

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

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. Hugo Van Aken -

**Rolle von Kohlenmonoxid und von dem Kohlenmonoxid-  
bildenen Enzym Hämoxygenase bei hyperdynamer Sepsis im  
chronisch instrumentierten Schaf**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des doctor medicinae

der medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
Brünen, Andreas  
aus Gronau

2006



Dekan: Univ. - Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H.-G. Bone

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. M. Schult

Tag der mündlichen Prüfung: 01.06.2006

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. Hugo Van Aken -  
Referent: Prof. Dr. med. H.-G. Bone  
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. M. Schult

### **Zusammenfassung:**

Rolle von Kohlenmonoxid und von dem Kohlenmonoxid-bildenen Enzym  
Hämoxxygenase bei hyperdynamer Sepsis im chronisch instrumentierten Schaf  
Andreas Brünen

Die Sepsis und das Multiorganversagen sind trotz intensiver Bemühungen nach wie vor eine große Herausforderung der Medizin. Pathophysiologisch imponiert bei der Sepsis mit Multiorganversagen letztendlich die Hypotension. Folglich muss ein therapeutisches Ziel die Wiederherstellung eines angemessenen Perfusionsdruckes sein. Es wird vermutet, dass insbesondere die induzierbare Form der Hämoxxygenase durch die Bildung von Kohlenmonoxid zur systemischen Vasodilatation beiträgt. Daher sollte die pharmakologische Blockade der induzierbaren Hämoxxygenase mittels Zinn-Mesoporphyrin (SnMPP) untersucht werden.

Wir untersuchten nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium Münster (AZ 23.0835.1.0 (34/96)) den Einfluss von SnMPP auf die kardiovaskuläre Funktion am chronisch instrumentierten Schafmodell. Alle 22 in die Studie aufgenommenen Tiere wurden in Allgemeinanästhesie instrumentiert und anschließend für 24 Stunden observiert. Danach erhielten 16 Tiere über 48 Stunden eine kontinuierliche intravenöse Infusion von Endotoxin (*Salmonella typhosa* Lipopolysaccharid; 10ng/kg/min). Die übrigen sechs Tiere erhielten als NaCl-Lösung und dienten als nicht-endotoxämische Kontrollgruppe. Nach 24stündiger Endotoxinämie erhielten acht der 16 Tiere SnMPP in einer Dosierung von 3,7 mg/kg (5 µmol/kg) in 50ml 0,9%iger NaCl-Lösung über 30 Minuten. Nach 48 Stunden wurden die Untersuchungen beendet. Eine hyperdynamie Kreislaufsituation stellte sich bei den endotoxämischen Tieren ein, jedoch war keine Beeinflussung der Hämodynamik durch Hämoxxygenase-Inhibition festzustellen.

Nach Versuchsende wurden Organproben sowohl aus der Lunge, Milz und Leber, wie auch Gefäßproben aus der Aorta und Arteria carotis entnommen. In den Organproben konnte durch Aktivitäts-Bestimmung der Hämoxxygenase die wirksame Inhibition durch SnMPP belegt werden. Es wurde eine deutliche Aktivitätssteigerung in der Lunge der endotoxämischen Tiere gemessen. In den Gefäßproben der Schafe konnte keine HO-Aktivität nachgewiesen werden.

In unseren Untersuchungen an Schafen konnte durch Hämoxxygenase-Inhibition keine Veränderungen auf das kardiovaskuläre System in der Endotoxinämie festgestellt werden. Es ist aber zu beachten, dass nur eine kleine Fallzahl von Schafen bei gleicher Endotoxindosierung untersucht wurden. Weitere Studien werden notwendig sein, um den Effekt der Hämoxxygenase-Inhibition auf die hämodynamischen und klinischen wichtigen Parameter zu untersuchen.

Tag der mündlichen Prüfung: 01.06.2006

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>I</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>III</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>VII</b>

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Sepsis	1
1.1.1	Definitionen der Sepsis	1
1.1.2	Epidemiologie	5
1.1.3	Pathophysiologie der Sepsis	8
1.2	Hämoxigenase (HO)	13
1.2.1	Physiologie und Pathophysiologie von HO und Kohlenmonoxid (CO)	13
1.2.2	HO-Inhibition	18
1.3	Fragestellung der vorliegenden Arbeit	19
<b>2</b>	<b>Methodik</b>	<b>21</b>
2.1	Versuchsmodell Schaf	21
2.2	Versuchsaufbau	21
2.2.1	Instrumentierung	22
2.2.1.1	Vorbereitung	22
2.2.1.2	Anästhesie	23
2.2.1.3	Lagerung	23
2.2.1.4	Anlage der Katheter	23
2.2.2	Erholungsphase	26
2.2.3	Spezielle Methodik	26
2.2.4	Monitoring	28
2.2.4.1	Hämodynamik	28
2.2.4.2	Gasaustausch	30
2.2.5	Organentnahme	30
2.3	Hämoxigenase-Aktivität	30
2.4	Statistik	30

---

<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	32
3.1	Vergleich der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe mit der endotoxämischen Kontrollgruppe	32
3.2	Vergleich der endotoxämischen Kontrollgruppe mit der endotoxämischen Interventionsgruppe	40
3.3	HO-Aktivität	47
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	49
4.1	Fragestellung	49
4.2	Endotoxin	50
4.3	Das Schafmodell der chronischen Endotoxinämie	53
4.4	Bedeutung der HO-Inhibition während der Endotoxinämie	55
4.4.1	HO-Induktion und Aktivität während Sepsis und Endotoxinämie	55
4.4.2	Effekte der HO-Inhibition auf das kardiovaskuläre System	56
4.4.3	Effekte der HO-Inhibition auf das pulmonale System	61
4.5	Weitere klinische Bedeutung des HO-Systems	65
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	68
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	70
<b>7</b>	<b>Danksagung</b>	88
<b>8</b>	<b>Lebenslauf</b>	89
<b>9</b>	<b>Anhang</b>	90

---

Abb.	Abbildung
ACCP	american college of chest physicians
ALI	acute lung injury
APC	Aktiviertes Protein C
ARDS	acute respiratory distress syndrome
AT III	Anti-Thrombin III
ATS	american thoracic society
BE	base excess (Basenüberschuß)
CARS	compensatory anti-inflammatory response syndrome
CD	cluster of differentiation
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CI	cardiac index (Herzindex)
CLS	capillary leak syndrome
CO	Kohlenmonoxid
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung
E. coli	Escherichia coli
EDRF	endothelium derived relaxing factor
EGDT	early goal-directed therapy
ESICM	european society of intensive care medicine
Fe	Eisen
ggf.	gegebenenfalls
GTP	Guanosintriphosphat
HF	Herzfrequenz
HO	Hämoxygenase
HSP	Hitzeschockprotein
kDa	kilo Dalton
HZV	Herzzeitvolumen
ICU	Intensive Care Unit (Intensivstation)
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase

---

LBP	Lipopolysaccharid bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid
MAD	mean arterial pressure
MODS	multiple organ dysfunction syndrome
MPAP	mean pulmonary arterial pressure
MSR	Makrophagen-Scavenger-Rezeptor
NaCl-Lsg.	Isotone Natriumchloridlösung
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
O-Radikale	Sauerstoffradikale
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PCWP	pulmonal capillary wedge pressure
PVRI	pulmonal vascular resistance index
RNA	ribonucleid acid
SD	standard deviation
S.E.M.	Standardfehler
sGC	lösliche Guanylatzyklase
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
SIS	surgical infection society
SnMPP	Zinn-MesoProtoporphyrin
SNPP	Zinn-Protoporphyrin
SV	Schlagvolumen
SVI	Schlagvolumenindex
SVRI	systemic vascular resistance index
Tab.	Tabelle
Temp.	Temperatur
TLR	toll like receptor
TNF	Tumornekrosefaktor
u.a.	unter anderem
vs.	versus

WWU      Westfälische-Wilhelms-Universität  
z.B.      zum Beispiel

---

Tab.1:	Definitionen der Konsensuskonferenz (SCCM/ACCP)	2
Tab.2:	Erweiterte diagnostische Kriterien der Sepsis	4
Tab.3:	Sterblichkeit (pro Jahr) bei Sepsis im Vergleich zu anderen Erkrankungen	6
Tab.4:	Von welchen Infektionen geht eine Sepsis am häufigsten aus?	7
Tab. 5:	Bedingungen/Substanzen, die HO-1 induzieren	16
Tab. 6:	Hämodynamik der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe	37
Tab. 7:	Hämodynamik der endotoxämischen Kontrollgruppe	38
Tab. 8:	Blutgasanalysen der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe	39
Tab. 9:	Blutgasanalysen der endotoxämischen Kontrollgruppe	39
Tab. 10:	Hämodynamik der endotoxämischen Interventionsgruppe	46
Tab. 11:	Blutgasanalysen der endotoxämischen Interventionsgruppe	47
Tab. 12:	HO-Aktivität in pmol Bilirubin/mg Protein/h	47

---

Abb. 1:	Wechselbeziehung zwischen SIRS, Sepsis und Infektion	5
Abb. 2:	Pathophysiologie der Sepsis/SIRS (stark vereinfacht)	8
Abb. 3:	Enzymatischer Abbau des Häm durch Hämoxygenase	13
Abb. 4:	Strukturformel des Häm	14
Abb. 5:	Zeitlicher Versuchsablauf	22
Abb. 6:	Druckkurven während der Platzierung des Pulmonalkatheters	25
Abb. 7:	Zeitlicher Interventionsablauf	27
Abb. 8:	MAP nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	32
Abb. 9:	CI nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	32
Abb. 10:	SVRI nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	33
Abb. 11:	SVI nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	33
Abb. 12:	HF nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	34
Abb. 13:	MPAP nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	34
Abb. 14:	PVRI nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	34
Abb. 15:	Temp. nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	35
Abb. 16:	paO <sub>2</sub> nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	36
Abb. 17:	paCO <sub>2</sub> nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	36
Abb. 18:	art. pH nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	36
Abb. 19:	art. BE nicht-endotoxämische vs. endotoxämische Kontrollgruppe	36
Abb. 20:	MAP endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	40
Abb. 21:	CI endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	40
Abb. 22:	SVRI endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	41
Abb. 23:	SVI endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	41
Abb. 24:	HF endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	41
Abb. 25:	MPAP endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	42
Abb. 26:	PVRI endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	42
Abb. 27:	Temp. endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	43
Abb. 28:	paO <sub>2</sub> endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	44
Abb. 29:	paCO <sub>2</sub> endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	44
Abb. 30:	art. pH endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	45

---

Abb. 31:	art. BE endotox. Kontrollgruppe vs. endotox. Interventionsgruppe	45
----------	--	----

# 1 Einleitung

## 1.1 Sepsis

### 1.1.1 Definitionen der Sepsis

Der Begriff Sepsis (griechisch: Fäulnis) wurde unter der Annahme definiert, dass die Ursache dieses Krankheitsbildes durch das Vorhandensein von Bakterien im Blut zu erklären sei. So definierte SCHOTTMÜLLER (1914) die Sepsis folgendermaßen: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb eines Körpers ein Herd gebildet hat, von dem aus konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen, und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden“<sup>[116]</sup>. SCHWARTZMANN erkannte 1928, dass neben den lebenden Organismen auch den bakteriellen Toxinen, vor allem die sogenannten Endotoxine als Zellwandbestandteile gramnegativer Bakterien eine besondere Rolle bei der Krankheitsentstehung zukommt<sup>[117]</sup>. So wurde die Sepsis als eine systemische Antwort des Organismus auf eine Infektion definiert. Dies war unabhängig davon, ob die Erreger oder ihre Toxine für das Krankheitsbild verantwortlich waren<sup>[4]</sup>. Es kamen also auch grampositive Bakterien, Pilze und Viren als Auslöser einer Sepsis in Betracht. Da selbst nicht-infektiöse Ursachen genau dieselben entzündlichen Antworten des Organismus auslösen können, wurde 1992 auf der Konsensuskonferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) der Oberbegriff „Systemic Inflammatory Response Syndrome“ (SIRS) geprägt<sup>[13]</sup>. Ein SIRS liegt vor, wenn bei einer systemischen Entzündungsreaktion unabhängig von der Ursache zwei oder mehr der folgenden Parameter außerhalb der Norm liegen: Körperkerntemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz oder Anzahl der Leukozyten im Vollblut (Tab.1). Bei einem SIRS wird im Gegensatz zur Sepsis der Nachweis von Keimen bzw. deren Toxinen nicht verlangt. Damit stellt das SIRS weniger exogene Faktoren wie Mikroorganismen oder deren Toxine als vielmehr das endogene Mediatorgeschehen in den Mittelpunkt. Eine Sepsis impliziert somit ein SIRS aber nicht umgekehrt.

Tab.1: Definitionen der Konsensuskonferenz (ACCP/SCCM)

Terminus	Definition
Bakteriämie	Vorhandensein vitaler Bakterien im Blut
CLS	"Capillary leak syndrom"; eine erhöhte Permeabilität des kapillären Membransystems für Makromoleküle wird durch die mediatorbedingte direkte Schädigung der Membranstruktur und die zusätzlichen Wirkungen hämodynamisch aktiver Wirkstoffe (Katecholamine, Serotonin, Histamin) verursacht
Hypotonie	Sepsis induzierte Hypotonie; systolischer Blutdruck < 90 mmHg, oder eine Reduktion um $\geq 40$ mmHg vom Ausgangswert, bei fehlen anderer Hypotonieursachen
Infektion	Entzündliche Gewebsreaktion auf Mikroorganismen, bzw. Invasion von Mikroorganismen in normalerweise steriles Gewebe
MODS	"Multiple Organ Dysfunction Syndrome"; Vorhandensein einer geänderten Organfunktion bei Akutkranken, so dass die Homöostase ohne Intervention nicht mehr aufrechterhalten werden kann
Schock	Septischer Schock; Sepsis-induzierter Schock mit Hypotonie trotz adäquater Volumensubstitution, einhergehend mit Durchblutungsstörungen refraktärer septischer Schock; Septischer Schock ohne rasches Ansprechen auf intravenöse Volumengabe (z.B. 500 ml Plasmaexpander in 30 min) und Vasopressoren (z.B. Dopamin > 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ )
Sepsis	Systemische Reaktion auf eine Infektion, charakterisiert durch zwei oder mehr der folgenden klinischen Symptome:  <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Körperkerntemperatur &gt; 38°C oder &lt; 36°C</li> <li>b. Herzfrequenz &gt; 90/min</li> <li>c. Atemfrequenz &gt; 20/min oder PaCO<sub>2</sub> &lt; 32 mmHg (Spontanatmung)</li> <li>d. Leukozyten &gt; 12.000/<math>\mu\text{l}</math> oder &lt; 4.000/<math>\mu\text{l}</math>, oder &gt; 10% unreife (stabförmige) Formen</li> </ul>
schwere Sepsis	Sepsis assoziiert mit Organdysfunktion, Minderperfusion oder Hypotonie; Minderdurchblutung und Durchblutungsstörungen können eine Laktatazidose, Oligurie oder eine akute Änderung der Bewusstseinslage beinhalten

SIRS	<p>"Systemic Inflammatory Response Syndrome"; systemisch-entzündliche Reaktion auf verschiedene schwere klinische Insulte, charakterisiert durch zwei oder mehr der folgenden klinischen Symptome:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>a. Körperkerntemperatur &gt; 38°C oder &lt; 36°C</li><li>b. Herzfrequenz &gt; 90/min</li><li>c. Atemfrequenz &gt; 20/min oder PaCO<sub>2</sub> &lt; 32 mmHg (Spontanatmung)</li><li>d. Leukozyten &gt; 12.000/μl oder &lt; 4.000/μl, oder &gt; 10 % unreife (stabförmige) Formen</li></ul>
------	---

Im Jahre 2001 fand erneut eine Konferenz des ACCP, der SCCM, der European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), der American Thoracic Society (ATS) und der Surgical Infection Society (SIS) statt <sup>[61]</sup>. Diese Konferenz hat die bisherigen Definitionen bestätigt und die Liste der klinischen Zeichen und Symptome der Sepsis erweitert (Tab.2).

Des Weiteren unterstützte die Konferenz die Einführung eines Staging-Systems (PIRO) für die Sepsis. Dieses Staging-System soll in Zukunft das individuelle Patientenrisiko stratifizieren, analog zum TNM-System der malignen Tumoren. Es wird dabei das Ausgangsrisiko und das Therapieverhalten des Patienten berücksichtigt. Der Begriff PIRO setzt sich aus den folgenden Parametern zusammen:

- P **P**redisposing conditions
- I **I**nsult (im Fall der Sepsis Infektion)
- R **R**esponse
- O **O**rgan dysfunction

LEVY et al. betonen jedoch, dass es sich bei PIRO um ein rudimentäres Konzept handelt, welches in der Zukunft getestet und validiert werden muss, bevor es zur klinischen Routine gehören kann <sup>[61]</sup>.

Tab.2: Erweiterte diagnostische Kriterien der Sepsis <sup>[61]</sup>

<b>Infektion</b> (gesichert oder vermutet) und einige der nebenstehenden Kriterien	<b>Systemische Parameter</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fieber (Kerntemperatur &gt; 38,3°C)</li> <li>- Hypothermie (Kerntemperatur &lt; 36°C)</li> <li>- HF &gt; 90 bpm oder &gt; 2 SD über altersentsprechendem Normwert</li> <li>- Tachypnoe &gt; 30/min</li> <li>- veränderte zerebrale Funktion (gestörter Bewusstseinsstatus)</li> <li>- Ödeme oder positive Flüssigkeitsbilanz (&gt; 20 ml/kg in 24h)</li> <li>- Hyperglykämie (&gt; 110 mg/dl), wenn kein Diabetes vorliegt</li> </ul>
	<b>Inflammatorische Parameter</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Leukozytose (&gt; 12.000/μl)</li> <li>- Leukopenie (&lt; 4.000/μl)</li> <li>- Leukozytenzahl normal und &gt; 10% unreife Formen</li> <li>- Plasma C reaktives Protein &gt; 2 SD über Normwert</li> <li>- Plasma Procalcitonin &gt; 2 SD über Normwert</li> </ul>
	<b>Hämodynamische Parameter</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- arterielle Hypotension (Tab.1)</li> <li>- Gemischt venöse Sättigung &gt; 70% beim Erwachsenen</li> <li>- CI &gt; 3,5 l/min/m<sup>2</sup> beim Erwachsenen</li> </ul>
	<b>Dysfunktionsparameter von Organen</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- arterielle Hypoxämie (PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> &lt; 300)</li> <li>- akute Oligurie (Urinproduktion &lt; 0,5ml/kgKG/h)</li> <li>- Kreatininanstieg (&gt; 0,5mg/dl)</li> <li>- Koagulationsveränderungen (INR &gt; 1,5)</li> <li>- Ileus (keine Darmgeräusche auskultierbar)</li> <li>- Thrombozytopenie (&lt; 100.000/μl)</li> <li>- Hyperbilirubinämie (Gesamtbilirubin &gt; 4mg/dl)</li> <li>- Hyperlaktatämie (&gt; 3 mmol/l)</li> </ul>

Auch nach 2001 hat es bisher keine Veränderungen der Definitionen gegeben. Die Wechselbeziehungen zwischen SIRS, Sepsis und Infektion, die von BONE RC 1992 aufgestellt wurden, sind immer noch zutreffend (Abb.1) <sup>[13]</sup>.

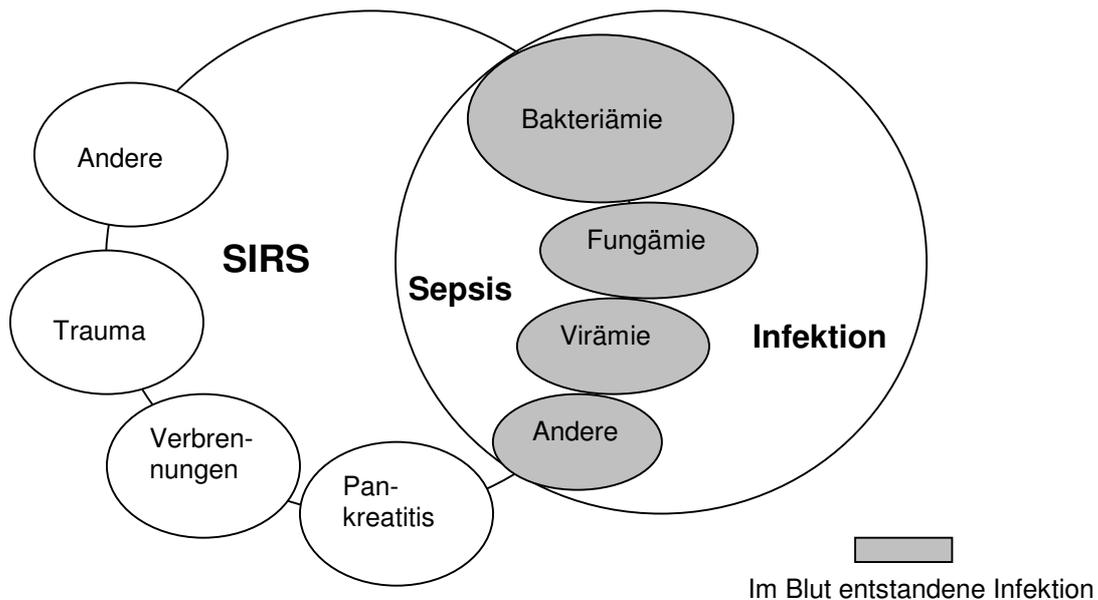


Abb.1: Wechselbeziehung zwischen SIRS, Sepsis und Infektion

### 1.1.2 Epidemiologie

Die Inzidenz der Sepsis und des septischen Schocks hat in den letzten Dekaden stetig zugenommen. So ist die Sepsis die häufigste Todesursache auf nicht-kardiologischen Intensivstationen <sup>[95]</sup>. Dabei ist die Mortalität des septischen Schocks nach wie vor hoch. Sie liegt nach Studienergebnissen von BONE RC bei über 50%, ungeachtet der intensivmedizinischen Bemühungen und frühzeitigen diagnostischen Maßnahmen <sup>[14]</sup>.

In den Vereinigten Staaten stieg die Zahl der am septischen Schock verstorbenen Patienten von 35.000 im Jahr 1970, 94.000 im Jahr 1980, 198.000 im Jahr 1990 bis auf 215.000 im Jahr 2000 <sup>[87]</sup>. Im Vergleich der Sterblichkeit der Sepsis zur Sterblich-

keit anderer Erkrankungen (Tab.3) wird deutlich, welchen Stellenwert das septische Krankheitsbild in unserer Gesellschaft heute hat.

Tab.3: Sterblichkeit (pro Jahr) bei Sepsis im Vergleich zu anderen Erkrankungen [28,87]

	USA	EU	Deutschland
Bevölkerung	ca. 263 Mill.	ca. 375 Mill.	ca. 82 Mill.
Schwere Sepsis - gesamt	215.000	Keine Angabe	Keine Angabe
- in ICU	131.000	135.000	34.736
Akuter Herzinfarkt	218.000	347.000	87.739
Lungenkarzinom	151.000	176.000	37.147
Dickdarmkarzinom	57.000	110.000	30.321
Mammakarzinom	44.000	75.000	16.674

Die steigende Inzidenz der Sepsis beruht auf Faktoren wie der demographischen Entwicklung mit Anstieg der älteren Population, dem verstärkten Einsatz invasiver Diagnostik- und Therapieverfahren und der zunehmenden Hospitalisierung von Patienten extremer Altersgruppen [77,118]. So konnten ANGUS et. al eine 100fach höhere Inzidenz für Patienten über 85 Jahre (26,2/1000) im Vergleich zu Kindern (0,2/1000) nachweisen [3].

Etwa 20% [118] bis 40% [12] der Patienten mit Sepsis entwickeln einen septischen Schock. Die Mortalität des septischen Schocks ist mit 50 % [14] erheblich höher als bei einer Sepsis ohne Schock (10-20%) [109].

Die Kosten der Behandlung eines septischen Patienten lagen in den USA im Jahr 2001 durchschnittlich bei 22.100 \$. Dies bedeutet, dass 2001 bei 751.000 septischen Patienten ca. 16,7 Milliarden Dollar für dieses Krankheitsbild an Kosten verursacht worden sind <sup>[3]</sup>.

Zu den häufigsten Ursachen einer Sepsis zählen die Pneumonie, primäre Bakteriämie, die Infektion der Harnwege und Geschlechtsorgane sowie die Infektion von Bauchorganen (Tab.4) <sup>[3]</sup>.

Tab. 4: Von welchen Infektionen geht eine Sepsis am häufigsten aus? <sup>[3]</sup>

Infektionsquellen	Angabe in %
Lungenentzündung	44.0 %
Bakterien im Blut (positive Blutkultur)	17.3 %
Infektionen der Harnwege und Geschlechtsorgane	9.1 %
Infektionen der Bauchorgane	8.6 %
Wund- und Weichteilinfektionen	6.6 %
Katheterinfektionen	2.2 %
Infektionen des Nervensystems	0.8 %
Herzklappenentzündung	0.6 %
Andere	10.8 %

### 1.1.3 Pathophysiologie der Sepsis

Die Pathophysiologie der Sepsis bzw. des SIRS wird durch eine große Anzahl von Faktoren beeinflusst und hervorgerufen. Bis heute sind sowohl die einzelnen Mechanismen als auch ihre gegenseitige Abhängigkeit nur zu einem Teil erforscht. Im Rahmen der Sepsis/SIRS kommt es zur Aktivierung von Mediatorokaskaden, die ihrerseits über verschiedene pathophysiologische Mechanismen letztlich zum MODS führen können (Abb.2).

