

**EINFLUSS VOLATILER ANÄSTHETIKA AUF  
DIE LEUKOZYTEN-ENDOTHEL-INTERAKTIONEN  
IN POSTKAPILLÄREN MESENTERIALVENOLEN  
WÄHREND ENDOTOXINÄMIE**

Eine intravitalmikroskopische Studie an der Ratte

**CHRISTINA HAARMANN**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**



**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2009

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2009

© 2009 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin  
Klinik für Kleintiere  
Chirurgie

Betreuerin: PD Dr. S. Tacke  
und

der Klinik für Anästhesiologie  
des Universitätsklinikums Heidelberg

Betreuer: PD Dr. W. Schmidt

**Einfluss volatiler Anästhetika auf  
die Leukozyten-Endothel-Interaktionen  
in postkapillären Mesenterialvenolen  
während Endotoxinämie**

**Eine intravitalmikroskopische Studie an der Ratte**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Christina Haarmann**

Tierärztin aus Heidelberg

Gießen 2009

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Gutachter: PD Dr. S. Tacke  
PD Dr. W. Schmidt

Tag der Disputation: 19.10.2009

*Meiner Familie*

## **Erklärung**

Ich erkläre:

„Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe.

Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus -Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>1</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1 Bedeutung der Sepsis</b> .....	<b>3</b>
<b>1.2 Fragestellung</b> .....	<b>4</b>
<b>2 Literaturübersicht</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Definitionen</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 SIRS .....	5
2.1.2 Sepsis.....	6
2.1.3 Endotoxin .....	6
<b>2.2 Anatomische und pathophysiologische Grundlagen</b> .....	<b>7</b>
2.2.1 Besondere Rolle des Splanchnikusgebietes .....	7
2.2.2 Hämodynamische Veränderungen in der frühen Sepsisphase .....	8
2.2.3 Leukozyten-Endothel-Interaktionen.....	9
2.2.3.1 Leukozyten .....	10
2.2.3.2 Endothel .....	11
2.2.3.3 Adhäsionsmoleküle .....	12
2.2.3.4 Wandscherrate .....	13
2.2.4 Extravasation .....	13
<b>2.3 Methoden zur Beurteilung von Mikrozirkulationsstörungen am Darm</b> .....	<b>14</b>
2.3.1 Intravitalmikroskopie .....	14
2.3.2 Immunfluoreszenzmessung.....	15
<b>2.4 Pharmakologische Eigenschaften der volatilen Anästhetika</b> .....	<b>15</b>
2.4.1 Halothan .....	16
2.4.2 Isofluran .....	17
2.4.3 Sevofluran .....	18
2.4.4 Desfluran .....	19
<b>3 Material und Methodik</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1 Versuchstiere</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2 Versuchsaufbau und Anästhetika</b> .....	<b>21</b>
3.2.1 Inhalationsnarkosegerät und Anästhetika.....	21
3.2.2 Monitoring.....	22
3.2.3 Mikroskopiertisch.....	23
3.2.4 Intravitalmikroskop und Bildverarbeitung.....	23
3.2.5 Fluoreszenzmikroskop.....	23
3.2.6 Auswerteeinheit.....	25
<b>3.3 Versuchsablauf</b> .....	<b>25</b>
3.3.1 Narkoseeinleitung.....	25
3.3.2 Präparation .....	26
3.3.2.1 Tracheotomie.....	26
3.3.2.2 Venöse und arterielle Verweilkatheter / HZV (Herz-Zeit-Volumen)-Sonde	27
3.3.2.3 Laparatomie.....	28
3.3.3 Darmauslagerung .....	28
3.3.4 Euthanasie der Versuchstiere .....	29
<b>3.4 Messmethoden und Messparameter</b> .....	<b>30</b>
3.4.1 Makrohämodynamische Parameter .....	30
3.4.2 Mikrohämodynamische Parameter.....	30
3.4.2.1 Erythrozytengeschwindigkeit ( $V_{Ery}$ ) .....	31
3.4.2.2 Venolendurchmesser ( $D_V$ ).....	31

3.4.2.3	Wandscherrate ( $\gamma$ ) .....	31
3.4.3	Leukozyten-Endothel-Interaktionen.....	32
3.4.3.1	Adhärente Leukozyten (Sticker) .....	32
3.4.3.2	Rollende Leukozyten (Roller).....	32
3.4.3.3	Nicht-adhärente Leukozyten .....	33
3.4.4	Extravasation.....	33
3.4.5	Blutgasanalyse.....	34
<b>3.5</b>	<b>Studienaufbau</b> .....	<b>34</b>
3.5.1	Versuchsprotokoll .....	36
<b>3.6</b>	<b>Statistische Auswertung</b> .....	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>Ausgangsgewichte</b> .....	<b>38</b>
<b>4.2</b>	<b>Makrohämodynamik</b> .....	<b>39</b>
4.2.1	Herzfrequenz .....	39
4.2.2	Mittlerer arterieller Druck .....	40
4.2.3	Herz-Zeit-Volumen .....	41
<b>4.3</b>	<b>Mikrohämodynamik</b> .....	<b>42</b>
4.3.1	Gefäßdurchmesser .....	42
4.3.2	Erythrozytengeschwindigkeit.....	43
4.3.3	Wandscherrate .....	44
<b>4.4</b>	<b>Leukozyten-Endothel-Interaktionen</b> .....	<b>45</b>
4.4.1	Rollende Leukozyten.....	45
4.4.2	Adhärente Leukozyten .....	46
4.4.3	Extravasation.....	47
<b>4.5</b>	<b>Blutgasanalyse und Säure-Basen-Haushalt</b> .....	<b>48</b>
4.5.1	pH-Wert.....	48
4.5.2	Sauerstoffpartialdruck ( $P_{aO_2}$ in mmHg).....	48
4.5.3	Kohlendioxidpartialdruck ( $P_{aCO_2}$ in mmHg) .....	48
4.5.4	Sauerstoffsättigung ( $S_{aO_2}$ in %).....	48
4.5.5	Bicarbonatkonzentration ( $HCO_3^-$ in mmol/L) .....	48
4.5.6	Basenüberschuss (Base excess, BE).....	49
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>51</b>
<b>5.1</b>	<b>Diskussion der Methodik</b> .....	<b>51</b>
5.1.1	Das Versuchsmodell.....	51
5.1.1.1	Wahl der Versuchstiere .....	53
5.1.1.2	Sepsisinduktion .....	54
5.1.1.3	Volumensubstitution .....	54
5.1.1.4	Einfluss der chirurgischen Eingriffe .....	55
5.1.2	Die Intravitalmikroskopie und die Messmethodik.....	56
<b>5.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b> .....	<b>57</b>
5.2.1	Einfluss der volatilen Anästhetika auf die pathophysiologischen Veränderungen während Endotoxinämie .....	57
5.2.2	Makrohämodynamik .....	58
5.2.2.1	Herzfrequenz .....	59
5.2.2.2	Mittlerer arterieller Druck .....	60
5.2.2.3	Herzzeitvolumen .....	61
5.2.3	Mikrozirkulation.....	62
5.2.3.1	Erythrozytengeschwindigkeit.....	62
5.2.3.2	Venolendurchmesser .....	64
5.2.3.3	Wandscherrate .....	64
5.2.4	Leukozyten-Endothel-Interaktionen.....	65

## VIII

5.2.4.1	Roller.....	65
5.2.4.2	Sticker.....	67
5.2.5	Extravasation.....	69
<b>6</b>	<b>Schlussfolgerung.....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>Summary.....</b>	<b>76</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>78</b>
<b>10</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>92</b>
10.1	Färbung von Erythrozyten mit PKH-26-GL (Red fluorescent cell linker kit). 92	92
10.2	FITC-Albumin.....	93
10.3	LPS-Lösung.....	93
<b>11</b>	<b>Verzeichnis der Abbildungen.....</b>	<b>94</b>
<b>12</b>	<b>Verzeichnis der Tabellen.....</b>	<b>95</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
BE	Base Excess; Basenüberschuss
$\gamma$	Wandscherrate
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
$\text{Ca}^{2+}$	Calcium
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CLP	coecale Ligatur und Punktion
$\text{CO}_2$	Kohlenstoffdioxid
D	Dalton
Des	Desfluran
DIC	Disseminierte intravasale Koagulopathie
EDHF	endothelium-derived-hyperpolarizing factor
Fa.	Firma
FITC	Fluoreszein-Isothiozyanat
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
Hal	Halothan
$\text{HCO}_3^-$	Bicarbonatkonzentration
HF	Herzfrequenz
$\text{H}_2\text{O}$	Wasser
$\text{H}_2\text{O}_2$	Wasserstoffperoxid
Hg	Quecksilber
Hkt	Hämatokrit
HUVEC	humane Nabelvenenendothelzellkultur
HZV	Herzeitvolumen
ICAM	interzelluläres Adhäsionsmolekül
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare NO-Synthase
Iso	Isofluran
KG	Körpergewicht
LDF	Laser-Doppler-Flowmetrie
LPS	Lipopolysaccharid
M.	Musculus
MAC	minimalalveoläre Konzentration
MAD	mittlerer arterieller Druck
MDT	Magen-Darm-Trakt
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol/l	Millimol pro Liter
mm/s	Millimeter pro Sekunde
MOV	Multiorganversagen
$\mu\text{m/s}$	Mikrometer pro Sekunde
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
$\text{O}_2$	Sauerstoff
OP	Operation
PAF	platelet activating factor
$\text{P}_a\text{CO}_2$	intraarterieller Kohlendioxidpartialdruck
$\text{P}_a\text{O}_2$	intraarterieller Sauerstoffpartialdruck

pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
p <sub>i</sub> CO <sub>2</sub>	intramukosaler Kohlendioxidpartialdruck
pH	Pondus hydrogenii
pH <sub>i</sub>	intra gastraler pH-Wert
PKH 26	Red fluorescent cell linker kit
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
Roller	rollende Leukozyten
S <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	arterielle Sauerstoffsättigung
Sev	Sevofluran
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
Sticker	adhärente Leukozyten
SVR	systemvaskulärer Widerstand
TNF	Tumornekrosefaktor
V <sub>Ery</sub>	Erythrozytengeschwindigkeit
V <sub>D</sub>	Venolendurchmesser
VHS	Video Home System
V <sub>Mittel</sub>	mittlere Flussgeschwindigkeit
Vol %	Volumenprozent
vs	versus
ZNS	zentrales Nervensystem

# 1 Einleitung

## 1.1 Bedeutung der Sepsis

Die seit Jahrzehnten andauernden Bemühungen, die Letalitätsrate des Krankheitskomplexes „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS), Sepsis, schwere Sepsis, septischer Schock (sS) und des daraus resultierenden Multiorganversagens (MOV) mittels verbesserter und neuer Therapien zu senken, sind bislang erfolglos. Schwere Sepsis und Multiorganversagen bleiben die größte Herausforderung der Intensivmedizin.

Die Prävalenz von SIRS betrifft ein Drittel aller Krankenhauspatienten und über 50% der Intensivpatienten. Auf den chirurgischen Intensivstationen europäischer Länder weisen 80% der Patienten mindestens zwei SIRS-Symptome auf (Sprung CL et al. 2006).

Bezogen auf die USA nannten Hotchkiss und Karl 2003 folgende Zahlen: „Bei 750.000 Patienten entwickelte sich eine Sepsis, die bei mehr als 210.000 von ihnen zum Tode führte“ und resümierten, dass man aufgrund erfolgloser Versuchsreihen mit antiinflammatorischen Pharmazeutika davon ausgehen kann, dass „...die Letalitätsrate nicht zu beeinflussen ist“ (Hotchkiss RS und Karl IE 2003). Larsen und Bauer übertrugen 2003 diese Zahlen auf die Bundesrepublik Deutschland und sprachen von 150-300 Sepsisfällen pro 100.000 Einwohner und 44.000 bis 90.000 Fällen schwerer Sepsis pro Jahr (Bauer M 2003).

Die Mortalitätsrate der Sepsis beträgt auf den Intensivstationen der Industrienationen bis zu 80% (Angus DC und Wax RS 2001). Dieser Zustand hat sich auch in jüngster Vergangenheit nicht wesentlich verändert (Bhatia M et al. 2009; Majuran M und Clancy M 2008; Weigand MA et al. 2004).

Obwohl in der Veterinärmedizin wenige Intensivtherapien über einen vergleichbaren Zeitraum und ein vergleichbares Ausmaß wie in der Humanmedizin durchgeführt werden, konnten diese Krankheitsbilder auch beim Haustier festgestellt werden (Rau S et al. 2007). Sie sind weniger untersucht und in vielen Fällen erfolgt keine Therapie, da oftmals eine Euthanasie zu einem frühen Zeitpunkt vorgezogen wird. In einer Untersuchung von Hagman und Kollegen wiesen beispielsweise 61% der aufgrund akuter Pyometra hysterektomierten Hündinnen SIRS auf (Hagman R et al. 2009), Greiner und Kollegen konnten bei 81,7% der Hunde und bei 59,5% der Katzen mit nachgewiesener Bakteriämie Sepsis diagnostizieren (Greiner M et al. 2008). Cavana berichtete 2009 erstmals auch über das Auftreten des MOV bei einem Hund (Cavana P et al. 2009).

## 1.2 Fragestellung

In der Pathogenese der Sepsis und des MOV übernimmt das Splanchnikusgebiet eine zentrale Rolle. Die ursprünglich physiologischen Reaktionen des Organismus zur Eliminierung endogener und exogener Noxen führen bei übermäßigem Verlauf aufgrund der schädigenden Einwirkungen der Entzündungsmediatoren generalisiert zu Leukozyten-Endothel-Interaktionen, die eine gesteigerte Permeabilität des Endothels bewirken. Die dadurch im umliegenden Gewebe entstehenden Ödeme und die immigrierten Immunzellen schädigen dieses. Zusätzlich entwickelt sich durch das Sepsisgeschehen eine periphere Minderperfusion, die schon nach kurzer Endotoxinexposition vor allem im Splanchnikusgebiet stark ausgeprägt ist. Aufgrund der besonderen Gefäßversorgung wird die Darmmukosa frühzeitig geschädigt. Diese wird ebenfalls hyperpermeabel und es kommt zum Zusammenbruch der Mukosabarriere. Die nachfolgende Translokation von Bakterien und Bakterienbestandteilen aus dem Darmlumen in den systemischen Kreislauf wird als „Motor des MOV“ angesehen.

Aufgrund der hohen Inzidenz der Sepsis ist die Narkose an septischen Patienten bei der Durchführung bestimmter Operationen, wie zum Beispiel Darmperforationen, Peritoneallavage, Anastomoseninsuffizienz nach Darmoperationen oder Abszessausräumungen unumgänglich. Bei Patienten mit Sepsis oder beginnender Sepsis stellt sich daher in diesen Situationen für den Anästhesisten die Frage, ob der Einsatz eines volatilen Anästhetikums sinnvoll ist und welches zu bevorzugen ist. Bisher ist nicht bekannt, welche Auswirkungen die verwendeten Anästhetika auf die Splanchnikusperfusion während Sepsis haben.

In der hier vorgestellten Studie sollten anhand intravitalmikroskopischer Untersuchungen in einem Rattensepsismodell die Mikrozirkulationstörungen im besonders sensiblen Bereich des Splanchnikusgebietes aufgezeigt werden. Die Leukozyten-Endothel-Interaktionen und die Plasmaextravasation dienen dabei als Ausdruck der Schädigung der endothelialen Integrität bzw. der Mikrozirkulation und wurden quantitativ erfaßt.

Insbesondere sollte vergleichend untersucht werden, welche Auswirkungen die vier volatilen Anästhetika Halothan, Isofluran, Sevofluran und Desfluran in der frühen Phase einer Endotoxinämie auf die systemische Hämodynamik haben und ob sich ihre Effekte auf die Mikrozirkulation und die Extravasation im Mesenterium unterscheiden. Anhand der Beobachtungen und Ergebnisse aus dieser tierexperimentellen Untersuchung könnten sich Kriterien für den Einsatz volatiler Anästhetika bei septischen Patienten ableiten lassen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Definitionen

Die Einteilung und Unterscheidung in das Krankheitsgeschehen SIRS sowie die drei Schweregrade Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock nach erfolgter Infektion wurde auf der Konsensuskonferenz des American College of Chest Physicians and the Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) 1991 entschieden. Diese sind auch heute noch gültig. Um die Diagnose der Sepsis zu erleichtern, sind die Sepsiskriterien der Konsensuskonferenz inzwischen modifiziert und spezifiziert worden (Levy MM et al. 2003).

#### 2.1.1 SIRS

Das SIRS beschreibt eine systemische Entzündungsreaktion, die durch nichtinfektiöse Ursachen wie Polytrauma, schwere Verbrennungen oder Pankreatitis ausgelöst wird und in der Humanmedizin mindestens zwei der folgenden Kriterien aufweist: Hyper- oder Hypothermie ( $>38^{\circ}\text{C}$  oder  $<36^{\circ}\text{C}$ ), Leukozytose oder Leukozytopenie ( $>12,0$  oder  $<4,0 \times 10^{12}/\text{l}$ ), Tachypnoe ( $>20/\text{min}$ ) oder Hypokapnie ( $\text{pCO}_2 <32 \text{ mmHg}$ ) sowie Tachykardie ( $>90/\text{Minuten}$ ) (Bone RC et al. 1992; Hotchkiss RS und Karl IE 2003; Muckart DJ und Bhagwanjee S 1997).

Im SIRS kommt es zur Aktivierung von Initiatorsystemen (Koagulationssystem, Blutplättchen, Mastzellen, Komplementkaskade) und der Bildung entsprechender Entzündungsmediatoren wie Zytokinen, Tumornekrosefaktor (TNF), Komplementsystem, Adhäsine etc.. Die Aktivierung, Dysfunktion und Schädigung von mikrovaskulären Endothelzellen entstehen aufgrund Ischämie und der Wirkung aktivierter Leukozyten und freigesetzter Entzündungsmediatoren (Fujishima S und Aikawa N 1995; Weigand MA et al. 2004). Es finden Leukozyten-Endothel-Interaktionen statt, die Voraussetzung sind für die Adhärenz und die darauf folgende Auswanderung der Leukozyten in das perivaskuläre Interstitialgewebe (Buerke M et al. 2002; Fujishima S und Aikawa N 1995; Gonzalez AP et al. 1994; Korthuis RJ et al. 1994; Weigand MA et al. 2004). Nach Sablotzki findet der überwiegende Teil der immunologischen Reaktionen im Gewebe und auf Zellebene statt. So werden im perivaskulären Interstitialgewebe weitere Entzündungsreaktionen ausgelöst und das Gewebe geschädigt (Sablotzki A et al. 2001).

### 2.1.2 Sepsis

Die Konsensuskonferenz definierte 1992 die Sepsis als das SIRS, das aufgrund einer Infektion auftritt (Bone RC et al. 1992; Hotchkiss RS und Karl IE 2003; Muckart DJ und Bhagwanjee S 1997).

Weigand et al. (2004) nennen sie ein „klinisches Syndrom“, das diagnostiziert werden kann, wenn eine dokumentierte oder vermutete Infektion das SIRS verursacht hat.

Nach Rensing (2003) sowie Astiz und Rackow (1998) liegt die Häufigkeit nachgewiesener gramnegativer Infektionen auf Intensivstationen zwischen 40% und 50%. Dem entspricht auch die Aussage von Zanetti et al. 1997, wonach die Häufigkeit von grampositiven und gramnegativen Erregern nahezu gleich ist (Zanetti G et al. 1997).

In einer veterinärmedizinischen Klinikstudie von Greiner und Kollegen konnten bei septischen Hunden und Katzen ebenfalls gramnegative und -positive Organismen isoliert werden (Greiner M et al. 2008).

Auch die Erregerdosis beeinflusst die Überlebensrate der Sepsis (Pedersen P et al. 1984).

### 2.1.3 Endotoxin

Endotoxine besitzen die Fähigkeit bei Mensch und Tier Entzündungsreaktionen auszulösen, die zu Sepsis und septischem Schock führen (Danner RL et al. 1991; Parrillo JE 1993; Redl H et al. 1993a; Yi ES und Ulich TR 1992). In vivo werden beim Zerfall von Bakterien im Rahmen einer antibiotischen Therapie sowie durch Autolyse und externe Lyse durch Komplement und Phagozytose Endotoxine freigesetzt, die immunkompetente Zellen über spezifische Oberflächenrezeptoren aktivieren.

Der Begriff Endotoxin umfaßt neben dem isolierten Glykolipid außerdem Zellwandproteine, -lipide, -lipoproteine und -polysaccharide (Fink MP und Heard SO 1990). Bei dem in der hier vorgestellten Untersuchung verwendeten Endotoxin handelt es sich um ein Lipopolysaccharid (LPS) mit einem Molekulargewicht von etwa 10.000 D, das auf der äußeren Membran gramnegativer Bakterien lokalisiert ist und aus drei Hauptbestandteilen besteht, wobei die toxischen Wirkungen im Wesentlichen der Lipid-A-Komponente zugeschrieben werden. Endotoxin beeinflusst überdies unabhängig vom Sauerstoffangebot den Zellstoffwechsel (Hurtado FJ et al. 1992).

Auch LPS aktiviert die humoralen und zellulären Mediatorsysteme des Wirtes (Astiz ME und Rackow EC 1998; Weiss DJ und Evanson OA 2002).

## 2.2 Anatomische und pathophysiologische Grundlagen

### 2.2.1 Besondere Rolle des Splanchnikusgebietes

Das Splanchnikusgebiet übernimmt in der Entstehung des SIRS, der Sepsis und des sich daraus entwickelnden Multiorganversagen eine entscheidende Rolle (Deitch EA 1990; Deitch EA et al. 1987; Landow L und Andersen LW 1994; Ruokonen E et al. 1993). Schon 1988 konnten O'Dwyer et al. belegen, dass es wenige Stunden nach Endotoxinexposition zu Veränderungen der intestinalen Permeabilität bei gesunden Menschen kommt (O'Dwyer ST et al. 1988). Nach Endotoxinexposition entwickelt sich zunehmend eine mesenteriale Vasokonstriktion und damit eine Reduktion des mesenterialen Blutflusses (Navaratnam RL et al. 1990; Ujhelyi MR et al. 2000). Durch diese Minderperfusion kann folgender Circulus vitiosus (Abb 1.1) ausgelöst werden:

Ischämie- bzw. hypoxiebedingte Mukosaschädigungen führen zur Schädigung der Blut-Darm-Barriere (Miura S et al. 1993; O'Dwyer ST et al. 1988; Theuer CJ et al. 1993; Xu H et al. 1994), v.a. im Bereich des Ileums und Coecums (Klemm K und Moody FG 1998; Xu D et al. 1993). Mikroorganismen gelangen aus dem Darmlumen in die Blutbahn und schädigen dort über freigesetzte Endotoxine weitere Endothelzellen. Die so ausgelöste Arteriolenkonstriktion im Splanchnikusgebiet erhält die Minderperfusion dort aufrecht (Navaratnam RL et al. 1990; Whitworth PW et al. 1989). Diese Vorgänge werden auch als „Motor des MOV“ bezeichnet (Marshall JC et al. 1993). Da bei 30% der MOV-Patienten mit Bakteriämie keine ursächliche Infektionsquelle identifiziert werden konnte, wird der Magen-Darm-Trakt als Bakterienreservoir angesehen (Deitch EA und Goodman ER 1999).

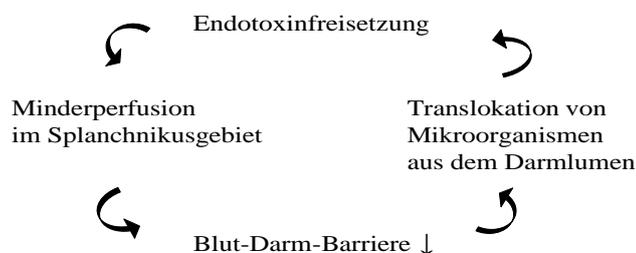


Abb. 1.1: Circulus vitiosus der Endotoxinfreisetzung im Rahmen einer Mukosaschädigung

Erfolgt im weiteren Verlauf eine Reperfusion, können die vom Endothel lokal freigesetzten Entzündungsmediatoren den systemischen Kreislauf überschwemmen. Daher gilt das Splanchnikusgebiet auch als „early source of inflammation“ (Hassoun HT et al. 2001).

Veränderungen der Mikrozirkulation im Bereich des Magen-Darm-Traktes (MDT) mit Auswirkungen auf die Austauschfähigkeiten in der Mukosa werden schon in den ihr vor- oder nachgeschalteten Mesenterialgefäßen sichtbar und nachvollziehbar. Da die hier untersuchten postkapillären Venolen das direkte venöse Abstromgebiet des Mesenteriums repräsentieren, kann die in ihnen gemessene, reduzierte Erythrozytengeschwindigkeit als aussagekräftiger Parameter der verringerten intestinalen Perfusion angesehen werden.

Vor allem die hier untersuchten charakteristischen Entzündungsreaktionen, wie Leukozytenrekrutierung und gesteigerte Extravasation, finden während Sepsis in den Venolen z. Bsp. des Mesenteriums statt (Lush CW und Kviety PR 2000). Mangell et al. konnten 2007 eine entscheidende Verbindung zwischen der P-Selektin-abhängigen Leukozytenrekrutierung und dem Zusammenbruch der Magen-Darm-Barriere aufzeigen (Mangell P et al. 2007).

Diese Vorgänge sowie die gut zu exponierenden und daher gut zu mikroskopierenden Gefäße im Mesenterium boten sich daher an, um die vorliegende Studie durchzuführen.

### **2.2.2 Hämodynamische Veränderungen in der frühen Sepsisphase**

Unabhängig von den auslösenden Ursachen (Ahmed AJ et al. 1991) kommt es in der Sepsis zu drei makrohämodynamischen Hauptveränderungen. Zunächst fällt im Bereich der Arteriolen und Venolen der Gefäßtonus ab. Darauf folgt der barorezeptorenvermittelte Anstieg des Herzzeitvolumens gekoppelt mit einer erniedrigten myokardialen Funktion (Grocott-Mason RM und Shah AM 1998). Daraus ergeben sich die sepsistypischen hämodynamischen Veränderungen, wie der verringerte systemvaskuläre Widerstand (SVR), das erhöhte Herz-Zeit-Volumen (HZV) und die erhöhte Herzfrequenz (HF). Wenn das ansteigende HZV den abfallenden SVR nicht kompensieren kann, führt dies zum Blutdruckabfall und zur Ausprägung des hyperdynamen septischen Schocks. Diese Vorgänge finden innerhalb der ersten 24 Stunden statt (Bone HG et al. 1999).

Während experimenteller Endotoxinämie und Sepsis kommt es zu einem bis zu 50% verringerten Blutfluss in der Mesenterialarterie (Fink MP et al. 1989; Navaratnam RL et al.

1990; Xu D et al. 1993). Die Perfusion der intestinalen Mikrozirkulation sinkt auch schon, während das Herzzeitvolumen noch unverändert ist (Whitworth PW et al. 1989). Die veränderte Mikrozirkulation spielt eine zentrale Rolle in der Entstehung der mukosalen Hypoperfusion während Bakteriämie (Theuer CJ et al. 1993) und ist während Sepsis auch beim Menschen häufig (De Backer D et al. 2002; Kirkpatrick CJ et al. 1996).

Durch eine niedrige Endotoxindosis kann eine normodyname Kreislaufsituation mit veränderter Mikrozirkulation im Mesenterium erreicht werden (Schmidt H et al. 1996b). Diese Situation ist auf die frühe normotensive Sepsisphase übertragbar. Zu diesem Zeitpunkt sind noch keine makrohämodynamischen Veränderungen messbar, aber auf mikrozirkulatorischer Ebene finden entscheidende Vorgänge statt, die den Verlauf und die Prognose bestimmen (Clark CH und Gutierrez G 1992; Marik PE 2005).

Als Konsequenzen der mikrozirkulatorischen Dysfunktion kommt es zum Zusammenbruch endothelialer und epithelialer Barrierefunktionen, die zu Gewebsödemen und einer unkontrollierten Infiltration von Entzündungszellen in das umliegende Gewebe führen, zur Vasodysregulation, mit Ausbildung arteriovenöser Shunts und/oder dem Verlust des peripheren Widerstandes und zu Störungen des Sauerstofftransports und des Sauerstoffbedarfs im Gewebe (De Backer D et al. 2002; Lehr HA et al. 2000; Matheson PJ und Garrison RN 2005). Zusätzlich treten Mikrothromben im Rahmen einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC) auf (Vervloet MG et al. 1998).

### **2.2.3 Leukozyten-Endothel-Interaktionen**

1959 beschrieb Gowans erstmalig die Leukozyten–Endothel–Interaktionen in postkapillären Venolen (Gowans JL 1959). Sie übernehmen eine Schlüsselrolle in der Entstehung des SIRS und des MOV (Deitch EA und Goodman ER 1999; Fujishima S und Aikawa N 1995; Korthuis RJ et al. 1994; Maroszynska I und Fiedor P 2000; Weigand MA et al. 2004) und finden vermehrt vor allem während akuter Sepsis statt (Piper RD et al. 1998). Sie sind ebenfalls ursächlich an Ischämie/Reperfusionen-vermittelten Organschädigungen beteiligt (Gonzalez AP et al. 1994).

Endothelgerichtete Rekrutierung und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten zur Vernichtung der Pathogene im Entzündungsgebiet sind zentraler Bestandteil der Immunreaktion (Redl H et al. 1993b). Diese Interaktionen resultieren in der Freigabe von reaktivem Sauerstoff (Kurose I et al. 1993) und anderen Mediatoren, die Bakterien zerstören,

aber auch dem Endothel und dessen glatter Muskulatur Schaden zufügen und damit Auswirkungen haben auf Gefäßzustand, -funktion und -integrität.

In der Entwicklung des Sepsisgeschehens greifen diese Vorgänge aufgrund der stark vermehrt auftretenden Adhäsionsmoleküle auf alle vaskulären Strukturen auch außerhalb des ursprünglichen Entzündungsherdes über und führen überall zu Leukozytenadhäsion und zur Schädigung des Endothels (Brown KA et al. 2006; Lush CW und Kvietys PR 2000; Parent C und Eichacker PQ 1999; Weigand MA et al. 2004).

Die Leukozyten-Endothel-Interaktionen werden von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Zum Einen binden nur stimulierte Leukozyten an das Endothel (Korthuis RJ et al. 1994). Weiterhin werden die Leukozyten durch eine verringerte Flussgeschwindigkeit von den kleineren und schnelleren Erythrozyten näher an die Gefäßwände gestoßen und die Wahrscheinlichkeit für die Kontaktaufnahme der Adhäsionsmoleküle von Leukozyten und Endothelzellen steigt (Abbitt KB und Nash GB 2003). Nur in Venolen führt dies zu vermehrtem Rollen und zur Adhärenz von Leukozyten (Ley K und Gaetgens P 1991). Veränderungen der Wandscherrate sind ebenfalls an der Ausbildung dieser Interaktionen beteiligt (Walther A et al. 2000).

Die geringere Ausschwemmung von Entzündungsmediatoren aus den Gefäßen aufgrund eines langsameren Blutflusses begünstigt weiterhin die Leukozyten-Endothel-Interaktionen. Es kommt zur Akkumulation von entsprechenden Mediatoren und Sauerstoffradikalen und zur verstärkten Aktivierung von Leukozyten, Endothel und deren Adhäsionsmolekülen (Bienvenu K und Granger DN 1993).

#### 2.2.3.1 Leukozyten

Während einer Endotoxinämie kommt es aufgrund der induzierten Aktivierung von Leukozyten und Endothelzellen zur Leukozytenakkumulation in allen Organen.

Tangelder und Kollegen konnten 1995 zeigen, dass es sich bei den an den Leukozyten-Endothel-Interaktionen beteiligten Leukozyten überwiegend um polymorphkernige Neutrophile handelt (Tangelder GJ et al. 1995).

Endotoxin und proinflammatorische Zytokine (TNF- $\alpha$ , IL-1) stimulieren Leukozyten und Endothelzellen an ihrer Oberfläche Adhäsionsmoleküle (transmembrane Glykoproteine) zu präsentieren, woraus die vermehrte Adhäsion von Leukozyten resultiert (Kirkpatrick CJ et al. 1996; Weiss DJ und Evanson OA 2002). Im Entzündungsgeschehen versammeln sich die Leukozyten an der Endotheloberfläche. Die Interaktion der Selektine mit ihren Gegenliganden eröffnet die Leukozyten-Adhäsions-Kaskade. Zunächst werden die Leukozyten durch einen

ersten Kontakt mit dem aktivierten Endothel eingefangen. Darauf folgt das Entlangrollen an der Endothelwand (Butcher EC 1991; Maroszynska I und Fiedor P 2000). Rollende Leukozyten (Roller) werden von Asako definiert als weiße Blutzellen, die sich mit einer geringeren Geschwindigkeit fortbewegen, als die sich im Blutstrom befindenden Erythrozyten (Asako H et al. 1992). Ley und Gaethgens geben 1991 die Geschwindigkeit rollender Leukozyten, unabhängig von der Wandscherrate, mit 20-40  $\mu\text{m/s}$  an (Ley K und Gaehtgens P 1991).

Durch die Aktivierung des  $\beta_2$ -Integrins haften die Leukozyten am Endothel an (Butcher EC 1991; Maroszynska I und Fiedor P 2000). Sie werden als adhärenente Leukozyten (Sticker) angesehen wenn sie länger als 30 Sekunden am Endothel haften bleiben. Anschließend verformen sie sich und wandern letztendlich in das perivaskuläre Gewebe aus.

Bedingt durch eine verstärkte Chemotaxis von Leukozyten in Richtung der Entzündungsherde kommen schon adhärenente Leukozyten über das L-Selektin-Molekül mit weiteren noch frei fließenden Leukozyten in Kontakt.

#### 2.2.3.2 Endothel

Das Endothel stellt ein hochaktives, funktionelles System dar (Lehr HA et al. 2000), das mit zirkulierenden sowie gewebsassoziierten Zellen interagiert, Mediatoren freisetzt und teilweise durch Kontraktion oder Dilatation spezifischer Gefäßabschnitte den Blutdruck reguliert (Bardenheuer HJ 1996; Curzen NP et al. 1994).

