extrazellulärraum
$\text{HCO}_3^-$	Standardbicarbonat
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
IZR	Intrazellulärraum
KG	Körpergewicht
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
NO	Stickstoffmonoxid
$\text{p}_a\text{CO}_2$	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
$\text{p}_a\text{O}_2$	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
Veh	Vehikel
$\bar{X}$	Mittelwert

## **1. Einleitung**

Das Syndrom des zirkulatorischen Schocks ist charakterisiert durch eine insuffiziente Perfusion und Oxygenation der Gewebe mit nachfolgender zellulärer Hypoxie [1]. Gleichzeitig entstehen Veränderungen der Kapillarpermeabilität mit Plasmaextravasation in das Interstitium und in den Intrazellularraum. Das Kapillarleck und die Störungen der Mikrozirkulation verstärken die schockbedingte Schädigung der Organe. Verschiedene Modelle zur Untersuchung der Ischämie- und Reperfusionsschäden sind beschrieben worden [2], jedoch finden sich keine Daten zu den Veränderungen der organspezifischen Kapillarpermeabilität während unresusitiertem hämorrhagischem Schock.

Angiotensin-2 (AT-2) gilt als wichtigster Vasokonstriktor in der Kompensation der Hypovolämie und scheint an den schockinduzierten ischämischen Organschäden beteiligt zu sein [3]. Aus diesem Grunde wird derzeit die pharmakologische Blockade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) zur Organprotektion während hypovolämischen Schocks untersucht [4, 5]. Aneman und Mitarbeiter zeigten, dass die intravenöse Applikation von Candesartan vor einer akuten Hypovolämie einer mesenterialen Hypoperfusion beim Schwein entgegenwirkt [6], und Yilmaz et al. publizierten ähnlich günstige Ergebnisse für Valsartan [7]. Beim Schwein scheint eine Candesartangabe vor hypovolämem Schock die hepatische und renale Perfusion unbeeinflusst zu lassen, aber die mesenteriale und jejunale Perfusion zu verbessern [8]. Neben ihrer Wirkung auf die Regulation des Gefäßtonus verändern ACE-Hemmer und AT-2-Rezeptor-Antagonisten die mikrovaskuläre Permeabilität. Da ACE identisch zur Kininase-II ist, welche Bradykinin (BK) und verwandte Kinine inaktiviert, erscheint die Potenzierung der Kininwirkung unter ACE-Hemmung verantwortlich für deren unerwünschte Wirkungen zu sein [9]. Experimentelle Daten zeigen, dass durch akute ACE-Hemmung eine Plasmaextravasation durch BK und Substanz P induziert wird. Nach akuter ACE-Hemmung und konsekutiver Stimulation von Tachykinin-NK<sub>1</sub>- und Bradykinin-B<sub>2</sub>-Rezeptoren fanden Emanuelli und Mitarbeiter zwei- bis siebenfache Erhöhungen der Albuminextravasation in Magen, Dünndarm, Dickdarm, Pankreas, Harnblase, Trachea und Haut [10]. AT-2-Rezeptor-

Antagonisten hingegen führen zu einer konzentrationsabhängigen Inhibition der AT-2-vermittelten Vasokonstriktion [11] ohne BK-Akkumulation. Daher wird vermutet, dass bei dieser Form der RAAS-Blockade der transkapilläre Übertritt von Plasma und Plasmaproteinen geringer ausgeprägt ist. Während eines Kreislaufschocks und einer konsekutiven zellulären Hypoxie führt die gestörte Permeabilität der Kapillarwand zu Veränderungen der intrazellulären Matrix, in deren Folge das Zielorgan geschädigt wird [2]. Als Konsequenz der mikrovaskulären Permeabilitätsstörung entwickelt sich ein interstitielles sowie intrazelluläres Ödem, welches den Austausch von Substraten und Stoffwechselendprodukten behindert und auf diesem Wege den Organschaden verstärkt [12]. Bisher sind jedoch keine Daten bezüglich der Veränderungen der mikrovaskulären Permeabilität durch RAAS-Blockade während eines hämorrhagischen Schocks verfügbar, so dass eine umfassende Bewertung der pharmakologischen Protektion durch Erhalt der lokalen Organperfusion noch nicht möglich ist.

Das erste Ziel unserer Studie war es, die organspezifischen Kapillarschäden nach schwerem, nicht resusziertem hämorrhagischen Schock, welcher an einer Reduktion des Herzzeitvolumens ausgerichtet war, zu untersuchen.

Das zweite Ziel der Studie war es, die organspezifischen Veränderungen der Kapillarpermeabilität während einer unbehandelten Phase eines hämorrhagischen Schocks unter der Blockade des RAAS mittels ACE-Hemmung durch Enalaprilat oder AT-1-Rezeptor-Blockade durch Candesartan zu evaluieren.

## 1.1. Flüssigkeitskompartimente

Das Gesamtkörperwasser beim Erwachsenen macht je nach Alter und Fettgehalt zwischen 45% und 70% des Körpergewichts (KG) aus. Bei einem gesunden erwachsenen Mann sind es ca. 55%. Zwei Drittel des Gesamtkörperwassers befinden sich intrazellulär und ein Drittel extrazellulär. Der Extrazellulärraum (EZR) und der Intrazellulärraum (IZR) unterscheiden sich hauptsächlich durch das osmotische Gleichgewicht extrazellulärer Natrium- und intrazellulärer Kaliumionen. Teilmengen des EZR sind das interstitielle (Interstitium, 16% des KG) und das intravasale Flüssigkeitskompartiment (Plasmavolumen, 4% des KG).

Die Verteilung des Wassers in den verschiedenen Kompartimenten wird durch den osmotischen, kolloidosmotischen und hydrostatischen Druck sowie die Durchlässigkeit der begrenzenden Membranen bestimmt.

Der osmotische Druck wirkt zwischen Räumen unterschiedlicher Teilchenkonzentration wie z.B. EZR und IZR, die durch eine semipermeable Membran (z.B. Zellmembran) getrennt sind. Der osmotische Druck ist verändert, wenn das physikalische Bestreben vorliegt, Konzentrationsunterschiede auszugleichen. Es kommt zu ausgleichenden Wasserbewegungen und damit zu Volumenänderungen in den Ausgangsräumen.

Interstitium und Intravasalraum sind durch eine permeable Basalmembran der Kapillaren getrennt, die nur für große Moleküle undurchlässig ist, und befinden sich in ständigem Austausch. Hier entsteht analog zum osmotischen Druck der kolloidosmotische Druck, oder auch onkotischer Druck genannt. Im Gefäßsystem wird durch den höheren Proteinanteil, besonders des Albumins, ein kolloidosmotischer Druck von ca. 25 mmHg aufgebaut, welcher den Abstrom von intravasaler Flüssigkeit in das Interstitium, das einen kolloidosmotischen Druck von 5 mmHg aufweist, verhindert oder zu einer Flüssigkeitsverschiebung in die Gefäße führt.

Der hydrostatische Druck ist gravitationsbedingt, d.h. der Druck ist allein durch das Gewicht einer Flüssigkeit auf seine Umgebung bedingt. Anschaulich ist hier das Beispiel der Blutsäule, die auf die Gefäßwände Druck ausübt. Im arteriellen

Schenkel der Kapillaren wird der hydrostatische Druck durch den vom Herzen aufgebauten Druck entscheidend beeinflusst, indem Flüssigkeit aus den Gefäßen ins Interstitium abgedrückt wird. Im venösen Schenkel spielt die entscheidende Rolle die Schwerkraft und die erhöhte Kolloidkonzentration im Blutplasma, durch welche es zur Wiederaufnahme von Wasser in das Gefäßlumen kommt.

## **1.2. Der hämorrhagische Schock**

Ein Schock ist definiert als Minderdurchblutung vitaler Organsysteme mit nachfolgender Gewebshypoxie. Ein Schockzustand entsteht aus dem Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf. Schockzustände lassen sich nach dem zu Grunde liegenden Pathomechanismus in vier Hauptkategorien unterteilen: hypovolämer Schock (Hämorrhagie, Verbrennung), kardiogener Schock (Pumpversagen nach Myokardinfarkt oder Myokardkontusion), obstruktiver Schock (Lungenembolie, Perikardtamponade) und distributiver Schock (Anaphylaxie, Sepsis).

Das Kennzeichen eines jeden Schocks ist die Abnahme des Sauerstoffangebots. Eine Hämorrhagie stellt die Hauptursache eines hypovolämen Schocks dar. Durch die Reduktion des Blutvolumens und damit der Sauerstoffträger führt er zur Reduktion des HZV und des O<sub>2</sub>-Angebotes. Als Kompensationsversuch führt eine Katecholaminfreisetzung zur arteriolen Vasokonstriktion. Erst in der hypoxischen Spätphase dilatieren die Arteriolen.

Perioperative Blutverluste in unterschiedlichem Ausmaß, verursacht durch Traumen und Operationen spielen im klinischen Alltag eine große Rolle. Aber auch gastrointestinale und gynäkologische Blutungen, Gefäßrupturen, Gefäßarrosionen durch Tumoren oder chronische Entzündungen können Ursachen sein. Diese perioperativen Blutverluste können eine vitale Gefährdung darstellen.

## **1.3. Pathophysiologie des Schocks**

Bei der Reduktion des Blutvolumens unterscheidet man einen relativen von einem absoluten Blutvolumenmangel. Eine relative Hypovolämie tritt häufig bei

septischen, anaphylaktischen oder neurogenen Schockzuständen auf. Hier kommt es aufgrund von Effekten durch Mediatoren zur Abnahme des peripheren Gefäßtonus mit unterschiedlich stark ausgeprägter Vasodilatation (z.B. in Haut, Magen-Darm-Trakt). Ferner kommt es durch die relative Hypovolämie zu Störungen der Sauerstoffaufnahme und der peripheren Sauerstoffutilisation. Dies führt auf der einen Seite zu Gerinnungsstörungen: Bei Schockzuständen kann es zur Verbrauchskoagulopathie durch die Endotoxinwirkung oder durch direkte Endothelschädigung zur Aktivierung des Gerinnungssystems mit Ausbildung von Mikrothromben in der terminalen Strombahn, mit Verbrauch von Gerinnungsfaktoren, Gerinnungsinhibitoren und Thrombozyten kommen. Folge dessen ist eine gesteigerte Blutungsneigung.

Die Hypovolämie und Hypoxie kann auf der anderen Seite zum Kapillar-Leck Syndrom (Capillary-leak-Syndrome) führen: Eine Zunahme der Gefäßpermeabilität durch Endothelschädigung bedingt einen Flüssigkeitsabstrom in das Interstitium. Eine absolute Hypovolämie ist die Konsequenz. Ein konkreter Volumenverlust kann verursacht sein durch hämorrhagischen, traumatischen oder Verbrennungsschock. Als Resultat der starken Veränderung der kapillären Permeabilität entwickeln sich Gewebsödeme. Diese Ödeme können den Stofftransport stören und Organschäden hervorrufen [12].

Die relative wie auch die absolute Hypovolämie reduziert die Vorlast des Herzens. Durch die Senkung der Vorlast sind das Schlagvolumen und demzufolge auch das Herzzeitvolumen reduziert. Das Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) an die Zellen ist abhängig vom Herzzeitvolumen (HZV) und vom Sauerstoffgehalt des Blutes ( $CaO_2$ ). Der Zusammenhang wird durch die Formel ( $DO_2 = HZV \times CaO_2$ ) beschrieben. Der  $CaO_2$  des Blutes ergibt sich aus der Summe des Sauerstoffanteils, der an Hämoglobin (Hb) gebunden ist, und dem Sauerstoffanteil, welcher im Plasma physikalisch gelöst ist ( $CaO_2 = 1,36 \times Hb \times SaO_2 + 0,0031 \times PaO_2$ ). Aus diesem Grunde hat ein Blutverlust eine Hypoperfusion und damit eine zelluläre Hypoxie zur Folge.

#### **1.4. Kompensationsmöglichkeiten bei Hypovolämie und Hämorrhagie**

Als Kompensationsmechanismen beim Schock stehen die Aktivierung des sympathischen Nervensystems sowie renale, neurohumorale und lokale vasoregulatorische Mechanismen zur Verfügung. Ziel der Gegenregulationen ist die Wiederherstellung und Aufrechterhaltung eines ausreichenden Herzzeitvolumens mit suffizienter Organperfusion.

Anfangs reagiert der Organismus auf das Schockgeschehen mit verschiedenen Kompensationsmechanismen, die unter anderem auf einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems beruhen. Durch den Blutdruckabfall im Schock kommt es zur Ausschüttung von endogenen Katecholaminen wie Noradrenalin und Adrenalin mit Tachykardie, Tachypnoe und Vasokonstriktion von Arteriolen und venösen Kapazitätsgefäßen. Die Kontraktilität des Myokards nimmt zu und nachfolgend auch das Herzzeitvolumen. Durch diese Regulationsmechanismen kann der arterielle Blutdruck anfangs noch normal sein.

Durch die Abnahme des venösen Rückstromes zum Herzen fällt der arterielle Blutdruck ab. Entsprechend der unterschiedlichen Verteilung von Alpha- und Beta-Rezeptoren erfolgt eine Umverteilung der zirkulierenden Restblutmenge. Alpha-Rezeptoren sind vermehrt im Splanchnikusgebiet und in der Haut lokalisiert und bewirken dort eine Vasokonstriktion. Durch diese Zentralisation bleibt zunächst die Durchblutung von Herz und Gehirn gewährleistet. Während zu Beginn ein kompensatorischer Einstrom von interstitieller Flüssigkeit in die Strombahn besteht, kommt es mit zunehmender Gewebshypoxie und Ansammlung saurer Metabolite zu transkapillären Verlusten an intravasaler Flüssigkeit und somit zur Verstärkung des Volumenmangels. Im fortgeschrittenen Stadium wird das Myokard durch eine verminderte Koronarperfusion geschädigt. Durch verminderte Pumpleistung des Ventrikels sinkt das HZV.

Ein weiterer Bestandteil der oben beschriebenen Kompensationskette bei Hypovolämie ist das Angiotensinsystem (RAAS). AT-2 erhöht den peripheren Widerstand durch direkte Vasokonstriktion, Sympatikusaktivierung im ZNS und die oben erwähnte Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark. Weiterhin verändert es die Nierenfunktion durch eine direkte Beeinflussung der Natriumionen-Resorption und damit der Wasserretention, woraus eine Erhöhung

des Blutvolumens resultiert. AT-2 setzt Aldosteron aus der Nebennierenrinde frei, was die renale Natriumionen-Retention erhöht. Es kommt zur Steigerung des Blutvolumens und damit der Vorlast des Herzens. Hierdurch wird das HZV und damit der Blutdruck angehoben. Die Physiologie des RAAS ist in Kapitel 1.6. ausführlich dargestellt.

Neben diesen kurzfristigen Kompensationsmechanismen bei Hämorrhagie und Hypovolämie stehen zur langfristigen Gegenregulation die erhöhte Erythropoese und die Albuminsynthese zur Verfügung.

### **1.5. Pathophysiologie des hypoxischen Zellschadens**

Verschiedene Studienmodelle der ischämischen Zellhypoxie wurden benutzt, um die mikrozirkulatorischen Störungen mit nachfolgenden Gewebsschäden zu charakterisieren [2, 13, 14]. Al-Haboubi et al. untersuchten den Einfluss der akuten Hypoxie am Rattenherz und wiesen einen Anstieg der myokardialen Albuminextravasation nach [15]. Auch die Studie von Kline et al. [13] über die Herzfunktion nach hämorrhagischem Schock an Ratten ergab, dass das Ausmaß der Blutdrucksenkung eine entscheidendere Rolle für die Herzdysfunktion als die Dauer des Schocks spielt. Die Autoren sind der Meinung, dass der Grund für die posthämorrhagische Herzdysfunktion nicht die kardiale Substratbegrenzung ist, auch nicht die myokardiale TNF-alpha-Anreicherung, sondern die erschwerte Umwandlung des molekularen Sauerstoffs in kardiale Pumpleistung [13].

Tucker und seine Mitarbeiter fanden heraus [14], dass eine Blutvolumenreduktion bei Ratten um 35% im Vergleich zur Kontrollgruppe den Albumintransport in den Geweben von Skelettmuskel, Haut, Darm, Herz und Lunge signifikant senkt, nicht aber in Pankreas, Niere und Gehirn. Plante et al. [2] nutzten die Evansblaumethode zur Messung der Albuminextravasation. Als eine Ursache für das interstitielle Ödem beschreiben sie den gegenüber dem onkotischen Druck erhöhten hydrostatischen Druck. Sie zeigten, dass bei spontan hypertensiven Ratten im Vergleich zu normotensiven Ratten die Kapillarpermeabilität in Aorta, Duodenum, Pankreas, Leber, Muskel, Nieren und Haut signifikant erhöht ist. Weiterhin untersuchten sie den Effekt verschiedener antihypertensiver Medikamente bei spontan hypertensiven Ratten. In der Haut waren die Effekte am

größten; alle antihypertensiven Medikamente reduzierten die durch Evansblau angezeigte Albuminextravasation. Am Skelettmuskel, der Niere und der Aorta fanden sie ähnliche Ergebnisse.

Eine effiziente Glykolyse ist auf ein ausreichendes Sauerstoffangebot angewiesen, im Falle eines Schocks müssen die Zellen auf den anaeroben Kohlenhydratabbau ausweichen. Dies führt zur Anhäufung saurer Endprodukte wie der Milchsäure und somit zur metabolischen Azidose. Die präkapillären Gefäßabschnitte reagieren auf die Azidose empfindlicher als die postkapillären. Daraus resultiert eine Atonie der präkapillären Gefäßabschnitte bei noch bestehender postkapillärer Vasokonstriktion. Folge dessen ist ein Anstieg des hydrostatischen Drucks mit Transsudation von Flüssigkeit aus dem Plasma in die Gewebe. Zirkulierende vasoaktive Substanzen wie Histamin und Plasmakinine erhöhen die Durchlässigkeit der Kapillaren und begünstigen die Flüssigkeitsverluste aus dem Gefäßsystem.

Die Folgen sind die Steigerung der lokalen Konzentration von bestimmten Blutbestandteilen und die Verstärkung des „Sludge“-Phänomens der Erythrozyten sowie die Ausbildung von Mikrothromben bis hin zur Verbrauchskoagulopathie. Bei dem Sludge-Phänomen der Erythrozyten handelt es sich um eine Form der Mikrozirkulationsstörung mit reversibler Aggregation von Erythrozyten infolge Strömungsverlangsamung. Diese Stase des Blutes kann erheblich die Sauerstoffversorgung in den Geweben beeinträchtigen. Diese Mechanismen können sich leicht zu einem Circulus vitiosus entwickeln. Wenn dieser nicht unterbrochen wird, breiten sich die Mikrozirkulationsstörungen weiter aus. Dies schränkt die Durchblutung der Organe ein, so dass eine Gewebshypoxie und schließlich eine irreversible Schädigung der Zellfunktion eintreten.

Nur selten treten Volumenstörungen des Intravasalraums isoliert, d.h. ohne begleitende Volumenveränderung des gesamten EZR auf (z.B. in der Frühphase von raschen Blutverlusten). Meist liegen Störungen des Intra- und Extravasalvolumens kombiniert vor.

### **1.5.1. Auswirkungen des Schocks auf verschiedene Organe**

Der hypovolämische Schock spielt in der perioperativen und in der Notfallmedizin eine wichtige Rolle. Im Stadium der Dekompensation manifestieren sich Schäden in allen Organen. Typische Auswirkungen sind die Schocklunge, der Schockdarm und die Schockniere. Aber auch in anderen Organen finden sich Auswirkungen des Schocks: Im Gehirn lassen sich nach einem Schock hyaline Thromben, Marknekrosen und symmetrische hämorrhagische Infarkte nachweisen. Der Volumenmangel kann bis hin zum Multiorganversagen führen.

In der Leber findet man im Rahmen eines Schockgeschehens häufig Mikrothromben und zentrolobulär gelegene Nekrosen.

Am Herzen entwickelt sich bei einer Hypoxie rasch eine Myokardinsuffizienz, der Darm hingegen ist relativ resistent gegenüber einer kurzfristigen Ischämie. Bei Überschreiten einer kritischen Zeitspanne treten jedoch auch hier unweigerlich irreversible Schädigungen besonders im Bereich der Mikrovilli auf.

### **1.5.2. Risiken der Flüssigkeitsreperfusion**

Die Pathologie des Schockgeschehens ist geteilt in die erste Phase der Hypoperfusion mit Ischämie und bei Einleiten einer Volumenersatztherapie in eine zweite Phase des Reperfusionsschadens.

Es stehen nur begrenzte Daten zur Verfügung, die die mikrovaskulären Schäden während hämorrhagischem Schock vor Flüssigkeitsreperfusion und –reanimation dokumentieren. Initial stellten Bickell et al. [16] fest, dass eine Flüssigkeitsgabe bei penetrierendem Thoraxtrauma erst nach chirurgischer Blutungskontrolle das Überleben der Patienten in seiner Studie erhöhte. Die diskutierten Risiken von Flüssigkeitswiederbelebung vor chirurgischer Blutstillung sind steigende Gewebsperfusion durch erhöhte Blutvolumina und Blutdrücke sowie die daraufhin folgende Abspaltung von Blutgerinnseln bei Gefäßverletzungen. Dies führt zu einem steigenden Blutverlust durch die wieder eröffneten Leckagen [17, 18].