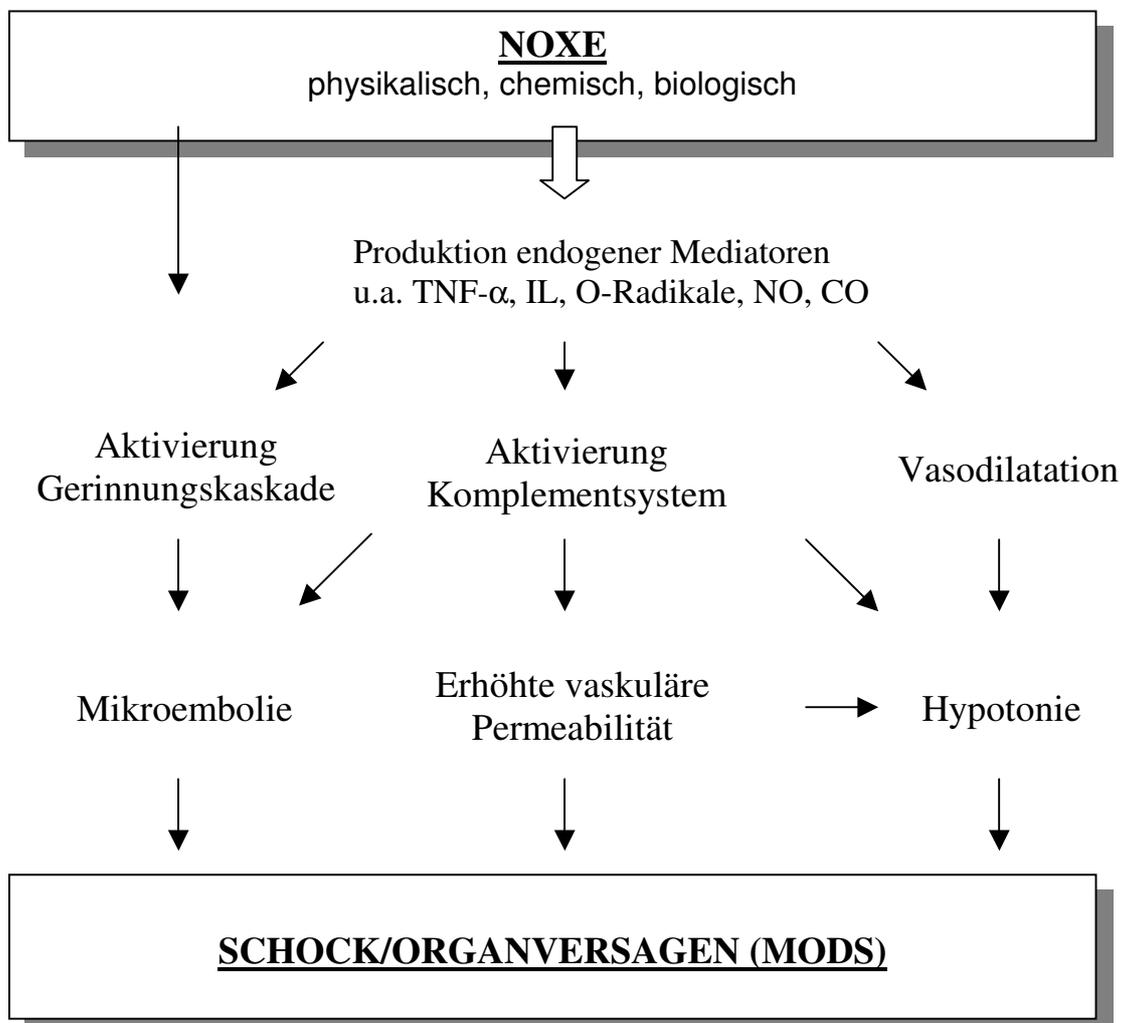


Abb.2: Pathophysiologie der Sepsis/SIRS (stark vereinfacht)

Zu Beginn der Sepsis/SIRS findet eine Stimulation des Immunsystems durch eine Noxe, z.B. Endotoxin, statt. Dies führt zu einer Aktivierung der Leukozyten, insbesondere der Makrophagen. Es wird eine Leukozytenadhäsion an das Endothel und eine Transmigration von Leukozyten in das Interstitium mit einer Produktion und Ausschüttung endogener Mediatoren verursacht <sup>[16]</sup>. Die so entstehende Entzündungsreaktion ist normalerweise auf den Ort der Infektion beschränkt und ruft lokal die typischen Entzündungszeichen Rötung, Erwärmung, Schwellung, Schmerz und Funktionseinschränkung hervor. Jedoch kann sich diese normale Abwehrreaktion ab einem gewissen Schweregrad verselbständigen und zu einer systemischen Inflammation führen.

Zu den ausgeschütteten proinflammatorischen Botenstoffen zählen unter anderem Zytokine (z.B. Interleukine und TNF- $\alpha$ ), Arachidonsäure-Metabolite (Thromboxan A<sub>2</sub>, Prostaglandine und Leukotriene), der Plättchenaktivierende Faktor, Kinine, Endotheline und Stickstoffmonoxid (NO) <sup>[94]</sup>. Durch diese proinflammatorischen Transmitter kann es zu einer kaskadenartigen Synthese und Sekretion von weiteren, die Entzündung beeinflussenden Molekülen, der sogenannten septischen Kaskade kommen <sup>[5,58]</sup>.

Große Bedeutung haben hier die Zytokine. Es sind lösliche, niedermolekulare Glykoproteine, die von verschiedenen Zelltypen synthetisiert werden können. In geringen Konzentrationen haben sie einen parakrinen Effekt, in höheren Konzentrationen einen endokrinen Effekt, wodurch eine systemische Wirkung möglich wird <sup>[63,71]</sup>. Zahlreiche Zytokine sind bei Patienten mit SIRS und Sepsis vermehrt nachweisbar. Dazu zählen z.B. der Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukine (z.B. IL-1, IL-8, IL-12, IL-18) und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) <sup>[99]</sup>.

Neben den proinflammatorischen Reaktionsketten kommt es auch zu einer Aktivierung antiinflammatorischer Signalwege, welche dazu dienen, die sich ausbreitende Entzündungsreaktion einzugrenzen. Dieser Prozess wird als „compensatory anti-inflammatory response syndrome“ (CARS) bezeichnet. Wichtige Mediatoren für die Ausbildung des CARS sind u.a. IL-10, IL-1-Rezeptor-Antagonisten

und Prostaglandin E<sub>2</sub>, die alle die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen inhibieren können <sup>[71]</sup>.

Das ideale Zusammenspiel von SIRS und CARS soll der Abwehr einer Infektion dienen, ohne dabei den Gesamtorganismus zu schädigen. Die tatsächliche Erfahrung zeigt jedoch, dass SIRS und CARS die Organe schädigen und zu Multiorganversagen und Tod führen können.

So ging man zu Beginn der Erforschung des Zytokinnetzwerkes von einer autodestruktiven, überschießenden proinflammatorischen Reaktion (Hyperinflammation) aus. Heute wird darin ein höchst redundantes System gesehen, wobei einem einzelnen Zytokin nicht eine ausschlaggebende Bedeutung für die gesamte Regulation der Inflammation zuzuschreiben ist. Vielmehr wird durch die Interaktion der Wirkungen von Zytokinen mit verschiedenen Wachstumsfaktoren und Hormonen die individuelle Ausprägung der inflammatorischen Reaktion bestimmt <sup>[60,71]</sup>.

Die durch die systemische Entzündungsreaktion hervorgerufenen Veränderungen des Herzkreislaufsystems mit Vasodilatation, Hypotonie, Kapillarleck, Ödemen, myokardialer Depression und Mikrozirkulationsstörung, wie sie in der Sepsis auftreten, sind als eine Folge der Mediatorausschüttung anzusehen <sup>[14,99]</sup>.

Eine Schlüsselposition in der Entstehung der generalisierten Vasodilatation nimmt das Stickstoffmonoxid (NO) ein. Für NO konnte nachgewiesen werden, dass es dem zuvor als „endothelium derived relaxing factor“ (ERDF) bezeichnetem Molekül entspricht <sup>[94]</sup>. Es bewirkt eine Relaxation der Gefäße durch Stimulation der Guanylatzyklase mit konsekutiver Bildung von zyklischem 3',5'-Guanosin-Monophosphat (cGMP). Dabei wird Calcium aus der glatten Gefäßmuskelzelle gepumpt und diese entspannt sich, der Gefäßtonus fällt <sup>[39]</sup>. NO selbst kann durch verschiedene Formen der NO-Synthase aus L-Arginin gewonnen werden, der konstitutiven und der induzierbaren Form (iNOS) des Enzyms. Die Produktion der iNOS kann durch verschiedene Substanzen wie Endo- und Exotoxine sowie Zytokine angeregt werden. Nach Stimulation kann die iNOS etwa 1000mal mehr NO als die konstitutive Form produzieren und eine systemische Vasodilatation verursachen <sup>[18]</sup>.

Neben der NO-verursachten Vasodilatation bewirkt die Aktivierung des Komplement- und Bradykininsystems innerhalb der Endothelzelle eine Kontraktion des Zytoskeletts. Durch die sich öffnenden Endothelspalten kann Plasma in das Interstitium austreten und so den intravasalen Volumenmangel mit Hypotension und peripherer Ödembildung verstärken <sup>[142]</sup>.

Neben Vasodilatation und Kapillarleck kann es in der Sepsis auch zu einer verminderten myokardialen Funktion kommen. Als Ursache dafür werden Mediatoren wie TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, Komplementfaktoren und reaktive Sauerstoffmoleküle diskutiert <sup>[199]</sup>. Diese führen zu einer systolischen Funktionsstörung mit Einschränkung der Kontraktilität beider Ventrikel und können schließlich zum Herzkreislaufversagen führen.

Des Weiteren kommt es in der Sepsis durch die Einschwemmung von bakteriellen und körpereigenen aktiven Agenzien in verschiedenen Stromgebieten der Organsysteme zu erheblichen Störungen der Mikrozirkulation <sup>[41]</sup>. Eine Dysfunktion der autoregulativen Mechanismen der Gefäße führt zu Veränderungen des regionalen und kapillären Blutflusses. Dabei entstehen durch Einwirkung der proinflammatorischen Mediatoren und NO lokale Areale mit Vasodilatation und Vasokonstriktion direkt nebeneinander <sup>[60]</sup>. Die Öffnung von anatomischen arteriovenösen Shunts hat die Durchblutung von Geweben mit geringerem O<sub>2</sub>-Bedarf auf Kosten der Sauerstoffversorgung von Geweben mit höherer metabolischer Aktivität zur Folge <sup>[11]</sup>. Eine reduzierte Anzahl perfundierter Kapillaren ergibt sich durch eine Endothelschädigung mit nachfolgender Endothelschwellung sowie durch eine Obliteration der Kapillaren durch Mikrothromben z.B. nach einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) <sup>[11]</sup>.

Durch eine verstärkte Leukozyten-Aggregation/Adhäsion und eine verlängerte Diffusionsstrecke für Sauerstoff durch ein Kapillarödem resultiert ein Sauerstoffmangel der Parenchymzellen <sup>[60,99]</sup>. Nachfolgend kann es lokal zu Zellnekrosen kommen, die letztlich eine Organdysfunktion bedingen <sup>[11,41]</sup>.

Neben der Entzündungsreaktion findet sich bei der Sepsis typischerweise eine ausgeprägte Gerinnungsaktivierung. Die Expression des „tissue factor“ auf der Oberfläche von zirkulierenden Monozyten und Gewebsmakrophagen ist gesteigert, so dass das extrinsische Gerinnungssystem sowie die Thrombingenerierung und Fibrinolyse getriggert werden. Die Gerinnungsaktivierung wird von einer Schwächung einiger körpereigener gerinnungshemmender Faktoren begleitet. So sind in der Sepsis die Plasmaspiegel von Protein C und AT III vermindert und die Fibrinolyse beeinträchtigt. Dementsprechend ist die Balance von Gerinnungsaktivierung und -hemmung gestört, wobei die prokoagulatorische Aktivität überwiegt. Es kommt daher zu einer exzessiven Thrombingenerierung und Fibrinolyse mit einem hohen Verbrauch von Gerinnungsfaktoren. Im weiteren Verlauf des Krankheitsgeschehens beeinflussen sich Inflammation und Gerinnungsaktivierung gegenseitig über viele Signalwege und können zu einer weiteren Exazerbation des septischen Krankheitsgeschehens führen <sup>[1]</sup>.

## 1.2 Hämoxygenase (HO)

### 1.2.1 Physiologie und Pathophysiologie von HO und Kohlenmonoxid (CO)

Im Jahre 1847 konnte Virchow erstmals einen Zusammenhang zwischen dem Abbau von Hämoglobin und der Entstehung von Biliverdin feststellen. Nachgewiesen wurde der Abbau von Hämoglobin zu Biliverdin aber erst 1926, ohne dabei das Enzym Hämoxygenase zu kennen <sup>[72]</sup>. Sicher ist jedoch, dass dieser metabolische Prozess schon seit geraumer Zeit bekannt ist, da er sich durch Farbänderung kennzeichnet. Nach einem Schlag auf die Haut bildet sich ein schwarz-blaues bzw. violettes Hämatom, welches der Farbe des Häm entspricht. Dieser „blaue Fleck“ ändert im Verlauf seine Farbe zu grün (Biliverdin) und schließlich zu orange/rot (Bilirubin). Heute ist der Abbau des Häm durch die Hämoxygenase zu  $\text{Fe}^{2+}$ , CO und Biliverdin genauer bekannt, wobei im Anschluss dieser Reaktion das entstandene Biliverdin unmittelbar durch die Biliverdinreduktase in Bilirubin umgewandelt wird (Abb.3).

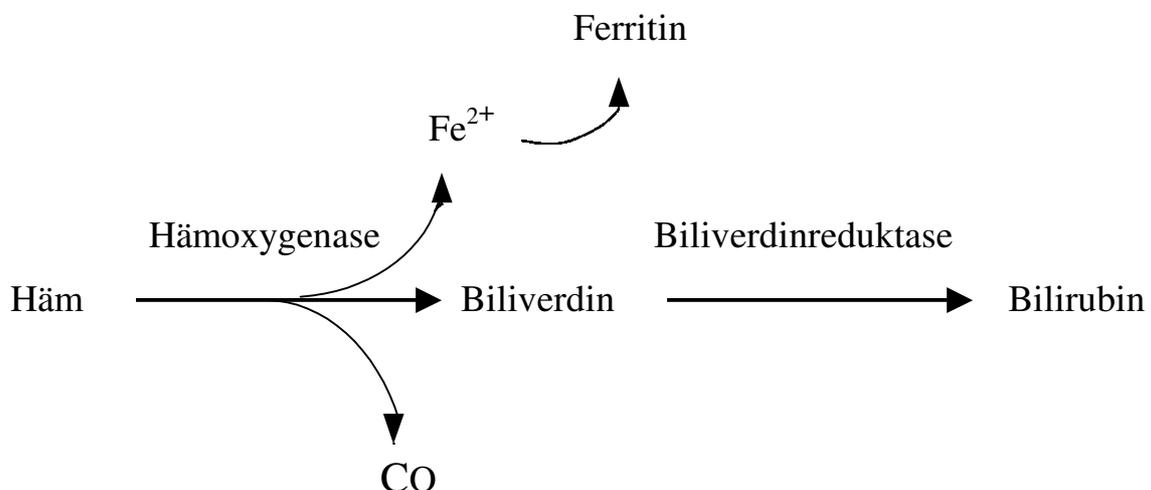


Abb.3: Enzymatischer Abbau des Häms durch Hämoxygenase

Im Hämstoffwechsel kommt es zum Abbau von Porphyrinen. Porphyrine sind farbige Verbindungen, die ubiquitär im Pflanzen und im Tierreich auftreten. Strukturell bestehen sie aus 4 Pyrrolringen, die über Methinbrücken (=CH-) zu einem Tetra-

pyrrolsystem verbunden sind. Dieses konjugierte Ringsystem bildet leicht Komplexe mit Übergangsmetallen. Während im Pflanzenreich die Komplexbildung mit Magnesium als Chlorophyll überwiegt, tritt Porphyrin im Tierreich als Eisenkomplex auf, der als Häm (Abb.4) bezeichnet wird. Der Proteinanteil seinerseits bestimmt, welche Funktion das Eisenporphyringerüst im Proteinverband übernimmt. So ist das Häm die prosthetische Gruppe in Myoglobin und Hämoglobin, an der Sauerstoff gebunden wird. Das gleiche Hämgerüst tritt eingebettet in andere Polypeptidketten z.B. in den Cytochromen und in der Guanylatzyklase auf. In diesen Molekülen ist das Häm in einer hydrophoben Tasche eingelagert. Die einzige kovalente Verbindung zwischen Globinpeptidkette und Häm-Molekül kommt über eine als proximal bezeichnete Histidylseitenkette zustande. Daher ist dieser Imidazolrest der einzige Molekülbereich, über den Konformationsänderungen des Porphyringerüsts auf den Globinanteil und umgekehrt übertragen werden können.

Unter physiologischen Bedingungen ist das Häm-Molekül also von Proteinen umgeben. Es liegt nicht frei vor, was jedoch unter pathophysiologischen Umständen möglich ist.

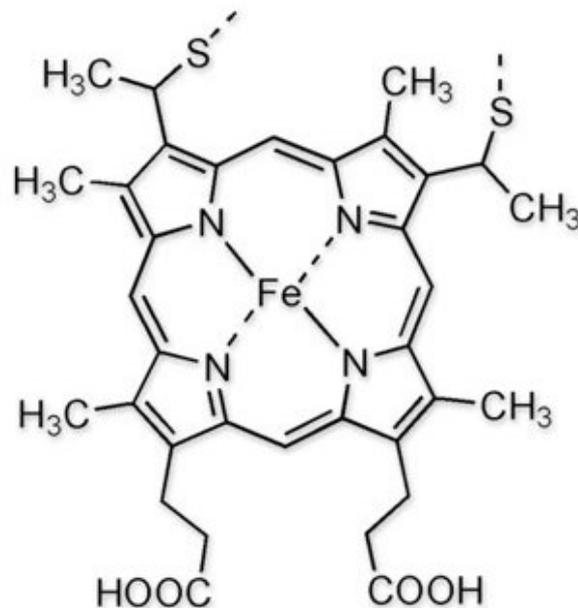


Abb.4: Strukturformel des Häm

Identifiziert wurde die Hämoxygenase erstmals 1968 durch Tenhunen et al.<sup>[128]</sup>. 1974 konnten Maines et al. beschreiben, dass die Hämoxygenase den ersten und geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Hämabbaus katalysiert<sup>[67]</sup>. Durch Oxidation wird die  $\alpha$ -meso-Brückenbindung des Typ-b Häm-Moleküls gespalten und äquimolare Anteile an Biliverdin IXa, CO und Eisen werden freigesetzt. Biliverdin wird unmittelbar durch die Biliverdinreduktase in Bilirubin umgewandelt. Dabei stammen bei Menschen ca. 80% des über die Galle ausgeschiedenen Bilirubins aus Hämoglobin. Der größte Anteil des nicht aus Hämoglobin entstehenden Bilirubins wird aus Cytochrom P-450 abgespalten<sup>[69]</sup>.

Bis heute sind drei Isoenzymformen der Hämoxygenase (HO) bekannt. Wobei die konstitutiven Formen HO-2 und HO-3 von der induzierbaren HO-1 unterschieden werden. Alle Isoenzymformen entstammen verschiedenen Genprodukten.

Unter physiologischen Bedingungen überwiegt die Aktivität der HO-2. Eine hohe katalytische Aktivität wurde z.B. in der Milz beobachtet, es konnte jedoch eine Aktivität in fast allen Organen nachgewiesen werden<sup>[90]</sup>.

Die HO-1 gehört zur Gruppe der Hitzeschockproteine (HSP) mit einem Molekulargewicht von 32 kD und wird daher auch als HSP-32 bezeichnet. Hitzeschockproteine werden bei einer Hitzeschockantwort gebildet. Dieser Antwortmechanismus ist in allen eukaryontischen Zellen vorhanden und löst eine dramatische Veränderung in der Genexpression aus. Werden eukaryontische Zellen längere Zeit einer Temperaturerhöhung ausgesetzt (z.B. von 37 auf 42 Grad Celsius), ist die Synthese normaler RNA inhibiert. Die RNA-Synthese wird von einigen bestimmten Hitzeschock-Genen aktiviert, die vermehrt produziert werden. Diese Bedeutung kann an HO-1-Gen-defizienten Mäusen veranschaulicht werden, die bei Hitze vorzeitig versterben<sup>[102]</sup>. Aber nicht nur Hitze ist in der Lage, die HO-1 zu induzieren, sondern auch noch eine Reihe anderer Faktoren (Tab.5). Durch Stimulation bzw. Induktion der HO-1 kann eine Situation erreicht werden, in der die Aktivität der HO-1 im Organismus um ein Vielfaches höher liegt als die der HO-2.

Tab. 5: Bedingungen/Substanzen, die HO induzieren <sup>[90]</sup>

- |                  |               |                                 |
|------------------|---------------|---------------------------------|
| • NO             | • Zytokine    | • H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |
| • Scherkräfte    | • Angiogenese | • Natriumarsenit                |
| • Schwermetalle  | • Endotoxin   | • Prostaglandine                |
| • Hypoxie        | • Hyperoxie   | • Hitzeschock                   |
| • Ultraviolett A | • Häm         |                                 |

Die in ihrer Natur sehr unterschiedlichen Stimuli und die damit verbundene unterschiedliche Dauer der Enzyminduktion der HO-1 von Tagen bis Wochen <sup>[86]</sup> machen das Hämoxigenasesystem zu etwas Besonderem. So hat MAINES bereits daraufhingewiesen, dass in der Tat kein anderes Enzym mit so ausgeprägten Eigenschaften bekannt sei <sup>[70]</sup>.

Die HO-2 ist ein konstitutiv synthetisiertes 36-kDalton Protein, welches 1986 von MAINES et al. identifiziert wurde <sup>[68]</sup>. Unter physiologischen Bedingungen wird der größte Anteil des Häm-Abbaus durch HO-2 katalysiert. Vorwiegend existiert die HO-2 in den Organen des Häm-Abbaus, wie der Milz und der Leber, aber wie bereits erwähnt auch in anderen Organen und Geweben. Die HO-2 wird von den HO-1-Stimuli nicht induziert, es sind bislang lediglich Glukokortikoide der Nebenniere als Stimulatoren bekannt <sup>[69]</sup>. Die Unterschiede in der Induktion zwischen HO-1 und HO-2 korrelieren mit der unterschiedlichen Präsenz von regulatorischen Elementen in ihren Promotor-Regionen. Diese benötigten Sequenzen, um Regulatoren wie NFκB oder Metalle zu binden, sind in der HO-1-Promotor-Region vorhanden, während es für HO-2 nur eine Sequenz für Glukokortikoide gibt.

Die HO-3 wurde 1997 zuerst im Gehirn von Ratten nachgewiesen <sup>[78]</sup>. Später erfolgten Nachweise in Milz, Leber, Thymus, Prostata, Herz, Niere und Testes. Die Aminosäurestruktur von HO-3 unterscheidet sich von den beiden anderen Isoenzymen, ist aber als konstitutive Form näher mit der HO-2 verwandt, wobei die Aktivität jedoch deutlich geringer ist.

Alle drei Isoenzymformen katalysieren die Oxidation von Hämoglobin in seine biologisch aktiven Metaboliten: Eisen, ein Genregulator; Biliverdin, ein Antioxidanz;

CO, ein Hämoglobinligand und ein second messenger <sup>[70]</sup>. So vermindert das HO-System nicht nur die schädliche Wirkung der Hämoglobinmoleküle auf die Zellen, sondern kann auch die effektiven Promotoren für die Lipidperoxidation und die Bildung freier Sauerstoffradikale reduzieren. Es werden also nicht nur schädliche Stoffwechselprodukte abgebaut, sondern auch schützende Metabolite generiert.

Bis in die frühen 90er Jahre wurde dem HO-System nur die Bedeutung einer notwendigen Mediatorenbeseitigung beigemessen. Nachdem aber HO-2 im Gehirn entdeckt wurde und gleichzeitig festgestellt werden konnte, dass Stickstoffmonoxid ein Signalmolekül für die Generierung von cGMP darstellt, kam dem HO-System mit der CO Freisetzung (HO/CO-System) vermehrt Aufmerksamkeit zu.

Die Enzymsysteme von NO-Synthase (NOS) bzw. Hämoxygenase haben einige Gemeinsamkeiten. Beide Systeme bestehen aus konstitutiven und induzierbaren Isoenzymformen und produzieren Gase, die endogen freigesetzt werden und systemische Wirkung erlangen können. Die induzierbare NOS (iNOS) kann z.B. durch verschiedene Zytokine aktiviert werden, was zu einer exzessiven Produktion von NO führt. Dies kann eine inadäquaten Vasodilatation verursachen und damit zu der typischen hyperdynamen Kreislaufsituation mit niedrigen SVRI und hohem HZV im septischen Schock führen <sup>[114]</sup>.

Eine Reihe der physiologischen Wirkungen von NO kommt durch die Bindung von NO an Eisengruppen unterschiedlicher Enzymen z.B. der löslichen Guanylatzyklase (sGC) zustande <sup>[57]</sup>. Es kommt zu einer Lockerung der Eisenbindung zum Liganden, also dem Häm-Anteil des Enzyms. Über das anliegende His-105 der beta-Untereinheit wird die Aktivierung übertragen <sup>[76]</sup>. Forschungsergebnisse von Martin et al. zeigten, dass eine Alteration am Häm, sei es biochemisch oder genetisch, zu einer Aktivierung der sGC führen kann. CO ist ebenfalls in der Lage, mit Eisengruppen verschiedener Enzyme zu reagieren <sup>[74,76]</sup>. Man vermutet, dass CO genau wie NO ein second messenger ist und ebenfalls die Guanylatzyklase aktiviert, insbesondere die sGC und damit cGMP freisetzt <sup>[35,82,104]</sup>.