Die Aktivierung, Dysfunktion und Schädigung des Endothels wird ausgelöst durch immunologische Vorgänge. So aktiviert IL-1 Endothelzellen, die daraufhin Mediatoren freisetzen (z.Bsp. platelet-activating-factor (PAF), Sauerstoffradikale), vasoaktive Substanzen produzieren (z. Bsp. Stickstoffmonoxid) und Adhäsionsmoleküle exprimieren (Fukumura D et al. 1996; Hunt BJ und Jurd KM 1998; Kurose I et al. 1993). Die so ausgelösten Leukozyten-Endothel-Interaktionen schädigen das Endothel und erhöhen dessen Permeabilität. Die durch die Endothelschädigung frei werdenden prothrombotischen, proinflammatorischen und vasoaktiven Mediatoren wirken synergistisch bei der weiteren Zerstörung von Endothelzellen (Wort SJ und Evans TW 1999). Diese werden funktionsunfähig und ihre Regulationsfähigkeit für Vasokonstriktion und -dilatation und damit die Fähigkeit den lokalen Blutfluss aufrechtzuerhalten geht verloren. Periphere arterio-venöse Shunts werden ausgebildet und die Minderperfusion wird verstärkt. Die Adhäsion weiterer Leukozyten in der venösen Mikrozirkulation wird ebenfalls durch die entstandenen Sauerstoffradikale gefördert (Grisham

MB et al. 1986; Suzuki M et al. 1991; Suzuki M et al. 1989). Es kommt verstärkt zur Ausbildung von Gewebsödemen (Hotchkiss RS et al. 1991).

Je nach Herkunft weisen Endothelzellen eine unterschiedliche Sensibilität gegenüber einer Schädigung auf, die durch aktivierte Leukozyten vermittelt wird (Murphy HS et al. 1998).

Ähnlich den Zytokinen verändert LPS die Endothelfunktion und induziert den systemischen Zusammenbruch der Gefäße (Plachinta RV et al. 2004). Schon ein kurzer Kontakt des Endothels mit LPS bewirkt eine mehrtägige Vasodilatation (Bhagat K et al. 1996) und schon nach einzelnen nichtletalen Endotoxindosen treten Endothelschäden mit prolongierter endothelialer Dysfunktion auf (Leclerc J et al. 2000).

Die ansteigende Zahl zirkulierender Endothelzellen entspricht dem Schweregrad der Endothelschädigung und ist messbar, bevor es zur klinischen Entwicklung des Organversagens kommt (Mutunga M et al. 2001).

#### 2.2.3.3 Adhäsionsmoleküle

Durch LPS und TNF- $\alpha$  wird eine verstärkte Expressierung von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und Leukozyten vermittelt (Gotsch U et al. 1994; Weiss DJ und Evanson OA 2002).

Bei diesen, innerhalb weniger Minuten auf der Zelloberfläche erscheinenden Adhäsionsmolekülen, handelt es sich um drei Adhäsionsmolekülfamilien: die Selektine, die Integrine und die Immunglobuline (Osborn L 1990; Springer TA 1994).

Das Rolling wird über die Selektine und Integrine vermittelt und die Immunglobuline vermitteln das Sticking (Schurmann G 1997).

Im Einzelnen sind dies beim Rolling auf Seiten der Leukozyten das L-Selektin und auf der Endothelzellebene die P- und E-Selektine (Gotsch U et al. 1994). E-Selektin wird nach Zytokinstimulation (TNF- $\alpha$ ) in der Endothelzelle synthetisiert und nach ca. 4-6 Stunden auf der Zelloberfläche exprimiert (Shen I und Verrier ED 1994). Es reagiert mit Carbohydratstrukturen auf der Oberfläche von neutrophilen Granulozyten und Monozyten.

Die Adhärenzausbildung wird auf den Leukozyten durch CD11 a+b / CD18 ( $\beta$ <sub>2</sub>-Integrine) und auf den Endothelzellen durch das interzelluläre Adhäsionsmolekül (ICAM)-1 vermittelt (Bienvenu K und Granger DN 1993; Coughlan AF et al. 1994; Perry MA und Granger DN 1991; Thiel M et al. 1996). ICAM-1 ist in geringem Maße kontinuierlich auf den Membranen

der Endothelzellen präsent. Auf einen gesetzten Reiz hin erfolgt die gesteigerte Synthese und Oberflächenexprimierung innerhalb von ein bis zwei Stunden (Biao Z et al. 2005).

Im Vergleich zu Arteriolen und Kapillaren kommt es vorwiegend in postkapillären Venolen zu einer vermehrten Exprimierung der Adhäsionsmoleküle auf der Endothelzelloberfläche (Lehr HA et al. 2000).

#### 2.2.3.4 Wandscherrate

Die Adhärenz von Leukozyten wird einerseits von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche aktivierter Leukozyten und Endothelzellen (Ley K und Gaehtgens P 1991), aber auch von mikrohämodynamischen Kräften beeinflusst. Diese wirken unter physiologischen Bedingungen einer festen Adhärenz der Leukozyten an der Gefäßwand entgegen (House SD und Lipowsky HH 1987a, 1987b) und werden mit der sogenannten Scherrate  $\gamma$  dargestellt. Sie beschreibt die Änderung der Blutflussgeschwindigkeit ( $\Delta V$ ) pro Änderung der radialen Verschiebung ( $\Delta R$ ). Durch ihre Reduktion wird die Kontaktzeit zwischen den Adhäsionsmolekülen der Leukozyten und Endothelzellen verlängert und die Wahrscheinlichkeit einer festen Adhärenz steigt.

#### **2.2.4 Extravasation**

Experimentelle Studien am Tiermodell haben gezeigt, dass ein Flüssigkeitsverlust nicht aufgrund eines veränderten hydrostatischen und/oder osmotischen Druckes innerhalb des vaskulären Feldes auftritt, sondern aufgrund des Zusammenbruches der endothelialen Barrierefunktion, wodurch Flüssigkeit und Makromoleküle, incl. Proteine, in den extravaskulären Raum auswandern (Hotchkiss RS und Karl IE 2003; Lehr HA et al. 2000; Svensjo E et al. 1990; Yi ES und Ulich TR 1992).

Endothelzellen stellen den strukturellen Bestandteil der Endothelbarriere dar, während Proteine wie die Proteinkinase C und „second messenger“ einschließlich dem zyklischen Guanosinmonophosphat (cGMP) den funktionellen Part dieser Barriere repräsentieren. Endothelzellkontraktionen, unter Einbeziehung von Aktin-Myosin-Interaktionen und Veränderungen des intrazellulären Calcium( $Ca^{2+}$ )-Gehaltes sowie die passive Entspannung, die vermutlich Proteinkinase C-Phosphorylierung und Aktinverbindungen mit interzellulären

„tight junctions“ miteinschließt (Lum H und Malik AB 1994), können die Endothelgestalt verändern und so in zunehmender Undichtigkeit resultieren. Diese Veränderungen werden ausgelöst durch Entzündungsmediatoren wie TNF und IL-1 (Sutton ET et al. 1997), oder auch durch die Leukozytenadhäsionen, die die Struktur des Zytoskeletts beeinflussen und den oxidativen Stress aktivieren und initiieren. Mehrere Studien belegen den auslösenden Effekt der Leukozyten-Endothel-Interaktionen für die Permeabilitätsstörungen des Endothels während Endotoxämie (Harris NR et al. 1994; Kurose I et al. 1994; Yi ES und Ulich TR 1992).

Nach Anhaftung an das Endothel kommt es zur Migration der Leukozyten durch den Endothelzellverband und die darunter befindliche Basalmembran. Während dieses Prozesses werden auf der sog. parazellulären Route interendotheliale Zellkontakte aktiv geöffnet und geschlossen (Vestweber D 2000). Die bestehenden endothelialen „tight junctions“ werden aufgelöst und damit die Gefäßwandstruktur zerstört. Es kommt zur „capillary leakage“, die neben Leukozytenextravasation auch zu einem erhöhten Verlust an Albumin aus dem Lumen in das Interstitialgewebe führt (Bardenheuer HJ 1996).

Auf dem sog. transzellulären Pfad findet die Leukozyten-Migration durch die Endothelzelle hindurch statt (Engelhardt B und Wolburg H 2004). Dabei verändern sich die Mikrofilamente in der Endothelzelle (Shasby DM et al. 1982).

## **2.3 Methoden zur Beurteilung von Mikrozirkulationsstörungen am Darm**

### **2.3.1 Intravitalmikroskopie**

Die Intravitalmikroskopie bietet die Möglichkeit einer direkten Messung von Erythrozytengeschwindigkeit, Gefäßdurchmesser und der Leukozyten-Endothel-Interaktionen. Damit stellt die Intravitalmikroskopie eine sehr präzise und sensitive Untersuchung zur Beurteilung von mikrozirkulatorischen Vorgängen dar. Ein Nachteil liegt jedoch in der damit verbundenen Invasivität und einer daraus resultierenden Störanfälligkeit. Durch die Darmauslagerung wird ein Stimulus gesetzt, der eine Mediatorausschüttung und eine Veränderung der Leukozytenadhäsion mit nachfolgenden Perfusionsveränderungen verursacht. Durch das Einhalten einer Äquilibrierungszeit und die Gleichbehandlung

einzelner Versuchsmessungen wird der Einfluss dieser Mechanismen jedoch minimiert (Granger DN et al. 1989; Kubes P et al. 1990).

Die Intravitalmikroskopie des Mesenteriums wurde bisher von zahlreichen Untersuchern (Boyd AJ et al. 1994; Davenpeck KL et al. 1994; Fiebig E et al. 1991; Gaboury J et al. 1993; Kurose I et al. 1994; Kurose I et al. 1993; Woodman RC et al. 2000) sowie der Arbeitsgruppe um Schmidt und Walther mit leichten Modifikationen eingesetzt und kann als etabliertes Verfahren bei tierexperimentellen Untersuchungen betrachtet werden (Schmidt H et al. 1995; Schmidt H et al. 1996a; Schmidt H et al. 1997a; Schmidt H et al. 1997b; Schmidt W et al. 1998; Walther A et al. 2000; Walther A et al. 2001). Diese Methode bleibt jedoch aufgrund ihrer Invasivität tierexperimentellen Untersuchungen vorbehalten.

Intravitalmikroskopische Techniken ermöglichen beim Menschen vor allem an der Mundschleimhaut die Visualisierung und Messung der mikrovaskulären Perfusion. Hierbei konnten bereits prädiktive Parameter für den Krankheitsverlauf und die Prognose septischer Patienten identifiziert werden (Bauer A et al. 2005).

### **2.3.2 Immunfluoreszenzmessung**

Die veränderte Permeabilität des Endothels kann mittels Immunfluoreszenzmessung nach Laux und Seiffge (Laux V und Seiffge D 1995) dargestellt werden. Dabei werden mit fluoreszierendem Farbstoff (hier Fluoreszein-Isothiozyanat, FITC) gefärbte Makromoleküle in den Blutkreislauf gebracht und ihre Extravasation mittels Messung der Fluoreszenzintensität im umgebenden Gewebe eines gleichbleibenden Gefäßabschnittes dargestellt. Anhand digitalisierter Bilder wird die Intensität intra- und extravasal gemessen und daraus rechnerisch ermittelt, wobei der basale Grauwert der Leeraufnahme, der zu Beginn des Versuches festgelegt wurde, von den weiteren ermittelten Werten subtrahiert werden muss.

## **2.4 Pharmakologische Eigenschaften der volatilen Anästhetika**

Volatile Anästhetika ermöglichen die Durchführung einer Operation (OP) unter kontrollierter Beatmung, gepaart mit geringem analgetischem und mäßigem muskelrelaxierendem Effekt. Halothan (Hal), das älteste der hier verwendeten volatilen Anästhetika, wird schon seit 1956

angewandt, um bei Operationen durch Veränderungen der Bewußtseinslage eine Narkose hervorzurufen. Innerhalb der letzten Dekaden wurden neue, strukturverwandte Verbindungen gefunden, die mittlerweile routinemäßig eingesetzt werden und das Halothan nahezu verdrängt haben (Einführung der Inhalationsanästhetika in die klinische Praxis: Isofluran (Iso) 1981, Sevofluran (Sev) 1995, Desfluran (Des) 1993).

Allen halogenierten Kohlenwasserstoffen ist dabei die atemdepressive Wirkung eigen, die es erst ermöglicht, eine kontrollierte Beatmung zum Zweck einer OP, eines künstlichen Komas oder zur Lebenserhaltung durchzuführen (Scholz J und Tonner PH 1997b). Volatile Anästhetika verursachen eine dosisabhängige Depression des kardiovaskulären Systems durch Veränderungen der Herzfunktion - sie wirken alle mehr oder weniger negativ inotrop -, des Gefäßtonus und der Gefäßreagibilität (Ciofolo MJ und Reiz S 1999; Conzen PF et al. 1992; Pagel PS et al. 1991; Wojtczak JA 2000). Dadurch haben sie Auswirkungen auf den Blutdruck, den Gefäßwiderstand und die Gewebepfusion z. B. im Splanchnikusgebiet (Akata T et al. 1995). Da die Splanchnikusperfusion aufgrund mangelhafter Autoregulierung ganz wesentlich von den globalen hämodynamischen Parametern wie dem mittleren arteriellen Druck (MAD) und dem HZV abhängig ist, wird vor allem diese beeinträchtigt.

Die intraoperative Erhaltung des Blutflusses im Splanchnikusgebiet bei kritisch kranken Patienten nimmt daher um so mehr eine entscheidende Rolle ein, da dem Circulus Vitiosus des Sepsisgeschehens vorgebeugt und die Translokation von Bakterien über die Blut-Darm-Schranke verhindert werden könnte. Im Folgenden wird der aktuelle Kenntnisstand über die Wirkungen der unterschiedlichen volatilen Anästhetika unter besonderer Berücksichtigung der Aspekte Makrohämodynamik, Splanchnikusdurchblutung, Mikrohämodynamik und Sepsis bei Mensch und Tier aus klinischen und experimentellen Studien dargelegt.

#### **2.4.1 Halothan**

Halothan, zugelassen unter dem Handelsnamen „FLUOTHANE®“ (Zeneca GmbH, Plankstadt), ist ein Brom-Chlor-Trifluorkohlenwasserstoff mit guter narkotischer und schwach analgetischer und muskelrelaxierender Wirkung. Aufgrund seiner hohen Hepatotoxizität, aber auch aufgrund genügend besserer Verbindungen mit den gleichen oder besseren therapeutischen Effekten, ist die Verwendung von Halothan mittlerweile obsolet und in der Tiermedizin arzneimittelrechtlich verboten.

Halothan hat eine ausgeprägte negativ inotrope Wirkung auf den Herzmuskel und beeinträchtigt ebenso die Autoregulation der Koronararterien (Oguchi T et al. 1995). HF und

SVR bleiben jedoch nahezu unverändert (Pagel PS et al. 1991). Halothan vermindert signifikant die Splanchnikusdurchblutung (Schindler E und Hempelmann G 1996) und den hepatischen Blutfluss (Rolf N und Van Aken H 1996, 1998; Schindler E et al. 1996). Morisaki et al. konnten vermehrte Leukozyten-Endothel-Interaktionen bei Halothannarkose nachweisen (Morisaki H et al. 1997).

Unter septischen Bedingungen kommt es unter Halothannarkose zu unterschiedlichen Auswirkungen auf die Herzfrequenz und zu deutlicher Verminderung des MAD und des HZV (Gill R et al. 1995; Schumacher J et al. 2001; Van der Linden P et al. 1990).

Halothan kann die zytokininduzierte Leukozytenakkumulation im Mesenterium verringern (Miller LS et al. 1996) und hat dort reversibel einen dosisabhängigen vermindernenden Einfluss auf die Leukozytenfunktion (Khan FA et al. 1995). Es führt zur Ausprägung einer geringen Wandscherrate mit einer hohen Anzahl Sticker (Perry MA und Granger DN 1991).

#### **2.4.2 Isofluran**

Isofluran ist unter mehreren Handelsnamen, z. B. „FORENE®“ (Pharmacia-Pharmacia & Upjohn GmbH Erlangen) zugelassen. Es ist ein Chlor-Trifluorethylether (Scholz J und Tonner PH 1997b) mit guter hypnotischer und sehr gut muskelrelaxierender, aber nur schwach analgetischer Wirkung. Aus dem Blut/Gaskoeffizienten ergibt sich eine rasche An- und Abflutungszeit. Es ist geeignet für den Einsatz bei geriatrischen Patienten (Motsch J et al. 1998).

Isofluran ist Gegenstand vieler tierexperimenteller und klinischer Studien. Im direkten Vergleich ergaben sich in makrohämodynamischer Hinsicht keine Unterschiede bei Isoflurananästhesie mit oder ohne Vorliegen einer Sepsis. Isofluran beeinträchtigt die Herzfunktion wenig und bedingt daher nur geringe hämodynamische Auswirkungen (Gill R et al. 1995; Hayes JK et al. 2004; Schaefer CF et al. 1987; Van der Linden P et al. 1990). Ebenso ist die Mikrohämodynamik in unterschiedlichen Geweben mit und ohne Vorliegen einer Sepsis ähnlich. So wird die Erythrozytengeschwindigkeit ( $V_{Ery}$ ) vermindert, aber der Venolendurchmesser ( $D_V$ ) bleibt unverändert (Biber B et al. 1987; Hayes JK et al. 2004; Schumacher J et al. 2001). Bedingt durch die starke vasodilatatorische Wirkung wird Isofluran als Mittel der Wahl für Operationen verwendet bei denen eine gute Darmperfusion erwünscht ist (Greenblatt EP et al. 1992; O'Riordan J et al. 1997; Schindler E und Hempelmann G 1998).

Isofluran kann die ischämie/reperfusion-vermittelten Schädigungen am Herzen (Heindl B et al. 1999; Hu G et al. 2005; Kashimoto S 1988) und an isolierten Rattenlungen (Liu R et al. 2000) vermindern.

Unter septischen Bedingungen verringert Isofluran die Plasmalevel von TNF- $\alpha$  und IL-6 sowie die Killerzellanzahl, schützt durch eine verminderte Entzündung und Apoptose vor renaler und hepatischer Dysfunktion und hat auch während Bakteriämie auf die Lungenfunktion einen protektiven Einfluss (de Rossi LW et al. 2004; Fretschner R et al. 1993; Fuentes JM et al. 2005; Lee HT et al. 2007; Reutershan J et al. 2006; Sato W et al. 1995; Sato W et al. 1996). Es reduziert die Anzahl rollender Leukozyten am reperfundierten Meerschweinchenherz (Heindl B et al. 1999; Kowalski C et al. 1997), wie dies auch ohne Vorliegen einer Sepsis schon von Möbert und Kollegen an einem in vitro-Modell beobachtet worden war (Möbert J et al. 1999). Ebenfalls unter endotoxämischen Bedingungen kann durch eine Vorbehandlung mit Isofluran die Flussgeschwindigkeit von Leukozyten in postkapillären Mesenterialvenolen von Ratten bei unveränderter Anzahl an Leukozyten-Endothel-Interaktionen verbessert werden (Hayes JK et al. 2004).

Bei einer rapiden Steigerung des MAC über einen Wert von 1,5 bewirkt Isofluran eine zentrale Sympathikusaktivierung (Ciofolo MJ und Reiz S 1999). Isofluran führt dosisabhängig zur Apoptose von neutrophilen Granulozyten und T-Lymphozyten (Loop T et al. 2005; Tyther R et al. 2001). Es inhibiert über die verringerte CD 11- und L-Selektin-Aktivierung die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten (de Rossi LW et al. 2002).

### 2.4.3 Sevofluran

Sevofluran ist ein fluorierter Methylisopropylether (Scholz J und Tonner PH 1997b) und seit 1995 in Deutschland unter dem Handelsnamen „SEVORANE<sup>®</sup>“ (ABBOTT GmbH & Co.KG, Wiesbaden) zugelassen. Seine herausragende Eigenschaft ist der niedrige Blut/Gas-Verteilungskoeffizient, den es aufgrund der ausschließlichen Halogenierung mit Fluormolekülen innehat (Wiesner G et al. 1994). Daraus ergeben sich extrem kurze Einschlaf- und Aufwachzeiten (Dudziak R und Behne M 1998; Scholz J 1998; Scholz J und Tonner PH 1997a; Tacke S et al. 1998).

Die Auswirkungen des Sevofluran auf das kardiovaskuläre System sind gering und im Wesentlichen vergleichbar mit Isofluran, wobei keine Sympathikusaktivierung bewirkt wird (Rolf N und Van Aken H 1996, 1998; Scholz J und Tonner PH 1997b).

Im Tiermodell und beim Menschen zeigen sich keine Veränderungen in der Splanchnikusdurchblutung während Sevoflurannarkose (Schindler E und Hempelmann G 1996). Morisaki et al. konnten dosisabhängig vermehrte Leukozyten-Endothel-Interaktionen aufgrund vermehrter P-Selektin Expression auf den Endothelzellen bei Sevoflurannarkose nachweisen (Morisaki H et al. 1997). Sevofluran führt ebenfalls dosisabhängig zu Apoptose von neutrophilen Granulozyten und T-Lymphozyten (Loop T et al. 2004; Tyther R et al. 2003) und verringert die ischämie/reperusionsbedingte Schädigung am Herzen (Heindl B et al. 1999; Hu G et al. 2005; Kashimoto S 1988; Serita R et al. 2002).

Unter septischen Bedingungen kommt es während Sevoflurannarkose zu geringfügig ansteigender HF sowie zu stabilen Werten des MAD, des HZV und des SVR (Allaouchiche B et al. 2001b). Eine Sevofluran-Vorbehandlung kann die endotoxinvermittelte Zytokinfreisetzung in Ratten und die Mortalitätsrate verringern (Hofstetter C et al. 2007; Kidani Y et al. 2005).

#### **2.4.4 Desfluran**

Desfluran ist unter dem Handelsnamen „SUPRANE®“ (BAXTER GmbH & Co.KG, Unterschleißheim) zugelassen. Wie Isofluran ist es ein Methylethylether, mit einem Fluoratom mehr und einem Chloratom weniger (Scholz J und Tonner PH 1997b). Ähnlich dem Sevofluran hat Desfluran aufgrund der ausschließlichen Halogenierung mit Fluormolekülen einen niedrigen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten und weist ebenfalls extrem kurze Einschlaf- und Aufwachzeiten auf (Schindler E et al. 1996). Es ist geeignet für den Einsatz bei geriatrischen Patienten (Motsch J et al. 1998). Unter Desfluran bleibt der Blutdruck bei Ratten und Hunden stabil (Gueugniaud PY et al. 1997; O'Riordan J et al. 1997; Pagel PS et al. 1991). Eine rapide Erhöhung des MAC auf >1,5 bewirkt eine zentrale Sympathikusaktivierung (Ciofolo MJ und Reiz S 1999), wodurch die Herzfrequenz stark ansteigt (Ebert TJ und Muzi M 1993; Pagel PS et al. 1991; Rolf N und Van Aken H 1996, 1998; Scholz J und Tonner PH 1997b; Wilhelm W et al. 1996). Unter Desfluran bleibt die Splanchnikusperfusion ebenfalls gut erhalten (O'Riordan J et al. 1997; Schindler E et al. 1996).

Unter septischen Bedingungen fanden Allaouchiche et al. eine Steigerung der HF unter Desflurannarkose, die auch von Merin und Kollegen beschrieben wurde sowie einen Anstieg des pulmonalen MAD und des Herzzeitvolumens, wobei letzteres in der Untersuchung von

Merin et al. sank (Allaouchiche B et al. 2001a; Merin RG et al. 1991). Desfluran reduziert außerdem die Freisetzung der LPS-stimulierten Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-1 (Boost KA et al. 2006).

Durch Vorbehandlung mit Desfluran konnte die ischämie/reperfusion-vermittelte Expression von Adhäsionsmolekülen des Endothels und dadurch die Leukozytenadhäsion in vitro reduziert werden (Biao Z et al. 2005).

Bislang liegen keine Erkenntnisse über die Auswirkungen der hier untersuchten volatilen Anästhetika auf die Mikrozirkulation des Splanchnikusgebietes und Leukozyten-Endothel-Interaktionen mit nachfolgender Extravasation im Mesenterium während Sepsis vor.

## **3 Material und Methodik**

### **3.1 Versuchstiere**

Die Tiere waren 8 bis 10 Wochen alte, männliche Wistar-Ratten (Stamm chbb:Thom, Dr. K. Thomae GmbH, Biberach) mit einem Körpergewicht zwischen 270 g und 400 g.

Sie waren in standardisierten Makrolon-Käfigen des Institutes für Versuchstierkunde der Universität Heidelberg unter ständiger veterinärmedizinischer Kontrolle und hatten konstante Klima- und Ernährungsbedingungen: die durchschnittliche Raumtemperatur betrug 22,5°C, die Luftfeuchtigkeit betrug 65% und es herrschte ein 12-stündig wechselnder Hell-Dunkel-Rhythmus.

Gefüttert wurde ein Rattenfertigfutter (Rattenzucht V Alleinfutter 15mm, Sniff Spezialdiäten GmbH, Soest). Wasser wurde ad libitum angeboten. Als Einstreu diente Weichholzstreu (Altromin Animal Bedding Fibre, Altromin GmbH & CoKG, Lage). Um die mikroskopischen Aufnahmen zu ermöglichen, wurde den Ratten 8-10 Stunden vor Versuchsbeginn bei weiterhin freier Wasseraufnahme das Futter entzogen.

Die Genehmigung zur Durchführung dieser Tierversuche wurde durch das Regierungspräsidium Karlsruhe erteilt, Abteilung Staatliches Veterinäramt (Aktenzeichen 35.9185.81/52/99). Die Bedingungen und Anforderungen nach § 8 Abs. 1 und § 9a des Tierschutzgesetzes wurden bei der Durchführung der Studie eingehalten.

### **3.2 Versuchsaufbau und Anästhetika**

#### **3.2.1 Inhalationsnarkosegerät und Anästhetika**

Für die Beatmung und Durchführung der Narkose wurde ein druckgesteuertes Nichtrückatmungssystem gewählt (Peters J, 1995). Eine Kombination von Beatmungsgerät (RUS 1301 Respirator Universell, Föhr Medical Instruments GmbH, Seeheim) und Gasmischstation (ZUA-8186 FMI-Föhr Medical Instruments GmbH) ermöglichte die genaue Einstellung des Gehaltes an Narkotikum im Frischgasflow und die Beatmung der Tiere. Um eine ausreichende Ventilation ab einer bestimmten Narkosetiefe zu gewährleisten, war die Beatmung obligat, da die verwendeten Anästhetika den zentralen Atemtrieb vermindern.

Die Beatmung erfolgte unter einer blutgasanalysekontrollierten Atemfrequenz von 50-110/min, einem Druck von 110-160 mm H<sub>2</sub>O und einem Inspirations-/Expirationsverhältnis von 1:2. Die zur Aufrechterhaltung der Narkose benötigte Gaskonzentration wurde anhand der makrohämodynamischen Parameter und der Beobachtungen von Aufwacherscheinungen, wie z.B. der Auslösung von Reflexen und Einsatz der Atmung, kontrolliert.

Für die vier Versuchsgruppen wurden die folgenden volatilen Anästhetika verwendet:

1. **Halothan (1,5 MAC)** (Fluothane<sup>®</sup>, Zeneca GmbH, Plankstadt)
2. **Isofluran (1,5 MAC)** (Forene<sup>®</sup>, Pharmacia-Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen)
3. **Sevofluran (1,5 MAC)** (Sevorane<sup>®</sup>, ABBOTT GmbH & Co.KG, Wiesbaden)
4. **Desfluran (1,5 MAC)** (Suprane<sup>®</sup>, BAXTER GmbH & Co.KG, Unterschleißheim)

Aufgrund der unterschiedlichen Sättigungs- und Dampfdrücke benötigte jedes Anästhetikum einen spezifisch graduierten Vapor. Bei den Versuchen im Rahmen dieser Arbeit wurden die folgenden Vaporen verwendet:

1. **Halothan Vapor 19.1** (Drägerwerk AG, Lübeck)
2. **Isofluran I VAPOR** (Drägerwerk AG, Lübeck)
3. **Sevorane<sup>®</sup> Vapor 19.3** (Drägerwerk AG, Lübeck)
4. **Devapor** (Drägerwerk AG, Lübeck)

### 3.2.2 Monitoring

Während der gesamten Versuchszeit wurden folgende Parameter mittels Monitoringsystem (Computergestütztes Monitoring, Spug OP-Monitoring für Windows NT Version 2.5, 15-Kanalversion, Fa. Koch Medizintechnik, Münster) überwacht und zu den drei Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten dokumentiert:

1. Herzfrequenz (HF, in 1/min)
2. Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD, in mmHg)  
(Medex MX848-Corotec Med. Techn. GmbH, Winterheim)
3. Herz-Zeit-Volumen (HZV, in ml/min)
4. Körpertemperatur (in °C)

### **3.2.3 Mikroskopiertisch**

Die Tiere wurden auf der in 3.3.2.3 beschriebenen Plexiglasbühne auf einem Kreuztisch fixiert, der manuell in 2-dimensionaler Richtung (x-y-Achse) beweglich war. Dadurch war eine schnell reproduzierbare Einstellung des Beobachtungsfeldes gewährleistet.

### **3.2.4 Intravitalmikroskop und Bildverarbeitung**

Das modifizierte Intravitalmikroskop (Orthoplan, Leica GmbH, Wetzlar) befand sich über dem Kreuztisch (siehe Abb. 3.1) und war mit einem 40-fach vergrößernden Wasser-Immersion-Objektiv (Achromplan 40/0, 75W, Zeiss, Jena) bestückt.

Die Leukozyten konnten mittels Transillumination mit einer 150 W Halogen-Kaltlichtquelle (KL 1500 electronic, Fa. Schott, Wiesbaden) in den untersuchten postkapillären Venolen mit einer 1000-fachen Vergrößerung auf dem Monitor (PVM 444 QM, Sony Corp., Tokyo, Japan) einer angeschlossenen Videoeinheit betrachtet werden.

Über die Schwarz-Weiß-Restlichtkamera (Kappa CF 8/1, Kappa Messtechnik, Gleichen) konnten 50 Halbbilder pro Sekunde mit einem Bildabstand von 20 ms auf dem Monitor abgebildet werden. Die Bilder wurden zu den Messzeitpunkten gleichzeitig mit einem Videorecorder (Super VHS Recorder, AG7350 E, Panasonic Matsuhita Corp., Osaka, Japan) ca. zwei Minuten lang aufgenommen.

Zur Dokumentation von Versuchsnummer, Versuchsdauer und Aufnahmezeit wurde ein Videozeitgenerator (Timer, TC 30 Generator, Alperman und Velte, Wuppertal) an den Videorecorder angeschlossen. So konnte bei der späteren Auswertung auch mit herabgesetzter Abspielgeschwindigkeit eine exakte Zeitzuordnung erfolgen.

### **3.2.5 Fluoreszenzmikroskop**

Die Epi-Illumination ermöglichte nach Einbringen spezieller Filter in den Strahlengang die Betrachtung der fluoreszierenden Farbstoffe, PKH 26 (Red Fluorescent cell linker, Stock Nr: PKH 26-GL, Sigma Chemical Co, St. Louis, USA) und des FITC-Albumin (FITC-Albumin, A-9771-MG 70500 Dalton, Sigma Chemical Co). Dies wurde mittels Anschluß eines Fluoreszenz-Auflicht-Illuminators (Ploemopak 2, 307-148.002514687, Fa. Leitz) mit einer Quecksilber-Höchstdrucklampe (XBO-75W, HBO 100 W, Fa. Osram, München) an das

Mikroskop bewirkt. Die Einheitlichkeit der Wellenlänge der Quecksilberlampe wurde durch regelmäßige Gerätewartung gewährleistet (Laux V und Seiffge D 1995).

Zur Messung der Erythrozytengeschwindigkeit wurde ein N 2.1-Filterblock (515-560 nm) eingebracht, der den grünen Farbstoff der PKH 26-markierten Erythrozyten visualisierte.

Ein I3-Filterblock (450-480 nm) rief die Blaulichtexzitation des FITC-Albumins hervor. So gelang die gezielte Darstellung des markierten Albumins in den Venolen und dem umliegenden Interstitium.

Beide Filter wurden nur während der Messzeitpunkte in den Strahlengang eingebracht. Die Einstellungen wurden ca. 30 Sekunden lang aufgenommen.

Um eine thermische Schädigung des Mesenteriums zu verhindern und die Filter vor zu starker Erwärmung zu schützen, wurde ein Hitzeschutzfilter (KG 1, Fa. Leica) verwendet.

Einer Interferenz von Streustrahlung, Raumlicht und Fluoreszezemission der Präparation wurde durch den Einsatz eines Sperrfilters (520 nm) vorgebeugt.

