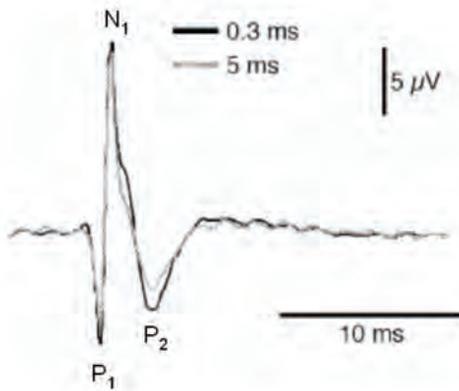


SABINE KLATT

FRÜHES MIKROZIRKULATORISCHES VERSAGEN IM GEHIRN DER RATTE IM VERLAUF DER SEPSIS:

Untersuchungen der cerebralen Autoregulation und neurovaskulären Kopplung



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



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

1. Auflage 2010

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

1st Edition 2010

© 2010 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus „Institut für Veterinär - Physiologie der Justus - Liebig - Universität Gießen“

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Joachim Roth

und

„Klinik für Neurologie des Universitätsklinikum Gießen und Marburg“

Betreuer: Prof. Dr. med. Bernhard Rosengarten

**Frühes mikrozirkulatorisches Versagen im Gehirn der Ratte im
Verlauf der Sepsis:
Untersuchungen der cerebralen Autoregulation und
neurovaskulären Kopplung**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus - Liebig - Universität Gießen

Eingereicht von

Sabine Klatt

Tierärztin aus Hagen

Gießen 2010

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

Dekan:

Prof. Dr. med. vet. Martin Kramer

Gutachter:

1. **Prof. Dr. med. vet. Joachim Roth**
2. **Prof. Dr. med. Bernhard Rosengarten**

Tag der Disputation:

05.01.2011

Meinem Vater †, meiner Mutter und Melanie Zimmer

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	13
1.1	Die Historie und Definition der Sepsis.....	13
1.2	Das Endotoxin und die Modulation der Entzündung.....	16
1.3	Die Geschichte von NO.....	19
1.4	Die Bildung von NO.....	20
1.5	Die biologische Wirkung von NO.....	22
1.6	Der Aufbau und die Funktion des Gefäßendothels.....	25
1.7	Die cerebrale Autoregulation und die neurovaskuläre Kopplung.....	25
1.8	Das SEP: Somatosensorisch evozierte Potentiale.....	27
1.9	Die LDF: Laser - Doppler - Flussmetrie.....	28
1.10	Die tierexperimentellen Sepsismodelle.....	30
1.11	Das Therapieregime.....	31
1.12	Das Ziel dieser Arbeit.....	32
2	Material und Methoden.....	34
2.1	Das Tiermodell und die Narkoseführung.....	34
2.2	Die Versuchstiere.....	34
2.3	Der Versuchsaufbau und die Versuchsdurchführung.....	35
2.3.1	Die Übersicht des Versuchsplatzes.....	35
2.3.2	Die Inhalationsnarkose zur Einleitung der Narkose.....	35
2.3.3	Die Arteria und Vena femoralis Kannülierung.....	36
2.3.4	Die Tracheotomie und die Intubation.....	38
2.3.5	Die Injektionsnarkose und die Muskelrelaxation.....	38
2.3.6	Die Präparation der Arteria carotis communis.....	39
2.3.7	Die Schädelpräparation.....	39
2.3.8	Die abschließende Präparation.....	40
2.3.9	Die Erfassung der cerebralen Autoregulation.....	41
2.3.10	Die Erfassung der neurovaskulären Kopplung.....	42
2.3.11	Die technische Versuchsdurchführung.....	43
2.3.12	Die Auswertung.....	44
2.4	Die Kontrolle der Blutparameter.....	47
2.5	Die Materialien.....	48