So führte CO, wie NO, zu einer Relaxation von Arterienringen in verschiedenen in vitro Experimenten <sup>[105,138]</sup>. Dieser Effekt scheint über cGMP-abhängige Proteinkinasen vermittelt zu sein. Diese finden sich in besonders hoher Konzentration in glatten Muskelzellen, Thrombozyten und im Kleinhirn. Eine Erhöhung des intrazellulären cGMP-Spiegels der glatten Muskelzellen bewirkte eine Erschlaffung der Gefäßmuskulatur <sup>[39]</sup>. Ungeachtet der großen medizinischen Bedeutung der cGMP-abhängigen Proteinkinasen ist ihr genauer Wirkungsmechanismus noch unbekannt. Man nimmt an, dass sie eine in der Plasmamembran lokalisierte Calcium-ATPase phosphorylieren und dadurch stimulieren, so dass die zytosolische Calciumkonzentration in der glatten Muskelzelle absinkt. Klinisch kann sich dies als Hypotension mit erniedrigtem SVRI manifestieren und somit mitverantwortlich für die in der Sepsis auftretende Vasodilatation sein. Auch in Thrombozyten ergab sich unter dem Einfluss der aktivierten cGMP-abhängigen Proteinkinase eine Verminderung der zellulären Calciumkonzentration, was den aggregationshemmenden Effekt von NO und CO erklären kann.

### 1.2.2 HO-Inhibition

Das natürliche Substrat der Hämoxxygenase ist das Häm, welches im menschlichen Körper zum größten Teil aus Hämoglobin stammt. Das Häm-Molekül besteht wie beschrieben aus einem Porphyrinring und einem zentral gebundenen Eisenatom. Die Hämoxxygenase besitzt einen gewissen Grad an Spezifität in Bezug auf die Konstitution dieses Porphyrinrings, zeigt aber nur geringe Spezifität bezüglich des zentral gebundenen Metallions. Die Hämoxxygenase kann also auch andere Metalloporphyrine neben dem natürlichen Substrat Fe-Protoporphyrin binden <sup>[52]</sup>.

In der Gruppe der synthetischen Metalloporphyrine gibt es sowohl Induktoren, wie es das natürliche Substrat Häm ist, als auch Inhibitoren der Hämoxxygenase. Einige der synthetischen Häm-Analoga zeigten also eine potente, kompetitive Hemmung der Hämoxxygenase. Dabei ist es möglich, die Aktivität des Enzyms durch die freigesetzte Menge des Produktes pro Menge Substrat und Zeit (pmol Bilirubin/mg Protein/h) zu

bestimmen <sup>[54]</sup>.

Als einen der stärksten Inhibitoren entdeckten KAPPAS & DRUMMOND das Sn-Mesoporphyrin (SnPP), welches als Hämoxygenase-Inhibitor eine postnatale Hyperbilirubinämie in neugeborenen Tieren unterdrücken konnte <sup>[52,53]</sup>.

Das Sn-Mesoporphyrin entspricht dem Sn-Protoporphyrin mit einer Reduktion der Vinylgruppen an C<sub>2</sub> und C<sub>4</sub> zu Ethylgruppen. Diese Veränderung hat eine stärkere Inhibition des Häm-Abbaus in vivo zur Folge <sup>[32]</sup>, u. a. belegt durch eine Reduktion des Serum-Bilirubins in vivo. Des Weiteren ist SnPP als nebenwirkungsarm mit einer geringen Toxizität beschrieben worden <sup>[42]</sup>. Die Eigenschaften des von uns verwendeten Zinn-Mesoprotoporhyrin (SnMPP) entsprechen denen von SnPP, mit dem Vorteil nicht lichtsensitiv zu sein (Herstellerangabe).

### 1.3 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Die Sepsis ist derzeit die Haupttodesursache nicht akut koronarkrankter Intensivpatienten, wobei die Mortalität je nach Studie und Schweregrad der Sepsis zwischen 28% und 60% <sup>[3,14,95]</sup> angegeben wird. Pathophysiologisch imponiert bei der Sepsis mit Multiorganversagen letztendlich die Hypotension <sup>[12]</sup>. Folglich muss ein therapeutisches Ziel die Wiederherstellung eines angemessenen Perfusionsdruckes sein. Als klinisch etabliertes Verfahren gelten die adäquate Volumentherapie in Kombination mit  $\alpha$ -agonistischer Katecholamin-Gabe. Es kommt allerdings im Laufe der Zeit zu einer verminderten Ansprechbarkeit des kardiovaskulären Systems auf Katecholamine <sup>[85,86]</sup>. Dies kann ein adäquates Anheben des Blutdruckes unmöglich machen und über ein Multiorganversagen zum Tode des Patienten führen. In Anbetracht der in den letzten Jahren unverändert hohen Mortalität sind neue Therapiekonzepte dringend erforderlich.

Die Blockade einzelner Mediatoren, z.B. TNF- $\alpha$  oder Interleukin, der septischen Kaskade ist mehrfach versucht worden, allerdings ohne erfolgversprechende Ergebnisse <sup>[15,37]</sup>. Die Blockade frühzeitig im Rahmen der Sepsis gebildeter

Mediatoren ist nur zu einem sehr frühen Zeitpunkt sinnvoll. Im weiteren Verlauf der Sepsis sind diese Mediatoren zum Teil nicht mehr nachweisbar oder eine Blockade selbiger führt nicht mehr zum erhofften Erfolg.

Eine Kombination vieler dieser Mediatoren bewirkt eine dauerhafte Aktivierung der induzierbaren Hämoxxygenase. Geht man davon aus, dass das durch die Hämoxxygenase freigesetzte CO, am Ende der Mediatoren-Kaskade steht und für die Vasodilatation mitverantwortlich ist, so stellt die pharmakologische Blockade der induzierbaren Hämoxxygenase ein logisches und erfolgversprechendes Therapiekonzept dar.

Durch die Inhibition der Hämoxxygenase mit SnMPP sollte untersucht werden, ob das gebildete Kohlenmonoxid und die Hämoxxygenase an den pathophysiologischen Vorgängen in der Sepsis maßgeblich beteiligt sind. Wir untersuchten zu diesem Zweck die Effekte der HO-Inhibition auf die kardiovaskuläre Funktion im hyperdynamen endotoxämischen Schaf.

## **2 Methodik**

Diese tierexperimentelle Studie wurde vom Regierungspräsidium Münster (AZ 23.0835.1.0 (34/96)) genehmigt. Durchgeführt wurde sie von Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin in der zentralen tierexperimentellen Einrichtung (Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. K.-D. Richter) der Westfälischen Wilhelms-Universität.

### **2.1 Versuchsmodell Schaf**

Untersucht wurden 22 weibliche Schafe mit einem Körpergewicht zwischen 34 kg und 46 kg. Sämtliche Tiere stammten aus dem landwirtschaftlichen Meisterbetrieb Alfons Pieper, Schafzucht und Landschaftspflege, Bergstrasse 13, D-58739 Wickede/Ruhr. Alle Tiere standen unter veterinärmedizinischer Kontrolle und waren als gesund anzusehen.

Die Durchführung der Versuche am Schafmodell ist in der tierexperimentellen Abteilung des Universitätsklinikum Münster seit geraumer Zeit eine etablierte Methode. So sind frühere Versuchsvorhaben genehmigt worden und deren Ergebnisse entsprechend veröffentlicht worden <sup>[9,10,19,48,49,79,140]</sup>.

### **2.2 Versuchsaufbau**

Die Dauer der Versuche mit Instrumentierung, Erholungsphase und der Untersuchungszeitraum wurde mit vier Tagen kalkuliert. In Einzelfällen wurde die Erholungsphase verlängert, infolge dessen der Versuchszeitraum von vier Tagen überschritten. Am ersten Tag wurden die Tiere instrumentiert, am zweiten Tag erfolgte die Ruhephase, am dritten Tag startete der eigentliche Versuch mittels Endotoxininfusion. Nach 24stündiger kontinuierlicher Endotoxinämie wurde bei einem Teil der Versuchstiere eine medikamentöse Intervention vorgenommen. Am Ende des Versuches wurde das Tier zur Organentnahme getötet.

### Zeitlicher Versuchsablauf

Procedere	Instrumentierung	Erholungsphase	Start Experiment	Intervention
Versuchstag	1	2	3	4
Endotoxingabe				

Abb. 5: Zeitlicher Versuchsablauf

Am dritten Versuchstag, vor Beginn der Endotoxininfusion (Zeitpunkt 0) wurden die Ruhewerte erhoben. Darunter fallen Temperatur, Blutgasanalyse und kardiopulmonaler Status. Messungen wurden zu jedem angegebenen Zeitpunkt standardisiert wiederholt. Diese erfolgten zu den Zeitpunkten 0, 24, 28, 32 und 48 Stunden nach Versuchsbeginn.

#### **2.2.1 Instrumentierung**

Bei allen untersuchten Tieren erfolgte eine chronische Instrumentierung. Nach der im folgenden beschriebenen Einführung der Katheter, wurde den Tieren Zeit zur Erholung gegeben. Es wurden nur Tiere ausgewählt, die keine Zeichen einer Infektion boten.

##### **2.2.1.1 Vorbereitung**

Den Versuchstieren wurde am Vorabend der Instrumentierung das Futter, vier Stunden vor Beginn der Anästhesie auch das Wasser entzogen. Dies geschah aus Gründen der Aspirationsprophylaxe. Zugleich konnten die Tiere an die äußeren Bedingungen der Käfighaltung gewöhnt werden.

### **2.2.1.2 Anästhesie**

Das Versuchstier erhielt zur Narkoseeinleitung eine intramuskuläre Injektion von Ketamin (10-15 mg/kg Ketanest®50, Parke-Davis GmbH Berlin, Freiburg i.Br., Deutschland). Falls nötig wurde vor Beginn der Kathetereinführung die Narkose mit einer weiteren intramuskulären Ketamin-Injektion aufrechterhalten. Sobald die Möglichkeit der intravenösen Applikation gegeben war, wurde die Anästhesie durch Gabe von Propofol (als Bolusinjektion Disoprivan, Zeneca, Schwetzingen, Deutschland) fortgesetzt.

### **2.2.1.3 Lagerung**

Nach Einleitung der Anästhesie und anschließender Bestimmung des Gewichtes wurde das Schaf in Rückenlage auf dem Operationstisch gelagert. Der Kopf wurde, zur Verhinderung einer möglichen Aspiration, rekliniert und zur Seite gedreht.

### **2.2.1.4 Anlage der Katheter**

War eine ausreichende Schlaftiefe erreicht, wurden die vorgesehenen Einstichstellen rasiert, gesäubert und mit alkoholischer Lösung desinfiziert. Die Instrumentierung erfolgte unter sterilen Bedingungen. Zunächst wurde eine 8,5 F Schleuse (8,5 Fr. Catheter Introducer Set, pvb Medizintechnik GmbH, Kichseeon, Deutschland) in die rechte V. jugularis platziert. Dies geschah unter manueller Stauung des Gefäßes und Verwendung der Seldinger-Technik. Hierzu wurde die ausgewählte Vene mit einer Stahlkanüle punktiert. Nach der erfolgreichen Punktion wurde durch die Stahlkanüle ein flexibler Stahldraht (Seldinger-Draht) eingeführt. Nun wurde bei liegendem Seldinger-Draht die ursprüngliche Punktionskanüle entfernt und eine Stichinzision vorgenommen, damit die großlumige Einführungsschleuse (Introducer), stabilisiert mit einem Dilatator, über den Seldinger-Draht in die Vena jugularis vorgeschoben werden konnte. Dilatator und Introducer werden gemeinsam über den Seldinger-Draht vorgeschoben. Die sich verjüngende Spitze des Dilatators dehnt beim Verschieben den Punktionskanal auf und ermöglicht dadurch das Einführen des großlumigen Introducers. Danach wurden der Seldinger-Draht und der Dilatator entfernt. Die Schleuse wurde durch kutane Fixierungsnähte gesichert. An den

Seitenarm der Schleuse wurde ein Dreiwegehahn für die Gabe von Propofol und Antibiotika konnektiert (Rocephin® 2g in 100 ml NaCl 0,9% gelöst) konnektiert. Im Anschluss wurde mit der kontinuierlichen Infusion von Ringer-Laktat-Lösung (2 ml/kg/h) begonnen.

Nach gründlicher Säuberung und Desinfektion wurde unter sterilen Bedingungen, vorwiegend in die linke Arteria femoralis, mittels Seldinger-Technik ein Polyäthylen-Katheter (18G Leader Cath, Vygon GmbH, Aachen,) eingeführt. War die linke A. femoralis aus anatomischen Gründen nicht zu punktieren bzw. der Katheter nicht regelgerecht zu platzieren, wurde auf die rechte A. femoralis übergegangen. Das proximale Ende des Polyäthylen-Katheters wurde unmittelbar durch kutane Fixierungsnähte gesichert, die Druckleitung wurde ebenfalls fixiert.

Nachdem die Katheter in die A. femoralis und in die V. jugularis externa gelegt worden waren, wurde via Einführungsschleuse der Pulmonalkatheter (Swan-Ganz-Katheters) eingeschwenkt <sup>[120]</sup>. Hierbei handelte es sich um einen pulmonalarteriellen Thermodilutionskatheter (Modell 93A-831 7,5F, Baxter Healthcare Corporation, Unterschleißheim, Deutschland). Vor Einschwenken des Swan-Ganz-Katheters wurden alle Schenkel mit NaCl-Lösung gespült und die Funktionstüchtigkeit des Ballonsystems überprüft. Die gespülten Schenkel wurden mit Dreiwegehähnen verschlossen und mit Druckleitungen verbunden. Diese wiederum wurden an die Druckwandler (DTX™ Druckwandler Kit, Ohmeda GmbH, Freiburg, Deutschland) angeschlossen. Somit konnten der intravasale Druck über den distalen Schenkel abgeleitet und auf dem angeschlossenen Monitor (Hellige Servomed, Hellige GmbH, Freiburg, Deutschland) dargestellt werden. Gleiches galt für den Katheter der Arteria femoralis. Nun wurde der Katheter unter kontinuierlicher Kontrolle der Druckkurve über den Introducer in die Vena jugularis vorgeschoben. Bei Eintritt in die Vena cava superior wurde der Ballon mit 1-1,5ml Luft gefüllt, um den Katheter über den rechten Vorhof durch die Trikuspidalklappe in den rechten Ventrikel und von dort durch die Pulmonalklappe in eine Lungenarterie einzuschwenken <sup>[119]</sup>. Dabei ergaben sich die typischen Druckschwankungen (Abb. 6) bis zu dem Zeitpunkt, an dem der Katheter in einen Ast der Arteria pulmonalis

nach 50-60cm platziert worden war. Hier verschloss der gefüllte Ballon das Lumen des Pulmonalarterieastes und die Druckkurve wurde silent (Wedge-Position des Katheters). Durch Entblockung des Ballons war dieser Zustand reversibel.

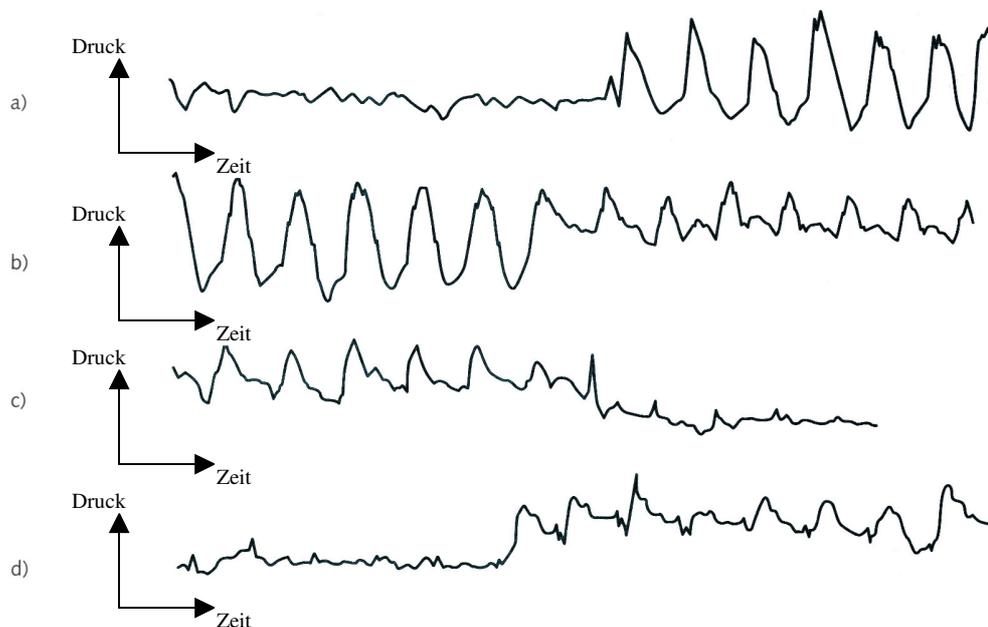


Abb.6: Druckkurven während der Platzierung des Pulmonaliskatheters

- a) Vom rechten Vorhof in den rechten Ventrikel;
- b) vom rechten Ventrikel in die A. pulmonalis;
- c) von der A. pulmonalis in die Wedge-Position;
- d) nach Entblocken des Ballons gleitet der Katheter aus der Wedge-Position zurück in die A. pulmonalis.

Nach Abschluss der Katheteranlage wurden die Katheter und die Einführungsschleuse an der Haut und dem Fell des Tieres fixiert, um eine spätere Dislokation bzw. Diskonnektion zu vermeiden. Im Anschluss wurde die Anästhetikazufuhr gestoppt und das Tier erlangte den Wachzustand nach einigen Minuten zurück. Die Versuchstiere wurde in einem Spezialkäfig untergebracht, in welchem sie freien Zugang zu Wasser und Futter erhielten. Der gewohnte 12h Hell/Dunkel- Rhythmus wurde beibehalten. Zur Prophylaxe eines

thrombotischen Verschlusses wurden die Gefäßkatheter mit einer Heparin-Kochsalz-Lösung (5 I.E. Heparin/ml NaCl 0,9%) gespült. Im Verlauf der nächsten Tag wurden die Tiere kontinuierlich observiert.

### **2.2.2 Erholungsphase**

Um sich von der Instrumentierung zu erholen, wurde den Tieren eine Erholungsphase von einem oder mehreren Tagen gegeben. Diese Erholungsphase war notwendig, um konstante hämodynamische Bedingungen zu erzielen, ein Abheilen der Punktionstellen zu gewährleisten und eine Gewöhnung der Schafe an die Käfigbedingungen zu erreichen. Objektive Kriterien wie rektale Temperatur, Leukozytenzahl und Diarrhoe kamen zur Anwendung, um den Gesundheitszustand des Schafes zu beurteilen. Schafe, die eine Temperatur von über 40 °C hatten, wurden nicht in den Versuch aufgenommen, wobei die physiologische Körpertemperatur des Schafes über der des Menschen liegt. Wurde eine Leukozytenzahl von über 12.000/ $\mu$ l festgestellt, hatte das ebenfalls den Ausschluss des Schafs vom Versuchsvorhaben zur Folge.

### **2.2.3. Spezielle Methodik**

In dieser Studie wurde die Endotoxinämie induziert, indem den Tieren während des gesamten Untersuchungszeitraumes kontinuierlich Endotoxin (*Salmonella typhosa* Lipopolysaccharide, 10 ng/kg/min) applizierte. Die Applikation erfolgte mittels Infusionspumpe (Perfusor, Braun, Melsungen, Deutschland).

### Interventionsablauf

Prozedere	Ausgangsdaten	Endotoxin Start	Endotoxindaten	SnMPP Gabe	Behandlungsdaten	Behandlungsdaten	Behandlungsdaten
Stunden	0	0	24	24	28	32	48
Endotoxin							

Abb. 7: Zeitlicher Interventionsablauf

Die Infusionsgeschwindigkeit von 2 ml/kg/h Ringer-Laktat-Lösung wurde während der endotoxämischen Phase auf 3 ml/kg/h erhöht.

Die Einteilung der Tiere in drei Versuchsgruppen erfolgte randomisiert. Dabei handelte es sich um eine nicht-endotoxämische Kontrollgruppe (Kontrolle), eine endotoxämische Gruppe (Endotoxinämie) und eine endotoxämische Interventionsgruppe (Endotoxinämie + SnMPP). Die Intervention geschah nach 24stündiger Endotoxinämie. Während die endotoxämische Interventionsgruppe Zinn-Mesoporphyrin (SnMPP) erhielt, wurde der endotoxämischen Gruppe Kochsalzlösung appliziert. Die Tiere der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe erhielten zum Zeitpunkt  $t=24h$  Kochsalzlösung, ohne jedoch endotoxämisch zu sein. Die Applikationen erfolgten jeweils über die Schleuse in die rechte V. jugularis. Alle Maßnahmen wurden unter standardisierten Bedingungen in den drei Gruppen durchgeführt.

Zinn-Mesoporphyrin wurde in einer Konzentration von  $3,7 \text{ mg/kg} \cong 5 \text{ } \mu\text{mol/kg}$  in 50ml 0,9%iger NaCl-Lösung gegeben. Die Tiere der endotoxämischen Gruppe erhielten ausschließlich 50ml 0,9%iger NaCl-Lösung. Innerhalb von 30 Minuten wurden die Lösungen mittels Perfusor verabreicht. Hämodynamische und blutgas-

analytische Messungen erfolgten in allen Gruppen. Organentnahmen und die Aktivitätsbestimmung der Hämoxigenase sind ebenfalls bei allen Tieren vorgenommen worden.

## **2.2.4 Monitoring**

### **2.2.4.1 Hämodynamik**

Der Pulmonalkatheter besteht aus drei Schenkeln, einem Temperaturfühler mit entsprechender Leitung und einer Ballonzuleitung. Die drei Schenkel werden unterteilt in einen distalen Schenkel, welcher seine Öffnung an der Katheterspitze besitzt, einen proximalen, Öffnung 30cm proximal der Katheterspitze und einen medialen, welcher seine Öffnung unmittelbar distal der proximalen aufweist. Der proximale Schenkel wurde mit einem Temperaturlaufnehmer versehen. Die Öffnung des proximalen Schenkels kam vor dem rechten Herzen zu liegen; über ihn konnte der zentralvenöse Druck (ZVD) gemessen werden und das Herz-Zeit-Volumen (HZV) bestimmt werden. Die Öffnung des distalen Schenkels befand sich in einem Ast der Pulmonalarterie, so dass der MPAD und der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP, Wedge-Druck) erhoben werden konnte. Letzteres geschah durch Füllen des Ballons des Pulmonalkatheters. Über den dritten Schenkel des Pulmonalkatheters wurde das Endotoxin kontinuierlich appliziert. Der Femoraliskatheter diente der Bestimmung des systemarteriellen Blutdrucks.

Der Nullabgleich für die Druckmessungen erfolgte auf Höhe des Schultergelenks, entweder in stehender oder liegender Position. Der Nullabgleich wurde vor jeder Messung erneut durchgeführt und somit der Lage des Tieres angepasst.

Über den proximalen Schenkel wurde die gekühlte 0,9 %ige NaCl-Lösung (2-5°C) zur Messung des Herz-Minuten-Volumens injiziert (Thermodilutionsmethode). Dazu musste der Temperaturfühler an einen Herz-Zeit-Volumen-Computers (Vigilance®-Monitor Modell VG32, Baxter Healthcare Cooperation, Unterschleißheim, Deutschland) angeschlossen sein. Die Flüssigkeit wurde als 10ml Bolus gegeben. Mit dem Blutstrom wurde die NaCl-Lösung durch den rechten Vorhof und durch den rechten Ventrikel in die Arteria pulmonalis transportiert. Auf diesem Wege wurde die

rechten Ventrikel in die Arteria pulmonalis transportiert. Auf diesem Wege wurde die Injektionslösung erwärmt und verdünnt am Thermistor vorbeigespült. Durch die Zeit- und Temperaturdifferenz zwischen Applikationsort und Thermistor konnte das Herzzeitvolumen ausgerechnet werden. Um ein möglichst genauen Wert zu erhalten, wurde der Mittelwert aus mindestens drei aufeinanderfolgenden validen Messungen verwendet.

Der Herzindex (HI, in l/min/m<sup>2</sup>), die Herzfrequenz (HF, in bpm), der Schlagvolumenindex (SVI, in ml/m<sup>2</sup>), der systemvaskuläre Widerstandsindex (SVRI, in dyn·s·cm<sup>-5</sup>·m<sup>2</sup>) und der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex (PVRI, in dyn·s·cm<sup>5</sup>·m<sup>2</sup>) wurden nach Standardformeln berechnet :

$$\begin{aligned} \text{HI} &= \text{Herz-Zeitvolumen, dividiert durch Körperoberfläche} \\ \text{SVI} &= \text{HI/HF} \\ \text{SVRI} &= (\text{MAD} - \text{ZVD}) \times 79,9/\text{CI} \\ \text{PVRI} &= (\text{PAD} - \text{PCWP}) \times 79,9/\text{CI} \end{aligned}$$

Die Körperoberfläche der Schafe wurde von Guyton et al. folgend vom Körpergewicht abgeleitet <sup>[44]</sup>.