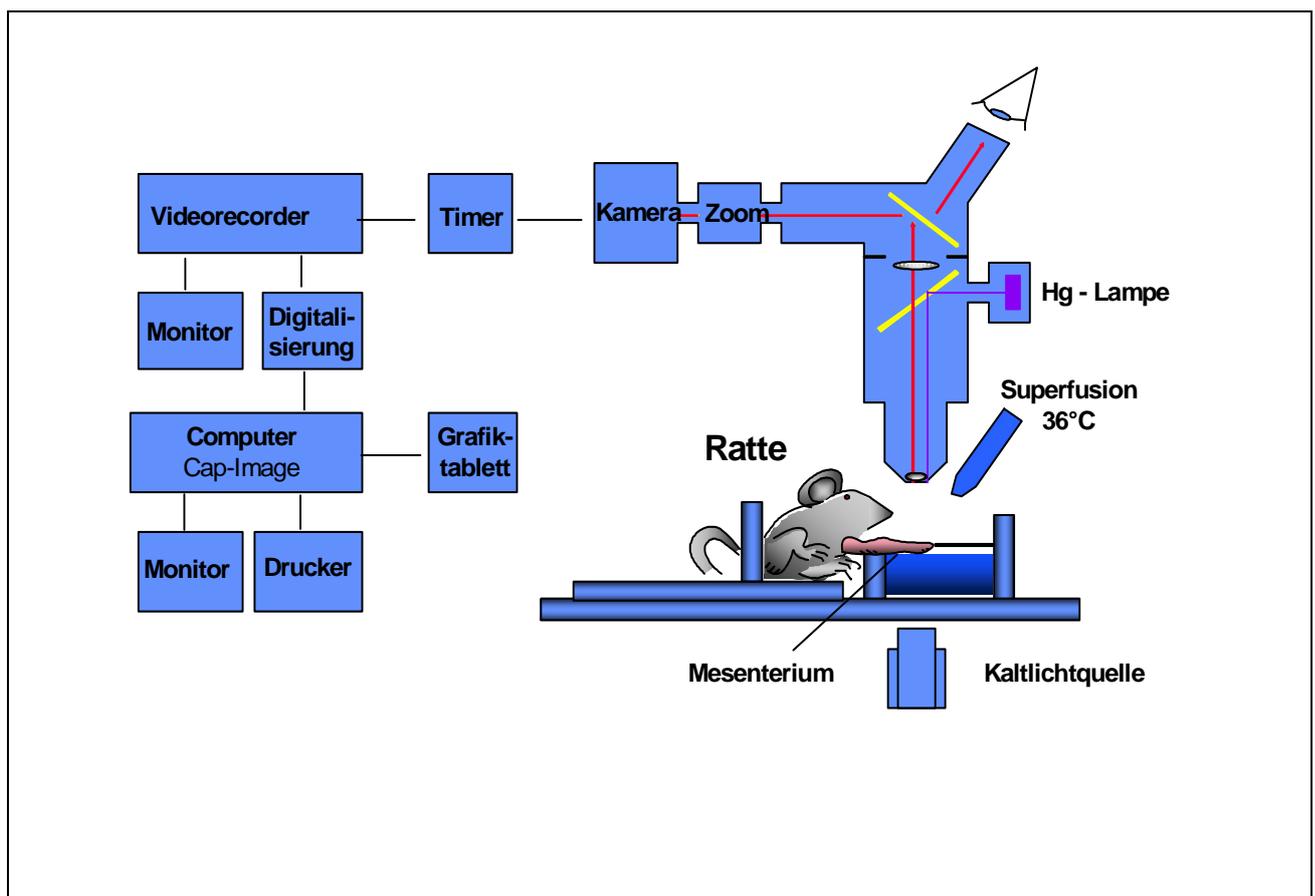


Abb. 3.1: Intravitalmikroskopie und Auswerteeinheit: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

### 3.2.6 Auswerteeinheit

Im Anschluß an den Versuch wurden die Videosequenzen mit einer speziellen Software für Mikrozirkulationsanalyse (Capimage, Ingenieurbüro Dr. Zeintl GmbH, Heidelberg) ausgewertet. Die Videobilder wurden in einen Computer eingelesen, digitalisiert, auf einem Großmonitor (Sony GUM-2100QM, Sony Corp., Japan) wiedergegeben und mit Hilfe eines Graphiktableaus (Graphic Table MM III 1201, Summa Graphics, Seymour, USA) bearbeitet (Schmidt H et al. 1995).

Auf diese Weise wurden folgende Parameter bestimmt:

- Erythrozytengeschwindigkeit ( $V_{\text{Ery}}$ )
- Gefäßdurchmesser postkapillärer Venolen ( $D_v$ )
- Leukozytenadhärenz
- Extravasation

## 3.3 Versuchsablauf

### 3.3.1 Narkoseeinleitung

Zur Narkoseeinleitung wurden die Tiere in einen mit dem entsprechenden Inhalationsanästhetikum begasten geschlossenen Glaskasten verbracht. Über zwei Schlauchanschlüsse im Deckel des Glaskastens wurde das Luft-Narkosegas-Gemisch und die zentrale Absaugung ein- bzw. ausgeleitet. Die Absaugung wurde erst kurz vor Entfernen der Tiere aus dem Glaskasten angeschlossen.

Um ein schnelles Anfluten des Anästhetikums zu erreichen, wurde die Einleitung unter maximal hohem Frischgasflow durchgeführt (Eger EI, 2nd 1992). Innerhalb der nächsten Minuten nahmen Stell- und Haltungsreaktionen ab und der Zwischenzehenreflex war nicht mehr auslösbar. War dieses Toleranzstadium erreicht, wurden die Tiere unmittelbar auf ein vorgewärmtes handelsübliches Heizkissen (HK20<sup>®</sup>, Beurer, Ulm) verbracht und dort mit Klebestreifen (Leukosilk S, Baiersdorf AG) fixiert.

Als Beatmungsmaske diente ein in Eigenkonstruktion angefertigter, modifizierter Gummihandschuh (Unigloves<sup>®</sup>Select, UNIGLOVES GmbH, Troisdorf), der komplett über den Kopf gezogen wurde. Dabei wurde die Kompression der V. jugularis sorgfältig

vermieden. Über einen Schlauch am Zeigefinger wurde das Luft-Narkosegas-Gemisch zugeführt und über einen Schlauch am kleinen Finger die Absaugung angeschlossen. Der Fluss wurde über die mechanische Spirometereinheit der Gasgemischstation manuell gesteuert, wobei die Tiere noch Spontanatmung zeigten. Mit einer inspiratorischen O<sub>2</sub> Konzentration von 50% und einem bedarfsadaptierten Narkosegasanteil konnten sie nun tracheotomiert werden.

Als Maß für eine genügende Narkosetiefe zu diesem Zeitpunkt wurde das Ausbleiben einer motorischen Abwehrreaktion auf den Hautschnitt gewertet.

### **3.3.2 Präparation**

Unter Verwendung von chirurgischem Präparationsbesteck der Firma Aesculap (Aesculap TypAG RW KG, Tuttlingen) wurden die folgenden chirurgischen Eingriffe durchgeführt:

#### **3.3.2.1 Tracheotomie**

Zur Tracheotomie wurde am Hals eine ca. einen Zentimeter lange, quer verlaufende Hautinzision oberhalb der Clavicula durchgeführt und unter Schonung der benachbarten Strukturen die Trachea stumpf freipräpariert, vom umgebenden Gewebe isoliert und auf eine Pinzette aufgespannt. Nach Anlegen eines Fixationsfadens (Seidenfäden 2,0, Resorba, Nürnberg) wurde im Bereich eines Ligamentum anulare die Trachea mit einer Mikroschere eröffnet und der „Tubus“, ein zwei Zentimeter langer Polyethylenkatheter (Außendurchmesser: 1,9 mm, Innendurchmesser: 1,4 mm) bis vor die Bifurcatio tracheae geschoben und fixiert. Da nun bereits eine ausreichende Narkosetiefe vorhanden war, konnten die Tiere problemlos an das Beatmungssystem angeschlossen werden. Der prozentuale Anteil des Narkosemittels an der Einatemluft wurde nun kontinuierlich auf die Erhaltungsdosis reduziert. Nach Anschluss an das Beatmungsgerät wurde die Ratte auch an das Monitoringsystem angeschlossen.

### 3.3.2.2 Venöse und arterielle Verweilkatheter / HZV (Herz-Zeit-Volumen)-Sonde

Die Insertionen der Verweilkatheter in die Vena jugularis dexter und die Arteria femoralis sowie der HZV-Sonde in die Arteria carotis sinister (Betatherm Thermistor, Galway, Irland) erfolgten nach örtlicher Rasur.

Nach Auffinden der entsprechenden Gefäße unter Schonung der benachbarten Strukturen, vor allem der Nerven (besonders des Nervus vagus), wurden sie zunächst möglichst stumpf freipräpariert, vom umgebenden Gewebe isoliert und auf eine Pinzette aufgespannt.

Nach cranialer bzw. caudaler Ligatur mit einem Faden (Vicryl-Ethicon, Johnson & Johnson Medical, Norderstedt) und Anlegen eines weiteren Fixierfadens erfolgte die Inzision mittels einer Gefäßschere.

Mit Hilfe eines Introducers wurde jeweils ein Katheter (Außendurchmesser: 0,8 mm, Innendurchmesser: 0,5 mm) in das Lumen von Vena jugularis und Arteria femoralis und die HZV-Sonde in die Arteria carotis eingelegt und gut fixiert.

Die Katheter waren an einen Dreiwegehahn und an eine mit 0,9%iger NaCl-Lösung aufgezugene 1ml-Spritze angeschlossen. Somit konnte durch Aspiration die korrekte Lage überprüft und durch gelegentliches Spülen die Durchgängigkeit gewährleistet werden.

Die korrekte Lage der HZV-Sonde konnte durch das pulsierend austretende Blut als sicher angesehen werden.

#### Aortale Sonde:

Thermo-Sonde zur Bluttemperatur- bzw. HZV-Messung.

#### Venöser Katheter

Applikation von:

1. PKH 26-Erythrozyten (0,3 ml)
2. FITC-Albumin (50 mg/ kg KG)  
→ 1. und 2. jeweils 20 Minuten vor der ersten Messung
3. Lipopolysaccharid (LPS, Serotype 026: B6-Sigma Nr.: L 3755, Sigma Chemical Co)
4. NaCl 0,9% Bolusgabe zur HZV-Messung (3 x 0,3 ml)

#### Arterieller Katheter:

1. Blutdruckmessung in Kombination mit dem Monitoringsystem während des gesamten Versuches

2. Aspiration von 0,2 ml/h zur Blutgasanalyse
3. Kontinuierliche Spülung des arteriellen Katheters mittels minimaler Flussrate über einen angeschlossenen Perfusor mit NaCl 0,9% 3 ml/kg KG/h. Für jedes Einzeltier wurden die restlichen Flüssigkeitsgaben auf eine Gesamtvolumengabe von 10 ml/kg KG/h berechnet und infundiert.

Zum Abschluß wurden die Hautinzisionen mit einer fortlaufenden Naht (Prolene® blau 2 metric, Ethicon, Norderstedt) verschlossen.

### 3.3.2.3 Laparatomie

Vor der Laparatomie wurden in der Regio abdominalis die Haare mit einer Schermaschine (Aesculap, Typ GT 104/GH 204) entfernt und eine Hautdesinfektion mit Kodan (Tinktur-Forte® Spray-Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt) durchgeführt. Danach wurde die Haut in der Linea alba auf ca. zweieinhalb Zentimeter Länge im cranialen Drittel der Linie Processus xiphoideus – Genitale externum eröffnet und stumpf von der Muskulatur gelöst. Um Blutungen möglichst zu vermeiden, wurde diese mitsamt dem Peritoneum mittels Elektrokauter (T400 B, Erbe Elektromedizin GmbH, Tübingen) auf einer Länge von ca. einem Zentimeter eröffnet.

Die Tiere mußten auf die eigentliche Versuchsunterlage aus Plexiglas umgelagert werden, um das Mikroskopieren des Mesenteriums zu ermöglichen. Nun befanden sich die Tiere in linker Seitenlage, wobei direkt ventral des Abdomens ein halbkreisförmiges Tableau aus Plexiglas mit einem Durchmesser von ca. vier Quadratzentimetern zum Auslagern des Mesenteriums positioniert war.

### **3.3.3 Darmauslagerung**

Die Darmauslagerung wurde unter stetigem Befeuchten des Darms mit thermostat-kontrollierter Superfusion (Thermotemp MGW, Lauda) mit 1 ml/min Ringerlösung (DAB 7, Braun AG, Melsungen) bei 36°C entlang des Wasser-Immersion-Objektives (Fa. Leitz, Wetzlar) durchgeführt.

Eine geeignete Jejunumschlinge mit deutlicher Gefäßzeichnung im Mesenterium wurde vorsichtig mit zwei befeuchteten sterilen Stieltupfern (Fox JR und Wayland H 1979) ausgelagert. Torsionen und Bewegungen des Darms, Abdrücken der Gefäße und des Mesenteriums wurden vermieden (Asako H et al. 1992; Kurose I et al. 1993).

Die Warmhaltung und Befeuchtung des Darms war während des gesamten Versuches obligat. In die Plexiglasplatte war ein Heizsystem eingebaut, das eine Aufrechterhaltung der Körpertemperatur des Tieres und des ausgelagerten Mesenteriums bei ca. 36°C gewährleistete.

Mikroskopisch wurde ein geeignetes Gefäß ausgesucht, wobei die postkapillären Venolen folgende Kriterien erfüllen mußten:

- Freie Lage im Mesenterium ohne an Fettgewebe oder Lymphgefäße zu grenzen
- Keine Stase, Abflussbehinderung oder exzessive Steigerung des Blutflusses
- Keine Verzweigung oder Abbiegung in unmittelbarer oder weiterreichender Umgebung
- Durchmesser: 20 - 40 µm über eine Länge von mindestens 200 µm der Venole
- Adhärente Leukozyten < 5/100 µm Venolenlänge

Die entsprechende Jejunumschlinge wurde streng anteriomesenterial mit ihrer Adventitia angeschlossen (NC-Seide schwarz, Braun) und an der Plexiglasbühne mittels Verschraubung fixiert. Diese Fixationsmethode ermöglichte ein Mindestmaß an Traumatisierung des ausgelagerten Darmes und eine sichere Aufnahme- und Beobachtungsqualität während des gesamten Versuchsablaufes.

Die übrigen Darmabschnitte wurden im physiologischen Milieu der Peritonealhöhle belassen. Die Operationsdauer, von der Einleitung der Narkose bis hin zur ersten Messung, betrug mindestens 60 Minuten und maximal 90 Minuten, wobei der Darm in den letzten 40 Minuten Äquilibrationszeit keiner weiteren Manipulation ausgesetzt wurde.

Nach der ersten Messung wurde die kontinuierliche LPS-Zufuhr gestartet und die beiden weiteren Messungen nach 60 und 120 Minuten durchgeführt.

### **3.3.4 Euthanasie der Versuchstiere**

Wie im Tierversuchsantrag beschrieben, wurde jeder Versuch mit der Euthanasie der Tiere durch eine Überdosis Pentobarbital über den Jugulariskatheter beendet.

### **3.4 Messmethoden und Messparameter**

Um die Blutdurchflussgeschwindigkeit später mit der Mikrozirkulationsanalyse (Capimage, Fa. Zeintl, Heidelberg) (Zeintl H et al. 1989) messen zu können, wurde den Tieren 20 Minuten vor der ersten Messung 0,3 ml PKH-26-markierte Erythrozyten eines Spendertieres sowie zur Extravasationsbestimmung das gelöste FITC-Albumin jeweils intravenös langsam injiziert (Kurose I et al. 1994). Diese Zeit war für eine gleichmäßige Verteilung der Substanzen im Organismus ausreichend.

#### **3.4.1 Makrohämodynamische Parameter**

Wie oben beschrieben wurden die entsprechenden Parameter (HF, MAD) mittels Monitoring überwacht und zu den Messzeitpunkten dokumentiert.

Zusätzlich wurde das Herzzeitvolumen anhand der Thermodilutionsmethode gemessen (Sato T et al. 1982). Dazu wurde zu allen Messzeitpunkten im Abstand von ca. 3 Sekunden, jeweils nach Starten des Programms, 0,3 ml 20°C kalte Ringerlösung über den Jugulariskatheter injiziert. Dieser Kältebolus gelangte über das Herz in die Aorta. Die über die Arteria carotis eingeführte Temperatursonde registrierte dort eine typische Temperaturverlaufskurve (Slama H und Piiper J 1964). Aus der Fläche unter der Kurve berechnete der Computer mit Hilfe der Stewart-Hamilton-Gleichung das HZV in ml/min.

#### **3.4.2 Mikrohämodynamische Parameter**

Um die folgenden Parameter zu bestimmen wurden die zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten angefertigten Aufzeichnungen verwendet und off-line mit dem entsprechenden Auswertesystem des CAP-IMAGE-Programmes wie folgt bearbeitet:

### 3.4.2.1 Erythrozytengeschwindigkeit ( $V_{\text{Ery}}$ )

Computerunterstützt konnte mit dem Analysesystem die  $V_{\text{Ery}}$  mittels „Frame to Frame“-Methode wie folgt errechnet werden: Von der Videokamera wurde alle 20 Millisekunden ein Halbbild dargestellt und mittels Videorecorder aufgezeichnet. Der PC übernahm off-line vom laufenden Videofilm Bildpaare (Frames) mit festgelegtem Zeitabstand. Diese wurden digitalisiert und als zwei Einzelbilder abgelegt. Nach Starten des Programms wurde ein einzelner Erythrozyt markiert; ebenso seine Position auf dem folgenden zweiten Halbbild. Der Weg, den ein Erythrozyt von einem Halbbild zum nächsten zurücklegt, ist Ausdruck seiner Geschwindigkeit und wurde nach Ausmessen vom Programm in mm/s angegeben.

Die mittlere  $V_{\text{Ery}}$  wurde aus den Geschwindigkeiten von 20 Einzelerythrozyten bestimmt (Kurose I et al. 1991).

### 3.4.2.2 Venolendurchmesser ( $D_v$ )

Analog ließ sich der  $D_v$  unter Verwendung des Auswerteprogramms ausmessen: Über eine Strecke von mindestens 200  $\mu\text{m}$  des untersuchten Venolenabschnittes wurde an fünf Stellen der Durchmesser bestimmt und daraus der arithmetische Mittelwert gebildet.

### 3.4.2.3 Wandscherrate ( $\gamma$ )

Nach der Newton'schen Definition über laminäre Strömung kann die Scherrate aus der mittleren Blutflussgeschwindigkeit  $V_{\text{Mittel}}$  und dem Gefäßdurchmesser  $D_v$  wie folgt berechnet werden (House SD und Lipowsky HH 1987a, 1987b):

$$\gamma = 8 (V_{\text{Mittel}} / D_v)$$

In der vorliegenden Studie wurde die gemessene  $V_{\text{Ery}}$  gleichgesetzt mit  $V_{\text{Mittel}}$ . Die Scherrate wurde daher nach folgender Formel berechnet (House SD und Lipowsky HH 1987a, 1987b):

$$\gamma = 8 (V_{\text{Ery}} / D_v)$$

### 3.4.3 Leukozyten-Endothel-Interaktionen

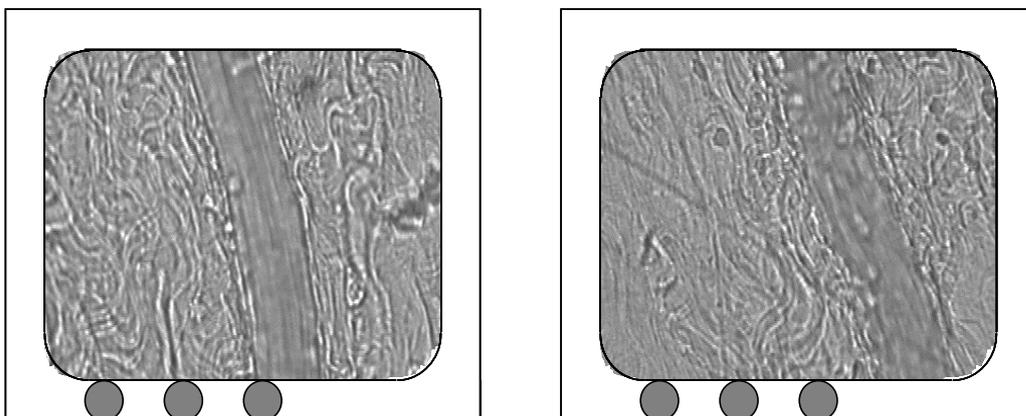
Die Leukozyten-Endothel-Interaktion konnte per Transilluminations-Mikroskopie *in vivo* dargestellt werden. Vor der ersten Messung wurde der für die Untersuchungen bestimmte Abschnitt festgelegt. Die zu den einzelnen Messzeitpunkten aufgenommenen Videosequenzen wurden zur nachträglichen Auszählung der Leukozyten langsam über 60-120 Sekunden abgespielt, wobei wie folgt zwischen den Leukozyten unterschieden wurde:

#### 3.4.3.1 Adhärente Leukozyten (Sticker)

Sticker werden als Leukozyten definiert, die sich in einem Zeitraum von 30 Sekunden weder bewegen noch vom Endothel lösen (Granger DN et al. 1989). In dieser Studie wurde die Anzahl der Leukozyten gezählt, die auf einem Abschnitt von 100  $\mu\text{m}$  am Endothel hafteten (siehe Abb. 3.2 linkes Bild). Ihre Anzahl durfte unmittelbar nach Auslagern des Mesenteriums und vor der ersten Messung in der ausgewählten Venole nicht mehr als fünf adhärente Leukozyten pro 100  $\mu\text{m}$  betragen.

#### 3.4.3.2 Rollende Leukozyten (Roller)

Rollende Leukozyten bewegen sich im Randstrom an der Venolenwand entlang mit einer Geschwindigkeit von ca. 20-40  $\mu\text{m}/\text{s}$  (Ley K und Gaehdgens P 1991). Sie sind in Abbildung 3.2 auf dem rechten Bild dargestellt.



**Abb. 3.2: Intravitalmikroskopische Aufnahme der Leukozyten-Endothel-Interaktionen in einer postkapillären Mesenterialvenole (linkes Bild: adhärenter Leukozyt und extravasal gelegene Leukozyten, rechtes Bild: rollende Leukozyten)**

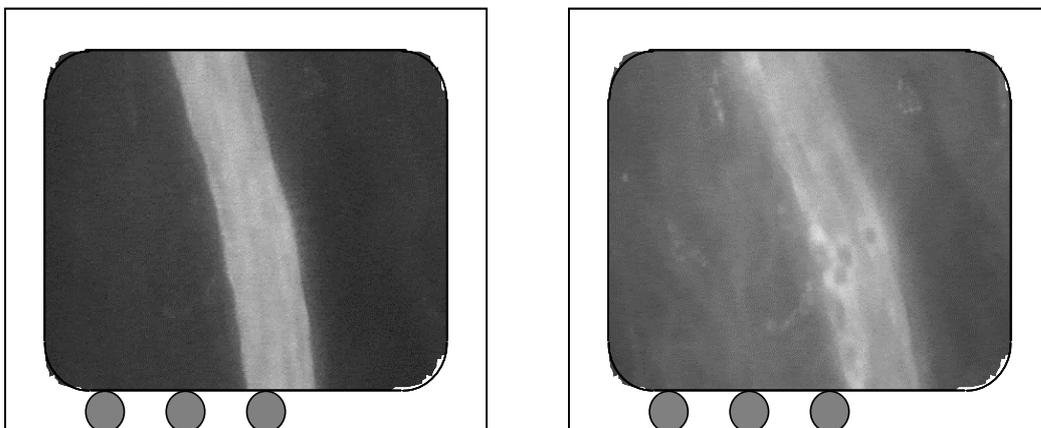
### 3.4.3.3 Nicht-adhärenente Leukozyten

Als nicht-adhärenente Leukozyten gelten frei fließende Leukozyten, die sich im Zentralstrom befinden. Ihre Geschwindigkeit stimmt mit der der Erythrozyten annähernd überein. Bei ausreichendem Blutfluss sind sie unsichtbar.

Um eine zusätzliche Stimulation der Leukozyten zu vermeiden, wurde bei der verwendeten Methode auf eine Fluoreszenzmarkierung der Leukozyten verzichtet. Daher waren die fließenden Leukozyten im Zentralstrom nicht darstellbar.

### 3.4.4 Extravasation

Die Endothelschädigung, die im Verlauf einer Sepsis auftritt, äußert sich unter anderem auch im Austritt von Plasma aus dem Gefäßsystem in das Interstitium. Um dies zu messen wurde die Intensität von fluoreszierendem FITC-Albumin intra- und perivasal anhand der digitalisierten Videobilder planimetrisch am selben Gefäßabschnitt bestimmt, an dem auch die anderen Messungen vorgenommen wurden (siehe Abb. 3.3).



**Abb. 3.3: Intravitalmikroskopische Darstellung der Extravasation in einer postkapillären Mesenterialvenole zum Zeitpunkt 0 (linkes Bild) und 120 (rechtes Bild) Minuten**

Ein Basis-Grauwert wurde durch eine Leeraufnahme in genügendem Abstand zu jeglichem Gefäß ermittelt und von den im Versuch gewonnenen Werten subtrahiert. Manuell wurden vor der ersten Messung über die Kontrasteinstellung der Kamera maximale Kontraste zwischen Venole und Interstitium eingestellt. Diese Einstellungen wurden über die 120 Minuten Versuchsablauf beibehalten.

Computergestützt wurde auf dem digitalisierten Videobild eine Fläche aus Venolenlänge (100  $\mu\text{m}$ ) mit dazugehöriger Venolenbreite eingezeichnet und der intravasale Grauwert Ii (counts/pixel; Graustufen des Monitors: 1 = schwarz = keine Fluoreszenzaktivität bis 225 = weiß = maximale Fluoreszenzaktivität) bestimmt. Eine kongruente Fläche wurde unmittelbar neben der Venole (perivasal) abgegriffen und ergab so den perivasalen Grauwert Ip.

### 3.4.5 Blutgasanalyse

Zu jedem Messzeitpunkt wurde aus dem Verweilkatheter der Arteria femoralis 0,3 ml heparinisiertes Vollblut entnommen. Im Blutgasanalysator (ABL 5, Radiometer Medical, Kopenhagen, Norwegen) wurden folgende Parameter ermittelt:

- pH arterieller pH
- $\text{P}_a\text{O}_2$  arterieller Sauerstoffpartialdruck (mmHg)
- $\text{P}_a\text{CO}_2$  arterieller Kohlendioxidpartialdruck (mmHg)
- $\text{S}_a\text{O}_2$  arterielle Sauerstoffsättigung (%)
- $\text{HCO}_3^-$  arterielle Bicarbonatkonzentration (mmol/l)
- BE arterieller Basenüberschuß (mmol/l)

### 3.5 Studienaufbau

Entsprechend der Fragestellung wurden die Tiere randomisiert in 4 Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt. Jede Gruppe wurde mit Hilfe der zur Untersuchung vorgesehenen volatilen Anästhetika ausschließlich anästhesiert und mit jeweils einer LPS- und NaCl-Lösung über zwei Stunden infundiert:

1. Halothan n = 10: + 2 mg LPS + 3 ml NaCl /kg KG/h über 120 min
2. Isofluran n = 10: + 2 mg LPS + 3 ml NaCl /kg KG/h über 120 min
3. Sevofluran n = 10: + 2 mg LPS + 3 ml NaCl /kg KG/h über 120 min
4. Desfluran n = 10: + 2 mg LPS + 3 ml NaCl /kg KG/h über 120 min

Die Beatmung wurde bei allen Versuchsgruppen mit dem jeweiligen Narkosegasgemisch unter einem Druck von 110 mm H<sub>2</sub>O und einem Inspirations-/ Expirationsverhältnis von 1:2 durchgeführt. Die Atemfrequenz wurde abhängig vom PaCO<sub>2</sub> der Blutgasanalyse (< 45 mm Hg) zwischen 50-100 Atemzüge/min eingestellt. Vor jedem Messzeitpunkt wurden mittels Blutgasanalyse und Beurteilung der makrohämodynamischen Parameter im Monitoring der intakte Kreislauf und der Säure-Basen-Haushalt überprüft.

Zur exakten Darstellung und Identifizierung der Erythrozyten wurden diese von Spenderratten nach einer modifizierten Methode von Horan (Horan PK et al. 1990) mit dem fluoreszierenden Farbstoff PKH 26 GL markiert (Färbung siehe Anhang) und dem Versuchstier 20 Minuten vor der ersten Messung appliziert (0,3 ml Erythrozytensuspension/kg KG, Hkt.50% mit Ringer-Lösung auf 1 ml verdünnt). Zur gleichen Zeit erhielten die Tiere mit Fluoreszein-Isothiocyant-markiertes, bovines Albumin (FITC), um die Extravasation später messen zu können (Mian R und Marshall JM 1993; Miller FN et al. 1982).

Zu den drei Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten wurde die ausgewählte Venole für jeweils zwei Minuten auf Videokassette aufgenommen und die HZV-Messung durchgeführt.

Nach der ersten Messung (Zeitpunkt 0 Minuten) wurde allen Tieren kontinuierlich 2 mg/kg Körpergewicht/h LPS über den intravenösen Katheter infundiert. Das Endotoxin wurde in NaCl 0,9% auf eine Endkonzentration von 0,4 mg/ml gelöst.

Alle Tiere erhielten eine Volumensubstitution mit NaCl 0,9%-Lösung (3 ml/kg KG/h).

### 3.5.1 Versuchsprotokoll

Versuchsgruppe	1. Messung bei 0 min	2. Messung bei 60 min	3. Messung bei 120 min
Präparation	zu jedem Messzeitpunkt: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Intravitalmikroskopie und Videoaufnahme</li> <li>- markohämodynamische Parameter</li> <li>- HZV-Messung</li> <li>- Blutgasanalyse</li> <li>- Dokumentation</li> </ul>		
Hal (Fluothane <sup>®</sup> ) n=10	NaCl 0,9% (3 ml/kg KG/h)		
	Hal (1,5 Vol %)		
	LPS (2 mg/kg KG/h)		
Iso (Forene <sup>®</sup> ) n=10	NaCl 0,9% (3 ml/kg KG/h)		
	Iso (2,1 Vol %)		
	LPS (2 mg/kg KG/h)		
Sev (Sevorane <sup>®</sup> ) n=10	NaCl 0,9% (3 ml/kg KG/h)		
	Sev (3,6 Vol %)		
	LPS (2 mg/kg KG/h)		
Des (Suprane <sup>®</sup> ) n=10	NaCl 0,9% (3 ml/kg KG/h)		
	Des (12,6 Vol %)		
	LPS (2 mg/kg KG/h)		

### 3.6 Statistische Auswertung

Anhand der erhobenen Daten wurde eine deskriptive Statistik erstellt (Mittelwert, Standardabweichung). Die Testung auf Normalverteilung erfolgte nach Kolmogorov Smirnov. Lag eine Normalverteilung vor, erfolgte der einfaktorielles Mittelwertvergleich unabhängiger Stichproben (1 Variable, mehrere Gruppen) mittels Ein-Weg-Varianzanalyse (analysis of variance, ANOVA). Bei Auftreten von Signifikanz erfolgte die post hoc Testung mit einem nach Bonferroni korrigierten t-Test. Bei mehrfaktoriellem Design (wiederholte Messungen, mehrere Gruppen) wurde eine Zwei-Weg-Varianzanalyse mit Messwertwiederholung (two way repeated measures, ANOVA) mit anschließendem Scheffé-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde bei  $p < 0,05$  angesetzt. In den Diagrammen sind die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen dargestellt.

## 4 Ergebnisse

Im Folgenden sind die Ergebnisse als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung unter Angabe statistisch signifikanter Unterschiede zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten graphisch dargestellt, wobei die einzelnen Gruppen in den folgenden Farben repräsentiert werden:

Halothan: rot, Isofluran: pink, Sevofluran: gelb und Desfluran: blau.

Die Ergebnisse der Ausgangsgewichte und der Blutgasanalyse sind in tabellarischer Form dokumentiert.

### 4.1 Ausgangsgewichte

Die Versuchstiere waren alle im gleichen Alter und hatten annähernd das gleiche Körpergewicht (Angaben in g), siehe Tab. 4.1. Sie waren alle in einem guten Gesundheitszustand und frei von Infektions- oder Sepsisanzeichen.

**Tab. 4.1: Körpergewichte (g) in den Versuchsguppen**

Angegeben sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

Hal	Iso	Sev	Des
326,0 $\pm$ 74,0	310,0 $\pm$ 89,2	304,0 $\pm$ 76,0	313,4 $\pm$ 81,6

## 4.2 Makrohämodynamik

### 4.2.1 Herzfrequenz

Die Ergebnisse der Herzfrequenz, gemessen in Schlägen pro Minute, sind in Abb. 4.1 dargestellt.

Sie war zu Versuchsbeginn in allen Gruppen gleich hoch (Hal:  $398 \pm 65$ ; Iso:  $379 \pm 35$ ; Sev:  $350 \pm 39$ ; Des:  $346 \pm 53$ ) und blieb im Verlauf der Versuche auch unter Einwirkung des LPS in allen Gruppen konstant.

Somit ergaben sich zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Differenzen zwischen den vier Anästhetika (Hal:  $425 \pm 56$ ; Sev:  $368 \pm 39$ ; Des:  $357 \pm 36$  bei 60 min, Hal:  $425 \pm 59$ ; Sev:  $394 \pm 46$ ; Des:  $377 \pm 47$  bei 120 min).

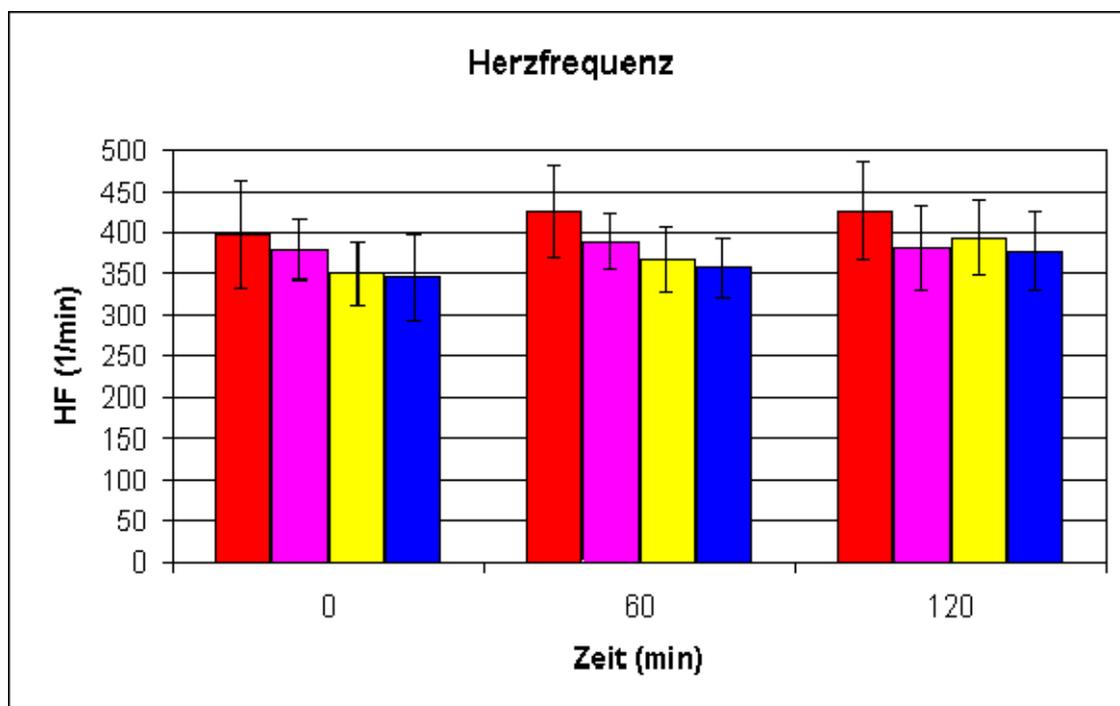


Abb. 4.1: Herzfrequenz gemessen in Schlägen pro Minute zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

#### 4.2.2 Mittlerer arterieller Druck

Die vor der Sepsisinduktion erstmals dokumentierten Blutdruckwerte, gemessen in mmHg, waren in der Sevofluran- und Desflurangruppe signifikant höher gegenüber Halothan und Isofluran (Hal:  $79 \pm 14$ ; Iso:  $81 \pm 12$ ; Sev:  $99 \pm 12$ ; Des:  $97 \pm 16$  siehe Abb. 4.2).

