

**Sauerstoffversorgung der Darmschleimhaut in der moderaten Sepsis:
Einfluss von Sympathikus- und Vasopressin-System auf die durch
Hyperkapnie induzierte Verbesserung der Oxygenierung**

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

Sabrina Sandra Cürten

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie und -Biochemie der
Justus-Liebig-Universität Gießen
und
der Klinik für Anästhesiologie
Universitätsklinikum Düsseldorf

**Sauerstoffversorgung der Darmschleimhaut in der moderaten Sepsis:
Einfluss von Sympathikus- und Vasopressin-System auf die durch
Hyperkapnie induzierte Verbesserung der Oxygenierung**

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

Vorgelegt von
Sabrina Sandra Cürten
Tierärztin aus Köln

Köln, 2017

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. Martin Diener
Institut für Veterinär-Physiologie und -Biochemie
Justus-Liebig-Universität Gießen

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. Olaf Picker
Klinik für Anästhesiologie
Universitätsklinikum Düsseldorf

Tag der Disputation: 15.03.2017

Meinen Eltern

Meinem Mann

Inhaltsverzeichnis	I
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 Sepsis	3
2.1.1 Einfluss der Mikrozirkulation	8
2.1.2 Rolle des Magen- Darm- Traktes	11
2.2 Sepsismodelle	12
2.2.1 Lipopolysaccharide- Modell	13
2.2.2 Fäkales Pellet- Modell	13
2.2.3 Impfbakterien- Modell	14
2.2.4 Colon Ligation and Puncture- Modell	14
2.2.5 Colon Ascendens Stent Peritonitis- Modell	15
2.3 Sepsis in der Tiermedizin	16
2.4 Hyperkapnie	19
2.5 Messmethoden der Mikrozirkulation	22
2.5.1 Orthogonal Polarization Spectral Imaging	22
2.5.2 Sidestream Dark Field Imaging	23
2.5.3 Messung der Oxygenierung	23
2.5.4 Spektroskopie	24
2.6 Vasopressinsystem	26
2.7 Sympathikussystem – Hexamethonium	30

3. Material und Methoden	33
3.1 Versuchsaufbau	33
3.2 Versuchsreihe Vasopressininhibitor	39
3.3 Versuchsreihe Hexamethonium	39
3.4 Statistik	41
4. Ergebnisse	42
4.1 Versuchsreihe Vasopressininhibitor	42
4.2 Versuchsreihe Hexamethonium	55
5. Diskussion	69
5.1 Sepsismodell	70
5.2 Messtechnik der regionalen Sauerstoffversorgung des Kolons	71
5.3 Einleitung hyperkapnischer Beatmung	72
5.4 Versuchsreihe Vasopressininhibitor	73
5.5 Versuchsreihe Hexamethonium	77
5.6 Pancuronium	82
5.7 Kontrollgruppen	82
5.8 Übertragbarkeit	83
5.8.1 Messpunkte	83
5.8.2 Sepsismodelle	84
5.9 Schlussfolgerungen	84
6. Zusammenfassung	86

7. Summary	88
8. Anhang	90
8.1 Septic Rat Severity Score	90
8.2 Verlaufsprotokoll	91
9. Verzeichnisse	92
9.1 Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	92
9.2 Verzeichnis verwendeter Abkürzungen	94
9.3 Verzeichnis verwendeter Medikamente und Firmen	95
9.4 Literaturverzeichnis	97
10. Danksagung	105

1. Einleitung

Das Versagen der mikrozirkulatorischen Sauerstoffversorgung, speziell im Magen-Darm-Trakt, spielt eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Sepsis und des Multiorganversagens (Clark and Coopersmith, 2007). In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass eine milde Steigerung des Kohlendioxidgehaltes im Blut (Hyperkapnie) die mikrozirkulatorische Oxygenierung der gastrointestinalen Mukosa sowohl unter physiologischen als auch unter septischen Bedingungen verbessert (Schwartges et al., 2008; Stübs et al., 2013). Die genauen Mechanismen, die diesen Effekt vermitteln, sind weitestgehend unbekannt.

Allem Anschein nach ist im gesunden Organismus sowohl das Vasopressinsystem (Vollmer et al., 2013) als auch das sympathische Nervensystem (Vollmer et al., 2010) an der Vermittlung der Hyperkapnie-induzierten Steigerung der gastrointestinalen Oxygenierung beteiligt.

In ersten Versuchen zur Klärung des Mechanismus wurde die Beteiligung von ATP-sensitiven Kaliumkanälen (K^+_{ATP}) untersucht (Beck et al., 2015). Neben der Vermittlung der Immunantwort in der Sepsis, insbesondere der Neutrophilenmigration, sind die K^+_{ATP} -Kanäle vor allem an der Beeinflussung des Gefäßwiderstands in der Mikrozirkulation von verschiedenen Organsystemen beteiligt. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die ATP-sensitiven Kaliumkanäle nicht an den protektiven Effekten der Hyperkapnie auf die intestinale Mikrozirkulation beteiligt sind (Beck et al., 2015).

In weiteren Versuchen konnten Vollmer et al. zeigen, dass unter physiologischen Bedingungen sowohl das Vasopressinsystem (Vollmer et al., 2013) als auch das sympathische Nervensystem (Vollmer et al., 2010) an der Vermittlung der Hyperkapnie-induzierten Steigerung der gastrointestinalen Oxygenierung beteiligt sind.

Einleitung

Ziel dieser Dissertation ist es daher zu untersuchen, ob auch unter septischen Bedingungen die protektiven Effekte der Hyperkapnie durch das Vasopressinsystem und das sympathische Nervensystem vermittelt werden.

Hierfür wurde eine moderate Sepsis durch Implantation eines 14G-Stents in das *Colon Ascendens* induziert (Stübs et al., 2013) oder eine Sham-Operation an gesunden Kontrolltieren in randomisierter Reihenfolge durchgeführt. Die Tiere wurden im Folgenden entweder normokapnisch oder moderat hyperkapnisch ventiliert.

In zwei unabhängigen Versuchsreihen wurde dann entweder das endogene Vasopressinsystem oder das endogene sympathische Nervensystem blockiert.

2. Literaturübersicht

Das Gebiet der Sepsis, ihrer Diagnose, ihrer Beurteilung und ihrer Behandlung ist von großem Interesse für die aktuelle medizinische Forschung. Sowohl im Bereich der Grundlagenforschung als auch im Bereich der klinischen Forschung ist eine Vielzahl von Studien durchgeführt worden, um die Pathophysiologie der Sepsis zu verstehen und bessere Therapieansätze zu entwickeln. Im Folgenden wird ein Überblick über den aktuellen Stand der Forschung auf dem Gebiet der Sepsis gegeben. Es folgt ein Literaturüberblick in Bezug auf Tiermodelle, Sepsis in der Tiermedizin, diagnostische Bildgebungsverfahren und Hyperkapnie. Im Anschluss werden die für diese Studie relevanten endogenen Regulationssysteme des Vasopressinsystems und des sympathischen Nervensystems und ihr Stand in der Sepsisforschung vorgestellt.

2.1 Sepsis

Die Therapie der Sepsis stellt immer noch eine große Herausforderung in der heutigen Medizin dar. Jährlich wird bei 11 % aller Patienten, die stationär in Krankenhäusern behandelt werden, eine Sepsis diagnostiziert (Vincent et al., 2006). In Deutschland erkranken pro Jahr 79000 Menschen an einer Sepsis. Bei 75000 Patienten jährlich wird eine schwere Sepsis oder ein septischer Schock diagnostiziert. Durch Sepsis bedingte Todesfälle stellen nach akuten Myokardinfarkten (Reinhart et al., 2006) und Tumorleiden die dritthäufigste Todesursache dar (statistisches Bundesamt, ICD-10), wobei die Mortalitätsrate je nach Ausprägung der Sepsisformen zwischen 38 % und 59 % variiert (Engel et al., 2007). Trotz einer Vielzahl vielversprechender therapeutischer Methoden ist die Komplexität der pathophysiologischen Prozesse der Sepsis weiterhin ein wichtiges Forschungsgebiet für das Gesundheitswesen.

Eine Sepsis wird definiert als eine lebensbedrohliche Organdysfunktion aufgrund einer fehlregulierten Körperantwort auf eine Infektion (Singer et al., 2016). Zur Identifizierung einer Organdysfunktion wurden neue Bewertungskriterien eingeführt, die anhand von Laboruntersuchungen und klinischen Daten die

Literaturübersicht

Schwere der Erkrankung festlegen können. Dieser *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA) Score bedient sich Bewertungsparametern wie dem partialen Sauerstoffdruck, dem prozentualen Anteil eingeatmeten Sauerstoffs, der Anzahl an Thrombozyten, dem *Glasgow Coma Score*, der Menge an Bilirubin, dem Grad einer Hypotension sowie einer Kreatininmessung im Urin (Innocenti et al., 2016). Hierbei kennzeichnet eine Punktezahl von ≥ 2 eine Organdysfunktion als Folge einer Infektion.

Zu Beginn kommt es zu einer Interaktion des Körpers mit Mikroorganismen und/oder deren Toxinen. Der Übertritt der Mikroorganismen in die Blutbahn erfolgt nicht nur über offene Wunden, sondern auch durch schwere Belastungen des Organismus oder einzelner Organe. Diese können durch Entzündungen wie z.B. Pankreatitiden oder Pneumonie, aber auch durch Schockzustände, Traumata (Martin, 2012) oder größere Operationen hervorgerufen werden (Spronk et al., 2004) (Abb. 2, S. 8).

Hierbei ist der Anteil der Infektionen, die durch grampositive Bakterien ausgelöst werden, am größten, gefolgt von gramnegativen und gemischt-bakteriellen Mikroorganismen (Dellinger et al., 2013). Auch andere Pathogene wie Pilze (Candida), Viren oder toxische Noxen (z.B. Schwermetalle) konnten nachgewiesen werden (Dellinger et al., 2013; Martin, 2012).

Durch die überschießende immunologische Reaktion des Körpers auf die eindringenden Pathogene bzw. Noxen kommt es im Rahmen einer Sepsis zu einer hochgradigen Aktivierung und Ansammlung von Zytokinen, aktivierten Neutrophilen und Thrombozyten im Blutkreislauf. Es entwickelt sich das sogenannte systemisch inflammatorische Antwortsyndrom (SIRS = *Systemic Inflammatory Response Syndrome*). SIRS ist kein definierter Bestandteil einer Sepsis, ist aber aufgrund seiner Definitionskriterien mit dem Krankheitsbild der Sepsis eng verknüpft (Martin, 2012). Aufgrund ihrer unspezifischen Kriterien und dem nur geringen klinischen Nutzen wurden die SIRS-Parameter im neuesten Sepsis-Konsens 2016 aus der Sepsis Definition gestrichen und dienen lediglich der Diagnose einer Infektion (Singer et al., 2016). Zur schnelleren klinischen Diagnose wurde stattdessen ein *quick Sequential Organ Failure Assessment Score* (qSOFA)

Literaturübersicht

eingeführt, der vorrangig auf die Klinik des Patienten abzielt und sich am mentalen Status, am Blutdruck (≤ 100 mm Hg) oder einer Respirationsrate von ≥ 22 Zügen pro Minute orientiert (Singer et al., 2016).

Auf molekularer Ebene lassen sich vor allem Zytokine zur Beurteilung einer Sepsis heranziehen. Septische Tiere zeigen signifikant höhere Zytokinplasma- Spiegel im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren. Besonders Interleukin-6, Interleukin-10 und der Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) sind relevante reaktive Zytokine (Cohen, 2002; Stübs et al., 2013). Hierbei können einige Zytokine, wie TNF- α , auch als Indikator der Schwere einer Sepsis herangezogen werden (Secher et al., 2009). Diese Ergebnisse decken sich mit den Resultaten aktueller Sepsisstudien am Tiermodell (Herminghaus et al., 2015).

In diesem frühen Sepsisstadium liegt die Mortalitätsrate bei 10-20 % (Martin, 2012). Der Organismus wird hierbei durch Einbußen in der Sauerstoffversorgung geschädigt. Vor allem die Aktivierung des Komplement-Systems, der prokoagulative Effekt des Plasminogenaktivatorinhibitors Typ-1 (PAI-1) und die Freisetzung von Tumor-Nekrose-Faktor- α führen zu Hypoxie und zu einer Hypoperfusion unter anderem durch mikrovaskuläre Verschlüsse. Dies führt zur Freisetzung von Oxidasen aus Endothelzellen und aktivierten neutrophilen Granulozyten. Hierdurch findet in der mitochondrialen Atmungskette eine vermehrte Bildung von Sauerstoffradikalen statt. Diese Sauerstoffradikale und Stickstoffmonoxid, das durch Zytokine aus Endothelzellen freigesetzt wird, verstärken den oxydativen Stress und die fortschreitende Instabilität der Blutgefäße (Cohen 2002).

Neben der gesteigerten Ausschüttung von Stickstoffmonoxid, einem Gasotransmitter mit regulatorischer Wirkung auf die Blutgefäße, ist auch die Aktivität der neuronalen Stickstoffmonoxid-Synthase während einer Sepsis gesteigert (Hauser et al., 2005). Dies führt zu einer vermehrten systemischen Hypotension, kardialer Depression und einer Gefäß-Hyporeaktivität (Quintana, 2004).

In der Folge entwickelt sich eine schwere Sepsis, welche definiert ist durch Organdysfunktion oder Sepsis-bedingte Gewebehypoperfusion. Hierbei liegen

Literaturübersicht

sowohl eine Hypoperfusion als auch eine Hypotension vor. Der Blutlaktatspiegel steigt über den Referenzwert von 4 mg/dl (Dellinger et al., 2013).

Unter der Bezeichnung Septischer Schock versteht man eine Sepsis, bei der die Veränderungen sowohl der Zirkulation als auch zelluläre und metabolische Abnormitäten so schwerwiegend sind, dass die Mortalität wesentlich ansteigt (Singer et al., 2016) und bis zu 80 % betragen kann (Martin, 2012). Klinisch zeigt sich eine persistierende Hypotension, die nur unter Einsatz von Vasopressoren auf ≥ 65 mm Hg gehalten werden kann. Die Serum-Laktat- Werte liegen trotz Flüssigkeitssubstitution bei > 2 mmol/l (Singer et al., 2016).

Infection, documented or suspected, and some of the following:	
General variables	
	Fever ($> 38.3^{\circ}\text{C}$)
	Hypothermia (core temperature $< 36^{\circ}\text{C}$)
	Heart rate $> 90/\text{min}^{-1}$ or more than two SD above the normal value for age
	Tachypnea
	Altered mental status
	Significant edema or positive fluid balance ($> 20\text{ mL/kg}$ over 24 hr)
	Hyperglycemia (plasma glucose $> 140\text{ mg/dL}$ or 7.7 mmol/L) in the absence of diabetes
Inflammatory variables	
	Leukocytosis (WBC count $> 12,000\ \mu\text{L}^{-1}$)
	Leukopenia (WBC count $< 4000\ \mu\text{L}^{-1}$)
	Normal WBC count with greater than 10% immature forms
	Plasma C-reactive protein more than two SD above the normal value
	Plasma procalcitonin more than two SD above the normal value
Hemodynamic variables	
	Arterial hypotension (SBP $< 90\text{ mm Hg}$, MAP $< 70\text{ mm Hg}$, or an SBP decrease $> 40\text{ mm Hg}$ in adults or less than two SD below normal for age)
Organ dysfunction variables	
	Arterial hypoxemia ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
	Acute oliguria (urine output $< 0.5\text{ mL/kg/hr}$ for at least 2 hrs despite adequate fluid resuscitation)
	Creatinine increase $> 0.5\text{ mg/dL}$ or $44.2\ \mu\text{mol/L}$
	Coagulation abnormalities (INR > 1.5 or aPTT $> 60\text{ s}$)
	Ileus (absent bowel sounds)
	Thrombocytopenia (platelet count $< 100,000\ \mu\text{L}^{-1}$)
	Hyperbilirubinemia (plasma total bilirubin $> 4\text{ mg/dL}$ or $70\ \mu\text{mol/L}$)
Tissue perfusion variables	
	Hyperlactatemia ($> 1\text{ mmol/L}$)
	Decreased capillary refill or mottling

Literaturübersicht

Severe sepsis definition = sepsis-induced tissue hypoperfusion or organ dysfunction (any of the following thought to be due to the infection)
Sepsis-induced hypotension
Lactate above upper limits laboratory normal
Urine output < 0.5 mL/kg/hr for more than 2 hrs despite adequate fluid resuscitation
Acute lung injury with $P_{aO_2}/F_{iO_2} < 250$ in the absence of pneumonia as infection source
Acute lung injury with $P_{aO_2}/F_{iO_2} < 200$ in the presence of pneumonia as infection source
Creatinine > 2.0 mg/dL (176.8 μ mol/L)
Bilirubin > 2 mg/dL (34.2 μ mol/L)
Platelet count < 100,000 μ L
Coagulopathy (international normalized ratio > 1.5)

Abb. 1: Kriterien einer Sepsis und einer schweren Sepsis (Dellinger et al., 2013)

WBC = weiße Blutkörperchen, SBP = systolischer Blutdruck, MAP = mittlerer arterieller Blutdruck; INR = internationale normalisierte Ratio; aPTT = aktivierte Partial-Thromboplastin Zeit

Durch die beschriebene überschießende Aktivierung des Immunsystems kann sich in einer Sepsis neben dem SIRS auch ein kompensatorisches anti-inflammatorisches Antwort-Syndrom (CARS) ausbilden. Hier liegt eine erhöhte Vulnerabilität des Organismus gegenüber Sekundärinfektionen vor. Während einer Sepsis bildet der Körper zu seiner Abwehr eine hohe Anzahl von T-Zellen und unspezifischer Makrophagen. Durch diese Abwehrlage sowie durch den Zelltod während der Sepsis gebildeter Lymphozyten entsteht eine grundlegende Abwehrschwäche gegenüber neuerlichen Infektionen. Durch das SIRS und die hochgradige Ausschüttung von Interleukinen ist der Körper immunologisch erschöpft und kann keine Schutzmechanismen im Falle einer neuerlichen Infektion aufbieten (Ward et al., 2008).

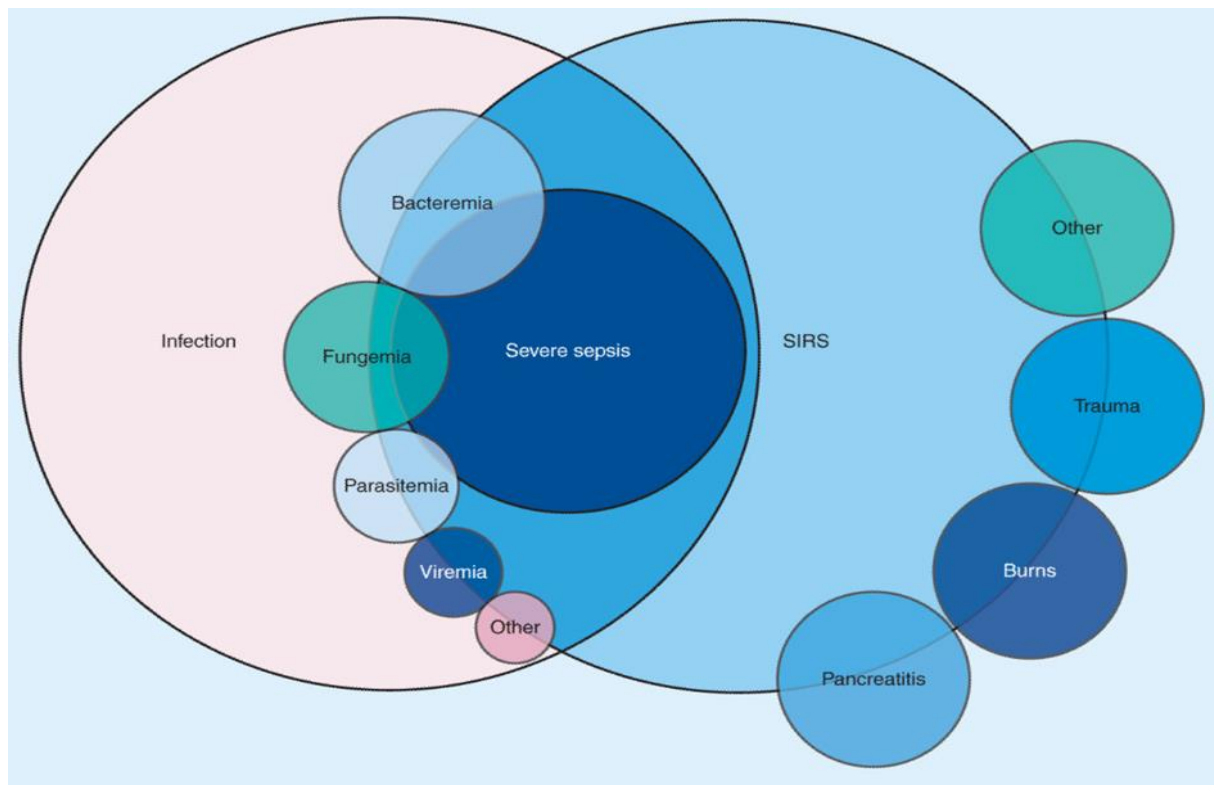


Abb. 2: Verhältnisse zwischen Infektion und SIRS. Die Schnittstelle der körpereigenen Abwehrreaktion und des Eindringens äußerer Noxen bildet die Grundlage zur Entstehung einer Sepsis. Des Weiteren wird die Vielzahl an möglichen Ursachen von Infektion, SIRS und Sepsis dargestellt.

(Martin, 2012)

2.1.1 Einfluss der Mikrozirkulation

Die hochgradige und überschießende Immunantwort führt in einer Sepsis zu einer Beeinflussung des mikrovaskulären Gefäßsystems. Dies geschieht vor allem durch direkte Mediatoren des Immunsystems (Zytokine u.a.) wie auch durch Radikalbildung und durch Immunkomplexablagerungen (Komplexe aus Pathogen und Antigen) in den kleineren Gefäßen des Organismus. Es konnte gezeigt werden, dass für Entwicklung und Ausgang einer septischen Erkrankung hauptsächlich eine gestörte Mikrozirkulation (Ince, 2005; Sakr et al., 2004) und eine eingeschränkte Zellatmung aufgrund mitochondrialer Funktionsstörungen (Brealey et al., 2002) verantwortlich sind. Bei einer gestörten Mikrozirkulation

Literaturübersicht

sind vorrangig Arteriolen, Kapillaren und Venolen, also Gefäße mit einem Durchmesser $< 100 \mu\text{m}$, betroffen. Hier erfolgt nicht nur die Abgabe von Sauerstoff an die Mitochondrien und die Aufnahme von CO_2 , sondern auch die Abgabe von Nährstoffen sowie im Therapiefall von Medikamenten (Ince, 2005). Die gestörte Mikrozirkulation mit konsekutiver Minderversorgung der nachgeschalteten Gebiete ergibt sich zum einen aus der generellen Hypoperfusion in der Mikrozirkulation, aber im Besonderen auch aus einer nachweislichen Heterogenität der kapillären Dichte (Trzeciak et al., 2007). Diese Heterogenität entsteht aus der Nachbarschaft von unregelmäßig oder gar nicht durchströmten Kapillaren zu hyperperfundierten Kapillaren. Durch die Minderdurchblutung kann es zu Gefäßverschlüssen kommen (shunting). Diese Verschlüsse sind Mikrothromben oder genereller Minderdurchblutung mit Gefäßokklusion geschuldet und können im schlimmsten Fall irreversibel sein (Tyagi et al., 2009). Dafür ursächlich ist eine gestörte Koagulation in der Sepsis und die damit verbundene Thrombosierung kleinerer Gefäße.

Der extrinsische Weg der Koagulation wird aktiviert und gleichzeitig werden hemmende Mechanismen heruntergesetzt und das fibrinolytische System unterdrückt. Diese prokoagulative Phase kann zur vermehrten Thrombenbildung führen, somit die Mikrozirkulation per se weiterhin beeinträchtigen und schließlich zu Organschäden führen (Levi et al., 2013).

Durch die oben beschriebenen Prozesse der Immunantwort des Körpers und ihrer Folgen für unterschiedliche Gefäßgebiete kann es zu Organschäden und Organversagen nicht nur des betroffenen Gebietes kommen. Freigesetzte Radikale wirken sowohl im betroffenen hypoxischen Gebiet als auch in anliegenden Organen, ebenso wie sich in kapillären Gefäßen des ganzen Organismus Immunkomplexe ablagern können. Hierdurch werden weitere kapilläre Gebiete in der Blut- und Sauerstoffversorgung eingeschränkt und geschädigt.

Die gebildeten Komplexe aus eintretender Noxe (Antigen) und Proteinen der Immunantwort (Antikörper) können je nach Größe ebenso Kapillaren verschließen. Außerdem können durch Anlagerung der Immunkomplexe an das

Endothel über die Freisetzung weitere Granulozyten und Thrombozyten größere Aggregationen und Thromben entstehen (Delves et al., 2011).

Experimentell konnte die in dieser Weise beeinträchtigte Mikrozirkulation sowohl in Sepsis-Modellen mit intraperitoneal applizierten Endotoxinen als auch bei der intraperitonealen Gabe lebender Bakterien und einer bakteriellen Peritonitis sowohl in Nager-Modellen als auch bei Experimenten mit Großtieren hervorgerufen werden (De Backer et al., 2014). Es konnte gezeigt werden, dass eine heterogene Gefäßversorgung mehr Schaden bei der Gewebeversorgung anrichtet als eine generell verminderte, aber homogene Perfusion (De Backer et al., 2014). Zusätzlich zu der verminderten Versorgung der Zellen mit Sauerstoff durch eine verminderte Perfusion und eine verminderte Gefäßdichte konnte gezeigt werden, dass eine Störung in der Sauerstoffversorgung ebenfalls durch eine veränderte Verarbeitung des Sauerstoffs verursacht wird. Durch inflammatorisch freigesetztes Stickstoffmonoxid (NO) und Sauerstoffradikale werden Enzymkomplexe der Atmungskette in den Mitochondrien gehemmt. Die Atmungskette mit ihrer oxidativen Phosphorylierung ist verantwortlich für über 90 % der gesamten Sauerstoffverarbeitung. Durch diese mitochondriale Funktionsstörung werden betroffene Organe zusätzlich in ihrer Oxygenierung eingeschränkt und geschädigt (Brealey et al., 2002).

Durch die Beteiligung sowohl der Mikrozirkulation als auch der mitochondrialen Dysfunktion am Krankheitsbild der Sepsis wurde in neuerlichen Forschungsprojekten der Begriff des Mikrozirkulatorischen und Mitochondrialen Stress Syndroms (MMDS: *Microcirculatory and Mitochondrial Distress Syndrome*) etabliert. Es kann davon ausgegangen werden, dass sich die mitochondriale Fehlfunktion der mikrozirkulatorischen Störung zeitlich anschließt (Spronk et al., 2005a).

2.1.2 Rolle des Magen-Darmtraktes

Kommt es für den Organismus zu bedrohlichen Situationen wie hochgradigen Entzündungen oder Infektionen wird vorrangig die Blutversorgung lebenswichtiger Organe wie Herz und Gehirn aufrechterhalten. Die Sauerstoffversorgung in anderen Gebieten, wie zum Beispiel im Magen-Darm-Trakt, wird vermindert (Ince, 2005). Vor allem diese beeinträchtigte gastrointestinale Mikrozirkulation führt zu einer erhöhten Mortalität bei septischen Patienten (Sakr et al., 2004).

Daher scheint eine Aufrechterhaltung der gastrointestinalen Mikrozirkulation während einer Sepsis von besonderer Bedeutung zu sein. Die oben beschriebenen Aspekte einer gestörten Mikrozirkulation und ihrer Folgen für Organsystem und Organismus wirken sich durch diese krankheitsbedingte verminderte Magen-Darm-Durchblutung verstärkt auf die Stabilität dieses Organsystems aus.

Somit kommt dem Darm eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der Sepsis zu. Dies ergibt sich aus dem Aufbau des Darmepithels, aus der Struktur des Immunsystems und aus großer Menge intestinaler Bakterien (Clark and Coopersmith, 2007). Es konnte gezeigt werden, dass gerade die Mikrozirkulation des Darmes länger und intensiver vermindert wird als dies bei anderen Organen der Fall ist (De Backer et al., 2002). Zugleich wirkt sich die Immunantwort des Körpers auf pathogene Noxen in der Sepsis negativ auf die Epithelien der Darmwand aus. Freigesetztes NO führt zu Störungen in der Expression und Zielführung von Schlüsselproteinen in *tight junctions* von Ileum und Colon (Han et al., 2004). Die *tight junctions* verlieren hierdurch ihren Zusammenhalt und Bakterien und/oder andere pathogene Noxen können in den Körper eindringen. Während einer Sepsis oder eines septischen Schocks bewirkt die vermehrte Aktivität der neuronalen Stickstoffmonoxid Synthase (NOS) neben der Instabilität der *tight junctions* und damit der Gefäßbarriere auch eine Hemmung der Atmungskette.

Sie sorgt des Weiteren für eine Hypo-Kontraktilität des Magen-Darm-Traktes (Quintana, 2004).

Dieses komplexe Zusammenspiel aus intestinalem Epithel, Darminhalt und intestinalem Immunsystem lässt dem Darm eine Schlüsselrolle in der Pathophysiologie einer Sepsis zukommen (Clark and Coopersmith, 2007).

2.2 Sepsismodelle

Es gibt eine Vielzahl an möglichen Ursachen für eine Sepsis. Neben bakteriellen Infektionen können auch weitere Krankheitsbilder wie Pankreatitiden zu einer Sepsis führen (Abb. 2, S. 8). Bei dieser Dissertation liegt der Fokus auf dem Krankheitsbild einer abdominal verursachten Infektion mit anschließender Sepsis. Hierzu gibt es viele Modelle zur Induktion einer abdominalen Sepsis, variierend je nach Studienschwerpunkt. Die einzelnen Modelle werden im Folgenden sowohl in ihrer Durchführung als auch in ihrer Vergleichbarkeit zur humanen Sepsis dargestellt. Für die folgenden Versuchsprotokolle werden vornehmlich Nagetiere und Hasenartige als Versuchstiere verwendet.

Versuche mit intraabdominaler Sepsis gehen bis in die 1930er Jahre zurück. Damals wurden erstmalig Endotoxine als Schlüsselmoleküle in der menschlichen Sepsis isoliert. Das Endotoxin-Sepsismodell dominierte die Forschung für gut 30 Jahre. Das Modell war mit einer hohen Mortalität der Versuchstiere verbunden.

In den 1960ern kam der Bedarf an der Forschung intraabdominaler Abszesse auf, da deren Behandlung zu dieser Zeit Probleme verursachte (Deitch, 2005). Ein bakterielles Sepsismodell wurde etabliert. Hierbei wurden entweder Fäzes oder definierte Bakterien in das Versuchstier instilliert.

Ab 1980 wurden neue Modelle eingeführt, die bakterielle Kontamination und Gewebeschäden des Darmtraktes kombinieren konnten, wie das Colon Ascendens Stent Peritonitis-Modell, um so die Vergleichbarkeit zur humanen abdominalen Sepsis weiter zu erhöhen (Deitch, 2005).

2.2.1 Lipopolysaccharide (LPS)-Modell

Bei dem LPS-Modell werden dem Versuchstier entweder i.v. oder intraperitoneal Lipopolysaccharide verabreicht, zum Beispiel *E. coli* type O111:B4 (Remick, 2002). Die Lipopolysaccharide als Bestandteile der äußeren Membran gramnegativer Bakterien vermitteln als Pathogen die ausschlaggebende Immunreaktion, die zum SIRS und zur Sepsis führt. Hintergrund der Verwendung lediglich eines Bestandteiles eines Bakteriums statt des Erregers ist, dass man feststellen konnte, dass nicht das Pathogen an sich das Krankheitsbild und die Sterblichkeit der Sepsis bedingt, sondern die Antwort des Körpers auf das Pathogen ausschlaggebend ist. Das Modell ist zwar einfach in der Anwendung (Deitch, 2005; Rittirsch et al., 2006), der entscheidende Nachteil ist jedoch, dass sich zum Beispiel die Zytokinverläufe deutlich von denen in der humanen Sepsis unterscheiden. Die Zytokinspiegel erreichen im Rahmen der humanen Sepsis oder des CASP-Modells später ihren Höhepunkt und sind sichtlich niedriger als im LPS-Modell. Dabei ist vor allem eine vergleichbare inflammatorische Antwort zur humanen Sepsis entscheidend für die Forschung auf dem Gebiet der Sepsis, so dass das LPS-Modell dabei immer seltener angewandt wird (Rittirsch et al., 2006).