#### **2.2.4.2 Gasaustausch**

Zu jedem Messzeitpunkt wurden arterielle und gemischt-venöse Blutgasanalysen photometrisch durchgeführt (ABL 520, Radiometer Copenhagen, Kopenhagen, Dänemark). Dabei wurden folgende Parameter bestimmt, der Hämoglobinwert (Hb), die Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff (HbO<sub>2</sub>), der Anteil des mit Kohlenmonoxid (CO) beladenen Hämoglobins (COHb), ph-Wert, die Partialdrücke von CO<sub>2</sub> und O<sub>2</sub>, das Hydrogencarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sowie der Basenüberschuss (BE).

#### **2.4.5 Organentnahme**

Mit Ablauf der Versuchszeit wurden die Tiere in tiefe Propofolanästhesie versetzt und mit 100 ml gesättigter Kaliumchloridlösung getötet. Nach Begutachtung der Organe in situ wurden Organproben zur weiteren Untersuchung entnommen. Dabei handelte es sich um mehrere Anteile des Parenchyms folgender Organe: Lunge, Leber und Milz. Des Weiteren wurden Gefäßabschnitte der Arteria carotis und der Aorta präpariert und ebenfalls Proben entnommen. Im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Münster wurde die Hämoxigenase-Aktivität der entnommenen Proben bestimmt.

#### **2.3 Hämoxigenase-Aktivität**

Im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Münster wurde die Hämoxigenase-Aktivität der entnommenen Proben, wie in der Arbeit von COOK et al. beschrieben, bestimmt <sup>[26]</sup>.

#### **2.4 Statistik**

Die Daten wurden als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes von n angegeben, wobei n die Anzahl der Schafe der jeweiligen Untersuchungsgruppe repräsentiert. Für die Gruppe der nicht-endotoxämischen Kontrolltiere war n=6, In den Gruppen der endotoxämischen Kontrolle und der endotoxämischen Intervention war jeweils n=8.

Betrag die Irrtumswahrscheinlichkeit für einen Unterschied weniger als 5%, so wurde dieser als statistisch signifikant definiert. Die gemessenen Parameter wurden mit

Hilfe der Anova II-Analyse (Zwei-Wege-Varianzanalyse für wiederholte Messungen) auf Signifikanz analysiert. Differenzen zwischen den beobachteten Parametern wurden mit Hilfe des Fishers exact Tests und nachfolgendem t-Test für unverbundene Stichproben auf Signifikanz geprüft. Die Signifikanzgrenze wurde hier ebenfalls bei  $p < 0,05$  festgelegt. Die statistische Darstellung erfolgte mit Hilfe des Microsoft Excel-2000-Programms.

### 3. Ergebnisse

Von den 26 instrumentierten Tieren wurden sechs Tiere als nicht-endotoxämische Kontrolltiere behandelt. 20 Schafen wurde Endotoxin verabreicht. Tiere der endotoxämischen Interventionsgruppe erhielten zusätzlich den HO-Inhibitor SnMPP. Da vier Tiere im Verlauf der Endotoxinämie verstarben, wurden sie aus der Auswertung der Studie ausgeschlossen. Es wurden acht Tiere der endotoxämischen Kontrollgruppe und acht Tiere der endotoxämischen Interventionsgruppe in die Studie aufgenommen.

#### 3.1 Vergleich der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe mit der endotoxämischen Kontrollgruppe

Im Vergleich der nicht-endotoxämischen mit der endotoxämischen Kontrollgruppe kam es zu signifikanten Unterschieden in der Hämodynamik. Die kontinuierliche Applikation des *Salmonella typhosa* Endotoxins in einer Dosierung von 10 ng/kg/min führte zu einem hyperdynamen, septischen Krankheitsbild. Der MAD (Abb.8) der endotoxämischen Kontrollgruppe fiel von einem Ausgangswert von  $85,1 \pm 1,2$  mmHg auf  $76,6 \pm 3,8$  mmHg nach 48 Stunden.

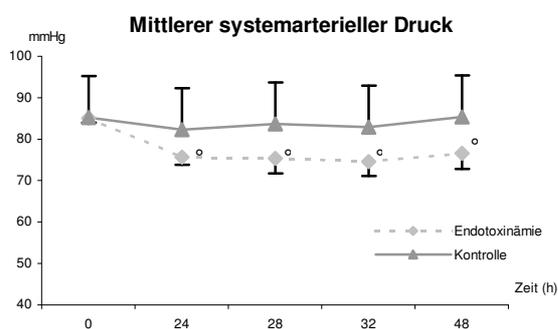


Abb.8: Mittlerer systemarterieller Druck der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \* $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. ° $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

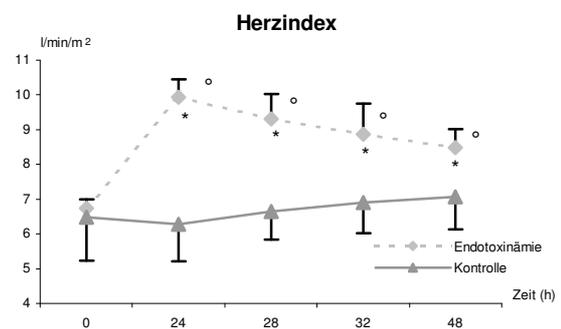


Abb.9: Herzindex der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \* $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. ° $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

In der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe blieb der MAD konstant, bei einem Ausgangswert von  $85,1 \pm 13,2$  mmHg und einem MAD von  $85,3 \pm 12,9$  mmHg nach 48 Stunden. Während der Endotoxinämie kam es zu einem signifikanten Anstieg des Herzindex (Abb.9), innerhalb der ersten 24 Stunden von  $6,7 \pm 0,3$  l/min/m<sup>2</sup> auf  $9,9 \pm 0,5$  l/min/m<sup>2</sup>, nach 48 Stunden auf  $8,5 \pm 0,5$  l/min/m<sup>2</sup>. Der SVRI (Abb.10) war in der Endotoxinämie signifikant erniedrigt, bei einem Ausgangswert von  $969 \pm 45$  dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>, sank der systemische Gefäßwiderstand nach 48 Stunden auf  $690 \pm 54$  dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>. In der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe blieben der SVRI und der Herzindex während der Versuchsdauer gleich.

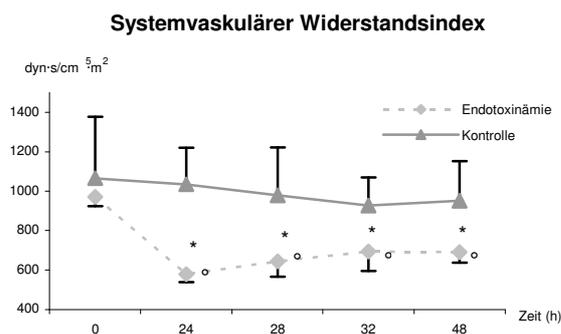


Abb.10: Systemvaskulärer Widerstandsindex der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \*P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. °P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

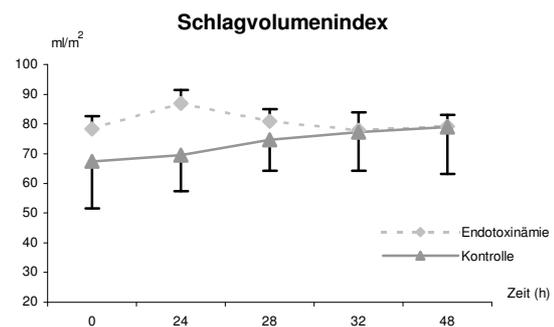


Abb.11: Schlagvolumenindex der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \*P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. °P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

Der SVI (Abb.11) blieb in der endotoxämischen Kontrollgruppe konstant, der Ausgangswert lag bei  $78,4 \pm 4,2$  ml/m<sup>2</sup> und zu Versuchsende bei  $79,3 \pm 3,8$  ml/m<sup>2</sup>. In der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe stieg der SVI an, von einem Ausgangswert bei  $67,4 \pm 15,8$  l/m<sup>2</sup> auf  $79,9 \pm 15,8$  ml/m<sup>2</sup> nach 48 Stunden. Die Herzfrequenz (Abb.12) war in der endotoxämischen Kontrollgruppe signifikant gesteigert, die Ausgangsfrequenz lag bei  $83 \pm 2,1$  bpm, nach 48 Stunden bei  $108 \pm 6,3$  bpm. Die Herzfrequenz, im Vergleich zur nicht-endotoxämischen Kontroll-

gruppe, war nach 24, 28, 32 und 48 Stunden signifikant erhöht. Zu Versuchsbeginn

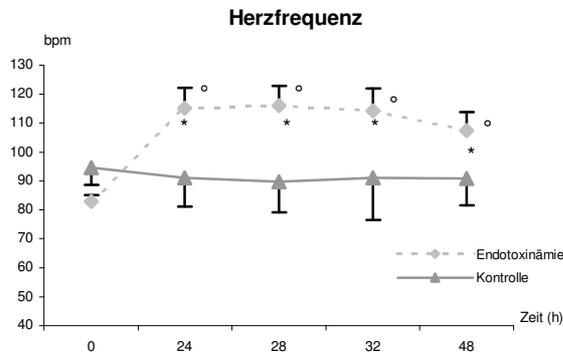


Abb.12: Herzfrequenz der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \* $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. ° $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

war die Herzfrequenz der endotoxämischen Kontrolltiere  $95 \pm 6$  bpm, zu Versuchsende  $91 \pm 9,2$  bpm. Die erhöhten Herzindices in der endotoxämischen Kontrollgruppe beruhten auf einer Steigerung der Herzfrequenz bei konstantem Schlagvolumenindex. Der pulmonalarterielle Druck (Abb.13) hatte in der endotoxämischen Kontrollgruppe einen Ausgangswert von  $17,6 \pm$

$1,1$  mmHg und stieg nach 24 Stunden auf  $22,1 \pm 1,5$  mmHg, nach 48 Stunden wurde ein MPAD von  $20,5 \pm 0,9$  mmHg gemessen. Der PVRI (Abb.14) der endotoxämischen Tiere war im Verlauf tendenziell geringer als die Ausgangswerte, aber nicht signifikant verändert und im Vergleich zur nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe ebenfalls nicht signifikant verändert. Der MPAD der endotoxämischen Tiere war ab 24 Stunden signifikant erhöht gegenüber den nicht-endotoxämischen Tieren. Der pulmonalarterielle Druck stieg bei unverändertem PVRI aufgrund des erhöhten CI an.

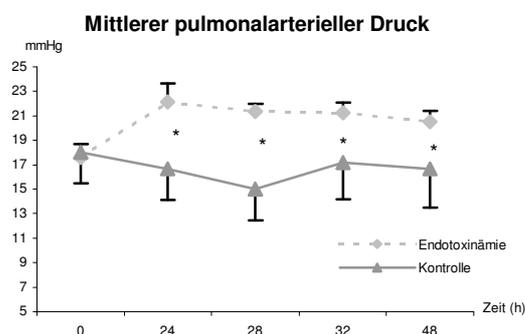


Abb.13: Mittlerer pulmonalarterieller Druck der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \* $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. ° $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

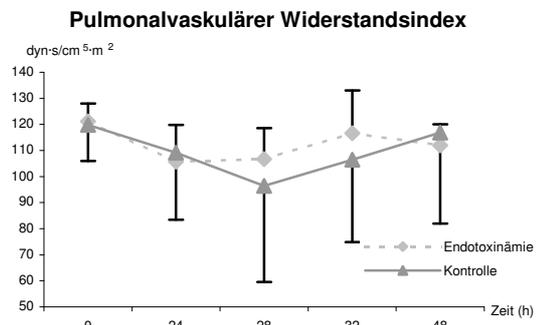


Abb.14: Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \* $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. ° $P < 0,05$  endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

Der ZVD und der PCWP (Tab.6 und 7) waren im Verlauf der Zeit in beiden Gruppen und im Vergleich beider Gruppen nicht signifikant verändert.

In der mit Endotoxin behandelten Gruppe wurde eine kontinuierliche Temperaturerhöhung (Abb.15) gemessen. Die Körpertemperatur betrug zu Beginn des Versuches  $39,8 \pm 0,4$  Grad Celsius, nach 24 Stunden  $41,3 \pm 0,6$  Grad Celsius und nach 48 Stunden  $40,8 \pm 0,4$  Grad Celsius. Die Tiere der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe hatten zu Versuchsbeginn eine Körpertemperatur von  $39,7 \pm 0,4$  Grad Celsius, nach 24 Stunden  $39,7 \pm 0,5$  Grad Celsius und nach 48 Stunden  $39,9 \pm 0,5$  Grad Celsius.

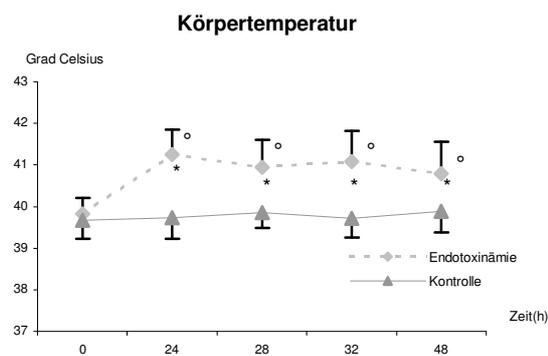


Abb.15: Körperkerntemperatur (mittels Swan-Ganz-Katheter gemessen) der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, \*P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus nicht-endotoxämischer Kontrollgruppe. °P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

Die durchgeführten Blutgasanalysen ergaben weder im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen noch im Vergleich beider Gruppen signifikante Veränderungen. Der arterielle  $pO_2$  (Abb.16) war in beiden Gruppen konstant, ebenso der arterielle pH-Wert (Abb.18). Tendenziell lagen die  $pO_2$ -Werte der endotoxämischen Kontrolltiere über denen der nicht-endotoxämischen Kontrolltiere. Die arteriellen  $pCO_2$ -Werte (Abb.17) und der Basenüberschuß (Abb.19) waren in den ersten 32 Stunden

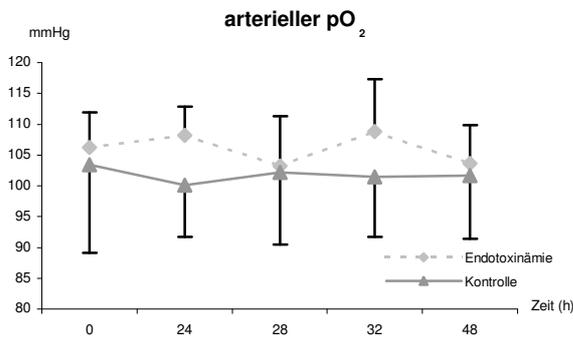


Abb.16: Arterieller pO<sub>2</sub> der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwerte ± Standardfehler, \*P< 0,05 versus endotoxämischer Kontrollgruppe. °P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

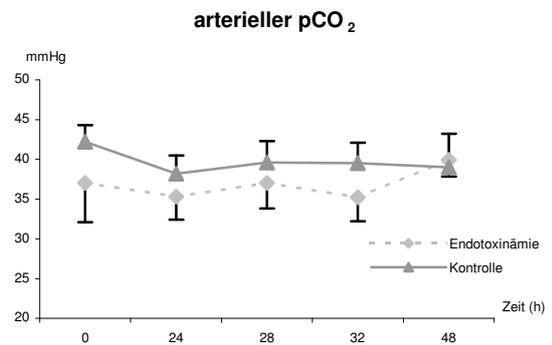


Abb.17: Arterieller pCO<sub>2</sub> der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwerte ± Standardfehler, \*P< 0,05 versus endotoxämischer Kontrollgruppe. °P<0,05 endotoxämische Kontrollgruppe versus 0 Stunden.

geringer als die Messwerte der nicht-endotoxämischen Kontrolltiere. Nach 48 Stunden waren der arterielle Basenüberschuß und der pCO<sub>2</sub> der endotoxämischen Kontrolltiere im zeitlichen Verlauf und im Vergleich zur nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe tendenziell erhöht.

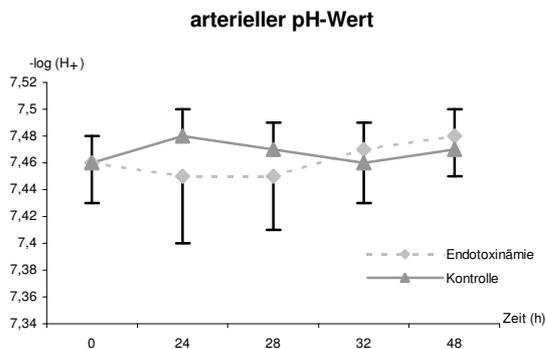


Abb.18: Arterieller pH-Wert der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwerte ± Standardfehler, \*P< 0,05 versus endotoxämischer Kontrollgruppe.

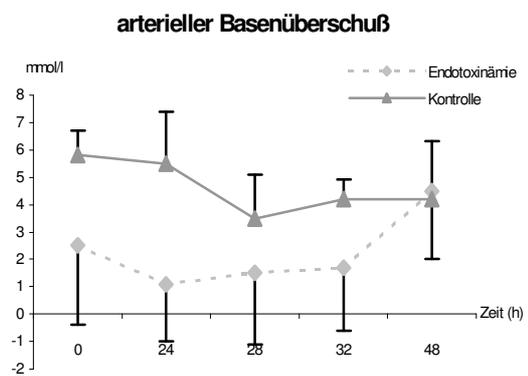


Abb.19: Arterieller Basenüberschuß der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Kontrollgruppe. Legende: Mittelwerte ± Standardfehler, \*P< 0,05 versus endotoxämischer Kontrollgruppe.

**Tab.6: Hämodynamik der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe.**

Hämodynamische Messwerte und errechnete Maße in der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe. Angegebene Werte wurden in folgenden Größen gemessen: HMV in l/min, HI in l/min/m<sup>2</sup>, SVI in ml/m<sup>2</sup>, HF in bpm, MAD, MPAD, ZVD und PCWP in mmHg, SVRI und PVRI in dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>. \*P< 0,05 versus 0h.

		0h	24h	28h	32h	48h
<b>HMV</b>	Mittelwert	4,2	4,2	4,4	4,6	4,7
	Standardabweichung	±1,2	±1,2	±1,5	±1,4	±1,1
<b>HI</b>	Mittelwert	6,5	6,3	6,6	6,9	7,1
	Standardabweichung	±1,3	±1,1	±0,8	±0,9	±0,9
<b>SVI</b>	Mittelwert	67,4	69,5	74,8	77,2	78,9
	Standardabweichung	±15,8	±12,1	±10,5	±12,9	±15,8
<b>HF</b>	Mittelwert	95	91	90	91	91
	Standardabweichung	±6,0	±9,8	±10,5	±14,4	±9,2
<b>MAD</b>	Mittelwert	85,2	82,3	83,7	83	85,3
	Standardabweichung	±13,2	±12,0	±18,4	±11,8	±12,9
<b>MPAD</b>	Mittelwert	18	16,7	15	17,2	16,7
	Standardabweichung	±2,5	±2,6	±2,5	±2,9	±3,2
<b>ZVD</b>	Mittelwert	2,5	2,5	3	3,7	2,8
	Standardabweichung	±2,6	±1,9	±3,5	±1,9	±2,1
<b>PCWP</b>	Mittelwert	8,33	7,83	7	8	6,5
	Standardabweichung	±1,4	±1,3	±0,9	±0,6	±1,6
<b>SVRI</b>	Mittelwert	1065	1035	979	927	951
	Standardabweichung	±312	±185	±244	±144	±202
<b>PVRI</b>	Mittelwert	119	109	96	106	115
	Standardabweichung	±14	±26	±37	±32	±35

**Tab.7: Hämodynamik der endotoxämischen Kontrollgruppe**

Hämodynamische Messwerte und errechnete Maße in der endotoxämischen Kontrollgruppe. Angegebene Werte wurden in folgenden Größen gemessen: HMV in l/min, HI in l/min/m<sup>2</sup>, SVI in ml/m<sup>2</sup>, HF in bpm, MAD, MPAD, ZVD und PCWP in mmHg, SVRI und PVRI in dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>. °P< 0,05 versus 0h.

		0h	24h	28h	32h	48h
<b>HMV</b>	Mittelwert	6,5	9,6°	9,0°	8,6°	8,4°
	Standardabweichung	±0,3	±0,7	±0,9	±1,0	±0,6
<b>HI</b>	Mittelwert	6,7	9,9°	9,3°	8,9°	8,5°
	Standardabweichung	±0,3	±0,5	±0,7	±0,9	±0,5
<b>SVI</b>	Mittelwert	78,4	86,9	80,9	77,9	79,3
	Standardabweichung	±4,2	±4,5	±4,1	±6,1	±3,8
<b>HF</b>	Mittelwert	83	115°	116°	114°	108°
	Standardabweichung	±2,1	±6,9	±6,9	±7,9	±6,3
<b>MAD</b>	Mittelwert	85,1	75,6°	75,3°	74,6°	76,6°
	Standardabweichung	±1,2	±1,8	±3,7	±3,6	±3,8
<b>MPAD</b>	Mittelwert	17,6	22,2°	21,4°	21,2°	20,5°
	Standardabweichung	±1,1	±1,5	±0,6	±0,8	±0,9
<b>ZVD</b>	Mittelwert	3,9	5,3	4,6	4,1	5,3
	Standardabweichung	±1,2	±0,9	±0,9	±0,9	±0,9
<b>PCWP</b>	Mittelwert	7,4	9,4	9,5	9,4	8,8
	Standardabweichung	±0,6	±0,7	±0,6	±0,6	±0,8
<b>SVRI</b>	Mittelwert	969	579°	644°	693°	690°
	Standardabweichung	±45	±40	±78	±97	±54
<b>PVRI</b>	Mittelwert	121	106	106	116	111
	Standardabweichung	±7	±14	±12	±16	±8

**Tab. 8: Blutgasanalysen der nicht-endotoxämischen Kontrollgruppe**

Angegebene Werte wurden in folgenden Größen gemessen: pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub> in mmHg, ph-Wert in -log[H<sup>+</sup>] und der Basenüberschuß in mmol/l. °P < 0,05 versus 0h.

		0h	24h	28h	32h	48h
<b>pO<sub>2</sub> art.</b>	Mittelwert	106	107,1	102,4	105,5	106,5
	Standardabweichung	±7,2	±5,9	±5,6	±4,9	±4
<b>pCO<sub>2</sub> art.</b>	Mittelwert	42,2	38,2	39,6	39,5	39
	Standardabweichung	±2	±2,3	±2,7	±2,6	±4,2
<b>pH-Wert art.</b>	Mittelwert	7,46	7,48	7,47	7,46	7,47
	Standardabweichung	±0,02	±0,02	±0,02	±0,03	±0,03
<b>BE art.</b>	Mittelwert	5,8	5,5	3,5	4,2	4,2
	Standardabweichung	±0,9	±1,9	±1,6	±0,7	±2,1

**Tab. 9: Blutgasanalysen der endotoxämischen Kontrollgruppe**

Angegebene Werte wurden in folgenden Größen gemessen: pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub> in mmHg, ph-Wert in -log[H<sup>+</sup>] und der Basenüberschuß in mmol/l. °P < 0,05 versus 0h.

		0h	24h	28h	32h	48h
<b>pO<sub>2</sub> art.</b>	Mittelwert	106,2	108,2	103,2	108,8	103,6
	Standardabweichung	±5,7	±4,6	±8,1	±8,4	±6,3
<b>pCO<sub>2</sub> art.</b>	Mittelwert	37	35,3	37	35,2	39,9
	Standardabweichung	±5	±2,9	±3,2	±3	±2,1
<b>pH-Wert art.</b>	Mittelwert	7,46	7,45	7,45	7,47	7,48
	Standardabweichung	±0,03	±0,05	±0,04	±0,04	±0,03
<b>BE art.</b>	Mittelwert	2,5	1,1	1,5	1,7	4,5
	Standardabweichung	±2,9	±2,1	±2,6	±2,3	±2,5

### 3.2 Vergleich der endotoxämischen Kontrollgruppe mit der endotoxämischen Interventionsgruppe

Im Vergleich der endotoxämischen Interventionsgruppe mit der endotoxämischen Kontrollgruppe traten keine signifikanten Unterschiede der erhobenen Messwerte für Hämodynamik und Blutgasanalyse auf.

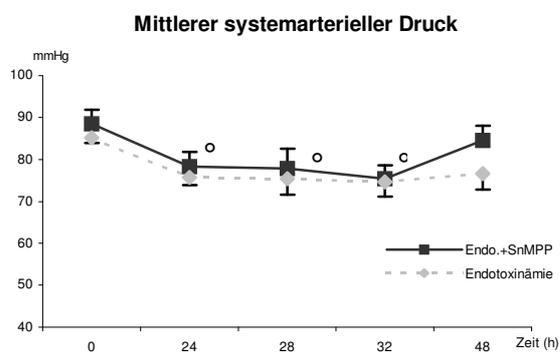


Abb.20: Mittlerer systemarterieller Druck der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler, °P < 0,05 versus 0 Stunden.

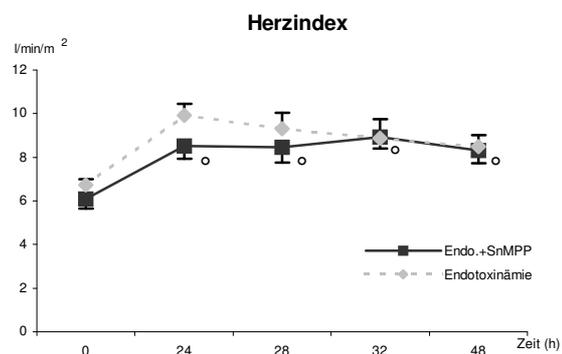


Abb.21: Herzindex der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler, °P < 0,05 versus 0 Stunden.