Während der MAD im Verlauf der Endotoxinwirkung in der Halothan und Isofluran-Gruppe weiter sank, blieb er in der Sevofluran und Desfluran stabil (Hal:  $61 \pm 16$ ; Iso:  $64 \pm 14$ ; Sev:  $83 \pm 10$ ; Des:  $91 \pm 23$ ). Nach der ersten Stunde Sepsisinduktion war der MAD nur unter Desfluran höher als in den beiden Gruppen Halothan und Isofluran (Hal:  $74 \pm 15$ ; Iso:  $72 \pm 11$ ; Sev:  $84 \pm 12$ ; Des:  $93 \pm 19$  bei 60 min).

Am Ende des Versuches ergab sich somit ein ähnliches Bild, vergleichbar mit der Ausgangsmessung. Unter Sevofluran und Desfluran war der MAD signifikant höher gegenüber Halothan und Isofluran.

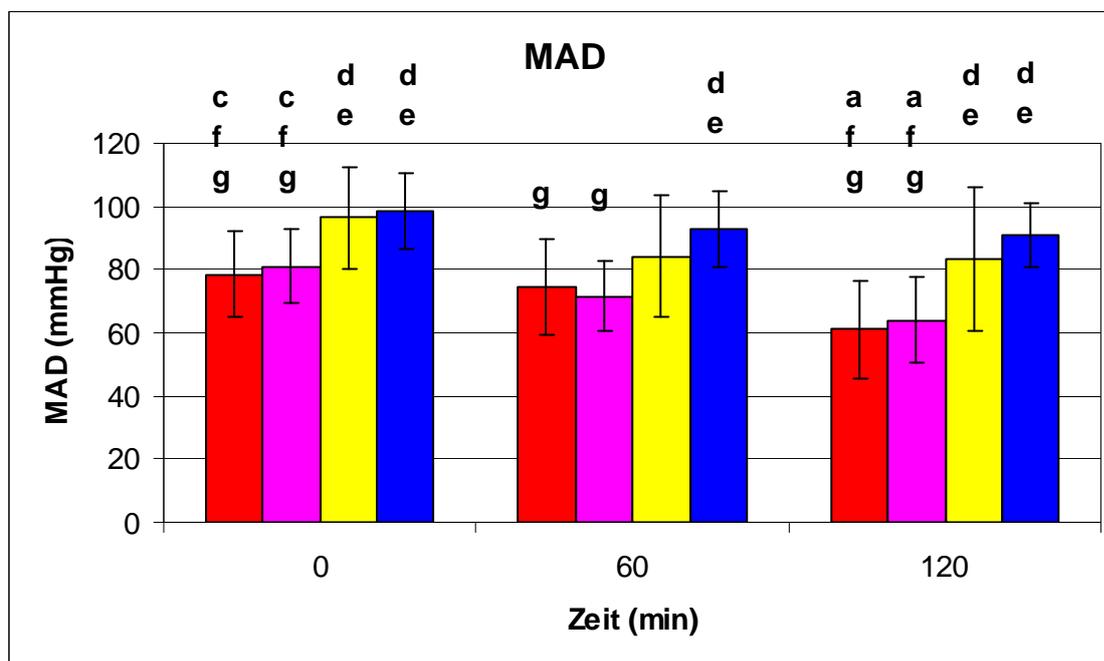


Abb. 4.2: Mittlerer arterieller Druck (MAD) gemessen in mmHG zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min,

d =  $p < 0,01$  vs Hal, e =  $p < 0,01$  vs Iso, f =  $p < 0,01$  vs Sev, g =  $p < 0,01$  vs Des

### 4.2.3 Herz-Zeit-Volumen

In Abbildung 4.3 sind die Ergebnisse der Herzzeitvolumen-Messung (ml/min) dargestellt.

Zu Beginn des Versuches und nach LPS-Infusion wies Halothan ein signifikant niedrigeres Herzzeitvolumen gegenüber Isofluran, Sevofluran und Desfluran auf. (Hal:  $79 \pm 21$ ; Iso:  $118 \pm 26$ ; Sev:  $113 \pm 17$ ; Des:  $121 \pm 22$  bei 0 min; Hal:  $76 \pm 23$ ; Iso:  $111 \pm 21$ ; Sevo:  $103 \pm 18$ ; Des:  $119 \pm 19$  bei 60 min und Hal:  $69 \pm 27$ ; Iso:  $107 \pm 28$ ; Sev:  $99 \pm 18$ ; Des:  $112 \pm 23$  bei 120 min).

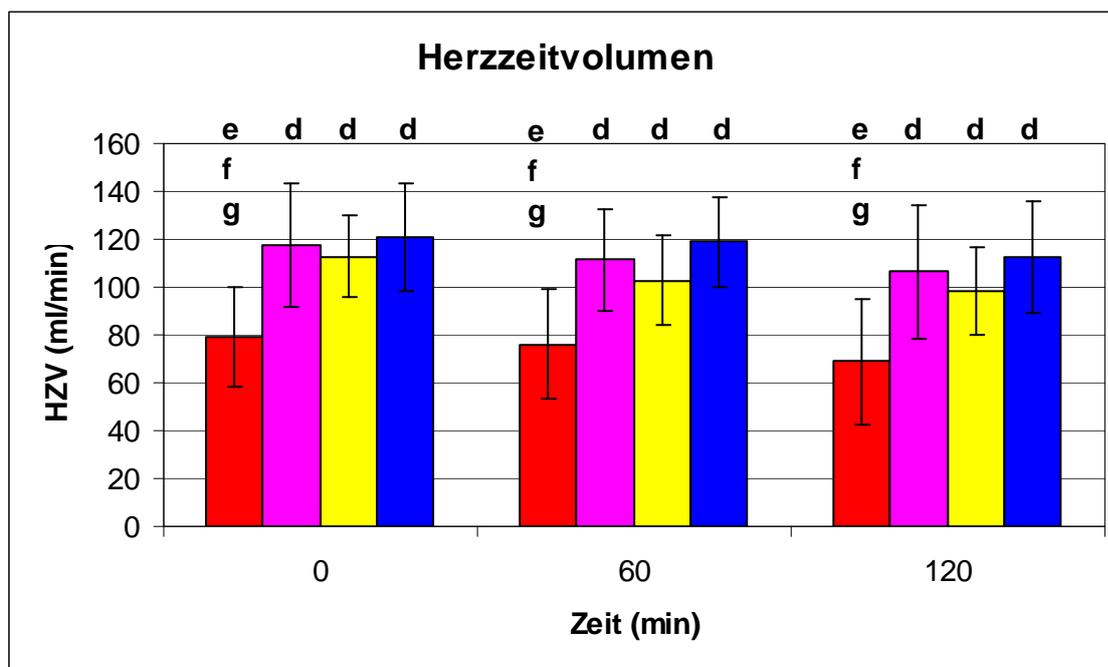


Abb. 4.3: Herzzeitvolumen (HZV) gemessen in ml/Minuten zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

d =  $p < 0,01$  vs Hal, e =  $p < 0,01$  vs Iso, f =  $p < 0,01$  vs Sev, g =  $p < 0,01$  vs Des

## 4.3 Mikrohämodynamik

### 4.3.1 Gefäßdurchmesser

Die in der Ausgangsmessung vorhandenen Gefäßdurchmesser ( $\mu\text{m}$ ) (siehe Abb. 4.4) unterschieden sich in den einzelnen Gruppen nicht (Hal:  $36,2 \pm 5,1$ ; Iso:  $38,9 \pm 3,0$ ; Sevo- und Des:  $38,3 \pm 5,7/5,3$ ). Sie veränderten sich auch während des gesamten Versuchsablaufes nicht. Somit ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den vier Gruppen zu den weiteren beiden Messzeitpunkten (Hal:  $36,5 \pm 4,5$ ; Iso:  $38,7 \pm 4,0$ ; Sev:  $38,2 \pm 6,8$ ; Des:  $37,9 \pm 5,4$  bei 60 min, Hal:  $36,5 \pm 4,5$ ; Iso:  $39,4 \pm 3,2$ ; Sev:  $38,7 \pm 6,6$ ; Des:  $39,7 \pm 5,9$  bei 120 min).

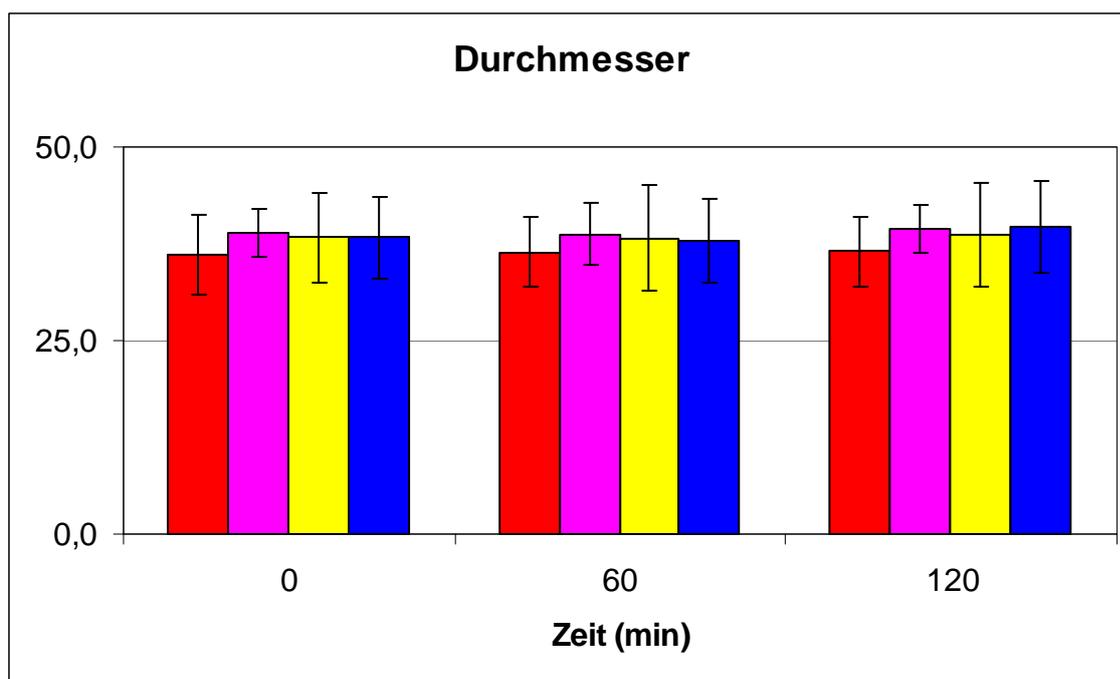


Abb. 4.4: Gefäßdurchmesser postkapillärer Venolen ( $D_v$ ) gemessen in  $\mu\text{m}$  auf 200  $\mu\text{m}$  Venolenlänge zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

### 4.3.2 Erythrozytengeschwindigkeit

Die Veränderungen der Erythrozytengeschwindigkeit in postkapillären Venolen, gemessen in mm/s, sind in Abb. 4.5 dargestellt. Schon zu Versuchsbeginn war die  $V_{\text{Ery}}$  unter Halothan ( $1,3 \pm 0,4$ ) gegenüber den anderen drei Gruppen ( $2,0 \pm 0,5/0,6$ ) signifikant geringer. Dieser niedrige Wert blieb während des gesamten Versuchs in der Halothangruppe annähernd konstant und wurde von der einsetzenden LPS-Infusion nicht weiter beeinflusst ( $1,2 \pm 0,4$  bei 60 und 120 min). In der Isofluran- und Sevoflurangruppe sank die  $V_{\text{Ery}}$  innerhalb der ersten Stunde LPS-Zufuhr (Iso:  $1,5 \pm 0,5$ ; Sev:  $1,6 \pm 0,6$  bei 60 Minuten). Somit ergab sich für den zweiten Messzeitpunkt nur noch ein signifikanter Unterschied zwischen Halothan und Desfluran. In der Isofluran- und Sevofluran-Gruppe war die  $V_{\text{Ery}}$  zu diesem Zeitpunkt schon auf ein gleiches Niveau wie unter Halothan gesunken. Sie blieb bis zum Versuchsende hin nahezu gleich (Iso:  $1,4 \pm 0,5$ ; Sev:  $1,1 \pm 0,4$  bei 120 min). Die Geschwindigkeit verringerte sich in der Desfluran-Gruppe nur geringfügig im Verlauf des Versuches ( $2,0 \pm 0,5$  bei 0 min;  $1,7 \pm 0,5$  bei 60 min;  $1,5 \pm 0,6$  bei 120 min). Eine signifikant höhere  $V_{\text{Ery}}$  im Vergleich zu Halothan bestand aber nur während der ersten beiden Messungen.

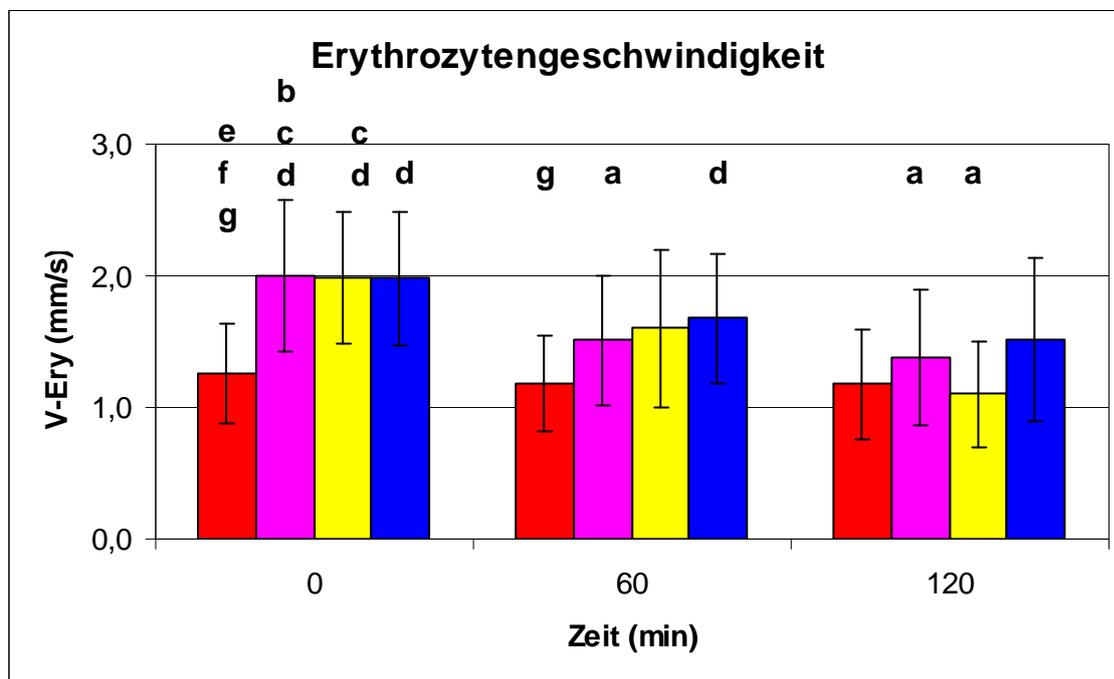


Abb. 4.5: Erythrozytengeschwindigkeit ( $V_{\text{Ery}}$ ) gemessen in mm/s zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, b =  $p < 0,01$  vs 60 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min,

d =  $p < 0,01$  vs Hal, e =  $p < 0,01$  vs Iso, f =  $p < 0,01$  vs Sev, g =  $p < 0,01$  vs Des

### 4.3.3 Wandscherrate

In Abb. 4.6 sind die errechneten Ergebnisse der Wandscherrate in  $1/\text{min}^2$  dargestellt.

Zum Zeitpunkt der Ausgangsmessung war sie in der Halothangruppe ( $260 \pm 107$ ) im Gegensatz zu Isofluran ( $403,4 \pm 116,7$ ) und Desfluran ( $407 \pm 77,9$ ) signifikant niedriger und verglichen mit der Sevoflurangruppe ( $348,8 \pm 155,5$ ) tendenziell niedriger. Im Verlauf des Versuches blieb die Wandscherrate in der Halothangruppe, analog zur Erythrozytengeschwindigkeit, annähernd konstant ( $243 \pm 104$  bei 60 min,  $240 \pm 111$  bei 120 min). Dagegen zeigte sich in den Gruppen Isofluran, Sevofluran und Desfluran eine signifikante Verminderung zwischen erster und letzter Messung (Iso:  $277,5 \pm 92,4$ ; Sev:  $204,5 \pm 120,1$ ; Des:  $306,7 \pm 106,9$  bei 120 min).

Analog zur  $V_{\text{Ery}}$  war zum Messzeitpunkt 60 Minuten noch eine deutlich höhere Wandscherrate unter Desfluran ( $352,5 \pm 86,4$ ) verglichen mit der Halothangruppe vorhanden. Zu Versuchsende lag in allen Gruppen eine ähnlich niedrige Wandscherrate vor.

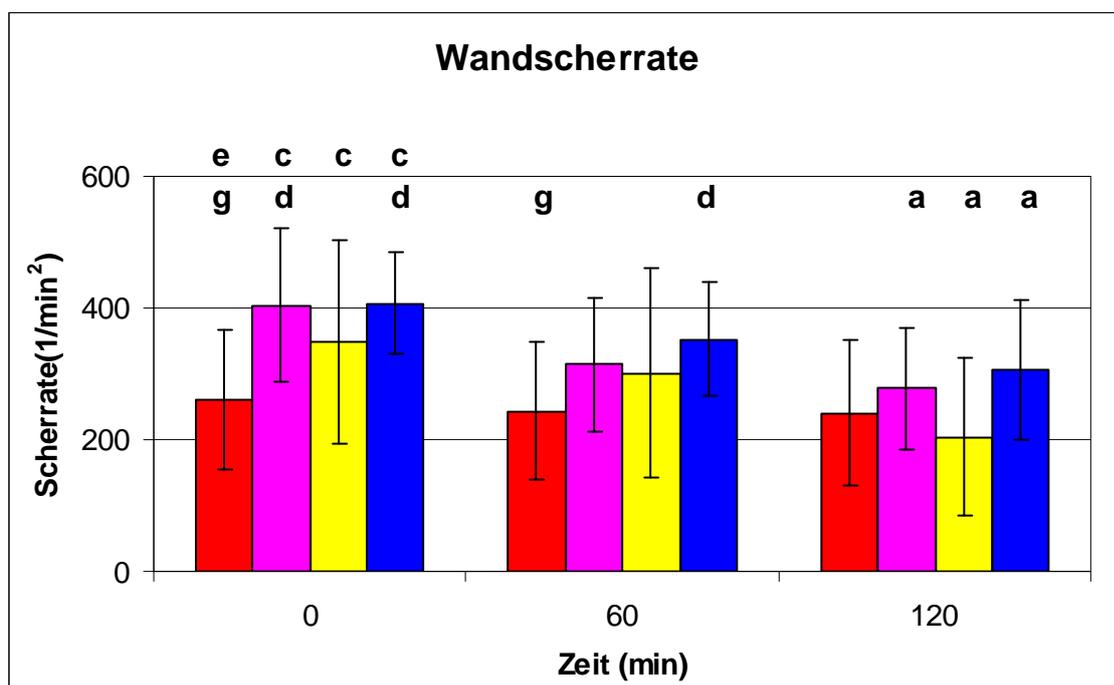


Abb. 4.6: Wandscherrate gemessen in  $1/\text{Minuten}$  zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min,

d =  $p < 0,01$  vs Hal, e =  $p < 0,01$  vs Iso, g =  $p < 0,01$  vs Des

## 4.4 Leukozyten-Endothel-Interaktionen

### 4.4.1 Rollende Leukozyten

Die Ausgangsmessungen wiesen keine Unterschiede unter den einzelnen Gruppen auf (Hal:  $36,2 \pm 13,5$ ; Iso:  $35,8 \pm 14,7$ ; Sev:  $29,4 \pm 12,8$ ; Des:  $38,9 \pm 10,1$  siehe Abb.4.7).

In allen Gruppen fand im Verlauf des Versuches eine signifikante Verminderung statt (Hal:  $20,6 \pm 9,6$ ; Iso:  $21,0 \pm 11,0$ ; Sevo:  $18,3 \pm 5,9$ ; Des:  $26,0 \pm 11,8$  bei 60 min und Hal:  $14,4 \pm 6,2$ ; Iso:  $14,3 \pm 8,4$ ; Sev:  $8,2 \pm 4,0$ ; Des:  $15,2 \pm 10,0$  bei 120 min).

In der Sevoflurangruppe fanden sich zu allen Messzeitpunkten die geringste Anzahl an rollenden Leukozyten. Trotzdem waren am Ende des Versuches in allen Gruppen keine signifikanten Unterschiede der Rolleranzahl festzustellen.

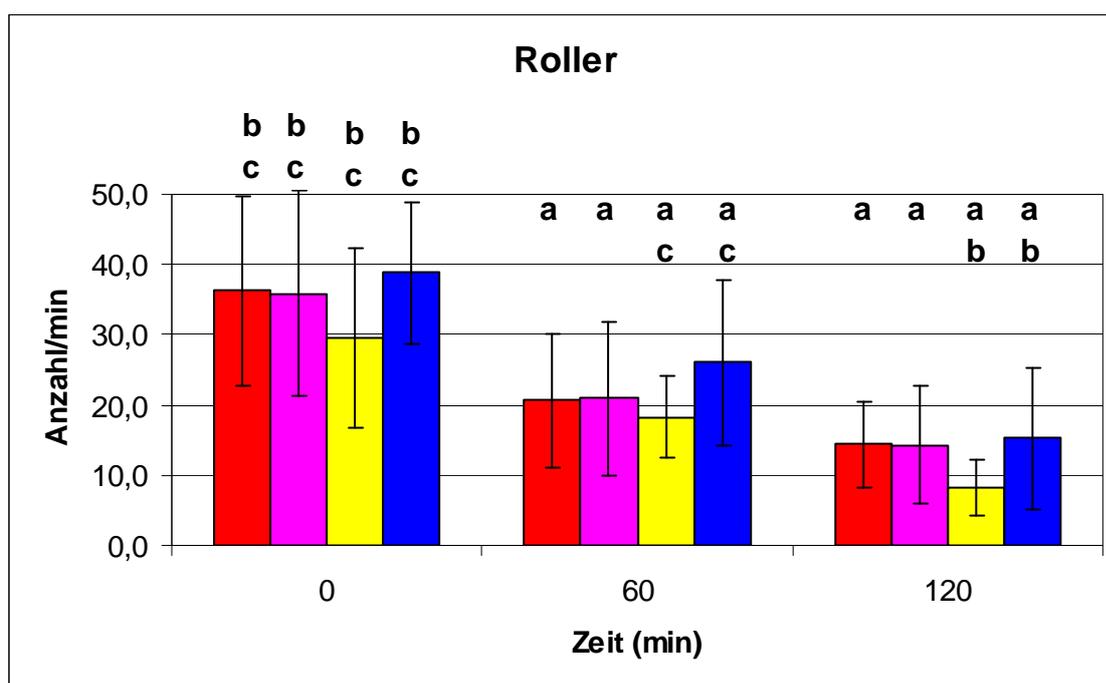


Abb. 4.7: Anzahl rollender Leukozyten/100  $\mu\text{m}$  Venolenlänge/Minuten zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, b =  $p < 0,01$  vs 60 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min,

#### 4.4.2 Adhärenente Leukozyten

Wie in Abb.4.8 dargestellt, wies die Halothangruppe schon in der Ausgangsmessung signifikant die meisten adhärenente Leukozyten pro 100  $\mu\text{m}$  postkapillärer Venole auf (Hal:  $4,8 \pm 2,8$ ; Iso:  $2,5 \pm 1,6$ ; Sev:  $2,3 \pm 1,3$ ; Des:  $2,8 \pm 1,6$ ).

In allen Gruppen waren nach jeder weiteren Stunde LPS-Zufuhr signifikant mehr Sticker vorhanden (Hal:  $8,4 \pm 3,9$ ; Iso:  $5,3 \pm 1,8$ ; Sev:  $5,1 \pm 2,9$ ; Des:  $5,7 \pm 3,0$  bei 60 min und Hal:  $11,4 \pm 3,5$ ; Iso:  $7,8 \pm 2,5$ ; Sev:  $6,6 \pm 3,9$ ; Des:  $6,4 \pm 3,5$  bei 120 min).

Das Verteilungsmuster im Vergleich der Gruppen blieb somit gleich. In der Halothan-Gruppe fanden sich zu jedem Messzeitpunkt die meisten adhärenente Leukozyten.

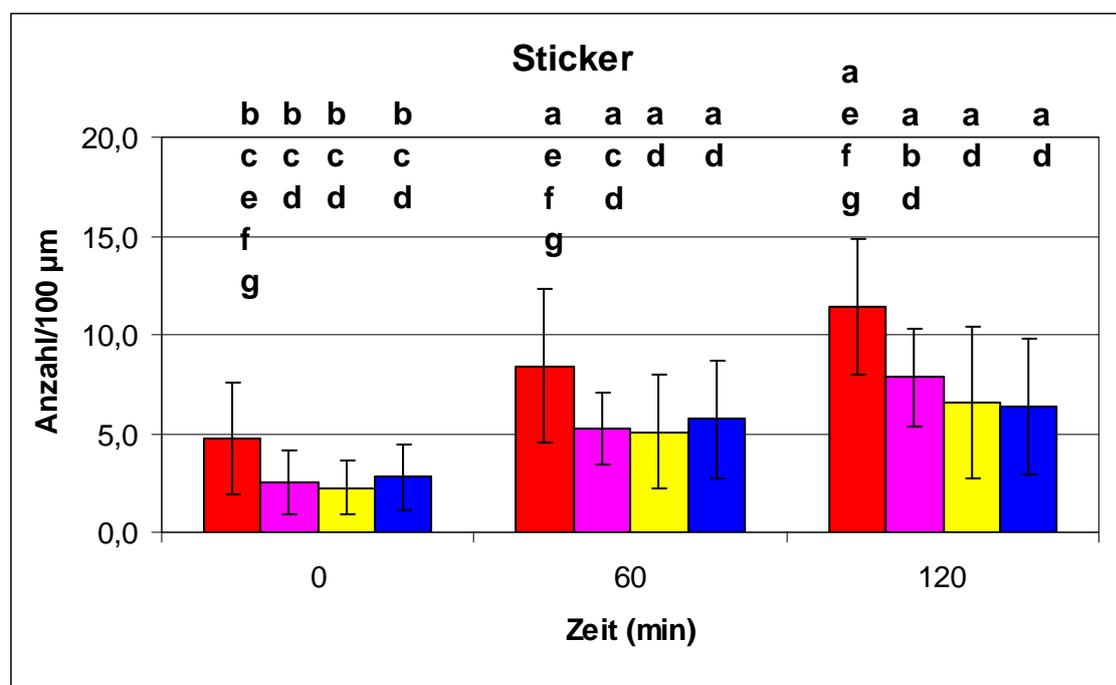


Abb. 4.8: Anzahl der adhärenente Leukozyten/100  $\mu\text{m}$  Venolenlänge/30sec zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, b =  $p < 0,01$  vs 60 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min,

d =  $p < 0,01$  vs Hal, e =  $p < 0,01$  vs Iso, f =  $p < 0,01$  vs Sev, g =  $p < 0,01$  vs Des

### 4.4.3 Extravasation

Die Gefäßpermeabilität, in Abb. 4.9 dargestellt, zeigt signifikante Veränderungen im Laufe des Versuches.

Zum Zeitpunkt der Ausgangsmessung waren bei allen Gruppen die gemessenen Werte noch relativ gering (Hal:  $9,9 \pm 5,0$ ; Iso:  $12,0 \pm 7,6$ ; Sev:  $11,2 \pm 8,7$ ; Des:  $11,8 \pm 4,8$ ).

Während der LPS-Infusion stiegen sie in allen Gruppen stündlich signifikant an (Hal:  $35,6 \pm 10,3$ ; Iso:  $28,1 \pm 12,3$ ; Sev:  $28,4 \pm 10,7$ ; Des:  $29,6 \pm 7,6$  bei 60 min und Hal:  $64,4 \pm 14,1$ ; Iso:  $45,9 \pm 13,2$ ; Sev:  $47,4 \pm 12,4$ ; Des:  $56,2 \pm 13,7$  bei 120 min).

Am Versuchsende wurde unter Isofluran und Sevofluran eine signifikant geringere Extravasation im Vergleich zu Halothan gemessen.

Desfluran konnte einen solchen Unterschied zu Halothan nicht aufweisen.

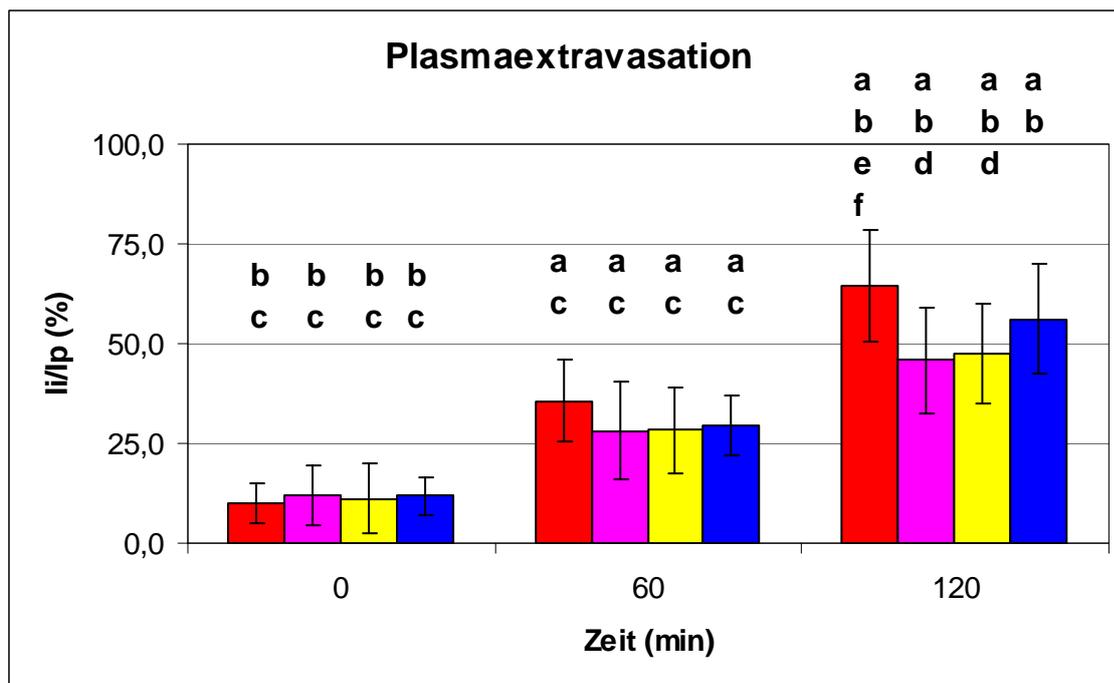


Abb. 4.9: Extravasation gemessen in li/p (%) zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

Halothan (Hal) ■, Isofluran (Iso) ■, Sevofluran (Sev) ■, Desfluran (Des) ■

Dargestellt sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, b =  $p < 0,01$  vs 60 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min,

d =  $p < 0,01$  vs Hal, e =  $p < 0,01$  vs Iso, f =  $p < 0,01$  vs Sev

## 4.5 Blutgasanalyse und Säure-Basen-Haushalt

Die genauen Werte sind in Tabelle 4.2 aufgeführt und können wie folgt interpretiert werden:

### 4.5.1 pH-Wert

In allen Gruppen ergab sich eine signifikante Verschiebung hin zur Azidose mit andauernder Versuchslänge und der damit verbundenen LPS-Zufuhr.

In der Isoflurangruppe zeichnete sich diese Verschiebung schon während der ersten Stunde der Endotoxinexposition ab, bei den anderen Gruppen war zu diesem Zeitpunkt erst ein tendenzieller Verlauf in Richtung Azidose zu erkennen. Untereinander unterschieden sich die einzelnen Gruppen weder in der Ausgangsmessung noch zu irgendeinem weiteren Zeitpunkt.

### 4.5.2 Sauerstoffpartialdruck ( $P_aO_2$ in mmHg)

Die gemessenen Sauerstoffpartialdrücke blieben zwar alle während des gesamten Versuches im Normbereich, aber in allen Gruppen ergab sich eine Abnahme während der kontinuierlichen LPS-Gabe.

### 4.5.3 Kohlendioxidpartialdruck ( $P_aCO_2$ in mmHg)

Über die zwei Stunden Versuchsdauer ergaben sich lediglich geringe Schwankungen der  $P_aCO_2$ -Werte. Dabei lagen die Mittelwerte immer im Normbereich.

### 4.5.4 Sauerstoffsättigung ( $S_aO_2$ in %)

Zur letzten Messung waren die  $S_aO_2$ -Werte tendenziell niedriger als bei der Ausgangsmessung, aber zu keinem Zeitpunkt bestanden statistisch signifikante Unterschiede, weder innerhalb noch zwischen den einzelnen Gruppen.