In einer Studie an Ratten mit hämorrhagischem Schock nach Milztrauma publizierten Hatom et al., dass eine Volumenbolusinfusion die Mortalität der Tiere erhöht [18]. Eine kontinuierliche Infusion verstärkt zwar die intraabdominellen Blutungen, lässt die Überlebenszeit jedoch unbeeinflusst. Hingegen fanden Soucy et al. in einer tierexperimentellen Untersuchung heraus, dass die Infusion von isotonischen Lösungen die Überlebensrate nach unkontrolliertem hämorrhagischem Schock bei Ratten verbessert [17].

## **1.6. Physiologie des RAAS**

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) stellt sich als biochemische Kaskade dar. Renin wird in der Niere im Bereich des juxtaglomerulären Apparates von spezialisierten Zellen der Vasa afferentia in die Blutbahn abgegeben. Zur Renin-Freisetzung kommt es bei Abfall des renalen Perfusionsdruckes, bei Abnahme des Natriumionenbestandes des Organismus sowie infolge sympathischer Innervation und über die Aktivierung von beta1-Rezeptoren. Renin wirkt im Blut als proteolytisches Enzym und spaltet von dem in der Leber gebildeten Angiotensinogen das Dekapeptid AT-1 ab [19, 20], welches biologisch unwirksam ist. Das Angiotensin-Conversions-Enzym (ACE) setzt AT-1 zu dem Oktapeptid AT-2 um, dieses stellt das effektive Endprodukt der enzymatischen Kaskade dar [20, 21, 22]. Das ACE ist eine nichtspezifische Dipeptidylcarboxypeptidase. Es trennt ein Dipeptid vom carboxyterminalen Ende ab. Das Enzym setzt nicht nur spezifisch AT-1 um, sondern z.B. auch Bradykinin, was durch eine Dipeptid-Abspaltung inaktiviert wird. AT-1 und AT-2 werden zu 90% im Gefäßendothel produziert, der Rest im Plasma [22, 23, 24]. Da die lokale AT-2-Entstehung eine große Rolle spielt, ist die regionale Konzentration durchaus unterschiedlich. Der Abbau des AT-2 erfolgt besonders in Leber und Niere durch die Angiotensinase zu Angiotensin-3 und inaktiven Peptiden. Die negative Rückkopplung der Kaskade erfolgt durch eine AT-2-vermittelte Reduktion der Renin-Ausschüttung. Die primäre Determinante der AT-2-Umsetzung ist der Renin-Plasma-Spiegel, reguliert durch die renale Renin-Ausschüttung. Die Regulationsmechanismen der Renin-Sekretion (renale Barorezeptoren, neurogene Stimulation, Macula-densa-vermittelte RAAS-Aktivierung) sind bis auf die subzelluläre Ebene gut untersucht [25]. Diese Mechanismen regulieren die Renin-

Expression über Kalzium, Adenosin-3'-5'-zyklisches Monophosphat und über Kalium- und Chlorid-Kanäle. Die Netto-Aktivität des AT-2 hängt somit hauptsächlich vom Ausmaß des Renin-Substrates und der Verfügbarkeit des ACE ab.

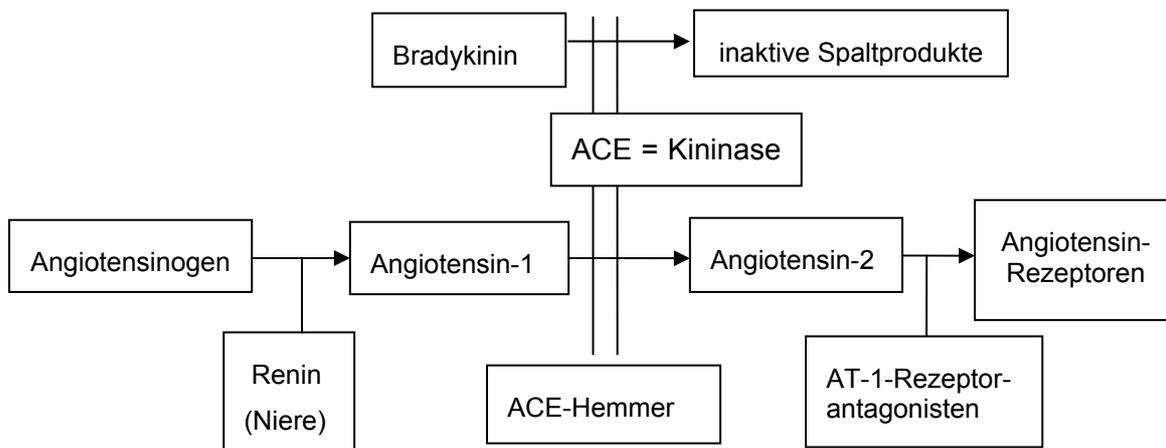


Abb. 1.1.: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

AT-2 bindet an verschiedenen Zielorganen an mindestens zwei spezifischen Rezeptoren, die als AT-1- und AT-2-Rezeptoren bezeichnet werden. Die Affinität von AT-2 zu diesen Rezeptoren ist sehr hoch. Für den AT-1-Rezeptor sind spezifische Hemmstoffe entwickelt worden, die AT-1-Rezeptorantagonisten.

Die Signaltransduktion erfolgt beim AT-1-Rezeptor über ein G-Protein, welches Diacylglycerol und Inositol-Triphosphat generiert. Inositol-Triphosphat führt zur Kalziumfreisetzung aus zytoplasmatischen Speichern. Zusätzlich kommt es zu einem AT-2-vermittelten Einstrom von Kalzium über zellwandständige Kanäle. Kalzium und Diacylglycerol aktivieren verschiedene Enzyme, wie z.B. Protein-Kinase C und Kalzium-Calmodulin-Kinasen. Die Phosphorylierung von zellfunktionsregulierenden Proteinen wird somit katalysiert. Die Signaltransduktion des AT-2-Rezeptors unterscheidet sich wesentlich von der des AT-1-Rezeptors [26]. Der AT-2-Rezeptor vermittelt über eine Aktivierung der Ser/Thr-Phosphatase und der MAP-Kinase-Phosphatase proapoptotische Signale und vermindert die Aktivität mitogener MAP-Kinasen.

AT-2 wirkt außerordentlich vasokonstriktorisch und führt dadurch zu einer Blutdrucksteigerung. Im arteriellen Schenkel des Kreislaufs wirkt die Vasokonstriktion besonders auf die Arteriolen, so dass der periphere Gefäßwiderstand steigt. Auch im venösen Schenkel wird der Tonus erhöht, wodurch das venöse Blutangebot an das Herz zunehmen kann. AT-2 fördert die Aldosteronsekretion aus der Nebennierenrinde. Das Mineralokortikoid hält Natriumchlorid und konsekutiv Wasser in der Niere zurück und vermehrt dadurch Blutvolumen und venöses Angebot. Auch der Sympathikus, der ebenfalls den Blutdruck steigert, wird durch AT-2 stimuliert. In der Peripherie fördert es die synaptische Übertragung und steigert zentral den Sympathotonus, weiterhin ist es am Wachstum von Herzmuskelzellen und Gefäßen beteiligt.

AT-2 reguliert den Blutdruck, das intravaskuläre Flüssigkeitsvolumen und die regionale Durchblutung. Diese Aspekte sind für den Anästhesisten von entscheidender Bedeutung. Während einer Hypovolämie kommt es zu einer Aktivierung des RAAS, welche zunächst in einer AT-2-vermittelten Vasokonstriktion über AT-1-Rezeptoren [27] mündet. Hierbei wird nicht nur der periphere Gefäßwiderstand über die Konstriktion der Arteriolen angehoben [28, 29, 30]. Es kommt auch zu einer Venokonstriktion [31], und diese führt zur Reduktion der Gefäßkapazität. Über diese Umverteilung kann das Herzzeitvolumen über den verstärkten venösen Rückstrom für eine Zeit lang erhöht werden [32]. Bei fortdauernder Hypovolämie kommt es zusätzlich zu einer AT-2-vermittelten Steigerung des Flüssigkeitsvolumens: AT-2 ist der primäre Stimulus zur Aldosteron-Inkretion [28, 29, 30], bewirkt aber ebenfalls eine direkte Natrium-Regulation. In der Folge kommt es zu einer Resorption von Natriumionen und Wasser. Nach der Wiederherstellung des effektiven intravaskulären Flüssigkeitsvolumens wird das RAAS nicht weiter aktiviert [33].

### **1.7. ACE-Inhibitoren, AT-1-Rezeptor-Antagonisten und Gefäßpermeabilität**

AT-2 ist ein wichtiger Vasokonstriktor während Hypovolämie, und es wird angenommen, dass es zu schockinduzierten ischämischen Organschäden beiträgt [3]. Deshalb wird die pharmakologische Blockade des RAAS zur potentiellen Organprotektion während hypovolämischen Schocks untersucht [4, 5,34].

Die Einführung der Medikamentengruppe der AT-2-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonisten (AT-1-Rezeptor-Antagonisten) scheint Vorteile in Bezug auf einen ungestörten Bradykinin-Abbau zu bieten. Im Gegensatz zu ACE-Hemmern beeinflussen AT-1-Rezeptor-Antagonisten den Bradykininstoffwechsel nicht. Sie binden selektiv am AT-1-Rezeptor und hemmen hier die AT-2-Effekte. Dadurch übertreffen sie die Wirkung der ACE-Hemmer, welche die Entstehung von AT-2 nicht völlig unterbinden können und haben darüber hinaus weniger Nebenwirkungen: Es werden unter anderem kein Husten und weniger Angioödeme ausgelöst.

Losartan war der erste oral verfügbare selektive AT-1-Rezeptor-Antagonist mit langer Halbwertszeit. Er ist 1996 in die Therapie eingeführt worden.

Das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) ist weitgehend identisch mit der Kininase-II, welches Bradykinin (BK) und andere verwandte Kinine inaktiviert. Die Potenzierung der Kinine könnte verantwortlich für die Permeabilitätssteigerung der ACE-Hemmer sein [9]. Experimentelle Daten zeigen, dass während akuter ACE-Inhibition die Plasmaextravasation über Bradykinin und Substanz P vermittelt wird. Die Albuminextravasation von postkapillären Venolen bei Mäusen wird nach ACE-Hemmung im Vergleich zur Stimulation von Tachykinin-NK1- und Bradykinin-B2-Rezeptoren um das 2- bis 7fache in Magen, Trachea, Dünn- und Dickdarm, Harnblase, Haut und Pankreas erhöht [10]. Auch andere Studien zeigen, dass ACE-Hemmer die Gefäßpermeabilität bei Mäusen [35] erhöhen. AT-1-Rezeptorantagonisten hingegen führen ohne steigende BK-Akkumulation zu einer konzentrationsabhängigen Inhibition der AT-2-vermittelten Vasokonstriktion [11]. Deshalb wird vermutet, dass bei dieser Art von RAAS-Blockern der transkapilläre Übertritt von Plasma geringer ausgeprägt ist [36].

Aneman et al. fanden heraus, dass die intravenöse Applikation des AT-1-Rezeptor-Antagonisten Candesartan vor akuter Hypovolämie der mesenterialen Hypoperfusion am Schwein [6] entgegenwirkt. Yilmaz et al. publizierten ähnlich günstige Ergebnisse für Valsartan [7]. In Studien von Laesser et al. scheint die Gabe von Candesartan vor hypovolämischem Schock die mesenteriale und jejunale Mukosaperfusion am Schwein sogar zu verbessern. Die hepatische und

renale Zirkulation wird jedoch in der Studie durch Candesartan-Applikation nicht beeinflusst [8].

Untersuchungen konnten zeigen, dass Losartan, als AT-2-Rezeptor-Antagonist, vor einer Thromboxan-A<sub>2</sub>-vermittelten Albuminextravasation schützt [37]. Auf der anderen Seite sollen AT-2-Antagonisten intraoperativ mehr hypotensive Krisen als andere Blutdruck senkende Medikamente verursachen und eine geringere Ansprechbarkeit auf Vasopressoren wie Ephedrin und Phenylephrin [38] zeigen. Deshalb wird das Absetzen der AT-2-Rezeptor-Antagonisten einen Tag vor der OP empfohlen [39]. Andere Studien sagen aus, dass Captopril das Risiko der Hypotension und Bradykardie während der Anästhesie ebenfalls erhöht und nicht vor postoperativer Hypertension schützt [40]. AT-1-Rezeptor-Antagonisten zeigten bessere Untersuchungsergebnisse des essentiellen Hypertonus und auch in der Behandlung von Organschäden [41].

### **1.8. Fragestellungen der Studien**

Wir untersuchten in dieser Studie, wie sich die organspezifische Kapillarpermeabilität während akutem, nicht flüssigkeitsresuszierten hämorrhagischen Schock bei der Ratte verändert.

Für die weitergehende Untersuchung einer potentiellen pharmakologischen Organprotektion evaluierten wir zunächst, ob bei Normovolämie die mikrovaskuläre Permeabilität in den verschiedenen Organen bei Gabe des ACE-Hemmers Enalaprilat sowie des AT-1-Rezeptor-Antagonisten Candesartan verändert wird.

Darauf aufbauend untersuchten wir, ob eine durch hämorrhagischen Schock ausgelöste Kapillarmembranschädigung durch den Einfluss von Renin-Angiotensin-Antagonisten modifiziert wird.

Es ergaben sich folgende spezifische Fragestellungen:

1. Welchen Einfluss hat der hämorrhagische Schock auf die Albuminextravasation in den untersuchten Organen?

2. Führt eine alleinige ACE-Hemmung bzw. AT-1-Rezeptorantagonisierung zu einer differentiellen Gefäßpermeabilitätserhöhung in den verschiedenen Organen?
3. Wird eine durch hämorrhagischen Schock ausgelöste Kapillarmembranschädigung durch den Einfluss von RAAS-Antagonisten verändert? Besteht eine Interaktion zwischen hämorrhagischem Schock und RAAS-Antagonisten in Bezug auf die Albuminextravasation?
4. Zeigen Tiere, welche mit ACE-Hemmern behandelt werden, nach hämorrhagischem Schock eine stärkere transkapilläre Albuminextravasation als Tiere unter AT-1-Rezeptor-Antagonisten?

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Versuchsvorbereitungen**

#### **2.1.1. Tierversuchsgenehmigung**

Nachdem der durch Prof. Klotz, Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck, an das Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein gestellte Tierversuchsantrag am 22.02.2002 unter der Nummer V252/72241.122/16 (2/1/02) genehmigt wurde, begannen die tierexperimentellen Studien.

#### **2.1.2. Versuchstiere**

Die Untersuchungen wurden an 38 männlichen Sprague-Dawley-Ratten vom Züchter Harlan oder Ch. River, Deutschland, durchgeführt. Die Versuchstiere waren sieben bis zehn Wochen alt und wiesen ein Körpergewicht von 250-300 g auf. Bis zum Beginn des Versuches wurden die Tiere in Gemeinschaftskäfigen der gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck gehalten. Die gesunden Sprague-Dawley-Ratten wurden artgerecht bei 12h/12h Tag-Nachtrhythmus gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser und Nahrung bis zum Versuchsbeginn. Sie wurden mit dem Rattenhaltungsfutter „Altromin-Standard-Diät-Pellets“ ernährt. Frühestens zwei Tage nach dem Transport wurden die Tiere dem Versuch zugeführt, um ihnen eine ausreichende Erholungsphase zu gewähren. Um den Versuchsratten unnötigen Stress zu ersparen, wurden sie erst unmittelbar vor Versuchsbeginn den Käfigen entnommen.

Die Haltung der Versuchstiere sowie die Versuchsdurchführung erfolgten unter strikter Beachtung des Tierschutzgesetzes.

### **2.1.3. Einleitung und Narkose**

Unmittelbar vor Versuchsbeginn wurden die Ratten aus dem Gemeinschaftskäfig entnommen, gewogen sowie auf ihren allgemeinen Gesundheitszustand hin überprüft. Danach wurde das klinisch gesund wirkende Versuchstier an den Hinterläufen gehalten und schlüpfte in einen für seine Größe passenden abgedunkelten Kunststoffzylinder, der auf einer Seite verschlossen war. So konnte der Ratte zur Prämedikation zunächst intramuskulär in den linken M. gluteus maximus Pentobarbital (Sanofi, Ceva, Hannover, Deutschland) in einer Dosierung von 90 mg/kg Körpergewicht (KG) injiziert werden. Die Sedierung setzte nach wenigen Minuten ein. Zehn Minuten später wurde S-Ketamin (Ketanest®S, Parke-Davis, Karlsruhe, Deutschland) in einer Dosierung von 50 mg/kg KG zur Narkoseeinleitung intramuskulär in den M. gluteus maximus verabreicht.

Die Tiere bekamen durch den hypnotischen Effekt des Pentobarbitals und die narkotische Wirkung des S-Ketamins eine Basisnarkose für den Zeitraum der Präparation und den anschließenden Versuch, wobei Spontanatmung und Kreislauf unbeeinträchtigt blieben.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde den Versuchstieren nach Abschluss der Präparation intramuskulär 22,5 mg/kg KG Pentobarbital sowie 12,5 mg/kg KG S-Ketamin injiziert.

### **2.1.4. Präparation und Vorbereitung**

Vor Beginn der Präparation wurde mittels eines Langhaarrasierapparats das Fell des Versuchstieres von der Fossa jugularis bis zum Unterkiefer und lateral bis einschließlich der Regio sternocleidomastoidea und auf der rechten Seite die Regio glutealis rasiert. Anschließend erfolgte die gründliche Hautdesinfektion mit Betaisodonna® (Mundipharma).

Während der nun folgenden Präparation und im gesamten Verlauf des anschließenden Versuches wurden die Versuchstiere in Rückenlage auf einer warmwasserdurchspülten Wärmeplatte, die Anschluss an ein Wasserbad mit einstellbarem Thermostat hatte, gelagert sowie durch eine Infrarotlampe als zusätzliche Wärmequelle aus geeignetem Abstand bestrahlt. Die Messung der

Körperkerntemperatur erfolgte über eine rektale Temperatursonde. So konnte die Temperatur unter kontinuierlicher Überwachung über die gesamte Versuchsdauer im physiologischen Bereich um 37°C gehalten werden.

Es wurde ein Pulsoximeter (Fa. Siemens, Mikro 2) an der linken Hinterpfote angebracht, um die periphere Gewebesauerstoffsättigung kontinuierlich überwachen zu können.

#### **2.1.4.1. Tracheotomie und Beatmung**

Ein medianer 1,5 cm langer Hautschnitt wurde in der Regio cervicalis anterior unterhalb des Cricoids vorgenommen. Nach Durchtrennen des Platysmas und anschließender stumpfer Präparation mit zwei Pinzetten wurde die Trachea dargestellt und unterminiert. Eine sorgfältige Blutstillung der Wundränder wurde mit einem 12 Volt MikrolötKolben durchgeführt.

Die Trachea wurde durch eine quere Stichinzision zwischen der zweiten und dritten Trachealknorpelspanne eröffnet. Dies ermöglichte die Kanülierung der Trachea mit einem Portexkatheter (äußerer Durchmesser 1,14 mm). Die Trachealkanüle wurde bis vor die Bifurcatio tracheae eingeführt und ein distal der Inzision um die Trachea geführter Faden (Ethikon Perma Handseide 4/0 geflochten) hielt die Kanüle in ihrer Position fest und sorgte gleichzeitig für die zur anschließenden Beatmung unabdingbare Abdichtung zwischen Trachea und Tubus. Der kraniale Anteil der Trachea wurde durch einen weiteren Faden verschlossen und diente ebenso zur Fixierung des Tubus. Für diesen Präparationsschritt wurden zwischen 6 und 10 min benötigt.

Nach der Tracheotomie wurden die Versuchstiere mit einem Kleintierrespirator (HSE Beatmungspumpe nach Schuler, Typ 811, Fa. Hugo Sachs Electronics, Deutschland) mit Befeuchtungszylinder zeit- und flowgesteuert beatmet. Hierbei wurde durchschnittlich eine Atemfrequenz von 70-90/min, ein Atemminutenvolumen von 250-350 ml/min bei einem Spitzendruck von 10-15 mbar und einem Frischgasfluss von 2 l/min verwendet. Ein positiver endexpiratorischer Druck wurde nicht vorgegeben. Die Beatmung erfolgte mit reinem Sauerstoff. Die Effizienz der Einstellung des Kleintierbeatmungsgerätes

sowie eventuelle Störungen des pulmonalen Gasaustausches wurden anhand von mehrfachen arteriellen Blutgasanalysen überprüft und gegebenenfalls angepasst.