Die kontinuierliche Applikation des Salmonella typhosa Endotoxins führte wie beschrieben (siehe 3.1) in der endotoxämischen Kontrollgruppe zu einem hyperdynamen, septischen Krankheitsbild. In der endotoxämischen Interventionsgruppe traten diese Veränderungen der Hämodynamik ebenfalls auf. Der MAD (Abb. 20) der endotoxämischen Interventionsgruppe fiel signifikant von einem Ausgangswert von  $88,5 \pm 3,4$  mmHg auf  $78,3 \pm 3,5$  mmHg nach 24 Stunden und nach 48 Stunden auf  $84,5 \pm 3,4$  mmHg. Zu Versuchsende war der MAD der endotoxämischen Interventionsgruppe gegenüber der endotoxämischen Kontrollgruppe tendenziell erhöht. In der endotoxämischen Kontrollgruppe betrug der MAD zu Versuchsbeginn  $85,1 \pm 1,2$  mmHg (Abb.20), nach 24 Stunden  $75,6 \pm 1,8$  mmHg und nach 48 Stunden  $76,6 \pm 3,8$  mmHg. Der Anstieg des Herzindex der endotoxämischen Interventionsgruppe (Abb.21) war signifikant, innerhalb der Versuchsdauer von  $6,1 \pm 0,4$  l/min/m<sup>2</sup> auf  $8,3 \pm 0,6$  l/min/m<sup>2</sup>. Der Herzindex der endotoxämischen Kontrollgruppe stieg signifikant von  $6,7 \pm 0,3$  l/min/m<sup>2</sup> auf

8,5 ± 0,5 l/min/m<sup>2</sup> nach 24 Stunden. Der SVRI (Abb.22) war in der endotoxämischen Interventionsgruppe signifikant erniedrigt, bei einem Ausgangswert von 1153 ± 69 dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup> sank der systemische Gefäßwiderstand nach 48 Stunden auf 782 ± 57 dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>. In der endotoxämischen Kontrollgruppe fiel der SVRI (Abb.22) im gleichen Zeitraum ebenfalls signifikant von 969 ± 45 dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup> auf dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>.

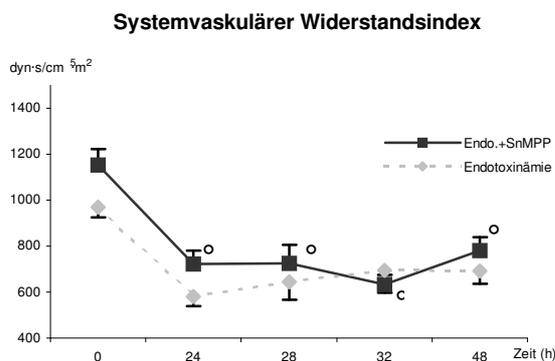


Abb.22: Systemvaskulärer Widerstandsindex der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert ± Standardfehler, °P < 0,05 versus 0 Stunden.

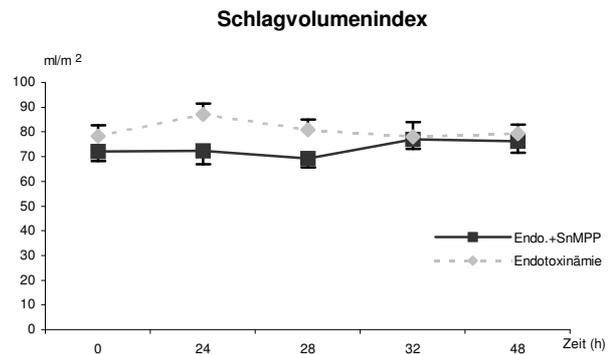


Abb.23: Schlagvolumenindex der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert ± Standardfehler, °P < 0,05 versus 0 Stunden.

Der SVI (Abb.23, Tab.10) war in der endotoxämischen Interventionsgruppe konstant,

der Ausgangswert lag bei 72 ± 3,8

ml/m<sup>2</sup> und zu Versuchsende bei 76,3

± 4,6 ml/m<sup>2</sup>. In der endotoxämischen

Kontrollgruppe lag der SVI nach 48

Stunden bei 79,3 ± 3,8 l/m<sup>2</sup> bei einem

Ausgangswert von 78,4 ± 4,2 l/m<sup>2</sup>.

Die Herzfrequenz (Abb. 24, Tab.10)

der endotoxämischen Interventions-

gruppe war, wie auch die

Herzfrequenz der endotoxämischen

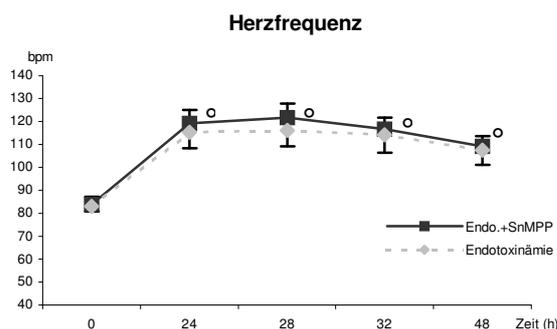


Abb.24: Herzfrequenz der endotoxämischen Kontrollgruppe und endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert ± Standardfehler, ° P < 0,05 versus 0 Stunden.

Kontrollgruppe, signifikant gesteigert. Die Ausgangsfrequenz lag bei  $84 \pm 3,1$  bpm, nach 48 Stunden lag der Messwert bei  $109 \pm 4,4$  bpm.

Wie auch in der endotoxämischen Kontrollgruppe beruhten die erhöhten Herzindices der endotoxämischen Interventionsgruppe auf einer Steigerung der Herzfrequenz, nicht auf einer Erhöhung des Schlagvolumenindex.

Der pulmonalarterielle Druck (Abb.25) hatte in der endotoxämischen Interventionsgruppe einen Ausgangswert von  $16,9 \pm 1,5$  mmHg und stieg nach 24 Stunden auf  $22,8 \pm 1,6$  mmHg. Nach 48 Stunden wurde ein MPAD von  $21 \pm 2,6$  mmHg gemessen. In der Gruppe der endotoxämischen Kontrolltiere lag der MPAD zu Versuchsbeginn bei  $17,6 \pm 1,1$  mmHg und zu Versuchsende bei  $20,5 \pm 0,9$  mmHg (Abb.25). Der MPAD der endotoxämischen Tiere, mit oder ohne SnMPP-Behandlung, war nach 24 Stunden und den folgenden Messungen signifikant erhöht gegenüber den nicht-endotoxämischen Tieren. Der pulmonalarterielle Druck stieg bei unverändertem PVRI aufgrund des erhöhten CI an. Der PVRI (Abb.25) der endotoxämischen Interventionsgruppe betrug zu Beginn des Versuches  $137 \pm 27$  dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>, und es ergaben sich zu den folgenden Messungen keine

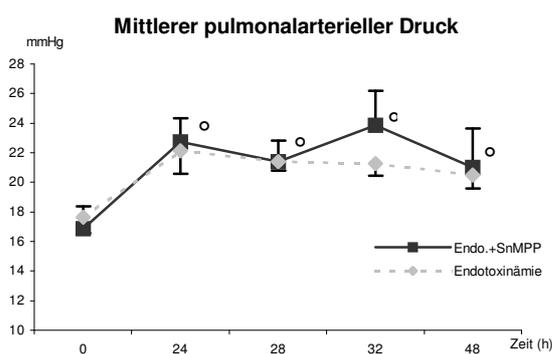


Abb.25: Mittlerer pulmonalarterieller Druck der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, <sup>o</sup>P < 0,05 versus 0 Stunden.

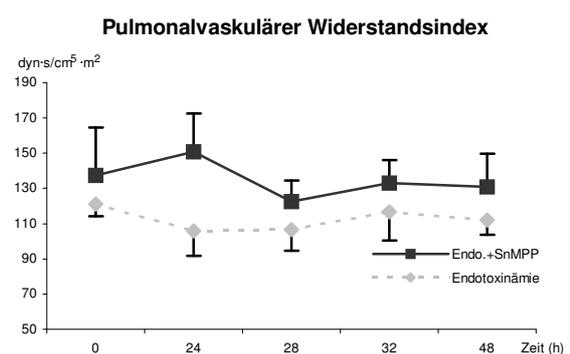


Abb.26: Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler, <sup>o</sup>P < 0,05 versus 0 Stunden.

signifikanten Unterschiede. Wie bereits die Ausgangswerte so lagen die pulmonalvaskulären Widerstandsindices der endotoxämischen Kontrollgruppe der folgenden Messungen tendenziell unterhalb denen der endotoxämischen Interventionsgruppe. Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den endotoxämischen Gruppen bezüglich MPAD und PVRI auf.

Der ZVD und der PCWP waren im Verlauf der Zeit in beiden Gruppen und im Vergleich beider Gruppen nicht signifikant verändert.

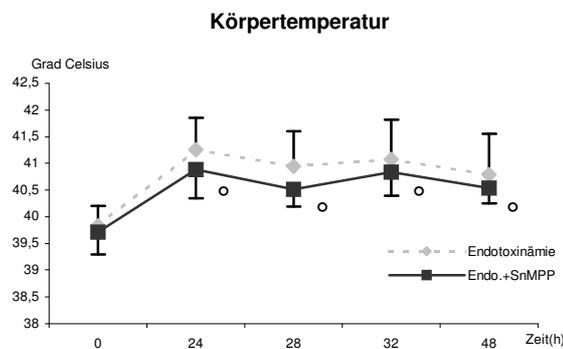


Abb.27: Körpertemperatur der endotoxämischen Kontrollgruppe und endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler,  $^{\circ}P < 0,05$  versus 0 Stunden.

Bei den mit SnMPP und Endotoxin behandelten Tieren konnte ebenso eine signifikante Temperaturerhöhung gemessen werden wie bei den ausschließlich mit Endotoxin behandelten Tieren.

Die Körperkerntemperatur (Abb. 27) der endotoxämischen Interventionsgruppe betrug zu Versuchsbeginn  $39,7 \pm 0,4$  Grad Celsius, nach 24 Stunden  $40,8 \pm 0,5$  Grad Celsius und nach 48 Stunden  $40,5 \pm 0,2$  Grad Celsius. Es war kein signifikanter Unterschied zwischen den endotoxämischen Gruppen festzustellen.

Die Analyse der Blutgase ergab im Vergleich der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe keine signifikanten Unterschiede. Der arterielle  $pO_2$  (Abb. 28) der endotoxämischen Interventionsgruppe lag zu Versuchsbeginn bei  $101,6 \pm 10$  mmHg und war nach 48 Stunden mit  $93,5 \pm 9,9$  mmHg tendenziell erniedrigt. Nach 48 Stunden war der arterielle  $pO_2$  (Abb. 16) der endotoxämischen Kontrollgruppe tendenziell höher, bei  $103,6 \pm 6,3$  mmHg bei einem Ausgangswert von  $106,2 \pm 5,7$  mmHg. Der arterielle  $pCO_2$  (Abb. 29) sowie der arterielle pH-Wert (Abb. 30,) der endotoxämischen Interventionsgruppe waren während der Versuchsdauer konstant, es gab weder im zeitlichen Verlauf noch im Vergleich beider Gruppen signifikante Veränderungen.

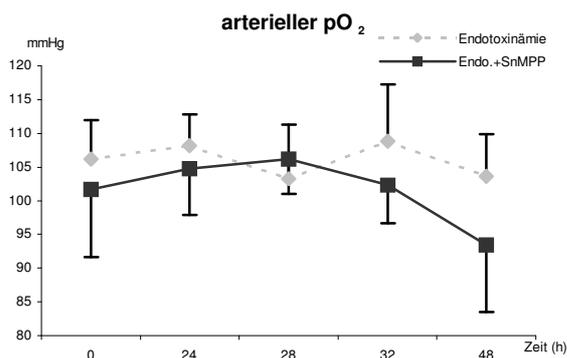


Abb.28: Arterieller  $pO_2$  der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler,  $^{\circ}P < 0,05$  versus 0 Stunden.

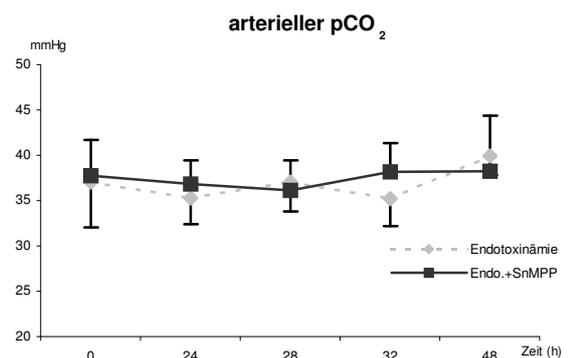


Abb.29: Arterieller  $pCO_2$  der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler,  $^{\circ}P < 0,05$  versus 0 Stunden.

Der Ausgangswert für den arteriellen Basenüberschuß der endotoxämischen Interventionsgruppe (Abb. 31) lag bei  $2,7 \pm 2,7$  mmol/l, der der endotoxämischen Interventionsgruppe bei  $2,5 \pm 2,9$  mmol/l. Nach Versuchsbeginn war der Basenüberschuß der endotoxämischen Interventionsgruppe gegenüber der endotoxämischen Kontrollgruppe erhöht. Nach 48 Stunden betrug der Basenüberschuß der Interventionsgruppe  $8 \pm 5,1$  mmol/l und der Kontrollgruppe  $4,5 \pm 2,5$  mmol/l.

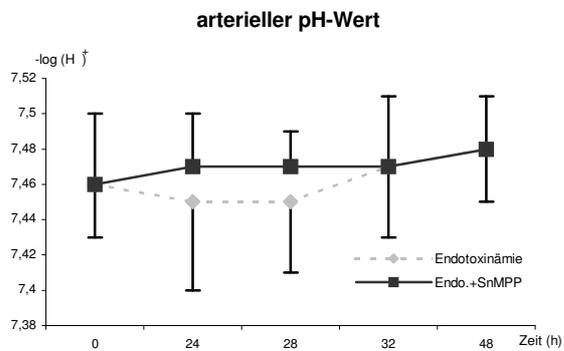


Abb.30: Arterieller pH-Wert der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler,  $^{\circ}P < 0,05$  versus 0 Stunden.

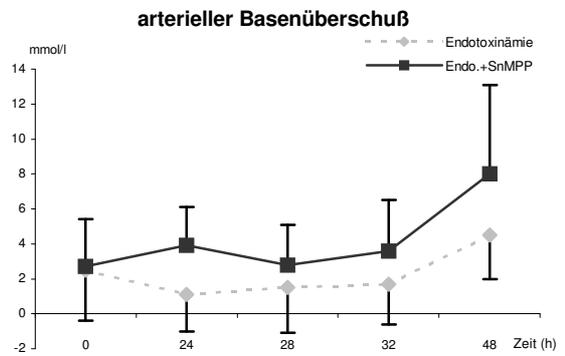


Abb.31: Arterieller Basenüberschuß der endotoxämischen Kontrollgruppe und der endotoxämischen Interventionsgruppe. Legende: Mittelwert  $\pm$  Standardfehler,  $^{\circ}P < 0,05$  versus 0 Stunden.

**Tab.10: Hämodynamik der endotoxämischen Interventionsgruppe**

Hämodynamische Messwerte und errechnete Maße in der endotoxämischen Interventionsgruppe. Angegebene Werte wurden in folgenden Größen gemessen: HMV in l/min, HI in l/min/m<sup>2</sup>, SVI in ml/m<sup>2</sup>, HF in bpm, MAD, MPAD, ZVD und PCWP in mmHg, SVRI und PVRI in dyn·s·cm<sup>-5</sup>/m<sup>2</sup>. °P < 0,05 versus 0h.

		0h	24h	28h	32h	48h
<b>HMV</b>	Mittelwert	6,2	8,7°	8,5°	9°	8,4°
	Standardabweichung	±0,5	±0,6	±0,7	±0,5	±0,6
<b>HI</b>	Mittelwert	6,1	8,5°	8,5°	8,9°	8,3°
	Standardabweichung	±0,4	±0,6	±0,7	±0,5	±0,6
<b>SVI</b>	Mittelwert	72	72,3	69,3	76,9	76,3
	Standardabweichung	±3,8	±5,4	±3,5	±3,9	±4,6
<b>HF</b>	Mittelwert	84	119°	122°	117°	109°
	Standardabweichung	±3,1	±5,9	±6	±5	±4,4
<b>MAD</b>	Mittelwert	88,5	78,3°	77,9°	75,4°	84,5
	Standardabweichung	±3,4	±3,5	±4,6	±3,3	±3,4
<b>MPAD</b>	Mittelwert	16,9	22,8°	21,4°	23,9°	21°
	Standardabweichung	±1,5	±1,6	±1,5	±2,3	±2,6
<b>ZVD</b>	Mittelwert	2,6	4	4,4	5,8°	5°
	Standardabweichung	±0,9	±1,8	2,1±	±1,7	±1,4
<b>PCWP</b>	Mittelwert	7,1	7,5	8,8	9,1	7,8
	Standardabweichung	±0,9	±1,8	±2,1	±1,7	±1,4
<b>SVRI</b>	Mittelwert	1153	722°	726°	633°	782°
	Standardabweichung	±69	±59	±78	±41	±57
<b>PVRI</b>	Mittelwert	137	151	122	133	131
	Standardabweichung	±27	±22	±12	±13	±19

**Tab. 11: Blutgasanalysen der endotoxämischen Interventionsgruppe**

Angegebene Werte wurden in folgenden Größen gemessen: pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub> in mmHg, pH-Wert in -log[H<sup>+</sup>] und der Basenüberschuß in mmol/l. °P < 0,05 versus 0h.

		0h	24h	28h	32h	48h
<b>pO<sub>2</sub> art.</b>	Mittelwert	101,6	104,8	106,2	102,3	93,5
	Standardabweichung	±10	±6,9	±5,2	±5,6	±9,9
<b>pCO<sub>2</sub> art.</b>	Mittelwert	37,8	36,9	36,2	38,2	38,3
	Standardabweichung	±3,9	±2,6	±3,3	±3,2	±6,1
<b>pH-Wert art.</b>	Mittelwert	7,46	7,47	7,47	7,47	7,48
	Standardabweichung	±0,04	±0,03	±0,02	±0,04	±0,03
<b>BE art.</b>	Mittelwert	2,7	3,9	2,8	3,6	8
	Standardabweichung	±2,7	±2,2	±2,3	±2,9	±5,1

### 3.3 HO-Aktivität

Um nachzuweisen, dass die applizierte Menge ausreichend und die Wirkdauer von Sn-Mesoproporphyrin nicht überschritten worden sind, wurde die Wirksamkeit der Hämoxxygenase-Inhibition durch SnMPP nach Ende der Versuchszeit, also 24 Stunden nach dessen Applikation, in Untersuchungen an der WWU-Münster belegt (Tab.12). Die Aktivität der Hämoxxygenase wurde in Lunge, Milz und Leber sowie der Arteria carotis und der Aorta untersucht.

	Lunge	Milz	Leber
Kontrolle	387±131	224±40	666±84
Endotoxinämie	614±67	366±116	542±74
Endo.+ SnMPP	57±19	35±76	116±18

Tab.12: HO-Aktivität in pmol Bilirubin/mg Protein/h

In Aorta und Arteria carotis war mit der gewählten Methode keine Hämoxxygenase-Aktivität nachzuweisen. Eine signifikant gesteigerte HO-Aktivität während der Endotoxinämie gegenüber der Kontrollgruppe konnte allein in der Lunge gezeigt werden. In allen Proben, in denen Hämoxxygenase-Aktivität detektiert werden konnte, war eine signifikante Aktivitäts-Abnahme unter dem Einfluss von SnMPP festzustellen. Somit kann davon ausgegangen werden, dass SnMPP die freigesetzten CO-Mengen während des gesamten Versuchszeitraumes effektiv reduziert hat.

## 4 Diskussion

### 4.1 Fragestellung

Die Sepsis, der septische Schock und das Multiorganversagen gehören auf nicht-kardiologischen Intensivstationen zu den häufigsten Todesursachen in der modernen Medizin <sup>[3,95]</sup>. Durch konventionelle Therapieverfahren wie z.B. Antibiotikatherapie, chirurgische Intervention oder der Einsatz von vasoaktiven und positiv inotropen Substanzen konnte die Mortalität in den vergangenen Jahren nicht gesenkt werden <sup>[3,15]</sup>. Daher sind neue Therapieansätze erforscht und zum Teil in die klinische Praxis umgesetzt worden.

In randomisierten, kontrollierten Studien zeigten folgende Therapiemaßnahmen eine Reduktion der Mortalität: die Limitierung des Tidalvolumens bei acute lung injury (ALI) und acute respiratory distress syndrome (ARDS) <sup>[129]</sup>, frühe Volumen- bzw. Blutgabe als early goal-directed therapy (EGDT) <sup>[108]</sup>, Gabe von aktiviertem Protein C (APC) <sup>[8]</sup>, niedrig dosierte Steroidgabe <sup>[4]</sup> und strenge Blutzuckerkontrolle <sup>[136]</sup>. Diese Therapiemaßnahmen haben jedoch nur bedingten kausalen Einfluss auf die systemische Inflammationsreaktion.

Des Weiteren konnten Substanzen, welche in die Entzündungskaskade eingreifen, wie z.B. Interleukin-1-Rezeptorantagonisten <sup>[65]</sup> oder auch NO-Synthase-Inhibitoren (NOS-Inhibitoren) bisher am Menschen ohne Erfolg bzw. nur mit Teilerfolg eingesetzt werden. So führte z.B. die NOS-Inhibition die Patienten innerhalb der ersten 72 Stunden zwar schneller aus dem septischen Schock <sup>[64]</sup>, konnte die 28 Tage-Überlebensrate jedoch nicht verbessern <sup>[6]</sup>.

Neben der endogenen Bildung des Gases Stickstoffmonoxid wird im Körper während einer Inflammation endogen auch Kohlenmonoxid (CO) gebildet. Nicht nur die physiologischen Wirkungen beider Gase sind sehr ähnlich, sondern auch die Enzymgruppe der Hämoxxygenasen, die CO im Körper bildet, weist große Ähnlichkeit

auf mit der Gruppe der NO-Synthasen. Beide besitzen eine induzierbare und eine konstitutive Form. Durch die Inhibition der induzierbaren Form der Hämooxygenase (HO-1) konnte in experimentellen Kleintierstudien eine hämodynamische Verbesserung unter Endotoxinämie an der Ratte <sup>[93,145]</sup>, am Kaninchen <sup>[147]</sup> und an der Maus <sup>[1141]</sup> nachgewiesen werden. Die hämodynamische Verbesserung war mit einem Anstieg des MAD bzw. systolischen Blutdrucks verbunden. WIESEL et al. zeigten an HO-1 Gen defizienten Mäusen (HO-1 Knockout-Mäusen, HO-1 -/-Mäusen), also Tieren ohne HO-1-Aktivität, einen signifikant höheren Blutdruck während einer Endotoxinämie als bei Wildtypmäusen <sup>[141]</sup>. Die HO-1 -/-Mäuse verstarben nicht an einer therapierefraktären Hypotension, die im klinischen Alltag bei der Endotoxinämie/Sepsis beobachtet wird, sondern an einem Endorganversagen.

Der Nachweis einer Beteiligung von Kohlenmonoxid an den pathophysiologischen Veränderungen der Sepsis nicht nur am Kleintiermodell, sondern auch am Großtiermodell könnte somit dazu beitragen, neue therapeutische Möglichkeiten zu eröffnen.

## 4.2 Endotoxin

In den Vereinigten Staaten stieg die Zahl der am septischen Schock verstorbenen Patienten von 35000 im Jahre 1970 auf 215000 im Jahre 2000 <sup>[110]</sup>. Dabei konnte der Nachweis signifikant erhöhter Endotoxinkonzentrationen bei Patienten mit schwerer Sepsis in vielen Studien gezeigt werden <sup>[46,66,106]</sup>.

Es korrelierte die Konzentration von Endotoxin im Blut mit der Erniedrigung des systemvaskulären Widerstandes, mit myokardialer Depression, mit positiven Blutkulturen sowie mit erhöhten Laktatspiegeln <sup>[27]</sup>. Endotoxin und die damit verbundenen Kreislaufreaktionen haben also eine große klinische Bedeutung.

In den durchgeführten Versuchsreihen verwendeten wir das *Salmonella typhosa* Endotoxin, um eine Endotoxinämie mit einem hyperdynamen Kreislaufzustand zu erreichen. Endotoxin, ein komplexes Lipopolysaccharid(LPS)-Molekül und Bestandteil der Wand gramnegativer Bakterien, spielt eine zentrale Rolle als exogener Mediator in der Pathogenese der Sepsis, des septischen Schocks und des septischen Multiorganversagens [96,97,106]. Es setzt sich aus drei Regionen zusammen: der Polysaccharidseitenkette (=Antigen), dem inneren Lipid-polysaccharidkern sowie der Lipid-A-Komponente. Diese Lipid-A-Komponente ist die konstanteste Struktur in allen gramnegativen Keimen und repräsentiert diejenige Endotoxinregion, die für die Toxizität und die Stimulation biologischer Antworten verantwortlich ist. Das Lipopolysaccharid bindende Protein (LBP), produziert in den Hepatozyten, bindet mit hoher Affinität an die Lipid-A-Komponente von Endotoxin. Der LBP-LPS-Komplex bindet an den CD14-Rezeptor auf Monozyten/Makrophagen und Neutrophilen. Der CD14-Rezeptor enthält keine transmembranöse Domäne. Nach der Bindung des LBP-LPS-Komplexes an den CD14-Rezeptor kommt es zu einer Aggregation des CD14-Rezeptors, eines Adaptermoleküls MD2 und des Toll-like-Rezeptors(TLR)-4. Dieser ist für die transmembranöse Signaltransduktion verantwortlich. Eine Stimulation dieser Oberflächenrezeptoren aktiviert die intrazellulären Signaltransduktionskaskaden. Auch andere Oberflächenmoleküle sind auf LPS sensibel, dazu zählen der Makrophagen-Scavenger-Rezeptor (MSR), CD11b/CD18 und Ionen-Kanäle, insbesondere Kalium-Kanäle [25].