2.6	Die Versuchsdurchführung.....	52
2.7	Die laborchemische Auswertung.....	54
2.8	Die statistische Auswertung.....	55
3	Ergebnisse.....	56
3.1	Die Kontrollgruppe.....	56
3.2	Die unbehandelten Sepsisgruppen.....	59
3.3	Die Norepinephrin - Gruppen.....	62
3.4	Die 1400 W - Gruppen.....	67
3.5	Der Vergleich der Therapieregime.....	70
4	Diskussion.....	76
4.1	Das Versuchs - Modell.....	77
4.2	Das Sepsis - Modell	79
4.3	Die Narkoseführung.....	80
4.4	Der Begriff der Mikrozirkulation.....	82
4.5	Die Hämodynamik im Verlauf der Sepsis.....	83
4.6	Der Metabolismus im Verlauf der Sepsis.....	85
4.7	Die Messung der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Cortex....	87
4.8	Messung der cerebralen Autoregulation.....	90
4.9	Das cerebrale septische Krankheitsgeschehen.....	92
4.10	Die Katecholamine.....	97
4.11	Die iNOS - Inhibitoren.....	101
4.12	Laborchemische Effekte.....	102
4.13	Therapieeffekte.....	104
5	Zusammenfassung	110
6	Summary.....	112
7	Anhang.....	113
7.1	Eigene Publikationen.....	124

Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
ANOVA	ANalysis Of Variance
ATP	3',5' - Adenosin TriPhosphat
A. femoralis	Arteria femoralis
BOLD	Blood - Oxygen - Level - Dependency - Effekt
BP	Blood Pressure, Blutdruck
cAMP	Cyclisches 3', 5' - AdenosinMonoPhosphat
CARS	Compensatory Anti - Inflammatory Response Syndrome
ccm	Cubik CentiMeter, kubik zentimeter
cGMP	Cyclisches 3',5' - GuanosinMonoPhosphat
CLP	Caecal Ligation and Puncture
cm	CentiMeter
cNOS	constitutive NOS, konstitutive NOS
CR	Compression Rate
CSF	Colony Stimulation Factor, Kolonie Stimulierender Faktor
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation, Disseminierte Intravasale Gerinnung
dl	DeziLiter
E.coli	Escherichia coli
EDRF	Endothelium - Derived Relaxing Factor bzw. Endothelialer Relaxierender Faktor
EEG	Elektro - Encephalo - Graphie
EFVR	Evoked Flow Velocity Response, Evozierte Flussgeschwindigkeits Antwort
eNOS	endotheliale NO - Synthase, NOS III
EP	Evoziertes Potential
F_{Base}	Baseline / Ruhefluss der Flussgeschwindigkeit
Ft	Femtotesla
F_{Max}	Maximale Flussgeschwindigkeit
F_{Min}	Minimale Flussgeschwindigkeit

fMRT	<u>f</u> unktionelle <u>M</u> agnet <u>R</u> esonanz <u>T</u> omographie
GTP	3', 5' - <u>G</u> uanosin <u>T</u> ri <u>P</u> hosphat
Hz	<u>H</u> ertz
i.v.	<u>I</u> ntra <u>V</u> enös
IFN	<u>I</u> nter <u>F</u> ero <u>N</u>
IL	<u>I</u> nter <u>L</u> eukin
iNOS	induzierbare <u>NO</u> - <u>S</u> ynthase, NOS II
kg	<u>K</u> ilo <u>G</u> ramm
KGW	<u>K</u> örper <u>G</u> e <u>W</u> icht
l	<u>L</u> iter
LDF	<u>L</u> aser - <u>D</u> oppler - <u>F</u> low / <u>F</u> luxmetrie, Laser Doppler - Fluss
LPS	<u>L</u> ipo <u>P</u> oly <u>S</u> accharid
MARS	<u>M</u> ixed <u>A</u> ntagonists <u>R</u> esponse <u>S</u> yndrome
MEG	<u>M</u> agnet - <u>E</u> ncephalo - <u>G</u> raphie
mA	<u>M</u> illi <u>A</u> mpere
mg	<u>M</u> illi <u>G</u> ramm
ml	<u>M</u> illi <u>L</u> iter
MODS	<u>M</u> ultiple <u>O</u> rgan <u>D</u> ysfunction <u>S</u> yndrome
mm	<u>M</u> illi <u>M</u> eter
mm ³	Kubik <u>M</u> illi <u>M</u> eter
mmol	<u>M</u> illi <u>M</u> OL
N	<u>N</u> ewton (Druck)
NA	N (G) - <u>N</u> itro - L - <u>A</u> rginin
NaCl	<u>N</u> atrium <u>C</u> h <u>L</u> orid
NADPH	<u>N</u> ikotinamid - <u>A</u> denin - <u>D</u> inukleotid - <u>P</u> hosphat (reduzierte Form)
NAME	<u>N</u> itro - <u>A</u> rginin - <u>M</u> ethyl - <u>E</u> ster
NE	<u>N</u> or <u>E</u> pinephrin, Katecholamin
N. femoralis	<u>N</u> ervus <u>f</u> emoralis
ng	<u>N</u> ano <u>G</u> ramm
NMMA	N (G) - <u>M</u> ono - <u>M</u> ethyl - L - <u>A</u> rginin
nNOS	neuronale <u>NO</u> - <u>S</u> ynthase, NOS I
NO	chemisches Zeichen für Stickstoffmonoxid
NSE	<u>N</u> euronen <u>S</u> pezifische <u>E</u> nolase