#### **2.1.4.2. Venöser und arterieller Zugang**

##### **2.1.4.2.1. Venöser Zugang**

Nach Beginn der kontrollierten Beatmung wurde die linke V. jugularis externa bis zur Einmündung in die V. brachiocephalica im lateralen Halsdreieck stumpf freipräpariert und unterminiert, um für die Versuchsdauer einen sicheren venösen Zugang zur intravenösen Medikamentengabe und Volumensubstitution zur Verfügung zu haben. Über eine quere Inzision mittels einer Mikroschere erfolgte die Kanülierung der Vene mit einem Portex-Polythen-Schlauch (äußerer Durchmesser 0,28 mm) proximal einer zuvor angelegten Fadenschlinge (Ethikon Perma Handseide 4/0). Ein weiterer zirkulärer Ligaturfaden distal der Inzision fixierte den Katheter in der Vene und dichtete diese ab. Aspirieren von venösem Blut bewies die korrekte Lage des Katheters. Der Venenkatheter wurde vorher mit einer Heparin/NaCl-Lösung (4000 I.E. Heparin/100 ml NaCl 0,9%) gespült, um eine Thrombosierung zu vermeiden.

Als basale intraoperative Volumensubstitution wurde Ringerlösung in einer Dosis von 8 ml/(kgxh) intravenös verabreicht. Trotzdem die V. jugularis externa einseitig unterbunden wurde, kam es nicht zu venösen Abflussbehinderungen im Sinne von Ödemen. Der venöse Abfluss erfolgte über entsprechende Kollateralvenen.

##### **2.1.4.2.2. Arterieller Zugang**

Um die mittleren arteriellen Blutdrücke (MAP) und die Herzfrequenz (HF) kontinuierlich und zuverlässig messen zu können sowie die arteriellen Blutgase ( $p_a\text{CO}_2$  und  $p_a\text{O}_2$ ), die Säure-Basen-Parameter (BE, pH,  $\text{HCO}_3^-$ ), die Laktatwerte und den Hämoglobingehalt zu analysieren und zu korrigieren, wurde ein Verweilkatheter (Portex-Polythen-Schlauch, äußerer Durchmesser 0,58 mm) in die rechte A. carotis communis gelegt. Dafür wurde medial des M. sternocleidomastoideus stumpf in die Tiefe präpariert und die A. carotis communis dextra auf einer Länge von 1,5 cm unter besonderer Schonung des begleitenden

N. vagus dargestellt und in wie für die Vene beschriebener Weise kanüliert. Die Spitze des Katheters kam auf Höhe des Abgangs der A. carotis communis aus dem Truncus Brachiocephalicus zu liegen. Die Punktion führte zur einseitigen Unterbrechung des Blutflusses der A. carotis communis.

Ab diesem Zeitpunkt konnte der arterielle Blutdruck mit Hilfe eines auf Herzniveau platzierten Druckaufnehmers (Isotec TM Inexpensive Pressure Transducer, Fa. Isotec-healthdyne cardiovascular, Marietta, Georgia, USA) und einem Druckmessgerät auf einem Mehrkanalschreiber (Graph-Tec-Linearcorder WR 3310, USA) dokumentiert werden. Gleichzeitig konnte die Herzfrequenz der Versuchstiere auf einem Herzfrequenzmonitor (Fa. Siemens) ständig beobachtet und über den Mehrkanalschreiber aufgezeichnet und evaluiert werden.

Nachdem beide Gefäße katheterisiert waren und eine sichere Blutstillung erfolgt war, wurde die Wunde mit einer fortlaufenden Naht (Mopylen 5/0 Polypropylen, blau monofil) verschlossen, um eine Auskühlung sowie evaporative Flüssigkeitsverluste zu verhindern.

#### **2.1.4.3. Thorakotomie**

Nach Kanülierung der Cervicalgefäße und Stabilisierung der Kreislaufparameter unter Überwachung des mittleren arteriellen Blutdrucks und der Herzfrequenz wurde in der linken Linea medioclavicularis ein ca. 2,5 cm langer Hautschnitt gesetzt und im weiteren Verlauf die Rippen 3 bis 5 unter Schonung der Muskulatur (M. pectoralis major, M. obliquus externus abdominis) stumpf freipräpariert. Die Thorakotomie wurde medial der Medioklavikularlinie unter Schonung der Pleura visceralis vorgenommen. Ein in den Thorax eingebrachter Rippenspreizer fixierte nach sorgfältiger Blutstillung den freien Zugang zu den Thoraxorganen. Nach vorsichtiger Entfernung des Thymusgewebes und Koagulation der das Organ versorgenden Gefäße wurde der Aortenbogen zwischen dem Truncus brachiocephalicus und dem Abgang der linken A. carotis communis stumpf vom umgebenden Bindegewebe separiert und dargestellt. Zur Messung des Herzzeitvolumens wurde eine perivaskuläre Flowsonde (Transonic, USA, zur Akutmessung an Gefäßen von 1,5 – 2,0 mm Durchmesser) zwischen den Abgängen des Truncus brachiocephalicus und der A. carotis communis sinistra

plaziert und mit einem Verschiebeverschluss fixiert. Nach dem Legen der Flowsonde und Überprüfung der einwandfreien Messung, die über den Mehrkanalschreiber dokumentiert wurde, wurde der Thorax mittels fortlaufender Hautnaht (Mopylen 5/0 Polypropylen, blau monofil) verschlossen. Die Lage der perivaskulären Flowsonde ist in Abb. 2.1. schematisch dargestellt.

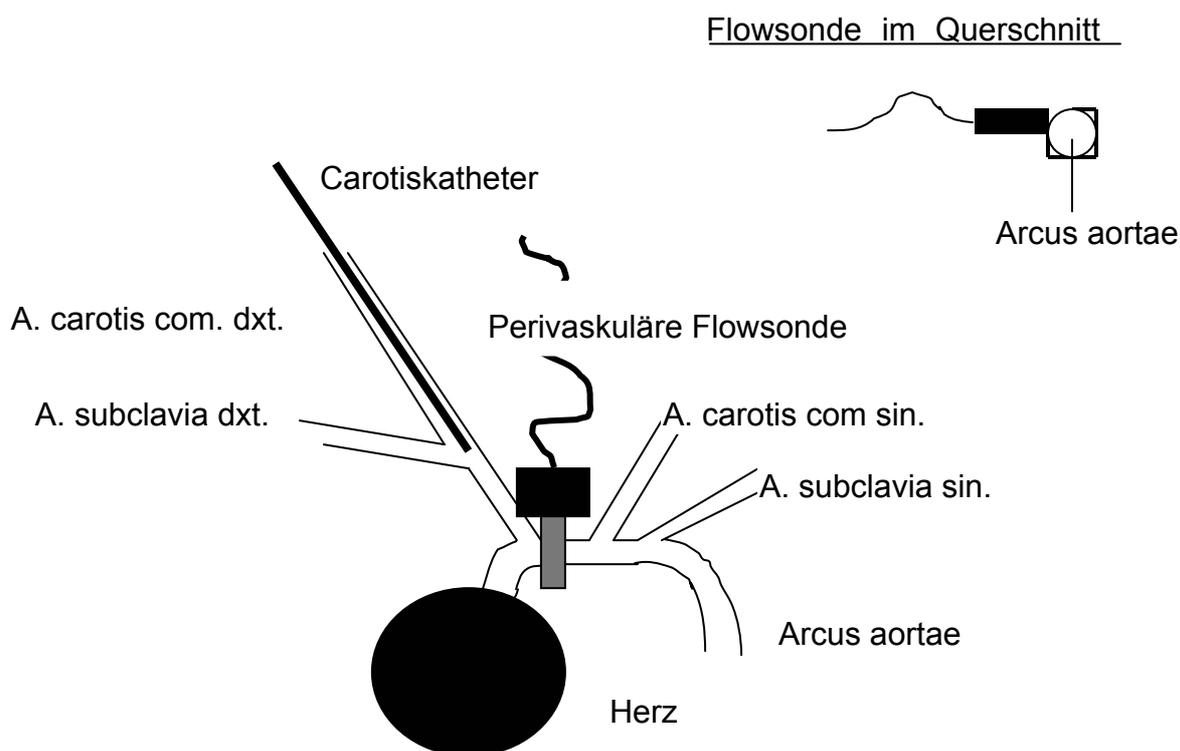


Abb. 2.1.: Schematische Darstellung der Lage der Flowsonde (Insert: Seitenansicht der Sonde)

Die kontinuierliche Überwachung der oben aufgeführten Parameter ( $p_a\text{CO}_2$ ,  $p_a\text{O}_2$ , BE, pH,  $\text{HCO}_3^-$ , Laktatwert, Hämoglobingehalt, Temperatur, HZV, HF, MAP) diente der Sicherstellung einer stabilen Kreislauftsituation und gewährleistete annähernd gleiche Rahmenbedingungen für alle Versuchstiere.

## 2.2. Versuchseinleitung und -durchführung

### 2.2.1. Gruppeneinteilung

Die Versuchstiere (n=38) wurden randomisiert in eine Kontroll- (Vehikel) und 2 Medikamentengruppen (ACE-, AT-1-Medikation: Enalaprilat, Candesartan)

unterteilt. Diese drei Gruppen wurden wiederum geteilt in je eine Gruppe mit und je eine ohne hämorrhagischen Schock, so dass die Ratten sechs unterschiedlichen Gruppen zugeordnet wurden (Tab. 2.1.).

<b>Substanz</b>	<b>Kontrolle</b>	<b>Schock</b>
<b>Vehikel (Veh)</b>	n = 6	n = 6
<b>Enalaprilat (Ena)</b>	n = 6	n = 7
<b>Candesartan (Can)</b>	n = 6	n = 7

Tab. 2.1.: Gruppeneinteilung

### **2.2.2. Versuchsablauf**

Im Laufe des Versuches wurden für 3 Blutgasanalysen aus dem arteriellen Katheter jeweils ca. 0,3 ml Blut entnommen. Die erste Blutgasanalyse erfolgte unmittelbar nach der Punktion der A. carotis, dann vor der hämorrhagischen Phase und die letzte vor dem Versuchsende. Für die Messung wurde das BGA-Gerät ABL720 (Radiometer Copenhagen) benutzt.

Nach der Präparation und den Versuchsvorbereitungen, für die im Durchschnitt 2,5 Stunden gebraucht wurden, einer wiederholten Anästhesie nach Thoraxverschluss durch Gabe von einem Viertel der Einleitungs-dosis (Pentobarbital sowie S-Ketamin) und einer ausreichenden Stabilisierungsphase von 30 Minuten begann der experimentelle Teil, der in eine Medikamenten-, Hämorrhagie- und Evansblauphase (EB-Phase) unterteilt wurde. Der schematische Ablauf der Versuche ist in Abb. 2.2. dargestellt.

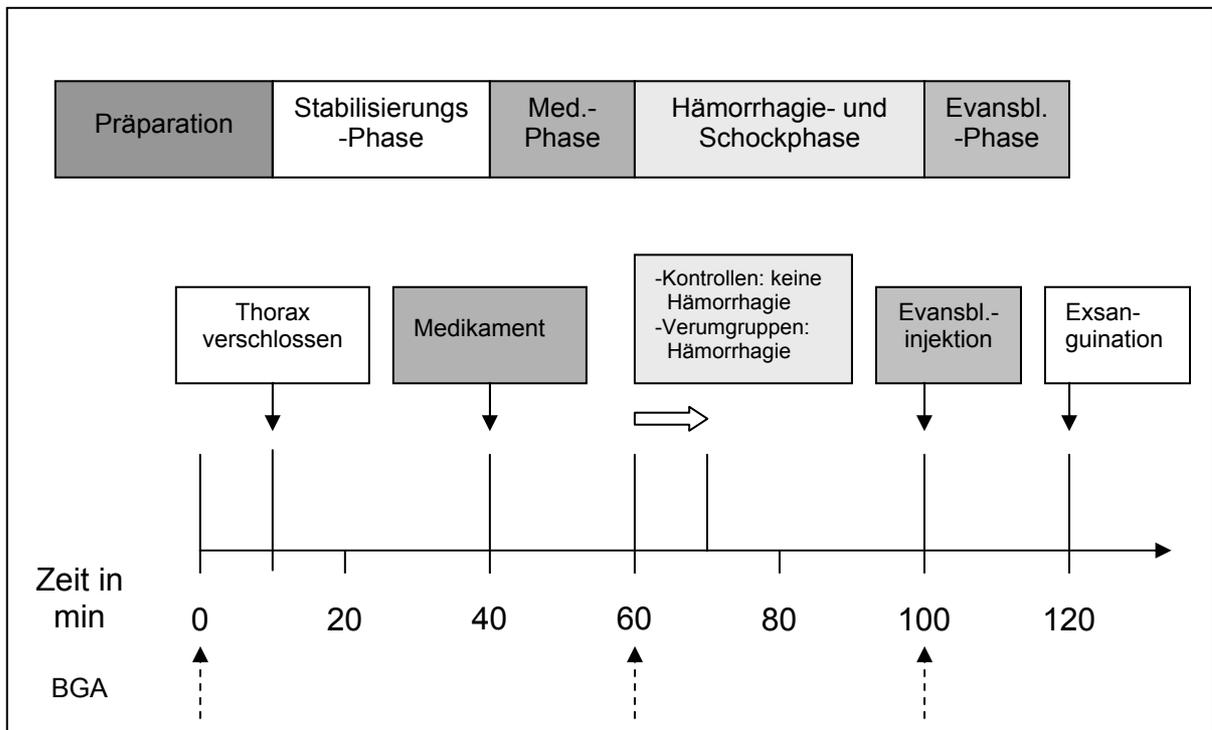


Abb. 2.2.: Schema des Versuchsablaufes (BGA-Blutgasanalyse)

### 2.2.2.1. Medikamentenphase

Zu Beginn der 20minütigen Medikamentenphase wurde den Tieren entweder Vehikel (Veh, 1 ml NaCl 0,9 %-Lösung), Enalaprilat (Ena, 1 mg/kg KG) oder Candesartan (Can, 30 µg/kg KG) intravenös verabreicht.

### 2.2.2.2. Hämorrhagie- und Schockphase

20 Minuten nach Medikamentengabe begann die Hämorrhagiephase für die Gruppen mit hämorrhagischem Schock. Diesen Tieren wurde über einen Zeitraum von zehn Minuten soviel Blut über den arteriellen Katheter entnommen, dass das Herzzeitvolumen (HZV) auf die Hälfte des Ausgangswertes in der Stabilisierungsphase reduziert wurde. Dabei wurde darauf geachtet, dass der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) nicht unter 30 mmHg absank, da in Vorversuchen gezeigt werden konnte, dass in diesem Fall keine längerfristige Kreislaufstabilisierung möglich war. Bei Erreichen dieses Grenzwertes wurde die

Blutentnahme beendet und das HZV nicht weiter gesenkt. Dieser erreichte Schockzustand wurde für 30 Minuten aufrechterhalten. Die Kontrollgruppen blieben über den gleichen Zeitraum auf dem Ausgangsniveau stabil.

### **2.2.2.3. Evansblauphase**

Anschließend folgte die Evansblauphase, die für alle Gruppen identisch durchgeführt wurde. Dabei wurde über den zentralvenösen Katheter 50 mg/kg KG Evansblau (EB) (C.I.23960, Charge K25612469, Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland) verabreicht. 20 Minuten nach vollständiger Injektion des Farbstoffes, wurde zur Exsanguination der rechte Vorhof mit einem Skalpell nach Wiedereröffnung des Thoraxes eröffnet, sodass Blut und Spülflüssigkeit entweichen konnten. Dann wurde der linke Ventrikel mittels einer Injektionsnadel (21 G) in Richtung der Aorta ascendens kanüliert. Über diese Nadel wurde eine Perfusionsflüssigkeit mit einem Infusionsdruck, welcher dem vorher ermittelten MAP entsprach, infundiert und so der intravaskuläre Raum von jeglichem Farbstoff gereinigt.

Um in allen Tieren einen standardisierten Perfusionsdruck in der Aorta zu erreichen, benutzten wir einen druckvariablen Infusionsbeutel. Das Perfusionsvolumen entsprach dem 4fachen des abgeschätzten Blutvolumens, welches nach der Blutvolumenformel für Ratten mit 7,46 ml/100 g KG [42] errechnet wurde. Die auf Körpertemperatur erwärmte Perfusionslösung (100 ml NaCl 0,9 %-Lösung, versetzt mit 4000 i.E. Heparin) wurde unmittelbar nach Eröffnung des rechten Atriums infundiert. Der durch die Perfusion im Gefäßsystem entstandene Druck konnte über den arteriellen Druckaufnehmer kontrolliert werden (Abb. 2.3.). In der Schlussphase der Perfusion floss klare Flüssigkeit aus dem rechten Vorhof. Auch makroskopisch konnte die Entfärbung des Körpers beobachtet werden.

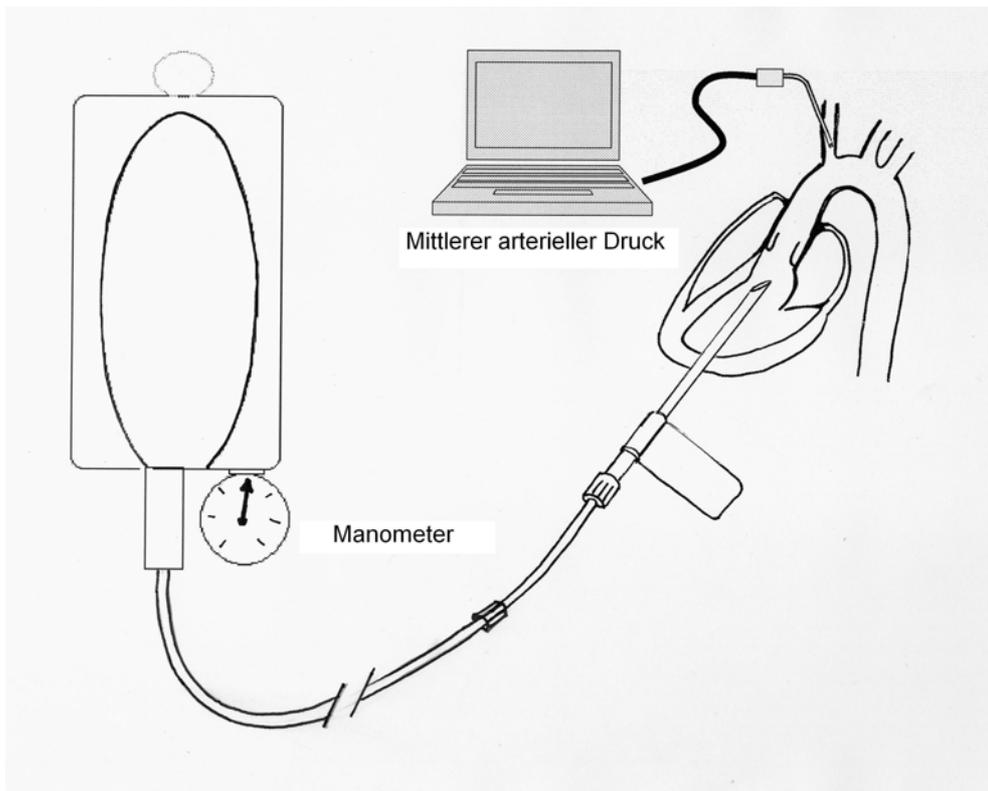


Abb. 2.3.: Modell der druckkontrollierten antegraden Perfusion zur standardisierten Exsanguination [nach 42].

Nach Beendigung der Spülung erfolgte die sofortige Sektion der Versuchstiere, wobei auf die korrekte Lage der Katheter und des Tubus sowie auf innere Blutungen geachtet wurde. Es wurden Herz, Lunge, Milz, beide Nieren, Teile von Leber, Darm, der zuvor freirasierten Haut und des rechten M. gluteus maximus entnommen. Die Lunge wurde mit 10 ml Spüllösung, die in die Aa. pulmonales eingebracht wurden, perfundiert, um intravaskuläre Blutreste aus den pulmonalen Gefäßen zu entfernen. Die Organe wurden in zwei Teile geteilt und anschließend gewogen. Dann wurden sie zerkleinert und ein Teil in beschriftete Kunststoffbehälter gelegt. Es folgte die Zugabe von Formamid (4 ml/g Nassgewicht Organ; F-7503, Fa. Sigma Aldrich Chemie) mit Hilfe von Eppendorfpipetten. Die Kunststoffbehälter wurden gut verschlossen und durchmischt. Der zweite Teil der Organe wurde bei 60°C für 48h getrocknet und anschließend erneut gewogen, um weitere Berechnungen auf das Trockengewicht beziehen zu können.

Nach 48 Stunden wurde die Extinktion der Flüssigkeit des Organbades in Einmalküvetten (1,5 mm halbmikro PS, Fa. Brandt) im Spektrophotometer (Beckmann DU® 7400) bei einer Wellenlänge von 620 nm gegen reines Formamid

gemessen. Aus der Extinktion konnte die ursprüngliche Evansblaukonzentration in den Organen aus der Standardkurve zwischen 0,05 bis 50 µg/ml Evansblau (EB) in Formamid errechnet werden.

### **2.3. Evansblaumethode**

Die Kapillarpermeabilität wurde mit der Evansblau-(EB)-Methode gemessen. Hierzu wurde EB in einer Konzentration von 50 mg/kg KG venös 40 Minuten nach Beginn der Hämorrhagie über den Jugulariskatheter appliziert. Dieser Farbstoff bindet vollständig und fest an die Plasmaproteine und bleibt folglich im Gefäßsystem. Wenn es jedoch zur Plasmaproteinextravasation kommt, kann der EB-Farbstoff aus den Gefäßen ins Gewebe übertreten.