2.2.2 Fäkales Pellet-Modell

In diesem Sepsis-Modell wird den Versuchstieren ein Pellet aus Kot und Fibrin oder eine Gelatine-Kapsel i.p. verabreicht, meist versetzt mit Barium, um eine verzögerte Freisetzung zu gewährleisten. Die Kot-Instillation führt zu einem schnellen Tod der Versuchstiere, vor allem ohne Bariumzusatz. Dieses Modell wurde eingeführt, um eine Differenzierung zwischen der Entwicklung einer Peritonitis und einer Abszessbildung zu ermöglichen.

Durch die ungenaue Einschätzung der Bakterienanzahl und -zusammensetzung sowie durch die hohe Mortalitätsrate wird das Modell heute nur noch selten verwendet (Deitch, 2005; Rittirsch et al., 2006).

2.2.3 Impfbakterien-Modell (*Bacterial Inoculum Model*)

Hierbei wird eine bestimmte Menge an Bakterien ebenfalls intraperitoneal injiziert. Meist wird *Escherichia coli* verwendet. Die Bakterienmenge kann mit oder ohne Zusätze (zum Beispiel sterilisiertem Kot) angewandt werden. Ohne Adjuvanz erreicht man eher ein Modell für einen Endotoxinschock, wo hingegen mit Adjuvanz (zum Beispiel sterilisiertem Kot) eher eine Peritonitis erzeugt wird.

Neben *E. coli* wird auch *Bacteroides fragilis* oder die Kombination beider Keime eingesetzt.

Das Impfbakterien-Modell ist dabei wesentlich steuerbarer als das Pellett-Modell.

Die Menge der verabreichten Bakterien korreliert sehr gut mit der Mortalität.

Jedoch kommt es auch beim Impfbakterien-Modell meist zu einer Entwicklung eines intra-abdominellen Abszesses. Intraabdominelle Abszessmodelle sind wenig geeignet, um die Pathophysiologie der häufig letalen humanen intraabdominellen Sepsis widerzuspiegeln (Deitch, 2005).

2.2.4 Colon Ligation and Puncture-Modell (CLP)

Dieses Modell endogener Kotkontamination ist eines der am meisten genutzten Sepsis-Modelle. Hierbei wird der Darm gleich unterhalb der Ileocaecalklappe ligiert und folgend das Caecum mit einer Nadel durchstoßen. Durch das entstandene Loch treten körpereigene Bakterien in die Bauchhöhle ein. Das Modell ist dabei steuerbar durch die Länge des Abschnittes der Ligatur, durch den Durchmesser und durch die Anzahl der Punktionen (Rittirsch et al., 2006).

Eine Modifikation des CLP stellt das Caecal Ligation and Incision Modell (CLI) dar. Auch hierbei werden Caecum und Gefäße des Mesenteriums gleich hinter der Ileocaecalklappe ligiert. Danach erfolgt eine Inzision auf einer Länge von 1,5 cm mittels einer Skalpells-Klinge (Maier et al., 2004; Rittirsch et al., 2006).

Der Fokus liegt beim CLP-Modell auf einer polymikrobiellen Infektion innerhalb der Bauchhöhle gefolgt durch den Übertritt von Bakterien und deren Bestandteilen in die Blutbahn. Hierdurch wird die systemische Entzündungsantwort generiert. Die Zytokinantwort, bestehend vor allem aus IL-6 und TNF- α , entspricht dem

Zytokinmuster in Sepsispatienten (Rittirsch et al., 2008). Generell verursacht das CLP-Modell jedoch ebenfalls eher eine intraabdominale Abszessbildung mit geringer systemischer Inflammation als eine diffuse Peritonitis mit folgender Sepsis (Maier et al., 2004).

2.2.5 Colon Ascendens Stent Peritonitis-Modell (CASP)

Beim CASP-Modell handelt sich ebenfalls um ein Modell endogener Kotkontamination. Ungefähr 1,5 cm distal der Ileocaecalklappe wird ein Stent platziert und mittels Nahtmaterial fixiert (Abb.3, S.16). Über diesen Stent tritt fortlaufend kontraktionsgefördert Kot aus, vergleichbar mit einer undichten Anastomose (Lustig et al., 2007).

Somit wird eine kontinuierliche Leckage erzeugt und dadurch ein permanenter Durchtritt von Fäzes in die Bauchhöhle gewährleistet. Dies führt zu einer diffusen Peritonitis gefolgt von einer frühen und fortschreitenden systemischen Infektion und Inflammation. Dabei spiegelt das CASP-Modell den klinischen Verlauf einer Anastomoseninsuffizienz mit folgender abdominalen Sepsis wider (Maier et al., 2004).

Das zeigt sich auf der einen Seite in den Zytokinverläufen, die mit der humanen Sepsis zu vergleichen sind. Auch sind klinische Schädigungsmuster wie akute Lungenschäden, renales Versagen und Fehlfunktionen im Knochenmark ähnlich denen bei humaner Sepsis (Rittirsch et al., 2006).

Die Mortalität und die Ausprägung der Sepsis ist durch die Stent-Größe beeinflussbar (Herminghaus et al., 2015; Stübs et al., 2013). Bei der Verwendung eines 14G Stent Durchmessers wird eine Überlebensrate von 65-70 % nach 24 h angegeben je nach Untersucher und Nagetier (Lustig et al., 2007; Stübs et al., 2013). Die Durchführung der Operation ist leicht zu standardisieren, ein geübter Chirurg benötigt hierfür eine Viertelstunde.

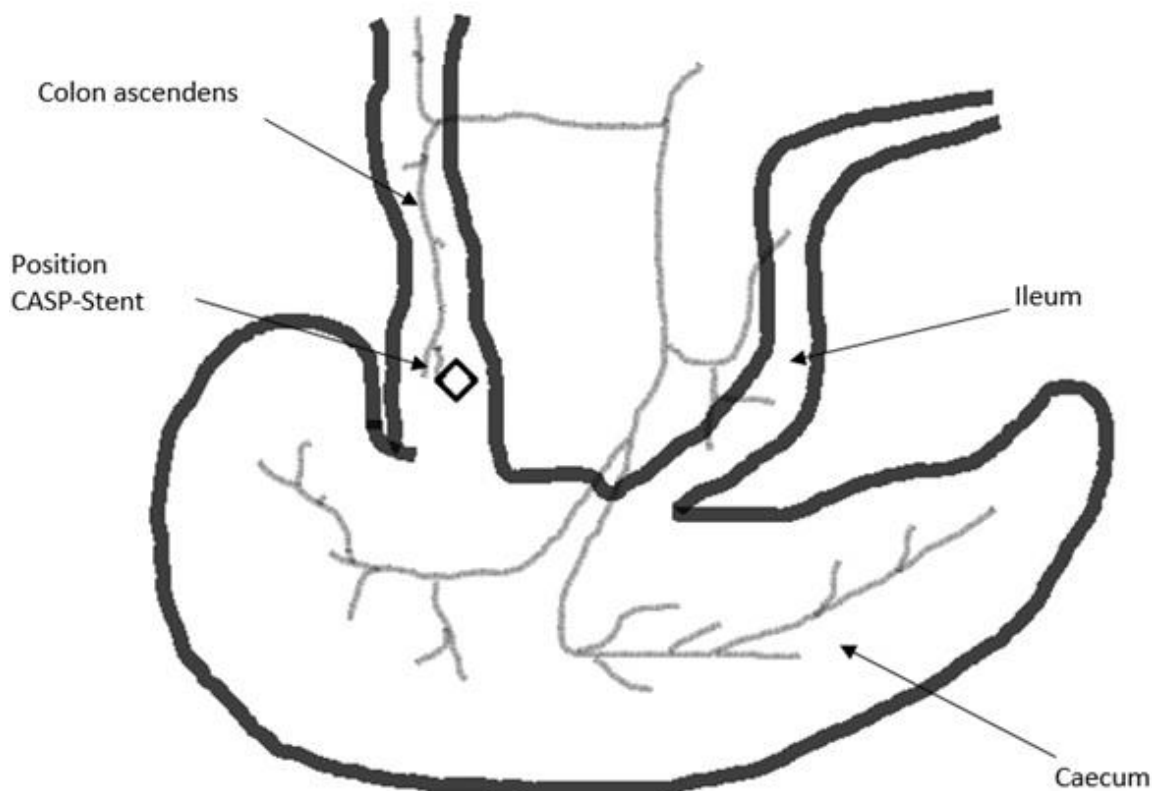


Abb.3: Abbildung der Stent-Position circa 1 cm distal der Ileocaecalklappe. Modifiziert aus *Anatomy of Laboratory Rat*, Rudolf Hebel and M.W. Stromberg, 1976.

2.3 Sepsis in der Tiermedizin

Sepsis ist auch in der Veterinärmedizin ein verbreitetes Krankheitsbild. Die Hauptursache für Sepsis bei Katzen und Hunden ist die Peritonitis (Otto, 2007). Dabei ist bei Hunden mit mehr als 50 % aller Sepsisfälle eine Gebärmuttervereiterung die häufigste Grunderkrankung (Karlsson et al., 2013). Eine retrospektive Studie zeigte, dass sich bei Tieren mit einer Sepsis gastrointestinale Symptome sowie Anorexie als häufigste Vorberichte fanden (Greiner, 2006). Nach dieser Studie wurden bei 88,6 % der septischen Hunde Monoinfektionen festgestellt. Haupterreger waren in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit: Staphylokokken Subspezies, *E. coli* und Streptokokken Subspezies. Bei der Katze waren es Enterobacteriaceae gefolgt von Staphylokokken Subspezies und Streptokokken Subspezies (Greiner, 2006).

Literaturübersicht

Ebenso wie in der Humanmedizin wird auch in der Tiermedizin zwischen verschiedenen Kategorien unterschieden. Anhand klinischer und immunologischer Parameter wird die SIRS von der Sepsis differenziert (DeClue and Delgado, 2011; Otto, 2007).

Ähnlich wie auch beim Menschen wird der Interleukinantwort eine Schlüsselrolle auch zur Diagnose- und Prognosestellung zugesprochen, in der Veterinärmedizin vorrangig Interleukin-6. IL-6 ist hierbei ein aussagekräftiger Parameter zur Beurteilung von SIRS und Sepsis in Bezug auf Schweregrad und Mortalität (Rau, 2007).

Genaue klinische Parameter zur sicheren Einteilung und Schwere sind noch nicht festgelegt. Das American College of Veterinary Emergency & Critical Care (ACVECC), das American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) und die Veterinary Emergency & Critical Care Society (VECCS) führten Studien über die Diagnose und Behandlung der Sepsis bei Hund, Katze und Pferd durch. Allerdings war hierbei die Fallzahl der Pferdepatienten zu gering. Bei den Kleintieren ergab sich eine Inzidenz von 1-5 % bei Katzenkrankheitsfällen und 6-10 % bei Hundefällen. Die durchschnittliche Überlebensrate lag bei 25-50 % bei Hunden und 10-25 % bei Katzen. Allerdings reichten auch hier die gesammelten Daten nicht für ein aussagekräftiges Gutachten aus (Otto, 2007). Bisweilen orientiert man sich an den humanmedizinischen Vorgaben.

Bei der Einteilung der SIRS gibt es abweichende Kriterien:

TABLE 1				VETERINARY MEDICINE
SIRS Criteria for Cats, Dogs, and People (patient must exhibit two of the criteria)				
Criteria	Cats*	Dogs**	People***	
Temperature (F)	> 103.5 < 100	> 102.6 < 100.6	>100.4 < 96.8	
Heart rate (beats/min)	> 225 < 140	> 120	> 90	
Respiratory rate (breaths/min)	> 40	> 20	> 20	
White blood cell count	> 19,500 < 5,000	> 16,000 < 6,000	> 12,000 < 4,000	

*Source: Brady CA, Otto CM, Van Winkle TJ, et al. Severe sepsis in cats: 29 cases (1986-1998). *J Am Vet Med Assoc* 2000;217(4):531-535.

**Source: Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet Surg* 1997;26(5):393-397.

Abb. 4: SIRS Kriterien in der Tiermedizin im Vergleich zum Menschen (Otto, 2010).

Das Hauptproblem in der Tiermedizin stellt die klinische Diagnose der Sepsis dar. Häufig wird eine Sepsis nicht erkannt oder, orientiert man sich an Diagnosekriterien, falsch-positiv bewertet (Hauptmann, 1997; Otto, 2007).

Dies liegt an einer extremen Heterogenität der Ursachen und auch an Rasseunterschieden innerhalb der unterschiedlichen Tierarten. So konnte in einer Studie zur Zytokin-Antwort in Hunden bei Rottweilern und Dobermännern eine wesentlich spezifischere Zytokinantwort beobachtet werden als in Mischlingshunden (Otto, 2007).

Hauptanliegen in der Veterinärmedizin ist zusammengefasst die genaue Erforschung der Sepsisparameter, wie zum Beispiel des SOFA-Scores in der Humanmedizin. Durch eine genauere Definition dieser Parameter könnte eine Sepsis früher erkannt, adäquat behandelt und so die Mortalität verringert werden.

2.4 Hyperkapnie

Der Begriff der Hyperkapnie beschreibt eine erhöhte Konzentration von Kohlendioxid (CO_2) im Blut. Grundlegend liegt CO_2 im Blut physikalisch gelöst, chemisch gebunden als HCO_3^- und Carbaminohämoglobin vor. In physikalischer gelöster Form diffundiert CO_2 durch Zellmembranen und Kapillarwände. Unter physiologischen Bedingungen wird die CO_2 -Konzentration im Körper durch die Atmung konstant gehalten ($0,026 \text{ ml CO}_2/\text{ml Blut}$, entspricht einem arteriellen CO_2 -Partialdruck (pCO_2) von $40 \pm 5 \text{ mm Hg}$).

Ab einem $\text{pCO}_2 > 45 \text{ mm Hg}$ spricht man von einer Hyperkapnie (Breves and von Engelhardt, 2005). Ursprünglich wurde es vermieden, eine Hyperkapnie bei Patienten zu erzeugen, da man die negativen Effekte durch die respiratorische Azidose auf Enzyme andere Körperfunktionen vermeiden wollte.

In der Behandlung eines akuten respiratorischen Stress Syndroms (*ARDS: Acute Respiratory Distress Syndrome*) und einer akuten Lungenverletzung (*ALI: Acute Lung Injury*) werden jedoch immer häufiger kleine Tidalvolumina angewandt, um den beatmungsassoziierten Lungenschaden zu minimieren und die Mortalität zu reduzieren. In Folge dessen muss häufig ein erhöhter CO_2 -Partialdruck akzeptiert werden. Dies führt zu einer permissiven Hyperkapnie mit einhergehender hyperkapnischer Azidose (Costello et al., 2009; Ijland et al., 2010).

Neuere Forschungen zeigen, dass die bislang nur tolerierte Hyperkapnie positive Effekte auf die Mikrozirkulation und Gewebeoxygenierung haben kann. (Kavanagh and Laffey, 2006). Eine moderate Hyperkapnie bewirkt eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve (Abb. 5, S. 20), welche über den Bohr-Effekt zu einer Verbesserung der Sauerstoff-Freisetzung in Geweben führt (Ijland et al., 2010).

Hyperkapnie steigert ebenfalls die Sauerstofftransportfähigkeit sowohl bei kurzzeitiger (Edul et al., 2012) also auch bei langandauernder Steigerung des pCO_2 (Ramirez et al., 2000).

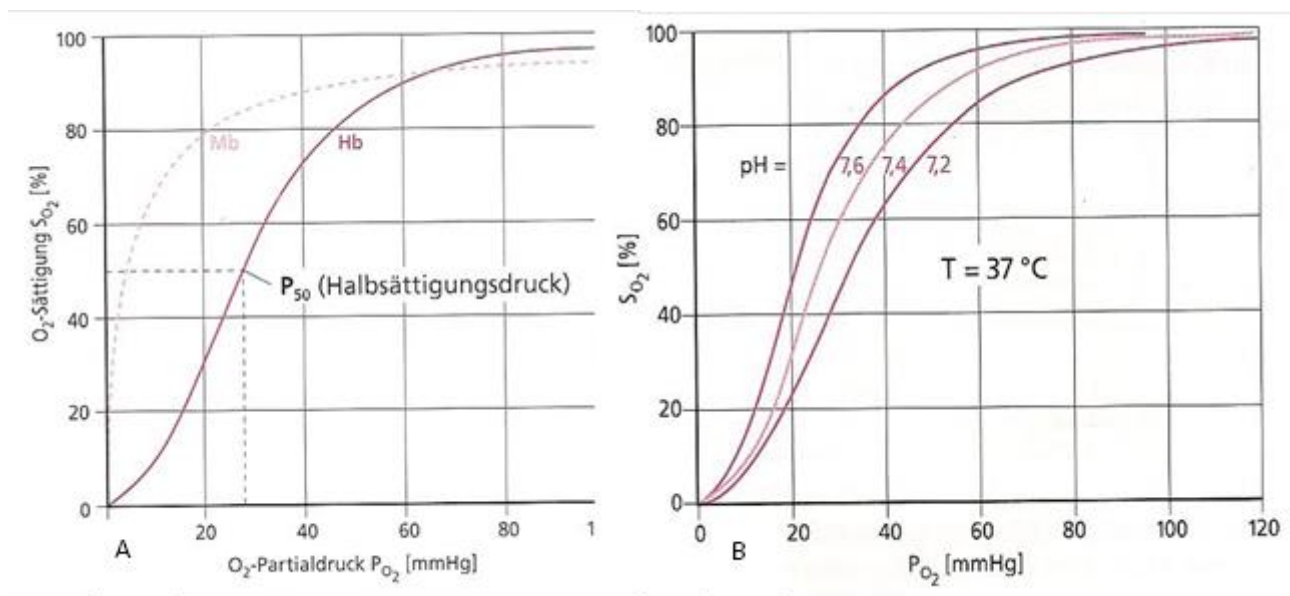


Abb.5: A Sauerstoffbindungskurve von Hämoglobin (Hb) und Myoglobin (Mb), O_2 -Affinitäten werden durch den Halbsättigungsdruck P_{50} charakterisiert (27 mm Hg bei menschlichem Blut)

B O_2 -Bindungskurve bei verschiedenen pH-Werten. pH- Abnahme bewirkt Rechtsverschiebung (Bohr-Effekt) (Breves and von Engelhardt, 2005)

Die Verwendung einer moderaten Hyperkapnie unterliegt einem geringen Risiko von Schädigungen durch den erhöhten CO_2 -Gehalt oder durch Azidose, solange keine kraniale Hypertension oder kardiale Instabilität vorliegen (Swenson, 2010). Eine moderate Hyperkapnie bewirkt indes sogar positive Effekte: Durch eine Hyperkapnie-bedingte Azidose und dem damit einhergehenden erniedrigten pH und intrazellulär erhöhter H^+ -Konzentration wird das elektrochemische Membranpotential verändert. Diese Veränderung ist wahrscheinlich beteiligt an verändertem Ionentransport durch Membranen, reduzierter Enzymaktivität, Hemmung von Apoptose und Veränderungen in der Gentranskription (Kregenow and Swenson, 2002). Durch die Absenkung des Blut-pHs als Folge des erhöhten CO_2 -Gehaltes kommt es zu einer Veränderung in der mRNA und folglich zu veränderter Proteinsynthese. Dies führt zu einer supprimierten Synthese von Adhäsionsmolekülen und Interleukinen und zur verminderten Ausschüttung des $TNF-\alpha$. Der verminderte pH reduziert des

Weiteren die Bildung von O₂-Radikalen und durch die Modulation des Immunsystems die Freisetzung von NO (Kavanagh and Laffey, 2006; Laffey et al., 2000; O’Croinin et al., 2004). Allerdings kann diese Hemmung der Immunantwort zu dem schon beschriebenen kompensatorischen anti-inflammatorischen Antwort-Syndrom nach überstandener Sepsis führen (Warner, 2010).

Durch die oben beschriebenen Veränderungen und Modulationen der Immunantwort kann auch die Mikrozirkulation positiv beeinflusst bzw. geschützt werden.

Bei Studien mit gesunden Menschen und Experimente mit gesunden Schweinen konnte eine Verbesserung der Sauerstoffversorgung in der Subkutis während Hyperkapnie dokumentiert werden (Ratnaraj et al., 2004; Wang et al., 2008). Beim Schwein wurde dieser Effekt auch deutlich bei Messungen an der Darmschleimhaut festgestellt (Ratnaraj et al., 2004). Bei Messungen an der Magenschleimhaut gesunder Hunde konnte ebenfalls eine Verbesserung der Oxygenierung festgestellt werden (Schwartges et al., 2008).

Die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf den Krankheitsfall konnte sowohl bei Schafen nach Induktion einer Peritonitis-Sepsis (Wang et al., 2008) als auch bei septischen Ratten nach CASP-Operation (Stübs et al., 2013) nachgewiesen werden. Letztere Studie zeigte auch, dass Hyperkapnie bei der septischen Ratte keinen Einfluss auf die Zytokin-Ausschüttung zu haben scheint. In einer Arbeit mit Sepsis-induzierten Ratten nach CLP-Operation ergaben sich ebenfalls positive Effekte aus Hyperkapnie und Acidose, wie die Verringerung der Entwicklung und des Schweregrades einer Hypotension, eine Reduktion der Laktatplasmaspiegel sowie eine Verminderung der Oxyhaemoglobinkonzentration im venösen Blut (Costello et al., 2009).

Der genaue Wirkmechanismus der Hyperkapnie und ihrer Effekte bleibt weitestgehend unbekannt.

2.5 Messmethoden der Mikrozirkulation

Zur Messung der Mikrozirkulation ist es erforderlich, direkte Messtechniken zu verwenden, da die Mikrozirkulation unabhängig von der Makrozirkulation verändert sein kann (Ince and Mik, 2016). Konventionell messbare systemische Parameter der Hämodynamik und Sauerstoffversorgung können Veränderungen in der Mikrozirkulation unzureichend bis gar nicht detektieren. Spronk et al. konnten zeigen, dass eine Stabilisierung des systemischen Blutdrucks nicht zu einer Verbesserung der mikrozirkulatorischen Durchblutungsverhältnisse führen muss (Spronk et al., 2004).

Einschränkungen in der Mikrozirkulation spielen, wie oben beschrieben, eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Sepsis und des Multiorganversagens (Ince, 2005). Daher ist es wichtig, zuverlässig mikrovaskuläre Veränderungen feststellen und hinsichtlich ihrer Auswirkungen beurteilen zu können.

2.5.1 Orthogonal Polarization Spectral (OPS) Imaging

Bei der OPS Bildgebung entstehen hoch-contrastreiche Bilder ohne die Nutzung von fluoreszierenden Stoffen. Basis dieser Technik ist die Reflexion eingesandten Lichtes durch Gewebe (Spronk et al., 2004). Dabei wird das Licht auf eine Fläche von ungefähr 1 mm Durchmesser gelenkt. Durch Polarisierung des Lichtes gelingt eine geordnete Ausbreitungsrichtung auf den gewünschten Bereich. Ist die Wellenlänge auf das Spektrum der Hämoglobin-Absorption eingestellt, ergibt das reflektierte und detektierte Licht nach Wiederaustritt aus dem Gewebe ein Maß für die Qualität der Mikrozirkulation (Groner et al., 1999). Dadurch kann sowohl die Gefäßdichte als auch die Perfusion der dargestellten Gefäße bestimmt werden (Alejandro, 2010). Diese Messtechnik findet häufig Anwendung in der humanen Sepsisforschung, wo sie in der Regel sublingual angewandt wird (De Backer et al., 2002). Dabei besteht eine Korrelation zwischen den Messungen der

Mikrozirkulation unter der Zunge und den Messungen im Magen-Darm-Trakt (Boerma et al., 2007; Verdant et al., 2009). Jedoch ist gerade zu Beginn der Sepsis ein Rückschluss von sublingualer auf intestinale Sauerstoffversorgung nicht möglich (Boerma et al., 2007). Bessere Vergleichbarkeit erhält man zwischen bukkaler sowie sublingualer Messung und Messungen im Magenbereich (Fries et al., 2006).

2.5.2 Sidestream Dark Field (SDF) Imaging

Bei dieser Messtechnik sind der kapillare Kontrast und die Bildqualität im Vergleich zu OPS signifikant verbessert worden (Goedhart et al., 2007). Die Messsonde besteht aus einem Ring LEDs. Es werden stroboskopisch Lichtimpulse in das Gewebe geschickt. Bei einer Wellenlänge von 530 nm wird das Hämoglobin der Erythrozyten bildlich dargestellt. Die Erythrozyten erscheinen als dunkle Zellen. Die Dunkelfeld-Belichtung erfolgt seitlich, so dass Reflexionen der Oberfläche vermieden werden können (Ince, 2005). SDF wird wegen der guten Bildqualität und der guten Demonstration der Mikrozirkulation zunehmend in der Sepsisforschung eingesetzt (Filbin et al., 2014).

2.5.3 Messung der Oxygenierung

Der Ursprung der Messung von Gewebeoxygenierung findet sich in der Entwicklung einer Sauerstoffelektrode. Clark entwickelte eine Elektrode, die, ins Gewebe eingeführt, in einem Umkreis von 15 µm den Sauerstoffgehalt messen kann (Ince and Mik, 2016). Diese Methode war maßgebend für die Erforschung der Gewebeoxygenierung und ihrer Veränderungen. Durch die auftretenden Mikrotraumata durch das Einführen der Sonde und den recht kleinen Messbereich wurden weitere Methoden entwickelt, die nicht invasiv die Oxygenierung bestimmen konnten. Hierfür wurde von Wilson und Mitarbeitern sauerstoffdetektierendes Blei-Porphyrin intravenös appliziert. Dieser Farbstoff bindet an Albumin, so dass der Farbstoff im intravaskulären Raum verbleibt.

Mittels gepulstem Lichts konnte der Verlust an Phosphoreszenz über die Zeit mit Hilfe der Stern-Volmer-Gleichung (Abhängigkeit von Intensität einer Fluoreszenz zur Konzentration des fluoreszierenden Stoffes) gemessen werden. Dadurch konnte eine spezifische Messung von regionalem Sauerstoff erfolgen (Ince and Mik, 2016). Mittels dieser Methode kann zusätzlich auch eine heterogene Verteilung an Gefäßen erfasst werden. Da für diese Methode der Farbstoff in größerer Menge intravenös gegeben werden muss ist die Methode auf tierexperimenteller Ebene eingeschränkt, um Hyperinfusionen zu verhindern. Auch schränkt die Bereitstellung komplexer Phosphorimeter die Anwendung dieser Methode stark ein (Ince and Mik, 2016).

Zur Messung regionaler Oxygenierung wurden weitere Methoden entwickelt, die nicht-invasiv in bestimmten Interessengebieten die Sauerstoffversorgung messen können.

2.5.4 Spektroskopie

Zur Messung der regionalen Oxygenierung von Geweben wird die Messmethode der Spektroskopie angewandt. Hier werden vor allem die Techniken der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS = Near Infrared Spectroscopie) und die Reflexionsspektroskopie in der Forschung sowie auch am Krankenbett verwendet. Im Rahmen dieser Dissertation wurde ein Messgerät zur Reflexionsspektroskopie (O2C: Oxygen to see) verwandt. Diese Messmethode wird daher im Folgenden genauer beschrieben.

Mittels Laserlicht mit einer Strahlungsleistung von > 30 mW (Wellenlänge 820 nm) wird der Blutfluss im Gewebe gemessen. Durch die Bewegung vor allem der Erythrozyten und anderer Blutzellen erfolgt eine Doppler-Verschiebung im detektierten Licht. Die Blutflussgeschwindigkeit und der Blutfluss (μflow) werden aus dem Dopplershift der gemessenen Lichtmenge errechnet.

Mittels der Weißlichtspektroskopie wird Weißlicht (Wellenlänge 450-1000 nm) in das Gewebe entsandt. Das Licht wird an Mitochondrien gestreut und hiernach auf einem statistisch bedingten Weg durch das Gewebe geleitet. Auf diesem Weg wird das Licht in seiner Farbe verändert und kann mittels dieser Farbveränderungen

Literaturübersicht

Informationen zur Gewebeoberfläche bringen. So können über die Farbe des Blutes im Messvolumen Aussagen über die Sättigung des Blutes mit O₂ getroffen werden. Vollständig gesättigtes Hämoglobin hat eine hellrote Farbe, die mit sinkender Sättigung immer dunkler wird. So können Oxygenierungsveränderungen von 100 % SO₂ zu 0 % SO₂ ausgewertet werden. Diese Prozentangaben entsprechen absolut der Beladung des Hämoglobins mit Sauerstoff. Neben der Farbveränderung können über die Lichtabschwächung auch Aussagen über die Gewebebeschaffenheit getroffen werden. Mittels dieser Lichtabsorption kann die lokale Hämoglobinmenge bestimmt werden. Je intensiver die Farbwiedergabe desto höher ist der Hämoglobinanteil im Gewebe. Hierdurch kann die in den mikrovaskulären Gefäßen vorhandene Blutmenge bestimmt werden (Krug, 2007).

Zur Bestimmung von Sauerstoffsättigung und Hämoglobinwerten werden meist Wellenlängenbereiche von 500 bis 630 nm herangezogen. Hierbei liegt die Detektionstiefe bei ungefähr 2 mm. In Bereichen von 650 bis 800 nm kann die Detektionstiefe bis zu 15 mm betragen (Krug, 2007). Die Messsonden erfassen Blutgefäße mit einem Durchmesser < 100 µm, da in Gefäßen größeren Diameters Licht vollständig absorbiert wird (Sakr et al., 2010).

rHB bezeichnet hierbei die relative Hämoglobinmenge und ist somit ein Maß für die Füllung der Venolen mit Blut (Krug, 2007).

Durch die Messungen des O₂C kann die *mikrovaskuläre Sauerstoffversorgung* (μHBO_2) der Darmmukosa aufgezeichnet werden. Da sich annähernd 85 % des Blutvolumens der Mikrozirkulation in den Blutgefäßen des venösen Systems befinden, wurde vor allem die venöse Sauerstoffsättigung gemessen. Das ist der Bereich, der am ehesten von einer Sauerstoffminderversorgung in der Sepsis betroffen wird (Sakr et al., 2010).

Mit Hilfe der Spektroskopie ist es folglich möglich, neben der Menge an Hämoglobin auch die Oxygenierung des gemessenen Bereiches zu messen.

2.6 Vasopressinsystem

Vasopressin (auch *Antidiuretisches Hormon*) ist ein Peptidhormon. Trotz des beschreibenden Namens hat Vasopressin sowohl vasokonstriktive als auch vasodilatative Eigenschaften. Synthetisiert im Hypothalamus ist es essentiell für die osmotische und kardiovaskuläre Homöostase. Es existieren 3 unterschiedliche Vasopressin-Rezeptoren.

Der V_1 -Rezeptor (auch V_{1A} -Rezeptor) kommt in hoher Dichte in der glatten Gefäßmuskulatur vor. Bei Stimulation des V_1 -Rezeptors wird vor allem die Kontraktilität von Arteriolen beeinflusst. Hierbei vermittelt Vasopressin selektiv die Kontraktionen in den efferenten Arteriolen durch intrazellulär erhöhten Calcium-Einstrom. Afferente Arteriolen bleiben unbeeinflusst (Holmes et al., 2004).

Man findet V_1 -Rezeptoren ebenfalls im Gehirn, Hoden, den oberen Halsganglien, der Leber, in Blutgefäßen und der Nierenmedulla. In vielen dieser Gewebe ist die genaue Physiologie von Vasopressinrezeptoren noch unbekannt. In der Niere wirkt Vasopressin vermindern auf den inneren medullären Blutfluss, ohne den des Markbereiches zu beeinflussen.

Auch auf Thrombozyten findet sich der V_1 -Rezeptor. Wird er stimuliert, so fördert er die Entstehung einer Thrombose erneut durch vermehrten Calciumeinstrom in umliegende Zellen, so dass die Bildung von Thromboxan A_2 stimuliert wird (Filbin et al., 2014).

Das Vasopressin-System der Ratte ist dabei nahezu identisch mit dem des Menschen, jedoch variiert der V_1 -Rezeptor um 20 % zwischen diesen beiden Spezies (Hoyle, 1999).

Der V_2 -Rezeptor vermittelt den antidiuretischen Effekt des Vasopressins. Das Hormon erhöht die osmotische Wasserpermeabilität im renalen Sammelrohr und steigert die Reabsorption. Eine geringgradige Expression des V_2 -Rezeptors wird auch auf Endothelien vermutet.