LPS und der LBP-LPS-Komplex stellen einen sehr wirkungsvollen Mechanismus dar, um die Synthese von potentiell toxischen Mediatoren, insbesondere TNF-alpha, in Monozyten und Granulozyten zu stimulieren. Neben den proinflammatorischen Zytokinen TNF-alpha und IL-1-beta werden auch Proteasen, O<sub>2</sub>-Radikale, Plättchen-aktivierender Faktor (PAF), Eikosanide, Prostaglandine, Thromboxane und Leukotriene freigesetzt.

Eine hyperdynamie Kreislaufsituation mit Steigerung des Herz-Zeit-Volumens auf ungefähr 150 % und Erniedrigung des systemvaskulären Widerstandes auf ca. 50 % konnte bei gesunden Freiwilligen nach 3-5 Stunden intravenöser Endotoxingabe

(4 ng/kg/min) beobachtet werden <sup>[75,121]</sup>. Somit ist es durch eine Endotoxin-Infusion möglich, einen Kreislaufzustand zu erreichen, welcher der Frühphase einer Sepsis entspricht. BOOKE (1996) hat mit lebenden *Pseudomonas-aeruginosa*-Infusionen an Schafen nachgewiesen, dass dieser Zustand auch mit einer Bakteriämie zu erreichen ist und die hämodynamischen Effekte einer Endotoxin-Infusion und einer Bakteriämie vergleichbar sind <sup>[17]</sup>.

Dem entsprechen die Ergebnisse in der vorliegenden Studie (Abb.8-10), wobei mittels kontinuierlicher Infusion des *Salmonella-typhosa*-Endotoxin (10 ng/kg/min) und Volumensubstitution ein konstanter hyperdynamer Zustand erreicht werden konnte. Die experimentelle Endotoxinämie ist als valides Sepsismodell anerkannt <sup>[17,50]</sup>. Den Untersuchungen der Endotoxinämie im Tiermodell wird ein wesentlicher Anteil am gegenwärtigen Erkenntnisstand der Pathophysiologie zugeschrieben <sup>[50,106]</sup>.

Als Alternative zum endotoxämischen Modell werden in der Sepsisforschung Modelle mit einem infektiösen Fokus angewandt. Dabei wird zum Beispiel durch Zökal-Ligation und -Perforation eine Peritonitis ausgelöst. Diese Verfahrensweise der experimentellen Sepsis ist jedoch durch die Bauchhöhlen-Operation mit einem erhöhten Aufwand verbunden und schwer standardisierbar <sup>[38]</sup>.

Die parenterale Endotoxinzufuhr mittels kontinuierlicher Infusion gewährleistet einen standardisierten Versuchsaufbau <sup>[38]</sup>. Gegenüber der experimentellen Bakteriämie ist bei einer Endotoxingabe eine mögliche Keimvermehrung ausgeschlossen und eine exaktere Dosierbarkeit gegeben. Zudem ist eine Umgebungskontamination ausgeschlossen.

Ein möglicher Nachteil der Endotoxinämie gegenüber der experimentellen Sepsis ist die einer beschränkten Darstellung der lokalen und systemischen pro- und anti-inflammatorischen Abläufe im Versuchstier <sup>[38]</sup>. Die Zytokinantwort und die Sepsisbehandlung bei einer fokalen Infektion unterscheiden sich von der

Endotoxinämie <sup>[71]</sup>. Da in der durchgeführten Versuchsreihe jedoch die hämodynamischen Veränderungen und nicht das Zytokinnetzwerk im Vordergrund standen, stellt die Endotoxinämie in diesem Fall ein geeignetes Modell dar.

### **4.3 Das Schafmodell der chronischen Endotoxinämie**

Für ein experimentelles Tiermodell sollte eine Übertragung auf den Menschen im Vordergrund stehen und somit ein Modell angewandt werden, welches klinischen Erkrankungsbildern entspricht. So forderten PARKER & WATKINS (2001) neben der Übertragbarkeit auf den Menschen für ein optimales tierexperimentelles Modell unter anderem folgende Kriterien: einfacher Versuchsaufbau, gute Reproduzierbarkeit, Möglichkeit eines invasiven hämodynamischen Monitorings, sowie die Möglichkeit repetitiver Blutentnahmen, die ohne Auswirkungen auf die Zirkulation bleiben sollen <sup>[98]</sup>. Die Versuchstiere sollen eindeutige Reaktionen der systemischen Inflammation als Antwort auf einen Stimulus entwickeln. Die inflammatorische Reaktion soll sich schrittweise vom Beginn (z.B. lokale Reaktion) über eine systemische Entzündungsantwort bis hin zum MODS entwickeln. Idealerweise kann dies am nicht-anästhesierten Tier dargestellt werden, sofern ethische Gründe nicht dagegen sprechen.

Diese gestellten Forderungen wurden in dem angewandten Schafmodell der chronischen Endotoxinämie nahezu vollständig erfüllt. Aufgrund seines ruhigen Wesens kann das Schaf sehr gut im Wachzustand untersucht werden, wodurch Veränderungen als mögliche Folge von Anästhetika und Analgetika ausgeschlossen werden können. Der einfache, gut standardisierte und reproduzierbare Versuchsaufbau wurde an allen Schafen durchgeführt und die erzielten Ergebnisse belegen eine systemische Inflammationsantwort, die dem Status eines Patienten mit Sepsis sehr ähnlich sind. Auch international ist das Schafmodell zur Sepsisforschung und Entwicklung neuer Therapien in der systemischen Inflammation anerkannt <sup>[132]</sup>.

Hinzu kommt, dass der Mensch und das Schaf im Gegensatz zu anderen Spezies, auf dieselben Endotoxindosen reagieren <sup>[75,121]</sup>. Tierarten wie zum Beispiel Paviane, Ratten und Mäuse sind dagegen relativ unempfindlich gegenüber Endotoxin <sup>[20,29,93]</sup>. BOOKE et al. (1995) berichteten darüber, dass für eine Reaktion bei Mäusen eine viermillionenfach höhere Dosierung des Endotoxins benötigt wird als beim Menschen <sup>[21]</sup>. Schafe reagieren sensibel auf Endotoxin; gebräuchliche Endotoxin-Dosen variieren zwischen 1 µg/kg bis 1,5 µg/kg bei Bolusgabe <sup>[122,130]</sup> und zwischen 6-24 ng/kg/min sowie 20-40 ng/kg/min bei kontinuierlicher Infusion <sup>[101,133]</sup>. Menschen (siehe 4.2) reagieren also auf ähnliche Endotoxindosen (4 ng/kg/min) wie das Schaf.

Darüber hinaus entsprechen die funktionalen Veränderungen nach Endotoxin-Infusion beim Schaf denjenigen, die beim Patienten mit Sepsis oder ARDS beobachtet werden <sup>[101,133]</sup>. So führt die kontinuierliche Infusion beim wachen, chronisch instrumentierten Schaf zu einer hyperdynamen Kreislaufsituation mit entsprechender Steigerung des Herz-Zeit-Volumens und Erniedrigung des systemvaskulären Widerstands, die ebenso bei Patienten mit septischem Schock anzutreffen ist.

## 4.4 Bedeutung der HO-Inhibition während der Endotoxinämie/Sepsis

### 4.4.1 HO-Induktion und Aktivität während Sepsis und Endotoxinämie

Der endotoxämische Schock ist eine lebensbedrohliche Folge einer schweren Infektion mit gram-negativen Keimen, charakterisiert durch eine Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen mit ausgeprägter Hypotension. Wie bereits unter 4.1 erwähnt zeigt eine Intervention am NOS/NO-System durch NOS-Inhibition am Menschen keinen bzw. lediglich einen Teilerfolg. Für das HO/CO-System, welches einige Gemeinsamkeiten mit dem NOS/NO-System aufweist, konnte in Studien an Tier und Mensch eine Induktion der Hämoxxygenase durch Endotoxinämie/Sepsis gezeigt werden.

CHOI (1996) beschrieb die Hämoxxygenase als ein ubiquitäres Enzym <sup>[23]</sup>. In bakteriämischen bzw. endotoxämischen tierexperimentellen Ratten- und Mäusemodellen konnte eine Induktion unter anderem im Parenchym von Leber, Milz, Lunge, Niere und Myokard beobachtet werden <sup>[7,21,22,90,107,125,135]</sup>. So konnten CAMHI et al. (1995) in einer der ersten Arbeiten in der Sepsisforschung im Lungengewebe von Ratten einen LPS induzierten Anstieg der HO-1-mRNA-Level nachweisen <sup>[22]</sup>. Dieser korrelierte mit einer erhöhten Konzentration des HO-1-Enzyms und dessen gesteigerter Aktivität. Auch in Gefäßen, so z.B. der Aorta und Arteriolen von männlichen Sprague-Dawley Ratten <sup>[145]</sup>, konnte durch Endotoxingabe eine Induktion der HO-1 nachgewiesen werden (siehe 4.4.2).

Des Weiteren wurden Studien zur Hämoxxygenase-Aktivität an septischen und kritisch kranken Patienten auf Intensivstationen durchgeführt. Im Vergleich zu nicht septischen Intensivpatienten konnte bei septischen Patienten sowohl eine vermehrte Bildung von endogenem CO <sup>[80]</sup> als auch eine höhere Konzentration von CO in der Ausatemluft beobachtet werden <sup>[149]</sup>. Gleiches hatten bereits SCHARTE et al. (2000) in der Ausatemluft von 30 kritisch kranken Patienten gezeigt, wobei keine Korrelation zwischen der Konzentration von CO in der Ausatemluft und der Carboxyhämoglobinkonzentration in arteriellen und zentralvenösen Blutproben

Bestand <sup>[115]</sup>. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme, dass es in der Lunge zu einer vermehrten Freisetzung von CO als Folge einer HO-1-Induktion kommt. Skelettmuskelproben septischer Patienten zeigten ebenfalls eine erhöhte Expression der Hämoxxygenase <sup>[103]</sup>.

Allen drei Versuchsgruppen der von uns untersuchten Schafe (Kontrollgruppe, endotoxämische Gruppe und endotoxämische Interventions-Gruppe) wurden Gewebeproben entnommen und die HO-Aktivität bestimmt (siehe Ergebnisteil). Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde durch Endotoxingabe die HO-Aktivität in der Milz und besonders signifikant in der Lunge gesteigert. Dieses entspricht den Ergebnissen anderer Untersuchungen <sup>[7,21,83,90]</sup>. Im Leberparenchym wurde dagegen eine geringfügig erniedrigte HO-Aktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen. Das Endotoxin hatte in unseren Untersuchungen in diesem Organ des Schafs also keine induzierende Wirkung im Gegensatz zu Studien an Ratten <sup>[7]</sup>.

Die Proben der endotoxämischen Interventionsgruppe zeigten in allen drei Organen einen signifikanten Abfall der gemessenen HO-Aktivität, als Beleg für die HO-Inhibition durch SnMPP.

#### **4.4.2 Effekte der HO-Inhibition auf das kardiovaskuläre System**

Kohlenmonoxid (CO) ist, wie auch Stickstoffmonoxid (NO), in der Lage an den Häm-Anteil der löslichen Guanylatzyklase zu binden und so zur Bildung des relaxierend wirkenden cGMP beizutragen <sup>[73]</sup>. MORITA et al. (1995) haben an glatten Gefäßmuskelzellen in vitro nachgewiesen, dass die HO-1 durch Hypoxie induzierbar ist und dass die Freisetzung von CO zu einer Akkumulation von cGMP in diesen Zellen führt <sup>[82]</sup>. Im gleichen Versuchsansatz konnte für das freigesetzte CO ein inhibitorischer Effekt auf die Produktion von vasoaktiven Substanzen (z.B. Endothelin-1) gezeigt werden <sup>[81]</sup>. In einem in vivo Modell an der Ratte konnten RAJU und MAINES (1996) nach akuter renaler Ischämie und anschließender

Reperfusion eine Aktivierung der HO-1 am Herzen und in der Aorta nachweisen <sup>[104]</sup>. Diese Beobachtungen lassen eine Schutzfunktion des HO/CO-Systems durch eine CO verursachte Vasodilatation vermuten und legen eine physiologisch bedeutende Rolle des CO im vaskulären System nahe.

YET et al. (1997) untersuchten als eine der ersten Arbeitsgruppen den Einfluss der HO-1 auf die Hämodynamik während einer Endotoxinämie <sup>[145]</sup>. In ihrer Arbeit an männlichen Sprague-Dawley Ratten konnten sie nach 9stündiger Endotoxinämie sowohl einen deutlichen Anstieg der HO-1-mRNA- und HO-1-Protein-Level im Gefäßsystem als auch eine Steigerung der HO-Aktivität um das 8,9fache der Ausgangswerte nachweisen. Dabei konnten durch immunozytochemischen Nachweis erhöhte HO-1-Protein-Level in glatten Gefäßmuskelzellen und im Endothel von Aorta und Arteriolen gemessen werden. Darüber hinaus gelang es durch HO-Inhibition, in diesem Fall durch Zink-Protoporphyrin IX, die durch Endotoxingabe verursachte Hypotension aufzuheben.

Zu gleichen Ergebnissen kamen OU et al. (1999) in einem CLP Sepsis Modell an Ratten. Sie setzten als HO-Inhibitor in dieser Untersuchung Zink-Deuteroporphyrin-2,4-Bisglycol ein und konnten eine signifikante Verringerung der HO-Aktivität und CO-Freisetzung verbunden mit einem Anstieg des systolischen und diastolischen Blutdrucks nachweisen <sup>[93]</sup>.

Auch im Versuch an Kaninchen konnte durch Injektion von Zink-Protoporphyrin IX die durch Endotoxin verursachte Hypotension aufgehoben werden <sup>[147]</sup>.

Neben den genannten Studien zur medikamentösen Inhibition der Hämoxigenase wurden auch Untersuchungen an endotoxämischen Mäusen durchgeführt, denen das Gen für HO-1 fehlte.

WIESEL et al. (2000) untersuchten homozygot positive (+/+), heterozygot (+/-) und homozygot negative (-/-) Mäuse <sup>[141]</sup>. Nach 4- bzw. 24stündiger LPS-Administration konnte im Vergleich zu den ersten beiden Gruppen erwartungsgemäß bei den homozygot negativen (-/-) Mäusen keine HO-1 nachgewiesen werden. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass der systolische Blutdruck nach 24 Stunden in der

Gruppe der HO-1  $-/-$  Mäuse höher als der Ausgangswert lag und signifikant erhöht im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen war. Die Autoren begründeten dies durch eine Erhöhung des Vasokonstriktors Endothelin-1, dessen Freisetzung durch CO inhibiert wird <sup>[81]</sup>. Trotz des erhöhten systolischen Blutdrucks während der Endotoxinämie bei HO-1  $-/-$  Mäusen war die Mortalitätsrate bei diesen Tieren höher. Sie zeigten hepatische und renale Dysfunktionen als Zeichen einer reduzierten zellulären Stressabwehr, die bei HO-1  $+/+$  und HO-1  $+/-$  Mäusen nicht auftraten. Es konnte also gezeigt werden, dass diese Tiere nicht an einer therapierefraktären Hypotension verstarben, sondern an einer Endorgandysfunktion.

POSS et al. (1997) konnten an jungen HO-1  $-/-$  Mäuse ähnliches beobachten <sup>[102]</sup>. Als Zeichen einer reduzierten zellulären Stressabwehr zeigten diese Tiere während einer Endotoxinämie vermehrt hepatische Nekrosen und eine erhöhte Mortalitätsrate. Zusätzlich untersuchten sie embryonale Fibroblasten von HO-1  $-/-$  Mäusen. Diese reagierten im Vergleich zu Fibroblasten von HO-1  $+/+$  Mäusen wesentlich sensitiver auf oxidativen Stress. HO-1 Gen-defiziente Mäuse scheinen also anfälliger für oxidativen Stress zu sein.

In der Literatur gibt es für den Menschen nur einen Fallbericht. YACHIE et al. (1999), KAWASHIMA et al. (2002) und OHTA et al. (2000) berichten von einem HO-1  $-/-$  Jungen <sup>[55,98,143]</sup>. Im Verlauf traten eine höhere Empfindlichkeit für oxidativen Stress, Wachstumsretardierung, hämolytische Anämie mit paradoxem Ansteigen von Haptoglobin und niedrigem Bilirubin, Leukozytose, Thrombozytose, Koagulopathie, endothelialen und tubulorenalen Schäden mit Hämaturie und Proteinurie, Hyperlipidämie und Amyloidablagerungen in Leber und Nebennieren auf. Dieses führte zu einem frühen Versterben des Jungen. Von Veränderungen der Hämodynamik oder Blutdruckabweichungen ist nicht berichtet worden.

Eine Veränderung der systemischen Hämodynamik konnte in Großtiermodellen, analog zum Fallbericht am Menschen, ebenfalls nicht beobachtet werden. NALOS et al. (2003) untersuchten anästhesierte und mechanisch ventilierte Schweine im Zustand der hyperdynamen Endotoxinämie <sup>[83]</sup>. Den Tieren wurde neben LPS auch kolloidale Flüssigkeit zugeführt, um einen hyperdynamen Kreislaufzustand mit einem

MAD über 60 mmHg zu erreichen. Nach 12stündiger LPS-Administration erhielten die Tiere den HO-1 Inhibitor Zinn-Mesoporphyrin (SnMP) und wurden für weitere 12 Stunden mit LPS behandelt. In den abschließenden Messungen zeigte sich, dass SnMP keinen Einfluss auf MAD, CI und SVRI hatte. Auch die untersuchten Blutflüsse in der gastrointestinalen Makro- und Mikrozirkulation blieben unverändert. Einziger Unterschied war der Anstieg des MPAD unter HO-Inhibition nach 24 Stunden.

Entsprechend den Ergebnissen der systemischen Hämodynamik am hyperdynamen endotoxämischen Schweinmodell stellten sich die Resultate unserer Studie dar. In unserem Modell des chronisch instrumentierten endotoxämischen Schafs fanden wir keine Veränderung durch HO-Inhibition in Bezug auf MAD, CI und SVRI. Im Gegensatz zum Modell des endotoxämischen und mechanisch ventilerten Schweins konnten wir am wachen, spontanatmenden Schaf keinen signifikanten Unterschied des MPAD feststellen.

Zur Bestimmung der HO-Aktivität wurden den Schafen aller drei Versuchsgruppen Proben aus der Aorta und der Arteria carotis entnommen <sup>[140]</sup>. Proben aus anderen Gefäßen wurden nicht untersucht. Unabhängig von einer Endotoxinämie und einer Behandlung mit SnMPP konnte in allen drei Versuchstiergruppen keine Aktivität der Hämoxygenase in den Gefäßen festgestellt werden.

Dies Resultat unterscheidet sich deutlich von den Beobachtungen an Ratten <sup>[93,145]</sup>, Mäusen <sup>[141]</sup> und Kaninchen <sup>[147]</sup>. Insgesamt scheinen die Ergebnisse bei Untersuchungen an Kleintiermodellen nur bedingt auf Großtiermodelle bzw. den Menschen übertragbar zu sein. Die Inhibition der HO-1 hat sich im Rahmen der Endotoxinämie weder stabilisierend auf die Hämodynamik von Großtieren ausgewirkt noch deren Überlebensrate verbessert. Am Kleintiermodell konnten WIESEL et al. (2000) zwar eine Steigerung des systolischen Bluddrucks feststellen, gleichzeitig aber auch eine Erhöhung der Mortalitätsrate nachweisen <sup>[141]</sup>. Auch PERRELLA und YET (2003) beschreiben ein früheres Ende der Hypotension in endotoxämischen HO -/- Mäusen, jedoch mit erhöhter Mortalität und gesteigerter Inzidenz von Endorganschäden <sup>[100]</sup>. Die Annahme, dass eine Erhöhung des Blutdruckes unter endotoxämischen Bedingungen durch Hemmung der

Hämoxygenase eine Verbesserung für den Krankheitsverlauf bewirkt, war also in diesen Kleintiermodellen nicht gegeben. Im Gegenteil, einige Autoren berichten über eine Schutzfunktion durch Überexpression von HO-1, auf die an späterer Stelle (4.4.3) genauer eingegangen werden soll.

#### 4.4.3 Effekte der HO-Inhibition auf das pulmonale System

Zahlreiche Untersuchungen konnten eine ausgeprägte HO-Induktion mit gesteigerter HO-Aktivität in der Lunge als Folge einer Endotoxinämie nachweisen (siehe 4.4.1). Welchen Einfluss die HO-Inhibition auf die pulmonale Hämodynamik, insbesondere den pulmonalen Blutdruck und Gefäßwiderstand unter Endotoxinämie, dabei hat, ist insgesamt aber wenig untersucht worden.

Am bereits erwähnten endotoxämischen Schweinemodell beobachteten NALOS et al. (2003) eine signifikante Steigerung des MPAD durch HO-Inhibition mit Zinn-Mesoporphyrin während kontinuierlicher LPS-Gabe und 24stündiger mechanischer Ventilation<sup>[83]</sup>. Ebenfalls einen vasokonstriktiven Effekt durch HO-Inhibition mit Zinkprotoporphyrin IX an Zellen der pulmonalen Strombahn von Ratten konnten HARVEY et al. (2004) zeigen<sup>[47]</sup>. Bei unterschiedlichen Mengen von LPS wurde der Einfluss der HO-Hemmung auf die Kontraktilität von Perizyten gemessen. Perizyten sind zur Kontraktion befähigte Zellen, welche abluminal der Endothelzellen liegen und somit mitverantwortlich für die Vasokonstriktion sind. Durch die HO-Inhibition konnte eine signifikante Reduktion der durch LPS verursachten Relaxation erreicht werden. Dieses stand jedoch in Abhängigkeit von der LPS Konzentration. Höhere Konzentrationen schwächten den erzielten Effekt der HO-Inhibition ab. Die Ergebnisse dieser beiden Untersuchungen lassen vermuten, dass die Inhibition des HO/CO-Systems zu einer Vasokonstriktion im pulmonalarteriellen System führt.

Dies wird auch gestützt durch Untersuchungen am Modell der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion. So konnten zum Beispiel VASSALLI et al. (2001) an gesunden anästhesierten Hunden eine Abschwächung der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion durch CO-Gabe unter NO-Inhibition und einen Anstieg des MPAD durch HO-Inhibition mit SnMP demonstrieren<sup>[137]</sup>.

Auch an isoliert perfundierten Rattenlungen konnte durch Zugabe von CO zum Ventilationsgas eine Reduktion der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion nachgewiesen werden<sup>[127]</sup>.

Die Resultate der aufgeführten Studien, die einen Einfluss des HO/CO-Systems auf das pulmonalarterielle System zeigten, konnten in den von uns untersuchten Schafen nicht bestätigt werden. Die HO-Inhibition führte bei den Schafen der endotoxämischen Interventionsgruppe zu keinen signifikanten Veränderungen in Bezug auf MPAD und PVRI im Vergleich zur endotoxämischen Gruppe.

Eine aussagekräftige Beurteilung zum Effekt der HO-Inhibition auf die pulmonale Hämodynamik lässt sich anhand der geringen und widersprüchlichen Datenlage also nicht treffen.

Wesentlich umfangreicher ist die Datenlage in Bezug auf den Einfluss des HO/CO-Systems als potentielle Noxen der Lunge.

Als Modell der potentiellen Noxe bzw. des Lungenschadens wurde neben der Gabe von LPS zumeist das Modell der Hyperoxie als schädigender Einfluss auf das Lungengewebe eingesetzt. Obwohl sich beide Modelle in ihrer zytotoxischen Ätiologie erheblich unterscheiden, sind sie jedoch auf intrazellulärer Basis eng miteinander verknüpft. In beiden Modellen werden enorme Mengen an reaktiven Sauerstoffderivaten freigesetzt, welche die Ursache für einen Gewebeschaden darstellen. In einer Reihe von Studien wurde nach Beeinflussung des HO/CO-Systems dessen Auswirkung auf den hyperoxisch verursachten Zellschaden untersucht.

SUTTNER et al. (1999) untersuchten Zellen aus fetalen Rattenlungen, die mit HO-1-cDNA transfiziert worden waren, was eine Verdopplung der HO-Aktivität nach sich zog <sup>[124]</sup>. Die folgende 48stündige Hyperoxie zeigte in den so behandelten Zellen eine Verminderung des Zellsterbens im Vergleich zur Kontrollgruppe, also eine bessere Widerstandsfähigkeit gegenüber einem hyperoxischen Zellschaden. Gleiches konnten OTTERBEIN et al. (1999) nachweisen <sup>[91]</sup>. Ein adenoviraler Gentransfer von HO-1 in adulte Rattenlungen ließ die Expression von HO-1 erwartungsgemäß steigen und reduzierte gleichzeitig das Ausmaß des Zellschadens durch eine Hyperoxie. Dabei konnte eine signifikante Reduktion von Ödemen, Hämorrhagien und Inflammation festgestellt werden. Auch an menschlichen pulmonalen Epithelzellen führte eine Transfizierung mit HO-1-cDNA von Ratten zu einer gesteigerten HO-Enzymaktivität mit dem Ergebnis eines verlangsamten

Zellwachstums und einer größeren Widerstandsfähigkeit gegenüber Hyperoxie. Beides war unter HO-Inhibition reversibel <sup>[59]</sup>. Neben der DNA-Transfizierung wurde auch die intratracheale Gabe eines HO-1-Induktors und dessen Auswirkung untersucht. So setzten TAYLOR et al. (1998) Hämoglobin als potenten HO-1-Induktor ein und konnten einen deutlich geringeren hyperoxischen Zellschaden feststellen als ohne HO-1-Induktion <sup>[128]</sup>.