### **2.4. Auswertung und Ergebnisermittlung**

Die hämodynamischen Parameter, Herzzeitvolumen, arterieller Mitteldruck und Herzfrequenz wurden über den kontinuierlich laufenden Datenanalogschreiber aufgezeichnet und waren so direkt auswertbar. Die Blutgase ( $p_aO_2$ /  $p_aCO_2$ ), Säure-Base-Parameter, Laktat- sowie Hämoglobinwerte wurden den drei Blutgasanalysen entnommen. Die EB-Konzentrationen der einzelnen Organe konnten über die Extinktionswerte und die zuvor ermittelte Standardkurve errechnet werden. Für die intervallskalierten Daten (z.B. Herzfrequenz, HZV, MAP) wurden deskriptive statistische Kennwerte wie Mittelwert und Standardfehler bestimmt. Die statistischen Berechnungen erfolgten mittels des Statistikprogramms SPSS für Windows 12.0. Es wurden multivariate Tests und Messwiederholungstests, anschließend t-Test für unabhängige Stichproben und Oneway-Anova bei Signifikanz mit dem Post-Hoc-Test Duncan ausgewertet. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als Signifikanzniveau und die Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 0,05 und 0,1 als Markierung einer tendenziellen Veränderung festgelegt. Es wurden die deskriptiven statistischen Kennwerte Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler bestimmt und graphisch mittels des Graphikprogramms SigmaPlot 2000<sup>®</sup> dargestellt.

## **2.5. Ergebnisse der Teilveröffentlichungen und Publikation**

Die Untersuchung war im Sinne eines 2x3-faktoriellen Versuchsplans mit unabhängigen Gruppen konzipiert. Der Schwerpunkt der Analyse lag auf den Interaktionen zwischen Medikamenten-Faktor und dem situativen Faktor (Schock). Die Analyse einer solchen Interaktion war nur über ein varianzanalytisches Verfahren möglich, indem die beiden genannten Faktoren berücksichtigt wurden. Im Vorfeld der Erstellung der Dissertationsschrift entstanden aus den Daten zwei Publikationen mit Teilgruppen der Untersuchung. Die Auswertung war nicht parametrisch und konzentrierte sich in der ersten Publikation [42] auf den Vergleich der Gruppe mit Schock gegen die Nicht-Schock-Gruppe (ausschließliche Berücksichtigung der Versuchstiere unter Placebo-Bedingungen). In der zweiten Publikation wurden die Tiere ausgewertet, die ein Präparat erhielten. Diese Untersuchung wurde im Rahmen eines einfaktoriellen vierstufigen Versuchsplans mit unabhängigen Gruppen ebenfalls nicht-parametrisch ausgewertet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Herzzeitvolumen

Die multivariate Analyse ergab für das Herzzeitvolumen (HZV) ausschließlich einen signifikanten Effekt für die Interaktion von Schock und Zeit im Verlauf des Experiments. Der Interaktionseffekt zeigte, dass sich in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf die Gruppen mit und ohne Schock unterschieden. In den nachfolgenden univariaten Mittelwertvergleichen mittels ANOVA zeigten alle Messzeitpunkte nach Hämorrhagie und Schock einen signifikanten Unterschied zur normovolämen Kontrollgruppe.

In Abb. 3.1. ist der Zeitverlauf des HZV für die Gruppen mit und ohne hämorrhagischen Schock gegeneinander aufgetragen.

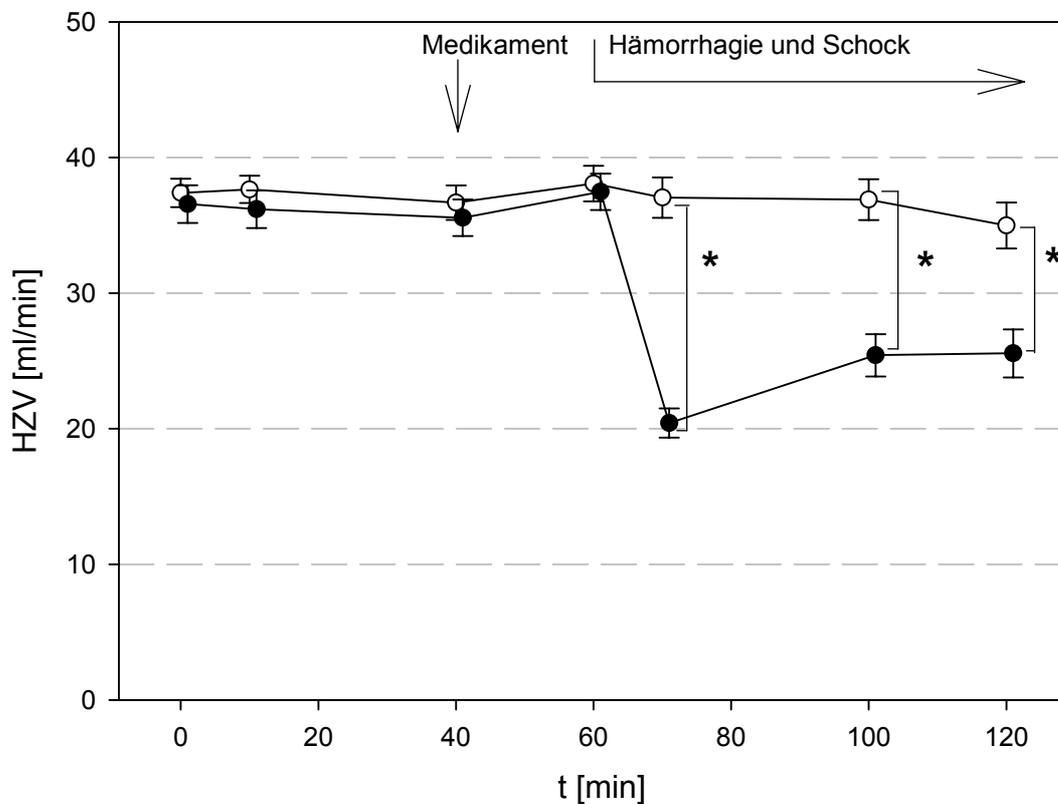


Abb. 3.1.: Herzzeitvolumen (HZV) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in der Kontrollgruppe [ $\circ$ ; n=18] und in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock [ $\bullet$ ; n=20], \* p < 0,01

Während in der Kontrollgruppe das HZV über den Beobachtungszeitraum in engen Grenzen konstant blieb, wurde es in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock durch Blutentnahme in der Phase der Hämorrhagie auf die Hälfte abgesenkt. Es wurde darauf geachtet, dass der MAP (Abb. 3.2.) dabei nicht unter 30 mmHg fiel. Unter Vermeidung einer vasokonstriktorisches Therapie wurde bei einem drohenden weitergehenden Druckabfall auf das vollständige Erreichen der HZV-Reduzierung auf die Hälfte des Ausgangswertes verzichtet. In Vorversuchen hatte sich ergeben, dass das Risiko einer hämodynamischen Dekompensation sonst erheblich erhöht wurde. Es war im Durchschnitt die Abnahme von 4,15 ml Blut notwendig, um das hämodynamische Ziel zu erreichen. Vom Ende der hämorrhagischen Phase (t=70 min) bis zum Versuchsende wurde so das HZV für die Gruppe mit hämorrhagischen Schock im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger gehalten.

Das HZV wurde für die Gruppe mit hämorrhagischem Schock gegenüber der Kontrollgruppe in der Zeit der Hämorrhagie und des nachfolgenden Schocks auf das geplante Niveau gesenkt.

Die Haupteffekte „Schock“, „Medikament“ und „Zeit“ sowie weitere Interaktionen waren nicht signifikant.

### **3.2. Mittlerer arterieller Blutdruck**

Vergleichbar zu den Ergebnissen im Kapitel 3.1. traten auch beim mittleren arteriellen Blutdruck signifikante Unterschiede für die Interaktion von Schock und Zeit im Verlauf des Experiments in der multivariaten Analyse auf. Für die Messzeitpunkte nach der Hämorrhagie zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der normovolämen und Hämorrhagiegruppe in den univariaten Mittelwertvergleichen.

Der mittlere arterielle Blutdruck wurde über die Beobachtungszeit in den Gruppen mit und den Gruppen ohne hämorrhagischen Schock gemessen und ist in Abb. 3.2. dargestellt. In dieser Darstellung wurden die Gruppen mit unterschiedlicher Studienmedikation zusammengefasst.

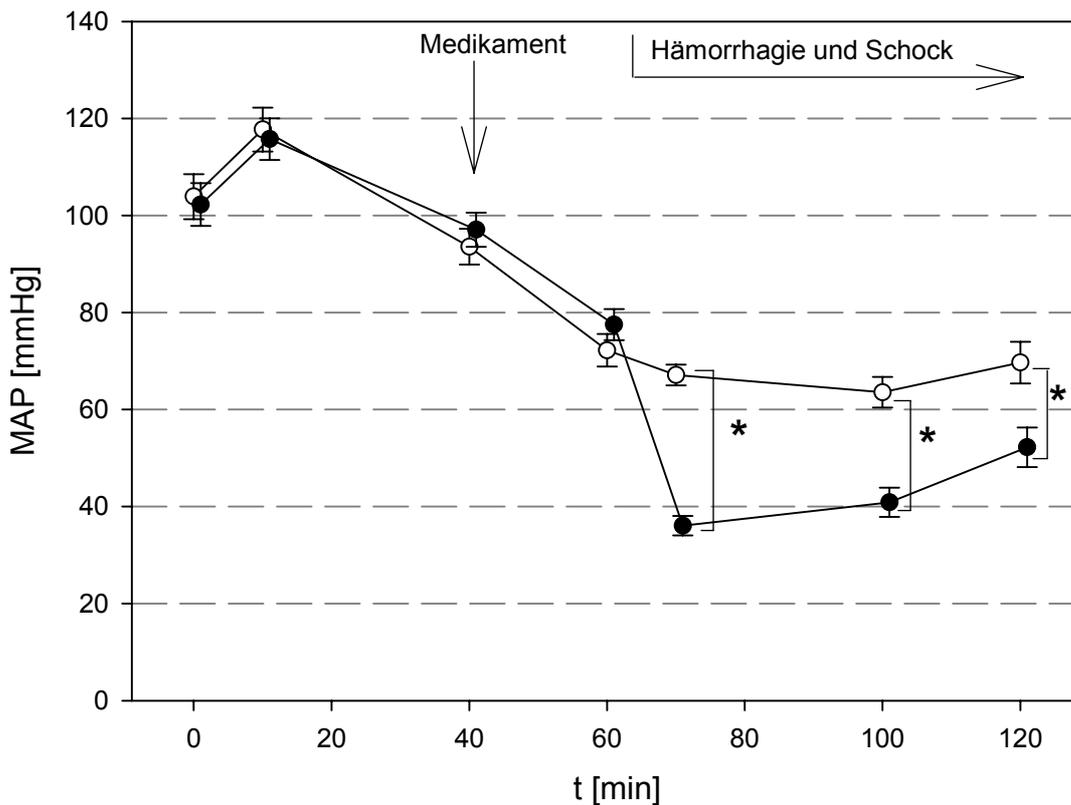


Abb. 3.2.: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in Kontrollgruppen [○; n=18] und in Gruppen mit hämorrhagischem Schock [●; n=20], \* p < 0,01

In den ersten 10 Minuten des Versuches war ein Anstieg des MAP in beiden Gruppen als Ausdruck der Stabilisierung nach der Präparation zu erkennen. Nach Gabe der gruppenspezifischen Studienmedikation sank der MAP als Mittelwert aus den drei unterschiedlich reagierenden Studiengruppen. Über diesen Druckabfall hinaus sank der MAP bei den Tieren mit hämorrhagischem Schock in der Phase der Hämorrhagie und des Schocks weiter signifikant ab. Es wurde während der Hämorrhagie darauf geachtet, dass der MAP nicht unter 30 mmHg fiel.

Nach einer gewissen Zeit stabilisierten sich die Tiere meistens, wodurch der MAP zum Ende des Versuchs wieder leicht anstieg.

Der MAP wurde in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock im Vergleich zur Kontrollgruppe in Hämorrhagie und danach folgendem Schock signifikant reduziert.

### 3.3. Mittlerer arterieller Blutdruck differenziert nach Studienmedikation

Auch für den mittleren arteriellen Blutdruck, der hier differenziert nach Studienmedikamenten untersucht wurde, unterschieden sich die Interaktionswerte signifikant für Medikamente und Zeit in der multivariaten Analyse.

Abb. 3.3. stellt den MAP über den Beobachtungszeitraum für die Gruppen, die mit den unterschiedlichen Studienmedikationen behandelt wurden, dar. Jede der dargestellten Gruppen setzte sich dabei aus einer Teilgruppe ohne und einer mit Schock zusammen.

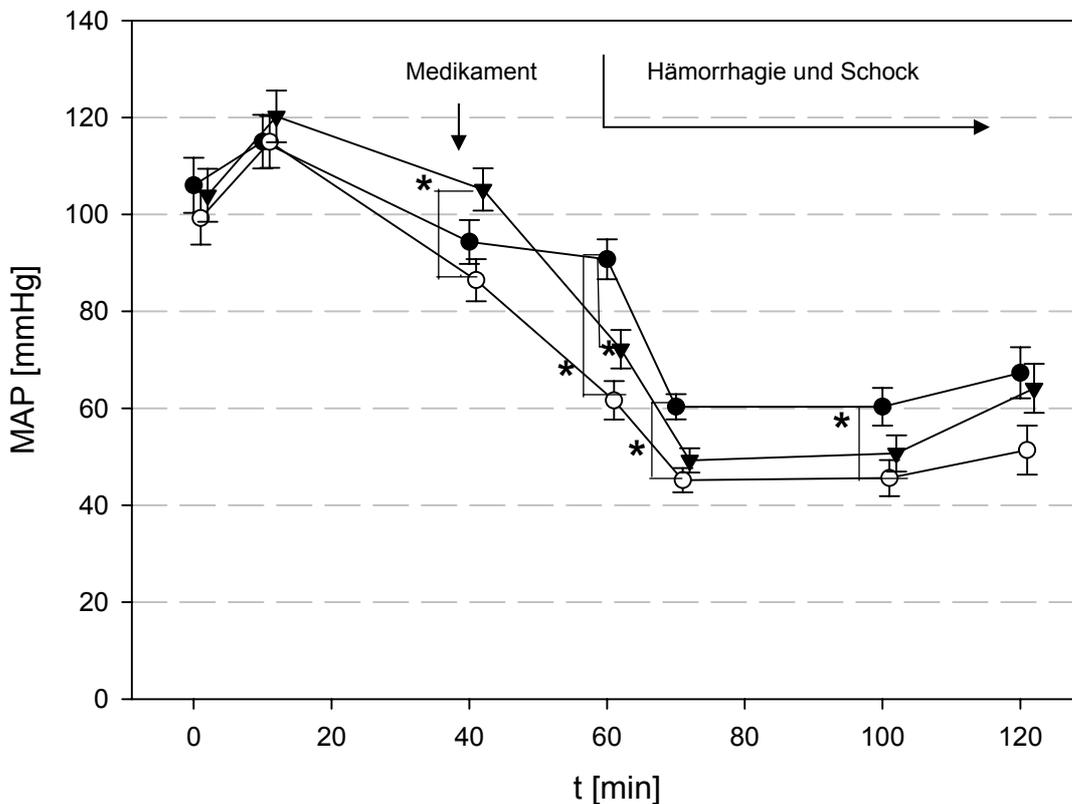


Abb. 3.3.: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)  $\bar{X} \pm \text{SEM}$  über die Beobachtungszeit in der Vehikel- [●; n=12], in der Enalaprilat- [○; n=13] und in der Candesartan-Gruppe [▼; n=13], \* p < 0,01

Zu Beginn der Messungen war wie in Abb. 3.2. ein die Stabilisierung wiedergebender Anstieg des MAP zu erkennen. 40 Minuten nach Beobachtungsbeginn wurden Vehikel (Veh), Enalaprilat (Ena) oder Candesartan (Can) verabreicht. Es zeigte sich 20 Minuten später (t=60 min) eine markante

Senkung des MAP in den Gruppen mit Can sowie Ena. Diese Mitteldrücke waren jeweils statistisch signifikant unterschiedlich von dem MAP in der Gruppe, die mit Vehikel behandelt wurde. Signifikant tiefer blieb der MAP der mit Ena behandelten Gruppe im Vergleich zur Vehikelgruppe zu den Messzeitpunkten  $t=70$  min und  $t=100$  min ( $p<0,01$ ). Auch 120 Minuten nach Beobachtungsbeginn war eine Senkung des MAP durch die Medikamente im Vergleich zur Veh-Gruppe zu erkennen. Ab dem Ende der hämorrhagischen Phase ( $t=70$  min) war eine generelle Senkung des MAP durch den Blutverlust zu erkennen.

Nach Gabe der Blutdruck senkenden Medikamente ( $t=40$  min) konnte ein signifikanter Unterschied des MAP von Ena und Can jeweils im Vergleich zu Veh gemessen werden ( $p<0,01$ ). Der MAP war bis zum Ende des Versuchs in der Veh-Gruppe höher als in den Medikamentengruppen.

#### **3.4. Herzfrequenz**

Für die Herzfrequenz (HF) berechneten sich in der multivariaten Analyse keine Effekte für die Interaktionen von Zeit, Schock und Studienmedikation im Verlauf des Experiments. Die Ergebnisse sind in der Abb. 3.4. dargestellt.

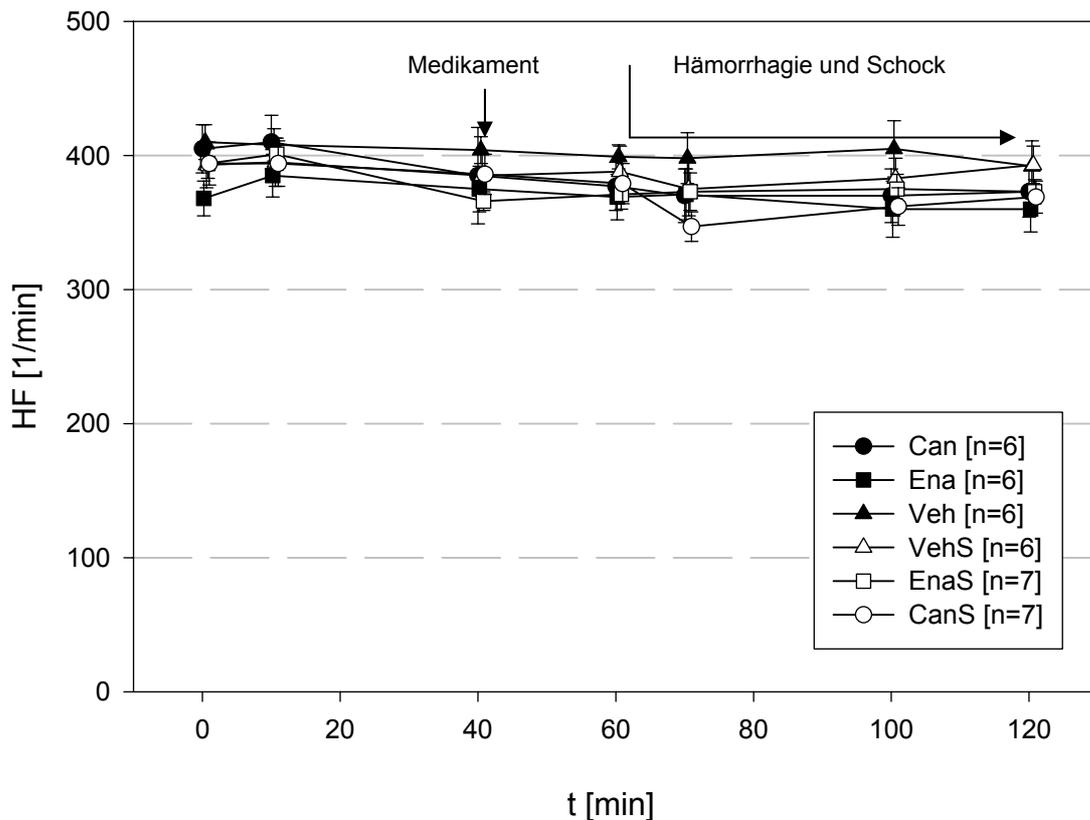


Abb. 3.4.: Herzfrequenz (HF) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in den Gruppen ohne Schock (Veh [ $\blacktriangle$ ], Ena [ $\blacksquare$ ], Can [ $\bullet$ ]) sowie in den Gruppen mit hämorrhagischem Schock (VehS [ $\triangle$ ], EnaS [ $\square$ ], CanS [ $\circ$ ])

Über die Beobachtungszeit konnten kontinuierlich speziestypische Messwerte erhoben werden. Zu Beginn der Messungen lag die durchschnittliche HF bei knapp unter 400 Schlägen/min. Während des weiteren Versuches gab es keine markanten Veränderungen.

Weder die Applikation der Studienmedikation noch der hämorrhagische Schock hatten Einfluss auf die HF.

### 3.5. Basenüberschuss, pH-Wert und Standardbicarbonat

Für Basenüberschuss (BE) und Standardbicarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) konnten für die Interaktion von Zeit und Schock in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf des Experiments in der multivariaten Analyse signifikante Effekte errechnet werden, es unterschieden sich die Gruppen mit und ohne Schock.