Der V₃-Rezeptor (auch V_{1B}-Rezeptor) wird in der Hypophyse exprimiert. Über diesen Rezeptor vermittelt Vasopressin eine vermehrte Ausschüttung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) (Holmes et al., 2003). Dadurch wird eine Freisetzung von u.a. Glukokortikoiden, den „Stresshormonen“ des Körpers, aus der Nebenniere stimuliert. Des Weiteren nimmt Vasopressin über ACTH auch an der Stabilisierung des Flüssigkeitshaushalts teil. Beide Wirkungen nehmen eine entscheidende Rolle in der Reaktion des Körpers auf einen Schock ein.

Zu Beginn einer Sepsis können hohe Level an Vasopressinkonzentrationen im Plasma gemessen werden. Dies konnte sowohl in humanen als auch in Tierstudien gezeigt werden (Asfar et al., 2003a; Landry and Oliver, 2001; Schaller et al., 1985). Die initial hohen Werte mit gesteigerter Vasopressinproduktion fallen mit der Zeit zum Teil rapide ab, so dass es zu einer Erschöpfung des körpereigenen Vasopressinpools mit konsekutivem vasodilatatorischem Schock kommen kann (Landry and Oliver, 2001). Durch den vasodilatatorischen Schock und die resultierende Minderdurchblutung kommt es in der Folge zu neuralem Zelluntergang und einer gesteigerten Synthese von NO der betroffenen Zellen. NO wiederum verhindert eine neuerliche Vasopressinsynthese und auch -ausschüttung (Landry and Oliver, 2001). Der Organismus zeigt in dieser Phase eine Hypersensitivität gegenüber exogen zugeführtem Arginin-Vasopressin (Chen et al., 1999), um der Vasodilatation und schockbedingten Zentralisierung des Blutes entgegen zu wirken.

Diesem Ansatz folgend wurden Studien durchgeführt, in denen bei Sepsispatienten mit niedrigem Vasopressinspiegel exogenes Vasopressin substituiert wurde. Hierdurch konnte vasodilatatorischen Effekten entgegengesteuert werden. Jedoch führte die induzierte Vasokonstriktion vor allem im Magen-Darm-Trakt zu einer Minderdurchblutung (Knotzer et al., 2006).

Weitere Studien zeigten, dass in Bezug auf die Mikrozirkulation Vasopressin dosisabhängig nicht nur eine Vasokonstriktion sondern auch eine Vasodilatation zu vermitteln scheint (Holmes et al., 2004). Durch diesen Wirkmechanismus kann es zu einer Blutumverteilung zu Gunsten der intestinalen Durchblutung kommen (Asfar et al., 2003a).

Knotzer et al. konnten zeigen, dass eine Vasopressingabe bei gesunden Schweinen zu einer Verminderung der Sauerstoffversorgung und des Blutflusses der intestinalen Mikrozirkulation führt. Bei Untersuchung an endotoxischen Schweinen konnte keinerlei Effekt von Vasopressin unterschiedlicher Dosierungen festgestellt werden (Knotzer et al., 2006). Im Gegensatz hierzu führte niedrig dosiertes Vasopressin bei Versuchen mit endotoxischen Ratten zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation des Ileums (Asfar et al., 2003b). Sublinguale Messungen bei septischen Patienten zeigten, dass der Einsatz von Vasopressin zur Stabilisierung der Makrozirkulation keinen negativen Einfluss auf die Mikrozirkulation hatte (Dubois et al., 2003) wohingegen eine Studie an Patienten mit septischem Schock ergab, dass der Einsatz von Vasopressin zur Erhaltung der makrozirkulatorischen Homöostase sowohl in der Entwicklung von mesenterialen Ischämien als auch in Hinblick auf die Mortalität bessere Ergebnisse erzielt als die Anwendung von Norepinephrin (Russel, 2008).

Die Auswirkungen exogen zugeführten Vasopressins wurden dementsprechend in verschiedenen Studien untersucht. Unter bestimmten Voraussetzungen findet im Körper auch endogen eine gesteigerte Vasopressinfreisetzung statt.

Im Rahmen einer Hyperkapnie konnte unter physiologischen Bedingungen ein erhöhter Vasopressinspiegel festgestellt werden (Rose et al., 1984). Diese körpereigene Erhöhung von Vasopressin in der Blutbahn wurde weiterführend hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf die Mikrozirkulation untersucht.

Bei Versuchen an chronisch instrumentierten Hunden wurde eine verbesserte regionale Oxygenierung der Magenschleimhaut (μHBO_2) während moderat hyperkapnischer Beatmung (endtidal CO_2 -Partialdruck 75 mm Hg) festgestellt. Nach Infusion eines Rezeptorantagonisten des Vasopressin V_{1A} Rezeptors (SR 49059) konnte keine μHBO_2 Verbesserung durch Hyperkapnie erzielt werden. Eine Blockade des Vasopressinsystems verhinderte also die positive Beeinflussung der regionalen Sauerstoffversorgung mittels Hyperkapnie. Somit scheint Vasopressin unter physiologischen Verhältnissen an der Verbesserung von μHBO_2 durch hyperkapnische Beatmung beteiligt zu sein (Vollmer et al., 2013).

Literaturübersicht

Vasopressin scheint also eine Rolle in septischen wie auch hyperkapnischen Bedingungen zu spielen. Die genaue Wirkung von Vasopressin unter hyperkapnischen Bedingungen ist bis jetzt unklar.

Ziel der vorliegenden Dissertation ist es daher herauszufinden, ob Vasopressin gleiche Effekte unter septischen Bedingungen zeigt und somit das endogene Vasopressinsystem regulativ auf pathophysiologische Prozesse einer Sepsis einwirken kann.

2.7 Sympathikussystem– Hexamethonium

Das sympathische Nervensystem ist, zusammen mit dem parasympathischen und dem enterischen Nervensystem, Teil des vegetativen Nervensystems. Grundlegend regulieren diese Funktionssysteme die Aktivität der inneren Organe und des Stoffwechsels. Zentrale Anteile des sympathischen Nervensystems finden sich im Hirnstamm sowie im Rückenmark. Die peripheren Neuronen befinden sich in den dem Zentralnervensystem naheliegenden Ganglien. Das Sympathikussystem wird vermehrt in Belastungssituationen aktiviert. Die Wirkung des Sympathikus wird über Transmitter wie Acetylcholin, Adrenalin u.a. an adrenergen und cholinergen Rezeptoren vermittelt (Breves and von Engelhardt, 2005).

Die Blutgefäße des Magen-Darm-Traktes werden direkt durch Sympathikusfasern innerviert. Die vasokonstriktive Grundaktivität dieser Sympathikusfasern, der Sympathikotonus, ist dabei entscheidend für die Aufrechterhaltung der Durchblutung im Magen-Darm-Trakt. Stresssituationen, wie auch krankheitsbedingter Stress durch Sepsis, erhöhen den Sympathikotonus. Hierdurch werden die Gefäße weiter kontrahiert mit konsekutiver Minderdurchblutung der nachgeschalteten Bereiche. Zudem führt der erhöhte Sympathikotonus zur Verminderung der Darmmotorik mit der Gefahr eines Ileus (Breves and von Engelhardt, 2005).

Therapeutische Ansätze zielen auf eine gezielte Reduktion des Sympathikotonus, um somit eine Vasodilatation zu erreichen und eben diese Minderdurchblutung zu unterbinden (Silbernagel, 2003). Durch die Vasodilatation verbesserte sich die Durchblutung und gesteigerte sich die mikrovaskuläre Oxygenierung (Vollmer et al., 2010). Auf experimenteller Ebene ist zur Erforschung dieser Effekte eine Blockade des sympathischen Nervensystems nötig. Hierfür kann eine thorakale Periduralanästhesie (PDA) genutzt werden (Vollmer et al., 2010). Bei Versuchen mit Ratten oder Mäusen wird auf eine andere Technik zurückgegriffen. Zur Blockade des sympathischen Nervensystems bei Kleinnagern wurde im

Rattenmodell ein System mit einer Hexamethonium-Infusion etabliert (Collister and Osborn, 1999; Touw et al., 1980).

Hexamethonium wird in der Forschung als Ganglienblocker des autonomen Nervensystems eingesetzt (Picker et al., 2001). Hexamethonium ist ein kompetitiver Antagonist an cholinergen nicotinischen Rezeptoren. Es bindet an präganglionären nicotinergen Rezeptoren autonomer Ganglien und findet in der Forschung weiterhin Anwendung aufgrund seiner selektiven cholinergen Wirkung ohne Beteiligung der motorischen Endplatten (Silbernagel, 2003).

Nicotinerge Acetylcholin-Rezeptoren (nAChR) gehören zur Gruppe der ionotropen Rezeptoren. Generell sind 2 Typen des nAChR bekannt: der muskuläre und der neurale Typ. Der neurale nAChR kommt sowohl im peripheren und im zentralen Nervensystem (Gay and Yakel, 2007) als auch in non-neuronalen Geweben wie Lungengefäßen, Pleura, Epidermis, Epithel der Luftwege, des Darms und von Mund- und Vaginalschleimhaut sowie in Blutgefäßen vor (Brüggemann and Lips, 2002; Rettig, 2011). Die Bindungsstelle des AChR befindet sich taschenartig an der extrazellulären Seite des Rezeptors. Neben Acetylcholin können auch andere Substrate wie Nikotin als reversibler oder Bromoacetylcholin als irreversibler Agonist hier binden (Derkach et al., 1991). Generell wirken Acetylcholin und seine Agonisten als lokale Signalmoleküle auf zellulärer Ebene und als Zytotransmitter, indem sie die eigene Zelle, die Nachbarzelle und den Zellkomplex (autokrin, juxtakrin, parakrin) beeinflussen. Somit werden vor allem Differenzierung, Proliferation, Sekretion, Apoptose, Organisation des Zytoskelettes, Zell-Zell-Kontakt, Migration zwischen Zellen, Zilien Aktivität und Immunfunktionen beeinflusst (Rettig, 2011).

Hexamethonium ist ein potenter kompetitiver Blocker präganglionärer nicotinerger Rezeptoren. Aufgrund seiner Nebenwirkungen wie paralytischem Ileus, Blasenatonie, Xerostomie und orthostatischer Hypotension gilt es heute im therapeutischen Ansatz als obsolet. Hexamethonium konnte neben der gezielten Beeinflussung des Acetylcholin-Rezeptors auch als effektiver Mediator einer Blockade des sympathischen Nervensystems des Blutgefäßsystems etabliert werden (Collister and Osborn, 1999; Touw et al., 1980). Die lokale Durchblutung

von Geweben wird vorrangig sympathisch gesteuert. Die parasympathische Steuerung spielt gegenüber der sympathischen Innervation nur eine geringe Rolle. Bisher wurde eine parasympathische Innervation nur in Genitalien, Koronargefäßen und im Gehirn gezeigt. Somit scheint sie praktisch unbedeutend für die Innervation an Gefäßen zu sein (Breves and von Engelhardt, 2005). Dadurch kann Hexamethonium genutzt werden, um experimentell die Sympathikusblockade zu erforschen und kann mit der Methode der PDA beim Großtier verglichen werden. Weiterführende Studien beschäftigen sich neben dem grundlegenden Effekt einer Sympathikusblockade mit dem Effekt des Sympathikus auf die schon bekannte Verbesserung der μHBO_2 des Magen-Darm-Traktes durch Hyperkapnie. Vollmer et al. konnten an gesunden Hunden zeigen, dass eine Sympathikusaktivierung an einer Hyperkapnie-induzierten Verbesserung mikrovaskulärer Oxygenierung beteiligt ist. Über eine Ausschaltung des Sympathikus mittels thorakaler Periduralanästhesie (PDA) wurde die Steigerung des μHBO_2 während Hyperkapnie aufgehoben (Vollmer et al., 2010).

Ziel der Dissertation ist es herauszufinden, ob das Sympathikussystem ebenfalls an der Verbesserung der mikrovaskulären Oxygenierung durch Hyperkapnie in der Sepsis beteiligt ist.

3. Material und Methoden

3.1 Versuchsaufbau

Die Versuche wurden mit Genehmigung des Landesamtes für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (Aktenzeichen: 84-02.04.2012.A361) und in Einklang mit den Richtlinien des *National Institute of Health* zur Versorgung und Nutzung von Labortieren durchgeführt.

Für die Versuchsreihen wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 350 g (± 30 g) verwendet, dabei wurden je Versuchsreihe 80 Versuche analysiert. Hierfür wurden in der Vasopressin-Inhibitor-Reihe 97 Tiere verwendet. 10 Tiere verstarben sepsisbedingt. 7 Tiere verstarben während der Instrumentierung und somit vor einer Manipulation auf medikamentöser Ebene oder der Einführung einer Hyperkapnie.

In der Hexamethonium-Reihe wurden 86 Tiere verwendet. 3 Tiere verstarben sepsisbedingt und 3 Tiere im Rahmen der Instrumentierung. Somit ist auch hier kein Zusammenhang zur Hexamethonium-Infusion oder dem Beatmungsregime festzustellen.

Die Tiere, die an den Auswirkungen des Schweregrades der Sepsis verstarben lagen in der zu erwartenden Mortalität von 35-30 % (Stübs et al., 2013). Die sinkenden Mortalitätszahlen bei der Instrumentierung von Versuchsreihe 1 zu Versuchsreihe 2 gehen sicherlich mit steigender Erfahrung des Operateurs einher. Bis zum Versuchsbeginn waren die Tiere in Kleingruppen und Käfighaltung untergebracht. Ihnen stand eine Standard Ratten Diät und Wasser *ad libitum* zur Verfügung.

Gruppeneinteilung

In der ersten Versuchsreihe wurde der Einfluss des Vasopressin-Systems auf die Sauerstoffversorgung der Darmschleimhaut im Rahmen einer Hyperkapnie untersucht. Hierfür wurde den Versuchstieren ein selektiver V_{1A} Rezeptor-Antagonist infundiert. Dabei wurden folgende Gruppen à 10 Tiere gebildet:

Material und Methoden

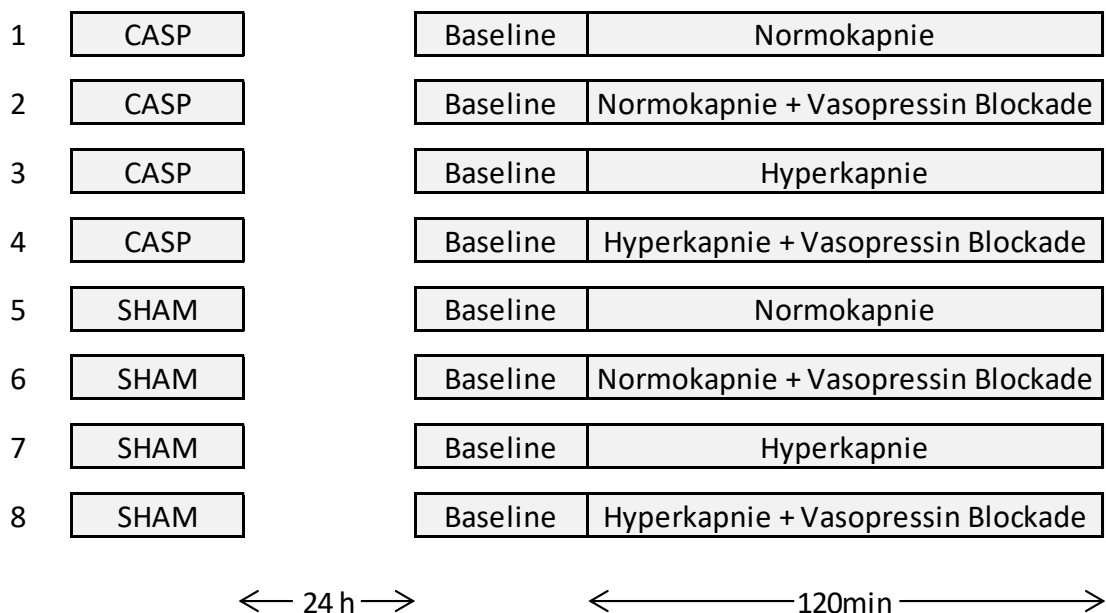


Abb. 6: Gruppeneinteilung Vasopressininhibitor- Reihe

In der zweiten Versuchsreihe wurde der Einfluss des Sympathikussystems auf die Oxygenierung der Darmschleimhaut im Rahmen einer Hyperkapnie erforscht. Hierbei wurde den Versuchstieren Hexamethonium infundiert. Dabei wurden die Tiere analog zur Vasopressin-Inhibitor-Versuchsreihe eingeteilt:

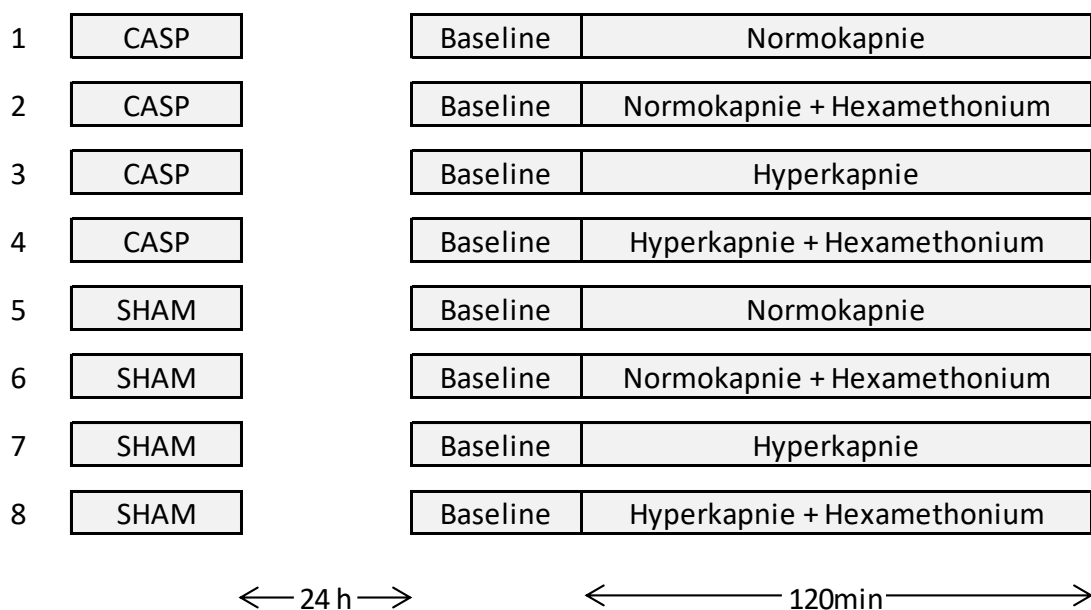


Abb. 7: Gruppeneinteilung Hexamethonium- Reihe

Material und Methoden

Die minimale Gruppengröße wurde im Vorfeld mittels einer Power Analyse mittels der GraphPad StatMate Software (GraphPad Software, Inc., USA) errechnet. Es wird eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha < 0,05$ angenommen, wobei ein β -Fehler von $\leq 10\%$ in Kauf genommen wird (Power 90 %). Diese Berechnung ergab sich aus Werten ähnlicher, vorangegangener Studien mit einem erwarteten Effektwert der Sauerstoffsättigung von ca. 50 %, einer minimalen Differenz der Endpunkte von ca. 20 % zur Erkennung einer Signifikanz und einer zu erwartenden Standardabweichung von 10-15 %.

CASP-Operation

Zu Beginn der Experimente wurde bei den Tieren in randomisierter Reihenfolge je nach Gruppeneinteilung entweder eine Sepsis ausgelöst oder lediglich eine Laparotomie ohne Sepsis-Induktion (Sham) als Kontrolle durchgeführt.

Die Sepsis wurde dabei mittels der standardisierten CASP-Operation induziert. (Lustig et al., 2007; Stübs et al., 2013).

Zu Beginn der Operation wurde den Tieren zur Schmerztherapie 0,05 mg/kg Buprenorphin s.c. injiziert (Temgesic®, Essex Pharma GmbH, München, Deutschland) (Henke et al., 1997). Die Narkose wurde im Folgenden mittels Sevofluran (Sevorane®, AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Ludwigshafen) in einer gläsernen Narkoseglocke eingeleitet und anschließend bei erhaltener Spontanatmung über eine Maske fortgesetzt (Sevofluran 3,0-3,2 %, FiO₂ 0,8, FiAir 0,8; Inhalationsgerät Sulla 808®, Dräger Medica Deutschland, Lübeck).

Das Operationsfeld wurde steril vorbereitet und antiseptisch (Kodan®, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) behandelt und anschließend mit einem sterilen Lochtuch abgedeckt (Raucodrape®, 50x60cm, 2-lagig, Lohmann & Rauscher GmbH).

Es folgte eine ca. 2 cm lange mediane Laparotomie. Der betreffende Darmabschnitt des *Colon ascendens* mit Übergang in das *Caecum* wurde vorgelagert.

Bei den Tieren der Sepsis-Gruppe wurde folgend im Übergang von *Caecum* zu *Colon ascendens* ein peripherer Venenverweilkatheter mit 14 G (Vasofix® Safety, 14Gx2“,

Material und Methoden

B. Braun Melsungen AG, Deutschland) durch die Darmwand eingebracht. Die Implantationsstelle befand sich dabei ungefähr 1 cm distal der Ileocaecalklappe. Die innere Nadel des Verweilkatheters wurde zurückgezogen und der Katheter circa auf 4 mm im Darmlumen liegend belassen. Anschließend wurde er mit einem Einzelheft (nicht-resorbierbar 6-0 Ethicon Prolene) nicht perforierend an der Darmwand befestigt und außerhalb des Darms auf eine Länge von 4 mm gekürzt, so dass insgesamt ein Stent von 8 mm Länge im Tier verblieb. Durch den Stent wurde durch vorsichtige Palpation des Zäkums Kot massiert, so dass eine ständige Passage von Fäzes aus dem Darmlumen in die Bauchhöhle gewährleistet werden konnte. Bei den Tieren der Kontrollgruppe wurde an gleicher Stelle auf den Darm ein gleich langes Stück des Verweilkatheters ohne Penetration des Darmes auf der *Tunica serosa* des Kolons angenäht.

Bei beiden Gruppen wurde anschließend der Darm in die Ausgangslage reponiert und in die Bauchhöhle 5 ml einer warmen Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9 %, Fresenius Kabi Deutschland) eingebracht. Die Bauchdecke wurde fortlaufend verschlossen (4-0 Ethicon Vicryl Plus, geflochten, resorbierbar). Der Verschluss der Bauchhöhle erfolgte mittels Einzelheften des gleichen Fadens. Die Tiere wurden während der circa 15-minütigen Operation mittels Wärmekissen temperaturkontrolliert. Die Aufwachphase erfolgte im gewärmten Käfig.

In den folgenden 24 Stunden entwickelte sich die Sepsis und die Tiere wurden hinsichtlich ihres Befindens mittels einem fest definierten Scoringsystems (*Septic Rat Severity Score*) überwacht (siehe Anhang 8.1). Erreichte ein Tier eine Punktzahl von 10 Punkten wurde es mittels Pentobarbital (800 mg/kg) (Narcoren®, Pentobarbital-Natrium, Zentralapotheke Universitätsklinikum Düsseldorf) i.p. euthanasiert.

Versuchsablauf

24 Stunden nach der Operation wurden die Tiere initial mit Pentobarbital 60 mg/kg (Erhardt et al., 2011) i.p. anästhesiert.

Nach Erreichen der erforderlichen Narkosetiefe wurden die Tiere auf eine Heizmatte verbracht, die während des gesamten Versuches die Körpertemperatur konstant auf 38-39°C hielt. Die Ratten wurden tracheotomiert, intubiert und im Folgenden wurde maschinell beatmet. Die Beatmung erfolgte nach Gewicht drucklimitiert, Volumen und Frequenz gesteuert (Inspira Advanced Safety Ventilator MA1 55-7059, Harvard Apparatur GmbH, March- Hugstetten, Deutschland). Anfänglich wurden alle Tiere normokapnisch beatmet ($p\text{CO}_2$ 35 - 45 mm Hg, $p\text{O}_2 > 90$ mm Hg). Das Gasgemisch, welches hierzu genutzt wurde, enthielt 30 % komprimierten Sauerstoff und 70 % N_2 (The Linde Group, Leuna, Deutschland).

Nach Anschluss an die maschinelle Beatmung erhielten die Tiere je einen 24G Verweilkatheter (Introcan Safety®-Winged, 24Gx3/4“, B. Braun Melsungen Ag, Deutschland) sowohl in die *Vena jugularis externa dextra* als auch in die *Arteria carotis communis*. Während der gesamten Versuchsdauer wurde mittels eines Druckabnehmers (Gould Statham Druckwandler P23ID, GOULD, Elk Grove, USA) über den arteriellen Zugang der Blutdruck aufgezeichnet. Ebenso wurden die Herzfrequenz in Schlägen pro Minute, der Beatmungsdruck in cm H_2O und der CO_2 -Partialdruck durch einen Kapnographen (Capnograph Typ 340, Hugo Sachs Elektronik, Harvard Apparatur GmbH) kontinuierlich gemessen.

Über den Venenkatheter erhielten die Versuchstiere 2 mg Pancuroniumbromid (Pancuronium Inresa®, 4 mg/2 ml, Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg Deutschland) alle 2 Stunden zur Muskelrelaxation und wurden anschließend an eine Dauerinfusion mit Pentobarbital 10 mg/kg/h zur Narkoseaufrechterhaltung versorgt. Der arterielle Katheter diente der Blutdrucküberwachung und zur regelmäßigen Blutentnahme von 125 μl zur Blutgasanalyse (BGA). Hiernach erhielten die Tiere das vierfachen Volumen an Ringer-Lösung als Volumenausgleich. Anhand der BGA wurde mittels $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$, und

Material und Methoden

Hämoglobinwert u.a. das Beatmungsregime kontrolliert und gegebenenfalls angepasst. BGA erfolgen in regelmäßigen Abständen (Abb. 8).

Als kontinuierlicher Volumenersatz bekamen die Versuchstiere intravenös 20 mg/kg/h Ringer-Lösung (Ringer-Infusionslösung, B. Braun Melsungen Ag, Melsungen, Deutschland) sowie über den arteriellen Katheter 4 ml/h zur Vermeidung von Thrombenbildung.

Eine Viertelstunde nach der ersten Blutentnahme erfolgte die Laparotomie. Hierbei wurden der Blinddarmkopf und der beginnende Teil des *Colon ascendens* freigelegt. Auf das Kolon wurde eine LF_x-2 Sonde der Firma LEA Medizintechnik GmbH zur Laser-Doppler-Spektroskopie und zur Weißlichtspektroskopie platziert. Darm und Sonde wurden mit einer befeuchteten Gaze bedeckt, um Austrocknungen vorzubeugen. Das in dieser Studie verwendete Messgerät (O2C, Lea Medizintechnik GmbH, Gießen Deutschland, Type LW222, Software Version 2) misst mit einer Eindringtiefe von 0,7 mm auf einer Fläche von 1mm Durchmesser. Da die durchschnittliche Wanddicke des *Colon Ascendens* der Ratte bei 0,1 - 0,45 mm liegt (Hebel and Stromberg, 1976) wird somit die gesamte Kolonwand messtechnisch erfasst. Diese Messtechnik ermöglicht die Bestimmung der *Hämoglobinoxygenierung* μHbO_2 (%), der *relativen Hämoglobinmenge* $r\text{Hb}$ (AU), des *Blutflusses* μFlow (AU) und der *Blutflussgeschwindigkeit* *Velocity* (AU).

Die beschriebenen Parameter wurden alle 2 Sekunden durch das O2C aufgezeichnet und alle 5 Minuten als Mittelwert der Messungen einer Minute berechnet. Das regionale Sauerstoffangebot μDO_2 ($\text{SaO}_2/100 \cdot \text{Hb} \cdot 1,34 \cdot \mu\text{Flow}$) und der regionale Sauerstoffverbrauch μVO_2 ($(\text{SaO}_2 - \mu\text{HbO}_2) / 100 \cdot \mu\text{Flow} \cdot 1.34$) wurden in arbiträren Einheiten [AU] aus intermittierenden Blutgasanalysen und dem mikrozirkulatorischen Blutfluss errechnet.

Nach einer 15-minütigen Stabilisierungsphase wurde den Tieren je nach Gruppenzugehörigkeit über den Venenverweilkatheter der jeweilige Wirkstoff infundiert.

3.2 Versuchsreihe Vasopressininhibitor

Den Versuchstieren wurden entweder der selektive V_{1A} Rezeptor- Antagonist *SR 49059* (Axon Medchem, Biotech Center UMCG, Hanzeplaan 1, 9713 GZ Groningen, Niederlande) in einer DMSO-Trägersubstanz (*Dimethyl Sulfoxide*, Sigma Pharmaceuticals Limited, Unit 1-7 Colonial Way, Watford, Hertfordshire, Großbritannien) (0,5 µl *SR 49059* auf 50 µl DMSO in 4950 µl NaCl) oder die DMSO-Trägersubstanz (50 µl DMSO auf 4950 µl NaCl) alleine i.v. infundiert (Abb. 8). Hierbei wurde zunächst ein Bolus von 3,5 mg/kg *SR 49059* appliziert, gefolgt von einer Dauerinfusion mit 3,5 ml/h (entspricht 1 mg *SR 49059*/kg/h).

Die Tiere wurden je nach Gruppe entweder weiterhin normokapnisch beatmet oder moderat hyperkapnisch (pCO₂-Werten von 65-75 mm Hg) ventiliert (Abb. 8). Nach Entnahme der letzten Blutgasanalyse wurde allen Tieren 10 IU Vasopressin ([ARG⁸]-Vasopressin solution, 100 IU in 5 ml NaCl, Sigma Pharmaceuticals Limited) zur Überprüfung der Vasopressin-Rezeptor-Blockade i.v. appliziert.

Am Ende des Versuches wurden die Tiere durch Exsanguination getötet. Die Blutproben der Tiere wurden zentrifugiert (Eppendorf Zentrifuge 5417R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) (4°C, 4000 x g, 10 min), das überständige Plasma abpipettiert und bei -70°C asserviert. In der Folge wurden die Plasmaproben der Tiere, die mit dem Vehikel DMSO infundiert wurden, in einem externen Labor (Limbach Gruppe SE, Heidelberg, Deutschland) zur Bestimmung des Vasopressin-Plasmaspiegels untersucht.

3.3 Versuchsreihe Hexamethonium

Statt einer Infusion mit einem V_{1A} Rezeptor-Antagonisten, wie in der Vasopressin-Versuchsreihe, erhielten die Tiere dieser Gruppe Hexamethonium Bromid (Hexamethonium Bromide, Sigma-Albrich, Rowville Victoria, Australien) zur Blockade des sympathischen Nervensystems der Gefäßinnervation. Zunächst

Material und Methoden

wurde i.v. ein Bolus von 15 mg/kg Hexamethonium in einer NaCl-Lösung (100 mg Hexamethonium/ml NaCl) appliziert, gefolgt von einer Dauerinfusion von 15 mg/kg/h Hexamethonium in gleichbleibender NaCl-Lösung. Tieren der Kontrollgruppe wurde reine Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9 %, Fresenius Kabi, Homburg, Deutschland) gleichsam zunächst als Bolus und anschließend als Dauerinfusion verabreicht.

Ansonsten erfolgte die Behandlung der Tiere analog zur Vasopressin-Inhibitor-Gruppe.

Zusätzlich wurden bei den Tieren der Hexamethonium-Versuchsreihe am Ende des Versuchs Teile von Kolon und Lunge zur Bestimmung einer *wet- to- dry- ratio* entnommen und für 72 Stunden bei 60 °C im Trockenschrank (UT 6120, Wärme- und Trockenschrank, Heraeus®, 63450 Hanau, Deutschland) getrocknet.

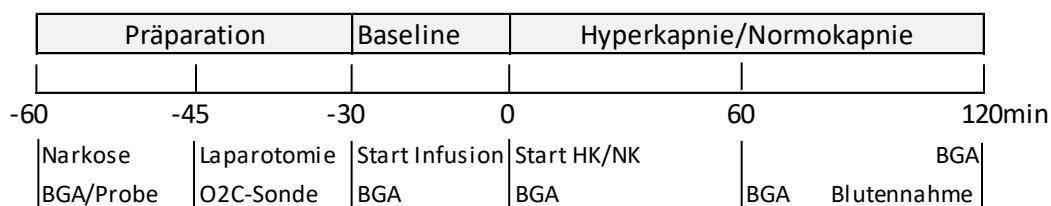


Abb. 8: detaillierter Versuchsaufbau, 24 Stunden nach CASP/Sham

3.4 Statistik

Zur statistischen Analyse der Daten wurde das Programm GraphPad v 6.0 (GraphPad software, Int., La Jolla, CA, USA) genutzt. Mittels Erwartungswert und Varianz wurde eine Normalverteilung bestimmt. Alle Ergebnisse werden mit Standardabweichung ($\pm$ SD) dargestellt. Eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von $< 5\%$ ($p < 0,05$) wird als statistisch signifikant bezeichnet.