Eine gesteigerte HO-1-Aktivität lässt also einen zytoprotektiven Effekt vermuten.

Das Ausmaß des zytoprotektiven Effektes durch eine quantitative Steigerung der Expression von HO-1 scheint begrenzt zu sein. So haben SUTTNER und DENNERY (1999) gezeigt, dass eine moderate Überexpression von HO-1 in Fibroblasten zytoprotektiv gegen oxidativen Schaden war, eine zu starke Überexpression jedoch mit erhöhter Zytotoxizität assoziiert war <sup>[123]</sup>.

Auch die konstitutionelle Form der Hämoxygenase scheint bedeutend zu sein. Und zwar konnte gezeigt werden, dass HO-2 <sup>-/-</sup> Mäuse empfindlicher gegenüber hyperoxischen Lungenschaden waren und eine erhöhte Mortalität aufwiesen obwohl gleichzeitig eine erhöhte HO-1 Expression bestand <sup>[30]</sup>.

Ferner lassen auch Modelle der Endotoxinämie/Sepsis auf einen überwiegend protektiven Effekt des HO/CO-Systems für die Lunge schließen.

Bereits 1995 konnten dies OTTERBEIN et al. an Ratten zeigen <sup>[92]</sup>. Bevor die zu untersuchenden Tiere LPS erhielten, wurden sie mit Hämoglobin behandelt, was erwartungsgemäß zu einer HO-1 Induktion in der Lunge führte. Wichtig aber ist die Tatsache, dass bei der darauffolgenden, eigentlich letalen Dosis von Endotoxin eine 100%ige Überlebensrate eintrat. Des Weiteren beobachteten TAKAHASHI et al. (1999) an einem durch intraperitoneale Gabe von LPS ausgelösten MODS-Modell der Ratte eine signifikante Verstärkung des Lungenschadens durch HO-Inhibition <sup>[126]</sup>.

ZAMPETAKI et al. (2003) untersuchten transgene Mäuse, denen humane cDNA für HO-1 in das Lungenepithel transferiert wurde <sup>[148]</sup>. In der bronchoalveolären Lavage

der transgenen Tiere wurde eine signifikante Reduktion der ausgeschütteten Zytokine in die Luftwege, als Ergebnis einer verminderten proinflammatorischen Reaktion, festgestellt. Auch an menschlichen Epitheliumzellen aus der Trachea konnte mittels HO-1 Induktion durch Hämin ein Schutz vor oxidativem Stress beobachtet werden <sup>[144]</sup>. Durch HO-Inhibition war dieser Effekt aufzuheben.

Nicht zuletzt gibt es auch Hinweise für einen protektiven Effekt durch Hämoxigenase an septischen Patienten. So konnte in der bereits erwähnten Studie von ZEGDI et al. (2002) gemessen werden, dass Überlebende der Sepsis eine signifikant höhere CO-Produktion am ersten Tag der Sepsis hatten im Vergleich zu Nicht-Überlebenden <sup>[149]</sup>.

Die Arbeitsgruppe um OTTERBEIN (2000) hat gezeigt, dass nicht nur durch die Induktion von HO-1 ein zytoprotektiver Effekt zu erreichen ist, sondern auch die Gabe von Kohlenstoffmonoxid eine potente antiinflammatorische Wirkung zeigt <sup>[89]</sup>. Sie konnten demonstrieren, dass CO in niedriger Konzentration, sowohl in vivo als auch in vitro, eine Inhibition der durch LPS ausgelösten Expression proinflammatorischer Zytokine verursacht. Es wurden erniedrigte Spiegel von TNF- $\alpha$  und Interleukin-1 $\beta$ , bei gleichzeitiger Erhöhung der Expression von antiinflammatorisch wirkendem Interleukin-10, nachgewiesen.

Der Einfluss einer niedrig dosierten CO-Gabe auf den Granulozyten-Makrophagen colony-stimulating-factor (GM-CSF) wurde von SARADY et al. (2002) an Makrophagen untersucht <sup>[112]</sup>. Dieser Faktor führt zu einer Stimulation der Proliferation, Reifung und effektiver Funktion von Leukozyten, welche ursächlich an einer proinflammatorischen Reaktion beteiligt sind. Durch CO-Gabe wurde die GM-CSF-Produktion in Makrophagen inhibiert und somit die proinflammatorische Reaktion reduziert.

Zusammenfassend scheint die Induktion des HO/CO-Systems bzw. die niedrig dosierte CO-Gabe unter Endotoxinämie und Hyperoxie, eine protektive Wirkung auf das pulmonale System zu haben. Die Inhibition des HO/CO-Systems kann sich also, schädlich auswirken.

In den von uns untersuchten Tieren wurde neben der klinischen Beurteilung und dem Outcome auch eine makroskopische Beurteilung der Lungen in situ durchgeführt. Dabei ergab sich ungeachtet einer HO-Inhibition kein Unterschied. Eine immunhistochemische oder histologische Aufarbeitung des Lungenparenchyms hat nicht stattgefunden.

#### 4.5 Weitere klinische Bedeutung des HO-Systems

Die unter 4.4.2 aufgeführten vasodilatatorischen und damit blutdrucksenkenden Eigenschaften des HO/CO-Systems konnten auch an nicht-septischen Kleinterversuchen nachgewiesen werden <sup>[84,110]</sup>.

Dabei stellten verschiedene Arbeitsgruppen unterschiedliche Wirkmechanismen in den Vordergrund. So demonstrierten SACERDOTI et al. (1989) und ESCALANTE et al. (1991), dass sowohl eine kurz- als auch eine langfristige Gabe von HO-1-Induktoren bei hypertensiven Ratten zu einer cGMP-vermittelten Normalisierung des Blutdrucks führt <sup>[34,111]</sup>. CO ist aber auch in der Lage in glatten Gefäßmuskelzellen, unabhängig von cGMP, durch Calcium aktivierte Kalium-Kanäle eine vasodilatatorische Reaktion auszulösen <sup>[51]</sup>.

Neben diesen direkten vasodilatatorischen Effekten von CO konnten MORITA et al. (1995) ebenfalls an glatten Gefäßmuskelzellen eine CO-vermittelte Inhibition der Produktion des potenten Vasokonstriktors Endothelin-1 zeigen <sup>[82]</sup>.

Diese antihypertensive Eigenschaften können also in der Zukunft von Bedeutung sein.

Eine andere Bedeutung der HO-1-Funktion liegt in der Erhaltung der Perfusion nach vaskulärem Schaden. Dabei kann die auslösende Noxe unterschiedlicher Genese sein. Diese Annahme wird durch eine Reihe von Untersuchungen und Erkenntnissen der HO-1 in Bezug auf das kardiovaskuläre System gestützt. Erstens, es konnte durch eine HO-1-Expression eine Inhibition des Wachstums von glatten Gefäßmuskelzellen von Mäusen sowohl in vitro als auch in vivo nachgewiesen

werden<sup>[33]</sup>. Ebenfalls konnte durch das von glatten Gefäßmuskelzellen gebildete CO eine Verringerung der Freisetzung des Endothelzell-Wachstumsfaktors und der Endothelin-1-Expression gezeigt werden, woraus eine Verminderung des Wachstums von glatten Muskelzellen resultierte<sup>[56]</sup>. Auch eine durch Hypoxie ausgelöste Induktion des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors in glatten Muskelzellen konnte durch CO abgeschwächt werden<sup>[62]</sup>. Diese Beobachtungen legen also einen Einfluss des HO/CO-Systems auf das vaskuläre Remodeling nach einer Gefäßschädigung nahe. Zweitens, Ischämie und Reperfusion, Scher-Stress und Hypoxie sind Induktoren von HO-1. Drittens, durch die Induktion von HO-1 konnte eine Inhibition der Leukozytenadhäsion bedingt durch Bilirubin und eine Inhibition der Thrombozytenaggregation bedingt durch CO gezeigt werden<sup>[45,139]</sup>. Viertens, HO-1 vermittelt einen Schutz gegen Ischämie- und Reperfusionsschäden, sowie gegen Schäden durch Ballondilatation, wie in einer Reihe von Modellen gezeigt werden konnte<sup>[146]</sup>. Anhand dieser Modelle konnte gezeigt werden, dass durch Dilatation lokal im Gefäß HO-1 induziert wird<sup>[131]</sup>, eine vorzeitige Induktion der HO-1 die Schädigung reduziert<sup>[2]</sup>, HO-1-Inhibition die Schädigung verstärkt<sup>[131]</sup> und eine durch Adenovirus-Übertragung ausgelöste Überexpression von HO-1 die Bildung einer vaskulären Neointima verhindert<sup>[134]</sup>. Diese Ergebnisse finden insofern klinische Bedeutung, dass an Menschen mit einem Polymorphismus für den Promotor des HO-1-Gens eine erhöhte Restenoserate nach PTCA vorliegt<sup>[36]</sup>. Diese Daten über einen vaskulär-protectiven Effekt könnten eine Relevanz für viele menschliche Erkrankungsprozesse haben. YET et al. (2001) haben nachgewiesen, dass eine verstärkte Expression von HO-1 einen myokardialen Gewebeschaden durch Ischämie und Reperfusion abschwächt<sup>[146]</sup>. Die Administration eines CO-freisetzenden Moleküls zum Zeitpunkt der Reperfusion konnte an Mäuseherzen in vivo die Infarktgröße signifikant verringern<sup>[43]</sup>. Zudem kann das durch HO freigesetzte Bilirubin eine postischämische myokardiale Dysfunktion vermindern<sup>[24]</sup>. Interessanterweise konnte in einigen Studien an Menschen eine Korrelation zwischen niedrigen Bilirubinwerten und ischämischen Herzerkrankungen festgestellt werden<sup>[31,40]</sup>.

Auch in der Transplantation von Organen kann das HO/CO-System eine Rolle spielen. Die Gabe von CO verlängerte z. B. die Überlebenszeit von Ratten, denen ein Mäuseherz transplantiert worden war. Exogene CO-Exposition sowohl des Spenderorgans als auch des Empfängertieres waren assoziiert mit einer geringeren Abstoßungsrate. Dieser Effekt war verbunden mit einer verminderten Plättchenaggregation und Apoptoserate im transplantierten Organ sowie einer geringeren Thrombose- und Myokardinfarktrate <sup>[113]</sup>.

## 5 Zusammenfassung

Die Sepsis und das Multiorganversagen sind trotz intensiver Bemühungen nach wie vor eine große Herausforderung der Medizin. Auf die hohe Inzidenz und Morbidität der Sepsis in Kombination mit trotz modernster medizinischer Therapieverfahren nach wie vor ungünstigen Prognose begründen sich die Forderungen nach neuen Therapiekonzepten.

Pathophysiologisch imponiert bei der Sepsis mit Multiorganversagen letztendlich die Hypotension. Folglich muss ein therapeutisches Ziel die Wiederherstellung eines angemessenen Perfusionsdruckes sein. Es wird vermutet, dass insbesondere die induzierbare Form der Hämoxxygenase durch die Bildung von Kohlenmonoxid zur systemischen Vasodilatation beiträgt. Daher sollte die pharmakologische Blockade der induzierbaren Hämoxxygenase mittels Zinn-Mesoporphyrin (SnMPP) untersucht werden.

Wir untersuchten nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium Münster (AZ 23.0835.1.0 (34/96)) den Einfluss von SnMPP auf die kardiovaskuläre Funktion am chronisch-instrumentierten Schafsmodell. Alle 22 in die Studie aufgenommenen Tiere wurden in Allgemeinanästhesie instrumentiert und anschließend für 24 Stunden observiert. Danach erhielten 16 Tiere über 48 Stunden eine kontinuierliche intravenöse Infusion von Endotoxin (*Salmonella typhosa* Lipopolysaccharid; 10ng/kg/min). Die übrigen sechs Tiere erhielten als NaCl-Lösung und dienten als nicht-endotoxämische Kontrollgruppe. Nach 24stündiger Endotoxinämie erhielten acht der 16 Tieren SnMPP in einer Dosierung von 3,7 mg/kg (5 µmol/kg) in 50ml 0,9%iger NaCl-Lösung über 30 Minuten. Nach 48 Stunden wurden die Untersuchungen beendet. Eine hyperdynamische Kreislaufsituation stellte sich bei den endotoxämischen Tieren ein, jedoch war bei diesen Tieren keine Beeinflussung der Hämodynamik durch Hämoxxygenase-Inhibition festzustellen.

Von den Tieren wurden nach Versuchsende sowohl Organproben aus Lunge, Milz und Leber entnommen als auch Gefäßproben aus der Aorta und der A. carotis. In den Organproben konnte durch Aktivitäts-Bestimmung der Hämoxxygenase die wirksame Inhibition durch SnMPP belegt werden und es wurde eine deutliche

Aktivitätssteigerung in der Lunge durch Endotoxinämie gemessen. In den entnommenen Gefäßproben der Schafe konnte keine HO-Aktivität nachgewiesen werden.

In unseren Untersuchungen an Schafen konnten durch Hämoxygenase-Inhibition keine Veränderungen auf das kardiovaskuläre System in der Endotoxinämie festgestellt werden. Es ist aber zu beachten, dass nur eine kleine Fallzahl von Schafen bei gleicher Endotoxindosierung untersucht wurden. Weitere Studien werden notwendig sein, um den Effekt der Hämoxygenase-Inhibition auf die hämodynamischen und klinischen wichtigen Parameter zu untersuchen.

**Literaturverzeichnis**

- 1 AIRD WC  
The role of endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome  
*Blood* 2003; 101:3765-3777
- 2 AIZAWA T, N. ISHIZAKA J, TAGUSHI S, KIMURA K, KUROKAWA OHNO M  
Balloon injury does not induce heme oxygenase-1 expression, but administration of hemin inhibits neointimal formation in balloon-injured rat carotid artery  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 261: 302-307
- 3 ANGUS DC, LINDE-ZWIRBLE WT, LIDICKER J, CLERMONT G, CARCILLO J, PINSKY MR  
Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care  
*Crit Care Med.* 2001 Jul; 29(7): 1303-10
- 4 ANNANE D, SEBILLE V, CHARPENTIER C, BOLLAERT PE, FRANCOIS B, KORACH JM, CAPELLIER G, COHEN Y, AZOULAY E, TROCHE G, CHAUMET-RIFFAUT P, BELLISSANT E  
Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock  
*JAMA.* 2002 Aug 21;288(7):862-71
- 5 BALK RA and BONE RC  
The septic syndrome. Definition and clinical implications  
*Crit. Care Clin.* 1989; 5: 1-8
- 6 BAKKERJ, GROVER R, McLUCKIE A, HOLZAPFEL L, ANDRESSON J, LODATO R, WATSON D, GROSSMANN S, DONALDSON J, TAKALA J; GLAXO WELLCOME INTERNATIONAL SEPTIC SHOCK STUDY GROUP  
Administration of the nitric oxide synthase inhibitor NG-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88) by intravenous infusion for up to 72 hours can promote the resolution of shock in patients with severe sepsis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002).  
*Crit Care Med.* 2004 Jan;32(1):1-12
- 7 BAUER I, WANNER GA, RENSING H, ALTE C, MIESCHER EA, WOLF B, PANNEN BHJ, CLEMENS MG, BAUER M  
Expression pattern of heme oxygenase isoenzymes 1 and 2 in normal and stress-exposed rat liver  
*Hepatology* 1998; 27:829-838

- 8 BERNARD GR, VINCENT JL, LATERRE PF, LAROSA SP, DHAINHAUT JF, LOPESZ-RODRIGUEZ A, STEINGRUB JS, GRABER GE, HELTERBRAND JD, ELY EW, FISHER CJ  
Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis  
*N. Engl. J. Med.* 2001; 344, (10): 699-709
- 9 BONE HG, FISCHER SR, SCHENARTS PJ, McGUIRE R, TRABER LD, TRABER DL  
Continuous infusion of pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate in hyperdynamic septic sheep  
*Shock* 1998; 10:69-76
- 10 BONE HG, WAURICK R, VAN AKEN H, BOOKE M, PRIEN T and MEYER J  
Comparison of the hemodynamic effects of nitric oxide synthase inhibition and nitric oxide scavenging in endotoxaemic sheep  
*Intensive Care Med.* 1998 Jan; 24 (1): 48-54
- 11 BONE HG, SIELENKÄMPER A, BOOKE M  
Sauerstoffangebot in der Sepsis. Seit 10 Jahren mehr Fragen als Antworten.  
*Anästhesist* 1999; 48, (2): 63-79
- 12 BONE RC  
The pathogenesis of sepsis.  
*Ann Intern Med.* 1991;115:457-469
- 13 BONE RC, BALK RA, CERRA FB, DELLINGER RP, FEIN AM, KNAUS WA, SCHEIN RM, SIBBALD WJ  
Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/ACCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine  
*Chest* 1992; 101: 1644-1655
- 14 BONE RC  
Gram-negative sepsis: a dilemma of modern medicine.  
*Clin. Microbiol. Rev.* 1993; 6: 57-68
- 15 BONE RC, BALK RA, FEIN AM, PERL TM, WENZEL RP, REINES HD, QUENZER RW, ILBERTI TJ, MACINTYRE N, SCHEIN RMH. THT E5 SEPSIS STUDY GROUP  
A second large controlled clinical study of E5, a monoclonal antibody to endotoxin: results of a prospective, multicenter, randomized, controlled trial  
*Crit. Care Med.* 1995; 23, 994-1006

- 16 BONE RC  
Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammation response syndrome: what we do know and do not know about cytokines in sepsis  
*Crit. Care Med. 1996; 24: 163-172*
- 17 BOOKE M  
Noradrenalin und Stickstoffmonoxid-Synthase-Inhibition unter physiologischen Bedingungen sowie in hyperdynamer Sepsis: Einfluß auf Hämodynamik, regionale Perfusion, renale Funktion sowie bakterielle Elimination  
*Habilitationsschrift, Westfälische Wilhelms-Universität Münster 1996.*
- 18 BOOKE M  
Sepsis und SIRS: Pathophysiologie und perioperatives Handling  
*Refresher Course: Aktuelles Wissen für Anästhesisten Nr. 28 Juni 2002, S. 57-68*
- 19 BOOKE M, HINDER F, McGUIRE R, TRABER LD, TRABER DL  
Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase: effects on hemodynamics and regional blood flow in healthy and septic sheep  
*Crit Care Med 1999; 27:162-167*
- 20 BOOKE M, TRABER LD, TRABER DL  
Development of effective therapies for sepsis.  
*Crit. Care Med. 1995; 23, (7): 1305-6*
- 21 BRAGGINS PE, TRAKSHEL GM, KUTTY RK, MAINES MD  
Characterization of two heme oxygenase isoforms in rat spleen: comparison with the hematin-induced and constitutive isoforms of the liver.  
*Biochem Biophys Res Commun. 1986 Dec 15;141(2):528-33*
- 22 CAMHI SL, ALAM J, OTTERBEIN L, SYLVESTER SL, CHOI AM  
Induction of heme oxygenase-1 gene expression by lipopolysaccharide is mediated by AP-1 activation  
*Am J Respir Cell Mol Biol. 1995 Oct;13(4):387-98*
- 23 CHOI AM, ALAM J  
Heme oxygenase-1: function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury  
*Am J Respir Cell Mol Biol. 1996 Jul;15(1):9-19*

- 24 CLARK JE, FORESTI R, SARATHCHANDRA P, KAUR H, GREEN CJ, MOTTERLINI R  
Heme oxygenase-1-derived bilirubin ameliorates postischemic myocardial dysfunction  
*Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Feb;278(2):H643-51
- 25 COHEN J  
The immunopathogenesis of sepsis  
*Nature* 2002; 420, 885-891
- 26 COOK MN, NAKATSU K, MARKS GS, MCLAUGHLIN BE, VREMAN HJ, STEVENSON DK, BRIAN JF  
Heme oxygenase activity in the adult rat aorta and liver as measured by carbon monoxide formation  
*Can J Physiol Pharmacol* 1995; 73:515-518
- 27 DANNER RL, ELIN RJ, HOSSEINI JM, WESLEY RA, REILLY JM, PARILLO JE  
Endotoxemia in human septic shock  
*Chest Jan; 1991; 99(1):169-75*
- 28 DAVIS et al.  
*Intensive Care Med* 2001 ; 27 : Abstr. # 581
- 29 DEGRAW J, GAO J, LETURCQ  
Site-directed mutagenesis of babonn CD14 to the human sequence allows for antibody recognition and enhanced LPS binding  
*Abstr. Journal of Endotoxin Research* 1994; 1 (Supplement):S37
- 30 DENNERY PA, SPITZ DR, YANG G, TATAROV A, LEE CS, SHEGOG ML, POSS KD  
Oxygen toxicity and iron accumulation in the lungs of mice lacking heme oxygenase-2  
*J Clin Invest.* 1998 Mar 1;101(5):1001-11
- 31 DJOUSSE L, LEVY D, CUPPLES LA, EVANS JC, D'AGOSTINO RB, ELLISON RC  
Total serum bilirubin and risk of cardiovascular disease in the Framingham offspring study  
*Am J Cardiol.* 2001 May 15;87(10):1196-200

- 32 DRUMMOND GS, GALBRAITH RA, SARDANA MK, KAPPAS A  
Reduction of the C2 and C4 vinyl groups of Sn-protoporphyrin to form Sn-mesoporphyrin markedly enhances the ability of the metalloporphyrin to inhibit in vivo heme catabolism  
*Arch Biochem Biophys* 1987; 255:64-74
- 33 DUCKERS HJ, BOEHM M, TRUE AL, YET SF, SAN H, PARK JL, CLINTON WEBB R, LEE ME, NABEL GJ, NABEL EG  
Heme oxygenase-1 protects against vascular constriction and proliferation  
*Nat Med.* 2001 Jun;7(6):693-8
- 34 ESCALANTE B, SACERDOTI D, DAVIDIAN MM, LANIADO-SCHWARTZMAN M, McGiff JC  
Chronic treatment with tin normalizes blood pressure in spontaneously hypertensive rats  
*Hypertension.* 1991 Jun;17(6 Pt 1):776-9
- 35 EWIN JF, RAJU VS, MAINES MD  
Induction of heart heme oxygenase-1 (HSP32) by hyperthermia in rats: possible role in stress-mediated elevation of cyclic 3':5'-guanosine monophosphate  
*J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 408-414
- 36 EXNER M, SCHILLINGER M, MINAR E, MLEKUSCH W, SCHLERKA G, HAMUER M, MANNHALTER C, WAGNER O  
Heme oxygenase-1 gene promoter microsatellite polymorphism is associated with restenosis after percutaneous transluminal angioplasty  
*J. Endovasc. Ther.* 2001; 8: 433-440
- 37 FINK MP  
Another negative clinical trial of a new agent for the treatment of sepsis: rethinking the process of developing adjuvant treatments for serious infections.  
*Crit. Care Med.* 1995; 23, 989-991
- 38 FREISE H, BRUCKNER UB, SPIEGEL HU  
Animal models of sepsis  
*J. Invest. Surg.* 2001; 14, (4): 195-212
- 39 GRÄSER T, VEDERNIKOV YP, LI DS (1990)  
Study on the mechanism of carbon monoxide induced endothelium – independent relaxation in porcine coronary artery and vein  
*Biomed Biochim Act* 1990; 49: 293-296

- 40 GREABU M, OLINESCU R, KUMMEROW FA, CROCNAN DO  
The levels of bilirubin may be related to an inflammatory condition in patients with coronary heart disease  
*Acta Pol Pharm. 2001 May-Jun;58(3):225-31*
- 41 GRIMMER F und SEEGER, W  
Sepsis  
In: LASCH, HG, LENZ K, SEEGER W (Hrsg.)  
*Lehrbuch der internistischen Intensivtherapie. Schattauer, Stuttgart, 1997; 3.Aufl., 627-650.*
- 42 GRUNDEMAR L, NY L  
Pitfalls using metalloporphyrins in carbon monoxide research.  
*Trends Pharmacol Sci 1997; 18:882-888*
- 43 GUO Y, STEIN AB, WU WJ, TAN W, ZHU X, LI QH, DAWN B, MOTTERLINI R, BOLLI R  
Administration of a CO-releasing molecule at the time of reperfusion reduces I nfarct size in vivo  
*Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004 May;286(5):H1649-53. Epub 2004 Jan 02*
- 44 GUYTON AC, JONES CE and COLEMAN TG  
Normal cardiac output and ist variations. In: Cardiac Physiology: Cardiac output and its Regulation  
*1973, S. 3-20, WB Saunders Company, Philadelphia*
- 45 HAYASHI S, TAKAMIYA R, YAMAGUCHI T, MATSUMOTO K, TOJO SJ, TAMATANI T, KITAJIMA M, MAKINO N, ISHIMURA Y, SUEMATSU M  
Induction of heme oxygenase-1 suppresses venular leukocyte adhesion elicited by oxidative stress: role of bilirubin generated by the enzyme  
*Circ Res. 1999 Oct 15;85(8):663-71*
- 46 HARBARTH S, FERRIERE K, HUGONNET S, RICOU B, SUTER P, PITTET D  
Epidemiology and prognostic determinants of bloodstream infections in surgical intensive care.  
*Arch Surg 2002; 137:1353-1359*
- 47 HARVEY EH, TYBURSKI JG, STEFFES CP, CARLIN AM  
Inhibition of heme oxygenase-1 in microvascular lung pericytes diminishes at high concentrations of an inflammatory mediator  
*Am Surg. 2004 Feb;70(2):141-5*