In der Abb. 3.5. sind die im Vollblut gemessenen Werte für die Parameter BE, pH und  $\text{HCO}_3^-$  über die Beobachtungszeit für die Gruppen mit und ohne hämorrhagischen Schock aufgetragen.

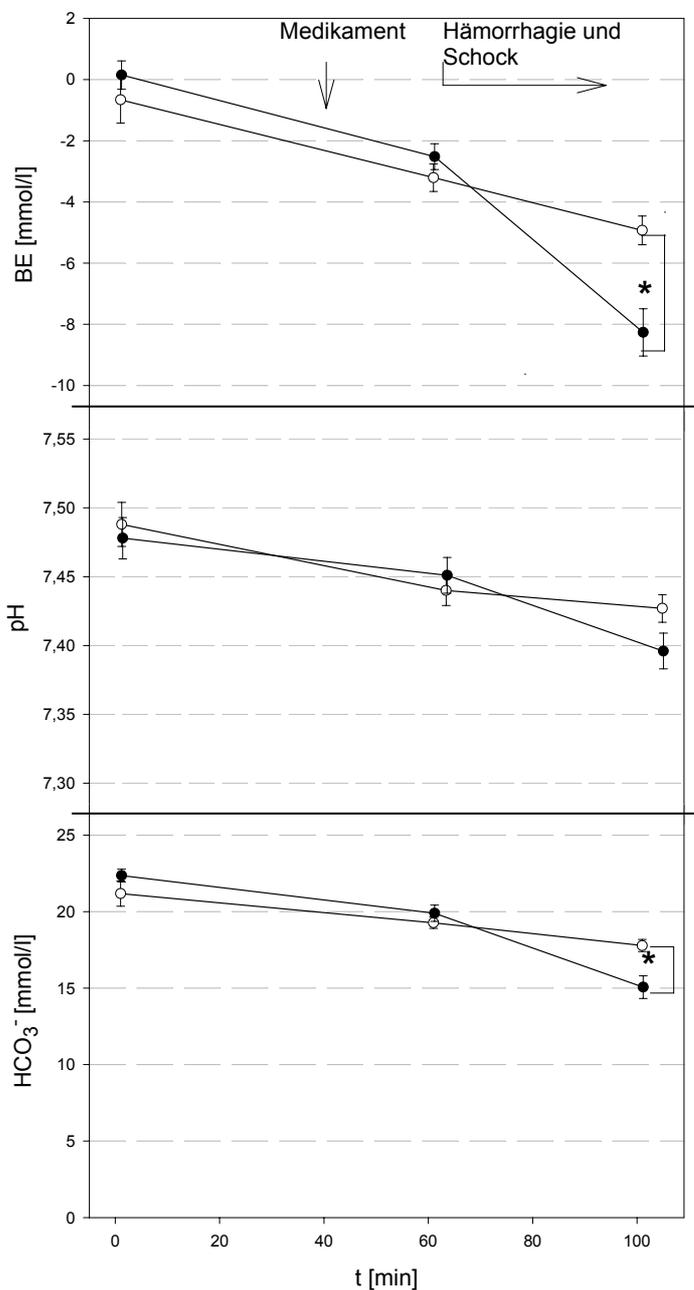


Abb. 3.5.: Basenüberschuss (BE) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ], pH [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] und Standardbicarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in der Kontrollgruppe [○; n=18] und in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock [●; n=20], \* p < 0,01

Die Werte des  $\text{HCO}_3^-$  waren zum Ende des Versuchs in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock signifikant zu denen der Kontrollgruppe erniedrigt. Ein stetiger Abfall des BE konnte in beiden Gruppen über die Beobachtungszeit

gesehen werden. Zu einem signifikanten Unterschied des BE kam es am Ende der Phase des induzierten hämorrhagischen Schocks. Hier wurde in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock gegenüber der Kontrollgruppe ein signifikanter Verlust an Basen gemessen. Beide Parameter deuten auf einen Überschuss an sauren Metaboliten hin. Zum Zeitpunkt der ersten Messung lagen die pH-Werte im Mittel bei 7,48. Sie sanken im weiteren Verlauf des Versuches in beiden Gruppen deutlich ab. Nach Etablierung des hämorrhagischen Schocks sank der Wert in diesen Gruppen auf einen niedrigeren Wert ab als in der Kontrollgruppe. Das  $\text{HCO}_3^-$  und der BE sind zum Ende des hämorrhagischen Schocks in dieser Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger.

### **3.6. Arterieller Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidpartialdruck**

Die Verläufe der arteriellen Sauerstoff- ( $p_a\text{O}_2$ ) und Kohlenstoffdioxidpartialdrücke ( $p_a\text{CO}_2$ ) für die Gruppe mit und ohne hämorrhagischen Schock gemessen über die Beobachtungszeit sind in Abb. 3.6. dargestellt.

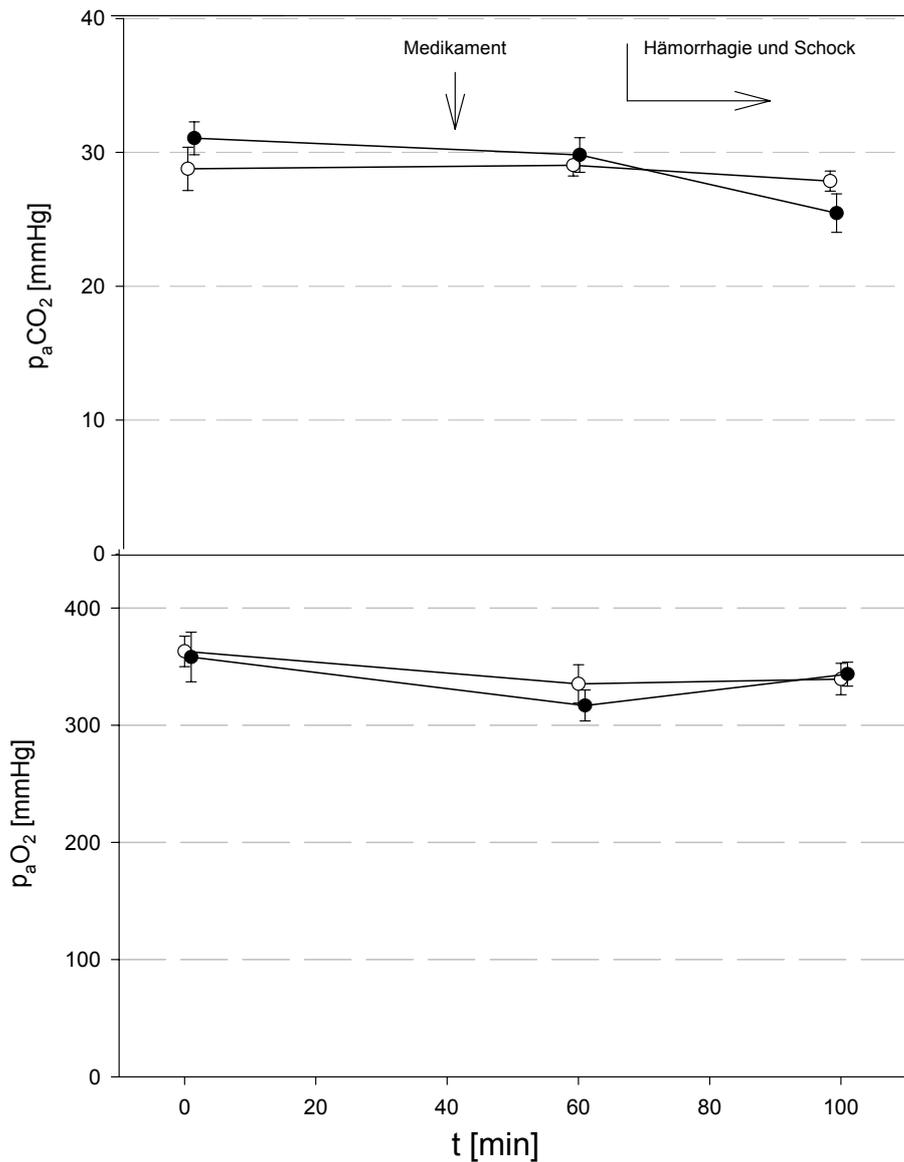


Abb. 3.6.: Kohlenstoffdioxid- ( $p_a\text{CO}_2$ ) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] und Sauerstoffpartialdrücke ( $p_a\text{O}_2$ ) [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in den Kontrollgruppen [○; n=18] und in den Gruppen mit hämorrhagischem Schock [●; n=20]

Der  $p_a\text{CO}_2$  veränderte sich in den Gruppen über den Beobachtungszeitraum kaum. Der  $p_a\text{O}_2$  lag am Anfang des Versuchs im Mittel bei 360 mmHg und veränderte sich kaum. Der Wert entsprach dem zu erwartenden, da die Tiere mit reinem Sauerstoff beatmet wurden.

### 3.7. Serumlaktat

Für die Werte des Serumlaktats berechneten sich in der multivariaten Analyse signifikante Effekte für die Interaktion von Zeit und Schock während des Experiments. Es unterschieden sich die Gruppen mit und ohne Schock in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf. In den nachfolgenden univariaten Mittelwertvergleichen mittels ANOVA zeigten die Serumlaktatspiegel nach Hämorrhagie und Schock einen signifikanten Unterschied zur normovolämen Kontrollgruppe. In Abb. 3.7. sind die Laktatwerte für die Gruppen mit und ohne hämorrhagischen Schock dargestellt.

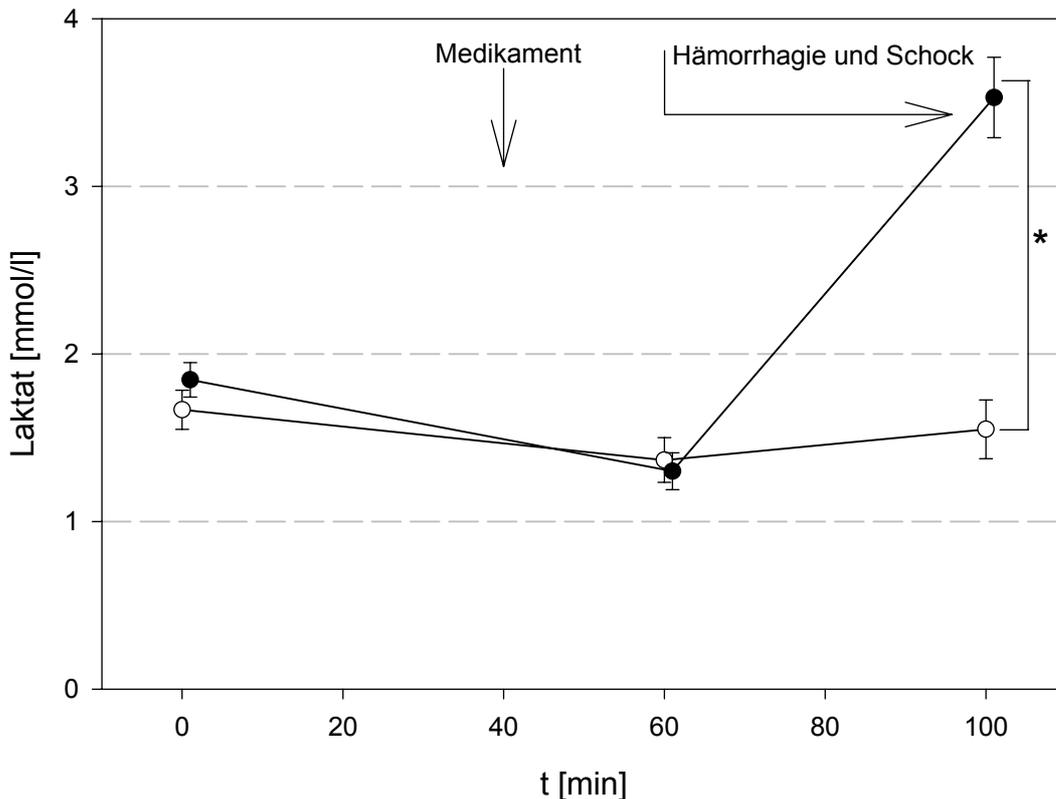


Abb. 3.7.: Laktat [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in der Kontrollgruppe [ $\circ$ ; n=18] und in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock [ $\bullet$ ; n=20], \* p < 0,01

Zum Messzeitpunkt vor der Hämorrhagie (t=60 min) lag der Laktatspiegel in beiden Gruppen bei 1,3 mmol/l. Vor Evansblauinjektion, zum Messzeitpunkt t=100 min, war er in der Schockgruppe signifikant gegenüber der Kontrollgruppe auf 3,5 mmol/l angestiegen.

40 Minuten nach Hämorrhagiebeginn konnten wir für die Tiere mit hämorrhagischem Schock einen signifikanten Anstieg des Laktatwertes im Vergleich zur Kontrollgruppe messen.

### 3.8. Hämoglobinkonzentration

In der multivariaten Analyse berechneten sich für die Hämoglobinkonzentration signifikante Effekte für die Interaktion von Zeit und Schock während des Experiments. Der Interaktionseffekt zeigte, dass sich die Gruppen mit und ohne Schock bezüglich der Hämoglobinkonzentration in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf unterschieden. Die Hämoglobinspiegel nach Hämorrhagie und Schock unterschieden sich signifikant zur normovolämen Kontrollgruppe in den univariaten Mittelwertvergleichen mittels ANOVA. Die Hämoglobinkonzentration für die Gruppen mit und ohne hämorrhagischen Schock sind in Abb. 3.8. dargestellt.

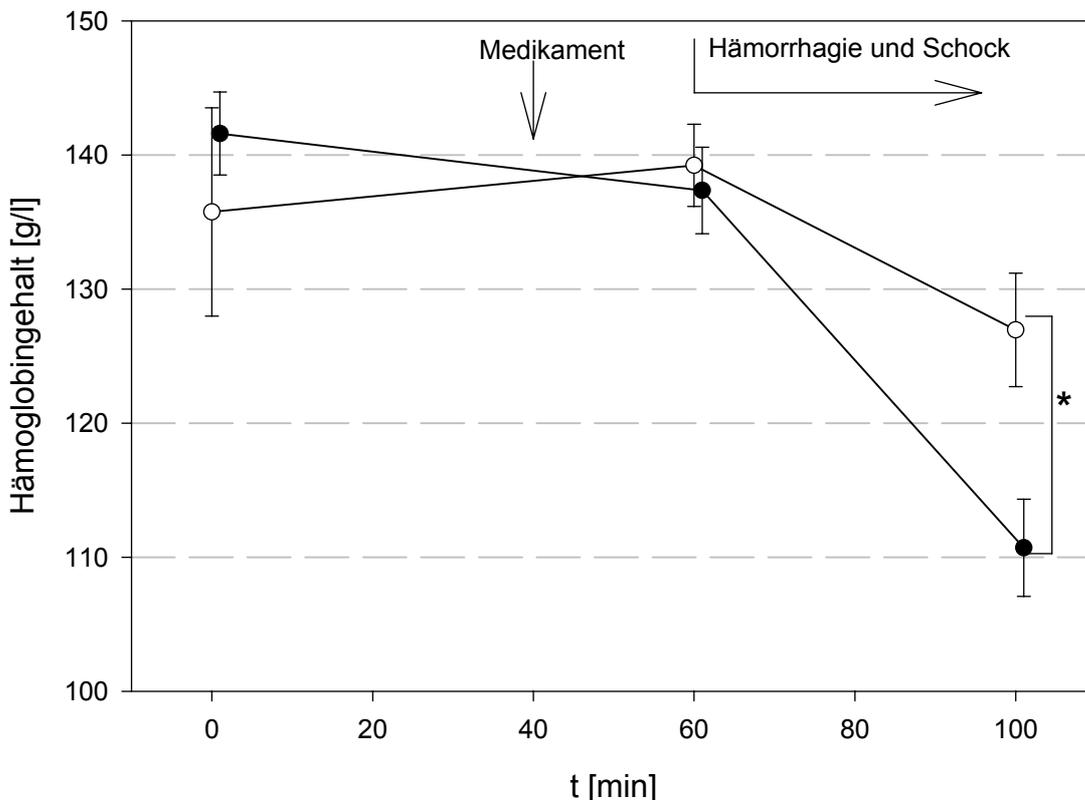


Abb. 3.8.: Hämoglobingehalt [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] über die Beobachtungszeit in der Kontrollgruppe [○; n=18] und in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock [●; n=20], \* p < 0,01

Schon 30 Minuten nach dem Ende der Blutentnahme (t=60min) konnte ein signifikanter Abfall des Hämoglobingehalts in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock festgestellt werden.

Die Hämoglobinkonzentration sank für die Tiere mit hämorrhagischem Schock im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant.

### 3.9. Evansblaukonzentration in den Organen der Kontroll- und Schockgruppe

Durch Anwendung der Evansblaumethode wurde der Austritt von Albumin aus den Gefäßen in das Gewebe in den verschiedenen Organen bezogen auf das Trockengewicht untersucht (Abb. 3.9.).

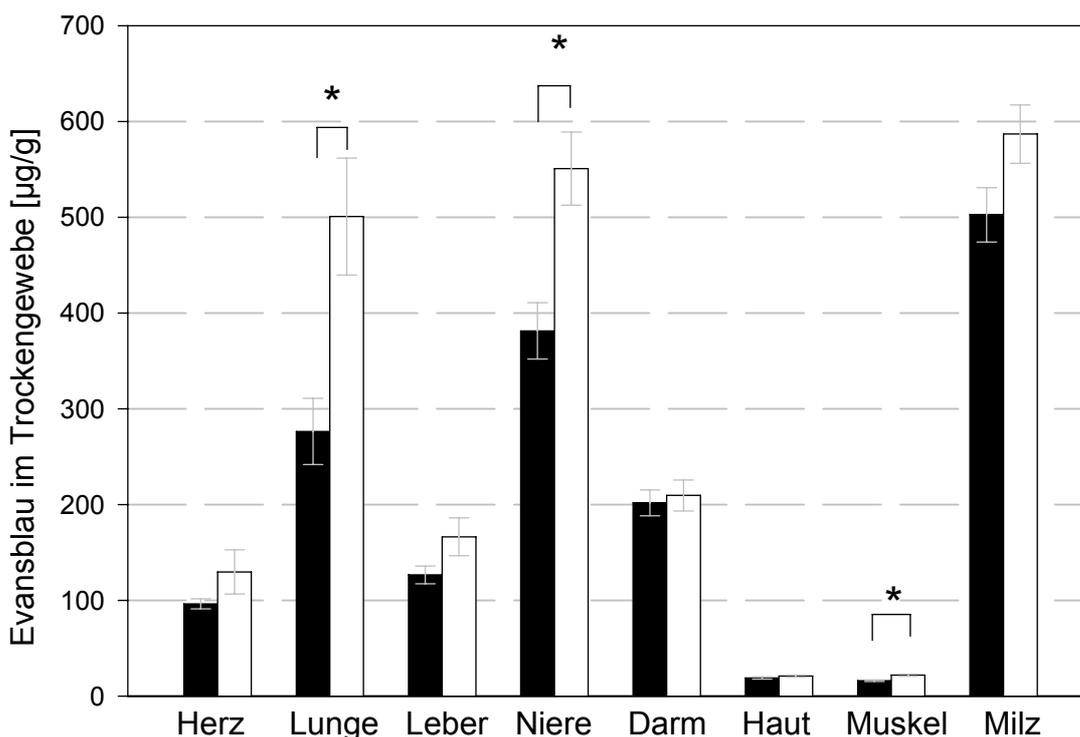


Abb. 3.9.: Gewebekonzentration von Evansblau [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] für die verschiedenen Organe in der Kontrollgruppe [■; n=18] und in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock [□; n=20], \*p<0,05

Es wurden die entsprechenden Evansblau-(EB)-Konzentrationen in je 8 Organen eines Tieres miteinander verglichen. Hierbei fiel auf, dass die EB-Konzentrationen der einzelnen Organe sehr unterschiedlich waren. Dies wurde aber statistisch

nicht weiter beurteilt. Für alle untersuchten Organe der Versuchstiere mit hämorrhagischem Schock stellten wir einen höheren Wert der EB-Konzentrationen im Vergleich zu den Kontrolltieren fest. Für die Gewebe Lunge, Niere und Muskel war der Unterschied jeweils statistisch signifikant. In den anderen untersuchten Organen, Herz, Leber, Darm, Haut und Milz war kein signifikanter Unterschied zu erheben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die EB-Konzentration nur in Lunge, Niere und Muskel zwischen den Gruppen mit und ohne Schock signifikant unterschied.

### **3.10. Effektstärke**

Welchen Einfluss der experimentell ausgelöste Schock auf die Gewebekonzentration von EB gegenüber den Kontrollgruppen hatte, wurde mit dem Parameter „Effektstärke“ angegeben. Diese Effektstärken des hämorrhagischen Schocks auf jedes einzelne Organ sind in Abb. 3.10. dargestellt.