Die Varianzanalyse wurde mittels two-way ANOVA durchgeführt. Zur Berechnung von Differenzen zur Baseline wurde der Dunnett's post-hoc test und zur Berechnung von Differenzen zwischen unterschiedlichen Gruppen wurde der Tukey-Test angewandt.

4. Ergebnisse

4.1 Vasopressininhibitor

In der ersten Versuchsreihe zur Wirkung der Vasopressinrezeptoren V_{1A} auf mikrovaskuläre Veränderungen der Darmschleimhaut wurden die regionale Oxygenierung, der Blutfluss, Sauerstoffangebot und -verbrauch, die regionale Hämoglobinkonzentration sowie makrozirkulatorische Parameter wie Laktat, mittlerer arterieller Blutdruck und die Herzfrequenz untersucht. Zusätzlich wurden Informationen zur Hämatologie und auch zum Vasopressinspiegel ausgewertet.

Bei allen Parametern zeigten septische Tiere und Sham-operierte Kontrolltiere keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Baseline-Werte.

Mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHBO_2)

Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie

Sham-operierte Kontrolliere: in dieser Gruppe veränderte sich μHBO_2 weder unter normokapnischen noch unter hyperkapnischen Beatmung über die 120 Minuten des Versuchslaufs.

Septische Tiere: In septischen Tieren fiel die μHBO_2 signifikant über die Zeit unter normokapnischen Bedingungen ($-8,9 \pm 10,4 \%$, $p < 0,05$ bei 90 Minuten; $-11 \pm 10,3 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten).

μHBO_2 blieb konstant über die Zeit bei den septischen Tieren, die hyperkapnisch beatmet wurden. Hierbei zeigten hyperkapnisch beatmete Tiere signifikant höhere μHbO_2 -Werte als Tiere, die normokapnisch beatmet wurden. Es zeigte sich ein signifikanter Effekt im Vergleich zum μHBO_2 Abfall der normokapnischen septischen Tiere (μHBO_2 90 Minuten: $71 \pm 15 \%$ bei Hyperkapnie vs. $59 \pm 12 \%$ bei

Ergebnisse

Normokapnie, $p < 0,05$; μHBO_2 120 Minuten: $67 \pm 16 \%$ bei Hyperkapnie vs. $58 \pm 14 \%$ bei Normokapnie $p < 0,05$) (Abb. 9, Tabelle 1).

Effekt der V_{1A} Rezeptor Blockade (VB)

Sham-operierte Kontrolltiere: Unter Einsatz des Vasopressininhibitors zeigte sich keine signifikante Veränderung der μHBO_2 während Hyperkapnie und Normokapnie.

Septische Tiere: Die μHBO_2 verringerte sich in septischen Tieren unter Vasopressinblockade unabhängig vom Beatmungsregime. Unter normokapnischen Bedingungen bewirkte die Blockade eine Reduktion des μHBO_2 um $7,4 \pm 10,6 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten. Unter Hyperkapnie fiel μHBO_2 um $9,2 \pm 9,8 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten (Abb.9, Tabelle1).

Es ergab sich ein signifikanter Unterschied zu den hyperkapnisch ventilierten septischen Tieren (μHBO_2 90 Minuten: $71 \pm 15 \%$ bei der Gabe von DMSO vs. $61 \pm 13 \%$ bei Vasopressin-Blockade, $p < 0,05$; μHBO_2 120 Minuten: $67 \pm 16 \%$ bei der Gabe von DMSO vs. $58 \pm 16 \%$ bei Vasopressin-Blockade, $p < 0,05$).

Ergebnisse

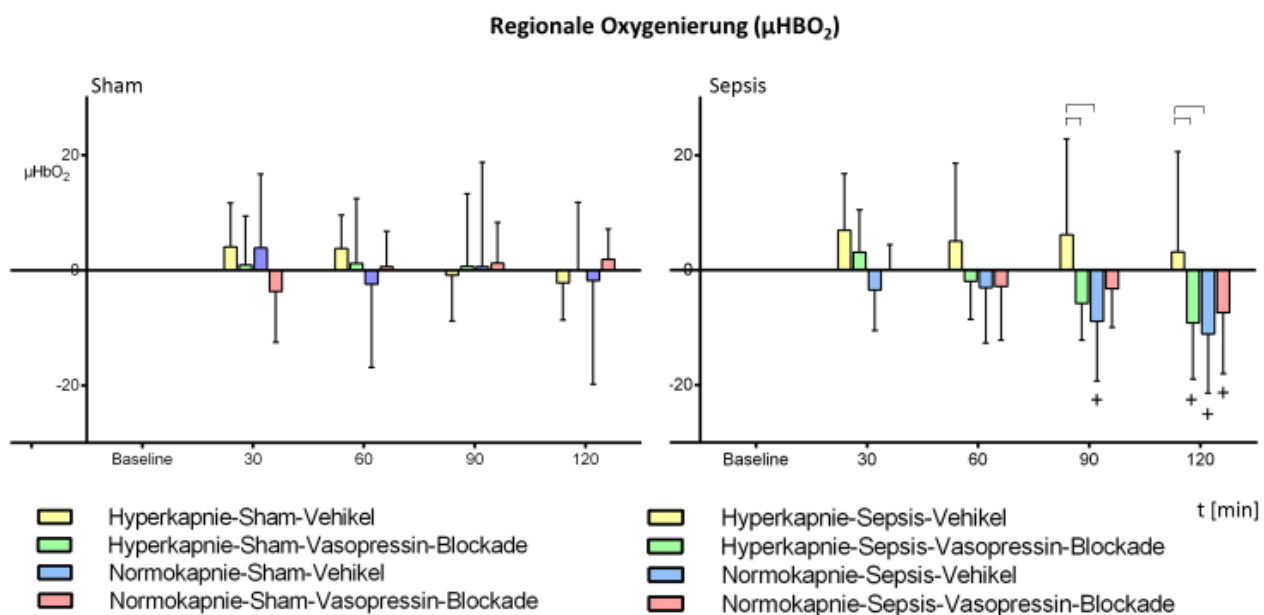


Abbildung 9: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Vasopressinblockade (VB) auf die mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHbO_2) der Kolonschleimhaut. $\Delta\mu\text{HbO}_2$ von Sham- und Sepsis-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline. Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, n=10.

+ zu Baseline (2-way ANOVA Dunnett);

□ signifikant zwischen den Gruppen (2-way ANOVA Tukey), $p < 0,05$.

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
μHbO_2 [%]	Baseline	64 $\pm$ 11	69 $\pm$ 9	61 $\pm$ 14	67 $\pm$ 8	65 $\pm$ 8	67 $\pm$ 9	67 $\pm$ 8	65 $\pm$ 8
	90 Minuten	62 $\pm$ 13	67 $\pm$ 7	60 $\pm$ 15	67 $\pm$ 10	71 $\pm$ 15	61 $\pm$ 13	59 $\pm$ 12*#	62 $\pm$ 7
	120 Minuten	60 $\pm$ 12	66 $\pm$ 11	53 $\pm$ 17	62 $\pm$ 12	67 $\pm$ 16	58 $\pm$ 16*#	58 $\pm$ 14*#	59 $\pm$ 7*

HKSHV Hyperkapnie-Sham-Vehikel

HKSHVB Hyperkapnie-Sham-Vasopressin-Blockade

NKSHV Normokapnie-Sham-Vehikel

NKSHVB Normokapnie-Sham-Vasopressin-Blockade

HKSV Hyperkapnie-Sepsis-Vehikel

HKSVB Hyperkapnie-Sepsis-Vasopressin-Blockade

NKSV Normokapnie-Sepsis-Vehikel

NKSVB Normokapnie-Sepsis-Vasopressinblockade

Tabelle 1: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung der mikrozirkulatorischen Oxygenierung (μHbO_2), $p < 0,05$. * vs. Baseline (2-way ANOVA Dunnett), # vs. HKSTV (2-way ANOVA Tukey), n=10.

Ergebnisse

Mikrozirkulatorischer Fluss (μ flow)

Die Messwerte des mikrozirkulatorischen Flusses ergaben keine Änderung über die Dauer des Versuches weder bei den septischen Tieren noch bei den Sham-operierten- Kontrolltieren. Auch das Beatmungsregime (Hyperkapnie oder Normokapnie) veränderte den Fluss nicht.

Eine Vasopressinblockade verursachte ebenfalls keinerlei Veränderung des mikrozirkulatorischen Flusses unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit (Abbildung 10, Tabelle 2).

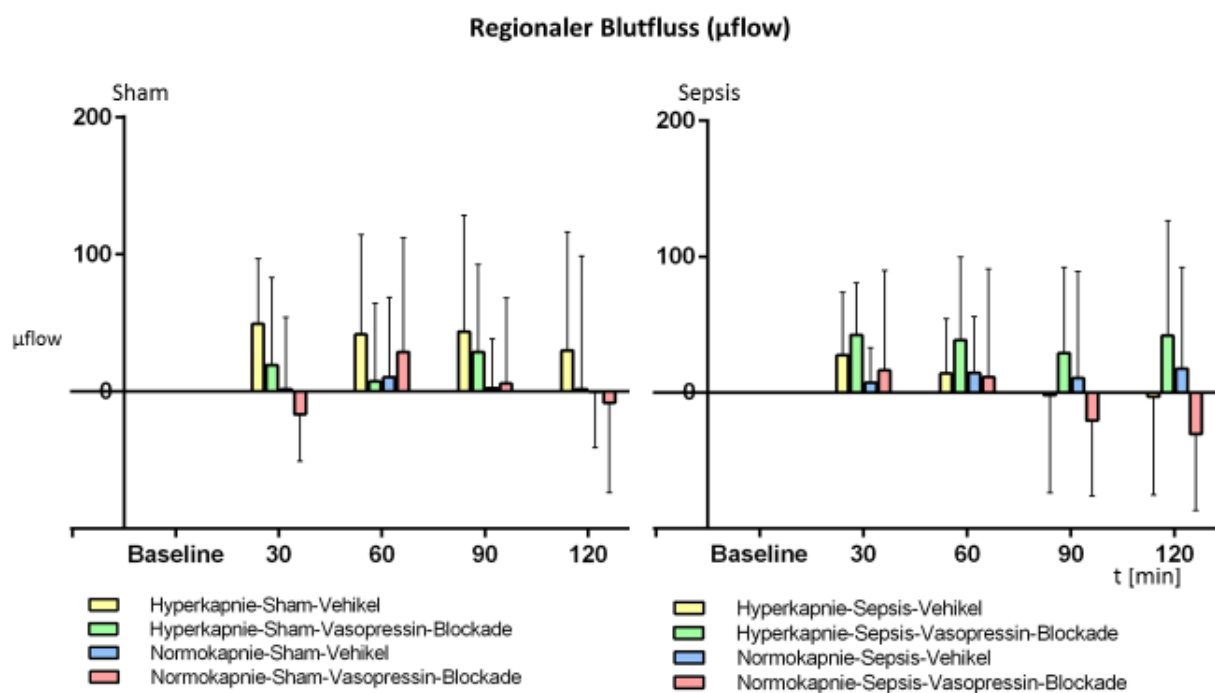


Abbildung 10: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Hexamethonium auf den regionalen Blutfluss der Kolonschleimhaut. $\Delta\mu$ flow von Sham-Tieren und Sepsis-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline. Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, n = 10.

Ergebnisse

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
μ flow [AU]	Baseline	116 $\pm$ 57	134 $\pm$ 63	99 $\pm$ 45	131 $\pm$ 60	128 $\pm$ 34	97 $\pm$ 30	118 $\pm$ 79	131 $\pm$ 82
	30 Minuten	165 $\pm$ 59	162 $\pm$ 80	100 $\pm$ 42	114 $\pm$ 54	156 $\pm$ 73	139 $\pm$ 41	125 $\pm$ 54	147 $\pm$ 74
	60 Minuten	158 $\pm$ 58	150 $\pm$ 60	109 $\pm$ 54	159 $\pm$ 60	143 $\pm$ 51	135 $\pm$ 56	132 $\pm$ 64	142 $\pm$ 76
	90 Minuten	160 $\pm$ 82	171 $\pm$ 67	101 $\pm$ 43	136 $\pm$ 63	127 $\pm$ 78	126 $\pm$ 55	128 $\pm$ 76	135 $\pm$ 79
	120 Minuten	146 $\pm$ 100	145 $\pm$ 79	99 $\pm$ 52	122 $\pm$ 71	125 $\pm$ 78	139 $\pm$ 74	135 $\pm$ 70	118 $\pm$ 79

Tabelle 2: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des mikrozirkulatorischen Blutflusses (μ Flow), n=10.

Mikrozirkulatorisches Sauerstoffangebot (μ DO₂)

Das mikrozirkulatorische Sauerstoffangebot blieb konstant über den Versuchsverlauf sowohl in den Sham- operierten als auch in den septischen Tieren. Weder eine Veränderung des Beatmungsregimes noch die Blockade von Vasopressinrezeptoren veränderten das Sauerstoffangebot (Tabelle 3).

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
μ DO ₂ [AU]	Baseline	979 $\pm$ 369	1375 $\pm$ 588	964 $\pm$ 433	1240 $\pm$ 541	1242 $\pm$ 320	922 $\pm$ 286	1140 $\pm$ 432	1254 $\pm$ 763
	120 Minuten	1256 $\pm$ 821	1309 $\pm$ 736	946 $\pm$ 494	1135 $\pm$ 627	1110 $\pm$ 689*#	1167 $\pm$ 618	1289 $\pm$ 672#	1065 $\pm$ 685

Tabelle 3: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des mikrozirkulatorischen Sauerstoffangebots (μ DO₂), * p < 0,05 vs. Baseline (2-way ANOVA Dunnett), # p < 0,05 vs. HKSTV (2-way ANOVA Tukey), n=10.

Ergebnisse

Mikrozirkulatorischer Sauerstoffverbrauch (μVO_2)*Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie*

Sham-operierte Tiere: In dieser Gruppe veränderte sich der mikrozirkulatorische Sauerstoffverbrauch nicht über die Zeit, weder unter normokapnischer noch unter hyperkapnischer Beatmung.

Septische Tiere: Der μVO_2 war signifikant reduziert in septischen Tieren unter hyperkapnischer Beatmung mit $2.7 \cdot 10^5 \pm 2.4 \cdot 10^5$ [AU], $p < 0,05$, bei 120 Minuten. Bei septischen Tieren, die normokapnisch beatmet wurden, blieb der Verbrauch jedoch konstant ($6.1 \cdot 10^5 \pm 4.1 \cdot 10^5$ [AU]). Es ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem mikrozirkulatorischen Sauerstoffverbrauch der hyperkapnisch septischen Tiere und den normokapnisch- beatmeten septischen Tieren (μVO_2 $2,9 \cdot 10^5 \pm 1,6 \cdot 10^5$ [AU] unter Hyperkapnie gegenüber μVO_2 $6,1 \cdot 10^5 \pm 4,1 \cdot 10^5$ [AU] unter Normokapnie, $p < 0,05$). Ein signifikanter Unterscheid bestand auch zu den Tieren, die hyperkapnisch beatmet wurden und eine Vasopressinblockade erhielten (μVO_2 $5,3 \cdot 10^5 \pm 3,0 \cdot 10^5$ [AU] unter Hyperkapnie und Vasopressinblockade, $p < 0,05$) (Abb.11, Tabelle 4).

Effekt der V_{1A} Rezeptor Blockade

Sham-operierte Kontrolltiere: Der μVO_2 blieb konstant über die Zeit unter VB-Infusion unabhängig vom Beatmungsregime.

Septische Tiere: Unter hyperkapnischer Beatmung blieb der μVO_2 konstant. Unter Normokapnie bewirkte eine Vasopressin-Blockade einen signifikanten Abfall des μVO_2 von $2,7 \cdot 10^5 \pm 0,5 \cdot 10^5$ [AU], $p < 0,05$ (Abb.11, Tabelle 4).

Ergebnisse

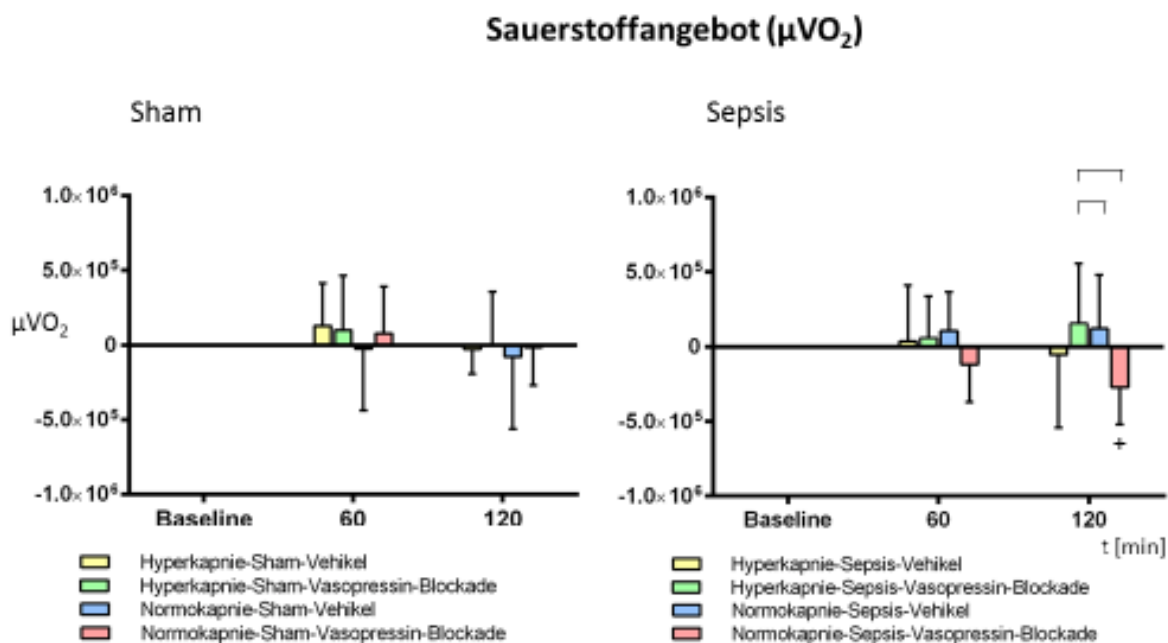


Abbildung 11: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Vasopressinblockade (VB) auf den mikrozirkulatorischen Sauerstoffverbrauch (μVO_2) der Kolonschleimhaut. $\Delta\mu\text{VO}_2$ von Sham- und Sepsis-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline. Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, n=10.

+ zu Baseline (2-way ANOVA Dunnett); $\square$ signifikant zwischen den Gruppen (2-way ANOVA Tukey), $p < 0,05$.

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
$\mu\text{VO}_2 \cdot 10^5$	Baseline	4,7 $\pm$ 1,4	5,8 $\pm$ 3,5	4,8 $\pm$ 2,7	4,8 $\pm$ 0,9	5,6 $\pm$ 2,1	4,1 $\pm$ 2,0	4,5 $\pm$ 1,1	5,6 $\pm$ 3,2
[AU]	120 Minuten	4,5 $\pm$ 2,2	5,0 $\pm$ 2,4	4,8 $\pm$ 2,3	4,5 $\pm$ 1,6	2,9 $\pm$ 1,6*	5,3 $\pm$ 3,0#	6,1 $\pm$ 4,1#	5,1 $\pm$ 3,3

Tabelle 4: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung des mikrozirkulatorischen Sauerstoffverbrauchs (μVO_2), $p < 0,05$. * vs. Baseline (2-way ANOVA Dunnett), # vs. HKSTV (2-way ANOVA Tukey), n=10.

Regionale Hämoglobin-Konzentration (rHB)

Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie

Sham-operierte Kontrolltiere: die regionale Hämoglobin-Konzentration wurde in diesen Gruppen weder durch eine Hyperkapnie noch durch eine Normokapnie beeinflusst.

Ergebnisse

Septische Tiere: Die rHB blieb ebenfalls konstant in septischen Tieren mit normokapnischer Beatmung.

Die rHB war signifikant erhöht in den septischen Tieren mit hyperkapnischer Beatmung (79 ± 15 [AU], $p < 0,05$) im Vergleich zu normokapnischen septischen Tieren (70 ± 12 [AU] bei der Gabe von DMSO; 67 ± 11 [AU] bei Vasopressinblockade, $p < 0,05$, Tabelle 5).

Effekt der V_{1A} Rezeptor Blockade

Mit der Vasopressininhibitor-Infusion blieb die rHB über die Zeit konstant unabhängig von der Ventilation sowohl in den septischen als auch in den Sham-Tieren (Tabelle 5).

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
rHB [AU]	Baseline	72 ± 8	79 ± 13	76 ± 6	51 ± 11	79 ± 15	78 ± 11	70 ± 10	74 ± 13
	120 Minuten	73 ± 9	77 ± 9	71 ± 11	71 ± 17	85 ± 7	76 ± 11	$70 \pm 12\#$	$67 \pm 11\#$

Tabelle 5: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung der regionalen Hämoglobin-Konzentration (rHB), $p < 0,05$, # vs HKSTV (2-way ANOVA Tukey), $n=10$.

Laktat, Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAP) und **Herzfrequenz** (HF) (Tabelle 6) wurden über die Zeit sowohl in den septischen als auch in den Sham-Tieren nicht beeinflusst. Dies gilt für sowohl normokapnisch als auch hyperkapnisch beatmete Gruppen unabhängig von einer V_{1A} Rezeptor Blockade.

Ergebnisse

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
HR [min ⁻¹]	Baseline	439 ± 60	466 ± 43	429 ± 40	415 ± 57	522 ± 84	475 ± 50	492 ± 61	486 ± 44
	30 Minuten	420 ± 62	443 ± 37	445 ± 49	414 ± 58	467 ± 67	478 ± 50	490 ± 49	470 ± 49
	60 Minuten	413 ± 56	438 ± 33	436 ± 3	420 ± 55	455 ± 63	437 ± 42	494 ± 46	474 ± 55
	90 Minuten	457 ± 51	465 ± 33	461 ± 40	440 ± 50	502 ± 50	503 ± 41	500 ± 49	512 ± 55
	120 Minuten	426 ± 46	447 ± 57	430 ± 26	431 ± 48	479 ± 60	480 ± 48	495 ± 44	503 ± 42
MAP [mm Hg]	Baseline	120 ± 22	126 ± 26	129 ± 15	115 ± 27	107 ± 34	105 ± 27	117 ± 24	100 ± 32
	30 Minuten	110 ± 28	120 ± 24	131 ± 19	108 ± 32	106 ± 28	107 ± 24	128 ± 22	95 ± 32
	60 Minuten	117 ± 24	124 ± 24	129 ± 19	107 ± 29	108 ± 28	113 ± 24	128 ± 20	100 ± 29
	90 Minuten	128 ± 17	133 ± 23	134 ± 17	115 ± 29	122 ± 22	115 ± 27	128 ± 24	112 ± 28
	120 Minuten	119 ± 20	126 ± 24	125 ± 15	111 ± 28	110 ± 22	108 ± 26	118 ± 26	106 ± 26
Laktat [mmol l ⁻¹]	Baseline	1,7 ± 1	1,8 ± 0,4	1 ± 0,5	1 ± 0,6	1,8 ± 0,5	1,9 ± 0,7	1,4 ± 0,5	1,7 ± 0,8
	60 Minuten	0,4 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,4	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,4
	120 Minuten	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,4	0,8 ± 0,6	0,7 ± 0,3	1 ± 0,8	0,8 ± 0,4	0,9 ± 0,3	1 ± 0,4

Tabelle 6: Mittelwert ± Standardabweichung von Laktat, mittlerem arterieller Blutdruck (MAP) und Herzfrequenz (HF), n=10.

Hämatologie

Bei der Analyse der EDTA-Blutproben vor Versuchsbeginn zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Tieren mit einer moderaten Sepsis und den Sham-operierten Tieren. Die septischen Tiere wiesen signifikant niedrigere Plasmaspiegel an *Leukozyten* auf von $5 (\pm 0,3) \cdot 10^3/\text{mm}^3$ zu $8 (\pm 0,4) \cdot 10^3/\text{mm}^3$, $p < 0,05$ der Kontrolltiere (Tabelle 7). Des Weiteren zeigten die septischen Tiere signifikant reduzierte *Thrombozyten*-Zahlen von $462 (\pm 25) \cdot 10^3/\text{mm}^3$ im Vergleich zu den Kontrolltieren ($665 (\pm 19) \cdot 10^3/\text{mm}^3$, $p < 0,05$) (Tabelle 7).

Ergebnisse

	Sepsis	Sham
Leukozyten [10^3 /mm ³]	$5 \pm 0,3\#$	$8 \pm 0,8$
Thrombozyten [10^3 /mm ³]	$462 \pm 25\#$	665 ± 19

Tabelle 7: Mittelwerte der Leukozyten- und Thrombozytenmessungen von septischen und Kontrolltieren, gemessen aus EDTA-Blut, mit Standardabweichung, $p < 0,05$. # vs. Sham (2-way ANOVA Tukey), $n=40$.

Der *pH-Wert* variierte zwischen den Beatmungsregimen: Tiere, die hyperkapnisch beatmet wurden zeigten deutlichere Abfälle von 7,4 auf 7,1, wohingegen bei normokapnischer Beatmung lediglich ein Abfall auf 7,3 gemessen wurde (Tabelle 8).

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
pH	Baseline	$7,4 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0$	$7,4 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0$	$7,4 \pm 0$
	120 Minuten	$7,1 \pm 0$	$7,1 \pm 0^*$	$7,3 \pm 0$	$7,3 \pm 0,1$	$7,1 \pm 0,8^*$	$7,1 \pm 0^*$	$7,3 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,6$

Tabelle 8: Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung der pH- Messungen von septischen und Kontrolltieren, gemessen aus EDTA-Blut, $p < 0,05$. # vs. Sham (2-way ANOVA Tukey), $n=10$.

Die *Sauerstoff-Partialdrücke* lagen bei allen Gruppen zu Beginn des Versuches bei 136 ± 5 mm Hg und am Ende des Versuchs bei 116 ± 4 mm Hg (Tabelle 9) und damit im Zielbereich von > 90 mm Hg.

Die *Kohlendioxid-Partialdrücke* lagen in allen Gruppen zu Versuchsbeginn bei 41 ± 1 mm Hg. Tiere unter normokapnischer Beatmung blieben bei 41 ± 1 mm Hg (Tabelle 2) und somit im geforderten Bereich von 35 - 45 mm Hg. Unter hyperkapnischer Beatmung wurden Drücke von 74 ± 2 mm Hg erreicht (Tabelle 9) und liegen damit ebenfalls im vorgegeben Bereich von 65 - 75 mm Hg.

Im Vergleich zu den normokapnisch beatmeten Gruppen erreichten die Tiere unter Hyperkapnie signifikant erhöhte pCO_2 -Werte (Tabelle 9).

Ergebnisse

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
pCO ₂ [mm Hg]	Baseline	41 ± 4	41 ± 5	40 ± 6	42 ± 7	39 ± 7	42 ± 7	53 ± 3	40 ± 4
	90 Minuten	73 ± 6*	72 ± 8*	40 ± 4	42 ± 4	69 ± 7*	69 ± 4*	40 ± 3	40 ± 2
	120 Minuten	76 ± 7*	73 ± 5*	41 ± 5	41 ± 8	74 ± 7*	76 ± 3*	40 ± 3	43 ± 3
pO ₂ [mm Hg]	Baseline	137 ± 18	133 ± 11	127 ± 22	140 ± 12	141 ± 17	141 ± 18	136 ± 11	133 ± 11
	90 Minuten	120 ± 14	115 ± 14	114 ± 15	118 ± 12	132 ± 14	126 ± 21	122 ± 17	115 ± 14
	120 Minuten	104 ± 11	108 ± 17	116 ± 22	117 ± 12	112 ± 18	112 ± 21	114 ± 20	108 ± 17

Tabelle 9: Mittelwerte ± Standardabweichung der Sauerstoff- und Kohlendioxid- Partialdrücke von septischen und Kontrolltieren, gemessen aus EDTA-Blut, $p < 0,05$. * vs. Normokapnie (2-way ANOVA Tukey), $n=10$.

Blutgasanalyse

Bei den regelmäßig durchgeführten arteriellen Blutgasanalysen wurden neben dem Base Excess und der Bicarbonat-Konzentration auch die gängigen Blutelektrolyte gemessen. Diese Parameter blieben in allen Versuchsgruppen über die gesamte Dauer des Versuches stabil (Tabelle 10):

Ergebnisse

		HKSHV	HKSHVB	NKSHV	NKSHVB	HKSV	HKSVB	NKSV	NKSVB
BE [mmol l ⁻¹]	Baseline	-1,2 ± 2	-2,5 ± 2	0,3 ± 2	-1,6 ± 2	-2,2 ± 2	-1,7 ± 1	-1,8 ± 2	-2,2 ± 2
	30 Minuten	-2,8 ± 2	-2,5 ± 2	-1,9 ± 2	-2,6 ± 2	-3,7 ± 2	-3,6 ± 1	-2,4 ± 2	-3,2 ± 2
	60 Minuten	-6,4 ± 4	-5,5 ± 4	-3,6 ± 3	-3,9 ± 3	-6,0 ± 4	-6,1 ± 3	-3,2 ± 3	-4,1 ± 3
	120 Minuten	7,1 ± 4	-6,0 ± 3	-5,4 ± 4	-6,3 ± 4	-7,0 ± 5	-6,2 ± 3	-4,6 ± 3	-4,9 ± 3
HCO ₃ ⁻ [mmol l ⁻¹]	Baseline	23,5 ± 9	22,0 ± 7	24,8 ± 9	23,0 ± 9	22,5 ± 9	22,5 ± 9	22,9 ± 1	21,8 ± 9
	30 Minuten	22,2 ± 8	22,3 ± 8	22,9 ± 8	22,1 ± 9	21,5 ± 8	21,4 ± 9	22,8 ± 1	21,3 ± 9
	60 Minuten	22,7 ± 8	23,7 ± 9	21,3 ± 8	20,6 ± 9	22,1 ± 9	22,1 ± 9	21,9 ± 3	20,4 ± 9
	120 Minuten	22,8 ± 8	23,3 ± 8	19,8 ± 8	17,41 ± 8	21,7 ± 9	22,8 ± 10	21,4 ± 2	20,0 ± 9
Na ⁺ [mmol l ⁻¹]	Baseline	151 ± 51	149 ± 51	147 ± 45	146 ± 44	147 ± 45	145 ± 44	149 ± 46	149 ± 46
	30 Minuten	149 ± 50	148 ± 45	146 ± 45	144 ± 44	147 ± 45	149 ± 46	150 ± 48	151 ± 46
	60 Minuten	150 ± 50	153 ± 47	146 ± 44	148 ± 45	149 ± 45	147 ± 45	147 ± 46	152 ± 46
	120 Minuten	151 ± 51	147 ± 45	147 ± 43	148 ± 45	147 ± 45	148 ± 45	149 ± 49	149 ± 46
K ⁺ [mmol l ⁻¹]	Baseline	4,5 ± 2	4,2 ± 1	4,4 ± 1	4,4 ± 1	4,2 ± 1	4,5 ± 1	4,2 ± 0	4,4 ± 1
	30 Minuten	4,3 ± 1	4,3 ± 1	4,4 ± 1	4,4 ± 1	4,4 ± 1	4,3 ± 1	4,2 ± 0	4,4 ± 1
	60 Minuten	5,1 ± 2	4,7 ± 1	4,6 ± 1	4,9 ± 2	4,7 ± 1	5,0 ± 24	4,4 ± 0	4,5 ± 1
	120 Minuten	5,4 ± 2	5,3 ± 2	4,5 ± 1	5,3 ± 22	5,4 ± 2	5,4 ± 2	4,5 ± 0	4,7 ± 1
Ca ⁺⁺ [mmol l ⁻¹]	Baseline	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,5	0,9 ± 0,4
	30 Minuten	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,5	0,8 ± 0,4
	60 Minuten	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,2 ± 0,5	1,0 ± 0,5	0,9 ± 0,4
	120 Minuten	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,4	1,1 ± 0,5	1,0 ± 0,4
Cl ⁻ [mmol l ⁻¹]	Baseline	109 ± 0	110 ± 1	113 ± 1	113 ± 1	115 ± 1	112 ± 0	116 ± 5	116 ± 3
	30 Minuten	115 ± 0	115 ± 3	118 ± 2	117 ± 3	119 ± 3	117 ± 0	118 ± 6	118 ± 3
	60 Minuten	112 ± 0	116 ± 7	118 ± 1	126 ± 1	117 ± 1	116 ± 0	118 ± 2	120 ± 3
	120 Minuten	112 ± 0	116 ± 7	118 ± 1	126 ± 1	117 ± 1	117 ± 0	118 ± 2	120 ± 3

Tabelle 10: Mittelwerte ± Standardabweichung der Blutgasanalysenmessung von septischen und Kontrolltieren unter Normokapnie und Hyperkapnie sowohl mit V_{1A} Rezeptor Blockade als auch unter Vehikel-Infusion, gemessen aus arteriellem Blut, n=10.