### 4.5.5 Bicarbonatkonzentration ( $HCO_3^-$ in mmol/L)

Ähnlich der Ergebnisse des Sauerstoffpartialdrucks sank bei allen Gruppen im Verlauf der zwei Stunden LPS-Infusion die Bikarbonatkonzentration ab.

#### 4.5.6 Basenüberschuss (Base excess, BE)

In der Ausgangsmessung zeigte sich kein Unterschied zwischen den vier Gruppen (Hal:  $-6 \pm 2$ ; Iso:  $-5 \pm 2$ ; Sev:  $-6 \pm 3$ ; Des:  $-6 \pm 2$ ).

Im Verlauf des Versuches sanken die Werte unter allen Anästhetika bis zur letzten Messung signifikant ab (Hal:  $-11 \pm 2$ ; Iso:  $-12 \pm 3$ ; Sev:  $-9 \pm 3$ ; Des:  $-12 \pm 2$ ). Sowohl in der Isofluran- wie auch in der Desflurangruppe verminderte sich der Wert schon während der ersten Stunde der Endotoxinwirkung signifikant (Iso:  $-9 \pm 2$ ; Des:  $-9 \pm 2$ ) und sank auch danach stetig weiter ab. Am Ende war der BE in allen Gruppen vergleichbar hoch negativ.

**Tabelle 4.2: Blutgasanalyse**

Angegeben sind der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung von pH,  $P_aO_2$  und  $P_aCO_2$  in mmHg,  $S_aO_2$  in %,  $HCO_3^-$  und BE in mmol/l in den Gruppen Halothan, Isofluran, Sevofluran und Desfluran zu den Messzeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten

a =  $p < 0,01$  vs 0 min, b =  $p < 0,01$  vs 60 min, c =  $p < 0,01$  vs 120 min

	Zeit in Minuten	Hal	Iso	Sev	Des
<b>pH</b>	0	<b>7,31 <math>\pm</math> 0,09</b> c	<b>7,38 <math>\pm</math> 0,04</b> b,c	<b>7,34 <math>\pm</math> 0,08</b> c	<b>7,38 <math>\pm</math> 0,08</b> c
	60	<b>7,27 <math>\pm</math> 0,09</b>	<b>7,28 <math>\pm</math> 0,05</b> a	<b>7,30 <math>\pm</math> 0,07</b>	<b>7,31 <math>\pm</math> 0,08</b>
	120	<b>7,22 <math>\pm</math> 0,09</b> a	<b>7,20 <math>\pm</math> 0,08</b> a	<b>7,26 <math>\pm</math> 0,09</b> a	<b>7,24 <math>\pm</math> 0,07</b> a
<b><math>P_aO_2</math> (mmHg)</b>	0	<b>103 <math>\pm</math> 19</b> c	<b>116 <math>\pm</math> 15</b> c	<b>105 <math>\pm</math> 15</b> c	<b>105 <math>\pm</math> 18</b> c
	60	<b>92 <math>\pm</math> 13</b>	<b>103 <math>\pm</math> 14</b>	<b>88 <math>\pm</math> 17</b>	<b>92 <math>\pm</math> 15</b>
	120	<b>83 <math>\pm</math> 15</b> a	<b>85 <math>\pm</math> 13</b> a	<b>84 <math>\pm</math> 16</b> a	<b>86 <math>\pm</math> 15</b> a
<b><math>P_aCO_2</math> (mmHg)</b>	0	<b>36 <math>\pm</math> 5</b>	<b>33 <math>\pm</math> 4</b>	<b>34 <math>\pm</math> 5</b>	<b>34 <math>\pm</math> 5</b>
	60	<b>40 <math>\pm</math> 6</b>	<b>36 <math>\pm</math> 5</b>	<b>36 <math>\pm</math> 5</b>	<b>32 <math>\pm</math> 9</b>
	120	<b>39 <math>\pm</math> 7</b>	<b>40 <math>\pm</math> 7</b>	<b>36 <math>\pm</math> 7</b>	<b>35 <math>\pm</math> 7</b>
<b><math>S_aO_2</math> (%)</b>	0	<b>96 <math>\pm</math> 3</b>	<b>99 <math>\pm</math> 1</b>	<b>98 <math>\pm</math> 1</b>	<b>98 <math>\pm</math></b>
	60	<b>93 <math>\pm</math> 8</b>	<b>98 <math>\pm</math> 2</b>	<b>97 <math>\pm</math> 4</b>	<b>97 <math>\pm</math> 2</b>
	120	<b>94 <math>\pm</math> 3</b>	<b>95 <math>\pm</math> 3</b>	<b>96 <math>\pm</math> 4</b>	<b>96 <math>\pm</math> 2</b>
<b><math>HCO_3^-</math> (mmol/l)</b>	0	<b>17 <math>\pm</math> 1</b> c	<b>18 <math>\pm</math> 1</b> c	<b>19 <math>\pm</math> 2</b> c	<b>17 <math>\pm</math> 2</b> c
	60	<b>16 <math>\pm</math> 2</b>	<b>16 <math>\pm</math> 2</b>	<b>17 <math>\pm</math> 3</b>	<b>16 <math>\pm</math> 1</b>
	120	<b>14 <math>\pm</math> 2</b> a	<b>15 <math>\pm</math> 2</b> a	<b>14 <math>\pm</math> 2</b> a	<b>14 <math>\pm</math> 1</b> a
<b>BE (mmol/l)</b>	0	<b>-6 <math>\pm</math> 2</b> c	<b>-5 <math>\pm</math> 2</b> b, c	<b>-6 <math>\pm</math> 3</b> c	<b>-6 <math>\pm</math> 2</b> b, c
	60	<b>-8 <math>\pm</math> 1</b>	<b>-9 <math>\pm</math> 2</b> a, c	<b>-7 <math>\pm</math> 4</b>	<b>-9 <math>\pm</math> 2</b> a, c
	120	<b>-11 <math>\pm</math> 2</b> a	<b>-12 <math>\pm</math> 3</b> a, b	<b>-9 <math>\pm</math> 3</b> a	<b>-12 <math>\pm</math> 2</b> a, b

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methodik

#### 5.1.1 Das Versuchsmodell

Tierexperimentell gewonnene Ergebnisse sind bekanntermaßen nur bedingt auf den Menschen übertragbar. Sie sind jedoch zur Untersuchung komplexer Krankheitsbilder wie dem der Sepsis notwendig, da hier die Darstellung der Leukozyten-Endothel-Interaktionen nicht durch eine mathematisch-physiologische Simulation oder den Einsatz isolierter Zellkulturen in ihrer Gesamtheit erfaßt werden können (Ibbotson GC et al. 2001).

Ferner sind pathophysiologische Studien, die ein invasives Monitoring oder die Anwendung hochinvasiver Untersuchungsverfahren wie der hier beschriebenen Intravitalmikroskopie am Intestinaltrakt erfordern, aus ethischen Gründen nicht am Menschen durchführbar.

Die Sepsis ist ein sehr umfassendes klinisches Krankheitsbild, das neben der auslösenden Ursache von Begleiterkrankungen und weiteren Faktoren, wie Patientenalter und -kondition sowie der durchgeführten Intensivtherapie, beeinflusst wird. Diese Störvariablen sollen bei der Verwendung eines standardisierten tierexperimentellen Modells ausgeschlossen werden (Fink MP und Heard SO 1990).

Die im vorliegenden Modell angewandte Methode ermöglichte die Untersuchung der Auswirkungen der induzierten Sepsis auf ein einzelnes Organsystem (Bone RC et al. 1992). Zudem war die Intravitalmikroskopie in einer besonderen Weise geeignet, da so der Schritt von in vitro- zu in vivo-Bedingungen vollzogen wird (Menger MD und Lehr HA 1993).

Um mit einem standardisierbaren Modell zu arbeiten wurden folgende kontrollierbare Bedingungen geschaffen: Neben der Auswahl der entsprechenden Einzeltiere war vor allem die gleiche Handhabung vor der ersten Messung von großer Bedeutung. So erfolgte die Durchführung der Anästhesie und der darauffolgenden Präparation immer mit der gleichen Vorgehensweise und im gleichen zeitlichen Ablauf von maximal einer Stunde bis zur Darmauslagerung, auf die dann eine 40-minütige Stabilisierungsphase folgte.

Um eine Normoventilation über die gesamte Versuchszeit zu gewährleisten, wurde zu jedem Messzeitpunkt eine Blutgasanalyse durchgeführt. Der Säure-Basen-Haushalt hier dargestellt am signifikant sinkenden pH und BE, kann als respiratorisch kompensierte metabolische Azidose charakterisiert werden und entspricht dem Säure-Basen-Haushalt septischer

Patienten. Die Entstehung wird mit der erhöhten Laktatproduktion aufgrund der anaeroben Stoffwechsellage bei mangelnder Sauerstoffversorgung des Gewebes angesehen (Mecher C et al. 1991). Die ebenfalls endotoxininduzierte Hemmung der Pyruvatdehydrogenase spielte dabei auch eine Rolle (Curtis SE und Cain SM 1992). Der sich entwickelnden Azidose konnte auch durch Hyperventilation im Verlauf des Versuches nicht nivellierend begegnet werden. Wärmeerhaltende Massnahmen wie Anwärmen der Infusionslösung, Wärmematte und Infrarotlampe wurden in Kombination mit der kontinuierlich abgeleiteten Körperinnentemperatur angewendet.

Die auch nach Färbung voll erhaltenen normalen rheologischen Eigenschaften der Erythrozyten waren Grundvoraussetzung für ihre Verwendung in diesem Modell (Sarelius IH und Duling BR 1982). Die Technik, FITC-konjugiertes Serumprotein zu verwenden, um den Proteinverlust durch die Gefäßwand nachzuverfolgen, ist ein ebenso etabliertes Modell (Laux V und Seiffge D 1995; Mian R und Marshall JM 1993; Miller FN et al. 1982).

Da in dieser Studie Unterschiede zwischen den einzelnen volatilen Anästhetika untersucht werden sollten, fanden sich keine geeigneten Voraussetzungen für eine Kontrollgruppe.

Um den Einfluss von LPS von dem des jeweiligen Anästhetikums abzugrenzen, wäre zu jeder der untersuchten Anästhetika-Gruppen mit LPS eine Kontrollgruppe ohne LPS-Gabe notwendig gewesen. Dies hätte die Gruppenszahl auf acht erhöht und eine entsprechend hohe Fallzahl pro Gruppe erfordert. Der LPS-Effekt des hier verwendeten Modells äußerte sich in Voruntersuchungen von Schmidt et al. unter Verwendung intravenöser Anästhetika in einem verringertem MAD, in geringerer  $V_{Ery}$  und Wandscherrate sowie höheren Stickerzahlen gegenüber einer Kontrollgruppe ohne LPS (Schmidt H et al. 1997a; Schmidt H et al. 1997b).

Eine Kontrollgruppe ohne jeglichen Einfluss eines Anästhetikums zu bilden ließ sich aus ethischen Gründen nicht vertreten, da den untersuchten Tieren die gesamte Instrumentation und Darmauslagerung ohne Narkose nicht zugemutet werden konnte. In zahlreichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass alle gängigen Anästhetika die Makro- und Mikrozirkulation und somit auch Parameter wie Leukozytenadhärenz und Plasmaextravasation beeinflussen (Akata T et al. 2001; Bauer C et al. 1995; Grundmann U et al. 1997; Hikasa Y et al. 1997; Miller LS et al. 1996; Schaefer CF et al. 1987; Van der Linden P et al. 1990). Ketamin kann zum Beispiel die Adhärenz von Leukozyten vermindern (Schmidt H et al. 1995). Es gibt daher auch kein Referenzanästhetikum, das die Makro- und Mikrozirkulation nicht beeinflusst und somit für eine Kontrollgruppe in Frage gekommen wäre.

Um die im Mesenterium gewonnenen Ergebnisse auf die Situation im Darm selbst übertragen zu können, ist das gleichartige Verhalten der Leukozyten-Endothel-Interaktion in beiden Geweben Voraussetzung. Kurtel et al. fanden in der Mukosa einen Myeloperoxidasespiegel nach Ischämie und Reperfusion, der dem im Mesenterium entsprach (Kurtel H et al. 1992). Hieraus kann auf eine gleichsinnige und gleichhohe Akkumulation von Leukozyten in beiden Geweben geschlossen werden. Boyd hat in seinen intravitalmikroskopischen Studien nachgewiesen, dass die Anzahl von adhärenenten Leukozyten nach Ischämie und Reperfusion im Mesenterium derjenigen in der Serosa des Darmes entspricht und die Zunahme der Adhärenz den gleichen Zeitverlauf in beiden Geweben aufweist (Boyd AJ et al. 1994). Es handelt sich also um ein identisches Muster der Neutrophilrekrutierung und -akkumulation im Mesenterium und in der Mukosa nach Ischämie und Reperfusion.

Die Untersuchung pathophysiologischer Veränderungen bei Endotoxinämie im Tiermodell ist von mehreren Faktoren abhängig. Die wichtigsten werden im Folgenden diskutiert.

#### 5.1.1.1 Wahl der Versuchstiere

Entscheidend für die Auswahl der Versuchstiere war für uns, neben der Frage nach Verfügbarkeit und Kosten, die Durchführbarkeit der Untersuchungsmethode bei der jeweiligen Spezies.

Ratten sind in Modellen zur Untersuchung von Veränderungen der Leukozyten-Endothel-Interaktion in postkapillären Mesenterialvenolen bei Endotoxinämie etabliert. Aufgrund der akzeptablen Größe des Mesenteriums, der geringen Peristaltik und der einfachen Zugängigkeit unter minimaler Traumatisierung haben sie sich als ideal für die Durchführung intravitalmikroskopischer Untersuchungen zur Beurteilung der Mikrozirkulation in postkapillären Venolen erwiesen (Hayes JK et al. 2004; Iba T et al. 2002; Plachinta RV et al. 2003; Schmidt H et al. 1995; Schmidt H et al. 1996a; Schmidt H et al. 1997a; Schmidt H et al. 1997b; Schmidt W et al. 1998; Walther A et al. 2000; Walther A et al. 2001).

Zudem ist aus verschiedenen Abhandlungen abzuleiten, dass die Auswirkungen der volatilen Anästhetika auf die Hämodynamik bei der Spezies Ratte vergleichbar sind mit den Auswirkungen beim Menschen (Ciofolo MJ und Reiz S 1999; Gueugniaud PY et al. 1997). Die verwendeten Ratten kamen alle aus demselben Inzuchtstamm und waren den gleichen Haltungsbedingungen ausgesetzt. Sie wurden in etwa dem gleichen Alter, mit vergleichbarem Lebendgewicht in die Versuchsreihe aufgenommen.

### 5.1.1.2 Sepsisinduktion

Die differenzierteren Modelle der Sepsisinduktion wie die zäkale Ligatur und Punktion, die direkte Bakterieninjektion oder die Injektion von isoliertem Endotoxin entweder intraperitoneal oder intravenös, stellen heute die gängigen Methoden dar. Auch wenn sich keine davon als überlegen erwiesen hat (Parker SJ und Watkins PE 2001; Scheiermann P et al. 2009), ist die Injektion oder Applikation von Endotoxin in experimentellen Ansätzen ein Standardmodell zur Untersuchung der molekularen Mechanismen der Sepsis geworden (Fink MP und Heard SO 1990; Rensing H 2003).

Endotoxin besitzt die Fähigkeit bei Mensch und Tier Entzündungsreaktionen auszulösen, die zu Sepsis und septischem Schock führen (Danner RL et al. 1991; Guidet B et al. 1994; McCartney AC et al. 1983; Parrillo JE 1993). In Übereinstimmung mit klinischen Erkenntnissen an septischen Patienten wurde in einer Anzahl von Tierversuchen beschrieben, dass eine Endotoxininjektion zur Aktivierung von Leukozyten führt, die an das Endothel binden und somit an der später folgenden Gewebsschädigung beteiligt sind (Lehr HA et al. 2000).

In der vorliegenden Studie konzentrierten wir uns auf die Veränderungen in der frühen Sepsisphase mit normotensivem Kreislaufzustand, um den möglichen Einfluss einer Hypotension auf die Mikrozirkulation im Mesenterium auszuschließen. Dafür wurde die Dosierung von 2 mg/kg KG/h gewählt (Schmidt H et al. 1996b).

Aus Toleranzversuchen mit Endotoxin beim Menschen und genetisch-endotoxinresistenten Mäusen wurde geschlossen (Imai T et al. 1998), dass Endotoxin zwar keine notwendige, aber doch ausreichende Determinante für die Sepsisentwicklung darstellt (Bhagat K et al. 1996; Danner RL et al. 1991; Redl H et al. 1993b).

Aufgrund der durch direkte Endotoxininduktion schneller eintretenden und nachhaltiger anhaltenden Auswirkungen wurde für die hier vorgestellte Studie dieses Modell der Sepsisinduktion gewählt. Außerdem bietet die gewählte Vorgehensweise gegenüber den anderen Modellen den Vorteil, dass sie besser zu standardisieren und zu reproduzieren ist.

### 5.1.1.3 Volumensubstitution

Während der Sepsis kommt es zu einem Anstieg der Gefäßpermeabilität und zur Extravasation von Plasma, was zu einer Erhöhung des Hämatokrits, einer Verminderung des

Plasmavolumens, einer Tachykardie und einer konsekutiven Verminderung des Herzzeitvolumen führt (Kellum JA et al. 1997; Mizock BA und Falk JL 1992).

Bei Ratten konnte durch einen am Hämatokrit-Wert orientierten Flüssigkeitsersatz die Herzzeitvolumenabsenkung und der Abfall des Gewebe-Energiegehaltes verhindert und damit die Überlebenszeit verlängert werden. Diese Veränderungen wurden mit der kontinuierlichen Infusion von 3 bis 9 ml 0,9%iger NaCl/kg KG/h erreicht (Kellum JA et al. 1997; Mizock BA und Falk JL 1992; Schmidt H et al. 1996c).

Ebenso konnten Biber et al. den laparatomieabhängigen Volumenverlust mit 3,5 ml 0,9%iger NaCl /kg KG/h -Lösung ausgleichen (Biber B et al. 1987).

In der vorliegenden Arbeit wurde das intravasale Volumen durch eine adäquate Flüssigkeitssubstitution konstant gehalten. Die dafür notwendige Infusionsmenge an physiologischer Kochsalzlösung wurde für jedes einzelne Tier unter Berücksichtigung der Medikamentengabe und der Bolus-Injektionen für die HZV-Messung auf 10 ml/kg KG/h berechnet und entsprechend infundiert. Somit erhielten alle Tiere in der Gesamtbilanzierung die gleiche Flüssigkeitsmenge.

#### 5.1.1.4 Einfluss der chirurgischen Eingriffe

Chirurgische Eingriffe und Manipulationen führen zu Entzündungsreaktionen mit Gewebsödem und zur direkten Beeinflussung der Reaktivität der Mikrogefäße. Bundit und Wissig zeigten eindeutig, dass allein die Exposition eines Muskels durch Anheben der darüber liegenden Haut zu einer Freisetzung von Histamin und Serotonin im Muskel führt, wodurch eine gesteigerte Gefäßpermeabilität vermittelt wird und sich Gewebsödeme entwickeln (Bundit V und Wissig SL 1986). Nach Fiebig et al. steigt die mittlere Leukozytenkonzentration in Mesenterialvenolen bereits nach fünf Minuten um das siebenfache nach Auslagerung des Mesenteriums an (Fiebig E et al. 1991).

Um diese modellinhärente Komplikation der Intravitalmikroskopie zu umgehen, wurde bei der Darmauslagerung und Befestigung mit größter Behutsamkeit gearbeitet. Zusätzlich wurde eine Stabilisierungsperiode von 40 Minuten nach Auslagerung des Mesenteriums eingehalten, die sich aus den Ergebnissen von Gaboury und Kollegen ableitet. Sie konnten 1993 aufzeigen, dass in den ersten 30 Minuten nach Darmauslagerung eine spontane Adhärenzzunahme stattfindet, die erst nach weiteren 30 Minuten wieder nachlässt (Gaboury J et al. 1993).

### 5.1.2 Die Intravitalmikroskopie und die Messmethodik

Das verwendete Modell zur Untersuchung der Leukozyten-Endothel-Interaktionen im Mesenterium ist etabliert und in der Literatur mehrfach beschrieben (Kubes P et al. 1990; Kurose I et al. 1993; Schmidt H et al. 1996a; Schmidt H et al. 1997a; Schmidt H et al. 1997b; Schmidt W et al. 1998; Suzuki M et al. 1991).

Vorteilhaft ist, dass die Leukozyten nicht gefärbt werden müssen und daher keiner Sensibilisierung oder Aktivierung unterzogen werden.

Um eine negative Beeinflussung des ausgelagerten Gewebes möglichst zu vermeiden wurde die Mikroskopierzeit bei jedem Messzeitpunkt auf maximal zwei Minuten begrenzt. Die zur Sichtbarmachung der gefärbten Erythrozyten und des FITC-Albumin benötigten Filter wurden in dieser Zeit nur für wenige Sekunden in den Strahlengang gebracht.

Eine weitere mögliche Fehlerquelle stellte die Veränderung der Körpertemperatur oder die Temperatur des ausgelagerten Gewebes dar. Die kontinuierliche Temperaturüberwachung und die o.g. Möglichkeiten diese zu beeinflussen, verhinderten dies. Ebenso mußte das ausgelagerte Gewebe vor Trockenheit bewahrt werden. Dafür wurde es mit körperwarmer Ringerlösung betropft.

Um eine respiratorisch ausgelöste Vasodilatation zu erkennen wurde der CO<sub>2</sub>-Gehalt mittels Blutgasanalyse zu jedem Messzeitpunkt überwacht.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Einfluss der volatilen Anästhetika auf die pathophysiologischen Veränderungen während Endotoxinämie

Schon 1976 haben Duncan und Kollegen negative Auswirkungen von Halothan auf die Mortalitätsrate der schweren Sepsis beobachtet (Duncan PG et al. 1976).

Da die üblichen Anästhetika eine starke dosisabhängige Wirkung auf das kardiovaskuläre System besitzen (Ciofolo MJ und Reiz S 1999; Conzen PF et al. 1992; Pagel PS et al. 1991; Wojtczak JA 2000) sind sie an sich nicht geeignet, dieses unter septischen Bedingungen zu stabilisieren. Wäre der Bedarf an volatilen Anästhetika in der Sepsis gegenüber nicht-septischen Bedingungen gesteigert, wäre ihr Einsatz kontraproduktiv. Allerdings konnten Gill et al. feststellen, dass unter septischen Bedingungen der MAC-Bedarf für Isofluran verringert ist (Gill R et al. 1995). Allaouchiche und Kollegen konnten in ihren Studien zur Auswirkung der Sepsis auf den MAC von Sevofluran und Desfluran ebenfalls belegen, dass dieser sinkt (Allaouchiche B et al. 2001a; Allaouchiche B et al. 2001b).

Untersuchungen zum Einfluss von volatilen Anästhetika auf die Mikrozirkulation des Darmes unter Sepsis-Bedingungen existieren bislang nur in Form zweier Vorbehandlungs-Studien, in denen mittels 30minütiger Isofluraninhalation vor LPS-Induktion die endotoxinvermittelte Zytokinfreisetzung und das Absinken des MAD verringert werden konnte. Zudem rollten die Leukozyten schneller und die endothelabhängige Vasodilatation wurde verhindert (Hayes JK et al. 2004; Plachinta RV et al. 2003).

Weitere Untersuchungen über den Einfluss volatiler Anästhetika befassen sich mit:

1. einzelnen Organsystemen bei Ischämie u. Reperfusion (wie z.B. Herz, Leber oder das Endothel) (Hartman JC et al. 1995; Heindl B und Becker BF 2000; Heindl B et al. 1999; Kashimoto S 1988; Kon S et al. 1997; Kotake Y 2006; Kowalski C et al. 1997; Liu R et al. 2000; Lucchinetti E et al. 2007b; Oguchi T et al. 1995; Preckel B et al. 1998; Varadarajan SG et al. 2002)
2. anderen Organsystemen als den Darm während Sepsis (wie z.B. Herz, Lunge, Niere, Leber und Skelettmuskel) (Fretschner R et al. 1993; Fuentes JM et al. 2005; Kotake Y 2006; Lee HT et al. 2007; Piper RD et al. 1996).

In Untersuchungen an Ischämie und Reperfusionenmodellen konnte unter volatiler Anästhetikgabe sowohl ein erhöhter Schutz hinsichtlich kardialer Arrhythmien oder Dysfunktionen (Hartman JC et al. 1995; Kashimoto S 1988) als auch eine Verminderung gefäßschädigender Mediatoren, wie TNF oder Thromboxan, festgestellt werden (Heindl B und Becker BF 2000; Heindl B et al. 1999; Liu R et al. 2000; Varadarajan SG et al. 2002). Der kardioprotektive Effekt des Sevoflurans wird nach Varadarajan et al. durch eine verminderte  $Ca^{2+}$ -Aktivierung vermittelt (Varadarajan SG et al. 2002). In den Beobachtungen von Preckel et al. führten Sevofluran und Desfluran postischämisch zu deutlich kleineren Myokardinfarkten, während Isofluran keine Auswirkungen darauf hatte (Preckel B et al. 1998). Dies deckt sich auch mit den Erkenntnissen von Heindl und Becker. In deren Ischämie/Reperfusion-Modell am isolierten Meerschweinchenherzen verminderte Sevofluran die gesteigerte Arachidonsäurefreisetzung, wohingegen Isofluran dies nicht vermochte (Heindl B und Becker BF 2000). Hu und Kollegen belegten eine Verringerung der neutrophil-induzierten kontraktilen Dysfunktion des Myokards durch Präkonditionierung der Granulozyten mit den volatilen Anästhetika Isofluran und Sevofluran (Hu G et al. 2005). Ebenso konnten durch Isofluran und Sevofluran reduzierte Leukozytenadhäsionen und Plättchenaggregationen festgestellt werden (Heindl B et al. 1999; Hirakata H et al. 1997; Kowalski C et al. 1997) und Sevofluran konnte in subanästhetischen Dosen einen Endothelschutz durch geringere Expression von Adhäsionsmolekülen vermitteln (Lucchinetti E et al. 2007b). Mehrere Tiermodelle haben auch gezeigt, dass die hier untersuchten volatilen Anästhetika im Vergleich zu Injektionsanästhetika einen größeren protektiven Effekt auf Ischämie/Reperfusionsschäden der Leberzellen haben, allerdings konnte dieser während Sepsis nicht festgestellt werden (Kotake Y 2006). Kon et al. vermuteten, dass unter Isofluran eine kupferzellvermittelte Unterdrückung des extrazellulären Superoxidvorkommens Grund für den Leberschutz bei Reperfusion ist (Kon S et al. 1997).

### **5.2.2 Makrohämodynamik**

Aufgrund der relativen Stabilität der Makrohämodynamik in diesem Tiermodell bestand während der Narkose mit den untersuchten volatilen Anästhetika eine vergleichbare normodynamische Kreislaufsituation. Auswirkungen auf die Mikrohämodynamik waren aber schon zu diesem Zeitpunkt vorhanden.

Isofluran, Sevofluran und Desfluran sind im Hinblick auf die allgemeine Hämodynamik und die Organperfusion im Wesentlichen vergleichbar, sie beeinträchtigen diese kaum (Bennett RC et al. 2008; Motsch J et al. 1998; O'Riordan J et al. 1997; Wiesner G et al. 1994; Wilhelm W et al. 1996). Auch Ogushi und Kollegen fanden 1995 vergleichbare hämodynamische Effekte des Isofluran und Sevofluran im Ischämie/Reperfusion-Modell, wohingegen Halothan einen dämpfenden Einfluss besaß. Unter ihm war die negativ inotrope Wirkung am stärksten ausgeprägt (Oguchi T et al. 1995).

#### 5.2.2.1 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz war in der vorliegenden Untersuchung bei allen verwendeten Anästhetika gleich hoch. Auch nach Endotoxininduktion veränderte sich diese nicht signifikant, d.h. Halothan, Isofluran, Sevofluran und Desfluran beeinflussten die HF unter septischen Bedingungen nicht.

Insgesamt konnten in den letzten Jahren in den durchgeführten Studien unterschiedliche Auswirkungen der volatilen Anästhetika auf die HF während Sepsis festgestellt werden.

In den Untersuchungen zu Sevofluran von Allaouchiche und Kollegen stieg die Herzfrequenz geringfügig an; allerdings kam in diesem Schweinmodell neben der herkömmlichen Volumensubstitution auch Epinephrin zum Einsatz (Allaouchiche B et al. 2001b). Sie berichteten, ebenfalls unter Verwendung von Epinephrin, auch über eine Steigerung der HF unter Desflurannarkose, die von Merin und Kollegen beim Hund unter Desfluran und Isofluran ebenfalls beschrieben wurde (Allaouchiche B et al. 2001a; Merin RG et al. 1991). Schumacher et al. fanden eine gesteigerte Herzfrequenz unter Halothan und Isofluran (Schumacher J et al. 2001). Van der Linden et al. konnten vor allem unter Halothan ein geringfügiges Absinken der Herzfrequenz während Narkose an septischen Hunden feststellen, während Isofluran keinen Einfluss nahm (Van der Linden P et al. 1990).

Ohne Vorliegen einer Sepsis war die negativ inotrope Wirkung des Halothans im Vergleich zu Isofluran und Sevofluran deutlich stärker ausgeprägt (Oguchi T et al. 1995).

Ciofalo und Reiz beschrieben ohne Sepsis eine dosisabhängige Verminderung der Herzleistung durch die auch hier verwendeten volatilen Anästhetika. Ab einem MAC von 1,5 kam es durch Desfluran und in geringerem Maße auch durch Isofluran zur zentral erregten Sympathikusstimulation (Ciofalo MJ und Reiz S 1999). Ebenfalls ohne Vorliegen einer Sepsis konnte ein Anstieg der HF unter Sevofluran durch einige Studien nachgewiesen

werden, einige wiesen eine unveränderte HF auf. (Rolf N und Van Aken H 1996, 1998; Scholz J und Tonner PH 1997b).

Diese widersprüchlichen Ergebnisse in Verbindung mit der in dieser Studie festgestellten geringen Auswirkung auf die Herzfrequenz lassen vermuten, dass vor allem andere Faktoren als die Anästhetikawirkung die Veränderungen in der Herzfrequenz bedingen.

#### 5.2.2.2 Mittlerer arterieller Druck

Die grundsätzlich dosisabhängige Verringerung des MAD durch alle vier untersuchten Anästhetika ist ausreichend belegt (Frink EJ, Jr. et al. 1992; Kazama T und Ikeda K 1988; Merin RG et al. 1991). Daher wurde in der vorliegenden Studie bei allen Anästhetika eine konstante MAC von 1,5 angewandt.

Von Halothan und Isofluran wurde schon sepsisunabhängig der MAD deutlich beeinträchtigt. Gleiche Beobachtungen machten auch Manohar und Kollegen (Manohar M und Parks CM 1984). Beide Anästhetika wirken negativ inotrop, gleichzeitig kommt es zu einem Abfall des peripheren Gefäßwiderstandes. Durch einen unter Isofluran häufig auftretenden Herzfrequenzanstieg können Herzminutenvolumen und arterieller Druck besser aufrechterhalten werden als unter Halothan (Pagel PS, 2000). Dieser kompensatorische Herzfrequenzanstieg erfolgte in der vorliegenden Untersuchung nicht. Da Ratten im Gegensatz zu Menschen bereits in Ruhe eine 5 bis 6-fach höhere Herzfrequenz besitzen, ist ein zusätzlicher kompensatorischer Herzfrequenzanstieg im Rattenmodell vielleicht nicht unbedingt zu erwarten.

In weiteren Untersuchungen wiesen Ratten mit Spontanatmung auch im Vergleich zwischen Halothan und Sevofluran einen stabileren Blutdruck unter Sevofluran auf (Crawford MW et al. 1992; Morisaki H et al. 1997). Nach einer Erhöhung des MAC von 1 auf 2 sank der MAD bei beiden. Durch die darauf folgende Verringerung auf 1 MAC stabilisierte er sich aber nur unter Sevofluran (Morisaki H et al. 1997).

In der vorliegenden Studie sanken die stabileren Anfangswerte der Sevofluran- und Desflurangruppe nur geringfügig im Verlauf der Endotoxinwirkung, während der MAD unter Halothan und Isofluran deutlich abnahm (Schumacher J et al. 2001). Auch Gill und van der Linden bestätigten in ihren Sepsisstudien den am stärksten ausgeprägten Einfluss des Halothans auf den MAD. Sie führten dies auf eine veränderte Funktion des linken Ventrikels zurück (Gill R et al. 1995; Van der Linden P et al. 1990). Allerdings blieb der MAD unter Isofluran in ihren und in Studien mit Isofluran-Vorbehandlung unverändert (Hayes JK et al.

2004; Plachinta RV et al. 2003). Diese stabilisierenden Auswirkungen von Isofluran auf die Hämodynamik während Sepsis, werden von den Autoren auf eine verringerte LPS-Wirkung zurückgeführt. Die Ergebnisse in der vorliegenden Studie können diese Theorie in Bezug auf den MAD unter Isofluran nicht bestätigen.

Die hier vorgefundenen stabilen Werte des MAD im Sepsismodell während Sevofluran- und Desflurannarkose wurden auch von Allaouchiche und Kollegen beobachtet (Allaouchiche B et al. 2001b). Merin et al fanden auch während Sepsis eine dosisabhängige Beeinträchtigung des MAD durch Isofluran und Desfluran (Merin RG et al. 1991). Da in der vorliegende Studie konstant 1,5 MAC des jeweiligen Anästhetikums zum Einsatz kam, ist die Reduktion des MAD nach Induktion der Sepsis in der Halothan- und Isoflurangruppe am ehesten der Endotoxinwirkung zuzuschreiben.

### 5.2.2.3 Herzzeitvolumen

Unter Halothan wurde von Anfang an ein signifikant geringeres HZV im Vergleich zu Isofluran, Sevofluran und Desfluran gemessen. Dies ist am ehesten auf dessen ausgeprägte negativ inotrope Wirkung zurückzuführen (Brower RW und Merin RG 1979; Merin RG et al. 1976; Oguchi T et al. 1995; Viana Jda S et al. 1994). Van der Linden und Kollegen konnten auch bei septischen Hunden eine Reduktion des HZV durch Halothan messen, wohingegen es durch die Verwendung von Isofluran anstieg. Auch sie führten dies auf die ausgeprägte negativ inotrope Wirkung des Halothans zurück (Van der Linden P et al. 1990).