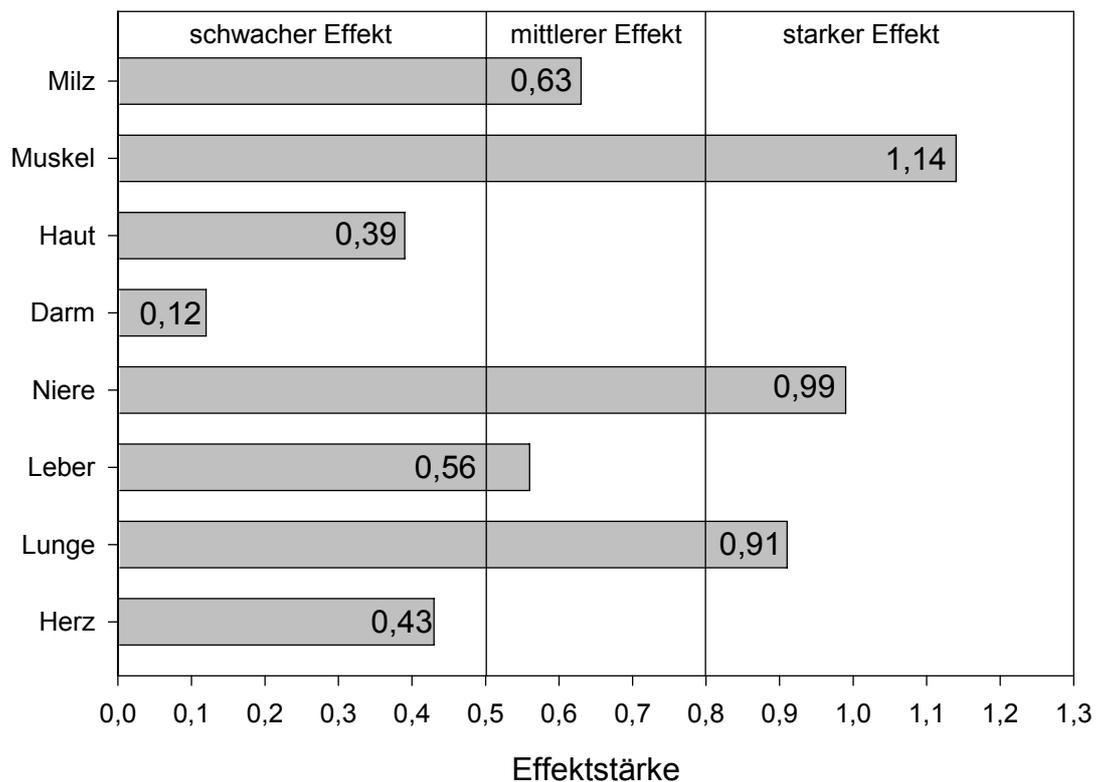


Abb. 3.10.: Effektstärke für die Bedingung Schock in den einzelnen Organen

Einen starken Effekt hatte der hämorrhagische Schock auf die Extravasation von EB in den Trockenorganen Lunge, Muskel und Niere. Ein mittlerer Effekt zeigte sich in den Geweben Milz und Leber. In den restlichen Organen (Haut, Darm und Herz) konnten wir nur einen geringen Effekt nachweisen.

### 3.11. Evansblaukonzentrationen differenziert nach Applikation der Studienmedikation

In Abb. 3.11. sind für alle acht Trockenorgane die EB-Konzentrationen in den Gruppen dargestellt, die mit Vehikel, Enalaprilat oder Candesartan behandelt wurden. In die Gruppen wurden jeweils Tiere aus Schock- und Kontrollgruppen einbezogen.

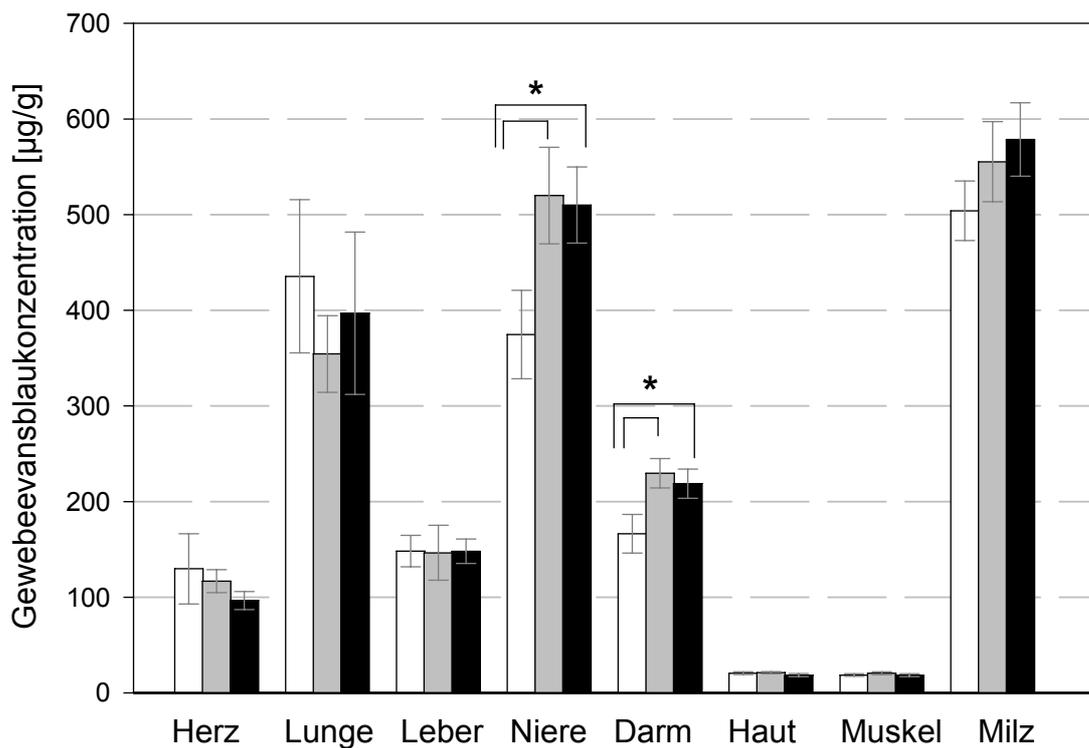


Abb. 3.11.: Gewebekonzentration von EB [ $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ] für die verschiedenen Organe in Veh [□; n=12], in Ena [▨; n=13] und in Can [■; n=13], \* p < 0,05

Signifikante Unterschiede in der EB-Konzentration ergaben sich in Niere und Darm zwischen der Vehikelgruppe und der Gruppe der mit Enalaprilat behandelten Tiere sowie zwischen der Vehikelgruppe und der Gruppe der mit Candesartan behandelten Tiere für diese Organe.

Enalaprilat und Candesartan erhöhten die Gefäßpermeabilität für EB in den Organen Niere und Darm signifikant.

### 3.12. Interaktion von Medikamenten und hämorrhagischem Schock

Signifikante Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks auf die Effekte der Medikamente waren in den Trockenorganen nicht nachzuweisen.

## **4. Diskussion**

Gegenstand dieser Arbeit war es, die Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks unter ACE-Hemmung bzw. AT-1-Rezeptorblockade zu untersuchen.

Um dies zu untersuchen, wurden ein tierexperimentelles Modell und die EB-Methode verwendet.

### **4.1. Diskussion der Methode**

#### **4.1.1. Versuchstiere**

Unter Verwendung eines tierexperimentellen Modells sollte der Einfluss der RAAS-Antagonisierung in Kombination mit einem hämorrhagischen Schock auf die Gefäßpermeabilität untersucht werden. Die Untersuchungen wurden an männlichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Männliche Tiere erreichen im Vergleich zu weiblichen im gleichen Alter ein höheres Körpergewicht [43]. Es wurden Ratten mit einem Körpergewicht von 250-300g verwendet. Um dieses Körpergewicht zu erreichen, mussten die Versuchstiere 7-10 Wochen alt sein. In diesem Alter und mit diesem Gewicht verfügen die Tiere über ein stabiles Herz-Kreislaufsystem, was für diesen Versuch äußerst wichtig war. Weiterhin ist mit dieser Körpergröße die Präparation sicher durchzuführen sowie die Körpertemperatur problemlos konstant zu halten.

Um möglichst identische Vorbedingungen zu schaffen, wurden nur Tiere eines Geschlechts verwendet.

#### **4.1.2. Basisnarkose**

Die Versuchstiere bekamen als Basisnarkose Pentobarbital und S-Ketaminhydrochlorid (Ketanest® S 25) intramuskulär injiziert. Pentobarbital ist ein Derivat der Barbitursäure und gehört in die Gruppe der mittellang wirkenden Barbiturate. Die Wirkdauer beträgt 4-8 Stunden, die Eliminationshalbwertszeit 15-

48 Stunden [44]. Dieses in geringer Dosis sedativ, in höherer Dosis hypnotisch wirkende Medikament führt zu einer funktionellen Hemmung der Formatio reticularis. In narkotischer Dosis führt es zur Atemdepression, zur Senkung des Blutdrucks und zur Abnahme des Herzzeitvolumens. Die Prämedikationsdosis hat jedoch nur geringen Einfluss auf die respiratorischen und kardiovaskulären Funktionen. Durch das Abhängigkeitspotenzial und die Entzugssymptomatik nach abruptem Absetzen ist Pentobarbital für den Gebrauch am Menschen aus dem Handel genommen.

Ketamin wird zur Durchführung kurzfristiger Eingriffe oder zur Einleitung länger dauernder Narkosen verwendet. Als Nebenwirkungen, besonders zu Beginn der Narkose, sind ein Herzfrequenz- und Blutdruckanstieg zu nennen [19]. Die Atmung wird kaum beeinflusst. Gebräuchlich ist die Kombination mit einem Hypnotikum oder Sedativum, da so die Nebenwirkungen minimiert werden und die Wirkdauer verlängert wird. Die Eliminationshalbwertszeit von S-Ketaminhydrochlorid beträgt 1-4 Stunden.

Die Nachinjektion von einem Viertel der Dosis beider Medikamente gewährleistete eine Narkose über den gesamten Versuchszeitraum.

In der Literatur werden zur Injektion der Prämedikationssubstanzen unter anderem die intramuskuläre und die intraperitoneale Methode beschrieben. Bei der intraperitonealen Injektion besteht die Gefahr, die Leber oder andere Eingeweide zu verletzen, was als Folge tödliche intestinale Blutungen haben könnte. Ebenso kann bei caudaler Injektion akzidentiell die Blase verletzt werden. Als weitere Komplikation ist die Verletzung intraperitonealer Gefäße zu nennen, was zur Folge letale intraabdominale Blutungen haben könnte. Eine seltene Komplikation ist die Verletzung des Darmes. Auch hier kann die Folge ein akutes Abdomen mit septischer Dekompensation sein.

Die intramuskuläre Injektion in den M. gluteus birgt weit weniger Komplikationen, wenn man als Injektionsort die laterale craniale Gluteusregion aufsucht. In diesem Bereich kann man relativ gefahrlos injizieren, ohne Nerven oder Gefäße zu verletzen.

In dieser Arbeit wurde zur Narkoseeinleitung die zuletzt beschriebene Methode gewählt, um das Komplikationsrisiko für die Ratten möglichst gering zu halten.

#### **4.1.3. Studienmedikamente**

Antagonisten des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), wie Angiotensin-Conversions-Enzym-Hemmer (ACE-Hemmer) und die AT-2-Rezeptor-Antagonisten werden bei vielen Patienten zur Therapie des Hypertonus, der chronischen Myokardinsuffizienz sowie der diabetischen Nephropathie eingesetzt [45]. Die Blockade des RAAS führt bei einigen Patienten, welche eine Allgemeinanästhesie im Rahmen eines operativen Eingriffes erhalten, zu einer markanten Hypotonie bei Narkoseeinleitung. Darüber hinaus zeigen Patienten mit einer präoperativen RAAS-Antagonisierung unter chirurgisch oder durch Traumen induzierten Blutverlusten teilweise eine erhebliche, therapieresistente hämodynamische Instabilität [39, 40, 46, 47].

In dieser Studie wurde die Wirkung von ACE-Hemmern im Vergleich zu AT-1-Rezeptor-Antagonisten untersucht. Als ACE-Hemmer wurde Enalaprilat und als AT-1-Rezeptor-Antagonist Candesartan verwendet. Enalaprilat ist der primär aktive Metabolit von Enalapril und zeigt einen schnelleren Wirkungseintritt als seine Ausgangssubstanz.

##### **4.1.3.1. ACE-Hemmer**

ACE-Hemmer werden in der Therapie der Hypertonie, der Herzinsuffizienz, des Postmyokardinfarktsyndromes und der diabetischen Nephropathie eingesetzt [45].

ACE ist eine unspezifische Carboxypeptidase, welche die Konvertierung von AT-1 zu AT-2 bewirkt. Darüber hinaus inaktiviert es Bradykinin, einen potenten Vasodilatator und Enkephaline, körpereigene zentrale Opiode. Als Hauptmechanismus der ACE-Hemmung gilt die Inaktivierung der AT-2-Bildung. Nach Einführung des ersten oral verfügbaren spezifischen ACE-Hemmers, Captopril, im Jahre 1977 ist eine Reihe von Nachfolgeprodukten entstanden, die sich meist in der Pharmakokinetik unterscheiden. In der Folge zeigte sich der Abbau durch ACE als wesentlich für Kinine, wie z.B. das Bradykinin. Die

Erkenntnis, dass die ACE-Hemmung die Halbwertszeit und die Bioverfügbarkeit verschiedener Kinine erhöht, konnte die unerwünschten Nebenwirkungen der ACE-Hemmer erklären [9]. Unter anderem sind das angioneurotische Ödem zu nennen und bei 10-20% der behandelten Patienten trockener Reizhusten, der einer Bradykinin vermittelten Erhöhung der Gefäßpermeabilität mit nachfolgendem Ödem des Respirationstraktes zugeschrieben wird. Kinine sind vasoaktive Peptide, welche ihre Effekte über endothelständige B-Rezeptoren (hauptsächlich B2-Subtyp) vermitteln [48]. Diese führen zur Freisetzung von Prostazyklin und Stickstoffmonoxid (NO).

Diese Erkenntnis führte zur Entwicklung der AT-1-Rezeptor-Antagonisten, welche die Verfügbarkeit des ACE nicht beeinflussen und damit den Kinin-Abbau unbeeinflusst lassen.

#### **4.1.3.2. AT-1-Rezeptor-Antagonisten**

Inwieweit ACE-Hemmer und AT-1-Rezeptor-Antagonisten sich in ihrer Wirkung auf die verschiedenen Ebenen der Hämodynamik und insbesondere der Mikrozirkulation während einer Allgemeinanästhesie auswirken, ist bisher wenig untersucht. Im Besonderen lässt die Pharmakokinetik der ACE-Hemmer eine stärkere Gefäßpermeabilität nach Hämorrhagie erwarten. Der unveränderte Bradykininabbau unter AT-2-Rezeptorantagonisierung hingegen könnte das interstitielle Ödem verhindern oder abschwächen [37]. Interstitielle Ödeme nach Hypoperfusion, Schock und Flüssigkeitsreanimation stellen eines der Hauptprobleme der Geweboxygenierung in dieser kritischen Situation dar. Interstitielle Ödeme durch erhöhte Kapillarpermeabilität behindern den Transport von Nährstoffen zur Zelle und die Elimination von Abbauprodukten [2] und können zu Zellschädigung und Organversagen führen.

In Untersuchungen zur Hypertonie finden sich Hinweise auf eine verminderte transkapilläre Plasma- und Proteinexsudation durch Losartan bei Ratten, welche mit einem Thromboxan-Prostanoid-Rezeptor-Agonisten behandelt wurden [37].

## **4.2. Diskussion der Ergebnisse**

Gegenstand der Studie war es, die unterschiedliche Wirkung der ACE-Hemmer und der AT-1-Rezeptor-Antagonisten auf das effektive Blutvolumen sowie die Flüssigkeitsextravasation nach Hämorrhagie zu untersuchen.

### **4.2.1. Auswahl der Untersuchungsorgane**

Die für diese Studie ausgewählten Gewebe repräsentieren lebenswichtige Organe des Organismus. Gegenstand der Untersuchungen waren die acht Organe: Herz und Lunge aus dem Thoraxraum, aus dem Splanchnicusgebiet Leber, Niere, Darm, Milz, und die peripheren Organe Haut und Muskel.

### **4.2.2. Induktion des Schocks**

In der Literatur sind zwei unterschiedliche Modelle des hämorrhagischen Schocks beschrieben, bei denen typischerweise auf Ratten zurückgegriffen worden ist [49]. In einem Modell wird soviel Blut entnommen, dass der Blutdruck der Ratte auf einen bestimmten Wert reduziert ist und auf diesem Niveau für einen vorgegebenen Zeitraum konstant gehalten [50] wird. Eine andere Vorgehensweise ist die, dass ein vorgegebenes Blutvolumen (z.B. 40%) abgenommen wird [51]. Bei dieser Methode ergibt sich normalerweise ein mittlerer Blutdruck zwischen 30 und 50 mmHg bei den Ratten [51, 52] und lässt auf eine bessere Reproduzierbarkeit des hämorrhagischen Schocks als bei dem konstanten Blutdruck-Modell schließen [53]. Trotzdem muss angemerkt sein, dass auch in Studien der konstanten Blutdruck-Methode das Überleben der Raten variiert und die Literatur darauf Hinweise gibt, dass, auch wenn nach dem gleichen Modell verfahren wurde, es zu unterschiedlichen Ergebnissen in verschiedenen Forschungsgruppen kommen kann [54].

In der vorliegenden Arbeit wurde der Schock über die Reduktion des HZV definiert. Dieses Schockmodell ist nur bei aufwändiger Erhebung von Kreislaufparametern, einschließlich der kontinuierlichen Messung des HZV möglich. Das Modell berücksichtigt aber im Gegensatz zu den vorher genannten

Behelfsmodellen die eigentlich den Schockzustand auslösende Variable, nämlich den verminderten Substrattransport im Gewebe.

Es sollte über eine Blutentnahme mit dem Ziel, das HZV auf die Hälfte zu senken, der hämorrhagische Schock induziert werden. Nach der Blutentnahme von durchschnittlich 4,15 ml folgte ein signifikanter MAP-Abfall. Dabei wurde in der Zeit der Hämorrhagie darauf geachtet, dass der MAP nicht unter 30 mmHg fiel. Da eine vasokonstriktive Therapie vermieden werden sollte, wurde bei einem weitergehenden Druckabfall unter 30 mmHg auf das vollständige Erreichen der HZV-Reduzierung verzichtet. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass das Risiko einer hämodynamischen Dekompensation bei Unterschreiten dieses Wertes erheblich erhöht wurde.

Um die vorgesehene HZV-Reduktion zu erreichen, war im Durchschnitt die Abnahme von 4,15 ml Blut notwendig. In der Zeit der Hämorrhagie und des nachfolgenden Schocks wurde das HZV für die Gruppe mit hämorrhagischen Schock gegenüber der Kontrollgruppe auf das geplante Niveau gesenkt (Abb. 3.1.).

### **4.2.3. Gefäßpermeabilität und deren Messung**

#### **4.2.3.1. Endothelpermeabilität**

Die Verschiebung von Anteilen der intravasalen Flüssigkeit in den Extravasalraum wird als Ödem oder Schwellung bezeichnet. Durch Arterien herangebracht, gelangt die Flüssigkeit teilweise ins Gewebe und wird über Venen und Lymphgefäße wieder aufgenommen und abgeleitet. Dieses Gleichgewicht kann auf mehreren Wegen gestört werden. Eine Möglichkeit ist die Unterfunktion der ableitenden Systeme, wie z.B. Venenverschlüsse, Rechts- und Linksherzinsuffizienz und Lymphödeme. Eine weitere Möglichkeit besteht in einer Veränderung der Blutzusammensetzung. Dies kann zu osmotischen Ödemen durch hypo- oder hypertone Hyperhydratation oder endokrine Störungen sowie zu onkotischen Ödemen führen. Eine weitere relevante Möglichkeit ist die der Gefäßschädigung, die auch für die vorliegende Arbeit von Bedeutung war. Dies wird als kapillartoxisches Ödem bezeichnet und entsteht bei einer gestörten

Permeabilität der Kapillaren. Ursachen hierfür sind Entzündungen, z.B. über den Entzündungsfaktor PAF induziert, wie Sirois et al. es beschrieben [55], Toxine oder anaphylaktische Reaktionen wie sie von Olivenstein et al. [56] und Chen et al. [57] dargestellt wurden oder physikalisch-chemische Schadstoffe und Medikamente. Als weitere wichtige, auch klinisch relevante Ursachen für die Störung der Kapillarpermeabilität ist die Schädigung durch Stoffwechselprodukte wie bei der Urämie oder in der vorliegenden Studie die Hypoxie und Laktatazidose zu nennen, welche durch den hämorrhagischen Schock verursacht wurden. Auch al-Haboubi et al. [15] stellten den positiven Effekt der Hypoxie auf die Kapillarleckage fest. Dass Medikamente wie Captopril oder Enalaprilat sowie AT-2, Bradykinin und Thromboxan A2 die Albuminextravasation erhöhen, ist in mehreren Studien beschrieben worden [37, 58, 59, 60, 61, 62, 63].