Vasopressinplasma-Spiegel

Bei Tieren aller Vehikel-infundierten Gruppen wurde auch der Spiegel des Vasopressingehaltes im Plasma gemessen. Hierbei zeigten sowohl septische als auch Sham-operierte Tiere unter hyperkapnischer Beatmung einen signifikanten

Ergebnisse

Anstieg des Vasopressinplasma-Spiegels im Vergleich zu den normokapnisch beatmeten Sham-Tieren (Hyperkapnie Sepsis: 44 ± 12 pg/ml; Hyperkapnie Sham 69 ± 22 pg/ml gegenüber Normokapnie Sham 21 ± 7 pg/ml, $p < 0,05$; Tabelle 11, Abb. 12).

	Normokapnie-Sham	Hyperkapnie-Sham	Normokapnie-Sepsis	Hyperkapnie-Sepsis
Vasopressin [pg/ml]	21 ± 7	69 ± 22 #	36 ± 15	44 ± 12 #

Tabelle 11: Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung der Plasma-Vasopressin-Messungen der mit Vehikel infundierten Tiere;

$p < 0,05$. # vs NKSHV (2-way ANOVA Tukey). $n = 10$ mit Ausnahme der Gruppe Hyperkapnie-Sham mit $n = 8$, da 2 Proben im externen Labor nicht messbar waren.

Vasopressinspiegel

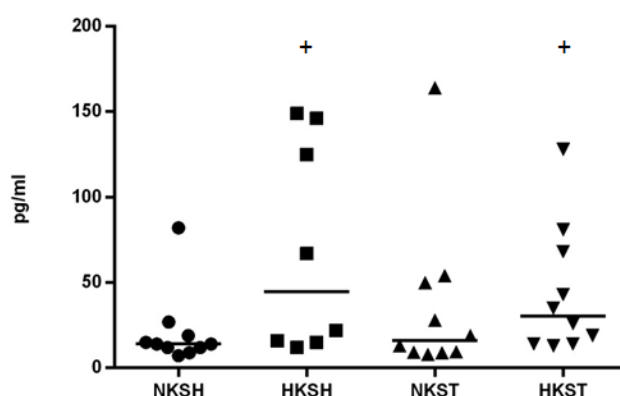


Abbildung 12: Veränderungen der Vasopressin-Plasmaspiegel bei septischen und Sham- Tieren unter normokapnischer bzw. hyperkapnischer Beatmung, Median, + zu NKSH (Mann Whitney Test), $p < 0,05$; $n = 10$ (HKSH $n = 8$).

Diese Ergebnisse wurden publiziert in Microvascular Research 106(2016) 24-30 unter dem Titel „Vasopressin V_{1A} receptors mediate the stabilisation of intestinal mucosal oxygenation during hypercapnia in septic rats“ (Schöneborn et al., 2016).

5.2 Hexamethonium

In der zweiten Versuchsreihe zur Wirkung einer Sympathikusblockade mittels Hexamethonium auf die mikrovaskulären Veränderungen der Darmschleimhaut wurden die gleichen Parameter wie in der ersten Versuchsreihe ausgewertet. Eine Bestimmung der Vasopressinspiegel entfiel. Zusätzlich wurde in dieser Versuchsreihe noch die wet-to-dry-ratio von Colon Ascendens und Lunge bestimmt.

Bei allen Parametern zeigten septische Tiere und Sham-operierte Kontrolltiere keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Baseline- Werte.

Mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHBO_2)

Effekt von Normokapnie (NK) und Hyperkapnie (HK)

Sham-operierte Kontrolltiere: In dieser Gruppe veränderte sich μHBO_2 weder unter normokapnischen noch unter hyperkapnischen Bedingungen über die 120 Minuten des Versuchslaufs.

Septische Tiere: Bei den septischen Tieren fiel die μHBO_2 signifikant über die Zeit unter normokapnischen Bedingungen ($-7,5 \pm 5,3 \%$, $p < 0,05$ bei 90 Minuten; $-8,9 \pm 4 \%$, $p < 0,05$, bei 120 Minuten) (Abb. 13, Tabelle 12). In den septischen Tieren mit hyperkapnischer Beatmung verbesserte sich die μHBO_2 signifikant zur Baseline um $9,9 \pm 5,7 \%$, $p < 0,05$ bei 30 Minuten, um $9,8 \pm 7 \%$, $p < 0,05$ bei 60 Minuten, um $6,5 \pm 8 \%$, $p < 0,05$ bei 90 Minuten und um $7,8 \pm 7,5 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten (Tabelle 12, Abb. 13).

Dabei war die μHBO_2 der hyperkapnisch-septischen Tiere mit $75 (\pm 7) \%$ auch signifikant höher als die der normokapnisch-septischen Tiere mit $65 (\pm 8) \%$.

Effekt von Hexamethonium (HM)

Sham-operierte Kontrolltiere: Unter der Infusion mit Hexamethonium zeigte sich keine signifikante Veränderung der mikrozirkulatorischen Oxygenierung während Hyperkapnie oder Normokapnie bei den Sham-operierten Tieren.

Septische Tiere: Die μHBO_2 verringerte sich in den septischen Tieren mit Hexamethonium-Infusion unter normokapnischen Bedingungen signifikant um $5,5 \pm 6,2 \%$, $p < 0,05$ bei 30 Minuten und um $6 \pm 5,4 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten. Unter hyperkapnischen Bedingungen verbesserte sich die μHBO_2 in Gegenwart von Hexamethonium signifikant um $8,8 \pm 10 \%$, $p < 0,05$ bei 30 Minuten, um $12 \pm 11,7 \%$, $p < 0,05$ bei 60 Minuten, um $8,6 \pm 11 \%$, $p < 0,05$ bei 60 Minuten und um $7,9 \pm 11,7 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten.

Es ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen hyperkapnisch-septischen Tieren (30 Minuten: $72 \pm 8 \%$, 60 Minuten: $76 \pm 10 \%$, 90 Minuten: $72 \pm 9 \%$, 120 Minuten: $71 \pm 7 \%$; $p < 0,05$) und den normokapnisch-septischen Tieren (30 Minuten: $68 \pm 8 \%$, 60 Minuten: $65 \pm 12 \%$, 90 Minuten: $65 \pm 12 \%$, 120 Minuten: $64 \pm 9 \%$; $p < 0,05$) (Abb.13).

Ergebnisse

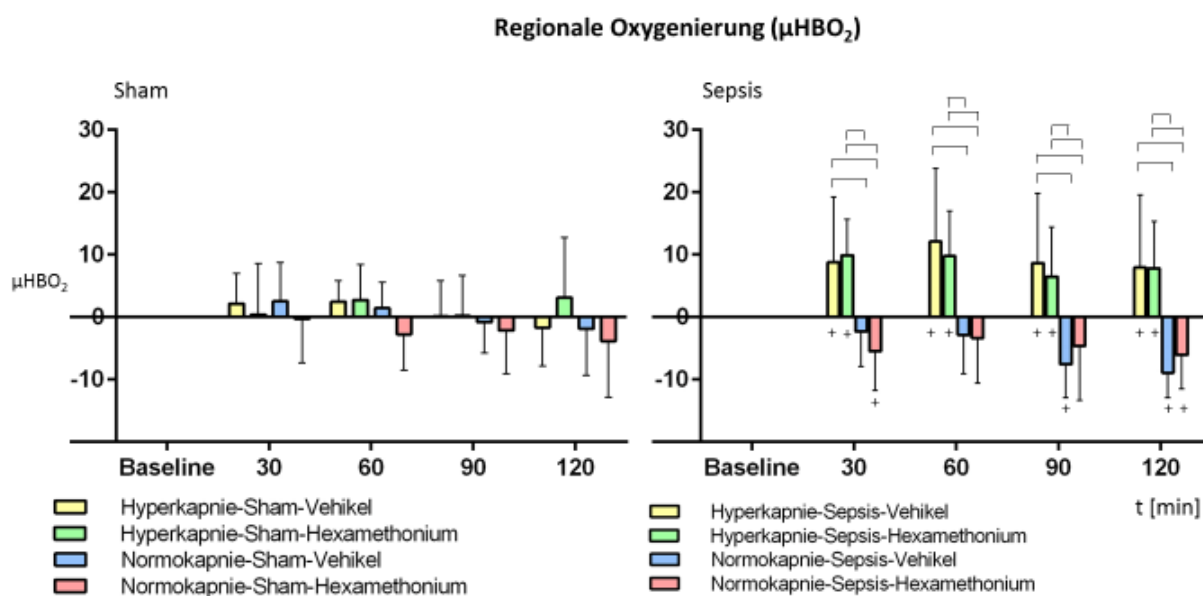


Abbildung 13: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Hexamethonium-Infusion auf die mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHBO_2) der Kolonschleimhaut. $\Delta\mu\text{HBO}_2$ von Sham- und Sepsis-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline, Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, n=10. + signifikant zur Baseline (2-way ANOVA Dunnett);

□ signifikant zwischen den Gruppen (2-way ANOVA Tukey), $p < 0,05$.

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
μHBO_2 [%]	Baseline	68 $\pm$ 8	71 $\pm$ 9	72 $\pm$ 3	70 $\pm$ 9	67 $\pm$ 10	64 $\pm$ 12	74 $\pm$ 7	70 $\pm$ 7
	30 Minuten	70 $\pm$ 6	72 $\pm$ 8	75 $\pm$ 6	70 $\pm$ 9	77 $\pm$ 6*#	72 $\pm$ 8*#	72 $\pm$ 10	68 $\pm$ 8
	60 Minuten	70 $\pm$ 8	74 $\pm$ 8	74 $\pm$ 4	68 $\pm$ 10	77 $\pm$ 7*#	76 $\pm$ 10*#	71 $\pm$ 9	67 $\pm$ 9
	90 Minuten	68 $\pm$ 8	72 $\pm$ 9	72 $\pm$ 5	68 $\pm$ 4	73 $\pm$ 9*#	72 $\pm$ 9*#	66 $\pm$ 10#	65 $\pm$ 12
	120 Minuten	66 $\pm$ 5	75 $\pm$ 11	70 $\pm$ 8	67 $\pm$ 3	75 $\pm$ 7*#	71 $\pm$ 7*#	65 $\pm$ 8#	64 $\pm$ 9

Tabelle 12: Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung der mikrozirkulatorischen Oxygenierung (μHBO_2), $p < 0,05$. * vs Baseline (2-way ANOVA Dunnett), # vs HKSTV (2-way ANOVA Tukey), n=10.

HKSHV	Hyperkapnie-Sham-Vehikel	HKSV	Hyperkapnie- Sepsis- Vehikel
HKSHH	Hyperkapnie-Sham-Hexamethonium	HKSH	Hyperkapnie- Sepsis- Hexamethonium
NKSHV	Normokapnie- Sham- Vehikel	NKSV	Normokapnie- Sepsis- Vehikel
NKSHH	Normokapnie- Sham- Hexamethonium	NKSH	Normokapnie- Sepsis- Hexamethonium

Mikrozirkulatorischer Fluss (μ flow)

Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie

Sham-operierte Kontrolltiere: In dieser Gruppe änderte sich der mikrozirkulatorische Fluss unter normokapnischer Beatmung nicht.

Unter Hyperkapnie verbesserte sich μ flow zur Baseline um 76 ($\pm$ 51) [AU], $p < 0,05$ bei 90 Minuten und um 57 ($\pm$ 46) [AU], $p < 0,05$ bei 120 Minuten. Hyperkapnisch beatmete Tiere zeigten zu normokapnisch beatmeten Tieren einen signifikant erhöhten μ flow bei 120 Minuten von 194,2 ($\pm$ 77) [AU], $p < 0,05$ zu 124,5 ($\pm$ 59) [AU], $p < 0,05$.

Septische Tiere: Bei den septischen Tieren änderte sich μ flow nicht über die Zeit unter normokapnischer Beatmung.

Unter Hyperkapnie verbesserte sich μ flow signifikant um 65 ($\pm$ 32) [AU], $p < 0,05$ bei 60 Minuten, um 73 ($\pm$ 58) [AU], $p < 0,05$ bei 90 Minuten und um 93 ($\pm$ 64) [AU], $p < 0,05$ bei 120 Minuten. Damit war μ flow signifikant erhöht in hyperkapnischen septischen Tieren (73 ($\pm$ 9) [AU] bei 90 Minuten und 75 ($\pm$ 7) [AU] bei 120 Minuten, $p < 0,05$) im Vergleich zu normokapnischen septischen Tieren, sowohl unter Vehikel-Infusion mit 66 ($\pm$ 9) [AU] bei 90 Minuten und mit 65 ($\pm$ 8) [AU] bei 120 Minuten $p < 0,05$) als auch unter Hexamethonium-Infusion mit 65 ($\pm$ 12) [AU] bei 90 Minuten und mit 64 ($\pm$ 9) [AU] bei 120 Minuten, $p < 0,05$ (Tabelle 13, Abb. 14).

Effekt von Hexamethonium

In Sham-operierten Tieren modulierte die Infusion von Hexamethonium den μ flow weder unter normokapnischer noch unter hyperkapnischer Beatmung.

Auch bei den septischen Tieren veränderte sich μ flow unter Normokapnie nicht über die Zeit. Jedoch verbesserte sich der μ flow unter Hyperkapnie signifikant zur Baseline um 65 ($\pm$ 47) [AU], $p < 0,05$ bei 60 Minuten, um 76 ($\pm$ 60) [AU], $p < 0,05$ bei 90 Minuten und um 93 ($\pm$ 64) [AU], $p < 0,05$ bei 120 Minuten (Tabelle 12, Abbildung 13).

Ergebnisse

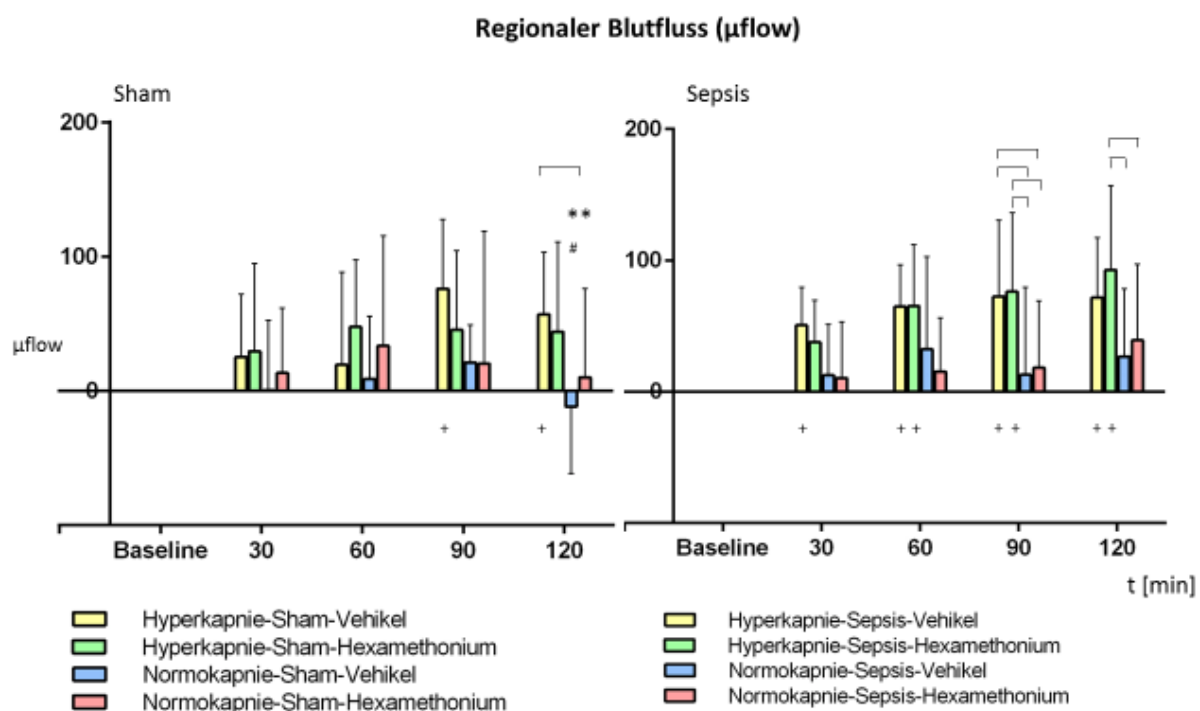


Abbildung 14: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Hexamethonium auf den regionalen Blutfluss der Kolonschleimhaut. $\Delta\mu$ flow von Sham-Tieren und Sepsis-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline. Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, n = 10.

+ zu Baseline (2-way ANOVA Dunnett);

— signifikant zwischen den Gruppen (2-way ANOVA Tukey),

* signifikant zu HKSTH, # signifikant zu HKSTV, (2-way ANOVA Tukey), p < 0,05.

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
μ flow [AU]	Baseline	97 $\pm$ 37	113 $\pm$ 54	123 $\pm$ 41	113 $\pm$ 41	137 $\pm$ 56	118 $\pm$ 61	136 $\pm$ 45	140 $\pm$ 35
	60 Minuten	162 $\pm$ 63*	179 $\pm$ 72	155 $\pm$ 57	128 $\pm$ 46	157 $\pm$ 79*	165 $\pm$ 66*	145 $\pm$ 54	173 $\pm$ 59
	120 Minuten	169 $\pm$ 52*	206 $\pm$ 87	150 $\pm$ 52	152 $\pm$ 67	194 $\pm$ 77*	162 $\pm$ 72*	125 $\pm$ 53	150 $\pm$ 59

Tabelle 13: Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung des mikrozirkulatorischen Blutflusses mit Standardabweichung, p < 0,05.* vs Baseline (2-way ANOVA Dunnett), n=10.

Ergebnisse

Mikrozirkulatorisches Sauerstoffangebot (μDO_2)

Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie

Das mikrozirkulatorische Sauerstoffangebot blieb konstant über den Versuchsverlauf sowohl in gesunden als auch in den septischen Tieren unter Normokapnie. μDO_2 verbesserte sich bei den septischen Tieren unter Hyperkapnie um $1046(\pm 774)$ [AU], $p<0,05$ bei 90 Minuten und um $1032 (\pm 902)$ [AU], $p<0,05$ bei 120 Minuten. Innerhalb der Gruppen zeigte μDO_2 während einer Sepsis unter hyperkapnischen Bedingungen einen signifikant erhöhten Wert von $2262 (\pm 744)$ [AU], $p<0,05$ bei 120 Minuten gegenüber der normokapnisch beatmeten Kontrollgruppe mit $1581 (\pm 752)$ [AU], $p<0,05$ (Tabelle 14, Abb.15).

Effekt von Hexamethonium

In allen Gruppen zeigte Hexamethonium keinen Einfluss auf μDO_2 unter Normokapnie. Unter Hyperkapnie verbesserte sich μDO_2 tendenziell, jedoch ohne dass dieser Effekt eine statistische Signifikanz erreichte.

Ergebnisse

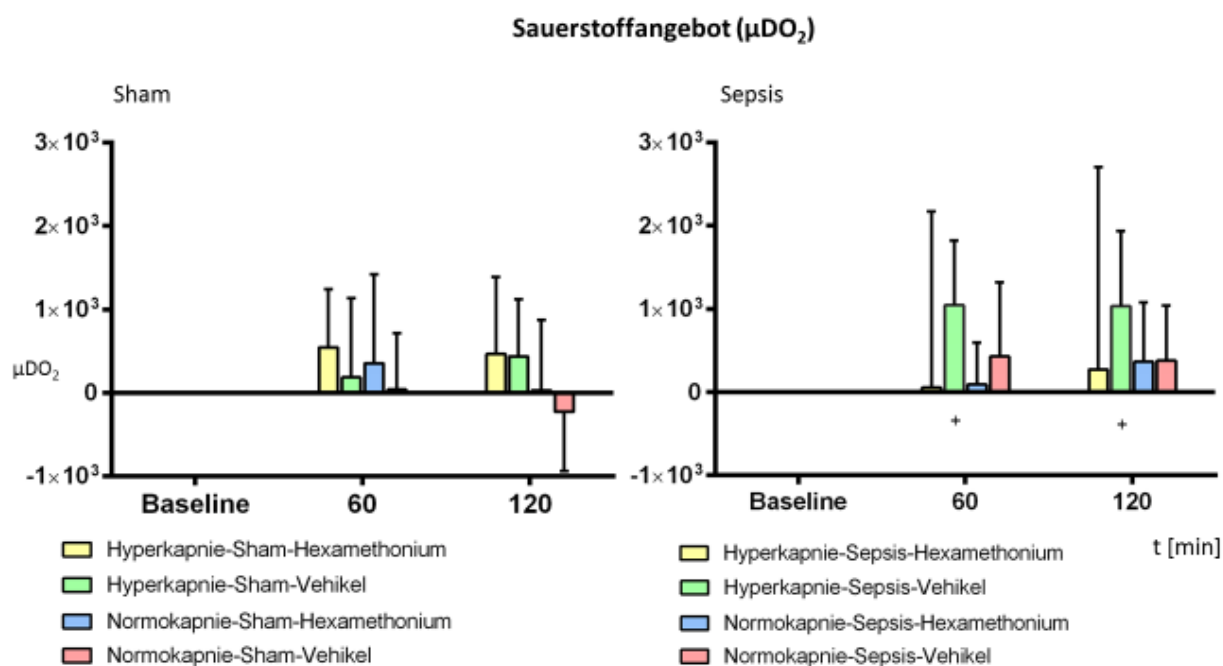


Abbildung 15: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Hexamethonium auf das Sauerstoffangebot der Kolonschleimhaut während Sepsis. $\Delta\mu\text{DO}_2$ von Sham und CASP-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline. Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, $n=10$ + vs. Baseline (2-way ANOVA Dunnett);

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
$\mu\text{DO}_2[\text{AU}]$	Baseline	1862 $\pm$ 714	1549 $\pm$ 835	1808 $\pm$ 627	1753 $\pm$ 522	1230 $\pm$ 626	2113 $\pm$ 1908	1728 $\pm$ 591	1485 $\pm$ 549
	60 Minuten	2048 $\pm$ 1055	2097 $\pm$ 860	1843 $\pm$ 796	2109 $\pm$ 807	2276 $\pm$ 893 #	2168 $\pm$ 907	2161 $\pm$ 655	1576 $\pm$ 590
	120 Minuten	2299 $\pm$ 960	2016 $\pm$ 906	1581 $\pm$ 752	1785 $\pm$ 802	2262 $\pm$ 744 #	2387 $\pm$ 1063	2106 $\pm$ 669	1852 $\pm$ 816

Tabelle 14: Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung des mikrozirkulatorischen Sauerstoffangebots, $p < 0,05$. # vs. Baseline (2-way ANOVA Dunnett), $n=10$.

Ergebnisse

Mikrozirkulatorischer Sauerstoffverbrauch (μVO_2)*Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie*

Sham-operierte Kontrolltiere: In dieser Gruppe veränderte sich der mikrozirkulatorische Sauerstoffverbrauch nicht über die Zeit, weder unter normokapnischer noch unter hyperkapnischer Beatmung.

Septische Tiere: Bei den septischen Tieren zeigte sich unter Normokapnie ein signifikanter Anstieg der μVO_2 (Baseline 406 ± 207 [AU]; 120 Minuten 622 ± 286 [AU], $p < 0,05$) (Tabelle 15, Abb.16). Unter hyperkapnischen Bedingungen blieb μVO_2 konstant über die Dauer des Versuches.

Effekt von Hexamethonium

Sham-operierte Kontrolltiere: Eine Hexamethonium-Infusion zeigte keinerlei Veränderung im Sauerstoffverbrauch unabhängig vom Beatmungsregime.

Septische Tiere: In dieser Gruppe zeigte sich ein signifikanter Anstieg der μVO_2 unter Normokapnie (Baseline 425 ± 170 [AU]; 120 Minuten 629 ± 202 [AU], $p < 0,05$). Hierbei ergab sich ein signifikanter Unterschied nach 120 Minuten zwischen den septischen-hyperkapnischen Tieren unter Hexamethonium (451 ± 221 [AU], $p < 0,05$) zu septischen-normokapnischen Tieren unter Hexamethonium (629 ± 202 [AU], $p < 0,05$) (Tabelle 15, Abb.16).

Ergebnisse

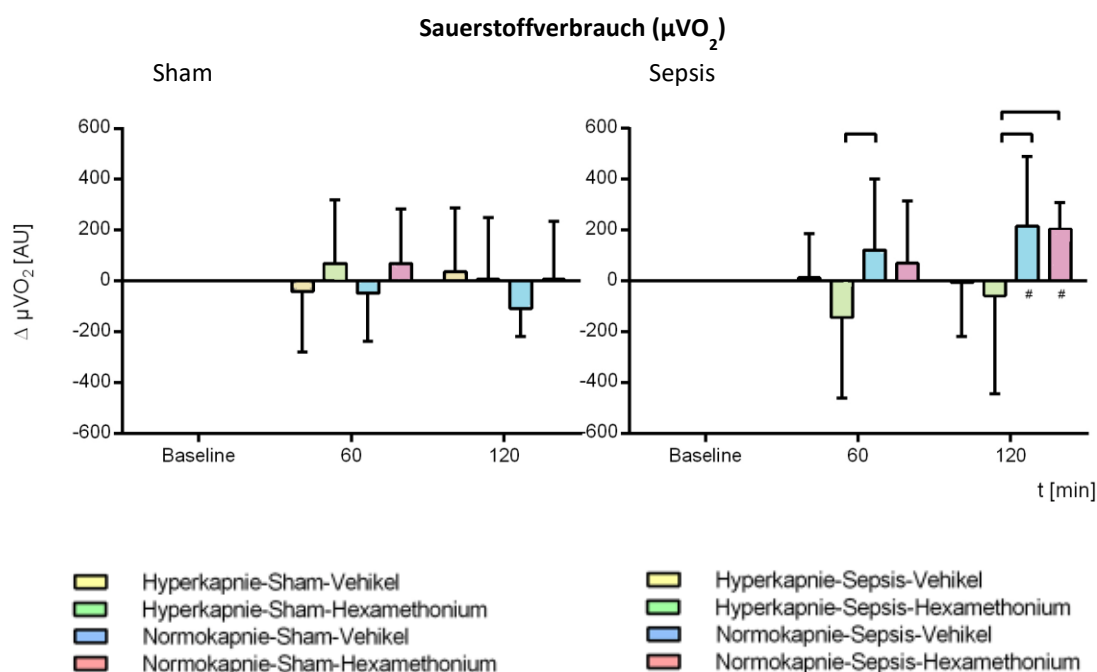


Abbildung 16: Effekt von Normokapnie, Hyperkapnie und Hexamethonium auf den Sauerstoffverbrauch der Kolonschleimhaut während Sepsis. Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, n = 10. $\Delta\mu\text{VO}_2$ von Sham und CASP-Tieren über die Versuchszeit verglichen zur Baseline, # zu Baseline (2-way ANOVA Dunnett).

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
μVO_2 [AU]	Baseline	503 $\pm$ 291	535 $\pm$ 210	449 $\pm$ 181	440 $\pm$ 102	362 $\pm$ 184	509 $\pm$ 362	406 $\pm$ 207	425 $\pm$ 170
	60 Minuten	462 $\pm$ 352	422 $\pm$ 300	402 $\pm$ 191	508 $\pm$ 167	375 $\pm$ 167	367 $\pm$ 248	528 $\pm$ 200*	495 $\pm$ 246*
	120 Minuten	539 $\pm$ 216	360 $\pm$ 325	342 $\pm$ 121	446 $\pm$ 197	355 $\pm$ 172	451 $\pm$ 221	622 $\pm$ 286# *	629 $\pm$ 202# *

Tabelle 15: Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung des mikrozirkulatorischen Sauerstoffverbrauchs, p < 0,05. # vs. Baseline (2-way ANOVA Dunnett), * vs. Hyperkapnie-Sepsis-sHexamethonium (2-way ANOVA Tukey); n=10.

Ergebnisse

Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAP)

Effekt von Normokapnie und Hyperkapnie

Der mittlere arterielle Blutdruck blieb konstant über die Dauer des Versuches sowohl in den Sham-operierten Tieren als auch in den septischen Tieren unabhängig von der Beatmung.

Effekt von Hexamethonium

Unter Hexamethonium-Infusion war der mittlere arterielle Blutdruck signifikant reduziert im Vergleich zu den Gruppen unter Vehikelinfusion sowohl in den septischen als auch in den Sham-operierten Tieren unabhängig von Normo- oder Hyperkapnie (Tabelle 16, Abb.17).

Über diesen signifikanten Blutdruckabfall erfolgte die Erfolgskontrolle für die Wirksamkeit der Hexamethonium-Infusion.

Ergebnisse

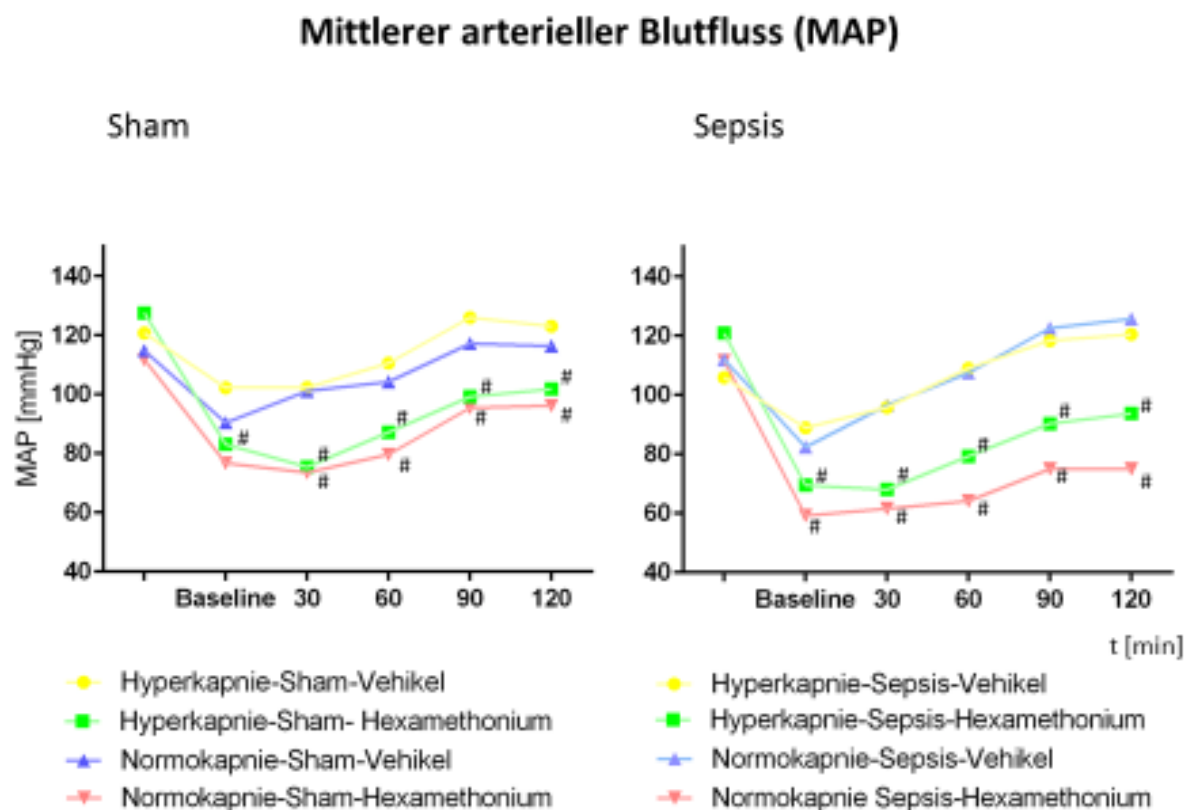


Abbildung 17: Einfluss von Hexamethonium auf den mittleren arteriellen Blutdruck über die Zeit, Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, $n = 10$, $p < 0,05$; $n=10$, # vs. Vehikel, (2-way ANOVA Tukey).