pCO ₂	partieller Kohlendioxid Druck
PEEP	<u>P</u> ositive <u>E</u> nd <u>E</u> xpiratory <u>P</u> ressure, positiv - endexpiratorischer Druck, Meßeinheit: mmHg
pH	Maßeinheit für die Konzentration von Wasserstoff - Ionen in wässrigen Lösungen, die den Säure - bzw. Laugegehalt der Lösung bestimmt.
PIRO	<u>P</u> redisposing Condition, <u>I</u> nfection, <u>R</u> esponse, <u>O</u> rgan Dysfunction
pO ₂	partieller Sauerstoff Druck
PRR	<u>P</u> athogen <u>R</u> ecognition <u>R</u> eceptor
rCBF	<u>r</u> egional <u>C</u> erebral <u>B</u> lood <u>F</u> low
s	<u>S</u> ekunde
SCCM	<u>S</u> ociety of <u>C</u> ritical <u>C</u> are <u>M</u> edicine
SEP	<u>S</u> omatosensory <u>E</u> voked <u>P</u> otential, Somatosensorisch evoziertes Potential
sGC	<u>s</u> oluble <u>G</u> uanylate <u>C</u> yclase, lösliche Guanylatcyclase
SIRS	<u>S</u> ystemic <u>I</u> nflammatory <u>R</u> esponse <u>S</u> ndrome
SQUID	<u>S</u> upraconducting <u>Q</u> uantum <u>I</u> nterference <u>D</u> evice
Std	<u>S</u> tun <u>D</u> e
TGF	<u>T</u> ransforming <u>G</u> rowth <u>F</u> actor, Transformierender Wachstumsfaktor
THRR	<u>T</u> ransient <u>H</u> yperemic <u>R</u> esponse <u>R</u> atio
TLR 4	<u>T</u> oll - <u>L</u> ike - <u>R</u> ezeptor 4
TNF - α	<u>T</u> umor <u>N</u> ekrose <u>F</u> aktor - α
V. femoralis	<u>V</u> ena femoralis
µg	<u>M</u> ykro <u>G</u> ramm
µl	<u>M</u> ykro <u>L</u> iter
µV	<u>M</u> ykro <u>V</u> olt
%	<u>P</u> rozent
°C	<u>G</u> rad <u>C</u> elsius

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktur des LPS.....	16
Abbildung 2: NO - Entstehung aus L - Arginin.....	20
Abbildung 3: Kurzschluss des Krebs - Henseleit - Zyklus bzw. Harnstoffzyklus.....	21
Abbildung 4: Arbeitsweise der Guanylatzyklase.....	22
Abbildung 5: Schematische Darstellung der löslichen Guanylatzyklase.....	23
Abbildung 6: Versuchsplatz mit aufgelisteten Geräten:	35
Abbildung 7: Stereotaktische Halterung mit Bolzen für die Ohren zur Kopffixierung in einer ca. 45 ° Drehung im Bereich von oben ohne Tier.....	41
Abbildung 8: Schematische Zeichnung der experimentellen Überprüfung der cerebralen Autoregulation.....	42
Abbildung 9: Schematische Zeichnung der experimentellen Überprüfung der neurovaskulären Kopplung.....	43
Abbildung 10: Corticales SEP nach kontralateraler elektrischer Vorderpfotenstimulation. Mittelung von 60 Signalen während einer 30 Sekunden dauernden Stimulation.....	44
Abbildung 11: LDF - Aufzeichnung vom somatosensorischen Cortex während wiederholter Stimulation der kontralateralen Vorderpfote mit elektrischen Impulsen für 30 Sekunden gefolgt von einer Pause von 30 s.....	45
Abbildung 12: LDF - Aufzeichnung während und nach der Okklusion der Arteria carotis.....	46
Abbildung 13: Verwendete Instrumente.....	51
Abbildung 14: Auswertung der neurovaskulären Kopplung (NVK) und der cerebralen Autoregulation (CA), die im Wechsel stattfanden.....	54
Abbildung 15: Mittlerer Blutdruck (BP) der Kontrollgruppe, 1 mg/kg und 5 mg/kg Sepsis-Gruppe	57
Abbildung 16: Evozierte Flussantworten bei der Kontrollgruppe, 1 mg/kg und 5 mg/kg Sepsis - Gruppe	58
Abbildung 17: Cerebraler Blutfluss im Verlauf des Versuches bei der Kontrollgruppe, 1 mg/kg und 5 mg/kg Sepsis - Gruppe.....	58
Abbildung 18: SEP - Amplituden im Verlauf des Versuches bei der Kontroll - , 1 mg/kg - und 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe	59