#### **4.2.3.2. Möglichkeiten zur Messung der Endothelpermeabilität**

Die Basalmembran der Gefäße ist die Barriere zwischen Blut und Gewebe. Diese ist permeabel für Wasser, Elektrolyte und andere kleine Moleküle, aber nur in geringem Maß für Proteine. Der Ausdruck „erhöhte Gefäßpermeabilität“ beschreibt den Zustand der erhöhten Passage von Plasmaproteinen in den Extravasalraum: die Exsudation.

Es ist bewiesen, dass einige Farbstoffe, wie EB, Monastralblau, Tryptanblau oder Pontamine-Himmelblau, intravenös verabreicht, sich an die Plasmaproteine binden [64], im Besonderen an Albumin, das 52-62% des Gesamteiweißes im Blutplasma ausmacht. Lässt sich nun vermehrt Farbstoff im Gewebe nachweisen, kann davon ausgegangen werden, dass die Basalmembran lädiert und so für Plasmaproteine und daran gebundenen Farbstoff vermehrt durchlässig ist.

Eine weitere Möglichkeit ist die Darstellung der Endothellücken mit dem Lichtmikroskop nach Silbernitratinjektion. Die intravenöse Verabreichung von fluoreszierendem Farbstoff wie Luzifergelb oder Sulforhodamine B wurde von Sarker et. al angewendet [65]. Baluk et al. wählten die dreidimensionale Rekonstruktion des Transmissions-Elektronen-Mikroskops [66] um die Komplexität der Ultrastruktur des Endothels zu zeigen.

In dieser Studie wurde die EB-Methode verwendet, um die Gefäßextravasation zu messen. Sie hat sich in zahlreichen Studien bewährt [37, 63, 64, 67, 68] und ist mit relativ einfachen Mitteln reproduzierbar.

### **4.3. Evansblaumethode**

Gemessen wurde die Kapillarpermeabilität über die Extravasation von EB. Dieser Farbstoff bindet an Plasmaalbumin und wurde schon 1943 von Rawsen [69] beschrieben.

Um die Plasmaproteinextravasation zu messen, wurde den Versuchstieren der Farbstoff EB, wie in Abschnitt 2.2.4. beschrieben, über einen zentralvenösen Katheter verabreicht. Dieser Farbstoff bindet relativ vollständig und fest an die Plasmaproteine, insbesondere an Albumin. Wenn es zur Albuminextravasation kommt, dann tritt somit auch der EB-Farbstoff aus den Gefäßen in den Extravasalraum. Deshalb ist der erhöhte EB-Nachweis, nachdem er durch Formamid komplett aus dem Gewebe extrahiert wurde, ein Indikator für eine Gefäßleckage. Bei einer Wellenlänge von 620 nm wird die Extinktion der Formamid-EB-Flüssigkeit im Spektrophotometer gegen reines Formamid gemessen und die ursprüngliche EB-Konzentrationen der Organe über die Standardkurve zwischen 0,05 bis 50 µg/ml EB in Formamid bestimmt. Diese Methode wurde schon in vorherigen Studien beschrieben [55, 62].

### **4.4. Klinische Parameter**

#### **4.4.1. Herzzeitvolumen und Herzfrequenz**

Das Herzzeitvolumen (HZV) berechnet sich aus dem Produkt von Herzfrequenz (HF) und Schlagvolumen (SV). Weder die Applikation der Studienmedikation noch der hämorrhagische Schock hatten Einfluss auf die HF (Abb. 3.4.). Für den menschlichen Organismus sowie für die Ratte wären anfangs ein Anstieg der HF als ein Kompensationsmechanismus auf den Schock zu erwarten gewesen. Eine kompensatorische HF-Erhöhung war jedoch nicht zu erkennen. Eine Erklärungsmöglichkeit ist, dass der Effekt vorüber war. Eine zweiter

Erklärungsversuch ist, dass die Baroreflexe unter Pentobarbital und S-Ketamin Anästhesie abgeschwächt sind [70, 71].

Das HZV wurde für die Gruppe mit hämorrhagischem Schock gegenüber der Kontrollgruppe in der Zeit der Hämorrhagie und des nachfolgenden Schocks auf das geplante Niveau gesenkt (Abb. 3.1.).

#### **4.4.2. Mittlerer arterieller Blutdruck**

Die provozierte Senkung des HZV ist ursächlich für den Schock verantwortlich. Damit ist ein Blutdruckabfall verbunden [72]. Der MAP ist in der Gruppe mit hämorrhagischem Schock im Vergleich zur Kontrollgruppe vom Ende der Hämorrhagie (t=70 min) bis zum Ende des Versuches signifikant gesenkt worden (Abb. 3.2.). Eine weitere Ursache für den Blutdruckabfall ist der vasodilatierende Effekt der Hypoxie. Dieser ist bedingt durch die Hämorrhagie, möglicherweise aufgrund des vermehrt anfallenden Stickstoffmonoxids, Prostazyklins und Adenosins [73, 74, 75, 76].

Nicht nur der Volumenmangel und die daraus resultierende Hypoxie sind verantwortlich für den Blutdruckabfall, sondern auch die Studienmedikamente (Enalaprilat, Candesartan), die zum Zeitpunkt t=40 min verabreicht wurden. 20 Minuten nach Verabreichung der Medikation zeigte sich wie erwartet eine markante Senkung des MAP für die Gruppen mit Enalaprilat- und Candesartangabe. Die Mitteldrücke waren signifikant niedriger zur Vehikelgruppe. Bis zum Ende des Versuchs blieben in den Medikamentengruppen die Mitteldrücke gesenkt, signifikant für die Enalaprilatgruppe im Vergleich zur Vehikelgruppe (Abb. 3.3.).

#### **4.4.3. Säure-Basenhaushalt**

Veränderungen im Säure-Basenhaushalt stehen in enger Beziehung zu den Herzkreislauf- und Blutgasparametern. Der stärkere Abfall des arteriellen pH-Wertes in der Schockgruppe war einerseits durch den starken Blutlaktatanstieg in dieser Gruppe begründet, der zu einer Laktatazidose führte (Abb. 3.7.). Ursachen des Laktatanstieges sind in Abschnitt 4.4.4. dargelegt. Andererseits führt die

verminderte Pufferkapazität in der Phase des hämorrhagischen Schocks, wo es zu einem Überschuss an sauren Metaboliten kam, aufgrund der signifikanten Senkung des Standardbicarbonates (Abb. 3.5.) zu einem pH-Abfall. Die Verminderung des Standardbicarbonates und der auch signifikante Unterschied des Basendefizits (BE) am Ende der Phase des induzierten hämorrhagischen Schocks sind in der Pufferung der metabolischen Azidose begründet. Die kompensatorisch verbrauchten anderen Puffersysteme im Blut (Phosphat-Puffersysteme, Plasmaproteine, Hämoglobin) zur Abpufferung der Azidose führten zu dem signifikanten Abfall des BE [77].

#### **4.4.4. Serumlaktat**

Für die Tiere mit hämorrhagischem Schock konnte ein signifikanter Anstieg des Serumlaktatspiegels im Vergleich zur Kontrollgruppe 40 Minuten nach Hämorrhagiebeginn gemessen werden (Abb. 3.7.).

Eine akute Hypoxie ist die Ursache eines Laktatanstieges im Blut [78, 79]. Allein durch die Gewebshypoxie ist eine vermehrte Laktatproduktion nicht zu erklären [80, 81, 82]. Einerseits scheint der in der Hypoxie erhöhte Serulkatecholaminspiegel mitverantwortlich für den Anstieg des Blutlaktatwertes zu sein [80, 82]. Der Grund dafür ist eine beta-adrenerg vermittelte Stimulation der Zellglykolyse. Andere Studien haben der Laktatproduktion durch die Katecholaminstimulation nur eine untergeordnete Rolle zugeordnet [83]. Andere Untersuchungen, in denen es trotz der Blockierung des Beta-Rezeptors zu einem deutlichen Anstieg des Blutlaktatspiegels nach Hypoxie kam, bestätigen dies. Somit kann eine wesentliche Mitbeteiligung des zellulären Sauerstoffpartialdrucks an der vermehrten Laktatproduktion nicht ausgeschlossen werden [80, 82].

Für die Tiere mit hämorrhagischem Schock konnte ein signifikanter Anstieg des Serumlaktatspiegels gemessen werden.

#### **4.4.5. Arterielle Blutgase**

Der  $p_a\text{CO}_2$  und der  $p_a\text{O}_2$  veränderten sich in beiden Gruppen über den Beobachtungszeitraum kaum (Abb. 3.6.).

Der  $p_aO_2$  lag zu Beginn des Versuches im Mittel bei 360 mmHg, was einem zu erwartenden Wert bei Hyperoxie entspricht, da die Versuchstiere mit reinem Sauerstoff beatmet wurden. Durch den Verlust an Erythrozyten, die u.a. auch für den Transport von Sauerstoff verantwortlich sind, kommt es zu einer verminderten  $O_2$ -Versorgung. Gleichzeitig ist dadurch auch der Verbrauch erniedrigt. Das ist die Ursache dafür, dass der  $p_aO_2$  des Blutes nur mäßig reduziert ist [84]. Es ist bekannt, dass es in hypoxischen Phasen einen Anpassungsmechanismus gibt, unter anderem durch zelleigene Hypoxie-induzierte Transkriptionsfaktoren (z.B. HIF-1), die innerhalb kurzer Zeit eine Adaptation des zellulären Stoffwechsels auf ein vermindertes Sauerstoffangebot durch Genexpression (Aldolase A, Endothelin-1, etc.) induzieren [85].

Da die Tiere in beiden Gruppen narkotisiert und kontrolliert beatmet wurden, war keine Veränderung für  $p_aO_2$  und  $p_aCO_2$  des Blutes zu erwarten.

#### **4.4.6. Hämoglobinkonzentration**

Die Hb-Konzentration für die Tiere mit hämorrhagischen Schock wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant gesenkt (Abb. 3.8.).

Der oxidative Stoffwechsel der Zelle ist abhängig von einem adäquaten Angebot an Sauerstoff. Das Sauerstoffangebot ist das Produkt aus HZV und Sauerstoffgehalt des Blutes. Das Blutvolumen wurde infolge der Hämorrhagie vermindert und damit auch das HZV. Die Hämorrhagie bedeutet darüber hinaus für den Organismus einen Verlust an Sauerstoffträgern, somit reduziert sich nicht nur das zirkulierende Volumen sondern auch die Sauerstoffkapazität.

Bei den Tieren mit hämorrhagischem Schock wurde durch Blutvolumenreduktion auch die Hb-Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant gesenkt.

#### **4.5. Albuminextravasation**

##### **4.5.1. Evansblauextravasation in Kontroll- und Schockgruppe**

Wie in mehreren Publikationen beschrieben, wurde auch in der vorliegenden Studie für die Berechnungen das Trockengewicht verwendet [10, 55, 67, 68].

Durch die Messung der EB-Extravasation in jedem der acht untersuchten Organe einer Ratte mit hämorrhagischem Schock konnte ein höherer Wert der Albuminkonzentration im Trockengewebe im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen werden (Abb. 3.9.). Einen besonders starken Effekt hatte der Schock auf die Lunge, die Skelettmuskulatur und die Nieren. Für diese Gewebe war der Unterschied zwischen Schock und Kontrolle signifikant. Die Organe zeigen eine geringe Hypoxietoleranz. Für die Organe Milz und Leber zeigte der hämorrhagische Schock einen mittleren Effekt und für Herz, Haut und Darm einen geringen Effekt auf die Albuminextravasation (Abb. 3.10.).

Der hämorrhagische Schock führt zur Hypoxie und zur Schädigung des Gewebes. Al-Haboubi et al. [15] stellten fest, dass eine unzureichende Sauerstoffversorgung Lücken im Endothel verursacht. In anderen Studien wurde nachgewiesen, dass eine systemische Hypoxie zur Erhöhung der Adenosin- und Prostaglandinkonzentration führt [74, 75]. Adenosin wird von Endothelzellen oder extrazellulär durch die Dephosphorylierung von ATP gebildet, was u.a. von Erythrozyten in Hypoxie abgegeben wird. Über den endothelständigen A<sub>1</sub>-Rezeptor stimuliert Adenosin die erhöhte NO-Synthese über die Öffnung der ATP-sensiblen Kalium-Kanäle. Dadurch strömen Kaliumionen aus und wirken zusätzlich als Vasodilatator wie auch NO und Prostaglandin [76]. Prostaglandine spielen als Entzündungsmediatoren eine wichtige Rolle. In vielen Studien ist nachgewiesen worden, dass die Gefäßpermeabilität in Entzündungsprozessen über verschiedene Mediatoren wie z.B. PAF und Prostaglandine deutlich ansteigt [55, 57, 66, 86]. So beschrieben Jancar et al. [86] den permeabilitätssteigernden Effekt am Pankreas und Sirois et al. [55] an der Lunge, Trachea und den Bronchien von Ratten.

Für Herz, Haut und Darm zeigte sich ein geringer Effekt, hierfür ist eine Erklärungsmöglichkeit die Zentralisierung des Kreislaufs im Schockzustand und der Fakt, dass der Darm im Schock weniger mit Blut versorgt wird als im Normalfall. Sodeyama et al. [52] fanden heraus, dass nach einer Wiederbelebung bei vorangegangener Hämorrhagie der aktive Aminosäuretransport im Darm eingeschränkt bleibt. Heinemann et al. sind der Meinung, dass dies nicht AT-2 abhängig ist [87].

Der hämorrhagische Schock verursacht in allen Organen der Versuchstiere eine erhöhte EB-Extravasation und beweist damit eine gesteigerte Gefäßpermeabilität sowie damit verbundene Albuminkonzentration im Gewebe.

Anhand der dargestellten Befunde erscheint die Unterlassung einer Flüssigkeitsreanimation bei der Ratte bereits nach 30minütigem hämorrhagischen Schock einen Kapillarschaden mit nachfolgender EB-Extravasation zu induzieren. Für die klinische Praxis ist somit nicht zu erwarten, dass eine Verzögerung der Flüssigkeitstherapie bei hämorrhagischem Schock den traditionellen Richtlinien überlegen ist. Da eine Reperfusion nach hypovolämen Schock unumgänglich ist, sollte die präventive und auch therapeutische Strategie eine Aufrechterhaltung oder Wiederherstellung einer adäquaten systemischen Perfusion sein.

#### **4.5.2. Evansblauextravasation nach Studienmedikamentenapplikation**

Es konnte eine Erhöhung der EB-Extravasation und damit eine gesteigerte Albuminextravasation nach Enalaprilatapplikation im Vergleich zur Kontrollgruppe für Niere und Darm nachgewiesen werden. Für diese Organe zeigte sich eine gesteigerte Gefäßpermeabilität nach Candesartangabe gegenüber der Kontrollgruppe, aber niedrigere im Vergleich zur Enalaprilatgruppe. Für die Organe Leber, Haut und Muskel konnten keine nennenswerten Unterschiede zwischen Kontroll-, Enalaprilat- und Candesartangruppe gemessen werden. Im Herz und der Lunge waren für beide Medikamente niedrigere Werte der Albuminextravasation im Vergleich zur Kontrollgruppe zu messen. Dies könnte Ausdruck für die unterschiedliche Verteilung an Rezeptoren und Mediatoren sein.

Durch ACE-Hemmer wird die Synthese von AT-2 unterbrochen, die Metabolisierung von Bradykinin und anderen Kininen gehemmt und entzündliche Mechanismen stimuliert [63]. Kinine werden von Makrophagen und Granulozyten synthetisiert und weisen eine längere Halbwertszeit als Serotonin und Histamin auf. Über Substanzen wie Bradykinin und Prostaglandin wird die Albuminextravasation erhöht [59, 61]. So wurde durch lokale Injektion von Bradykinin in die Haut eine Erhöhung der EB-Extravasation gemessen [64]. Die durch Bradykinin vermittelte Gefäßpermeabilität kann durch einen Bradykinin-B2-Rezeptor-Antagonisten (HOE 140) gesenkt werden [58, 63, 65]. Nach Captopril-

Applikation konnten Baluk et al. in den von ihnen untersuchten Organen Trachea, Harnblase und Haut eine erhöhte Albuminextravasation nachweisen [58]. Emanuelli et al. konnten im Atmungs- und Respirationstrakt von Mäusen zeigen, dass eine erhöhte Gefäßpermeabilität in Trachea, Magen, Duodenum und Pankreas nach Gabe von Enalaprilat besteht [63].

Thromboxan A<sub>2</sub>, welches hauptsächlich in Thrombozyten entsteht, fördert eine Vasokonstriktion und Thrombozytenaggregation. Die Substanz P erhöht die Albuminextravasation [9, 37, 61, 62]. Untersuchungen haben ergeben, dass Losartan, ein AT-1-Rezeptor-Antagonist, auch am Thromboxan-A<sub>2</sub>-Rezeptor als Antagonist wirkt. Die Verabreichung von U 46619, einem stabilem Thromboxan-A<sub>2</sub>-Analogon, erhöhte die Gefäßpermeabilität in Niere, Lunge, Milz und Testis [37, 62], konnte aber durch Verabreichung von Losartan gesenkt werden [37] und wirkt somit protektiv auf diese Organe.

In den Organen Niere und Darm ist eine signifikant erhöhte EB-Extravasation und damit eine gesteigerte Albuminextravasation nach Candesartangabe zu messen. Eine signifikante, noch höhere EB-Extravasation ist nach Enalaprilatapplikation nachzuweisen. In den anderen Organen ist die EB- Extravasation nicht signifikant unterschiedlich.

Die Untersuchung konnte zeigen, dass sowohl Enalaprilat als auch Candesartan eine signifikant höhere Albuminextravasation in Niere und Darm der Ratte während hämorrhagischen Schocks auslösen kann. Bezüglich der mikrovaskulären Permeabilitätsstörung zeigte sich die spezifische AT-1-Rezeptor-Blockade mittels Candesartan der ACE-Hemmung durch Enalaprilat nicht überlegen. Die Blockade des RAAS während eines hämorrhagischen Schocks zeigte einen potentiell unerwünschten Effekt einer erhöhten Albuminextravasation. Die beobachtete erhöhte Albuminextravasation im mesenterialen Stromgebiet während zirkulatorischer Schockzustände sollte in der Diskussion um ein therapeutisches Potential von Enalaprilat oder Candesartan berücksichtigt werden.

#### **4.5.3. Interaktion von Medikamenten und hämorrhagischem Schock**

Heinemann et al. [87] sind der Meinung, dass AT-2 zwar eine Rolle in der homöostatischen Regulation über den Gefäßtonus der Magengefäße spielt, aber nicht zur Gefäßreaktion im hämorrhagischen Schock beiträgt. Sie verabreichten den Ratten die AT-1-Antagonisten nach der Hämorrhagie.

Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte festgestellt werden, dass es zu keiner signifikanten Interaktion zwischen den beiden Komponenten Medikamente und hämorrhagischen Schock in den Trockenorganen für die EB-Extravasation kam.

## **5. Zusammenfassung**

Die initiale Reaktion des Organismus auf einen Kreislaufschock besteht in ausgeprägten sympathoadrenergen Reflexen, welche dem Erhalt eines ausreichenden Perfusionsdrucks dienen. Da Angiotensin-2 als wichtigster Vasokonstriktor in Zuständen der Hypovolämie zu schockinduzierten Organschäden beitragen kann, ist die pharmakologische Blockade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) während hämorrhagischen Schocks im Zentrum des Interesses verschiedener Arbeitsgruppen.

In der vorliegenden Studie wurde ein Teil der 38 narkotisierten Ratten über eine Hämorrhagie für einen definierten Zeitraum in einen hämorrhagischen Schock versetzt, nachdem eines der Studienmedikamente NaCl (Vehikel, 0,9 %-NaCl-Lösung), Enalaprilat oder Candesartan verabreicht worden ist. Anschließend wurde Evansblau injiziert, dessen Konzentration später in ausgewählten Organen gemessen wurde. Mit dieser Methode konnte die Albuminextravasation quantifiziert werden. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden die hämodynamischen Parameter, der pulmonale Gasaustausch, der Säure-Basen-Haushalt, die globale Gewebsoxygenierung sowie der Hämoglobingehalt gemessen.

Bei hämorrhagischem Schock wurde eine signifikante Steigerung der Albuminextravasation in den Organen Lunge, Niere und Muskel hervorgerufen. Die Applikation von Enalaprilat erhöhte die Gefäßextravasation signifikant in den Organen Darm und Niere. Die Gabe von Candesartan ließ die Albuminextravasation in den gleichen Organen wie nach Enalaprilatgabe (Darm und Niere) im Vergleich zur Vehikelgruppe signifikant ansteigen.

Für die klinische Praxis sollte deshalb die präventive und auch therapeutische Strategie eine Aufrechterhaltung oder Wiederherstellung einer adäquaten systemischen Perfusion bei hämorrhagischem Schock sein. Die beobachtete Erhöhung der Albuminextravasation im mesenterialen Stromgebiet nach RAAS-Blockade sollte in der Diskussion um ein therapeutisches Potential von Enalaprilat oder Candesartan während zirkulatorischer Schockzustände berücksichtigt werden.