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
MAP	Start Bolus	106 $\pm$ 24	115 $\pm$ 16	112 $\pm$ 13	112 $\pm$ 19	120 $\pm$ 8	125 $\pm$ 11	115 $\pm$ 18	112 $\pm$ 14
[mm Hg]	Baseline	86 $\pm$ 20	69 $\pm$ 13#	82 $\pm$ 15	59 $\pm$ 7#	102 $\pm$ 18	83 $\pm$ 22#	92 $\pm$ 11	77 $\pm$ 12#
	30 Minuten	96 $\pm$ 20	68 $\pm$ 13#	97 $\pm$ 24	61 $\pm$ 8#	102 $\pm$ 13	75 $\pm$ 14#	101 $\pm$ 15	73 $\pm$ 10#
	60 Minuten	109 $\pm$ 26	79 $\pm$ 18#	107 $\pm$ 28	64 $\pm$ 7#	111 $\pm$ 17	87 $\pm$ 17#	104 $\pm$ 17	80 $\pm$ 12#
	90 Minuten	118 $\pm$ 25	90 $\pm$ 25#	123 $\pm$ 14	75 $\pm$ 17	126 $\pm$ 11	99 $\pm$ 25#	117 $\pm$ 19	95 $\pm$ 23#
	120 Minuten	120 $\pm$ 27	94 $\pm$ 24#	126 $\pm$ 9	75 $\pm$ 15#	123 $\pm$ 12	102 $\pm$ 23#	116 $\pm$ 13	96 $\pm$ 23#

Tabelle 16: Mittelwerte des mittleren arteriellen Blutdrucks mit Standardabweichung, # $p < 0,05$ vs. Vehikel, (2-way ANOVA Tukey), $n=10$.

Ergebnisse

Laktat und **Herzfrequenz** (Tabelle 17) blieben in allen Versuchsgruppen über die gesamte Dauer des Versuchs stabil.

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
HR [min ⁻¹]	Start Bolus	484 ± 116	391 ± 41	427 ± 66	396 ± 51	379 ± 49	370 ± 22	375 ± 42	371 ± 23
	Baseline	485 ± 116	392 ± 41	428 ± 66	397 ± 51	380 ± 49	371 ± 22	376 ± 42	372 ± 23
	30 Minuten	475 ± 35	392 ± 47	446 ± 57	413 ± 53	381 ± 47	361 ± 36	380 ± 54	382 ± 37
	60 Minuten	437 ± 86	401 ± 47	440 ± 68	405 ± 57	375 ± 44	354 ± 34	378 ± 33	366 ± 23
	90 Minuten	497 ± 36	423 ± 50	483 ± 60	443 ± 56	426 ± 39	397 ± 27	425 ± 50	406 ± 46
	120 Minuten	485 ± 38	420 ± 53	470 ± 59	432 ± 56	418 ± 45	378 ± 31	419 ± 37	409 ± 43
Laktat [mmol l ⁻¹]	Baseline	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,6	1,9 ± 0,6	1,5 ± 0,6	1,5 ± 0,4	1,9 ± 0,7	1,6 ± 0,4
	120 Minuten	0,8 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,7	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1

Tabelle 17: Mittelwerte ± Standardabweichung der Herzfrequenz und dem Laktatwert, n=10.

Hämatologie

Die Analyse der EDTA-Blutproben vor Versuchsbeginn ergab signifikante Unterschiede zwischen den septischen und den Sham-operierten Tieren.

Bei der Messung der Leukozyten zeigten sich bei den septischen Tieren signifikant niedrigere Plasmaspiegel an Leukozyten von $5,5 (\pm 0,3) \cdot 10^3/\text{mm}^3$ vs. $7,5 (\pm 0,2) \cdot 10^3/\text{mm}^3$, $p < 0,05$ bei den Sham-operierten Kontrolltieren (Tabelle 18).

	Sepsis	Sham
Leukozyten [$10^3/\text{mm}^3$]	$5,5 \pm 0,3\#$	$7,5 \pm 0,2$

Tabelle 18: Daten der Leukozytenmessungen ± Standardabweichung von septischen und Kontrolltieren, gemessen aus EDTA-Blut, $p < 0,05$. # vs. Sham-operierten Kontrolltieren, (2-way ANOVA Tukey), n=40)

Der pH-Wert variierte zwischen den Beatmungsregimen im zu erwartenden Ausmaß: Tiere, die hyperkapnisch beatmet wurden zeigten deutlichere Abfälle von 7,4 zu 7,2, wohingegen bei normokapnischer Beatmung lediglich ein Abfall auf 7,3 gemessen wurde (Tabelle 19).

Ergebnisse

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
pH	Baseline	7,4 ± 0	7,4 ± 0	7,4 ± 0	7,4 ± 0	7,4 ± 0	7,4 ± 0	7,4 ± 0,1	7,4 ± 0
	120 Minuten	7,1 ± 0	7,2 ± 0*	7,3 ± 0	7,3 ± 0	7,1 ± 0*	7,2 ± 0*	7,3 ± 0	7,4 ± 0

Tabelle 19: Mittelwerte ± Standardabweichung des systemischen Blut-pHs, $p < 0,05$. * vs Baseline (2-way ANOVA Tukey), $n=10$.

Die Sauerstoff-Partialdrücke lagen bei allen Gruppen zu Beginn des Versuches bei 139 und sanken gegen Ende auf 111 mm Hg (Tabelle 19), sie lagen somit im tolerierbaren Bereich > 90 mm Hg.

$p\text{CO}_2$ Anfangswerte lagen in allen Gruppen bei 38 mm Hg. Tiere unter normokapnischer Beatmung blieben bei 42 mm Hg und somit im geforderten Bereich von 35 - 45 mm Hg. Unter hyperkapnischer Beatmung wurden Drücke von 74 mm Hg erreicht, was ebenfalls im vorgegeben Bereich von 65 - 75 mm Hg liegt (Tabelle 20).

		HKSHV	HKSHH	NKSHV	NKSHH	HKSV	HKSH	NKSV	NKSH
$p\text{CO}_2$ [mmHG]	Baseline	38 ± 4	38 ± 3	38 ± 6	36 ± 3	38 ± 3	37 ± 4	41 ± 3	39 ± 4
	60 Minuten	69 ± 5*	69 ± 4*	39 ± 4	38 ± 3	69 ± 4*	70 ± 5*	41 ± 6	40 ± 3
	120 Minuten	75 ± 3*	76 ± 4*	42 ± 5	42 ± 3	75 ± 5*	72 ± 4*	42 ± 5	43 ± 4
$p\text{O}_2$ [mmHG]	Baseline	139 ± 12	142 ± 11	139 ± 16	144 ± 19	136 ± 15	139 ± 16	143 ± 10	134 ± 10
	60 Minuten	133 ± 18	137 ± 15	139 ± 18	136 ± 15	131 ± 18	139 ± 18	130 ± 15	123 ± 13
	120 Minuten	121 ± 21	121 ± 18	122 ± 18	125 ± 15	117 ± 13	122 ± 18	116 ± 19	105 ± 14

Tabelle 20: Mittelwerte ± Standardabweichung der Sauerstoff und Kohlendioxid-Partialdrücke, $n=10$, $p < 0,05$, * vs. Normokapnie (2-way ANOVA Dunnett).

Die Auswertung der wet-to-dry-ratio von Lunge und Kolon ergab keinen Unterschied zwischen septischen und Kontrolltieren (Tabelle 21).

Lunge	Wet	Dry	Ratio	Darm	Wet	Dry	Ratio
Sham [mg]	40±24	7±2	6	Sham [mg]	117±40	15±5	8
Sepsis [mg]	44±20	8±3	7	Sepsis [mg]	120±40	18±7	7

Tabelle 21: Mittelwerte ± Standardabweichung der wet-to-dry- ratio von Darm und Lunge, $n=20$.

Ergebnisse

Blutgasanalyse

Bei den regelmäßig durchgeführten arteriellen Blutgasanalysen wurden neben dem Base Excess und der Bicarbonat-Konzentration auch die gängigen Blutelektrolyte gemessen. Diese Parameter blieben in allen Versuchsgruppen über die gesamte Dauer des Versuches stabil (Tabelle 22):

		HKSHV	HKSHHM	NKSHV	NKSHHM	HKSV	HKSHM	NKSV	NKSHM
BE [mmol l ⁻¹]	Baseline	-1,7 ± 2	-2,8 ± 2	-0,5 ± 3	-1,6 ± 2	-2,5 ± 2	-2,1 ± 2	-3 ± 2	-2,0 ± 2
	30 Minuten	-3,1 ± 2	-2,8 ± 2	-2,2 ± 2	-2,6 ± 2	-3,8 ± 2	-3,6 ± 1	-4 ± 3	-2,9 ± 2
	60 Minuten	-5,8 ± 3	-5,2 ± 3	-3,7 ± 3	-3,9 ± 3	-5,7 ± 4	-5,7 ± 3	-3 ± 2	-3,7 ± 3
	120 Minuten	-6,9 ± 4	-6,1 ± 3	-5,6 ± 4	-6,3 ± 4	-6,8 ± 5	-6,3 ± 3	-5 ± 3	-4,7 ± 3
HCO ₃ ⁻ [mmol l ⁻¹]	Baseline	23,5 ± 8	22,1 ± 7	24,6 ± 8	23,0 ± 9	22,6 ± 8	22,6 ± 9	22 ± 9	22,4 ± 7
	30 Minuten	22,0 ± 8	22,1 ± 8	22,6 ± 7	22,1 ± 9	21,3 ± 8	21,2 ± 8	23 ± 10	22,0 ± 7
	60 Minuten	22,4 ± 8	23,3 ± 8	21,1 ± 7	20,6 ± 9	21,8 ± 8	21,7 ± 8	23 ± 9	21,1 ± 7
	120 Minuten	22,7 ± 8	23,1 ± 8	20,1 ± 7	17,41 ± 8	21,8 ± 9	22,7 ± 9	21 ± 9	20,9 ± 7
Na ⁺ [mmol l ⁻¹]	Baseline	151 ± 46	150 ± 42	148 ± 42	146 ± 44	148 ± 42	146 ± 41	150 ± 58	149 ± 35
	30 Minuten	147 ± 45	147 ± 41	146 ± 41	144 ± 44	146 ± 41	148 ± 42	146 ± 47	151 ± 35
	60 Minuten	149 ± 43	151 ± 41	145 ± 39	148 ± 45	148 ± 40	146 ± 39	148 ± 42	150 ± 34
	120 Minuten	152 ± 44	149 ± 40	148 ± 40	148 ± 45	149 ± 40	150 ± 40	151 ± 54	149 ± 34
K ⁺ [mmol l ⁻¹]	Baseline	4,4 ± 1	4,1 ± 1	4,4 ± 1	4,4 ± 1	4,2 ± 1	4,4 ± 1	4,3 ± 2	4,3 ± 1
	30 Minuten	4,3 ± 1	4,3 ± 1	4,4 ± 1	4,4 ± 1	4,4 ± 1	4,3 ± 1	4,3 ± 1	4,3 ± 1
	60 Minuten	4,8 ± 2	4,5 ± 1	4,5 ± 1	4,9 ± 2	4,6 ± 1	4,8 ± 1	4,3 ± 1	4,4 ± 1
	120 Minuten	5,2 ± 2	5,1 ± 2	4,5 ± 1	5,3 ± 22	5,2 ± 2	5,2 ± 2	4,4 ± 2	4,6 ± 1
Ca ⁺⁺ [mmol l ⁻¹]	Baseline	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,3
	30 Minuten	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,1 ± 0,6	0,8 ± 0,3
	60 Minuten	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,1 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,4
	120 Minuten	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,4	1,0 ± 0,4

Tabelle 22: Mittelwerte ± Standardabweichung der Blutgasanalysenmessung von septischen und Kontrolltieren unter Normokapnie und Hyperkapnie sowohl mit Hexamethonium- als auch unter Vehikel-Infusion, gemessen aus arteriellem Blut, n=10.

5. Diskussion

In dieser Dissertation wird der Einfluss des Vasopressinsystems und des sympathischen Nervensystems auf die durch Hyperkapnie induzierte Verbesserung der Oxygenierung der Darmschleimhaut untersucht.

1. In der ersten Versuchsreihe wurde das Vasopressinsystem mittels eines V_{1A} -Rezeptorantagonisten blockiert. Bei den Sham-Gruppen zeigten weder die Änderung des CO_2 -Angebots in der Beatmungsluft noch die Vasopressinrezeptorblockade Wirkungen auf die intestinale Mikrozirkulation. Bei septischen Tieren sank die Oxygenierung stetig über die Dauer des Versuchs, wenn die Ratten normokapnisch beatmet wurden. Hyperkapnie verhinderte diesen Abfall. Der protektive Effekt der Hyperkapnie war in Gegenwart des V_{1A} -Rezeptorantagonisten unterdrückt (Abb.9).
2. In der zweiten Versuchsreihe wurde das sympathische Nervensystem mittels Hexamethonium blockiert. Ebenso wie in der vorherigen Versuchsreihe wurde auch hier die Oxygenierung der Darmschleimhaut in Sham-Tieren nicht beeinflusst, weder von dem jeweils angewandten Beatmungsregime noch von der Vehikel- oder Wirkstoff-Infusion. Bei den septischen Tieren fiel die mikrozirkulatorische Oxygenierung des Kolons unter normokapnischer Beatmung. Im Gegensatz dazu verbesserte eine Hyperkapnie die Oxygenierung. Beide Effekte wurden durch Hexamethonium nicht beeinflusst (Abb. 12).

Aufgrund der Ergebnisse können folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

1. Vasopressin scheint auch unter septischen Bedingungen die Stabilisierung von μHbO_2 während hyperkapnischer Beatmung zu vermitteln.
2. Hexamethonium, als Blocker des sympathischen Nervensystems genutzt, scheint bei der septischen Ratte keinen Einfluss auf die durch Hyperkapnie verbesserte μHbO_2 des Kolons zu haben.

5.1 Sepsismodell

Die angewandte CASP-Operation ist eine etablierte Operationstechnik zur Entwicklung einer moderaten abdominalen Sepsis. Im Vergleich zu anderen Methoden wie der intraperitonealen Injektion von Lipopolysacchariden kann bei der Anwendung der CASP-Operation die genaue Menge an übertretenden Keimen und Toxinen nicht vorherbestimmt werden. Hierdurch variiert die septische Ausprägung und damit auch die immunologische Antwort. Zudem kann eine Katheter-induzierte Leckage des Darms wie bei der CASP-Operation nicht in allen Aspekten die klinisch relevante Lockerung der intestinalen Epithelverbände einer Anastomoseninsuffizienz nachahmen. Dennoch spiegelt die *colon ascendens stent peritonitis* die Pathophysiologie der humanen Sepsis am ehesten wider (Maier et al., 2004, Clark and Coopersmith, 2007; Lustig et al., 2007). So zeigen sich bei der CASP-induzierten Sepsis vergleichbare Organschäden (Lunge, Niere, Knochenmark) wie in septischen Patienten. Auch sind die Zytokinverläufe wie z.B. von Interleukin-1 und Interferon-gamma als wichtige Bestandteile der Pathophysiologie der Sepsis im Menschen vergleichbar (Rittirsch et al., 2006). Dies ist besonders relevant für die Untersuchungen der Mikrozirkulation in der Sepsis, da die Entwicklung der Zytokinspiegel einen entscheidenden Einfluss auf die intestinale Vasoregulation hat (De Backer et al., 2014).

Das LPS Modell spiegelt durch die Verabreichung von Bakterienbestandteilen zwar eine vergleichbare Immunreaktion des Körpers wider, jedoch nicht die physiologische intraperitoneale Reaktion des Körpers auf den Übertritt von Noxen einerseits und die Barriereverletzung des Darmepithels andererseits. Auch unterscheidet sich die Zytokinantwort von der einer humanen Sepsis. Die Zytokinplasmaspiegel fallen wesentlich schneller ab als in der humanen Sepsis (Rittirsch et al., 2006).

Gleiches gilt auch für das Impfbakterien Modell (Rittirsch et al., 2006). Mit dem fäkalen Pellet Modell wird weitestgehend eine hochgradige Peritonitis und Abszessbildung mit hoher Letalität und deutlichen Kreislaufveränderungen induziert (Deitch, 2005). Im Unterschied zum CASP-Modell wird mittels Ligatur

und Punktion des Colons (CLP) eine geringe systemische Entzündungsreaktion mit vorrangiger Abszessbildung erreicht (Maier et al., 2004). Bei einer Ligatur mit anschließender Inzision (CLI) wird ein ähnliches Zytokinmuster wie bei einer humanen Sepsis provoziert. Jedoch tritt durch dieses Modell eine schwere Sepsis bis hin zum septischen Schock ein (Maier et al., 2004), was nicht den gewünschten Untersuchungsgrundlagen einer moderaten Sepsis dieser Studie entspricht.

Die CASP-Operation, als gut reproduzierbare und zügige Operationstechnik zur Erreichung einer milden Sepsis, entspricht den für die vorliegenden Versuchsreihen geeigneten Sepsiskautelen. Mit der Wahl eines 14 Gauge Stents wurde die Ausprägung und Mortalität der Sepsis ähnlich des Verlaufes einer humanen Sepsis gewählt (Reinhart et al., 2006; Stübs et al., 2013).

5.2 Messtechnik der regionalen Sauerstoffversorgung des Kolons

Die Messung und Berechnung mikrozirkulatorischer Parameter wurde mittels Reflektions-Spektroskopie durchgeführt. Hiermit konnten die regionale Sauerstoffsättigung (μHbO_2), der regionale Blutfluss (μflow) und die regionale Menge an Hämoglobin (rHB) ermittelt werden. rHB gilt hierbei als Maß der Anzahl an Erythrozyten in der Mikrozirkulation (Krug, 2007). Die Messung der regionalen Oxygenierung wird dabei hauptsächlich durch den venösen Anteil der Kapillargebiete bestimmt, da sich 85 % des Hämoglobins in Venolen befindet. Das ist der Bereich des kapillären Stromgebietes, der als erster von Sepsis-induzierten Störungen betroffen ist (Sakr et al., 2010). Somit können hier frühzeitig Änderungen der mikrozirkulatorischen Oxygenierung abgelesen werden. Dies geschieht über die gesamte Wanddicke von 0,45 mm des Rattenkolons, da die Messsonde mit ihrer Eindringtiefe von 0,7 mm den gesamten Durchmesser abzudecken vermag (Hebel and Stromberg, 1976; Morris et al., 1989). Entscheidend für die Interpretation der Ergebnisse ist, dass das Laser-Dopplersignal der Sonde Werte aus dem gesamten beleuchteten Bereich von 1 mm Durchmesser ermittelt (Lea Fachinformation). Somit ist zwar ein Überblick über dieses Areal, aber keine Aussage über die kapilläre Dichte oder Heterogenität des

Blutflusses möglich. Jedoch ermöglicht die Reflektions-Spektroskopie eine gleichwertige Detektion von gastrointestinalen Ischämien, wie sie auch bei der Laser-Fluxmetrie (Leung et al., 1987), der intravitalen Mikroskopie (Bellamy et al., 1997) bzw. bei der Wasserstoffclearance (Machens et al., 1995) erreicht wird. Weiterführende Messtechnik wie die *Sidestream Dark Field* Bildgebung zur genauen Betrachtung der Heterogenität und Dichte der einzelnen Kapillare kann weiterführende Erkenntnisse bringen und ist aktuell Bestandteil weiterer Forschungsprojekte.

Die Menge an gelöstem CO₂ im Rahmen der Hyperkapnie hat keinen Einfluss auf die Absorptionsleistung der Sonde oder auf die Hämoglobindichte. Der Hersteller konnte bestätigen, dass noch keine Interaktionen durch CO₂ festgestellt wurden (persönliche Kommunikation, (Beck et al., 2015)).

5.3 Einleitung hyperkapnischer Beatmung

Je nach Gruppenzugehörigkeit wurde die individuelle gewichtsadaptierte, drucklimitierte Beatmung jedes Tieres zum Zeitpunkt der Baseline eingestellt. Die gewünschten pCO₂ Werte wurden mittels Zugabe von exogenen CO₂ erreicht, ohne Beeinflussung der Tidalvolumina oder der Atemfrequenz zur Vermeidung intrathorakaler oder zentralvenöser Druckartefakte. Mittels Muskelrelaxation (Pancuronium-Injektion) wurde eine spontane Atmung während der Narkose bei allen Ratten unterbunden.

Die dabei induzierte moderate Hyperkapnie von 65 - 75 mm Hg wurde bereits in mehreren Studien angewandt (Beck et al., 2015; Stübs et al., 2013). Im Rahmen dieser Hyperkapnie kommt es zu einer signifikanten pH-Reduktion der Tiere, im Sinne einer systemischen Azidose. Durch diese systemische Azidose verschiebt sich die Sauerstoffsättigungskurve nach rechts, was für eine bessere Bereitstellung des Sauerstoffs im peripheren Gewebe sorgt (Stübs et al., 2013). Dabei zeigen sich Unterschiede sowohl im Kurvenverlauf als auch in der Kurvenverschiebung zwischen Mensch und Ratte. Grundsätzlich schiebt sich die Bindungskurve weiter nach rechts auf der x-Achse je kleiner das Tier ist. Das heißt, wenn der O₂-

Partialdruck des Menschen bei einer 50-prozentigen Sauerstoffsättigung bei 24-28 mm Hg liegt, befindet er sich bei der Ratte bei 48-52 mm Hg (Abbildung 17). Somit ist die O_2 Affinität des Menschen höher als die der Ratte (Breves und von Engelhardt, 2005). Um eine Aussage über den Effekt einer moderaten Hyperkapnie auf die intestinale Oxygenierung des Darms treffen zu können, müssen diese Überlegungen in die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen mit einbezogen werden.

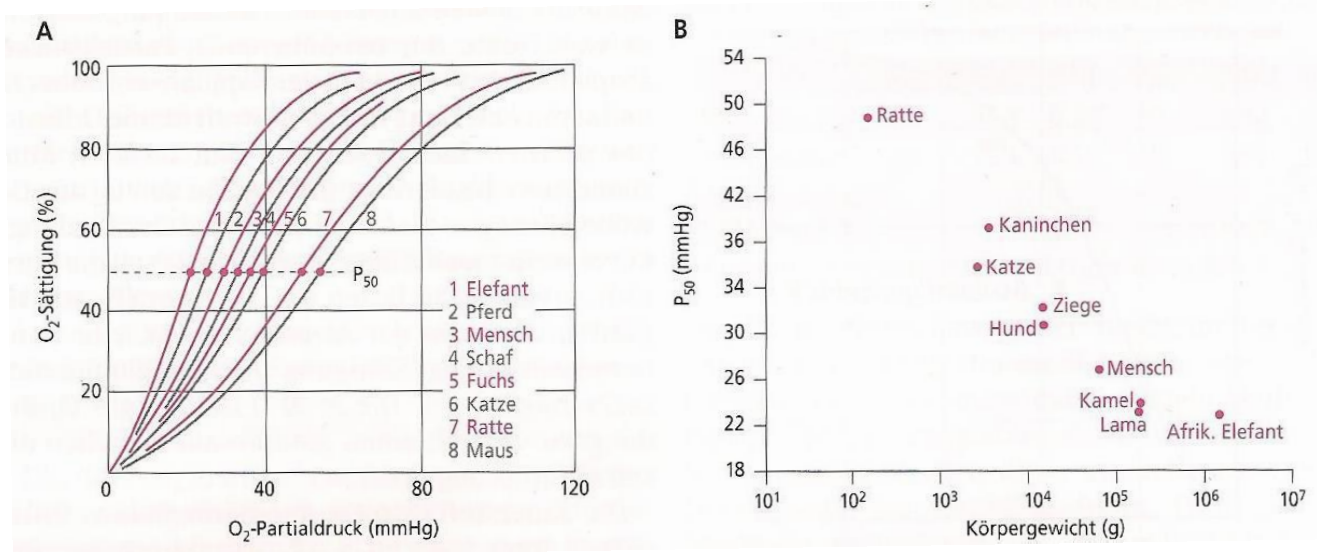


Abbildung 18: A O_2 -Bindungskurve verschiedener Säugetiere. Je kleiner das Tier, desto weiter rechtsliegt die Bindungskurve. B P_{50} -Werte (Sauerstoffpartialdruck, bei dem 50 % des Sauerstoffs im Blut gesättigt sind) des Bluts verschiedener Säuger (Breves und von Engelhardt, 2005)

5.4 Versuchsreihe Vasopressininhibitor

Die Beteiligung von Vasopressin bei der Antwort der Mikrozirkulation auf Hyperkapnie wurde über die gezielte Blockade der Vasopressin-Rezeptoren vom Typ V_{1A} geprüft. Der verwendete Rezeptorblocker *SR 49059* wurde schon in anderen Studien erfolgreich in Versuchen mit Ratten angewandt (Hicks et al., 2014; Ramos et al., 2013). Jedem Tier wurde bei Versuchsende Vasopressin i.v. injiziert, um die Effektivität der Blockade der Rezeptoren zu überprüfen. Dabei zeigten sich keinerlei Veränderungen des systemischen Blutdrucks, wohingegen es

ohne Blockade zu einem rapiden Anstieg des systemischen Blutdruckes kam (Daten nicht gezeigt).

Der genaue Wirkmechanismus der Wirkung von Vasopressin auf die mikrozirkulatorische Oxygenierung ist bislang ungeklärt. Dabei wird vor allem die Wirkung von Vasopressin auf die gastrointestinale Hämodynamik kontrovers diskutiert. Asfar und Kollegen konnten zeigen, dass niedrig dosiertes Vasopressin einen positiven Effekt auf die gastrointestinale Mikrozirkulation zu haben scheint. Das dabei verwendete Vasopressin-Analogon Terlipressin führte an endotoxischen Ratten zu einer Verbesserung der systemischen und gastrointestinalen Hämodynamik sowie zu einer Verbesserung der ilealen Mikrozirkulation (Asfar et al., 2003b). Eine Studie mit Terlipressin an septischen Patienten ergab hingegen einen negativen Effekt auf die Mikrozirkulation, gemessen an Skelettmuskelproben (Boerma et al., 2007). In endotoxischen Schweinen zeigte eine Vasopressininfusion keinerlei Verbesserung der Mikrozirkulation. Bei gesunden Schweinen hingegen verbesserte sich das Sauerstoffangebot und der mikrozirkulatorische intestinale Blutfluss (Knotzer et al., 2006).

Bei Versuchen an gesunden Hunden konnte unter hyperkapnischen Bedingungen eine verbesserten μHBO_2 festgestellt werden. Diese Verbesserung verschwand, wenn gleichzeitig Vasopressinrezeptoren blockiert wurden. Das Sauerstoffangebot (μDO_2) verbesserte sich unabhängig von einer Vasopressinrezeptorblockade (Vollmer et al., 2013). Die Stabilisierung der μHBO_2 unter septischen Bedingungen während einer Hyperkapnie bei der Ratte scheint unabhängig von der μDO_2 zu sein. Unter septischen Kautelen verringerte sich jedoch der Sauerstoffverbrauch (μVO_2) unter Hyperkapnie signifikant (Abb.9). Unter Hyperkapnie und gleichzeitiger Vasopressinrezeptorblockade zeigte sich kein solcher Effekt und die μVO_2 veränderte sich nicht.

Eine Verringerung der μVO_2 könnte mit einem reduzierten Zellmetabolismus zusammenhängen, da diese Veränderung ohne Beeinflussung des mikrozirkulatorischen Blutflusses (μflow) und der μDO_2 einhergeht. Eine weitere Erklärung für eine verringerte μVO_2 könnte auch eine Verschiebung von aerober

zu anaerober Energiegewinnung sein, was ebenfalls zu einem verminderten Sauerstoff-Verbrauch führen würde, da Oxygenierung in den postkapillären Venolen gemessen wird. Eine vermehrte anaerobe Energiegewinnung würde allerdings mit einer Erhöhung des Laktat-Levels im Blut einhergehen. Eine solche Konzentrationsveränderung konnte jedoch nicht festgestellt werden. Prinzipiell wurden dabei allerdings systemische Laktat-Spiegel gemessen und nicht die lokale Laktat-Konzentration im Darm bestimmt, so dass eine lokale Laktat-Erhöhung und damit eine anaerobe Energiegewinnung nicht in Gänze ausgeschlossen werden kann. Dennoch scheint eine Umstellung von aeroben auf anaeroben Stoffwechsel eher unwahrscheinlich. Eine weitere Erklärung wäre eine unzureichende intestinale Sauerstoffverarbeitung. Eine Sepsis führt neben der mikrozirkulatorischen Dysfunktion ebenfalls zu einer mitochondrialen Dysfunktion (Spronk et al., 2005b). Ob eine veränderte Sauerstoffverarbeitung der Grund für die erhöhte μHBO_2 sein kann, ist Gegenstand aktueller Forschungen (Herminghaus et al., 2015).

Eine Optimierung der heterogenen Perfusion postkapillärer Gefäße beziehungsweise eine Verbesserung der Diffusionsstrecke könnten ebenfalls Erklärungsansätze für eine verminderte μVO_2 geben. Hierfür kann die Anwendung weiterer bildgebender Techniken wie die Sidestream Dark Field (SDF) Bildgebung zusätzliche Ergebnisse geben, da hier die einzelnen Gefäße überwacht werden können. Heterogenität und Intensität der Durchblutung können so kalkuliert werden (Goedhart et al., 2007).

Generell sind Vasopressin-Plasma-Spiegel unter hyperkapnischen Bedingungen erhöht (Rose et al., 1984). Diese Ergebnisse decken sich mit den Messungen der Vasopressin-Spiegel aus Proben dieser Forschungsarbeit. Sowohl bei septischen Tieren als auch bei den Kontrolltieren mit hyperkapnischer Beatmung zeigten sich signifikant erhöhte Vasopressin-Plasmaspiegel im Vergleich zur normokapnischen Kontrollgruppe (Abb. 12, S.54). Auch in Ratten mit endotoxischem Schock (Schaller et al., 1985) sowie in Hunden und Pavianen mit septischen Schock (Wilson, 1981) fanden sich erhöhte Plasmaspiegel. Die Ergebnisse dieser Studie ergaben nur einen marginal höheren Plasmaspiegel bei septischen Tieren im Vergleich zu

Kontrolltieren, der keine Signifikanz erreicht. Das kann an den unterschiedlichen Sepsismodellen liegen, da bei der CASP-Operation lediglich eine milde Sepsis erreicht wird im Vergleich zu einem septischen Schock (Lustig et al., 2007; Wilson, 1981).

Da Vasopressin vermehrt bei Sepsis und Hyperkapnie im Blut zirkuliert ist eine mögliche Erklärung des Effekts der V_{1A} Rezeptorblockade in meiner Studie eine gesteigerte Verfügbarkeit von Vasopressin an anderen verbleibenden Vasopressin- Rezeptoren, wie zum Beispiel V_2 -, V_3 -, Oxytozin- oder purinergen (P_2R) (Holmes et al., 2003) Rezeptoren. Eine Aktivierung von V_2 -Rezeptoren vermittelt einen antidiuretischen Effekt und hat daher einen positiven Einfluss auf die Wasser-Homöostase im hypovolämischen Schock (Holmes et al., 2003). Rehberg zeigte, dass eine V_2 -Rezeptorstimulation zu einer Vasodilatation führt und Thrombosebildung fördert (Rehberg et al., 2010). Es resultiert die Ausschüttung von Von-Willebrand-Faktor und eine Gefäßerweiterung, da V_2 - Rezeptoren auch in Endothelien exprimiert werden (Holmes et al., 2003). Auf Endothelien findet sich ebenfalls eine Vielzahl an Oxytozinrezeptoren. Auch sie vermitteln eine Vasodilatation über die glatte Gefäßmuskulatur. V_3 -Rezeptoren haben hingegen keinen Einfluss auf den Gefäßtonus (Holmes et al., 2003). Sollte also eine Blockade der V_{1A} Rezeptoren zu einer erhöhten Vasopressinverfügbarkeit an anderen Rezeptoren führen, würde dies eher eine Verbesserung der μHBO_2 durch die eintretende Vasodilatation und damit verbesserte Perfusion erzeugen. Allerdings sinkt μHBO_2 unter V_{1A} Rezeptorblockade signifikant. Daher scheint eine Umverteilung von Vasopressin unwahrscheinlich als Ursache für die Stabilisierung der μHBO_2 .