Abbildung 19: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der nicht therapierten 1 mg/kg Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.....	61
Abbildung 20: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der nicht therapierten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.....	62
Abbildung 21: Mittlerer Blutdruck (BP) bei der 5 mg/kg -, 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400 W - Gruppe.....	63
Abbildung 22: SEP - Amplitude bei der 1 mg/kg -, 1 mg/kg + NE -, 1 mg/kg + 1400 W - Gruppe	64
Abbildung 23: SEP - Amplitude bei der 5 mg/kg -, 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400 W - Gruppe	64
Abbildung 24: Evozierte Flussantworten bei der 5 mg/kg -, 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400W - Gruppe	65
Abbildung 25: Cerebraler Blutfluss (Ruhefluss) bei der 5 mg/kg - , 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400 W - Gruppe.....	66
Abbildung 26: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der 5 mg/kg + NE - Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.....	67
Abbildung 27: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der 5 mg/kg + 1400 W - Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.....	69
Abbildung 28: Beziehung zwischen SEP Amplituden und daraus resultierenden evozierten hämodynamischen Antworten (evozierte Laser - Doppler - Flow) bei der 1 mg/kg -, 5 mg/kg - Kontrollgruppe und 1 mg/kg -, 5 mg/kg + NE - Sepsis - Gruppe (zur Erklärung siehe Text).....	72

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Pro - und anti - inflammatorische Mediatoren.....	17
Tabelle 2: Verwendete Materialien.....	48
Tabelle 3: Durchschnittliche Werte von Glukose, Laktat, pH, pCO2 und Hämoglobin der verschiedenen Gruppen.....	74
Tabelle 4: Systemischer Blutdruck, SEP, P1 - Latenz, EFVR, Ruhe LDFV, THRR, THRR* = Kontrollgruppe.....	75
Tabelle 5: Destruktionsmarkermessung der neuronenspezifischen Enolase (NSE), Astrozytenmarker (S - 100 B) und Daten von Zytokinen als Gruppe gemittelter Daten ± Standardabweichung.....	76

Vorwort

In der humanmedizinischen Intensivmedizin besitzt die Sepsis einen besonderen Stellenwert, da sie einen lebensbedrohlichen Zustand bei den kritisch kranken Patienten darstellt und die häufigste Todesursache hierbei ist. Die Septikämie steht in den USA statistisch an dritter Stelle der infektionsbedingten Sterbefälle [Bone et. al. 1997]. In Europa sterben jährlich 150 000 Patienten an einer schweren Sepsis und in den Vereinigten Staaten mehr als 200 000, was knapp 10 % der gesamten Todesfälle entspricht [Angus and Wax 2001], [Angus et. al. 2001]. In Deutschland hat sich die Zahl der Todesfälle durch bakterielle Infektionen seit 1980 aufgrund von Antibiotikaresistenzen, höherem Patientendurchschnittsalter und vermehrt immunsupprimierter Patientengruppen mehr als verdreifacht.

In der Tiermedizin spielt die Sepsis eine große Rolle in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung als auch bei den Heimtieren aufgrund des damit verbundenen Verlustes an Jungtieren. Trotz der kontinuierlichen Weiterentwicklung von Aufzuchtmanagement und medizinischer Versorgung ist die Sepsis die häufigste Verlustursache neben pulmonalen und enteralen Erkrankungen in der Kälber - sowie der Fohlenaufzucht [Walser 1973], [Virtala et. al. 1996], [Schusser 2004].

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit den cerebralen Vorgängen auf neuronaler und vaskulärer Ebene im Rahmen einer Endotoxin - vermittelten Sepsis in einem Rattenmodell.