Wie erwartet hatte die hier verwendete Endotoxindosis keine zusätzliche Auswirkung auf das HZV, sodass der Ausgangszustand im Verlauf des Versuches unverändert blieb. Auch in den Studien von Allaouchiche et al. kam es während Sepsis beim Schwein zu keiner Beeinflussung des Herzzeitvolumens unter Sevofluran, wohingegen es unter Desfluran signifikant anstieg (Allaouchiche B et al. 2001a; Allaouchiche B et al. 2001b). Jedoch kam bei diesen Untersuchungen, wie schon erwähnt, das Sympathomimetikum Epinephrin zum Einsatz.

Mehrere Untersuchungen belegen, dass die Reduktion des Herzzeitvolumens bei allen hier untersuchten volatilen Anästhetika dosisabhängig ist (Conzen PF et al. 1992; Merin RG et al. 1991; Rolf N und Van Aken H 1996, 1998; Scholz J und Tonner PH 1997b). Daher bedingen auch die in der vorliegenden Studie verwendeten konstanten Anästhesiedosen das hier vorgefundene unveränderte Herzzeitvolumen im Verlauf der Endotoxinwirkung.

Ziel dieser Studie war es, die Veränderungen in der frühen Sepsisphase darzustellen. Zu diesem Zeitpunkt sind beim Patienten, wie auch in der vorliegenden Untersuchung, häufig noch keine makrohämodynamischen Veränderungen messbar. Lediglich Halothan und Isofluran bewirkten bereits vor Induktion der Sepsis einen niedrigeren MAD im Vergleich zu Sevofluran und Desfluran. Dessen Reduktion wurde durch die Endotoxinwirkung noch weiter verstärkt. Nur Halothan bewirkte ein deutlich geringeres Herzzeitvolumen, unabhängig von der Sepsisinduktion.

Die zu diesem Zeitpunkt stattfindenden wichtigen pathophysiologischen Veränderungen auf mikrohämodynamischer Ebene stellen bereits die Weichen für den späteren Verlauf und Schweregrad der sich entwickelnden Sepsis.

### 5.2.3 Mikrozirkulation

Im Tiermodell und beim Menschen wird die Splanchnikusperfusion während einer Narkose mit volatilen Anästhetika negativ beeinflusst. So fiel sie deutlich bei Halothannarkose ab (Schindler E und Hempelmann G 1996). Weniger stark war die Wirkung von Isofluran und Sevofluran, aber auch sie hatten einen verringernden Effekt (Conzen PF et al. 1992; Greenblatt EP et al. 1992; O'Riordan J et al. 1997; Rolf N und Van Aken H 1996, 1998; Schindler E und Hempelmann G 1998; Schindler E et al. 1996).

#### 5.2.3.1 Erythrozytengeschwindigkeit

In der vorliegenden Untersuchung verlangsamte sich der Blutfluss ( $V_{Ery}$ ) in den postkapillären Mesenterialvenolen während der Endotoxinwirkung in den beiden Gruppen Isofluran und Sevofluran. Auch ohne Vorliegen einer Sepsis hatten diese Anästhetika einen ähnlichen Effekt auf die Splanchnikusperfusion (Schindler E und Hempelmann G 1998).

In mehreren vorausgegangenen intravitalmikroskopischen Studien von Schmidt und Kollegen führte die kontinuierliche Infusion von Endotoxin unter Verwendung von Pentobarbital (Nembutal<sup>®</sup>) zu einer Verringerung des Blutflusses in postkapillären Venolen im Mesenterium der Ratte (Schmidt H et al. 1997a; Schmidt W et al. 1998). Da die Aufrechterhaltung von  $V_{Ery}$  in einer Mesenterialvenole ein Hinweis auf die Aufrechterhaltung der Splanchnikusperfusion ist, zeigen die hier vorliegenden Ergebnisse eine ausgeprägte

Störung der mesenterialen Perfusion in einer frühen Phase nach LPS-Applikation, die weder durch Isofluran noch durch Sevofluran verhindert werden konnte. Auch Hayes und Kollegen fanden in ihren Untersuchungen keine Abschwächung der LPS-Wirkung auf die  $V_{Ery}$  durch Isofluran (Hayes JK et al. 2004) und vermuteten, dass dafür die direkte Beeinträchtigung des mesenterialen Gefäßwiderstandes durch LPS verantwortlich war (Hayes JK et al. 2004; Navaratnam RL et al. 1990).

Halothan führte durch seine ausgeprägte Beeinträchtigung der Makrohämodynamik v.a. des HZV bereits vor Induktion der Sepsis zur verringerten  $V_{Ery}$ . Im weiteren Verlauf verschlechterte sich diese nicht weiter. Wie oben schon erwähnt konnten Morisaki und Kollegen die andauernde Verschlechterung der Makrohämodynamik durch Halothan bei ansteigendem MAC ohne Vorliegen einer Sepsis feststellen (Morisaki H et al. 1997). Die von ihnen allerdings in Arteriolen gemessene  $V_{Ery}$  ergab ebenfalls eine deutliche Reduktion durch den erhöhten MAC, die auch bei dessen Absenkung auf 1 weiterhin bestehen blieb. Sowohl der reduzierte Blutfluss in den Arteriolen als auch die von Morisaki et al. gemessenen zunehmenden Leukozyten-Endothel-Interaktionen in den nachgeschalteten Venolen lassen dort auf eine geringere Flussgeschwindigkeit schließen. In dem hier vorliegenden Modell wurde mit 1,5 MAC eine mittlere Halothankonzentration verwendet, bei der offensichtlich ähnlich starke makro- und mikrozirkulatorische Auswirkungen von Halothan zum Tragen kommen wie in der Untersuchung von Morisaki et al.. Dies würde den durch Halothan erzeugten langsamen initialen Blutfluss erklären. Dieser ist scheinbar soweit reduziert, dass ein zusätzlicher Effekt durch Endotoxin zu keiner weiteren messbaren Beeinträchtigung in diesem Modell führte.

Morisaki et al. konnten in der oben bereits zitierten Untersuchung eine unveränderte  $V_{Ery}$  durch Sevofluran feststellen. Dies entspricht den Ergebnissen der vorliegenden Studie und lässt darauf schließen, dass der hier gemessene sinkende Blutfluss unter Sevofluran ausschließlich endotoxinvermittelt ist.

Einzig in der Desfluran-Gruppe wurde die  $V_{Ery}$  weder vor noch während der Endotoxinapplikation reduziert. In einer anderen Studie unter nichtseptischen Bedingungen konnte die Splanchnikusperfusion ebenfalls unter Desfluran im Vergleich zu Isofluran besser aufrechterhalten werden. Bei gleichen makrohämodynamischen Effekten machten die Autoren lokale Mechanismen dafür verantwortlich (O'Riordan J et al. 1997). Welche protektiven Mechanismen speziell im Rahmen einer Endotoxinämie dabei die entscheidende Rolle spielen, ist bislang unklar. Es bleibt also lediglich die Beobachtung, dass sich durch

Desfluran die endotoxinbedingte intestinale Minderperfusion des Splanchnikusgebietes offensichtlich positiv beeinflussen läßt.

#### 5.2.3.2 Venolendurchmesser

Wie schon in anderen eigenen Studien ergaben sich auch in der vorliegenden Forschungsarbeit keine Veränderungen des  $D_V$  durch den LPS-Einfluss (Schmidt H et al. 1995; Schmidt H et al. 1996a; Schmidt H et al. 1997a; Schmidt H et al. 1997b; Schmidt W et al. 1998). Alle hier verwendeten Anästhetika wiesen zu jedem Messzeitpunkt einen ähnlichen  $D_V$  auf.

Weitere Studien bezüglich der Auswirkungen des Sepsisgeschehens unter Narkose von volatilen Anästhetika auf die  $D_V$  von Mesenterialvenolen existieren nicht.

2003 fanden Plachinta et al. nach Isofluran-Vorbehandlung zwei bis drei Stunden nach LPS-Gabe eine Veränderung der endothelabhängigen oder -unabhängigen Vasodilatation. Sie vermuteten, dass die Vorbehandlung mit Isofluran eine Veränderung im Endothel oder in der glatten Gefäßmuskelzelle bewirkt, die diese schützt und die Endothelschädigungen verhindert. Den genauen Mechanismus konnten sie dabei allerdings nicht erläutern (Plachinta RV et al. 2003).

#### 5.2.3.3 Wandscherrate

Die aufgrund der gemessenen Werte aus  $V_{Ery}$  und  $D_V$  errechnete Wandscherrate war unter Halothan schon initial aufgrund der deutlich geringeren Flussgeschwindigkeit im Vergleich zu den anderen drei Anästhetika kennzeichnend niedriger. Im Verlauf des Versuches blieb sie hier allerdings konstant, während sie unter Isofluran, Sevofluran und Desfluran durch die mittels Endotoxinwirkung beeinträchtigte  $V_{Ery}$  deutlich reduziert wurde.

Da es in dieser Studie zu keinen Veränderungen des Venolendurchmessers kam, wurden die unterschiedlichen Werte der Wandscherrate überwiegend aufgrund der sinkenden Erythrozytengeschwindigkeit erzielt. In den beiden Gruppen Isofluran und Sevofluran entwickelte sich dies nahezu analog zur sinkenden  $V_{Ery}$ . Wie schon erwähnt konnte in vorangegangenen Studien der Arbeitsgruppe um Schmidt eine endotoxinvermittelte Reduktion der  $V_{Ery}$  aufgezeigt werden. Aufgrund des ebenfalls unveränderten Venolendurchmessers sank auch dort die Wandscherrate und trug zu einem Anstieg adhärenter Leukozyten mit nachfolgend vermehrter Extravasation bei (Schmidt H et al.

1997a; Schmidt W et al. 1998). Isofluran und Sevofluran konnten diese LPS-Wirkung in der hier vorliegenden Untersuchung nicht verringern.

In der Desfluran-Gruppe ergab die Berechnung der Wandscherrate eine signifikante Verringerung nach 120 Minuten, obwohl die  $V_{Ery}$  selbst im Verlauf des Versuches nicht signifikant gesunken war.

Auch ohne Vorliegen einer Sepsis führte die Verringerung der Wandscherrate v.a. in Venolen zu vermehrten Leukozyten-Endothel-Interaktionen im Mesenterium von Ratten und Katzen. (Morisaki H et al. 1997; Perry MA und Granger DN 1991). Unter 1 MAC Sevofluran blieb sie jedoch doppelt so hoch im Vergleich zu Halothan und sank auch nach Erhöhung auf 2 MAC nicht. Die Autoren führten dies auf eine geringe Reversibilität der durch Halothan bedingten mikrovaskulären Veränderung und die insgesamt geringeren Auswirkungen von Sevofluran auf die Hämodynamik zurück (Morisaki H et al. 1997). Zusammen mit dem in der vorliegenden Studie gefundenen niedrigen Herzzeitvolumen könnte auch diese Wirkung des Halothans für die von Beginn an starke Beeinträchtigung der Wandscherrate mitverantwortlich sein.

## 5.2.4 Leukozyten-Endothel-Interaktionen

### 5.2.4.1 Roller

In der vorliegenden Studie fand sich in allen Gruppen initial eine große Anzahl rollender Leukozyten, die am ehesten präparationsbedingt so hoch war. Gaboury et al. konnten 1993 aufzeigen, dass in den ersten 30 Minuten nach Darmauslagerung eine spontane Adhärenzzunahme stattfindet, die erst nach weiteren 30 Minuten wieder abnimmt (Gaboury J et al. 1993). Daher bedingte die in der vorliegenden Untersuchung gewählte Kalibrierungszeit von 40 Minuten, dass zum Zeitpunkt der ersten Messung noch vermehrt rollende Leukozyten durch die Präparation vorhanden waren.

Die Leukozyten-Endothel-Interaktionen vor Endotoxinapplikation wurden aber nicht nur präparationsbedingt ausgelöst. Morisaki et al. konnten 1997 belegen, dass auch volatile Anästhetika wie Halothan und Sevofluran in hohen Konzentrationen (2 MAC) diese Interaktionen auslösen. Sie fanden unter Halothan eine geringe Blutflussrate und Wandscherrate mit vermehrter Expression von ICAM-1, während sie unter Sevofluran bei unverändertem Blutfluss reversibel eine vermehrte Expression von P-Selektinen nachweisen

konnten. Morisaki et al. vermuteten, dass die durch die volatilen Anästhetika vermittelte geringere NO-Produktion der Endothelzellen den oxidativen Stress in Arteriolen und Venolen erhöht, da NO die Sauerstoffradikale abfängt (Morisaki H et al. 1997). Auch Hayes et al. fanden dosisabhängig steigende Rollerzahlen nach Vorbehandlung mit Isofluran (Hayes JK et al. 2004). Auch sie vermuteten, dass dies v.a. ausgelöst wird durch die durch volatile Anästhetika zunehmend produzierten Superoxidanionen (Arriero MM et al. 2002; Park KW et al. 1995), die wiederum Leukozyten aktivieren, wodurch Leukozyten-Endothel-Interaktion initiiert werden.

Da in der vorliegenden Untersuchung der Mittelwert 1,5 MAC gewählt wurde, kann die Wirkung der volatilen Anästhetika einerseits und die präparationsbedingte Beeinträchtigung andererseits kumulierend zu der initial hohen Rolleranzahl geführt haben.

Im Verlauf der zwei Versuchsstunden verringerte sich die Zahl der Roller in allen Gruppen, obwohl Endotoxin Leukozyten-Endothel-Interaktionen initiiert. Da die sinkende Anzahl der rollenden Leukozyten nach LPS-Gabe im vorliegenden Modell mit einer steigenden Anzahl an Sticker einherging kann man davon ausgehen, dass die initial rollenden zu adhärenenten Leukozyten wurden. Die Tatsache, dass sich diese Umverteilung nicht linear in den gemessenen Werten widerspiegelte liegt darin begründet, dass die adhärenenten Leukozyten in das Gewebe auswandern. Dies wiederum wurde durch die ansteigende Extravasation verdeutlicht. Rollende Leukozyten, die keine feste Adhärenz mit dem Endothel ausbilden, können auch in den Blutstrom zurückgelangen.

Unter Halothan und Isofluran kam es nach den ersten 60 Minuten zu keiner weiteren Absenkung der Rolleranzahl. Sevofluran und Desfluran bewirkten jedoch eine weitere Abnahme der Roller innerhalb der letzten 60 Minuten. Da diese beiden Anästhetika keinen Unterschied zu Isofluran in der  $V_{Ery}$ , Wandscherrate oder Stickeranzahl aufwiesen, ist auch dies ein Hinweis darauf, dass die volatilen Anästhetika auf unterschiedliche Weise die Leukozyten-Endothel-Interaktionen beeinflussen.

Hayes et al. fanden in ihrer Vorbehandlungsstudie mit Isofluran keine Veränderung der Geschwindigkeit rollender Leukozyten und auch die LPS-vermittelte Verringerung der Rolleranzahl, die als Zeichen für vermehrt ausgebildete feste Adhärenzen der Leukozyten mit dem Endothel gewertet werden kann, wurde durch Isofluran nicht beeinträchtigt. Sie vermuteten, dass dies durch eine geringere Expression von Adhäsionsmolekülen erreicht wurde (Bardosi L et al. 1990; de Rossi LW et al. 2002; Hayes JK et al. 2004; Moberg J et al. 1999).

#### 5.2.4.2 Sticker

Während des gesamten Versuches, initial und im Verlauf, wies die Halothangruppe die meisten Sticker auf. Die große Anzahl der adhärenen Leukozyten schon vor Endotoxinapplikation entstand wahrscheinlich aufgrund des zu diesem Zeitpunkt schon deutlich langsameren Blutflusses und der daraus resultierenden geringen Wandscherrate.

Auch nach Ischämie/Reperfusion konnten Kubes und Kollegen in Mesenterialvenolen der Katze feststellen, dass die verringerte Wandscherrate die Leukozyten-Endothel-Interaktionen erhöhte (Kubes P et al. 1995). Allerdings sind Veränderungen in der Wandscherrate nur teilweise an der Ausbildung von Leukozyten-Endothel-Interaktionen beteiligt (Harris NR et al. 1994; Kurose I et al. 1993; Perry MA und Granger DN 1991; Schmidt W et al. 1998; Walther A et al. 2000).

Wie oben schon erwähnt entspricht dies den Ergebnissen von Morisaki et al., die ebenfalls aufgrund einer geringeren Flussrate unter Halothan vermehrt Leukozyten-Endothel-Interaktionen, gekoppelt mit einer erhöhten Expression des ICAM auf den Endothelzellen, feststellen konnten. ICAM ist für die Ausbildung der festen Adhärenz verantwortlich (Morisaki H et al. 1997). Diese dem Halothan eigene direkte Wirkung könnte ebenfalls die hohe Stickeranzahl schon zu Beginn des Versuches mitverursacht haben.

Insgesamt konnten alle verwendeten volatilen Anästhetika die endotoxinvermittelte steigende Anzahl der Sticker nicht verhindern. Es bestanden keine Unterschiede zwischen Isofluran, Sevofluran und Desfluran, auch nicht vor Endotoxinexposition.

Obwohl die Erythrozytengeschwindigkeit und die Wandscherrate durch die Endotoxinwirkung unter Halothan nicht weiter sanken, fanden trotzdem in dieser Gruppe im Vergleich zu Isofluran, Sevofluran und Desfluran deutlich mehr Leukozyten-Endothel-Interaktionen statt. Wie schon erwähnt verringern diese drei Anästhetika die LPS-induzierte TNF- und Zytokinfreisetzung und führen so möglicherweise zu reduzierter Aktivierung von Leukozyten und Endothel und einer geringeren Präsentation der Adhäsionsmoleküle auf ihnen (Boost KA et al. 2006; Fuentes JM et al. 2005; Hofstetter C et al. 2007). Dies könnte auch zu der hier vorgefundenen insgesamt geringeren Stickeranzahl während Endotoxinwirkung unter Isofluran, Sevofluran und Desfluran im Vergleich zu Halothan geführt haben.

Volatile Anästhetika bewirken aber auch direkt eine reduzierte Expression der Adhäsionsmoleküle auf Leukozyten und Endothelzellen (Biao Z et al. 2005; de Rossi LW et al. 2002; Lee HT et al. 2007; Lucchinetti E et al. 2007a; Mobert J et al. 1999).

Biao und Kollegen konnten z. B. eine verringerte Expression von ICAM-1 und E-Selektin auf der Oberfläche von TNF- $\alpha$  stimulierten humanen Endothelzellen der Nabelvene (HUVEC) während Desflurannarkose nachweisen. Sie vermuteten, dass Desfluran über eine reduzierte Aktivierung des E-Selektins die feste Adhärenz der Leukozyten an das Endothel verringert, denn das E-Selektin-vermittelte Entlangrollen an der Endothelwand geht der festen Adhärenz immer voraus. Die Frage, ob dieser Effekt in der hier vorliegenden Untersuchung eine Rolle gespielt hat und die geringere Anzahl an Stickern in der Desfluran-Gruppe gegenüber der Halothan-Gruppe mitbedingt hat, bleibt offen. Zur Abklärung dieses Mechanismus müsste zudem ein Versuchsablauf von mindestens vier bis sechs Stunden konzipiert werden, da die E-Selektinexpression erst in diesem zeitlichen Rahmen erfolgt.

Zudem drängt dich die Frage auf, ob die beiden übrigen Anästhetika Sevofluran und Isofluran mit vergleichbar niedrigen Stickerzahlen ähnliche Effekte wie das Desfluran aufweisen. Hier konnte in einer weiteren in vitro Studie nachgewiesen werden, daß Isofluran und Sevofluran dosisabhängig ebenfalls die Adhäsion von Granulozyten an HUVEC`s unterdrücken (Hisano T et al. 2005).

Möbert et al. fanden unter Verwendung von HUVEC`s im gesamten anästhesierelevanten Dosispektrum mit Isofluran und Sevofluran, aber auch mit Halothan, eine Verminderung der Leukozytenadhäsion. Sie führten dies ebenfalls auf geringere Adhäsionsmolekülexpression und sinkende Superoxidproduktion zurück. Aufgrund der Lipidlöslichkeit der volatilen Anästhetika könnten sich deren Moleküle in die Endothelzellmembran einfügen und so diese ausdehnen, wobei die Ionenkanäle instabil werden. Möglicherweise führten über diese Ausdehnungen die volatilen Anästhetika zu einer veränderten Zellmembrankonfiguration, wodurch die zunehmende CD11 b-Expression verhindert wurde (Möbert J et al. 1999). In einem solchen isolierten Modell kommen allerdings alle übrigen Einflussfaktoren eines Organismus, der durch eine Sepsis beeinträchtigt ist, nicht zum Tragen.

Betrachtet man die Entwicklung der Stickeranzahl im Versuchsverlauf, so fand in allen Gruppen eine deutliche Zunahme statt. Vergleicht man jedoch die absolute Stickeranzahl mit den ermittelten Stickerwerten aus anderen Studien mit dem selben Versuchsmodell, allerdings unter Verwendung von Injektionsanästhetika, so fällt auf, dass die volatilen Anästhetika initial und im Verlauf weniger Sticker aufwiesen (Schmidt H et al. 1997a; Schmidt W et al. 1998). Dies könnte Ausdruck der Dezimierung der endotoxinvermittelten Leukozyten-Endothel-Interaktionen durch die hier untersuchten Anästhetika Isofluran, Sevofluran und Desfluran sein.

Weitere Effekte der volatilen Anästhetika auf die Leukozyten könnten die Leukozyten-Endothel-Interaktionen nachhaltig beeinflussen. In diversen Untersuchungen veränderten volatile Anästhetika z.B. den Zellstoffwechsel von Leukozyten (Boost KA et al. 2006; Loop T et al. 2004; Sato W et al. 1995; Sato W et al. 1996) oder setzten deren Chemotaxis in die Entzündungsgebiete herab (de Rossi LW et al. 2002; Erskine R und James MF 1990; Moudgil GC et al. 1984).

Hohe Konzentrationen von Sevofluran führten zu einer Veränderung der Zusammensetzung der Leukozytenpopulation in anästhesierten Patienten. Unter gleichbleibender Gesamtsumme sank der Anteil neutrophiler Granulozyten und es waren vermehrt Lymphozyten vorhanden (Morisaki H et al. 1998). Da überwiegend Granulozyten an den Leukozyten-Endothel-Interaktionen beteiligt sind, sinkt mit deren Gesamtzahl folglich auch die Anzahl potentieller adhärenter Leukozyten.

### **5.2.5 Extravasation**

Vermehrt stattfindende Leukozyten-Endothel-Interaktionen gemessen an steigenden Stickerzahlen führen zur Endothelschädigung, woraus eine Permeabilitätssteigerung resultiert. Auch in der vorliegenden Studie entwickelte sich über die zwei Stunden LPS-Infusion in allen Gruppen eine signifikante Extravasation von fluoreszenzmarkiertem Albumin, mittels derer die Permeabilität der postkapillären Venolen visualisiert wurde. Auffallend war, dass es unter Isofluran- und Sevoflurananästhesie im Gegensatz zu Halothan zu einer geringeren Permeabilitätssteigerung kam, aber unter Desfluran ein solcher Unterschied nicht auftrat.

Die schon vor Sepsisinduktion vorhandenen negativen Auswirkungen des Halothans auf die Erythrozytengeschwindigkeit und damit einhergehende hohe Stickeranzahl sind nicht reversibel (Morisaki H et al. 1997). Dies könnte in dieser Gruppe während des gesamten Versuches sowohl die konstant höhere Stickeranzahl als auch die im Vergleich zu Isofluran und Sevofluran stärkste Plasmaextravasation begünstigt haben.

Bruegger et al. konnten ohne Vorliegen einer Sepsis unter Sevofluran einen sinkenden kapillären Filtrationskoeffizienten in Kapillaren des Unterschenkels messen. Sie vermuteten, dass dies eine geringere Extravasation bedingen könnte (Bruegger D et al. 2002). Die stabilsten Endothelverhältnisse gemessen am geringsten Extravasationswert waren auch in der vorliegenden Untersuchung bei Sevofluran sowie unter Isofluran vorhanden, obwohl im Vergleich zu Desfluran nahezu gleich viele Sticker vorhanden waren.

Allerdings kommt es in der frühen Sepsisphase auch zu leukozytenunabhängigen Endothelschädigungen. Dies konnte in früheren Untersuchungen am selben Modell nachgewiesen werden, indem die Leukozyten-Endothel-Interaktion gehemmt wurde und es dennoch zu einer steigenden Extravasation unter LPS-Gabe kam (Walther A et al. 2000). Hollenberg et al. stellten ebenfalls eine Diskrepanz zwischen aufgetretener Leukozytenadhärenz und nachfolgender Extravasation gemessen im Musculus cremaster von Mäusen fest. Sie konnten belegen, dass die Steigerung der Extravasation während Sepsis von der durch Zytokin induzierbaren NO-Synthase (iNOS) abhängig ist und Isofluran darauf keinen Einfluss hatte. So zeigte sich bei iNOS-defizienten Mäusen eine geringere Extravasation im Gegensatz zum Wildstamm, obwohl es zu einem gleichwertigen Anstieg der Leukozytenadhäsion kam. Das heißt, dass die beiden Vorgänge im Sepsisgeschehen unabhängig voneinander reguliert wurden. Die Autoren gingen davon aus, dass NO während Sepsis eine bedeutende Rolle in der Vermittlung der Gefäßpermeabilitätsänderungen übernimmt. NO führte zur Gefäßdilatation, hemmte die Leukozyten-Endothel-Interaktionen und reduzierte die anwesenden Superoxidanionen. All dies könnte dazu beitragen, dass die Flussgeschwindigkeit erhalten bleibt und das Endothel vor Radikalschädigungen geschützt wird. Die Autoren vermuteten, dass sowohl Leukozytenadhäsionen als auch zirkulierende Mediatoren für die Dysfunktion der Endothelbarrieren während Sepsis verantwortlich sind, aber zu unterschiedlichen Zeitpunkten wirken (Hollenberg SM et al. 2007).

In der Gegenwart von Halothan und Sevofluran fanden Fröhlich und Kollegen 1997 in vitro eine verminderte  $H_2O_2$ -Produktion humaner neutrophiler Granulozyten auf einen Bakterienpeptidreiz. Isofluran hatte keinen Einfluss und unter Desfluran wurde die Reaktion um das Doppelte verstärkt (Frohlich D et al. 1997). Dies wurde nicht nur durch eine gesteigerte Leukozytenrekrutierung, sondern vielmehr durch eine gesteigerte  $H_2O_2$ -Produktion pro Zelle erreicht. Sie führten dies zurück auf die Fähigkeit der volatilen Anästhetika, die Calmodulinwirkung und damit die  $Ca^{2+}$ -abhängige Enzymaktivität unterschiedlich zu beeinflussen. Levin und Blanck konnten zeigen, dass dessen Affinität zu  $Ca^{2+}$  durch Halothan und Isofluran dosisabhängig beeinflusst wird. Vor allem niedrige Halothankonzentrationen bedingten eine verringerte Affinität, wodurch weniger reaktive Sauerstoffradikale produziert wurden, während hohe Dosen, wie in der vorliegenden Studie verwendet, zu signifikant gesteigerter  $Ca^{2+}$ -Bindungsfähigkeit führten und damit eine gesteigerte  $H_2O_2$ -Produktion induziert haben könnten. Unter Isofluran konnten die Autoren ähnliche Veränderungen beobachten, die aber nicht so ausgeprägt waren (Levin A und Blanck TJ 1995). Möglicherweise ist also bei Desfluran die eingeschränkte Fähigkeit, die  $H_2O_2$ -

Produktion von Granulozyten zu verringern, die Ursache für die gesteigerte Endothelschädigung und die in der vorliegenden Studie nachgewiesene hohe Extravasation. Da Halothan die Makro- und Mikrohämodynamik stark beeinträchtigte, könnte der mögliche Vorteil in Bezug auf die verringerte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion von Granulozyten nicht zum Tragen gekommen sein.

In einer weiteren Untersuchung wurde ebenso die Sauerstoffradikalproduktion der polymorphkernigen Granulozyten durch Desfluran im Vergleich zu Sevofluran deutlich stärker induziert (Erol A et al. 2009). Dies könnte ebenfalls ein Hinweis darauf sein, dass es in der vorliegenden Studie im Vergleich dieser beiden Anästhetika trotz nahezu gleicher makrohämodynamischer Auswirkungen und eines besser erhaltenen Blutflusses zu einer dem Halothan ähnlich hohen Extravasation unter Desfluran kam.

Die stark erhöhte Extravasation, die in der Desflurangruppe der vorliegenden Studie stattfand, lässt sich demnach mit bisherigen Untersuchungsergebnissen in Einklang bringen und lässt vermuten, dass die vier verwendeten halogenierten Kohlenwasserstoffe auf unterschiedliche Weise die Extravasation beeinflussen. Die noch unbekanntenen Auswirkungen geben Anlass für weitere Studien.

## 6 Schlussfolgerung

In dieser Studie zeigte sich bei allen untersuchten volatilen Anästhetika Halothan, Isofluran, Sevofluran und Desfluran unter konstanten Anästhesiebedingungen bei kontinuierlicher i.v.-Infusion mit 2 mg/kg KG/h LPS über 120 Minuten eine deutliche Beeinträchtigung der Mikrozirkulation in den Mesenterialvenolen der Ratte. Weder der endotoxinvermittelte Anstieg der Leukozyten-Endothel-Interaktionen noch die zunehmende Extravasation konnte durch eines der volatilen Anästhetika verhindert werden. Hinweise, dass volatile Anästhetika in der frühen Phase der Sepsis in Analogie zu der durch sie verursachten Verminderung von Reperfusionsschäden nach Ischämie organprotektive Effekte erzielen, konnten nicht sicher nachgewiesen werden.

Am ehesten aufgrund seines stark negativ inotropen Effektes beeinträchtigte Halothan die Makrohämodynamik und dadurch die Erythrozytengeschwindigkeit im Vergleich zu den anderen drei volatilen Anästhetika bereits vor LPS-Induktion. Dies sowie die von anderen Autoren beschriebene Fähigkeit von Isofluran, Sevofluran und Desfluran die Zytokinproduktion zu verringern, könnte die hohe Stickeranzahl der Halothangruppe im gesamten Versuchsablauf bedingt haben.

Während die Stickeranzahl in allen Gruppen in gleichem Maße im Verlauf der Endotoxinwirkung anstieg, entwickelte sich unter Isofluran und Sevofluran eine deutlich geringere Permeabilitätssteigerung des Endothels im Vergleich zu Halothan. Desfluran wies diesen Vorteil gegenüber Halothan nicht auf. Die Ergebnisse anderer Studien lassen darauf schließen, dass dies an der unterschiedlich starken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion der Leukozyten und der dadurch vermittelten Schädigung des Endothels liegen könnte, denn Desfluran vermittelt eine gesteigerte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion, während diese durch Sevofluran deutlich reduziert wird und durch Isofluran unverändert bleibt.

Die untersuchten volatilen Anästhetika beeinflussen also in unterschiedlicher Weise die pathologischen Vorgänge während Endotoxinämie.

## 7 Zusammenfassung

Die steigende Anzahl von Patienten mit einer generalisierten systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) oder einer Sepsis, die operativen Eingriffen zu diagnostischen und lebenserhaltenden Maßnahmen unterzogen werden müssen, stellen den Anästhesisten vor das Problem, ein Anästhetikum zu finden, durch das die pathophysiologischen Prozesse, die im Rahmen einer Sepsis ablaufen, nicht weiter aggraviert werden. In der jüngsten Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass volatile Anästhetika einen protektiven Effekt nach Ischämie und Reperfusion auf die lebenswichtigen Organe Gehirn, Herz, Leber und Niere besitzen. Ob dies auch für die Entzündungsreaktion bei SIRS oder Sepsis zutrifft ist bislang wenig untersucht.

Die Mikrozirkulation des Darmes spielt in der Pathogenese und im Verlauf einer Sepsis eine zentrale Rolle, daher wurde in der vorliegenden Studie in einem etablierten Ratten-Sepsis-Modell mittels Intravitalmikroskopie der Einfluss der volatilen Anästhetika Halothan (Hal), Isofluran (Iso), Sevofluran (Sev) und Desfluran (Des) auf die Mikrozirkulation des Darmes untersucht. Als mikrozirkulatorische Parameter dienten dabei die Leukozyten-Endothel-Interaktionen und die Extravasation von Albumin in postkapillären Venolen des Mesenteriums. Parallel dazu wurden die makrohämodynamische Parameter mittlerer arterieller Blutdruck (MAD), Herzfrequenz (HF) und Herzzeitvolumen (HZV) erfasst.

Insgesamt wurde 40 (4x10) Ratten randomisiert 1,5 MAC (endtidal) des jeweiligen volatilen Anästhetikums zur Induktion und Aufrechterhaltung der Narkose verabreicht. Nachdem stabile Anästhesiebedingungen erreicht worden waren, wurden die Tiere tracheotomiert, druckkontrolliert beatmet, mit arteriellen und venösen Kathetern ausgestattet und laparotomiert. Ein Teil des Ileums wurde ausgelagert und ein für die weiteren Verlaufsbeobachtungen geeigneter Gefäßabschnitt im Bereich des Mesenteriums unter dem Intravitalmikroskop eingestellt.

Zur Bestimmung der Erythrozytengeschwindigkeit ( $V_{Ery}$ ) wurden mit einem fluoreszierenden Farbstoff (PKH 26) markierte Erythrozyten einer Spenderratte verabreicht. Zur Messung der Extravasation, wurde den Tieren Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) markiertes Albumin (50 mg/kg KG) injiziert.

Nach Erfassung der Ausgangswerte aller untersuchten Parameter wurde die Sepsis durch eine kontinuierliche Lipopolysaccharid-Infusion (2 mg/kg KG/h) induziert. Die Beobachtungsdauer betrug 120 Minuten.