Da die Messungen der Reflektionsspektroskopie je einen Querschnitt eines bestimmten Areals darstellen, können die Ergebnisse nicht eindeutig zeigen, ob eine Verbesserung der μHBO_2 über einen verminderten Sauerstoffverbrauch oder über eine Verbesserung der septischen heterogenen Perfusion vermittelt wird. Als ein Grund für die Heterogenität der Durchblutung wird die vermehrte Bildung von Thromben während einer Sepsis angesehen und die dadurch induzierte Hypoperfusion der intestinalen Blutgefäße (Patel et al., 2010; Amaral et al., 2004;

Cohen, 2002). Die Verbesserung der Oxygenierung durch eine Hyperkapnie könnte also durch eine Reduktion der Thromben oder der Thrombenbildung bedingt sein. Dies würde zu reduzierten rHB und μ flow Werten führen. Meine Daten zeigen keinen solchen Abfall, beide Parameter bleiben konstant über die Versuchsdauer (Tab. 2, Abb. 10; Tab. 5). Daher scheint die Bildung und Auflösung von Thromben keine mögliche Erklärung der verbesserten μ HBO₂ zu sein. Man würde hier vielmehr einen deutlichen Unterschied bei septischen Tieren unter hyperkapnischer und normokapnischer Beatmung erwarten. Bisher bleibt der genaue Mechanismus, über den Vasopressin eine Hyperkapnie-induzierte Verbesserung der Oxygenierung des Colons vermittelt, unklar. Vasopressin und seine Rezeptoren scheinen unter physiologischen Bedingungen eher eine untergeordnete Rolle zu spielen. Unter pathologischen Bedingungen scheint ihnen hingegen eine wichtige Bedeutung bei der Stabilisierung und Verbesserung der μ HBO₂ zuzukommen (Schaller et al., 1985; Vollmer et al., 2013). Eine Übertragung auf hyperkapnische Bedingungen an menschlichen Patienten bedarf jedoch weiterer Forschungen.

Hierbei muss auch der speziesbezogene Unterschied im Aufbau des V_{1A}-Rezeptors berücksichtigt werden. Obwohl Vasopressin bei Ratten und Menschen gleich aufgebaut ist variiert der V_{1A}-Rezeptor um 20 % (Hoyle, 1999).

Insgesamt lässt sich zusammenfassen, dass die Ergebnisse der Vasopressinreihe dennoch vielversprechende Ansätze für weitere Forschung zum protektiven Wirkmechanismus der Hyperkapnie auf die intestinale Oxygenierung im septischen Organismus bieten.

5.5 Versuchsreihe Hexamethonium

Hexamethonium ist ein potenter kompetitiver Antagonist der präganglionären nikotinischen Acetylcholin Rezeptoren. Es wird heutzutage noch zu Forschungszwecken eingesetzt, da damit eine etablierte, gut reproduzierbare Sympathikusblockade erzielt wird. Collister et al. etablierten 1999 ein System mit einer chronischen intravenösen Hexamethonium-Infusion. Die erfolgreiche Blockade des sympathischen Nervensystems wurde mittels Messung der Plasma-

Renin-Aktivität überprüft (Collister and Osborn, 1999). Somit konnte ein Abfall der Konzentration des zirkulierenden Angiotensin II nachgewiesen werden, welche ohne vollständige Blockade des Sympathikus nicht zu erreichen ist (Breves and von Engelhardt, 2005). Hexamethonium verhindert des Weiteren eine durch den Sympathikus vermittelte Freisetzung von Katecholaminen aus der Nebennierenmedulla und somit die durch Katecholamine bedingte Modulationen im Blutdruck und konsekutiv der Durchblutung (Collister and Osborn, 1999, Breves und von Engelhardt, 2005). Mehrere Studien konnten zeigen, dass Hexamethonium in der hier angewandten Dosierung (15 mg/kg) erfolgreich zur Blockade des sympathischen Nervensystems mit nur geringer Einwirkung auf das parasympathische Nervensystem benutzt werden kann (Collister and Osborn, 1999; Santajuliana et al., 1996).

Ziel meiner Studie war es, mittels Hexamethonium eine komplette Blockade des sympathischen Nervensystems zu erzielen. Tiere der Kontrollgruppe wurden mit NaCl als Trägersubstanz infundiert. Bei septischen Tieren zeigte sich hierbei unter hyperkapnischer Beatmung ein positiver Effekt auf die μHbO_2 der Darmschleimhaut (Abb. 13). Die regionale Sauerstoffversorgung wurde signifikant verbessert.

Die Auswirkungen des endogenen Sympathikussystems auf die intestinale Mikrozirkulation werden in der Literatur unterschiedlich diskutiert.

Unter physiologischen Bedingungen konnte eine tierexperimentelle Studie von Vagts et al. zeigen, dass eine Sympathikusblockade mittels thorakaler Epiduralanästhesie (TEA) die Mikrozirkulation des Magendarmtrakts nicht verändert (Vagts et al., 2003). Gleiche Ergebnisse konnte auch in dieser Studie erzielt werden. Bei den Sham-Tieren hatte die Hexamethoniuminfusion keinen Einfluss auf die μHbO_2 (Abb. 13). Ähnliches zeigt auch eine klinische Studie von Mallinder et al. bei der eine TEA ebenfalls keinen Effekt auf die intestinale Mikrozirkulation hatte (Mallinder et al., 2000).

Im Rahmen einer Sepsis zeigen sich jedoch verschiedene Auswirkungen einer Sympathikusblockade auf die Sauerstoffversorgung der Darmschleimhaut. Bei der Durchführung einer thorakalen epiduralen Anästhesie an Ratten mit einer

Ausdehnung bis hin zum 5. Lendenwirbel und dadurch ausgeprägter Sympathikolyse im betroffenen Darmabschnitt wurde die intestinale Mikrozirkulation negativ beeinflusst (Adolphs et al., 2005). Im Gegensatz dazu konnten Daudel et al. mittels thorakaler Epiduralanästhesie in Versuchen mit septischen Nagern eine verbesserte intestinale Mikrozirkulation hervorrufen (Daudel et al., 2007). Da in dieser Studie die Epiduralanästhesie auf die thorakalen Segmente begrenzt war, ist die genaue Wirkung auf den Magen-Darm-Trakt fraglich. Gegebenenfalls wurde durch die geringere Ausdehnung der TEA keine komplette Blockade des sympathischen Nervensystems erreicht und so durch kompensatorische Vasokonstriktion in Bereichen außerhalb des Magendarmtrakts eine Umverteilung von Blut mit konsekutiver Verbesserung der intestinalen Durchblutung ermöglicht.

In meiner Studie zeigten sich bei den septischen Tieren unter kompletter Blockade des sympathischen Nervensystems mittels Hexamethoniuminfusion keine Veränderungen der mikrozirkulatorischen Oxygenierung des Kolons im Vergleich zu den septischen Tieren ohne Hexamethoniuminfusion (Abb. 13).

Wie oben ausgeführt, war das Ziel dieser Studie zu untersuchen, ob das Sympathikussystem an der Verbesserung der mikrovaskulären Oxygenierung durch Hyperkapnie in der Sepsis beteiligt ist. Bei septischen Tieren zeigte sich hierbei unter hyperkapnischer Beatmung ein positiver Effekt auf die μHBO_2 der Darmschleimhaut (Abb. 13), wie er auch bereits in vorangegangenen Untersuchungen gezeigt werden konnte (Stübs et al., 2013). Zudem verbesserte eine Hyperkapnie den regionalen Blutfluss (μflow) (Abb. 14) und somit auch das regionale Sauerstoffangebot (μDO_2) (Abb. 15).

Eine effektive Blockade des sympathischen Nervensystems durch Hexamethonium veränderte die Wirkung der Hyperkapnie nicht. Auch unter Hexamethoniuminfusion verbesserten sich μHBO_2 (Abb. 13) und μflow (Abb. 14) signifikant sowohl über die Zeit als auch im Vergleich zu normokapnisch beatmeten septischen Tieren.

Das Sympathikussystem scheint demnach keinen ausschlaggebenden Effekt auf die Vermittlung der Verbesserung der μHBO_2 durch Hyperkapnie zu haben. Inwieweit

der Parasympathikus, der noch geringfügig über das Hexamethonium mit angesprochen wird, an der Vermittlung der verbesserten μHBO_2 beteiligt ist, bleibt zu untersuchen.

Bei Versuchen an Hunden wurde die Hyperkapnie-bedingte μHBO_2 -Verbesserung durch eine Sympathikusblockade mittels periduraler Anästhesie vermindert (Vollmer et al., 2010). Hier ergab sich die Schlussfolgerung, dass Sympathikusaktivität an der Vermittlung des Hyperkapnieeffektes beteiligt ist.

Das gegenläufige Ergebnis zu meiner Studie an septischen Ratten mag tierartliche Ursachen haben. Ebenso ergaben sich grundlegende Unterschiede in Bezug auf die Wirkung von Hyperkapnie auf μHBO_2 -Werte. Am gesunden Hund wurde eine Verbesserung der regionalen Oxygenierung unter Hyperkapnie gezeigt (Vollmer et al., 2013), während bei der Ratte unter physiologischen Bedingungen Hyperkapnie keinen Einfluss zu haben scheint. Zudem unterscheidet sich die Untersuchungsorte beider Studien. In der Studie von Vollmer et al. wurde die regionale Oxygenierung an der Magenschleimhaut gemessen, wohingegen in meiner Studie die Oxygenierung des Kolons gemessen wurde. Es könnten also auch Unterschiede der Effekte der Sympathikusblockade auf verschiedene Bereiche des Magen-Darm-Traktes für die Abweichungen verantwortlich sein.

Neben den genannten Unterschieden kann auch die unterschiedliche Art der Narkose eine Rolle spielen. Bei den mikrovaskulären Messungen dieser Studie, erhielten die Ratten eine Pentobarbital-Narkose. Die Hunde wurden mittels initialer Propofol-Narkose und weiterführender Inhalationsnarkose mittels Sevofluran anästhesiert. Sevofluran bedingt eine reduzierte Vasopressinausschüttung (Shimogai et al., 2010). Sowohl im Hundemodell als auch im Modell der septischen Ratte konnte gezeigt werden, dass das Vasopressinsystem an der Vermittlung der Effekte der Hyperkapnie auf die μHBO_2 beteiligt ist. Inwieweit somit die Vasopressin-Suppression durch das Narkosegas Einfluss auf die Ergebnisse der μHBO_2 -Messungen auch unter periduraler Anästhesie hat, gilt es noch zu klären. Hier könnte eine weitere Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse liegen.

Neben der μHBO_2 muss auch der Sauerstoffverbrauch (μVO_2) als wichtiger Faktor intestinaler Mikrozirkulation betrachtet werden. Bei den normokapnisch-septischen Tieren konnte neben einer verminderten μHBO_2 auch eine gesteigerte μVO_2 festgestellt werden (Abb. 13, Abb. 16). Diese Steigerung wurde unter Hyperkapnie nicht festgestellt, unabhängig davon, ob das sympathische Nervensystem blockiert wurde oder nicht. Hyperkapnie könnte zu einem verminderten Zellmetabolismus geführt haben, wodurch ein messbarer Abfall des Sauerstoffverbrauchs aufgetreten wäre. Eine weitere mögliche Erklärung des μVO_2 Abfalls stellt eine mögliche verminderte Sauerstoffversorgung der Venolen dar. Diese Möglichkeiten ergaben sich ebenfalls bei den Ergebnissen der Blockade des Vasopressinrezeptors (vgl. 5.4, SS 71-72).

Hexamethonium verursacht als Ganglienblocker einen Blutdruckabfall. Diese signifikante Verminderung des MAP (Tabelle 6) könnte per se schon eine Beeinflussung der mikrozirkulatorischen Oxygenierung bedingen. Hierbei würde man ebenfalls einen Abfall der μHBO_2 bei den Sham-operierten Kontrolltieren erwarten. Da dies nicht der Fall ist kann davon ausgegangen werden, dass weiterhin die Sepsis und nicht die Wirkung des Hexamethoniums alleine für den Abfall der μHBO_2 verantwortlich ist.

Die Ergebnisse der wet-to-dry ratio ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen erkrankten Tieren und Tieren der Kontrollgruppe (Tabelle 21). Eine wet-to-dry-ratio wird zur Beurteilung des entstandenen Wandödems durch Entzündungsreaktionen genutzt (Wang et al., 2013). Die Bildung eines Wandödems verdeutlicht und verstärkt die Bedeutung des Darmes als Promotor einer Sepsis, da sich der dichte Zellverband und die *tight junctions* zu lösen beginnen und somit vermehrt Noxen in den Organismus übertreten können (Ince, 2005). Eine erhöhte wet-to-dry ratio geht einher mit dem Grad der Mukosa-Reizung (Kaya et al., 2002). Eine durch eine CASP-Operation binnen 24 Stunden entwickelte Sepsis zeigt keinen ödematösen Unterschied zwischen septischem und gesundem Darm. Hierdurch wird deutlich, dass es sich hier um ein mildes Sepsismodell handelt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in meiner Studie zur Blockade des Sympathikussystems dieses System keinen Einfluss auf die durch Hyperkapnie verbesserte mikrozirkuläre Oxygenierung der Darmschleimhaut in der Sepsis zu haben scheint.

5.6 Pancuronium

Zur Muskelrelaxation wurde den Tieren 2 mg Pancuroniumbromid alle 2 Stunden verabreicht. Die Wirkung von Pancuronium beruht auf einer kompetitiven Verdrängung von Acetylcholin an den quergestreiften Muskelzellen (Löscher and Ungemach, 2006).

Pancuronium zeigt keinerlei hemmenden Effekt auf die spontane Motilität des Darms, wie in Studien an Jejunum und Kolon von Hunden gezeigt werden konnte (Wiedemann et al., 1982).

5.7 Kontrollgruppen

In beiden Versuchsgruppen konnte ein positiver Effekt von Hyperkapnie auf die Oxygenierung des septischen Darms nachgewiesen werden. Im ersten Versuchsarm (Vasopressinrezeptorblockade) fiel die μHBO_2 bei septischen Tieren unter normokapnischer Beatmung signifikant ab, wohingegen sie durch die moderate Hyperkapnie stabilisiert werden konnte (Abb.9). Der μflow blieb konstant (Abb.10).

Im zweiten Versuchsarm (Hexamethonium) konnte die μHBO_2 durch Hyperkapnie nicht nur stabilisiert, sondern signifikant verbessert werden (Abb. 13). Dazu verbesserte sich hier auch der μflow signifikant (Abb.14).

Operation, Operateur, Instrumentierung, Messungen und Versuchsablauf waren in beiden Reihen identisch. Unterschiedlich war die Trägersubstanz. Während in der Vasopressininhibitor-Reihe eine DMSO-Lösung verwendet wurde, wurden die Tiere der Hexamethonium Gruppe mit NaCl infundiert. Inwieweit diese Ergebnisvariationen mit der generellen Standardabweichung der Messwerte

einhergehen oder eine Reaktion auf das DMSO als selbst wirksame antiphlogistische und analgetische Substanz (Löscher and Ungemach, 2006) vorliegt, ist auf Grundlage der Ergebnisse nicht zu beantworten.

Anhand der Sham-operierten Tiere, die sowohl Wirkstoff als auch Trägersubstanzen erhielten, lässt sich jedoch ableiten, dass die eventuelle Reaktion auf Trägersubstanzen keinen ausschlaggebenden Einfluss auf die Auswertung und die Ergebnisse der μHBO_2 -Werte zu haben scheinen. Die Werte der μHBO_2 - Messungen variierten nicht zwischen den beiden Infusionslösungen.

5.8 Übertragbarkeit

Die Übertragbarkeit von experimentellen Ergebnissen am Tier auf die Anwendung am Menschen ist im Einzelfall kritisch zu betrachten.

5.8.1 Messpunkte

Messungen der Mikrozirkulation als Marker für den Schweregrad und den Verlauf einer Sepsis werden auch in der Intensivmedizin am Patienten angewandt (De Backer et al., 2002). Diese Messungen finden in der Regel sublingual oder bukkal statt, da Messungen an der Magen- bzw. Darmschleimhaut nur sehr eingeschränkt möglich wären, ohne dem Patienten weiteren Schaden zuzufügen.

Verschiedene Studien zeigen, dass eine Korrelation zwischen sublingualer und intestinaler μHBO_2 Messung nur bedingt möglich ist (Verdant et al., 2009). Gerade zu Beginn einer Sepsis können Rückschlüsse von der sublingualen auf die intestinale Sauerstoffversorgung nur sehr eingeschränkt gezogen werden. (Boerma et al., 2007). Zwischen sublingualen bzw. bukkalen Messungen besteht zwar grundsätzlich eine bessere Vergleichbarkeit, jedoch ist vor allem die Sauerstoffversorgung der Darmschleimhaut für die Beurteilung der eingeschränkten Mikrozirkulation in der Sepsis von Belang (Fries et al., 2006). Daher besteht noch weiterer Forschungsbedarf, um eine gute Einschätzung der intestinalen Oxygenierung und deren möglichen Verlaufes am septischen

Patienten zu bekommen und so die hier gewonnenen Erkenntnisse auf den menschlichen Organismus zu übertragen.

5.8.2 Sepsismodelle

Bei der Erforschung neuer Therapieansätze für die humane Sepsis ist die Etablierung eines Sepsismodells nötig, dass in der Ausprägung der Sepsis und ihrer Immunantwort beim Menschen so ähnlich wie möglich ist. Das in dieser Dissertation verwendete Sepsis-Modell ist nach dem heutigen Stand der Forschung der moderaten Sepsis des humanen Patienten am ähnlichsten, vor allem auch wegen seiner vergleichbaren Zytokinantwort.

Insgesamt zeigt sich jedoch, dass sich trotz mehrerer Erfolge in der Behandlung der Sepsis am Tiermodell die Übertragbarkeit der Ergebnisse in die Klinik als schwierig erweist (Rittirsch et al., 2006).

5.9 Schlussfolgerungen

In der Sepsis ist die mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHBO_2) der Darmschleimhaut beeinträchtigt. Ihre Stabilisierung und auch Verbesserung ist essentiell für die Heilungs- und Überlebenschancen bei einer Sepsis (Martin, 2012). Eine Hyperkapnie verhindert eine Verschlechterung der gastrointestinalen Oxygenierung in der Sepsis.

Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass dieser Effekt durch das endogene Vasopressin-System vermittelt zu werden scheint und dies unabhängig vom sympathischen Nervensystem.

In weiteren Studien kann geklärt werden, ob auch eine Anhebung des Vasopressin-Plasmaspiegels durch exogen-zugeführtes Vasopressin bei septischen Tieren Auswirkungen auf die intestinale Gewebeoxygenierung hat. Da sehr hohe Vasopressinkonzentrationen eher einen gegenteiligen Effekt im Sinne einer Verschlechterung der Mikrozirkulation durch Vasokonstriktion hervorrufen, stellt

sich die Frage, ob Effekte der Hyperkapnie durch sehr niedrig dosierte exogene Vasopressinzufuhr nachgebildet werden könnten.

6. Zusammenfassung

Die mikrozirkulatorische Sauerstoffversorgung (μHBO_2) der gastrointestinalen Mukosa spielt eine essentielle Rolle in der Entwicklung und im Verlauf einer Sepsis. Eine moderate Hyperkapnie verbessert die mikrozirkulatorische Oxygenierung der Mukosa des Magen-Darm-Traktes. Eine Blockade des Vasopressin V_{1A} -Rezeptors sowie eine Blockade des Sympathikussystems mittels Periduralanästhesie vermindern diesen positiven Effekt bei gesunden Tieren.

Ziel dieser Studie ist es daher herauszufinden, ob und in wie weit das Vasopressin- und das Sympathikussystem auch im septischen Rattenmodell Einfluss auf die durch Hyperkapnie verbesserte Oxygenierung der Darmschleimhaut haben.

Hierzu wurden 2 Versuchsreihen zu je 80 Versuchstieren durchgeführt. Die erste Versuchsreihe untersuchte die Wirkung einer V_{1A} -Rezeptor -Blockade mittels des selektiven V_{1A} - Rezeptor Blocker *SR 49059*. In der zweiten Versuchsreihe wurde das Sympathikussystem mittels Hexamethonium-Infusion blockiert.

Als Versuchstiere wurden männliche Wistar-Ratten gleicher Gewichtsklasse verwendet. Die Tiere wurden randomisiert in 8 Gruppen ($n=10$) pro Reihe unterteilt. Je 40 Tiere wurden einer Colon Ascendens Stent Peritonitis (CASP) Operation oder einer Sham-Operation mit einem 14G-Stent unterzogen. 24 Stunden nach Sepsisinduktion wurden die Tiere narkotisiert und für 120 Minuten beatmet. Die Tiere wurden entweder normokapnisch beatmet oder in eine moderate Hyperkapnie geführt ($p\text{CO}_2$ von 65-75 mm Hg).

Über die gesamte Versuchszeit wurden sowohl systemische als auch mikrozirkuläre Parameter erfasst. Besonderes Augenmerk lag hierbei bei der mikrozirkulatorischen Oxygenierung (μHBO_2).

Bei den Kontrolltieren blieb in allen Gruppen die regionale Oxygenierung konstant, unabhängig davon, ob sie mit Vehikel oder mit Wirkstoff infundiert wurden.

Bei den septischen Tieren beider Gruppen fiel unter normokapnischer Beatmung die μHBO_2 signifikant ab. Unter Hyperkapnie konnte in der ersten Versuchsreihe eine Stabilisierung der μHBO_2 erreicht werden. Diese Stabilisierung wurde unter Vasopressinblockade aufgehoben ($-9,2 \pm 9,8 \%$, $p<0,05$ bei 120 Minuten).

In der zweiten Versuchsreihe verbesserte eine Hyperkapnie die μHBO_2 signifikant ($+6,5 \pm 8 \%$, $p < 0,05$ bei 90 Minuten und $+7,8 \pm 7,5 \%$, $p < 0,05$ bei 120 Minuten). Eine Hexamethonium-Infusion hemmte die Verbesserung der Mikrozirkulation durch Hyperkapnie nicht.

Zusammenfassend führt eine Hyperkapnie zu einer verbesserten regionalen Sauerstoffversorgung der Darmschleimhaut. Das endogene Vasopressin-System scheint diesen Effekt auch unter septischen Bedingungen zu vermitteln und dies unabhängig vom Sympathikus.

7. Summary

Microcirculatory oxygenation (μHBO_2) plays an important role in development and outcome of sepsis. Hypercapnia improves microcirculatory oxygen supply of the gut mucosa. A blockade of vasopressin V_{1A} receptors as well as a blockade of the sympathetic nervous system abolish this effect in healthy animals.

Aim of this study was to investigate the effects and mechanisms of the sympathetic nervous and vasopressin system during sepsis under hypercapnic conditions on the colonic mucosa.

Therefore 2 study branches with 80 animals each were conducted. Within the first branch the effect of vasopressin blockade was investigated, using the V_{1A} receptor antagonist *SR 4905*. Animals of the second branch received the ganglion blocker hexamethonium to block the sympathetic nervous system.

All experiments were performed on male Wistar rats of same weight. Animals were randomly related into 8 groups ($n=10$) per branch. 40 animals each underwent CASP-surgery, using a 14-G stent, the other 40 served as control. 24 hours after sepsis induction animals were re-anesthetized and ventilated for 120 minutes, volume- controlled and pressure-limited.

The animals either received normocapnic ventilation or were driven to hypercapnic conditions of $p\text{CO}_2$ levels with 65-75 mm Hg.

Systemic as well as microvascular parameters were taken in which μHBO_2 received main attention.

μHBO_2 maintained in all animals of the control groups, independent of their ventilation targets.

In septic animals μHBO_2 declined under normocapnic condition independent of their infusion. In the first branch microcirculatory oxygenation remained constant under hypercapnic conditions. In the second branch μHBO_2 improved under hypercapnia ($+6.5 \pm 8 \%$, $p<0.5$, 90 minutes and $+7.8 \pm 7.5 \%$, $p<0.05$, 120 minutes).

Vasopressin blockade abolished the stabilization of μHBO_2 under hypercapnia.

Summary

Hexamethonium-infusion revealed no difference in μHBO_2 outcome.

In summary, the first branch of this study revealed that the vasopressin system is involved in mediating the positive effect of hypercapnia on the microcirculatory oxygenation of the intestinal mucosa. A blockade of vasopressin receptors abolishes the stabilization of μHBO_2 during sepsis.

A blockade of the sympathetic nervous system with the ganglion blocker hexamethonium had no influence on the improvement of μHBO_2 during sepsis. The sympathetic nervous system seems not to participate in the positive effect of hypercapnia during septic conditions. Vasopressin however mediates the stabilization of regional oxygenation of the septic colon during hypercapnia.

Anhang

8. Anhang

8.1 Septic Rat Severity Score

Untersuchungsbogen

Experiment: _____

Stentdurchmesser: _____ G

Ratte-Nr: _____ OP Datum: _____ Uhrzeit: _____

Klinische Untersuchung:

Untersuchung	Untersuchungsergebnis	Beurteilung	Körpergewicht	Erscheinung	Klinik	Spontanverhalten	Provoz. Verhalte
Körpergewicht	1. präop. Gewicht (pG) _____ g 2. Momentanwert (mW) _____ g 3. Δ = % des mW vom pG _____ %	$\Delta\% < 5 \Rightarrow 0$ P $\Delta\% < 15 \Rightarrow 2$ P $\Delta\% < 20 \Rightarrow 3$ P $\Delta\% > 20 \Rightarrow 10$ P	_____				
Erscheinung	1. normale Erscheinung, Fell anliegend, sauber geputzt 2. geringes Pflegedefizit, Fell gestäubt 3. zunehmendes Pflegedef., Ränder an Auge/Anus 4. deutliches Pflegedef., Augen verklebt, Einstreuhäuft am Anus	$\Rightarrow 0$ P $\Rightarrow 1$ P $\Rightarrow 2$ P $\Rightarrow 3$ P		_____			
Spontanverhalten	1. Ratte (R) erkundet Käfig, aktiv 2. R sitzt auf einer Stelle, Ganzkörperbewegung vorhanden 3. buckelige Haltung, schwankender Gang 4. immobil, Seitenlage	$\Rightarrow 0$ P $\Rightarrow 1$ P $\Rightarrow 3$ P $\Rightarrow 10$ P				_____	
Provoziertes Verhalten	1. R flieht bei Käfigöffnung, starker Muskeltonus 2. R flieht erst bei Annäherung der Hand 3. R flieht erst bei Berührung 4. Fluchtreflex erloschen	$\Rightarrow 0$ P $\Rightarrow 1$ P $\Rightarrow 2$ P $\Rightarrow 3$ P					_____
Atemfrequenz	1. präop. Wert (pW) _____ /min 2. Momentanwert (mW) _____ /min 3. Δ = % des mW vom pW _____ %	$\Delta\% < 10 \Rightarrow 0$ P $\Delta\% < 20 \Rightarrow 1$ P $\Delta\% < 50 \Rightarrow 2$ P $\Delta\% > 50 \Rightarrow 3$ P			_____		
Expiratorisches Atemgeräusch	Nein Ja	$\Rightarrow 0$ P $\Rightarrow 1$ P			_____		
Abdomenpalpation (AP)	1. kein Druckschmerz bei AP, weiches Abdomen 2. geringe Reaktion auf AP, weiches Abdomen 3. deutliche Schmerzzeichen auf AP, abd. Resistenz 4. deutl. Schmerzzeichen auf AP, hartes Abdomen	$\Rightarrow 0$ P $\Rightarrow 1$ P $\Rightarrow 2$ P $\Rightarrow 3$ P			_____		
Kotbeschaffenheit	1. viel normaler Kot im Käfig, koten während der Untersuchung 2. viel Kot im Käfig, Kot blutig, dünnflüssig oder schleimig 3. wenig Kot im Käfig, unabh. von Beschaffenheit 4. kein Kot im Käfig (seit letzter Untersuchung)	$\Rightarrow 0$ P $\Rightarrow 1$ P $\Rightarrow 2$ P $\Rightarrow 3$ P			_____		

Auswertung:

Pro Kategorie erreichte Punktzahl	Erklärung: bewertet wird jeweils nur einmal die maximal erreichte Punktzahl pro Kategorie. Ist in wenigstens zwei Kategorien die maximal erreichbare Punktzahl von 3 Punkten erreicht, werden alle 3-Punkte Werte auf 4 Punkte aufgewertet	_____	_____	_____	_____
-----------------------------------	--	-------	-------	-------	-------

Insgesamt erreichte Punktzahl (Addition der einzelnen Kategorien): _____

Opferung des Tieres notwendig bei 10 und mehr Punkten	Nein ☐ Ja ☐
---	--

Unterschrift des Untersuchers: _____

Anhang

8.2 Verlaufsprotokoll

Tiernummer	Versuchsgruppe	
Gewicht	Stentgröße	Stentimplantation
Einleitung	mg Pentobarbital i.p.	
Narkoseinfusion	mg Pentobarbital i.v. (ml/h)	
PEEP: ml	SIGH: /min	
	Uhrzeit	Sonstiges / Temperatur
Narkoseapplikation		
Intubation		
Beatmung (ml)		Frequenz
Hautschnitt		
Trachealfixierung		
ZVK V. Jug. Int.		
2 mg Pancuronium i.v.		
A.Carotis		
BGA 1 + 1,5 ml Blut		TVA-Blut
Beatmung (ml)		Frequenz
Laparotomie		
Sonden platziert		
BGA 2		
Beatmung (ml)		Frequenz
BGA 3		START HK / NK
Beatmung (ml)		
BGA 4		Frequenz
Beatmung (ml)		
2 mg Pancuronium i.v.		
BGA 5		
Beatmung (ml)		
Sterile Blutentnahme und BU mit 300 µl Vollblut (siehe Protokoll)		
Sterile BAL, 3 x 3 ml NaCl waschen, 300 µl BALF (siehe Protokoll)		
Organentnahme & wet-to-dry ratio von Colon und Lunge (siehe Protokoll)		
Laparotomiebefund:		

9.1 Liste der Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Daten der μHBO_2 Vasopressininhibitor	44
Tabelle 2: Daten der μflow Vasopressininhibitor	46
Tabelle 3: Daten der μDO_2 Vasopressininhibitor	46
Tabelle 4: Daten der μVO_2 Vasopressininhibitor	48
Tabelle 5: Daten der rHB Vasopressininhibitor	49
Tabelle 6: Daten von Laktat, HR, MAP Vasopressininhibitor	49
Tabelle 7: Daten der Thrombozyten, Leukozyten Vasopressininhibitor	51
Tabelle 8: Daten pH Vasopressininhibitor	51
Tabelle 9: Daten pCO_2 , pO_2 Vasopressininhibitor	52
Tabelle 10: Daten der Blutgasanalyse Vasopressininhibitor	53
Tabelle 11: Daten der Vasopressin-Messungen	54
Tabelle 12: Daten der μHBO_2 Hexamethonium	57
Tabelle 13: Daten der μflow Hexamethonium	59
Tabelle 14: Daten der μDO_2 Hexamethonium	61
Tabelle 15: Daten der μVO_2 Hexamethonium	63
Tabelle 16: Daten des MAP Hexamethonium	65
Tabelle 17: Daten von HF und Laktat	66
Tabelle 18: Daten der Leukozyten Hexamethonium	66
Tabelle 19: Daten pH Hexamethonium	67
Tabelle 20: pCO_2 , pO_2 Hexamethonium	67
Tabelle 21: wet-to-dry-ratio Hexamethonium	67
Tabelle 22: Daten der Blutgasanalyse Hexamethonium	68
Abbildung 1: Kriterien einer Sepsis	6/7
Abbildung 2: Verhältnisse zwischen Infektion und SIRS	8
Abbildung 3: Abbildung CASP	16
Abbildung 4: SIRS Kriterien in der Tiermedizin	18
Abbildung 5: Sauerstoffbindungskurve	20

Verzeichnisse

Abbildung 6: Gruppeneinteilung Vasopressininhibitor- Reihe	34
Abbildung 7: Gruppeneinteilung Hexamethonium- Reihe	34
Abbildung 8: detaillierter Versuchsaufbau	40
Abbildung 9: mikrozirkulatorische Oxygenierung Vasopressininhibitor	44
Abbildung 10: mikrozirkulatorischer Blutfluss Vasopressininhibitor	45
Abbildung 11: mikrozirkulatorischen Sauerstoffverbrauch	48
Vasopressininhibitor	
Abbildung 12: Vasopressinspiegel	54
Abbildung 13: mikrozirkulatorische Oxygenierung Hexamethonium	57
Abbildung 14: mikrozirkulatorischer Flow Hexamethonium	59
Abbildung 15: mikrozirkulatorisches Sauerstoffangebot Hexamethonium	61
Abbildung 16: mikrozirkulatorischer Sauerstoffverbrauch Hexamethonium	63
Abbildung 17: Blutdruck Hexamethonium	65
Abbildung 18: Sauerstoffbindungskurve Tierarten	73