1 Einleitung

1.1 Die Historie und Definition der Sepsis

Seit mittlerweile Jahrtausenden ist das Krankheitsbild der Sepsis bekannt. Hippokrates beschrieb schon 400 v. Chr. eine Krankheit die „verursacht wird durch eine Materie, die fault“ und 7 - 14 Tage nach einer Verwundung mit Fieber einher ging und oft tödlich endete. Er leitete den Begriff „Sepsis“ von dem griechischen Wort σήπω ("faul machen") ab und machte die Fäulnis des Gewebes und die damit freigesetzten Gifte dafür verantwortlich. Dieser Begriff wurde schon im Zeitalter der Antike eingeführt und blieb bis zum 19. Jahrhundert in diesem Sinn bestehen. Der Mikrobiologe *Hugo Schottmüller* (1867 - 1936) definierte den Begriff der Sepsis 1914: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn von einem Herd aus konstant oder periodisch pathogene Keime in den Blutkreislauf gelangen und dadurch subjektive oder objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden. Demgegenüber finden sich bei einer Bakteriämie Bakterien im Blut, ohne dass es zu Krankheitserscheinungen kommt.“ [Schottmüller 1914]. Diese klassische Definition wird bis heute noch viel zitiert, jedoch ist sie in der heutigen Zeit nicht mehr voll zutreffend. Der invasive Keim ist nicht mehr alleiniger Auslöser des Krankheitsgeschehens. Aufgrund des kontinuierlich wachsenden Wissenstandes, musste diese Definition bzgl. Pathogenese und Pathophysiologie weiter entwickelt werden. Die Reaktion des Wirtskörpers und die damit verbundene endogene Mediatorenausschüttung, d.h. das systemische inflammatorische Geschehen, erlangt mehr und mehr an Bedeutung.

Sepsis ist eine überschießende systemische entzündliche Wirtsreaktion auf eine Infektion. Es werden verschiedene Formen unterschieden, da es bisher noch keinen alleinigen, eindeutigen Parameter gibt, der die Diagnose Sepsis erlaubt. Verschiedene Parameter, wie Vital - und Laborwerte, hämodynamische Daten und Organfunktionen definieren die Begriffe SIRS, Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock, die 1992 in Nordamerika in einer

Einleitung

Konsensuskonferenz der „Society of Critical Care Medicine“ (SCCM) und des „American College of Chest Physicians“ (ACCP) hervor gingen und wie folgt definiert werden [ACCP/SCCM 1992]:

SIRS ist das „Systemic Inflammatory Response Syndrome“, die systemische Entzündungsreaktion. Sie ist definiert als das Vorhandensein von mindestens zwei oder mehreren der folgenden Entzündungsparameter:

- Hyperthermie oder Hypothermie (Körpertemperatur über 38 °C oder unter 36 °C)
- Tachycardie (Herzfrequenz über 90 Schläge pro Minute)
- Tachypnoe (Atemfrequenz über 20 Züge pro Minute) oder PaCO₂ unter 4,3 kPa (unter 32 mm Hg)
- Leukozytenzahl über 12 x 10⁹ / l oder unter 4 x 10⁹ / l oder mehr als 10% Stabkernige

SIRS kann aufgrund einer Antwort auf eine Infektion, multipler Traumata, Ischämie, Hämorrhagie und immunvermittelter Organschädigung in Erscheinung treten.

Sepsis ist definiert als eine systemische Entzündungsreaktion als Antwort auf eine Infektion, die mikrobiell oder klinisch nachgewiesen ist.

Die schwere Sepsis beschreibt eine Sepsis kombiniert mit einer Organ dysfunktion bzw. Hypoperfusion oder Hypotension.

Der septische Schock ist definiert als eine Sepsis mit dem Kardinalsymptom des massiven Blutdruckabfalles, der mit einer Malnutrition lebenswichtiger Organe, wie Lunge, Leber, Nieren und Gehirn trotz adäquater Flüssigkeitszufuhr einhergeht. Er ist unabhängig von der Anwesenheit oder Abwesenheit von MODS („Multiple Organ Dyfunctions Syndrome“ oder Multiorganversagen), welches eine progressive Funktionseinschränkung von Organen bezeichnet, die nicht ohne Intervention zu beheben ist. Man unterscheidet das Primäre MODS, dem ein erheblicher Gewebeschaden und oder Hypoxie vorangeht und das sekundäre MODS, welches aufgrund einer SIRS in Erscheinung tritt [Ciesielski and Modzelewski 1995].