- 48 HINDER F, MEYER J, BOOKE M, EHARST JS, SALSBURY JR, TRABER LD, TRABER DL  
Endogenous nitric oxide and the pulmonary microvasculature in healthy sheep and during systemic inflammation  
*Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1542-1549
- 49 HINDER F, STUBBE HD, VAN AKEN H, WAURICK R, BOOKE M, MEYER J  
Role of nitric oxide in sepsis-associated pulmonary edema.  
*Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999 Jan; 159 (1): 252-7.
- 50 HOFFMAN WD, NATANSON C  
Endotoxin in septic shock  
*Anesth Analg* 1993 Sep;77(3):613-24
- 51 KAIDE JI, ZHANG F, WEI Y, JIANG H, YU C, WANG WH, BALAZY M, ABRAHAM NG, NASJLETTI A  
Carbon monoxide of vascular origin attenuates the sensitivity of renal arterial vessels to vasoconstrictors  
*J Clin Invest.* 2001 May;107(9):1163-71
- 52 KAPPAS A, DRUMMOND GS, SIMIONATTO CS, ANDERSON KE  
Control of heme oxygenase and plasma levels of bilirubin by a synthetic heme analogue, tin-protoporphyrin.  
*Hepatology* 1984 Mar-Apr;4(2):336-41
- 53 KAPPAS A and DRUMMOND GS  
Synthetic metalloporphyrins: a class of compounds of pharmacological interest  
*Bio-Essays* 1985; 3:256-259
- 54 KAPPAS A and DRUMMOND GS  
Control of heme metabolism with synthetic metalloporphyrins  
*J Clin Invest.* 1986 Feb;77(2):335-9
- 55 KAWASHIMA A, ODA Y, YACHIE A, KOIZUMI S, NAKANISHI I  
Heme oxygenase-1 deficiency: the first autopsy case  
*Hum. Pathol* 2002 Jan;33(1):125-30
- 56 KOUREMBANAS S, MORITA T, LIU Y, CHRISTOU H  
Mechanisms by which oxygen regulates gene expression and cell-cell interaction in the vasculature  
*Kidney Int.* 1997 Feb;51(2):438-43
- 57 KRUMENACKER JS, HANAFY KA, MURAD F  
Regulation of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase  
*Brain Res Bull.* 2004 Feb 15;62(6):505-15

- 58 LAMY M und THIJS LG  
Round table conference on mediators in sepsis  
*Intensive Care Med.* 1994; 20: 238-241
- 59 LEE PJ, ALAM J, WIEGAND GW, CHOI AM  
Overexpression of heme oxygenase-1 in human pulmonary epithelial cells results in cell growth arrest and increased resistance to hyperoxia  
*Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Sep 17;93(19):10393-8
- 60 LEHR HA, BITTINGER F, KIRKPATRICK CJ  
Microcirculatory dysfunction in sepsis: a pathogenetic basis for therapy?  
*J. Pathol.* 2000; 190 (3): 373-86.
- 61 LEVY MM, FINK MP, MARSHALL JC, ABRAHAM E, ANGUS D, COOK D, COHEN J, OPAL SM, VINCENT JL, RAMSAY G;  
SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS  
2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference  
*Crit Care Med.* 2003 Apr; 31(4): 1250-6
- 62 LIU Y, CHRISTOU H, MORITA T, LAUGHNER E, SEMENZA GL, KOUREMBANAS S  
Carbon monoxide and nitric oxide suppress the hypoxic induction of vascular endothelial growth factor gene via the 5' enhancer  
*J Biol Chem.* 1998 Jun 12;273(24):15257-62
- 63 LLEWELYN M und COHEN J  
New insights into the pathogenesis and therapy of sepsis and septic shock.  
*Curr. Clin. Top. Infect. Dis.* 2001; (21):148-171
- 64 LOPEZ A, LORENTE JA, STEINGRUB J, BAKKER J, MCLUCKIE A, WILLATTS S, BROCKWAY M, ANZUETO A, HOLZAPFEL L, BREEN D, SILVERMAN MS, TAKALA J, DONALDSON J, ARNESON C, GROVE G, GROSSMANN S, GROVER R  
Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock.  
*Crit Care Med.* 2004 Jan;32(1):21-30
- 65 LOWRY SF  
Anticytokine therapies in sepsis.  
*New Horizons* (1993) 1: 120-126

- 66 LYYTIKAINEN O, LUMIO J, SARKKINEN H, KOLHO E, KOSTIALA A, RUUTU P (2002)  
Nosocomial bloodstream infections in finnish hospitals during 1999-2000  
*Clin. Infect Dis* 2002; 35:e14-19
- 67 MAINES MD, KAPPAS A  
Cobalt induction of hepatic heme oxygenase; with evidence that cytochrome P-450 is not essential for this enzyme activity  
*Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974 Nov;71(11):4293-7
- 68 MAINES MD, TRAKSHEL GM, KUTTY RK  
Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal hemeoxygenase: Only one molecular species of the enzyme is inducible  
*J. Biol. Chem.* 1986; 257:14116-21.
- 69 MAINES MD  
Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications  
*FASEB J.* 1988 Jul;2(10):2557-68
- 70 MAINES MD  
The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases  
*Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997; 37:517-554
- 71 MAJETSCHAK M, OBERTACKE U, WAYDHAS C, NAST-KOLB D, SCHADE FU  
Mediatorenmodulation bei Sepsis und Multiorganversagen  
*Unfallchirurg.* 2000; 103, (10):903-907
- 72 MANN FC, SHEARD C and BOLLMANN JL  
The formation of bile pigment from hemoglobin  
*Am J Physiol* 1926; 76: 306-315
- 73 MARKS, G. S., BRIEN, J. F., NAKATSU, K., MCLAUGHLIN, B. E  
Does carbon monoxide have a physiological function?  
*Trends Pharmacol. Sci.* 1991; 12, 185-188
- 74 MARKS GS  
Heme oxygenase: the physiological role of one of its metabolites, carbon monoxide and interactions with zinc protoporphyrin, cobalt protoporphyrin and other metalloporphyrins  
*Cell Mol Noisy le grand.* 1994 ; 40: 863-870
- 75 MARTICH GD, BOUJOUKOS AJ, SUFFREDINI AF  
Response of man to endotoxin  
*Immunobiology,* 1993; 187, (3-5): 403-16.

- 76 MARTIN E, SHARINA I, KOTS A, MURAD F  
A constitutively activated mutant of human soluble guanylyl cyclase (sGC):  
implication for the mechanism of sGC activation  
*Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Aug 5;100(16):9208-13. Epub 2003 Jul 25
- 77 MARTIN MA  
Nosocomial infections in intensive care units: an overview of their  
epidemiology, outcome and prevention  
*New Horiz* 1993;2:162-171
- 78 McCOUBREY WK JR, HUANG TJ, MAINES MD  
Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes  
hemoprotein heme oxygenase-3.  
*Eur J Biochem.* 1997 Jul 15;247(2):725-32
- 79 MEYER J, BOOKE M, WAURICK R, PRIEN T, VAN AKEN H  
Nitric oxide synthase inhibition restores vasopressor effects of norepinephrine  
in ovine hyperdynamic sepsis.  
*Anesth Analg* 1996 Nov;83(5):1009-13.
- 80 MONCURE M, BRATHWAITE CE, SAMAHA E, MARBURGER R, ROSS SE  
Carboxyhemoglobin elevation in trauma victims  
*J Trauma* 1999 Mar ;46(3) :424-7
- 81 MORITA T, KOUREMBANAS S  
Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated  
by smooth muscle cell-derived carbon monoxide.  
*J Clin Invest.* 1995 Dec;96(6):2676-82
- 82 MORITA T, PERRELLA MA, LEE M-E, KOUREMBANAS S  
Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator in vascular cGMP.  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995;92:1475-79
- 83 NALOS M, VASSILEV D, PITTNER A, ASFAR P, BRÜCKNER UB,  
SCHNEIDER EM, GEORGIEFF M, RADERMACHER P, FROEBA G  
TIN-Mesoporphyrin for inhibition of Heme Oxygenase during long-term  
hyperdynamic porcine endotoxemia  
*Shock* 2003;19(6):526-532
- 84 NDISANG JF, ZHAO W, WANG R  
Selectiv regulation of blood pressure by heme oxygenase-1 in hypertension  
*Hypertension* 2002 Sep;40(3):315-21

- 85 NELSON SH, DEHRING DJ, EHARDT JS, TRABER LD, TRABER DL  
Regional variation in content of c-GMP and associated vascular reactivity in bacteremia  
*Crit. Shock* 1993; 39, 54(Abstr.)
- 86 NELSON SH, STEWART RH, TRABER DL, TRABER DL  
Endotoxin-induced alterations in contractility of isolated blood vessels from sheep  
*Am. J. Physiol.* 1991; 260, H1790-H1794
- 87 OECD  
*Health Data* 2000
- 88 OHTA K, YACHIE A, FUJIMOTO K, KANEDA H, WADA T, SENO A, KASAHARA Y, YOKOHAMA H, SEKI H, KOIZUMI S  
Tubular injury as a cardinal pathologic feature in human heme oxygenase-1 deficiency  
*Am J Kidney Dis.* 2000 May;35(5):863-70
- 89 OTTERBEIN LE, BACH FH, ALAM J, SOARES M, TAO LU H, WYSK M, DAVIS RJ, FLAVELL RA, CHOI AM  
Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway  
*Nat Med.* 2000 Apr;6(4):422-8
- 90 OTTERBEIN LE, CHIO MK  
Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress  
*Am. J. Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: L1029-L1037
- 91 OTTERBEIN LE, KOLLS JK, MANTEL LL, COOK JL, ALAM J, CHOI AM  
Exogenous administration of heme oxygenase-1 by gene transfer provides protection against hyperoxia-induced lung injury  
*J Clin Invest.* 1999 Apr;103(7):1047-54
- 92 OTTERBEIN L, SYLVESTER SL, CHOI AM  
Hemoglobin provides protection against lethal endotoxemia in rats: the role of heme oxygenase-1  
*Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995 Nov;13(5):595-601
- 93 OU HS, YANG J, DONG LW, PANG YZ, SU JY, TANG CS, LIU NK  
Role of endogenous carbon monoxide in the pathogenesis of hypotension during septic shock.  
*Sheng Li Xue Bao.* 1999 Feb; 51(1): 1-6

- 94 PALMER RM, FERRIGE AG, MONCADA S  
Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor  
*Nature*. 1987 327: 524-526
- 95 PARILLO JE  
Septic shock in humans  
*Annals of Internal Med*. 1990; 113: 227-242
- 96 PARILLO JE, PARKER MM, NATANSON C, SUFFREDENI AF, DANNER RL, CUNNIO RE and OGNIBENEB FP  
Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy  
*Ann. Intern. Med*. 1990;155: 457-469
- 97 PARILLO JE  
Pathogenetic mechanisms of septic shock  
*N. Engl. J. Med*. 1993; 328, (20):1471-7
- 98 PARKER SJ, WATKINS PE  
Experimental models of gram-negative sepsis  
*Br. J. Surg*. 2001 ; 88, (1): 22-30.
- 99 PATERSON RL, WEBSTER NR  
Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome  
*J.R. Coll. Surg. Edinb*. 2000; 45,(3):178-82
- 100 PERRELLA MA, YET SF  
Role of heme oxygenase-1 in cardiovascular function  
*Curr Pharm Des*. 2003;9(30):2479-87
- 101 PITTET JF, MOREL DR  
Imbalance between plasma levels of thromboxane B2 and 6-keto-prostaglandin F1 alpha during subacute endotoxin-induced hyperdynamic sepsis or multiple organ failure syndrome in sheep  
*Circ Shock Oct*. 1991;35(2):65-77
- 102 POSS, KD, and TONEGAWA S  
Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells  
*Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10925-10930
- 103 RABUEL C, RENAUD E, BREALEY D, RATAJCZAK P, DAMY T, ALVES A, HABIB A, SINGER M, PAYEN D, MEBAZAA A  
Human septic myopathy: induction of cyclooxygenase, heme oxygenase and activatin of the ubiuitin proteolytic pathway  
*Anesthesiology* 2004 Sep;101(3):583-90

- 104 RAJU VS, MAINES MD  
Renal ischemia/perfusion in rats upregulates HO-1 (HSP32) expression and increases cGMP in the rat heart  
*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996; 277:1841-22
- 105 RAMOS KS, LIN H, McGRATH J  
Modulation of cyclic guanosine monophosphate levels in cultured aortic smooth muscle cells by carbon monoxide  
*Biochem Pharmacol* 1989; 38: 1368-1370
- 106 RENSING H  
Endotoxin. Pathogenetische Bedeutung bei der Sepsis  
*Anästhesist* 2003 (Suppl. 1)52: S.7-13
- 107 RYTER SW, CHOI AM  
Heme oxygenase-1: redox regulation of a stress protein in lung and cell culture models  
*Antioxid Redox Signal.* 2005 Jan-Feb;7(1-2):80-91
- 108 RIVERS E, NGUYEN B, HAVSTAD S, RESSLER J, MUZZIN A, KNOBLICH B, PETERSON E, TOMLANOVICH M  
Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock.  
*N Engl J Med.* 2001 Nov 8;345(19):1368-77
- 109 RUOKONEN E, TAKALA J, KARI A, ALHAVA E  
Septic shock and multiple organ failure  
*Crit. Care Med.* 1991; 21:1296-1303
- 110 SABAAY HE, ZHANG F, NGUYEN X, ELHOSSEINY A, NASJLETTI A, SCHWARTZMANN M, DENNERY P, KAPPAS A, ABRAHAM NG  
Human heme oxygenase-1 gene transfer lowers blood pressure and promotes growth in spontaneously hypertensive rats  
*Hypertension* 2001 Aug;38(2):210-5
- 111 SACERDOTI D, ESCALANTE B, ABRAHAM NG, MCGIFF JC, LEVERE RD, SCHWARTZMAN ML  
Treatment with tin prevents the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats  
*Science.* 1989 Jan 20;243(4889):388-90
- 112 SARADY JK, OTTERBEIN SL, LIU F, OTTERBEIN LE, CHOI AM  
Carbon monoxide modulates endotoxin-induced production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor in macrophages  
*Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002 Dec;27(6):739-45

- 113 SATO K, BALLA J, OTTERBEIN L, SMITH RN, BROUARD S, LIN Y, CSIZMADIA E, SEVIGNY J, ROBSON SC, VERCELLOTTI G, CJOI AM, BACH FH, SOARES MP  
Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses the rejection of mouse-to-rat cardiac transplants  
*J Immunol.* 2001 Mar 15;166(6):4185-94
- 114 SCABO C  
Alteration in nitric oxide production in various forms of circulatory shock  
*New Horiz.* 1995; 3: 3-32
- 115 SCHARTE M, BONE HG, VAN AKEN H, MEYER J  
Increased carbon monoxide in exhaled air of critically ill patients  
*Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Jan 7;267(1):423-6
- 116 SCHOTTMÜLLER H  
Wesen und Behandlung der Sepsis  
*Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 1914; 31: 257-280
- 117 SCHWARTZMANN G  
Studies on Bacillus typhosus toxic substances. I. Phenomenon of local skin reactivity B.typhosus culture filtrate  
*J. Exp. Med.* 1928 38: 247-268
- 118 SHAPIRO L, GELAND JA  
Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy  
*New Horiz* 1993;1:13-27
- 119 SPRUNG, CL, RACKOW EC and CIVETTA JM  
Direkte Messungen mit Hilfe des Pulmonalarteriekatheters und abgeleitete Meßgrößen  
*In: Pulmonalarterienkatheter: Methodik und klinische Anwendung (Sprung CL, Hrsg.)* 1989, S. 99-134, Springer Verlag, Berlin
- 120 STRIEBEL HW  
Einführung eines Pulmonaliskatheters  
*In: Anästhesie und Intensivmedizin. 4. Auflage, 2000, S. 178-9*
- 121 SUFFREDINI AF, FROMM RE, PARKER MM, BRENNER M KOVACS JA, WESLEY RA und PARILLO JE  
The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin.  
*N. Engl. J. Med.* 1989; 321, 280-287

- 122 SUGI K, NEWALD J, TRABER LD, MAGUIRE JP, HERNDON DN, SCHLAG G, TRABLER DL  
Cardiac dysfunction after acute endotoxin administration in conscious sheep.  
*Am J Physiol* 1991; May;260(5 Pt 2):H1474-81
- 123 SUTTNER DM, DENNERY PA  
Reversal of HO-1 related cytoprotection with increased expression is due to reactive iron  
*FASEB J.* 1999 Oct;13(13):1800-9
- 124 SUTTNER DM, SRIDHAR K, LEE CS, TOMURA T, HANSEN TN, DENNERY PA  
Protective effects of transient HO-1 overexpression on susceptibility to oxygen toxicity in lung cells  
*Am J Physiol.* 1999 Mar;276(3 Pt 1):L443-51
- 125 SUZUKI T, TAKAKASHI T, YAMASAKI A, FUJIWARA T, HIRAKAWA M, AKAGI R  
Tissue-specific gene expression of heme oxygenase-1 (HO-1) and non-specific delta aminolevulinate synthase (ALAS-N) in a rat model of septic multiple organ dysfunction syndrome.  
*Biochem. Pharmacol.* 2000 Jul 15;60(2):275-83
- 126 TAKAHASHI T, SUZUKI T, YAMASAKI A, TSUKIJI T, HIRAKAWA M, AKAGI R  
Heat shock response in a rat model of septic multiple organ dysfunction syndrome  
*Nippon Yakurigaku Zasshi.* 1999 Nov;114(5):295-302
- 127 TAMAYO L, LOPEZ-LOPEZ JR, CASTANEDA J, GONZALEZ C  
Carbon monoxide inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats by a cGMP-independent mechanism  
*Pflugers Arch.* 1997 Nov;434(6):698-704
- 128 TAYLOR JL, CARRAWAY MS, PIANTDOSI CA  
Lung-specific induction of heme oxygenase-1 and hyperoxic lung injury  
*Am J Physiol.* 1998 Apr;274(4 Pt 1):L582-90
- 129 THE ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME NETWORK  
Ventilation with lower tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome  
*N Engl J Med* 2000, 342:1301-1308

- 130 THEISSEN JL, LOICK HM, CURRY BB, TRABER LD, HERNDSON DN, TRABER DL  
Time course of hypoxic pulmonary vasoconstriction after endotoxin infusion in unanesthetized sheep.  
*J Appl Physiol* 1991; May;70(5):2120-5
- 131 TOGANE Y, MORITA T, SUEMATSU M, ISHIMURA Y, YAMAZAKI JI, KATAYAMA S  
Protective roles of endogenous carbon monoxide in neointimal development elicited by arterial injury  
*Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Feb;278(2):H623-32
- 132 TRABER DL  
Animal models: the sheep  
*Crit. Care Med.*2000; 28, (2): 591-2
- 133 TRABER DL, REDL H, SCHLAG G, HERNDON DN, KIMURA R, PRIEN T, TRABER LD  
Cardiopulmonary responses to continuous administration of endotoxin.  
*Am. J. Physiol.* 1998; 254, H833-H839.
- 134 TULIS DA, DURANTE W, LIU X, EVANS AJ, PEYTON KJ, SCHAFER AI  
Adenovirus-mediated heme oxygenase-1 gene delivery inhibits injury-induced vascular neointima formation  
*Circulation* 2001;104: 2710-2715
- 135 VACHHARAJANI TJ, WORK J, ISSEKUTZ AC, GRANGER DN  
Heme oxygenase modulates selectin expression in different regional vascular beds  
*Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 May;278(5):H1613-7
- 136 VAN DEN BERGHE G, WOUTERS P, WEEKERS F, VERWAEST C, BRUYNINCKX F, SCHETZ M, VLASSELAERS D, FERDINANDE P, LAUWERS P, BOUILLON R (2001)  
Intensive insulin therapy in the critically ill patients  
*N Engl J Med.* 2001 Nov 8;345(19):1359-67
- 137 VASSALLI F, PIERRE S, JULIEN V, BOUCKAERT Y, BRIMIOULLE S, NAEIJE R  
Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by carbon monoxide in dogs  
*Crit Care Med.* 2001 Feb;29(2):359-66

- 138 VEDERNIOV YP, GRÄSER T, VANIN AF  
Similar endothelium-independent arterial relaxation by carbon monoxide and nitric oxide  
*Biomed Biochim Act* 1989; 48: 601-603
- 139 WAGNER CT, DURANTE W, CHRISTODOULIDES N, HELLUMS JD, SCHAFFER AI  
Hemodynamic forces induce the expression of heme oxygenase in cultured vascular smooth muscle cells  
*J Clin Invest.* 1997 Aug 1;100(3):589-96
- 140 WAURICK R, BONE HG, MEYER J, BOOKE M, MEISSNER A, PRIEN T and VAN AKEN H  
Haemodynamic effects of dopexamine and nitric oxide synthase inhibition in healthy and endotoxaemic sheep  
*Eur. J. Pharmacol.* 1997 Aug ;27 ; 333 (2-3): 181-6.
- 141 WIESEL P, PATEL AP, DIFONZO N, MARRIA PB, SIM CU, PELLACANI A, MAEMURA K, LEBLANC BW, MARINO K, DOERSCHUK CM, YET SF, LEE ME, PERRELLA MA  
Endotoxin-induced mortality is related to increased oxidative stress and end-organ dysfunction, not refractory hypotension, in heme oxygenase-1-deficient mice  
*Circulation.* 2000 Dec 12;102(24):3015-22
- 142 WILLIAMS TJ, HELLEWELL PG  
Endothelial cell biology. Adhesion molecules involved in the microvascular inflammatory response  
*Am. Rev. Respir. Dis.* 1992, 146 (5Pt 2): S 45-50
- 143 YACHIE A, NIIDA Y, WADA T, IGARASHI N, KANEDA H, TOMA T, OHTA K, KASAHARA Y, KOIZUMI S  
Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency  
*J Clin Invest* 1999 Jan; 103(1):129-35
- 144 YAMADA N, YAMAYA M, OKINAGA S, LIE R, SUZUKI T, NAKAYAMA K, TAKEDA A, YAMAGUCHI T, ITOYAMA Y, SEKIZAWA K, SASAKI H  
Protective effects of heme oxygenase-1 against oxidant-induced injury in the cultured human tracheal epithelium  
*Am J Respir Cell Mol Biol.* 1999 Sep;21(3):428-35

- 145 YET SF, PELLACANI A, PATTERSON C, TAN L, FOTA SC, FOSTER L, LEE WS, HSIEH CM, PERRELLA MA  
Induction of heme oxygenase-1 expression in vascular smooth muscle cells. A link to endotoxic shock  
*J Biol Chem.* 1997 Feb 14; 272(7): 4295-301
- 146 YET SF, TIAN R, LAYNE MD, WANG ZY, MAEMURA K, SOLOVYEVA M, ITH B, MELO LG, ZHANG L, INGWALL JS, DZAU VJ, LEE ME, PERRELLA MA  
Cardiac-specific expression of heme oxygenase-1 protects against ischemia and reperfusion injury in transgenic mice.  
*Circ Res.* 2001 Jul 20;89(2):168-73
- 147 YUAN S, HUAQIANG L, JIE P, SHIWEN Q, FENG P, DONGBO J, JIGAO S  
Role of endogenous carbon monoxide in endotoxin shock.  
*Chin Med Sci J.* 2000 Jun;15(2):98-102
- 148 ZAMPETAKI A, MINAMINO T, MITSIALIS SA, KOUREMBANAS S  
Effect of heme oxygenase-1 overexpression in two models of lung inflammation  
*Exp Biol Med (Maywood).* 2003 May;228(5):442-6
- 149 ZEGDI R, PERRIN D, BURDIN M, BOITEAU R, TENAILLON A  
Increased endogenous carbon monoxide production in severe sepsis  
*Intensiv Car Med* 2002 Jun;28(6):793-6

## 7 Danksagung

Meinen besonderen Dank verdienen:

1. Herr Prof. Dr. med. H.-G. Bone für die Überlassung des Themas und die geduldige Betreuung.
2. Herr Dr. med. R. Waurick und Frau Dr. med. M. Scharte für die hilfreiche und geduldige Unterstützung dieser Arbeit.
3. Herr Dr. med. K.-P. Thomas für die stets gute und freundschaftliche Zusammenarbeit.
4. Meine Frau, die mich nicht nur in dieser Arbeit, sondern in jeglicher Hinsicht unterstützt hat.
5. Meine Mutter und meine Familie, die mir nicht nur das Studium ermöglicht haben, sondern mich auch stets in meinen Bestrebungen unterstützt und gefördert haben.

## 8 Lebenslauf

Name:	Andreas Brünen
Geboren am:	01.04.1976 in Gronau als Sohn von Maria und Johannes Brünen
Staatsangeh.:	deutsch
Familienstand:	verheiratet
1982 - 1986	Ludgerus-Grundschule, Wettringen
1986 - 1995	Arnold-Janssen-Gymnasium, Neuenkirchen
Mai 1995	Allgemeine Hochschulreife
1995/96	Zivildienst: Ausbildung zum Rettungssanitäter mit Tätigkeit im Krankentransport und Rettungsdienst des MHD Steinfurt
Oktober 1996	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
September 1998	Ärztliche Vorprüfung
März 2000	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Januar bis Juni 2001	Auslandsaufenthalt im Rahmen des ERASMUS-Programms an der Universität Oulu/Finnland
April 2002	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 2002 bis März 2003	Praktisches Jahr im Kantonsspital Baden, Schweiz, und am Universitätsklinikum Münster
Juni 2003	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Juli 2003	AiP in der Klinik und Poliklinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin des Universitätskrankenhauses Münster (Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken)
Oktober 2004	Approbation
Seit Oktober 2004	Assistenzarzt in der Klinik und Poliklinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin des Universitätskrankenhauses Münster (Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken)

## **9 Anhang**

Genehmigungsbescheid (AZ 23.0835.1.0 (34/96)) der Bezirksregierung Münster vom 30.07.1996