9.2 Verzeichnis der Abkürzungen

μDO_2	mikrozirkuläres Sauerstoffangebot
μHBO_2	mikrozirkuläre Sauerstoffversorgung
μVO_2	mikrozirkulärer Sauerstoffverbrauch
Ach	Acetylcholin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ATI	Acute Lung Injury
CARS	Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndrome
DIC	Disseminierte Intravaskuläre Koagulopathie
E. coli	Escherichia coli
i.p.	intra peritoneal
i.v.	Intra venös
LED	Light Emitting Diodes
MMDS	Microcirculatory and Mitochondrial Distress Syndrome
NIRS	Near Infrared Reflection Spectroscopy
OPS	Orthogonal Polarization Spectral
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
pCO_2	CO_2 Partialdruck
pO_2	O_2 Partialdruck
rHB	relative Hämoglobinmenge
s.c.	sub cutan
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SDF	Sidestream Dark Field
SO_2	Sauerstoffsättigung
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment Score
qSOFA	quick SOFA

9.3 Verzeichnisse verwendeter Medikamente und Firmen

Medikamentenverzeichnis

Atemgas, Linde Group

Atropinsulfat, Braun Melsungen AG

Buprenorphin: Temgesic®, Reckitt- Benckiser

CO₂ Gasgemisch, Linde Group

Hexamethonium Bromid, Sigma- Albrich

Kochsalzlösung, Fresenius Kabi

Pancuroniumbromid: Pancuronium Inresa ®, Inresa Arzneimittel GmbH

Pentobarbital, Zentralapotheke Universitätsklinikum Düsseldorf

Ringer-Lösung, Braun Melsungen AG

Sevofluran, Abbott GmbH

Vasopressin, Sigma

Vasopressin-Inhibitor: SR 49059®, Axon Medchem

Firmenverzeichnis

Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland

AbbVie Deutschland GmbH&Co. KG, Knollstrasse, 67061 Ludwigshafen, Deutschland

Axon Medchem BV, Postcode 770, 9700AT Groningen, Niederlande

B.-Braun Melsungen AG, 34209 Melsungen, Deutschland

Dräger Medica Deutschland, Moislinger Allee 53-55, 23542 Lübeck, Deutschland

Ethicon Inc., Somerville, USA

Fresenius Kabi, 61346 Bad Homburg, Deutschland

GraphPad Software, Int., 7825 Fay Avenue, Suite 230, La Jolla, CA 92037 USA

Heraeus, Heraeusstraße 12-14, 63450 Hanau, Deutschland

Harvard Apparatur GmbH, March- Hugstetten, Deutschland

Inresa Arzneimittel GmbH, Obere Hardtstrasse 18, 79114 Freiburg, Deutschland

Verzeichnisse

LEA Medizintechnik GmbH, Winchesterstrasse 2, 35394 Gießen, Deutschland

Limbach Gruppe Se, Heidelberg, Deutschland

Lohmann & Rauscher International GmbH & Co. KG, 56579 Rengsdorf, Deutschland

Merial GmbH, Halbergmoos, Deutschland

Paul- Hartmann AG, Hamburg, Deutschland

Reckitt-Benckiser, Mannheim, Deutschland

Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland

Schülke & Mayr GmbH, 22840 Norderstedt, Deutschland

Sigma Pharmaceuticals Limited, 3 Myer Place, Rowville Victoria 3178, Australia

The Linde Group, Leuna, Deutschland

10.4 Literaturverzeichnis

- Alejandre, I., 2010. Orthogonal Polarization spectral imaging (OPS) Measurements of Microcirculatory Changes in Term Newborns with Suspected Infection.
- Amaral, A., Opal, S.M., Vincent, J.-L., 2004. Coagulation in sepsis. *Intensive Care Med.* 30, 1032–1040. doi:10.1007/s00134-004-2291-8
- Asfar, P., De Backer, D., Meier-Hellmann, A., Radermacher, P., Sakka, S.G., 2003a. Clinical review: influence of vasoactive and other therapies on intestinal and hepatic circulations in patients with septic shock. *Crit. Care* 8, 170.
- Asfar, P., Pierrot, M., Veal, N., Moal, F., Oberti, F., Croquet, V., Douay, O., Gallois, Y., Saumet, J.-L., Alquier, P., others, 2003b. Low-dose terlipressin improves systemic and splanchnic hemodynamics in fluid-challenged endotoxic rats. *Crit. Care Med.* 31, 215–220.
- Beck, C., Barthel, F., Hahn, A.-M., Vollmer, C., Herminghaus, A., Schäfer, S., Bauer, I., Picker, O., 2015. The beneficial effects of acute hypercapnia on microcirculatory oxygenation in an animal model of sepsis are independent of K⁺ATP channels. *Microvasc. Res.* 99, 78–85. doi:10.1016/j.mvr.2015.02.009
- Bellamy, M., Mullane, D., O'Beirne, H., Young, Y., Pollard, S., Lodge, J., 1997. Dopexamine and microcirculatory flow in transplanted small bowel: the Leeds experience. *Transplant. Proc.* 29, 1847–1849.
- Boerma, E.C., van der Voort, P.H.J., Spronk, P.E., Ince, C., 2007. Relationship between sublingual and intestinal microcirculatory perfusion in patients with abdominal sepsis: *Crit. Care Med.* 35, 1055–1060. doi:10.1097/01.CCM.0000259527.89927.F9
- Brealey, D., Brand, M., Hargreaves, I., Heales, S., Land, J., Smolenski, R., Davies, N.A., Cooper, C.E., Singer, M., 2002. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *The Lancet* 360, 219–223.
- Breves, G., von Engelhardt, W., 2005. *Physiologie der Haustiere*, 2nd ed. Enke.
- Brüggemann, D., Lips, K., 2002. Multiple nicotinic acetylcholine receptor α -subunits are expressed in the arterial system of the rat. *Histochem Cell Biol* 441–447.
- Chen, J., Cullinane, S., Landry, D.W., 1999. Vasopressin deficiency and pressor hypersensitivity in hemodynamically unstable organ donors. *Circulation* 244–6.
- Clark, J.A., Coopersmith, C.M., 2007. Intestinal crosstalk—a new paradigm for understanding the gut as the “motor” of critical illness. *Shock* Augusta Ga 28, 384.
- Cohen, J., 2002. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420, 885–891.
- Collister, J.P., Osborn, J.W., 1999. The chronic infusion of hexamethonium and phenylephrine to effectively clamp sympathetic vasomotor tone: a novel approach. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 42, 135–147.

Verzeichnisse

- Costello, J., Higgins, B., Contreras, M., Chonghaile, M.N., Hassett, P., O'Toole, D., Laffey, J.G., 2009. Hypercapnic acidosis attenuates shock and lung injury in early and prolonged systemic sepsis: *Crit. Care Med.* 37, 2412–2420. doi:10.1097/CCM.0b013e3181a385d3
- De Backer, D., Creteur, J., Preiser, J.-C., Dubois, M.-J., Vincent, J.-L., 2002. Microvascular Blood Flow Is Altered in Patients with Sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166, 98–104. doi:10.1164/rccm.200109-016OC
- De Backer, D., Orbegozo Cortes, D., Donadello, K., Vincent, J.-L., 2014. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence* 5, 73–79. doi:10.4161/viru.26482
- DeClue, A., Delgado, C., 2011. Clinical and immunologic assessment of sepsis and the systemic inflammatory response syndrome in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 890–897. doi:10.2460/javma.238.7.890
- Deitch, E.A., 2005. Rodent models of intra-abdominal infection. *Shock* 24, 19–23.
- Dellinger, R.P., Levy, M.M., Rhodes, A., Annane, D., Gerlach, H., Opal, S.M., Sevransky, J.E., Sprung, C.L., Douglas, I.S., Jaeschke, R., Osborn, T.M., Nunnally, M.E., Townsend, S.R., Reinhart, K., Kleinpell, R.M., Angus, D.C., Deutschman, C.S., Machado, F.R., Rubenfeld, G.D., Webb, S.A., Beale, R.J., Vincent, J.-L., Moreno, R., 2013. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock. *Crit. Care Med.* 41, 580–637. doi:10.1097/CCM.0b013e31827e83af
- Delves, P., Martin, S., Burton, D., Roitt, I., 2011. Roitt's essential immunology, 12. Auflage. ed. John Wiley&Sons.
- Derkach, V.A., Kurenny, D.E., Melishchuk, A.I., Selyanko, A.A., Skok, V.I., 1991. Role of disulphide bonds in burst-like activity of nicotinic acetylcholine receptor channels in rat sympathetic neurones. *J. Physiol.* 440, 1–15.
- Dubois, M.J., De Backer, D., Creteur, J., Anane, S., Vincent, J.-L., 2003. Effect of vasopressin on sublingual microcirculation in a patient with distributive shock. *Intensive Care Med.* 29, 1020–1023.
- Edul, V.S.K., Enrico, C., Laviolle, B., Vazquez, A.R., Ince, C., Dubin, A., 2012. Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock: *Crit. Care Med.* 40, 1443–1448. doi:10.1097/CCM.0b013e31823dae59
- Engel, C., Brunkhorst, F.M., Bone, H.-G., Brunkhorst, R., Gerlach, H., Grond, S., Gruendling, M., Huhle, G., Jaschinski, U., John, S., Mayer, K., Oppert, M., Olthoff, D., Quintel, M., Ragaller, M., Rossaint, R., Stuber, F., Weiler, N., Welte, T., Bogatsch, H., Hartog, C., Loeffler, M., Reinhart, K., 2007. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med.* 33, 606–618. doi:10.1007/s00134-006-0517-7
- Erhardt, W., Henke, J., Haberstroh, J., Baumgartner, C., Tacke, S., 2011. Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier: mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, 2. Auflage. ed. Schattauer.
- Filbin, M.R., Hou, P.C., Massey, M., Barche, A., Kao, E., Bracey, A., Skibsted, S., Chang, Y., Shapiro, N.I., 2014. The Microcirculation Is Preserved in

Verzeichnisse

- Emergency Department Low-acuity Sepsis Patients Without Hypotension. *Acad. Emerg. Med.* 21, 154–162. doi:10.1111/acem.12314
- Fries, M., Weil, M.H., Sun, S., Huang, L., Fang, X., Cammarata, G., Castillo, C., Tang, W., 2006. Increases in tissue Pco₂ during circulatory shock reflect selective decreases in capillary blood flow: *Crit. Care Med.* 34, 446–452. doi:10.1097/01.CCM.0000196205.23674.23
- Gay, E.A., Yakel, J.L., 2007. Gating of nicotinic ACh receptors; new insights into structural transitions triggered by agonist binding that induce channel opening: Nicotinic ACh receptors; transitions from binding to gating. *J. Physiol.* 584, 727–733. doi:10.1113/jphysiol.2007.142554
- Goedhart, P.T., Khalilzada, M., Bezemer, R., Merza, J., Ince, C., 2007. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt. Express* 15, 15101–15114.
- Greiner, M., 2006. Bakteriämie bei Hunden und Katzen mit Verdacht auf Sepsis-eine retrospektive Untersuchung.
- Groner, W., Winkelman, J.W., Harris, A.G., Ince, C., Bouma, G.J., Messmer, K., Nadeau, R.G., 1999. Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat. Med.* 5, 1209–1212.
- Han, X., Fink, M.P., Yang, R., Delude, R.L., 2004. Increased iNOS Activity is Essential for Intestinal Epithelial Tight Junction Dysfunction in Endotoxemic Mice: *Shock* 21, 261–270. doi:10.1097/01.shk.0000112346.38599.10
- Hauptmann, J., 1997. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet. Surg.* 393–7.
- Hauser, B., Bracht, H., Venkatesh, B., 2005. Nitric oxide synthase inhibition in sepsis? Lessons learned from large-animal studies. *Anesth. Analg.* 101, 488–98.
- Hebel, R., Stromberg, M.W., 1976. *Anatomy of the laboratory Rat.* Williams&Wilkins Company, Baltimore.
- Henke, J., Haberstroh, B.J., Freiburg Martin Sager, D., Zahner, D., Arras, G.M., others, n.d. Schmerztherapie bei Versuchstieren.
- Herminghaus, A., Beck, C., Bauer, I., Picker, O., 2015. Severity of polymicrobial sepsis modulates mitochondrial function in rat liver. *Mitochondrion.*
- Hicks, C., Ramos, L., Reekie, T., Misagh, G.H., Narlawar, R., Kassiou, M., McGregor, I.S., 2014. Body temperature and cardiac changes induced by peripherally administered oxytocin, vasopressin and the non-peptide oxytocin receptor agonist WAY 267,464: a biotelemetry study in rats: Body temperature and cardiac effects of oxytocin. *Br. J. Pharmacol.* 171, 2868–2887. doi:10.1111/bph.12613
- Holmes, C.L., Landry, D.W., Granton, J.T., 2003. Science review: Vasopressin and the cardiovascular system part 1–receptor physiology. *Crit. Care* 7, 427.
- Holmes, C.L., Landry, D.W., Granton, J.T., others, 2004. Science Review: Vasopressin and the cardiovascular system part 2-clinical physiology. *Crit. CARE-Lond.* 8, 15–24.
- Hoyle, C.H., 1999. Neuropeptide families and their receptors: evolutionary perspectives. *Brain Res.* 848, 1–25.

Verzeichnisse

- Ijland, M.M., Heunks, L.M., van der Hoeven, J.G., 2010. Bench-to-bedside review: hypercapnic acidosis in lung injury—from “permissive” to “therapeutic.” *Crit Care* 14, 237.
- Ince, C., 2005. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit. Care* 9, S13.
- Ince, C., Mik, E., 2016. Microcirculatory and mitochondrial hypoxia in sepsis, shock and resuscitation. *J. Applied Physiol.* 120, 226–235.
- Innocenti, F., Palmieri, V., Guzzo, A., Stefano, V.T., Donnini, C., Pini, R., 2016. SOFA Score and left ventricular systolic function as predictors of short-term outcome in patients with sepsis. *Intern Emerg Med* Dec 1. 2016, doi: 10.1007/s11739-016-1579-3
- Karlsson, I., Wernersson, S., Ambrosen, A., Kindahl, H., Södersten, F., Wang, L., Hagman, R., 2013. Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 156, 64–72. doi:10.1016/j.vetimm.2013.09.011
- Kavanagh, B.P., Laffey, J.G., 2006. Hypercapnia: permissive and therapeutic. *Minerva Anesthesiol* 567–76.
- Kaya, Y., Coskun, T., Aydemir, E., 2002. Abdominal insufflation-deflation injury in small intestine in rabbits. *Eur. J. Surg.* 168, 410–7.
- Knotzer, H., Maier, S., Dünser, M.W., Hasibeder, W.R., Hausdorfer, H., Brandner, J., Torgersen, C., Ulmer, H., Friesenecker, B., Iannetti, C., Pajk, W., 2006. Arginine vasopressin does not alter mucosal tissue oxygen tension and oxygen supply in an acute endotoxemic pig model. *Intensive Care Med.* 32, 170–174. doi:10.1007/s00134-005-2858-z
- Kregenow, D.A., Swenson, E.R., 2002. The lung and carbon dioxide: implications for permissive and therapeutic hypercapnia. *Eur. Respir. J.* 20, 6–11. doi:10.1183/09031936.02.00400802
- Krug, A., 2007. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes Methode des so genannten O₂C (oxygen to see). *Phlebologie* 300–12.
- Laffey, J.G., Tanaka, M., Engelberts, D., Luo, X., Yuan, S., Keith Tanswell, A., Post, M., Lindsay, T., Kavanagh, B.P., 2000. Therapeutic hypercapnia reduces pulmonary and systemic injury following in vivo lung reperfusion. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162, 2287–2294.
- Landry, D.W., Oliver, J.A., 2001. The Pathogenesis of Vasodilatory Shock. *N Engl J Med* 588–595.
- Leung, F., Morishita, T., Livingston, E., Reedy, T., Guth, P., 1987. Reflectance spectrophotometry for the assessment of gastroduodenal mucosal perfusion. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 252, 797–804.
- Levi, M., Schultz, M., Poll, T. van der, 2013. Sepsis and Thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 559–566.
- Levy, M.M., Fink, M.P., Marshall, J.C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., Cohen, J., Opal, S.M., Vincent, J.-L., Ramsay, G., 2003. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference: *Crit. Care Med.* 31, 1250–1256. doi:10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B
- Lipinska, S., Fory, S., Lipinska, J., 2004. The post-haemorrhagic vasopressin release. *J. Physiol. Pharmacol.* 55, 73–83.

Verzeichnisse

- Löscher, W., Ungemach, F.R., 2006. Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 7. Auflage. ed. MVS Medizinverlag Stuttgart.
- Lustig, M.K., Bac, V.H., Pavlovic, D., Maier, S., Gründling, M., Grisk, O., Wendt, M., Heidecke, C.-D., Lehmann, C., 2007. Colon ascendens stent peritonitis- a model of sepsis asoyped to the rat: physiological, microcirculatory and lboratory changes. *Shock* 28, 59–64. doi:10.1097/SHK.0b013e31802e454f
- Machens, H., Pallua, N., Mailaender, P., Pasel, J., Frank, K., Reimer, R., Berger, A., 1995. Measurements of tissue blood flow by the hydrogen clearance technique (HCT): a comparative study including laser doppler flowmetry (LDF) and the Erlangen micro- lightguide spectrophotometer. *Microsurgery* 16, 808–817.
- Maier, S., Traeger, T., Entleutner, M., Westerholt, A., Kleist, B., Häser, N., Holzmann, B., Stier, A., Pfeffer, K., Heidecke, C.-D., 2004. Cecal ligation and puncture versus colon ascendens stent peritonitis: two distinct animal models for polymicrobial sepsis. *Shock* 21, 505–512. doi:10.1097/01.shk.0000126906.52367.dd
- Mallinder, Pa., Hall, Je., Bergin, Fg., Royle, P., Leaper, DJ., 2000. A comparison of opiate- and epidural-induced alterations in splanchnic bloos flow using intra-operative gastric tonometry. *Anaesthesia* 55(7), 659-65
- Martin, G.S., 2012. Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 10, 701–706. doi:10.1586/eri.12.50
- Morris, G.P., Beck, P.L., Herridge, M.S., Depew, W.T., Szewczuk, M.R., Wallace, J.L., others, 1989. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 96, 795–803.
- O’Croinin, D., Chonghaile, M.N., Higgins, B., Laffey, J.G., 2004. Bench-to-bedside review: Permissive hypercapnia. *Crit. Care* 9, 51.
- Otto, C.M., 2010. A fresh look at identifying sepsis in cats.
- Otto, C.M., 2007. Sepsis in veterinary patients: what do we know and where can we go? *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 17, 329–332. doi:10.1111/j.1476-4431.2007.00253.x
- Patel, K.N., Soubra, S.H., Lam, F.W., Rodriguez, M.A., Rumbaut, R.E., 2010. Polymicrobial sepsis and endotoxemia promote microvascular thrombosis via distinct mechanisms: Sepsis and microvascular thrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 8, 1403–1409. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.03853.x
- Picker, O., Scheeren, T.W.L., Arndt, J., 2001. Nitric oxide synthases in vagal neurons are crucial for the regulation of heart rate in wake dogs. *Basic Researhc Cardiol.* 96, 395–404.
- Quintana, E., 2004. Synthesis of nitric oxide in post-ganglionic myenteric neurons during endotoxemia: implications for gastric motor function. *FASEB J.* doi:10.1096/fj.03-0596fje
- Ramirez, J., Totapally, B.R., Hon, E., Torbati, D., Mangino, M.J., Hultquist, K.A., Wolfsdorf, J., 2000. Oxygen-carrying capacity during 10 hours of hypercapnia in ventilated dogs. *Crit. Care Med.* 28, 1918–1923.
- Ramos, L., Hicks, C., Kevin, R., Caminer, A., Narlawar, R., Kassiou, M., McGregor, I.S., 2013. Acute prosocial effects of oxytocin and vasopressin when given alone

Verzeichnisse

- or in combination with 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in rats: involvement of the V1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 38, 2249–2259.
- Ratnaraj, J., Kabon, B., Talcott, M.R., Sessler, D.I., Kurz, A., 2004. Supplemental oxygen and carbon dioxide each increase subcutaneous and intestinal intramural oxygenation. *Anesth. Analg.* 99, 207.
- Rau, S.M., 2007. Sepsis beim Hund: Interleukin-6 als prognostischer Parameter.
- Rehberg, S., Ertmer, C., Lange, M., Morelli, A., Whorton, E., Dünser, M., Strohacker, A.-K., Lipke, E., Kampmeier, T.G., Van Aken, H., others, 2010. Role of selective V2-receptor-antagonism in septic shock: a randomized, controlled, experimental study. *Crit Care* 14, R200.
- Reinhart, K., Brunkhorst, F.M., Bone, H.-G., Gerlach, H., Gründling, M., Kreymann, G., Kujath, P., Marggraf, G., Mayer, K., Meier-Hellmann, A., Peckelsen, C., Putensen, C., Stüber, F., Quintel, M., Ragaller, M., Rossaint, R., Weiler, N., Welte, T., Werdan, K., 2006. Diagnose und Therapie der Sepsis: S-2 Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI). *Clin. Res. Cardiol.* 95, 429–454. doi:10.1007/s00392-006-0414-7
- Remick, D., 2002. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture. *Schock* 110–6.
- Renz, H., 2003. Integrative klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin-Pathophysiologie Pathobiochemie Hämatologie. de Gruyter.
- Rettig, C., 2011. Expression und Funktion von nikotinischen Azetylcholinrezeptoruntereinheiten in der Arteria uterina der Ratte.
- Rittirsch, D., Hoesel, L.M., Ward, P.A., 2006. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J. Leukoc. Biol.* 81, 137–143. doi:10.1189/jlb.0806542
- Rittirsch, D., Huber-Lang, M.S., Flierl, M.A., Ward, P.A., 2008. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat. Protoc.* 4, 31–36. doi:10.1038/nprot.2008.214
- Rose, C., Anderson, Carey, 1984. Antidiuresis and vasopressin release with hypoxemia and hypercapnia in conscious dogs. *Am J Physiol* 127–34.
- Russel, J., 2008. The current management of septic shock. *Minerva Med* 431–58.
- Sakr, Y., Dubois, M.-J., De Backer, D., Creteur, J., Vincent, J.-L., 2004. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock*: *Crit. Care Med.* 32, 1825–1831. doi:10.1097/01.CCM.0000138558.16257.3F
- Sakr, Y., Oishi, J., Gath, V., 2010. Characterization of buccal microvascular response in patients with septic shock. [WWW Document]. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20090537> (accessed 1.10.15).
- Santajuliana, D., Hornfeldt, B.J., Osborn, J.W., 1996. Use of ganglionic blockers to assess neurogenic pressor activity in conscious rats. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 35, 45–54.
- Schaller, Waeber, Nussberger, 1985. Angiotensin II, vasopressin, and sympathetic activity in conscious rats with endotoxemia.pdf.

Verzeichnisse

- Schöneborn, S., Vollmer, C., Barthel, F., Herminghaus, A., Schulz, J., Bauer, I., Beck, C., Picker, O., 2016. Vasopressin V_{1A} receptors mediate the stabilization of intestinal mucosal oxygenation during hypercapnia in septic rats. *Microvascular Research* 106 (24-30)
- Schwartges, I., Schwarte, L.A., Fournell, A., Scheeren, T.W.L., Picker, O., 2008. Hypercapnia induces a concentration-dependent increase in gastric mucosal oxygenation in dogs. *Intensive Care Med.* 34, 1898–1906. doi:10.1007/s00134-008-1183-8
- Secher, T., Vassuer, V., Poisson, D., Ryffel, B., 2009. Crucial Role of TNF Receptors 1 and 2 in the Control of Polymicrobial Sepsis. *J. Immunol.* 7855–7864. doi:10.4049/jimmunol.0804008
- Shimogai, M., Ogawa, K., Tokinaga, Y., Yamazaki, A., Hatano, Y., 2010. The cellular mechanisms underlying the inhibitory effects of isoflurane and sevoflurane on arginine vasopressin-induced vasoconstriction. *J. Anesth.* 24, 893–900. doi:10.1007/s00540-010-1033-z
- Silbernagel, S., 2003. *Lehrbuch der Physiologie*, 4th ed. Thieme.
- Singer, M., Deutschman, C., Seymour, C.W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., Bellomo, R., Bernard, G.R., Chiche, J.-D., Coopersmith, C.M., Hotchkiss, R.S., MM., Marshall, J.C., Martin, G.S., Opal, S.D., Rubenfeld, G.D., van der Poll, T., Vincent, J.-L., Angus, D.C., 2016. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287
- Spronk, P.E., Kanoore-Edul, V.S., Ince, C., 2005a. Microcirculatory and mitochondrial distress syndrome (MMDS): a new look at sepsis, in: *Functional Hemodynamic Monitoring*. Springer, pp. 47–67.
- Spronk, P.E., Kanoore-Edul, V.S., Ince, C., 2005b. Microcirculatory and mitochondrial distress syndrome (MMDS): a new look at sepsis, in: *Functional Hemodynamic Monitoring*. Springer, pp. 47–67.
- Spronk, P.E., Zandstra, D.F., Ince, C., 2004. Bench-to-bedside review: sepsis is a disease of the microcirculation. *Crit. Care* 8.
- Stübs, C.C.M., Picker, O., Schulz, J., Obermiller, K., Barthel, F., Hahn, A.-M., Bauer, I., Beck, C., 2013. Acute, short-term hypercapnia improves microvascular oxygenation of the colon in an animal model of sepsis. *Microvasc. Res.* 90, 180–186. doi:10.1016/j.mvr.2013.07.008
- Swenson, E.R., 2010. Sepsis and therapeutic hypercapnia: sailing too close to the wind? *Anesthesiology* 112, 269–271.
- Touw, K.B., Haywood, J.R., Shaffer, R.A., Brody, M.J., 1980. Contribution of the sympathetic nervous system to vascular resistance in conscious young and adult spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2, 408–418.
- Trzeciak, S., Dellinger, R.P., Parrillo, J.E., Guglielmi, M., Bajaj, J., Abate, N.L., Arnold, R.C., Colilla, S., Zanotti, S., Hollenberg, S.M., 2007. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann. Emerg. Med.* 49, 88–98.e2. doi:10.1016/j.annemergmed.2006.08.021
- Tyagi, A., Mohta, M., Sethi, A., 2009. The Microcirculation in Sepsis. *Indian J. Anaesth.* 281–293.

Verzeichnisse

- Vagts DA, Iber T, Puccini M, Szabo B, Haberstroh J, Villinger F, Geiger K, Nöldge-Schomburg GF. The effects of thoracic epidural anesthesia on hepatic perfusion and oxygenation in healthy pigs during general anesthesia and surgical stress. *Anesth Analg*. 2003;97:1824–1832.
- Verdant, C., De Backer, D., Bruhn, A., 2009. Evaluation of sublingual and gut microcirculation in sepsis: a quantitative analysis. *Crit. Care Med*. 37(11), 2875–81. doi:10.1097/CCM.0b013e3181b029c1
- Vincent, J.-L., Sakr, Y., Sprung, C.L., Ranieri, V.M., Reinhart, K., Gerlach, H., Moreno, R., Carlet, J., Le Gall, J.-R., Payen, D., 2006. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study: *Crit. Care Med*. 34, 344–353. doi:10.1097/01.CCM.0000194725.48928.3A
- Vollmer, C., Schwarte, L.A., Picker, O., 2010. Sympathetic nervous system mediates hypercapnic effects on gastric mucosal oxygenation in anesthetised dogs. *Eur. J. Of Anaesthesiology* 27 (47), 77.
- Vollmer, C., Schwartges, I., Naber, S., Beck, C., Bauer, I., Picker, O., 2013. Vasopressin V1A receptors mediate the increase in gastric mucosal oxygenation during hypercapnia. *J. Endocrinol*. 217, 59–67. doi:10.1530/JOE-12-0526
- Vollmer, C., Schwartges, I., Swertz, M., Beck, C., Bauer, I., Picker, O., 2013. Hypothermia Improves Oral and Gastric Mucosal Microvascular Oxygenation during Hemorrhagic Shock in Dogs. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2013, 1–10. doi:10.1155/2013/589606
- Wang, Y., Han, G., Chen, Y., Chen, G., 2013. Protective role of tumor necrosis factor (TNF) receptors in chronic intestinal inflammation: TNFR1 ablation boosts systemic inflammatory response. *Lab. Invest*. 1024–1035.
- Wang, Z., Su, F., Bruhn, A., Yang, X., Vincent, J.-L., 2008. Acute Hypercapnia Improves Indices of Tissue Oxygenation More than Dobutamine in Septic Shock. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 177, 178–183. doi:10.1164/rccm.200706-9060C
- Ward, N.S., Casserly, B., Ayala, A., 2008. The Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome (CARS) in Critically Ill Patients. *Clin. Chest Med*. 29, 617–625. doi:10.1016/j.ccm.2008.06.010
- Warner, D., 2010. Hypercapnia and Acidosis in Sepsis A Double-edged Sword? *Anesthesiology* 112, 462–72.
- Wiedemann, K., Bauer, P., Hanf, K., 1982. Influence of pancuronium bromide on spontaneous intestinal motility in the dog. *Anaesthesist* 39–43.
- Wilson, MF, 1981. Vasopressin release during sepsis and septic shock in baboons and dogs. *Surg Gynecol Obstet* 869–72.

Danksagung

10. Danksagung

Zu guter Letzt gilt es, sich bei all denjenigen zu bedanken, die auf unterschiedlichste Art und Weise an dem Gelingen dieser Arbeit beteiligt waren.

Ein herzlicher Dank gilt...

...Herrn Professor Picker und Frau Professor Bauer für die Überlassung dieses interessanten Themas und der stets guten Begleitung und Unterstützung bei Fragen und Problemen und insbesondere Professor Picker für die Hilfe bei der ein oder anderen Korrektur,

...Herrn Professor Diener, dass er mich als externe Doktorandin übernommen und die Arbeit betreut hat,

...Herrn Dr. Beck für die Unterstützung im Versuchsaufbau und der Hilfe bei der Themenbearbeitung,

...Frau Dr. Bartel, die mir geduldig alles beibrachte, was man braucht, um als Doktorand zu bestehen, für die freundliche Aufnahme in der Arbeitsgruppe und die intensive Betreuung und Hilfestellung, sowie für jeden unterstützenden Rat,

...Frau Dr. Herminghaus, Herrn Dr. Vollmer, Herrn Dr. Truse und Herrn Schulz für die konstruktiven Diskussionsrunden und die Hilfsbereitschaft, die mir stets entgegengebracht wurde,

...besonders den technischen Assistentinnen Claudia Dohle, Nadine Lottmann für ihre Hilfe und Unterstützung sowie ganz herzlich Antje Nebert für die ruhigen und lehrreichen Hilfestellungen, die sie mir jederzeit gab und Birgitt Berke für die zahlreichen technischen Rettungen und Lösungsfindungen zu jedwedem Problem.

Ein Dank gilt auch allen Mitgliedern der Sepsis-AG für die netten Gespräche und Aufmunterungen, wenn es mal nicht so gut lief. Insbesondere seien hierbei meine

Danksagung

Labor-Teilhaber Birgitt und ihre Doktoranden, Anna, Christian, Richard und Jan sowie Franzi genannt. Keep calm and carry on!

Abseits der Uni gilt mein Dank vorrangig meinen Eltern, die mich immer und überall voller Liebe unterstützen sowie meinem Mann, für den das gleiche gilt, der aber des Weiteren meine zum Teil unerträglichen Launen während der Entstehung der Arbeit erdulden musste. Ihm und meinem Vater gilt des Weiteren Dank für die Korrektur- und Formatierungshilfen und für die gelegentlich nötigen Motivationsschübe.

... meinem engen Freundeskreis, der mich unterstützt hat und zu Weilen auch aktiv ablenken musste. Insbesondere sei hierbei die liebe Sarah genannt, die wohl die einzige ist, die ich kenne, der Statistik Spaß macht.

Ein weiterer Dank gilt Kathy Enright und Chris Tod für die muttersprachliche Unterstützung bei der Entwicklung des Papers.

Allen ein herzlichen **Dankeschön**.