Einleitung

Neuere Studien decken auf, dass der Organismus nicht nur eine pro - inflammatorische sondern auch eine ausgleichende anti - inflammatorische Immunantwort auf inflammatorische Stimuli aufweist, die eine überschießende Entzündungsreaktion verhindern soll. Diese Entdeckung trägt zum fortlaufenden Verständnis der Pathologie und Pathophysiologie der Sepsis und der SIRS bei. *Roger C.Bone* führte aufgrund dessen zusätzliche Begriffe zu den Definitionen der ACCP / SCCM ein wie „Compensatory Anti - Inflammatory Response Syndrome“ (CARS) und „Mixed Antagonists Response Syndrome“ (MARS) ein [Bone 1996], [Bone et. al. 1997].

Die von der ACCP / SCCM definierten Begriffe sind für die Früherkennung der Sepsis essentiell geworden. Unabhängig von mikrobiologischen Befunden können Risikopatienten aufgrund von klinischen Symptomen und Laborbefunden schnell erkannt werden. Jedoch sind diese Kriterien der Entzündungsreaktion unspezifisch und klären nicht die Ätiologie auf [Vincent 1997], [Marshall 2000]. Somit wurde 2001 auf einer weiteren Konferenz das so genannte PIRO - Konzept in Anlehnung an das TNM (Tumor, Nodus, Metastase) - System für solide Tumoren, welches eine differenzierte Schweregradeinteilung darstellt, entwickelt. Das PIRO - System beschreibt die prädisponierenden Faktoren, wie der Grunderkrankungen, den Ort der Infektion und den Erreger sowie die Immunantwort und den Schweregrad der Organdysfunktion („Predisposing Condition, Infection, Response, Organ Dysfunction“) [Abraham et. al. 2000].

Neben bakteriell, viral, mykotisch und parasitär bedingten Infektionen kommen noch Traumata, Reperfusionen, hypovolämischer / hämorrhagischer Schock sowie autoimmune Prozesse als Ursache für eine Sepsis in Betracht [Bone 1991], [Parillo 1993]. Als Grundlage für das verwendete tierexperimentelle Modell dient eine durch gram - negative Erreger induzierte Sepsis. Hierbei können pathophysiologische Vorgänge exemplarisch untersucht und analysiert werden. Das gram - negative Bakterium *Escherichia coli* mit

Einleitung

seinem Endotoxin Lipopolysaccharid (LPS) als Pathogen ist für mehr als ein Drittel der Sepsis Fälle verantwortlich [Sands et. al. 1997].

1.2 Das Endotoxin und die Modulation der Entzündung

Das Endotoxin Lipopolysaccharid (LPS) als Bestandteil der äußeren Membran gram - negativer Bakterien, wird vom Bakterium bei Stress oder seiner Lyse frei gesetzt. Das Polymer LPS ist zusammengesetzt aus einem hydrophilen Polysaccharidanteil, das aus einem O - Antigen, einem zweiteiligen Kernoligosaccharid (äußere und innere Kernregion) und dem bei allen gram - negativen Bakterien einheitlichem hydrophoben Lipid A, einem Lipidkomplex besteht. Die Untereinheit Lipid A wurde schon in den 50er und 60er Jahren chemisch charakterisiert und als biologisch aktiver Anteil des LPS erkannt [Bruin et. al. 1994].

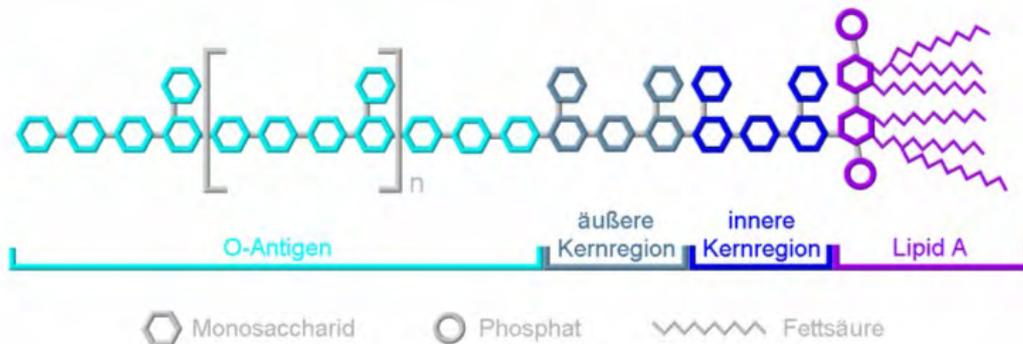


Abbildung 1: Struktur des LPS

Dringen Mikroorganismen oder deren Produkte bzw. Bestandteile in den Wirtskörper ein werden körpereigene Zellen, wie Leukozyten aktiviert und lösen eine entzündliche Reaktion aus [Landmann et.al. 1996]. Speziell das Endotoxin Lipopolysaccharid wirkt als Superantigen und stimuliert das angeborene Immunsystem über den Toll - like - Rezeptor 4 (TLR 4). Hierdurch kommt es zu