Zu den Zeitpunkten 0, 60 und 120 Minuten wurden die makrohämodynamischen Parameter (HF, MAD, HZV) dokumentiert sowie eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Durch videoassistierte Intravitalmikroskopie wurden entsprechend folgende mikrohämodynamische Parameter in den postkapillären Venolen des Mesenteriums bestimmt: der Venolendurchmesser ( $D_V$ ), die Erythrozytengeschwindigkeit, die Zahl der rollenden (Roller) und adhärenen (Sticker) Leukozyten an der Endothelwand sowie die Extravasation von FITC-Albumin als Parameter des endovaskulären Lecks. Aus den beiden Parametern  $D_V$  und  $V_{Ery}$  wurde die Wandscherrate ( $\gamma$ ) errechnet.

Die einzelnen Anästhetika-Gruppen wiesen keine Unterschiede in der HF auf. Auch nach Induktion der Sepsis blieb die HF konstant. Der MAD war zur Ausgangsmessung in der Halothan und Isofluran-Gruppe niedriger als in der Sevofluran und Desfluran-Gruppe. Nach Induktion der Sepsis fiel er in der Halothan und Isofluran-Gruppe weiter ab. In der Sevofluran- und Desfluran-Gruppe blieb der MAD hingegen auch nach Sepsisinduktion stabil. Das HZV war während des gesamten Versuchs in der Halothan-Gruppe signifikant niedriger als unter Isofluran, Sevofluran und Desfluran. In allen Gruppen sank es während der Endotoxininfusion tendenziell aber statistisch nicht signifikant ab.

Große Abweichungen ergaben sich in der  $V_{Ery}$  zu allen drei Messzeitpunkten und zwischen den Gruppen untereinander. Schon vor LPS-Gabe war sie unter Halothan deutlich geringer im Vergleich zu den anderen Gruppen. Über den weiteren Versuchsverlauf sank sie in den Gruppen Isofluran und Sevofluran deutlich ab, sodass am Ende nur unter Desfluran eine stabile  $V_{Ery}$  vorhanden war. Nahezu analog dazu verhielt sich die Wandscherrate. Allerdings sank diese nach 120 Minuten Endotoxinämie auch in der Desflurangruppe ab.

Während die Anzahl der rollenden Leukozyten in allen Gruppen im Verlauf des Versuches ähnlich sank, wies Halothan im Unterschied zu den anderen drei Gruppen eine hohe Anzahl adhärenter Leukozyten auf. Sie lag initial und im weiteren Verlauf deutlich höher im Vergleich zu den anderen Gruppen.

In allen Gruppen kam es zu einem Anstieg der Plasmaextravasation nach Induktion der Sepsis. Am geringsten ausgeprägt war die Plasmaextravasation in der Isofluran- und Sevofluran-Gruppe. In der Desfluran-Gruppe lag der Wert am Ende der Beobachtungsdauer tendenziell über der Isofluran- und Sevofluran-Gruppe, aber auch tendenziell niedriger als in der Halothan-Gruppe. Allerdings ließ sich gegenüber den jeweiligen Gruppen keine statistische Signifikanz nachweisen.

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass Sevofluran und Desfluran während Sepsis die geringsten Auswirkungen auf die Makrohämodynamik haben. Desfluran verspricht die Perfusion in der mesenterialen Strombahn am besten aufrechtzuerhalten. Allerdings war sein nivellierender Einfluss auf die endotoxinvermittelte Permeabilitätssteigerung nicht besser, sondern tendenziell schlechter als in der Sevofluran- und Isoflurangruppe.

Isofluran scheint in Bezug auf die Makrohämodynamik eher Nachteile und in Bezug auf die Mikrohämodynamik zumindest keinerlei Vorteile gegenüber den neueren Anästhetika Sevofluran und Desfluran zu besitzen.

Erwartungsgemäß beeinflusste Halothan sowohl vor als auch während Endotoxinwirkung die Makro- und Mikrohämodynamik am stärksten, was die vermehrte Adhäsion von Leukozyten an das Endothel mit nachfolgender gesteigerter Extravasation wesentlich mitverursacht haben dürfte. Daher scheint es in keinster Weise für den Einsatz bei septischen Patienten geeignet.

Diese Ergebnisse geben einen Hinweis auf die unterschiedlichen Auswirkungen der untersuchten volatilen Anästhetika. Da Sevofluran sowohl eine stabile Herz-Kreislaufsituation unter Endotoxinämie erhält und außerdem die Plasmaextravasation positiv beeinflusst, eignet es sich am ehesten für die Verwendung eines volatilen Anästhetikums am septischen Patienten.

## 8 Summary

A growing number of patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) or sepsis who may need surgery confronts anaesthesiologists with the problem of finding an anaesthetic drug that does not aggravate the pathophysiological processes during sepsis. Volatile anaesthetics have recently been reported to ameliorate on ischaemia/reperfusion damage in essential organs such as the brain, heart, liver and kidney. It was rarely examined whether this effect is present in inflammatory diseases as SIRS or sepsis as well. The microcirculation of the gut plays a pivotal role in the pathogenesis and development of sepsis. Thus, the objective of this study was to examine the influence of volatile agents such as halothane (hal), isoflurane (iso), sevoflurane (sev) and desflurane (des) on the microcirculation of the gut using intravital microscopy in an established rat sepsis model. Leukocyte-endothelial-interactions and extravasation of albumin from mesenteric postcapillary venules were utilized as microcirculatory parameters. Additionally mean arterial blood pressure (MAP), heart rate (HR) and cardiac output (CO) were determined.

Forty (4x10) rats were randomised and received 1,5 MAC (endtidal) of the particular volatile anaesthetic to induce and maintain narcosis. After achieving stable anaesthetic conditions the animals were tracheotomised, artificial ventilation with controlled respiratory pressure was performed, arterial and venous catheter were placed and laparotomy was accomplished. Part of the ileum was removed from the abdominal cavity and an appropriate vessel section of the mesentery was placed beneath the microscope. To assign erythrocyte velocity ( $V_{\text{Ery}}$ ) fluorescence stain (PKH 26) labeled erythrocytes of donor rats were given. The animals received fluorescein-isothiocyanat (FITC) labeled bovine albumin (50 mg/kg b.w.) to measure the extravasation. After recording the baseline values of all parameters, sepsis was induced by continuous infusion of lipopolysaccharides (2 mg/kg b.w./h) and the observation period was started. After 60 and 120 minutes MAP/HR/CO were documented and arterial blood gas analysis was performed. The following microhaemodynamic parameters were determined in postcapillary venules by video-assisted intravital microscopy: venular diameter ( $D_V$ ), erythrocyte velocity ( $V_{\text{Ery}}$ ), number of endothelial rolling (roller) and adherent (sticker) leukocytes and extravasation of FITC-albumin. Venular wall shear rate ( $\gamma$ ) was calculated using  $D_V$  and  $V_{\text{Ery}}$ .

None of the volatile anaesthetics had an influence on HR. Even after induction of sepsis HR remained unchanged. At baseline MAP was lower in the halothane and isoflurane group than in the sevoflurane and desflurane group. After the induction of sepsis MAP further decreased

in the halothane and the isoflurane group. In the sevoflurane and the desflurane group MAP remained stable. During the entire experiment CO was markedly lower with halothane compared to isoflurane, sevoflurane or desflurane. Endotoxin tended to decrease CO in all four groups.  $V_{Ery}$  showed significant differences in most of the groups. Already before LPS infusion,  $V_{Ery}$  was lower in the halothane group compared to the other groups. However, it did not further decrease in the halothane group, it decreased in the isoflurane and sevoflurane groups, but remained stable in the desflurane group. Wall shear rate was similar, but after 120 minutes of endotoxemia it decreased with desflurane too. Although the number of rolling leukocytes decreased in all four groups in this study, the number of adherent leukocytes was significantly higher in the halothane compared to the other groups. In general macromolecular leakage increased after the induction of sepsis. The lowest extravasation was observed in the isoflurane and sevoflurane groups. At the end of the observation period data tended to be higher in the desflurane group compared to the isoflurane or sevoflurane groups, but it also tended to be lower compared to the halothane group.

The results demonstrated that sevoflurane and desflurane had lowest macrohemodynamic influence during sepsis. Although desflurane was able to ameliorate the endotoxin induced reduction of  $V_{Ery}$ , this did not diminish the amount of sticker or reduce extravasation. Its ability to even out endotoxin-induced extravasation tended to be worse compared to isoflurane and sevoflurane. Isoflurane appears to have disadvantages on macrohaemodynamics, whereas there are no advantages on microhaemodynamics compared to the newer anaesthetics sevoflurane and desflurane. As expected halothane impaired macro- and microhaemodynamics the most before and after endotoxin administration, which was shown by increased adhesion of leukocytes to the endothelial wall, followed by increased extravasation. Therefore it appears to be an inappropriate anaesthetic agent for septic patients. This study may be helpful to determine the optimal choice of volatile anaesthetics for septic patients. Presumably sevofluran is most appropriate because it maintains even circulatory conditions during endotoxemia and has a positive influence on extravasation.

## 9 Literaturverzeichnis

- Abbitt KB und Nash GB (2003). "**Rheological properties of the blood influencing selectin-mediated adhesion of flowing leukocytes.**" *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285(1): H229-240.
- Ahmed AJ, Kruse JA, Haupt MT, Chandrasekar PH und Carlson RW (1991). "**Hemodynamic responses to gram-positive versus gram-negative sepsis in critically ill patients with and without circulatory shock.**" *Crit Care Med* 19(12): 1520-1525.
- Akata T, Izumi K und Nakashima M (2001). "**Mechanisms of direct inhibitory action of ketamine on vascular smooth muscle in mesenteric resistance arteries.**" *Anesthesiology* 95(2): 452-462.
- Akata T, Kodama K und Takahashi S (1995). "**Volatile anaesthetic actions on norepinephrine-induced contraction of small splanchnic resistance arteries.**" *Can J Anaesth* 42(11): 1040-1050.
- Allaouchiche B, Duflo F, Debon R, Tournadre JP und Chassard D (2001a). "**Influence of sepsis on minimum alveolar concentration of desflurane in a porcine model.**" *Br J Anaesth* 87(2): 280-283.
- Allaouchiche B, Duflo F, Tournadre JP, Debon R und Chassard D (2001b). "**Influence of sepsis on sevoflurane minimum alveolar concentration in a porcine model.**" *Br J Anaesth* 86(6): 832-836.
- Angus DC und Wax RS (2001). "**Epidemiology of sepsis: an update.**" *Crit Care Med* 29(7 Suppl): S109-116.
- Arriero MM, Munoz Alameda L, Lopez-Farre A, Escribano Burgos M, Carrasco C, Millas I, Celdran A und de la Pinta JC (2002). "**Sevoflurane reduces endothelium-dependent vasorelaxation: role of superoxide anion and endothelin.**" *Can J Anaesth* 49(5): 471-476.
- Asako H, Kubes P, Wallace J, Wolf RE und Granger DN (1992). "**Modulation of leukocyte adhesion in rat mesenteric venules by aspirin and salicylate.**" *Gastroenterology* 103(1): 146-152.
- Astiz ME und Rackow EC (1998). "**Septic shock.**" *Lancet* 351(9114): 1501-1505.
- Bardenheuer HJ (1996). "**[Vascular endothelium: partner to polymorphonuclear leukocytes in the inflammatory process].**" *Anaesthesist* 45(2): 111-112.
- Bardosi L, Bardosi A, Hendry M und Gabius HJ (1990). "**Reduced expression of mannose-specific receptors on murine peripheral blood polymorphonuclear leukocytes following prolonged anaesthesia with different inhalation agents.**" *Acta Anaesthesiol Scand* 34(4): 286-290.
- Bauer A, Bruegger D und Christ F (2005). "**[Microcirculatory monitoring of sepsis].**" *Anaesthesist* 54(12): 1163-1175.
- Bauer C, Sattel C, Grundmann U, Bauer M, Marzi I und Larsen R (1995). "**[Effects of desflurane on liver microcirculation in comparison with isoflurane and pentobarbital. An intravital microscopy study in the rat].**" *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 30(4): 226-230.
- Bauer M (2003). "**[Early goal-directed therapy in sepsis. Old wine in new skins?].**" *Anaesthesist* 52 Suppl 1: S16-19.
- Bennett RC, Fancy SP, Walsh CM, Brown AJ und Taylor PM (2008). "**Comparison of sevoflurane and isoflurane in dogs anaesthetised for clinical surgical or diagnostic procedures.**" *J Small Anim Pract* 49(8): 392-397.

- Bhagat K, Collier J und Vallance P (1996). "**Local venous responses to endotoxin in humans.**" *Circulation* 94(3): 490-497.
- Bhatia M, He M, Zhang H und Moochhala S (2009). "**Sepsis as a model of SIRS.**" *Front Biosci* 14: 4703-4711.
- Biao Z, Zhanggang X, Hao J, Changhong M und Jing C (2005). "**The in vitro effect of desflurane preconditioning on endothelial adhesion molecules and mRNA expression.**" *Anesth Analg* 100(4): 1007-1013.
- Biber B, Schaefer CF, Smolik MJ, Lawrence MC, Lerner MR, Brackett DJ, Wilson MF und Fagraeus L (1987). "**Dose-related effects of isoflurane on superior mesenteric vasoconstriction induced by endotoxemia in the rat.**" *Acta Anaesthesiol Scand* 31(5): 430-437.
- Bienvenu K und Granger DN (1993). "**Molecular determinants of shear rate-dependent leukocyte adhesion in postcapillary venules.**" *Am J Physiol* 264(5 Pt 2): H1504-1508.
- Bone HG, Sielenkamper A und Booke M (1999). "**[Oxygen delivery in sepsis. After 10 years more questions than answers].**" *Anaesthesist* 48(2): 63-79.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM und Sibbald WJ (1992). "**Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine.**" *Chest* 101(6): 1644-1655.
- Boost KA, Hofstetter C, Flondor M, Betz C, Homann M, Pfeilschifter J, Muehl H und Zwissler B (2006). "**Desflurane differentially affects the release of proinflammatory cytokines in plasma and bronchoalveolar fluid of endotoxemic rats.**" *Int J Mol Med* 17(6): 1139-1144.
- Boyd AJ, Sherman IA und Saibil FG (1994). "**Intestinal microcirculation and leukocyte behavior in ischemia-reperfusion injury.**" *Microvasc Res* 47(3): 355-368.
- Brower RW und Merin RG (1979). "**Left ventricular function and compliance in swine during halothane anesthesia.**" *Anesthesiology* 50(5): 409-415.
- Brown KA, Brain SD, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM und Treacher DF (2006). "**Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis.**" *Lancet* 368(9530): 157-169.
- Bruegger D, Bauer A, Finsterer U, Bernasconi P, Kreimeier U und Christ F (2002). "**Microvascular changes during anesthesia: sevoflurane compared with propofol.**" *Acta Anaesthesiol Scand* 46(5): 481-487.
- Buerke M, Sibelius U, Grandel U, Buerke U, Grimminger F, Seeger W, Meyer J und Darius H (2002). "**Staphylococcus aureus alpha toxin mediates polymorphonuclear leukocyte-induced vasoconstriction and endothelial dysfunction.**" *Shock* 17(1): 30-35.
- Bundit V und Wissig SL (1986). "**Surgical exposure induces formation of an arteriovenous permeability gradient for macromolecules in the microcirculation of muscle.**" *Microvasc Res* 31(2): 235-249.
- Butcher EC (1991). "**Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity.**" *Cell* 67(6): 1033-1036.
- Cavana P, Tomesello A, Ripanti D, Nebbia P und Farca AM (2009). "**Multiple organ dysfunction syndrome in a dog with Klebsiella pneumoniae septicemia.**" *Schweiz Arch Tierheilkd* 151(2): 69-74.
- Ciofolo MJ und Reiz S (1999). "**Circulatory effects of volatile anesthetic agents.**" *Minerva Anesthesiol* 65(5): 232-238.
- Clark CH und Gutierrez G (1992). "**Gastric intramucosal pH: a noninvasive method for the indirect measurement of tissue oxygenation.**" *Am J Crit Care* 1(2): 53-60.

- Conzen PF, Vollmar B, Habazettl H, Frink EJ, Peter K und Messmer K (1992). "**Systemic and regional hemodynamics of isoflurane and sevoflurane in rats.**" *Anesth Analg* 74(1): 79-88.
- Coughlan AF, Hau H, Dunlop LC, Berndt MC und Hancock WW (1994). "**P-selectin and platelet-activating factor mediate initial endotoxin-induced neutropenia.**" *J Exp Med* 179(1): 329-334.
- Crawford MW, Lerman J, Saldivia V und Carmichael FJ (1992). "**Hemodynamic and organ blood flow responses to halothane and sevoflurane anesthesia during spontaneous ventilation.**" *Anesth Analg* 75(6): 1000-1006.
- Curtis SE und Cain SM (1992). "**Regional and systemic oxygen delivery/uptake relations and lactate flux in hyperdynamic, endotoxin-treated dogs.**" *Am Rev Respir Dis* 145(2 Pt 1): 348-354.
- Curzen NP, Griffiths MJ und Evans TW (1994). "**Role of the endothelium in modulating the vascular response to sepsis.**" *Clin Sci (Lond)* 86(4): 359-374.
- Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Wesley RA, Reilly JM und Parillo JE (1991). "**Endotoxemia in human septic shock.**" *Chest* 99(1): 169-175.
- Davenpeck KL, Gauthier TW und Lefer AM (1994). "**Inhibition of endothelial-derived nitric oxide promotes P-selectin expression and actions in the rat microcirculation.**" *Gastroenterology* 107(4): 1050-1058.
- De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ und Vincent JL (2002). "**Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis.**" *Am J Respir Crit Care Med* 166(1): 98-104.
- de Rossi LW, Brueckmann M, Rex S, Barderschneider M, Buhre W und Rossaint R (2004). "**Xenon and isoflurane differentially modulate lipopolysaccharide-induced activation of the nuclear transcription factor KB and production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in monocytes.**" *Anesth Analg* 98(4): 1007-1012, table of contents.
- de Rossi LW, Horn NA, Buhre W, Gass F, Hutschenreuter G und Rossaint R (2002). "**The effect of isoflurane on neutrophil selectin and beta(2)-integrin activation in vitro.**" *Anesth Analg* 95(3): 583-587, table of contents.
- Deitch EA (1990). "**The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure.**" *Arch Surg* 125(3): 403-404.
- Deitch EA und Goodman ER (1999). "**Prevention of multiple organ failure.**" *Surg Clin North Am* 79(6): 1471-1488.
- Deitch EA, Winterton J, Li M und Berg R (1987). "**The gut as a portal of entry for bacteremia. Role of protein malnutrition.**" *Ann Surg* 205(6): 681-692.
- Dudziak R und Behne M (1998). "[**Uptake and distribution of sevoflurane.**]" *Anaesthesist* 47 Suppl 1: S1-6.
- Duncan PG, Cullen BF und Pearsall NN (1976). "**Anesthesia and the modification of response to infection in mice.**" *Anesth Analg* 55(6): 776-781.
- Ebert TJ und Muzi M (1993). "**Sympathetic hyperactivity during desflurane anesthesia in healthy volunteers. A comparison with isoflurane.**" *Anesthesiology* 79(3): 444-453.
- Eger EI, 2nd (1992). "**Desflurane animal and human pharmacology: aspects of kinetics, safety, and MAC.**" *Anesth Analg* 75(4 Suppl): S3-7; discussion S8-9.
- Engelhardt B und Wolburg H (2004). "**Mini-review: Transendothelial migration of leukocytes: through the front door or around the side of the house?**" *Eur J Immunol* 34(11): 2955-2963.
- Erol A, Reisli R, Reisli I, Kara R und Otelcioglu S (2009). "**Effects of desflurane, sevoflurane and propofol on phagocytosis and respiratory burst activity of**

- human polymorphonuclear leucocytes in bronchoalveolar lavage.**" Eur J Anaesthesiol 26(2): 150-154.
- Erskine R und James MF (1990). "**Isoflurane but not halothane stimulates neutrophil chemotaxis.**" Br J Anaesth 64(6): 723-727.
- Fiebig E, Ley K und Arfors KE (1991). "**Rapid leukocyte accumulation by "spontaneous" rolling and adhesion in the exteriorized rabbit mesentery.**" Int J Microcirc Clin Exp 10(2): 127-144.
- Fink MP und Heard SO (1990). "**Laboratory models of sepsis and septic shock.**" J Surg Res 49(2): 186-196.
- Fink MP, Rothschild HR, Deniz YF, Wang HL, Lee PC und Cohn SM (1989). "**Systemic and mesenteric O<sub>2</sub> metabolism in endotoxic pigs: effect of ibuprofen and meclofenamate.**" J Appl Physiol 67(5): 1950-1957.
- Fox JR und Wayland H (1979). "**Interstitial diffusion of macromolecules in the rat mesentery.**" Microvasc Res 18(2): 255-276.
- Fretschner R, Kloss T, Guggenberger H, Deusch H und Schmid HJ (1993). "**Pulmonary venodilation by isoflurane improves gas exchange during Escherichia coli bacteremia.**" Crit Care Med 21(5): 747-752.
- Frink EJ, Jr., Morgan SE, Coetzee A, Conzen PF und Brown BR, Jr. (1992). "**The effects of sevoflurane, halothane, enflurane, and isoflurane on hepatic blood flow and oxygenation in chronically instrumented greyhound dogs.**" Anesthesiology 76(1): 85-90.
- Frohlich D, Rothe G, Schwall B, Schmid P, Schmitz G, Taeger K und Hobbhahn J (1997). "**Effects of volatile anaesthetics on human neutrophil oxidative response to the bacterial peptide FMLP.**" Br J Anaesth 78(6): 718-723.
- Fuentes JM, Hanly EJ, Aurora AR, De Maio A und Talamini MA (2005). "**Anesthesia-specific protection from endotoxic shock is not mediated through the vagus nerve.**" Surgery 138(4): 766-771.
- Fujishima S und Aikawa N (1995). "**Neutrophil-mediated tissue injury and its modulation.**" Intensive Care Med 21(3): 277-285.
- Fukumura D, Miura S, Kurose I, Higuchi H, Suzuki H, Ebinuma H, Han JY, Watanabe N, Wakabayashi G, Kitajima M und Ishii H (1996). "**IL-1 is an important mediator for microcirculatory changes in endotoxin-induced intestinal mucosal damage.**" Dig Dis Sci 41(12): 2482-2492.
- Gaboury J, Woodman RC, Granger DN, Reinhardt P und Kubes P (1993). "**Nitric oxide prevents leukocyte adherence: role of superoxide.**" Am J Physiol 265(3 Pt 2): H862-867.
- Gill R, Martin C, McKinnon T, Lam C, Cunningham D und Sibbald WJ (1995). "**Sepsis reduces isoflurane MAC in a normotensive animal model of sepsis.**" Can J Anaesth 42(7): 631-635.
- Gonzalez AP, Sepulveda S, Massberg S, Baumeister R und Menger MD (1994). "**In vivo fluorescence microscopy for the assessment of microvascular reperfusion injury in small bowel transplants in rats.**" Transplantation 58(4): 403-408.
- Gotsch U, Jager U, Dominis M und Vestweber D (1994). "**Expression of P-selectin on endothelial cells is upregulated by LPS and TNF-alpha in vivo.**" Cell Adhes Commun 2(1): 7-14.
- Gowans JL (1959). "**The life-history of lymphocytes.**" Br Med Bull 15(1): 50-53.
- Granger DN, Benoit JN, Suzuki M und Grisham MB (1989). "**Leukocyte adherence to venular endothelium during ischemia-reperfusion.**" Am J Physiol 257(5 Pt 1): G683-688.

- Greenblatt EP, Loeb AL und Longnecker DE (1992). "**Endothelium-dependent circulatory control--a mechanism for the differing peripheral vascular effects of isoflurane versus halothane.**" *Anesthesiology* 77(6): 1178-1185.
- Greiner M, Wolf G und Hartmann K (2008). "**A retrospective study of the clinical presentation of 140 dogs and 39 cats with bacteraemia.**" *J Small Anim Pract* 49(8): 378-383.
- Grisham MB, Hernandez LA und Granger DN (1986). "**Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia.**" *Am J Physiol* 251(4 Pt 1): G567-574.
- Grocott-Mason RM und Shah AM (1998). "**Cardiac dysfunction in sepsis: new theories and clinical implications.**" *Intensive Care Med* 24(4): 286-295.
- Grundmann U, Zissis A, Bauer C und Bauer M (1997). "**In vivo effects of halothane, enflurane, and isoflurane on hepatic sinusoidal microcirculation.**" *Acta Anaesthesiol Scand* 41(6): 760-765.
- Gueugniaud PY, Hanouz JL, Vivien B, Lecarpentier Y, Coriat P und Riou B (1997). "**Effects of desflurane in rat myocardium: comparison with isoflurane and halothane.**" *Anesthesiology* 87(3): 599-609.
- Guidet B, Barakett V, Vassal T, Petit JC und Offenstadt G (1994). "**Endotoxemia and bacteremia in patients with sepsis syndrome in the intensive care unit.**" *Chest* 106(4): 1194-1201.
- Hagman R, Reezigt BJ, Bergstrom Ledin H und Karlstam E (2009). "**Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra.**" *Acta Vet Scand* 51: 2.
- Harris NR, Russell JM und Granger DN (1994). "**Mediators of endotoxin-induced leukocyte adhesion in mesenteric postcapillary venules.**" *Circ Shock* 43(4): 155-160.
- Hartman JC, Anderson DC, Wiltse AL, Lane CL, Rosenbloom CL, Manning AM, Humphrey WR, Wall TM und Shebuski RJ (1995). "**Protection of ischemic/reperfused canine myocardium by CL18/6, a monoclonal antibody to adhesion molecule ICAM-1.**" *Cardiovasc Res* 30(1): 47-54.
- Hassoun HT, Kone BC, Mercer DW, Moody FG, Weisbrodt NW und Moore FA (2001). "**Post-injury multiple organ failure: the role of the gut.**" *Shock* 15(1): 1-10.
- Hayes JK, Havaleshko DM, Plachinta RV und Rich GF (2004). "**Isoflurane pretreatment supports hemodynamics and leukocyte rolling velocities in rat mesentery during lipopolysaccharide-induced inflammation.**" *Anesth Analg* 98(4): 999-1006, table of contents.
- Heindl B und Becker BF (2000). "**Sevoflurane and isoflurane do not enhance the pre- and postischemic eicosanoid production in guinea pig hearts.**" *Anesth Analg* 90(1): 17-24.
- Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF und Becker BF (1999). "**Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils.**" *Anesthesiology* 91(2): 521-530.
- Hikasa Y, Ohe N, Takase K und Ogasawara S (1997). "**Cardiopulmonary effects of sevoflurane in cats: comparison with isoflurane, halothane, and enflurane.**" *Res Vet Sci* 63(3): 205-210.
- Hirakata H, Nakamura K, Sai S, Okuda H, Hatano Y, Urabe N und Mori K (1997). "**Platelet aggregation is impaired during anaesthesia with sevoflurane but not with isoflurane.**" *Can J Anaesth* 44(11): 1157-1161.
- Hisano T, Namba T, Hashiguchi-Ikeda M, Ito T, Hirota K und Fukuda K (2005). "**Inhibition of E-selectin-mediated leukocyte adhesion by volatile anesthetics in a static condition.**" *J Anesth* 19(1): 1-6.
- Hofstetter C, Boost KA, Flondor M, Basagan-Mogol E, Betz C, Homann M, Muhl H, Pfeilschifter J und Zwissler B (2007). "**Anti-inflammatory effects of sevoflurane**

- and mild hypothermia in endotoxemic rats.**" Acta Anaesthesiol Scand 51(7): 893-899.
- Hollenberg SM, Guglielmi M und Parrillo JE (2007). "**Discordance between microvascular permeability and leukocyte dynamics in septic inducible nitric oxide synthase deficient mice.**" Crit Care 11(6): R125.
- Horan PK, Melnicoff MJ, Jensen BD und Slezak SE (1990). "**Fluorescent cell labeling for in vivo and in vitro cell tracking.**" Methods Cell Biol 33: 469-490.
- Hotchkiss RS und Karl IE (2003). "**The pathophysiology and treatment of sepsis.**" N Engl J Med 348(2): 138-150.
- Hotchkiss RS, Rust RS, Dence CS, Wasserman TH, Song SK, Hwang DR, Karl IE und Welch MJ (1991). "**Evaluation of the role of cellular hypoxia in sepsis by the hypoxic marker [18F]fluoromisonidazole.**" Am J Physiol 261(4 Pt 2): R965-972.
- House SD und Lipowsky HH (1987a). "**Leukocyte-endothelium adhesion: microhemodynamics in mesentery of the cat.**" Microvasc Res 34(3): 363-379.
- House SD und Lipowsky HH (1987b). "**Microvascular hematocrit and red cell flux in rat cremaster muscle.**" Am J Physiol 252(1 Pt 2): H211-222.
- Hu G, Salem MR und Crystal GJ (2005). "**Role of adenosine receptors in volatile anesthetic preconditioning against neutrophil-induced contractile dysfunction in isolated rat hearts.**" Anesthesiology 103(2): 287-295.
- Hunt BJ und Jurd KM (1998). "**Endothelial cell activation. A central pathophysiological process.**" Bmj 316(7141): 1328-1329.
- Hurtado FJ, Gutierrez AM, Silva N, Fernandez E, Khan AE und Gutierrez G (1992). "**Role of tissue hypoxia as the mechanism of lactic acidosis during E. coli endotoxemia.**" J Appl Physiol 72(5): 1895-1901.
- Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, Fuse S, Suda M, Kunitada S und Hara T (2002). "**Factor Xa-inhibitor (DX-9065a) modulates the leukocyte-endothelial cell interaction in endotoxemic rat.**" Shock 17(2): 159-162.
- Ibbotson GC, Doig C, Kaur J, Gill V, Ostrovsky L, Fairhead T und Kubes P (2001). "**Functional alpha4-integrin: a newly identified pathway of neutrophil recruitment in critically ill septic patients.**" Nat Med 7(4): 465-470.
- Imai T, Takahashi K, Masuo F und Goto F (1998). "**Anaesthesia affects outcome of sepsis in mice.**" Can J Anaesth 45(4): 360-366.
- Kashimoto S (1988). "**Effects of isoflurane on myocardial metabolism during postischaemic reperfusion in the rat.**" Acta Anaesthesiol Scand 32(3): 199-202.
- Kazama T und Ikeda K (1988). "**The comparative cardiovascular effects of sevoflurane with halothane and isoflurane.**" J Anesth 2(1): 63-68.
- Kellum JA, Bellomo R, Kramer DJ und Pinsky MR (1997). "**Splanchnic buffering of metabolic acid during early endotoxemia.**" J Crit Care 12(1): 7-12.
- Khan FA, Kamal RS, Mithani CH und Khurshid M (1995). "**Effect of general anaesthesia and surgery on neutrophil function.**" Anaesthesia 50(9): 769-775.
- Kidani Y, Taniguchi T, Kanakura H, Takemoto Y, Tsuda K und Yamamoto K (2005). "**Sevoflurane pretreatment inhibits endotoxin-induced shock in rats.**" Anesth Analg 101(4): 1152-1156.
- Kirkpatrick CJ, Bittinger F, Klein CL, Hauptmann S und Klosterhalfen B (1996). "**The role of the microcirculation in multiple organ dysfunction syndrome (MODS): a review and perspective.**" Virchows Arch 427(5): 461-476.
- Klemm K und Moody FG (1998). "**Regional intestinal blood flow and nitric oxide synthase inhibition during sepsis in the rat.**" Ann Surg 227(1): 126-133.
- Kon S, Imai M und Inaba H (1997). "**Isoflurane attenuates early neutrophil-independent hypoxia-reoxygenation injuries in the reperfused liver in fasted rats.**" Anesthesiology 86(1): 128-136.