## **6. Literaturverzeichnis**

1. **Guyton AC, Hall JE:** Circulatory shock and physiology of its treatment. In: Guyton AC, Hall JE (Hrsg.), Textbook of medical physiology. 11. Auflage, 278-87, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2006.
2. **Plante GE, Chakir M, Ettaouil K, Lehoux S, Sirois P:** Consequences of alteration in capillary permeability. Can J Physiol Pharmacol 74: 824-33, 1996.
3. **Reilly PM, Bulkley GB:** Vasoactive mediators and splanchnic perfusion. Crit Care Med 21: 55-68, 1993.
4. **Wall P, Busing C, Henderson L, Rickers T, Cardenas A, Owens L, Timberlake G, Paradise N:** Enalaprilat improves systemic cardiovascular parameters and mesenteric blood flow during hypotensive resuscitation from hemorrhagic shock in dogs. Shock 17: 228-33, 2002.
5. **Bailey RW, Bulkley GB, Hamilton SR, Morris JB, Haglund UH:** Protection of the small intestine from nonocclusive mesenteric ischemic injury due to cardiogenic shock. Am J Surg 153: 108-16, 1987.
6. **Aneman A, Svensson M, Broome M, Biber B, Petterson A, Fandriks L:** Specific angiotensin II receptor blockage improves intestinal perfusion during graded hypovolemia in pigs. Crit Care Med 28: 818-23, 2000.
7. **Yilmaz EN, Vahl AC, van Rij GL, Vink GQ, Brom HL, Rauwerda JA:** The effect of inhibition of renin-angiotensin system by valsartan during hypovolemic shock and low flow sigmoideal ischaemia in pigs. Cardiovasc Surg 11: 45-51, 2003.
8. **Laesser M, Fandriks L, Pettersson A, Ewert S, Aneman A:** Angiotensin II blockade in existing hypovolemia: effects of candesartan in the porcine splanchnic and renal circulation. Shock 14: 471-7, 2000.

9. **Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Scholkens BA:** Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev* 47: 25-49, 1995.
10. **Emanuelli C, Grady EF, Madeddu P, Figini M, Bunnett NW, Parisi D, Regoli D, Geppetti P:** Acute ACE inhibition causes plasma extravasation in mice that is mediated by bradykinin and substance P. *Hypertension* 31: 1299-304, 1998.
11. **Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, Lee RJ, Wexler RR, Saye JA, Smith RD:** Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 45: 205-51, 1993.
12. **Plante GE, Chakir M, Lehoux S, Lortie M:** Disorders of body fluid balance: a new look into the mechanisms of disease. *Can J Cardiol* 11: 788-802, 1995.
13. **Kline JA, Thornton LR, Lopaschuk GD, Barbee RW, Watts JA:** Heart function after severe hemorrhagic shock. *Shock* 12: 454-61, 1999.
14. **Tucker VL, Bravo E, Weber CJ, Wisner DH:** Blood-to-tissue albumin transport in rats subjected to acute hemorrhage and resuscitation. *Shock* 3: 189-95, 1995.
15. **al-Haboubi HA, Tomlinson DR, Ward BJ:** The influence of hypoxia on transvascular leakage in the isolated rat heart: quantitative and ultrastructural studies. *J Physiol* 482: 157-66, 1995.
16. **Bickell WH, Wall MJ, Pepe PE, Martin RR, Ginger VF, Allen MK, Mattox KL:** Immediate versus delayed fluid resuscitation for hypotensive patients with penetrating torso injuries. *N Engl J Med* 331: 1105-9, 1994.
17. **Soucy DM, Rude M, Hsia WC, Hagedorn FN, Illner H, Shires GT:** The effects of varying fluid volume and rate of resuscitation during uncontrolled hemorrhage. *J Trauma* 46: 209-15, 1999.

18. **Hatoum OA, Bashenko Y, Hirsh M, Krausz MM, Abu-Hatum O:** Continuous fluid resuscitation for treatment of uncontrolled hemorrhagic shock following massive splenic injury in rats. *Shock* 18: 574-9, 2002.
19. **Lüllmann H, Mohr K, Wehling M:** *Pharmakologie und Toxikologie*. 15. Aufl., 312-5, Thieme, Stuttgart, 2003.
20. **Oparil S, Haber E:** The renin-angiotensin system. *N Engl J Med* 291: 389-401, 1974.
21. **Dzau VJ:** Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. *Am J Cardiol* 59: 59-65, 1987.
22. **Campbell DJ:** The site of angiotensin production. *J Hypertens* 3: 199-207, 1985.
23. **Campbell DJ:** Circulating and tissue angiotensin system. *J Clin Invest* 79: 1-6, 1987.
24. **Unger T, Gohlke P, Paul M, Rettig R:** Tissue renin-angiotensin system: fact or fiction? *J Cardiovasc Pharmacol* 18: 20-5, 1991.
25. **King JA, Lush DJ, Fray JC:** Regulation of renin processing and secretion: chemiosmotic control and novel secretory pathway. *Am J Physiol* 265: C305-20, 1993.
26. **Goodfriend TL, Elliott ME, Catt KJ:** Angiotensin receptors and their antagonists. *N Engl J Med* 334: 1649-54, 1996.
27. **Bivalacqua TJ, Dalal A, Champion HC, Kadowitz PJ:** Role of AT(1) receptors and autonomic nervous system in mediating acute pressor responses to ANG II in anesthetized mice. *Am J Physiol* 277: E838-47, 1999.
28. **Sancho J, Re R, Burton J, Barger AC, Haber E:** The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular homeostasis in normal human subjects. *Circulation* 53: 400-5, 1976.

29. **Haber E:** The role of renin in normal and pathological cardiovascular homeostasis. *Circulation* 54: 849-61, 1976.
30. **Niarchos AP, Pickering TG, Morganti A, Laragh JH:** Plasma catecholamines and cardiovascular responses during converting enzyme inhibition in normotensive and hypertensive man. *Clin Exp Hypertens* 4: 761-89, 1982.
31. **Hernandez I, Ingles AC, Pinilla JM, Quesada T, Carbonell LF:** Cardiocirculatory responses to AII and AVP in conscious rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 17: 916-22, 1991.
32. **Bendjelid K:** Right atrial pressure: determinant or result of change in venous return? *Chest* 128: 3639-40, 2005.
33. **Kiowski W, Linder L, Kleinbloesem C, van Brummeln P, Buhler FR:** Blood pressure control by the renin-angiotensin system in normotensive subjects. Assessment by angiotensin converting enzyme and renin inhibition. *Circulation* 85: 1-8, 1992.
34. **Wall P, Buising C, Henderson L, Freeman B, Vincent R, Albright J, Paradise N:** Enalaprilat improves systemic and mesenteric blood flow during resuscitation from hemorrhagic shock in dogs. *Shock* 19: 289-96, 2003.
35. **Baluk P, Thurston G, Murphy TJ, Bunnett NW, McDonald DM:** Neurogenic plasma leakage in mouse airways. *Br J Pharmacol* 126: 522-8, 1999.
36. **Abdi R, Dong VM, Lee CJ, Ntoso KA:** Angiotensin II receptor blocker-associated angioedema: on the heels ACE inhibitor angioedema. *Pharmacotherapy* 22: 1173-5, 2002.
37. **Valentin JP, Jover B, Maffre M, Bertolino F, Bessac AM, John GW:** Losartan prevents thromboxane A<sub>2</sub>/prostanoid (TP) receptor mediated increase in microvascular permeability in the rat. *Am J Hypertens* 10: 1058-63, 1997.

38. **Brabant SM, Bertrand M, Eyraud D, Darmon PL, Coriat P:** The hemodynamic effects of anesthetic induction in vascular surgical patients chronically treated with angiotensin II receptor antagonists. *Anesth Analg* 89: 1388-92, 1999.
39. **Bertrand M, Godet G, Meersschaert K, Brun L, Salcedo E, Coriat P:** Should the angiotensin II antagonists be discontinued before surgery? *Anesth Analg* 92: 26-30, 2001.
40. **Kataja JH, Kaukinen S, Viinamaki OV, Metsa-Ketela TJ, Vapaatalo H:** Hemodynamic and hormonal changes in patients pretreated with captopril for surgery of the abdominal aorta. *J Cardiothorac Anesth* 3: 425-32, 1989.
41. **Unger T, Azizi M, Belz GG:** Blocking the tissue renin-angiotensin system: the future cornerstone of therapy. *J Hum Hypertens* 14: 23-31, 2000.
42. **Schumacher J, Binkowski K, Dendorfer A, Klotz KF:** Organ-specific extravasation of albumin-bound Evans blue during nonresuscitated hemorrhagic shock in rats. *Shock* 20: 565-8, 2003.
43. **Meingassner JG, Schmook FP:** Reference values for Crl:CD (SD) BR rats. Reference Paper; Charles River Laboratories, 1990.
44. **Karow T, Lang-Roth R:** Hypnotika und Sedativa. In: Karow T, Lang-Roth R: *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 14. Aufl., 880-3, Druckerei F. Hansen, Bergisch-Gladbach, 2006.
45. **Tschope C, Gohlke P, Zhu YZ, Linz W, Scholkens B, Unger T:** Antihypertensive and cardioprotective effects after angiotensin-converting enzyme inhibition: role of kinins. *J Card Fail* 3: 133-48, 1997.
46. **Colson P, Ryckwaert F, Coriat P:** Renin angiotensin system antagonists and anesthesia. *Anesth Analg* 89: 1143-55, 1999.
47. **Colson P:** Anesthetic consequences of hemodynamic effects of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Ann Fr Anesth Reanim* 11: 446-53, 1992.

48. **Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K:** Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens and kininases. *Pharmacol Rev* 44: 1-80, 1992.
49. **Gainer JL, Lipa MJ, Ficenec MC:** Hemorrhagic shock in rats. *Laboratory Animal Science* 45: 169-72, 1995.
50. **Steinman R, Denstedt OF:** Experimental production of hemorrhagic shock in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 47: 305-10, 1969.
51. **Collins JA, Braitberg A, Margraf HW, Butcher HR:** Hemorrhagic shock in rats. Measured blood volumes as the basis for the extent of hemorrhage. *Arch Surg* 99: 484-8, 1969.
52. **Sodeyama M, Kirk SJ, Regan MC, Barbul A:** The effect of hemorrhagic shock on intestinal amino acid absorption in vivo. *Circ Shock* 38: 153-6, 1992.
53. **Bellamy RF, Maningas PA, Wegner BA:** Current shock models and clinical correlations. *Ann Emerg Med* 15: 1392-5, 1986.
54. **Crowell JW, Smith EE:** Oxygen deficit and irreversible hemorrhagic shock. *Am J Physiol* 206: 313-6, 1964.
55. **Sirois MG, Plante GE, Braquet P, Sirois P:** Role of eicosanoids in PAF-induced increases of the vascular permeability in rat airway. *Br J Pharmacol* 101: 896-900, 1990.
56. **Olivenstein R, Du T, Xu LJ, Martin JG:** Microvascular leakage in the airway wall and lumen during allergen induced early and late responses in rats. *Pulm Pharmacol Ther* 10: 223-30, 1997.
57. **Chen S-C, Lu T-S, Lee H-L, Lue S-I, Lue S-I, Yang R-C:** Hyperthermic pretreatment decreases microvascular protein leakage and attenutes hypotension in anaphylactic shock in rats. *Microvascular Research* 61: 152-9, 2001.

58. **Baluk P, Thurston G, Murphy TJ, Bunnett NW, McDonald DM:** Neurogenic plasma leakage in mouse airways. *Brit J Pharm* 126: 522-8, 1999.
59. **Figini M, Emanuelli C, Grady EF, Kirkwood K, Payan DG, Ansel J, Gerard C, Geppetti P, Bunnett N:** Substance P and bradykinin stimulate plasma extravasation in the mouse gastrointestinal tract and pancreas. *Am J Physiol* 272: G785-93, 1997.
60. **Cui ZH, Arakawa H, Kawikova I, Skoogh BE, Lotvall J:** Relationship between systemic blood pressure, airway blood flow and plasma exudation in guinea-pig. *Acta Physiol Scand* 165: 121-7, 1999.
61. **Lu B, Figini M, Emanuelli C, Geppetti P, Grady EF, Gerard NP, Ansell J, Payan DG, Gerard C, Bunnett N:** The control of microvascular permeability and blood pressure by neutral endopeptidase. *Nat Med* 3: 904-7, 1997.
62. **Bertolino F, Valentin JP, Maffre M, Bessac A-M, John GW:** TxA<sub>2</sub> receptor activation elicits organ-specific increases in microvascular permeability in the rat. *Am J Physiol* 268: R366-74, 1995.
63. **Emanuelli C, Grady EF, Madeddu P, Figini M, Bunnett NW, Parisi D, Regoli D, Geppetti P:** Acute ACE inhibition causes plasma extravasation in mice that is mediated by substance P. *Hypertension* 31: 1299-304, 1998.
64. **Udaka K, Takeuchi Y, Movat HZ:** Simple method for quantitation of enhanced vascular permeability. *Proc Soc Exp Biol Med* 133: 1384-7, 1970.
65. **Sarker MH, HU DE, Fraser PA:** Acute effects of bradykinin on cerebral microvascular permeability in the anaesthetized rat. *J Physiol* 528: 177-87, 2000.
66. **Baluk P, Hirata A, Thurston G, Fujiwara T, Neal CR, Michel CC, McDonald DM:** Endothelial gaps: time course of formation and closure in inflamed venules of rats. *Am J Physiol* 272: L155-70, 1997.

67. **Lehoux S, Sirois MG, Sirois P, Plante GE:** Acute and chronic diuretic treatment selectively affect vascular permeability in the unanesthetized normal rat. *J Pharmacol Exp Ther* 269: 1094-9, 1994.
68. **Chakir M, Plante GE, Maheux P:** Reduction of capillary permeability in the fructose-induced hypertensive rat. *Am J Hypertens* 11: 563-9, 1998.
69. **Rawson RA:** The binding of T-1824 and structurally related dyes by the plasma proteins. *Am J Physiol* 138: 708-17, 1943.
70. **Farnebo LO, Hallman H, Hamberger B, Jonsson G:** Catecholamines and hemorrhagic shock in awake and anesthetized rats. *Circ Shock* 6: 109-18, 1979.
71. **Kashimoto S, Doursout MF, Hartley C, Chelly JE:** Effects of thiopental and ketamine on cardiac function during moderate hemorrhage in chronically instrumented rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 21: 829-33, 1993.
72. **Ullman J:** Influence of neurohumoral blockade on heart rate and blood pressure responses to haemorrhage in isoflurane anaesthetized rats. *Acta Physiol Scand* 169: 189-94, 2000.
73. **Feletou M, Girard V, Canet E:** Different involvement of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation of porcine pulmonary artery and vein: influence of hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 25: 665-73, 1995.
74. **Marshall JM:** Adenosine and muscle vasodilatation in acute systemic hypoxia. *Acta Physiol Scand* 168: 561-73, 2000.
75. **MacLean DA, Sinoway LI, Leuenberger U:** Systemic hypoxia elevates skeletal muscle interstitial adenosine levels in humans. *Circulation* 98: 1990-2, 1998.
76. **Ray CJ, Abbas MR, Coney AM, Marshall JM:** Interactions of adenosine, prostaglandins and nitric oxide in hypoxia-induced vasodilatation: in vivo and in vitro studies. *J Physiol* 544: 195-209, 2002.

77. **Sudo T, Fukuda Y:** Metabolism and acid-base status during hypoxic ventilatory depression. *Jpn J Physiol* 47: 531-6, 1997.
78. **Katz A, Sahlin K:** Effect of hypoxia on glucose metabolism in human skeletal muscle during exercise. *Acta Physiol Scand* 136: 377-82, 1989.
79. **Knight DR, Schaffartzik W, Poole DC, Hogan MC, Bebout DE, Wagner PD:** Effects of hyperoxia on maximal leg O<sub>2</sub> supply and utilization in men. *J Appl Physiol* 75: 2586-94, 1993.
80. **Mazzeo RS, Brooks GA, Butterfield GE, Cymerman A, Roberts AC, Selland M, Wolfel EE, Reeves JT:**  $\beta$ -Adrenergic blockade does not prevent the lactate response to exercise after acclimatization to high altitude. *J Appl Physiol* 76: 610-5, 1994.
81. **Parolin ML, Spriet LL, Hultman E, Hollidge-Horvat MG, Jones NL, Heigenhauser GJ:** Regulation of glycogen phosphorylase and PDH during exercise in human skeletal muscle during hypoxia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278: 522-34, 2000.
82. **Richardson RS, Noyszewski EA, Kendrick KF, Leigh JS, Wagner PD:** Myoglobin O<sub>2</sub> desaturation during exercise. *J Clin Invest* 96: 1916-26, 1995.
83. **Nordström L, Chua S, Roy A, Naka K, Persson B, Arulkumaran S:** Lactate, lactate/pyruvate ratio and catecholamine interrelations in cord blood at delivery in complicated pregnancies. *Early Hum* 52: 87-94, 1998.
84. **Schumacker PT, Samsel RW:** Analysis of oxygen delivery and uptake relationships in the Krogh tissue model. *J Appl Physiol* 67: 1234-44, 1989.
85. **Wenger RH:** Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O<sub>2</sub>-regulated gene expression. *Faseb J* 16: 1151-62, 2002.
86. **Jancar S, De Giaccobi G, Mariano M, Mencia-Huerta JM, Sirois P, Braquet P:** Immune complex induced pancreatitis: effect of BN 52021, a selective antagonist of platelet-activating factor. *Prostaglandins* 35: 757-70, 1988.

- 87. Heinemann A, Sattler V, Jovic M, Wiene W, Holzer P:** Effect of angiotensin II and telmisartan, an angiotensin1 rezeptor antagonist, on rat gastric mucosal blood flow. *Aliment Pharmacol Ther* 13: 347-55, 1999.

## **7. Danksagung**

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. P. Schmucker, Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck, für die Überlassung des Arbeitsplatzes danken.

Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. J. Schumacher, ebenfalls Klinik für Anästhesiologie, für die Überlassung der interessanten Thematik, für die sehr gute Betreuung, Kooperation und Zusammenarbeit sowie für die Einrichtung des Arbeitsplatzes.

Insbesondere möchte ich Prof. Dr. med. K.-F. Klotz, Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck, danken, für die sehr gute und intensive Beratung und die kontinuierliche Unterstützung bei der Realisierung der Promotion.

Meinen Dank an Prof. Dr. med. A. Dendorfer, Institut für Pharmakologie der Universität zu Lübeck, für die wertvolle und freundliche Unterstützung in pharmakologischen Fragen während der Versuche.

Bei Herrn Prof. Dr. med. W. Jelkmann, Direktor des Institutes für Physiologie der Universität zu Lübeck, und Herrn Prof. Dr. rer. nat. H. Pagel bedanke ich mich für die Zurverfügungstellung der Räumlichkeiten und Ausrüstung.

Weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. phil. Dipl.-Psych. M. Hüppe, Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck, für die statistische Beratung dieser Arbeit.

Dann möchte ich mich bei Frau Dunja Schumacher, MTA der Klinik für Anästhesiologie, für die freundliche Einarbeitung in die Tierpräparation und Beschaffung von Arbeitsunterlagen und –geräten ganz herzlich bedanken, sowie bei Herrn Tempel für die freundliche Unterstützung während der Versuche.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie danken, die mich immer liebevoll unterstützt hat.

## **8. Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name	Kathrin Binkowski
Geburtsdatum, -ort	26.07.1978, Potsdam
Adresse	Kerpener Str. 61-69, 50937 Köln
Familienstand	Ledig
Staatsangehörigkeit	Deutsch

### **Schulbildung**

1985 – 1990	Besuch der Grundschule
1990 – 1992	Besuch der Realschule mit Schwerpunktfächern für Mathematik und Naturwissenschaften
1992 – 1998	Besuch des Gymnasiums Templin, Abschluss mit Abitur

### **Medizinische Ausbildung/ Berufstätigkeiten**

10/1998	Beginn des Humanmedizinstudiums an der Universität zu Lübeck
09/2000	Physikum
09/2001	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/2003	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/2003-09/2004	Praktisches Jahr: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Tertial: Innere Medizin, Livingstone Hospital Port Elizabeth; Südafrika</li><li>2. Tertial: Chirurgie, Kantonsspital Zug; Schweiz</li><li>3. Tertial: Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, Universität zu Lübeck</li></ol>
10/2004	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
seit 01/2005	Assistenzärztin der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Universität zu Köln

## Wissenschaftliche Arbeit

- 06/2002                      Beginn der Forschungsarbeit in der Klinik für  
Anästhesiologie der Universität zu Lübeck
- 2003-2006                      Veröffentlichungen:
1. Schumacher J, Binkowski K, Dendorfer A, Klotz K-F:  
Organ-specific extravasation of albumin-bound Evans  
blue during nonresuscitated hemorrhagic shock in rats  
Shock 20: 565-8, 2003.
  2. Schumacher J, Dendorfer A, Binkowski K, Klotz K-F:  
A miniature self-inflating bag-mask ventilator for rats.  
Lab Anim (UK) 37: 360-2, 2003.
  3. Schumacher J, Puchakayala MR, Binkowski K,  
Eichler W, Dendorfer A, Klotz K-F: Effects of  
candesartan and enalaprilat on the organ-specific  
microvascular permeability during hemorrhagic shock  
in rats. Br J Anaesth 96: 437-43, 2006.

Köln, den 01.02.2006