Einleitung

einer unkontrollierten Immunantwort durch Aktivierung der Mediatorenproduktion und - ausschüttung [Bochud and Calandra 2003].

Die Zytokine als induzierbare Proteine sind eine der wichtigen Mediatorengruppen, wobei als pathogenetisch wichtig der Tumornekrosefaktor - α (TNF - α), die Interferone (IFN), Interleukine (IL) und Chemokine anzusehen sind. Aufgrund der zeitlichen Freisetzung während einer Entzündungsreaktion unterscheidet man pro - inflammatorische Zytokine, die die Entzündungsreaktion stimulieren und zu denen TNF - α , IL - 1, IL - 6 und IL - 8 zählen und anti - inflammatorische Zytokine, die die Entzündungsreaktion unterbinden, zu denen TGF (Transforming Growth Factor) - β , IL - 4 und IL - 10 [Bone 1991] gehören.

Im Verlauf einer Sepsis werden zuerst pro - und später anti - inflammatorische Zytokine produziert [Hotchkiss et. al. 1992], [Gogos et. al. 2000]. TNF - α erreicht als erstes Zytokin einen Spitzenplasmaspiegel während einer Entzündung, was nach einer experimentellen Applikation von LPS schon nach 30 Minuten erreicht wird [Pinsky et. al. 1993]. Als gegenregulatorische Antwort produzieren Thrombozyten Serotonin und Prostaglandin und Endothelzellen Selektine, Gewebefaktor und Stickstoffmonoxid (NO). Zudem wird das Komplement - und das Koagulationssystem zusätzlich aktiviert [Calandra et. al. 2002]. In Tabelle 1 sind die pro - und anti - inflammatorischen Mediatoren im Überblick dargestellt.

Tabelle 1 Pro - und anti - inflammatorische Mediatoren

Aktivierung durch mikrobielle Produkte	Mediatoren	
	pro-inflammatorisch	anti-inflammatorisch
Neutrophile		IL - 4, IL - 10
Monozyten/Makrophagen	TNF - α , IL - 1, IL - 2, IL - 6, IL - 8	
Lymphozyten	IFN - γ	TGF - β
Thrombozyten	NO, PAF	

Einleitung

Aktivierung durch mikrobielle Produkte	Mediatoren	
	pro-inflammatorisch	anti-inflammatorisch
Endothelzellen	Gewebefaktor, Prostaglandine, Leukotriene, Serotonin	
Komplementsystem	C5a, C3a	
Gerinnungssystem	Faktor XII	

Zu Beginn der Entzündungsreaktion setzen zuerst die neutrophilen Granulozyten das bakterizid wirkende Superoxyd frei, produzieren Integrine zur verbesserten Endotheladhäsion und modifizieren die Entzündung indem sie TNF - α und IL - 1 freisetzen. Monozyten und Makrophagen produzieren die pro - inflammatorischen Mediatoren TNF - α , IL - 1, IL - 6, IL - 8, IFN - γ , PAF (Plättchen aktivierender Faktor), Gewebefaktor, Prostaglandine, Leukotriene und den anti - inflammatorischen Faktor TGF - β . Lymphozyten synthetisieren TNF - γ , IL - 2, das pro - inflammatorische Zytokin IFN - γ und die anti - inflammatorischen Zytokine IL - 4, IL - 10. Serotonin und Prostaglandine werden von aktivierten Thrombozyten, Selectine, Gewebefaktor und NO von Endothelzellen synthetisiert [Trampuz und Zimmerli 2003].