- Korthuis RJ, Anderson DC und Granger DN (1994). "**Role of neutrophil-endothelial cell adhesion in inflammatory disorders.**" *J Crit Care* 9(1): 47-71.
- Kotake Y (2006). "[**Anesthetic protection against hepatic injury.**]" *Masui* 55(5): 570-578.
- Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E und Peter K (1997). "**Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system.**" *Anesthesiology* 86(1): 188-195.
- Kubes P, Ibbotson G, Russell J, Wallace JL und Granger DN (1990). "**Role of platelet-activating factor in ischemia/reperfusion-induced leukocyte adherence.**" *Am J Physiol* 259(2 Pt 1): G300-305.
- Kubes P, Jutila M und Payne D (1995). "**Therapeutic potential of inhibiting leukocyte rolling in ischemia/reperfusion.**" *J Clin Invest* 95(6): 2510-2519.
- Kurose I, Anderson DC, Miyasaka M, Tamatani T, Paulson JC, Todd RF, Rusche JR und Granger DN (1994). "**Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage.**" *Circ Res* 74(2): 336-343.
- Kurose I, Miura S, Suematsu M, Fukumura D, Nagata H, Sekizuka E und Tsuchiya M (1991). "**Involvement of platelet-activating factor in endothelin-induced vascular smooth muscle cell contraction.**" *J Cardiovasc Pharmacol* 17 Suppl 7: S279-283.
- Kurose I, Suematsu M, Miura S, Fukumura D, Sekizuka E, Nagata H, Oshio C und Tsuchiya M (1993). "**Oxyl radical generation from leukocytes during endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat mesentery--attenuating effect of cetraxate.**" *Toxicol Appl Pharmacol* 120(1): 37-44.
- Kurtel H, Tso P und Granger DN (1992). "**Granulocyte accumulation in postischemic intestine: role of leukocyte adhesion glycoprotein CD11/CD18.**" *Am J Physiol* 262(5 Pt 1): G878-882.
- Landow L und Andersen LW (1994). "**Splanchnic ischaemia and its role in multiple organ failure.**" *Acta Anaesthesiol Scand* 38(7): 626-639.
- Laux V und Seiffge D (1995). "**Mediator-induced changes in macromolecular permeability in the rat mesenteric microcirculation.**" *Microvasc Res* 49(1): 117-133.
- Leclerc J, Pu Q, Corseaux D, Haddad E, Decoene C, Bordet R, Six I, Jude B und Vallet B (2000). "**A single endotoxin injection in the rabbit causes prolonged blood vessel dysfunction and a procoagulant state.**" *Crit Care Med* 28(11): 3672-3678.
- Lee HT, Emala CW, Joo JD und Kim M (2007). "**Isoflurane improves survival and protects against renal and hepatic injury in murine septic peritonitis.**" *Shock* 27(4): 373-379.
- Lehr HA, Bittinger F und Kirkpatrick CJ (2000). "**Microcirculatory dysfunction in sepsis: a pathogenetic basis for therapy?"** *J Pathol* 190(3): 373-386.
- Levin A und Blanck TJ (1995). "**Halothane and isoflurane alter the Ca<sup>2+</sup> binding properties of calmodulin.**" *Anesthesiology* 83(1): 120-126.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL und Ramsay G (2003). "**2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference.**" *Crit Care Med* 31(4): 1250-1256.
- Ley K und Gaehetgens P (1991). "**Endothelial, not hemodynamic, differences are responsible for preferential leukocyte rolling in rat mesenteric venules.**" *Circ Res* 69(4): 1034-1041.
- Liu R, Ishibe Y und Ueda M (2000). "**Isoflurane-sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia-reperfusion-induced injury in isolated rat lungs.**" *Anesthesiology* 92(3): 833-840.
- Loop T, Dovi-Akue D, Frick M, Roesslein M, Egger L, Humar M, Hoetzel A, Schmidt R, Borner C, Pahl HL, Geiger KK und Pannen BH (2005). "**Volatile anesthetics induce**

- caspase-dependent, mitochondria-mediated apoptosis in human T lymphocytes in vitro.** *Anesthesiology* 102(6): 1147-1157.
- Loop T, Scheiermann P, Doviakue D, Musshoff F, Humar M, Roesslein M, Hoetzel A, Schmidt R, Madea B, Geiger KK, Pahl HL und Pannen BH (2004). "**Sevoflurane inhibits phorbol-myristate-acetate-induced activator protein-1 activation in human T lymphocytes in vitro: potential role of the p38-stress kinase pathway.**" *Anesthesiology* 101(3): 710-721.
- Lucchinetti E, Aguirre J, Feng J, Zhu M, Suter M, Spahn DR, Harter L und Zaugg M (2007a). "**Molecular evidence of late preconditioning after sevoflurane inhalation in healthy volunteers.**" *Anesth Analg* 105(3): 629-640.
- Lucchinetti E, Ambrosio S, Aguirre J, Herrmann P, Harter L, Keel M, Meier T und Zaugg M (2007b). "**Sevoflurane inhalation at sedative concentrations provides endothelial protection against ischemia-reperfusion injury in humans.**" *Anesthesiology* 106(2): 262-268.
- Lum H und Malik AB (1994). "**Regulation of vascular endothelial barrier function.**" *Am J Physiol* 267(3 Pt 1): L223-241.
- Lush CW und Kvietys PR (2000). "**Microvascular dysfunction in sepsis.**" *Microcirculation* 7(2): 83-101.
- Majuran M und Clancy M (2008). "**Determination of the size of the different sepsis categories presenting to a UK teaching hospital emergency department.**" *Emerg Med J* 25(1): 11-14.
- Mangell P, Mihaescu A, Wang Y, Schramm R, Jeppsson B und Thorlacius H (2007). "**Critical role of P-selectin-dependent leukocyte recruitment in endotoxin-induced intestinal barrier dysfunction in mice.**" *Inflamm Res* 56(5): 189-194.
- Manohar M und Parks CM (1984). "**Porcine systemic and regional organ blood flow during 1.0 and 1.5 minimum alveolar concentrations of sevoflurane anesthesia without and with 50% nitrous oxide.**" *J Pharmacol Exp Ther* 231(3): 640-648.
- Marik PE (2005). "**Regional carbon dioxide monitoring to assess the adequacy of tissue perfusion.**" *Curr Opin Crit Care* 11(3): 245-251.
- Maroszynska I und Fiedor P (2000). "**Leukocytes and endothelium interaction as rate limiting step in the inflammatory response and a key factor in the ischemia-reperfusion injury.**" *Ann Transplant* 5(4): 5-11.
- Marshall JC, Christou NV und Meakins JL (1993). "**The gastrointestinal tract. The "undrained abscess" of multiple organ failure.**" *Ann Surg* 218(2): 111-119.
- Matheson PJ und Garrison RN (2005). "**Intravital intestinal videomicroscopy: techniques and experiences.**" *Microsurgery* 25(4): 247-257.
- McCartney AC, Banks JG, Clements GB, Sleigh JD, Tehrani M und Ledingham IM (1983). "**Endotoxaemia in septic shock: clinical and post mortem correlations.**" *Intensive Care Med* 9(3): 117-122.
- Mecher C, Rackow EC, Astiz ME und Weil MH (1991). "**Unaccounted for anion in metabolic acidosis during severe sepsis in humans.**" *Crit Care Med* 19(5): 705-711.
- Menger MD und Lehr HA (1993). "**Scope and perspectives of intravital microscopy--bridge over from in vitro to in vivo.**" *Immunol Today* 14(11): 519-522.
- Merin RG, Bernard JM, Doursout MF, Cohen M und Chelly JE (1991). "**Comparison of the effects of isoflurane and desflurane on cardiovascular dynamics and regional blood flow in the chronically instrumented dog.**" *Anesthesiology* 74(3): 568-574.
- Merin RG, Kumazawa T und Luka NL (1976). "**Myocardial function and metabolism in the conscious dog and during halothane anesthesia.**" *Anesthesiology* 44(5): 402-415.

- Mian R und Marshall JM (1993). "**Effect of acute systemic hypoxia on vascular permeability and leucocyte adherence in the anaesthetised rat.**" *Cardiovasc Res* 27(8): 1531-1537.
- Miller FN, Joshua IG und Anderson GL (1982). "**Quantitation of vasodilator-induced macromolecular leakage by in vivo fluorescent microscopy.**" *Microvasc Res* 24(1): 56-67.
- Miller LS, Morita Y, Rangan U, Kondo S, Clemens MG und Bulkley GB (1996). "**Suppression of cytokine-induced neutrophil accumulation in rat mesenteric venules in vivo by general anesthesia.**" *Int J Microcirc Clin Exp* 16(3): 147-154.
- Miura S, Imaeda H, Shiozaki H, Kurose I, Fukumura D, Tashiro H, Serizawa H, Suematsu M, Sekizuka E und Tsuchiya M (1993). "**Attenuation of endotoxin-induced intestinal microcirculatory damage by eicosapentanoic acid.**" *Am J Physiol* 264(5 Pt 1): G828-834.
- Mizock BA und Falk JL (1992). "**Lactic acidosis in critical illness.**" *Crit Care Med* 20(1): 80-93.
- Mobert J, Zahler S, Becker BF und Conzen PF (1999). "**Inhibition of neutrophil activation by volatile anesthetics decreases adhesion to cultured human endothelial cells.**" *Anesthesiology* 90(5): 1372-1381.
- Morisaki H, Aoyama Y, Shimada M, Ochiai R und Takeda J (1998). "**Leucocyte distribution during sevoflurane anaesthesia.**" *Br J Anaesth* 80(4): 502-503.
- Morisaki H, Suematsu M, Wakabayashi Y, Moro-oka S, Fukushima K, Ishimura Y und Takeda J (1997). "**Leukocyte-endothelium interaction in the rat mesenteric microcirculation during halothane or sevoflurane anesthesia.**" *Anesthesiology* 87(3): 591-598.
- Motsch J, Eppele J, Fresenius M, Neff S, Schmidt W und Martin E (1998). "**[Desflurane versus isoflurane in geriatric patients. A comparison of psychomotor and postoperative well-being following abdominal surgical procedures].**" *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 33(5): 313-320.
- Moudgil GC, Gordon J und Forrest JB (1984). "**Comparative effects of volatile anaesthetic agents and nitrous oxide on human leucocyte chemotaxis in vitro.**" *Can Anaesth Soc J* 31(6): 631-637.
- Muckart DJ und Bhagwanjee S (1997). "**American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients.**" *Crit Care Med* 25(11): 1789-1795.
- Murphy HS, Bakopoulos N, Dame MK, Varani J und Ward PA (1998). "**Heterogeneity of vascular endothelial cells: differences in susceptibility to neutrophil-mediated injury.**" *Microvasc Res* 56(3): 203-211.
- Mutunga M, Fulton B, Bullock R, Batchelor A, Gascoigne A, Gillespie JI und Baudouin SV (2001). "**Circulating endothelial cells in patients with septic shock.**" *Am J Respir Crit Care Med* 163(1): 195-200.
- Navaratnam RL, Morris SE, Traber DL, Flynn J, Woodson L, Linares H und Herndon DN (1990). "**Endotoxin (LPS) increases mesenteric vascular resistance (MVR) and bacterial translocation (BT).**" *J Trauma* 30(9): 1104-1113; discussion 1113-1105.
- O'Dwyer ST, Michie HR, Ziegler TR, Revhaug A, Smith RJ und Wilmore DW (1988). "**A single dose of endotoxin increases intestinal permeability in healthy humans.**" *Arch Surg* 123(12): 1459-1464.
- O'Riordan J, O'Beirne HA, Young Y und Bellamy MC (1997). "**Effects of desflurane and isoflurane on splanchnic microcirculation during major surgery.**" *Br J Anaesth* 78(1): 95-96.

- Oguchi T, Kashimoto S, Yamaguchi T, Nakamura T und Kumazawa T (1995). "**Comparative effects of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane on function and metabolism in the ischaemic rat heart.**" *Br J Anaesth* 74(5): 569-575.
- Osborn L (1990). "**Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation.**" *Cell* 62(1): 3-6.
- Pagel PS, Kampine JP, Schmeling WT und Warltier DC (1991). "**Comparison of the systemic and coronary hemodynamic actions of desflurane, isoflurane, halothane, and enflurane in the chronically instrumented dog.**" *Anesthesiology* 74(3): 539-551.
- Parent C und Eichacker PQ (1999). "**Neutrophil and endothelial cell interactions in sepsis. The role of adhesion molecules.**" *Infect Dis Clin North Am* 13(2): 427-447, x.
- Park KW, Dai HB, Lowenstein E, Darvish A und Sellke FW (1995). "**Oxygen-derived free radicals mediate isoflurane-induced vasoconstriction of rabbit coronary resistance arteries.**" *Anesth Analg* 80(6): 1163-1167.
- Parker SJ und Watkins PE (2001). "**Experimental models of gram-negative sepsis.**" *Br J Surg* 88(1): 22-30.
- Parrillo JE (1993). "**Pathogenetic mechanisms of septic shock.**" *N Engl J Med* 328(20): 1471-1477.
- Pedersen P, Biber B, Martinell S, Seeman T und Hasselgren PO (1984). "**Hemodynamic and hematologic changes in a standardized trauma-sepsis model in rats.**" *Circ Shock* 14(1): 13-23.
- Perry MA und Granger DN (1991). "**Role of CD11/CD18 in shear rate-dependent leukocyte-endothelial cell interactions in cat mesenteric venules.**" *J Clin Invest* 87(5): 1798-1804.
- Piper RD, Pitt-Hyde M, Li F, Sibbald WJ und Potter RF (1996). "**Microcirculatory changes in rat skeletal muscle in sepsis.**" *Am J Respir Crit Care Med* 154(4 Pt 1): 931-937.
- Piper RD, Pitt-Hyde ML, Anderson LA, Sibbald WJ und Potter RF (1998). "**Leukocyte activation and flow behavior in rat skeletal muscle in sepsis.**" *Am J Respir Crit Care Med* 157(1): 129-134.
- Plachinta RV, de Klaver MJ, Hayes JK und Rich GF (2004). "**The protective effect of protein kinase C and adenosine triphosphate-sensitive potassium channel agonists against inflammation in rat endothelium and vascular smooth muscle in vitro and in vivo.**" *Anesth Analg* 99(2): 556-561, table of contents.
- Plachinta RV, Hayes JK, Cerilli LA und Rich GF (2003). "**Isoflurane pretreatment inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in rats.**" *Anesthesiology* 98(1): 89-95.
- Preckel B, Schlack W, Comfere T, Obal D, Barthel H und Thamer V (1998). "**Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on reperfusion injury after regional myocardial ischaemia in the rabbit heart in vivo.**" *Br J Anaesth* 81(6): 905-912.
- Rau S, Kohn B, Richter C, Fenske N, Kuchenhoff H, Hartmann K, Hartle S, Kaspers B und Hirschberger J (2007). "**Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response syndrome and sepsis.**" *Vet Clin Pathol* 36(3): 253-260.
- Redl H, Bahrami S, Schlag G und Traber DL (1993a). "**Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia.**" *Immunobiology* 187(3-5): 330-345.
- Redl H, Nikolai A, Kneidinger R und Schlag G (1993b). "**Endothelial and leukocyte activation in experimental polytrauma and sepsis.**" *Behring Inst Mitt*(92): 218-228.
- Rensing H (2003). "**[Endotoxins. Pathogenetic meaning of sepsis].**" *Anaesthetist* 52 Suppl 1: S7-S13.
- Reutershan J, Chang D, Hayes JK und Ley K (2006). "**Protective effects of isoflurane pretreatment in endotoxin-induced lung injury.**" *Anesthesiology* 104(3): 511-517.

- Rolf N und Van Aken H (1996). "[**The cardiovascular effects of sevoflurane**]." *Anaesthesist* 45 Suppl 1: S14-21.
- Rolf N und Van Aken H (1998). "[**Cardiovascular effects of sevoflurane**]." *Anaesthesist* 47 Suppl 1: S11-18.
- Ruokonen E, Takala J, Kari A, Saxen H, Mertsola J und Hansen EJ (1993). "**Regional blood flow and oxygen transport in septic shock**." *Crit Care Med* 21(9): 1296-1303.
- Sablutzki A, Mann V, Simm A und Czeslick E (2001). "[**Changes in the cytokine network through escalating SIRS after heart surgery**]." *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 36(9): 552-559.
- Sarelius IH und Duling BR (1982). "**Direct measurement of microvessel hematocrit, red cell flux, velocity, and transit time**." *Am J Physiol* 243(6): H1018-1026.
- Sato T, Isoyama T, Tanaka J, Jones RT, Cowley RA und Trump BF (1982). "**The pathophysiology of septic shock: changes in hemodynamics in rats following live E coli injection. An application of the thermodilution method for measurement of cardiac output**." *Adv Shock Res* 7: 25-42.
- Sato W, Enzan K, Masaki Y, Kayaba M und Suzuki M (1995). "[**The effect of isoflurane on the secretion of TNF-alpha and IL-1 beta from LPS-stimulated human peripheral blood monocytes**]." *Masui* 44(7): 971-975.
- Sato W, Enzan K, Mitsuhata H, Masaki Y, Kayaba M und Suzuki M (1996). "[**Effect of sevoflurane on release of TNF-alpha and IL-1 beta from human monocytes**]." *Masui* 45(3): 309-312.
- Schaefer CF, Biber B, Brackett DJ, Schmidt CC, Fagraeus L und Wilson MF (1987). "**Choice of anesthetic alters the circulatory shock pattern as gauged by conscious rat endotoxemia**." *Acta Anaesthesiol Scand* 31(6): 550-556.
- Scheiermann P, Hoegl S, Revermann M, Ahluwalia D, Zander J, Boost KA, Nguyen T, Zwissler B, Muhl H und Hofstetter C (2009). "**Cecal ligation and incision: an acute onset model of severe sepsis in rats**." *J Surg Res* 151(1): 132-137.
- Schindler E und Hempelmann G (1996). "[**Effects of sevoflurane on the area of the liver and spleen**]." *Anaesthesist* 45 Suppl 1: S29-31.
- Schindler E und Hempelmann G (1998). "[**Perfusion and metabolism of liver and splanchnic nerve area under sevoflurane anesthesia**]." *Anaesthesist* 47 Suppl 1: S19-23.
- Schindler E, Muller M, Zickmann B, Kraus H, Reuner KH und Hempelmann G (1996). "[**Blood supply to the liver in the human after 1 MAC desflurane in comparison with isoflurane and halothane**]." *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 31(6): 344-348.
- Schmidt H, Ebeling D, Bauer H, Bach A, Bohrer H, Gebhard MM und Martin E (1995). "**Ketamine attenuates endotoxin-induced leukocyte adherence in rat mesenteric venules**." *Crit Care Med* 23(12): 2008-2014.
- Schmidt H, Ebeling D, Bauer H, Bohrer H, Gebhard MM und Martin E (1996a). "**Influence of the platelet-activating factor receptor antagonist BN52021 on endotoxin-induced leukocyte adherence in rat mesenteric venules**." *J Surg Res* 60(1): 29-35.
- Schmidt H, Schmidt W, Muller T, Bohrer H, Bach A, Gebhard MM und Martin E (1997a). "**Effect of the 21-aminosteroid tirilazad mesylate on leukocyte adhesion and macromolecular leakage during endotoxemia**." *Surgery* 121(3): 328-334.
- Schmidt H, Schmidt W, Muller T, Bohrer H, Gebhard MM und Martin E (1997b). "**N-acetylcysteine attenuates endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo**." *Crit Care Med* 25(5): 858-863.
- Schmidt H, Secchi A, Wellmann R, Bach A, Bohrer H, Gebhard MM und Martin E (1996b). "**Effect of endotoxemia on intestinal villus microcirculation in rats**." *J Surg Res* 61(2): 521-526.

- Schmidt H, Secchi A, Wellmann R, Bohrer H, Bach A und Martin E (1996c). "**Effect of low-dose dopamine on intestinal villus microcirculation during normotensive endotoxaemia in rats.**" *Br J Anaesth* 76(5): 707-712.
- Schmidt W, Hacker A, Gebhard MM, Martin E und Schmidt H (1998). "**Dopexamine attenuates endotoxin-induced microcirculatory changes in rat mesentery: role of beta2 adrenoceptors.**" *Crit Care Med* 26(10): 1639-1645.
- Scholz J (1998). "[**Sevoflurane in pediatric anesthesia. Malignant hyperthermia.**]" *Anaesthesist* 47 Suppl 1: S43-48.
- Scholz J und Tonner PH (1997a). "[**Critical evaluation of the new inhalational anesthetics desflurane and sevoflurane.**]" *Anesthesiol Reanim* 22(1): 15-20.
- Scholz J und Tonner PH (1997b). "[**Desflurane and sevoflurane. An interim balance.**]" *Anaesthesist* 46(9): 816-825.
- Schumacher J, Porksen M und Klotz KF (2001). "**Effects of isoflurane, enflurane, and halothane on skeletal muscle microcirculation in the endotoxemic rat.**" *J Crit Care* 16(1): 1-7.
- Schurmann G (1997). "[**Cell adhesion. Molecular principles and initial implications for surgery.**]" *Chirurg* 68(5): 477-487.
- Serita R, Morisaki H, Ai K, Morita Y, Innami Y, Satoh T, Kosugi S, Kotake Y und Takeda J (2002). "**Sevoflurane preconditions stunned myocardium in septic but not healthy isolated rat hearts.**" *Br J Anaesth* 89(6): 896-903.
- Shasby DM, Shasby SS, Sullivan JM und Peach MJ (1982). "**Role of endothelial cell cytoskeleton in control of endothelial permeability.**" *Circ Res* 51(5): 657-661.
- Shen I und Verrier ED (1994). "**Expression of E-selectin on coronary endothelium after myocardial ischemia and reperfusion.**" *J Card Surg* 9(3 Suppl): 437-441.
- Slama H und Piiper J (1964). "[**Directly Integrated Computer For The Determination Of Cardiac Output With The Thermo-Injection Method.**]" *Z Kreislaufforsch* 53: 322-328.
- Springer TA (1994). "**Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm.**" *Cell* 76(2): 301-314.
- Sprung CL, Sakr Y, Vincent JL, Le Gall JR, Reinhart K, Ranieri VM, Gerlach H, Fielden J, Groba CB und Payen D (2006). "**An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence In Acutely Ill Patients (SOAP) study.**" *Intensive Care Med* 32(3): 421-427.
- Sutton ET, Norman JG, Newton CA, Hellermann GR und Richards IS (1997). "**Endothelial structural integrity is maintained during endotoxic shock in an interleukin-1 type 1 receptor knockout mouse.**" *Shock* 7(2): 105-110.
- Suzuki M, Grisham MB und Granger DN (1991). "**Leukocyte-endothelial cell adhesive interactions: role of xanthine oxidase-derived oxidants.**" *J Leukoc Biol* 50(5): 488-494.
- Suzuki M, Inauen W, Kvietys PR, Grisham MB, Meininger C, Schelling ME, Granger HJ und Granger DN (1989). "**Superoxide mediates reperfusion-induced leukocyte-endothelial cell interactions.**" *Am J Physiol* 257(5 Pt 2): H1740-1745.
- Svensjo E, Erlansson M und van den Bos GC (1990). "**Endotoxin-induced increase in leukocyte adherence and macromolecular permeability of postcapillary venules.**" *Agents Actions* 29(1-2): 21-23.
- Tacke S, Xiong H und Schimke E (1998). "[**Sevoflurane (SEVOrane) as an inhalation anesthetic in dogs in comparison with halothane and isoflurane.**]" *Tierarztl Prax Ausg K Klientiere Heimtiere* 26(6): 369-377.
- Tangelder GJ, Janssens CJ, Slaaf DW, oude Egbrink MG und Reneman RS (1995). "**In vivo differentiation of leukocytes rolling in mesenteric postcapillary venules.**" *Am J Physiol* 268(2 Pt 2): H909-915.

- Theuer CJ, Wilson MA, Steeb GD und Garrison RN (1993). "**Microvascular vasoconstriction and mucosal hypoperfusion of the rat small intestine during bacteremia.**" *Circ Shock* 40(1): 61-68.
- Thiel M, Zourelidis C und Peter K (1996). "[**The role of polymorphonuclear neutrophilic leukocytes in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome (ARDS)**]." *Anaesthesist* 45(2): 113-130.
- Tyther R, Fanning N, Halligan M, Wang J, Redmond HP und Shorten G (2001). "**The effect of the anaesthetic agent isoflurane on the rate of neutrophil apoptosis in vitro.**" *Ir J Med Sci* 170(1): 41-44.
- Tyther R, O'Brien J, Wang J, Redmond HP und Shorten G (2003). "**Effect of sevoflurane on human neutrophil apoptosis.**" *Eur J Anaesthesiol* 20(2): 111-115.
- Ujhelyi MR, Miller AW, Raibon S, Corley J, Robinson VJ, Sims JJ, Tonnessen T, Burke G, Ilebekk A und Rutlen DL (2000). "**Endotoxemia alters splanchnic capacitance.**" *Shock* 14(1): 68-72.
- Van der Linden P, Gilbert E, Engelman E, Schmartz D, de Rood M und Vincent JL (1990). "**Comparison of halothane, isoflurane, alfentanil, and ketamine in experimental septic shock.**" *Anesth Analg* 70(6): 608-617.
- Varadarajan SG, An J, Novalija E und Stowe DF (2002). "**Sevoflurane before or after ischemia improves contractile and metabolic function while reducing myoplasmic Ca(2+) loading in intact hearts.**" *Anesthesiology* 96(1): 125-133.
- Vervloet MG, Thijs LG und Hack CE (1998). "**Derangements of coagulation and fibrinolysis in critically ill patients with sepsis and septic shock.**" *Semin Thromb Hemost* 24(1): 33-44.
- Vestweber D (2000). "**Molecular mechanisms that control endothelial cell contacts.**" *J Pathol* 190(3): 281-291.
- Viana Jda S, Morais J, Castro G, Figueiredo F, Godinho AM, Fonseca P, Freitas M und Providencia LA (1994). "[**Hemodynamic effects of propofene in dogs anesthetized with halothane or isoflurane**]." *Rev Port Cardiol* 13(9): 671-675, 640.
- Walther A, Weihrauch M, Schmidt W, Gebhard MM, Martin E und Schmidt H (2000). "**Leukocyte-independent plasma extravasation during endotoxemia.**" *Crit Care Med* 28(8): 2943-2948.
- Walther A, Yilmaz N, Schmidt W, Bach A, Gebhard MM, Martin E und Schmidt H (2001). "**Methysergide attenuates leukocyte-independent plasma extravasation during endotoxemia.**" *J Crit Care* 16(3): 121-126.
- Weigand MA, Horner C, Bardenheuer HJ und Bouchon A (2004). "**The systemic inflammatory response syndrome.**" *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 18(3): 455-475.
- Weiss DJ und Evanson OA (2002). "**Evaluation of lipopolysaccharide-induced activation of equine neutrophils.**" *Am J Vet Res* 63(6): 811-815.
- Whitworth PW, Cryer HM, Garrison RN, Baumgarten TE und Harris PD (1989). "**Hypoperfusion of the intestinal microcirculation without decreased cardiac output during live Escherichia coli sepsis in rats.**" *Circ Shock* 27(2): 111-122.
- Wiesner G, Schwurzer S, Horauf K und Hobbhahn J (1994). "[**Emergence times, hemodynamics and adverse effects of sevoflurane and isoflurane: an open, randomized, comparative phase iii study**]." *Anaesthesist* 43(9): 587-593.
- Wilhelm W, Kuster M, Larsen B und Larsen R (1996). "[**Desflurane and isoflurane. A comparison of recovery and circulatory parameters in surgical interventions**]." *Anaesthesist* 45(1): 37-46.
- Wojtczak JA (2000). "**The hemodynamic effects of halothane and isoflurane in chick embryo.**" *Anesth Analg* 90(6): 1331-1335.

- Woodman RC, Teoh D, Payne D und Kubes P (2000). "**Thrombin and leukocyte recruitment in endotoxemia.**" Am J Physiol Heart Circ Physiol 279(3): H1338-1345.
- Wort SJ und Evans TW (1999). "**The role of the endothelium in modulating vascular control in sepsis and related conditions.**" Br Med Bull 55(1): 30-48.
- Xu D, Qi L, Guillory D, Cruz N, Berg R und Deitch EA (1993). "**Mechanisms of endotoxin-induced intestinal injury in a hyperdynamic model of sepsis.**" J Trauma 34(5): 676-682; discussion 682-673.
- Xu H, Gonzalo JA, St Pierre Y, Williams IR, Kupper TS, Cotran RS, Springer TA und Gutierrez-Ramos JC (1994). "**Leukocytosis and resistance to septic shock in intercellular adhesion molecule 1-deficient mice.**" J Exp Med 180(1): 95-109.
- Yi ES und Ulich TR (1992). "**Endotoxin, interleukin-1, and tumor necrosis factor cause neutrophil-dependent microvascular leakage in postcapillary venules.**" Am J Pathol 140(3): 659-663.
- Zanetti G, Baumgartner JD und Glauser MP (1997). "**Sepsis and septic shock.**" Schweiz Med Wochenschr 127(12): 489-499.
- Zeintl H, Sack FU, Intaglietta M und Messmer K (1989). "**Computer assisted leukocyte adhesion measurement in intravital microscopy.**" Int J Microcirc Clin Exp 8(3): 293-302.

## 10 Anhang

Laboratorische Vorbereitungen zu den Versuchen

### 10.1 Färbung von Erythrozyten mit PKH-26-GL (Red fluorescent cell linker kit)

Die einzelnen Schritte der Färbung von Erythrozyten zur Bestimmung der Erythrozytengeschwindigkeit in den postkapillären Venolen unter dem Intravitalmikroskop sind im Folgenden kurz dargestellt:

- Entnahme von 2 ml arteriellen Blutes einer Wistar-Spenderratte
- Heparinisierung mit 0,2 ml Heparin (Heparin-Na, Braun Melsungen AG)
- Temperaturgeregeltes (25°C) Zentrifugieren bei 2000 U/Min. für 10 Minuten (Biofuge 15 R-Fa. Haereus, Senatech, Hanau)
- Abpipettierung des Überstandes (Sediment besteht aus Zellmischung von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten; der Erythrozytenanteil beträgt jedoch 95,5%)
- 3-maliges Waschen der Zellen mit 10 ml Alsever-Puffer mit anschließendem 10-minütigem Zentrifugieren und Abpipettieren des Überstandes
- 1-maliges Waschen mit 10 ml Bicine-Puffer mit erneutem 10-minütigem Zentrifugieren und Abpipettieren des Überstandes
- Sofortige Zugabe der Erythrozyten zu 5 µl PKH-26-Linker gemischt mit 1 ml Diluent C (Red fluorescent cell linker kit PKH-26-GL, Sigma Chemical Co.)
- Färbungsvorgang nach 5 min durch Zugabe der äquivalenten Menge 0,9% NaCl stoppen
- 1 Minute Inkubation
- Waschen des Gemisches in 10 ml Bicine-Puffer mit anschließendem Zentrifugieren und Abpipettieren bis der Überstand frei von Farbstoff ist; mindestens jedoch 3mal
- Resuspensionierung der gefärbten Zellen mit 0,9% NaCl-Lösung im gleichen Volumenverhältnis und Zugabe von Citrat-Phosphat-Dextrose (C-7165 Sigma Chemical Co.) im Verhältnis 10:1,4 zur energetischen Versorgung der Erythrozyten für 3-4 Tage, unter Lichtschutz bei 4°C.

Derart gefärbte Zellen besitzen normale rheologische Eigenschaften in der Ratte (Sarelius et al., 1982) und sind über 12 Stunden in vivo stabil (Mithöfer et al., 1995).

Zusammensetzung des Alsever-Puffer

1000 ml      Aqua dest. 20,5 g    Dextrose  
 8,0 g        Zitronensäure [Trisodium salt dihydrate] (C-7254-Sigma Chemical Co.)  
 0,55 g       Zitronensäure [Free acid, anhydrous] (C-0759-Sigma Chemical Co.)  
 Einstellen des pH-Wertes mit NaOH/HCl auf 6,2 und der Osmolarität mit NaCl auf 290 mosmol.

Zusammensetzung des Bicine-Saline-Puffer

1000 ml      Aqua dest.  
 3,264 g      Bicine [N,N-bis(2-hydroxyethyl)glycin] (B-3876-Sigma Chemical Co.)  
 7,815 g      0,9% NaCl  
 10,0 ml      1 N NaOH  
 Einstellen des pH-Wertes auf 8,3 mit NaOH und der Osmolarität mit NaCl auf 290 mosmol.

**10.2 FITC-Albumin**

Fluoreszein – Isothiocyanat - markiertes, bovines Albumin (A-9771-MG 70500 Dalton, Sigma Chemical Co.) wird in einem Verhältnis von 50 mg/kg Körpergewicht in 2 ml Ringerlösung gelöst und auf 37° C vorgewärmt.

Die Injektion erfolgt über einen Zeitraum von 5 Minuten (Kurose, Anderson et al., 1994).

**10.3 LPS-Lösung**

Lipopolysaccharide (LPS) sind Bestandteile der Wand gramnegativer Bakterien, wie zum Beispiel Escherichia coli (E.coli). Sie wurden den Ratten über die gesamte Versuchsdauer infundiert, um eine Sepsis zu induzieren.

Wir verwendeten ausschließlich aus E.coli isoliertes LPS (Serotype 026: B6-Sigma Nr.: L 3755, Sigma Chemical Co.), das in einer kontinuierlichen Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht/h intravenös verabreicht wurde. Um dies zu erreichen, wurden 2 mg LPS in 5ml 0,9% NaCl gelöst und über einen Perfusor (A38445-Compact Infusion Pump Modell 975, Fa. Harvard Apparatus Inc., Southnatick, Massachusetts, USA) mit einer, dem jeweiligen Gewicht der Ratte entsprechenden Geschwindigkeit, injiziert. Die Injektion wurde bei allen Versuchsgruppen gestartet, nachdem die erste Messung erfolgt war.

## 11 Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1.1:	Circulus vitiosus der Endotoxinfreisetzung im Rahmen einer Mukosaschädigung	Seite 7
Abb. 3.1	Intravitalmikroskopie und Auswerteeinheit: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus	Seite 24
Abb. 3.2:	Intravitalmikroskopische Aufnahme der Leukozyten-Endothel-Interaktionen in einer postkapillären Mesenterialvenole	Seite 32
Abb. 3.3:	Intravitalmikroskopische Darstellung der Extravasation in einer Postkapillären Mesenterialvenole zum Zeitpunkt 0 und 120 Minuten	Seite 33
Abb. 4.1:	Herzfrequenz	Seite 39
Abb. 4.2:	Mittlerer arterieller Druck	Seite 40
Abb. 4.3:	Herzzeitvolumen	Seite 41
Abb. 4.4:	Gefäßdurchmesser postkapillärer Venolen	Seite 42
Abb. 4.5:	Erythrozytengeschwindigkeit	Seite 43
Abb. 4.6:	Veränderungen in der Wandscherrate	Seite 44
Abb. 4.7:	Anzahl rollender Leukozyten	Seite 45
Abb. 4.8:	Anzahl der adhärenenten Leukozyten	Seite 46
Abb. 4.9:	Extravasation	Seite 47

## 12 Verzeichnis der Tabellen

Tab. 4.1:	Körpergewichte in den Versuchsguppen	Seite 38
Tab. 4.2:	Blutgasanalyse	Seite 50

## 13 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Allen danken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Herrn Privat-Dozent Dr. Heinfried Schmidt danke ich für die Überlassung des Themas meiner Doktorarbeit.

Herrn Privat-Dozent Dr. Werner Schmidt, der mir stets trotz der Belastung in Klinik und Forschung zur Seite stand, danke ich für seine Ratschläge, Kritik und Anregungen.

Ebenfalls danke ich Frau Professor Dr. M. M. Gebhardt, Leiterin der Abteilung für experimentelle Chirurgie in Heidelberg, sowie ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für die Kooperation und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Privat-Dozentin Dr. Sabine Tacke für die Übernahme der Betreuung und die Durchsicht des Manuskripts.

Desweiteren danke ich Herrn Oliver Wankmüller für die Hilfe bei der Gestaltung dieser Arbeit sowie die Einführung in END NOTE.

Meiner Familie, der ich diese Arbeit gewidmet habe, danke ich für den Beistand und die Geduld, die beide zum Abschluss dieser Promotion in hohem Masse nötig waren.

*édition scientifique*

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5551-9



9

7 8 3 8 3 5 1 9 5 5 1 6