Im Verlauf einer Sepsis kommt es nicht nur zu immunologischen, sondern auch zu hämodynamischen Veränderungen, die sich zunehmend verstärken und weitere pathologische Effekte nach sich ziehen. Hierbei kommt es zu Beginn des septischen Krankheitsgeschehens aufgrund einer peripheren Gefäßdilatation zu einem massiven arteriellen Blutdruckabfall. Hierbei „versackt“ das Blut im venösen Schenkel und das Herzzeitvolumen reicht nicht mehr aus, um eine genügende Durchblutung der Körperorgane zu gewährleisten. Infolge dessen entwickelt sich eine zunehmende myocardiale Insuffizienz, die in einem hypodynamen Kreislaufschock mit reduziertem Herzzeitvolumen und erhöhtem peripheren Widerstand resultiert. Es hat sich damit um eine Anämie, Hypovolämie, Hypotension und Hypozirkulation, die ein

Einleitung

vermindertes Sauerstoffangebot (Gewebehypoxie) mit sich zieht, entwickelt. Es entsteht eine Imbalance zwischen Sauerstoffbedarf - und -angebot. In Folge des sich entwickelnden Perfusionsdefizits kommt es im Splanchnikusgebiet zu einer Schädigung der gastrointestinalen Barriere, durch die die dortigen Bakterien und deren Endotoxine translozieren können und das septische Krankheitsgeschehen weiter antreiben und verstärken. Durch diese sepsisbedingte Störung der Mikrozirkulation werden zusätzliche Organsysteme geschädigt [Mc Cuskey et. al. 1996], [Lush and Kvietys 2000], [Bauer 2002].

Als ein weiterer Auslöser der Organschädigung ist die Störung des Gerinnungssystems zu sehen. Hierbei kommt es durch die Interaktion von Granulozyten und Gefäßendothel zur Freisetzung von Faktoren der Gerinnungskaskade und der Fibrinolyse. Hierbei wird eine Verbrauchskoagulopathie mit folgender disseminierter, intravasaler Gerinnung (DIC) und mikrovaskulärer Thrombosen ausgelöst, die wiederum eine unkontrollierte Kettenreaktion in Gang setzt. Dabei nimmt diese induzierte unkontrollierte Kettenreaktion ihren Lauf von der Entzündung, über Gerinnung und Fibrinolyse mit folgender Ischämie, Hypoxie bis hin zur letztlich endenden Organdysfunktion [Faust et. al. 2001], [Grinnell and Joyce 2001].

1.3 Die Geschichte von NO

Stickstoffmonoxid (kurz NO) ist eine chemische Verbindung aus einem Stickstoff- und einem Sauerstoffatom, die durch eine Doppelbindung miteinander verbunden sind. NO ist unter physiologischen Umständen ein Botenstoff, der in wichtige physiologische Prozesse involviert ist. Er ist an der Signaltransduktion in dem kardiovaskulären und dem Immunsystem, sowie an dem Prozess der Relaxation der glatten Muskulatur beteiligt. Zudem ist NO als eigentlicher Neurotransmitter zu sehen [Löffler und Petrides 1998].

Schon im Jahre 1977 wurde der Mechanismus, die Aktivierung der zytosolischen (löslichen) Guanylatzyklase (sGC) durch NO und organische Nitrate, wie Nitroglycerin bewiesen [Arnold et. al. 1977], [Katsuki et. al. 1977],

Einleitung

[Schultz and Schultz 1977], aber es blieb lange unbeachtet, da NO damals nur als Umweltgift bekannt war und ihm noch keine physiologischen Mechanismen zugeschrieben wurden. 1980 wurde NO in seiner noch unbekanntem bzw. nicht erkannten Funktionsweise als Substanz EDRF (Endothelium - Derived Relaxing Factor bzw. endothelialer relaxierender Faktor) entdeckt [Furchgott and Zawadzki 1980]. Erst 1986 wurde EDRF als NO identifiziert und im folgenden Jahr wurde diese Entdeckung bestätigt, dass es sich um das Stickstoffmonoxid handelt [Ignarro et. al. 1987], [Palmer et. al. 1987], [Moncada et. al. 1988].

1.4 Die Bildung von NO

Mit Hilfe der NO - Synthese wird NO unter Verbrauch von Sauerstoff und unter Zuhilfenahme des Koenzyms NADPH (Nikotinamid - Adenin - Dinukleotid - Phosphat) aus der Aminosäure L - Arginin gebildet. Die gesamte Reaktion benötigt noch die Anwesenheit von weiteren Kofaktoren wie Tetrahydrobiopterin, Calmodulin und Kalzium. Bei dieser Reaktion wird die Aminosäure L - Arginin durch zweimalige Hydroxylierung in Citrullin und NO gespalten. In Abbildung 2 ist die Entstehung von NO dargestellt.

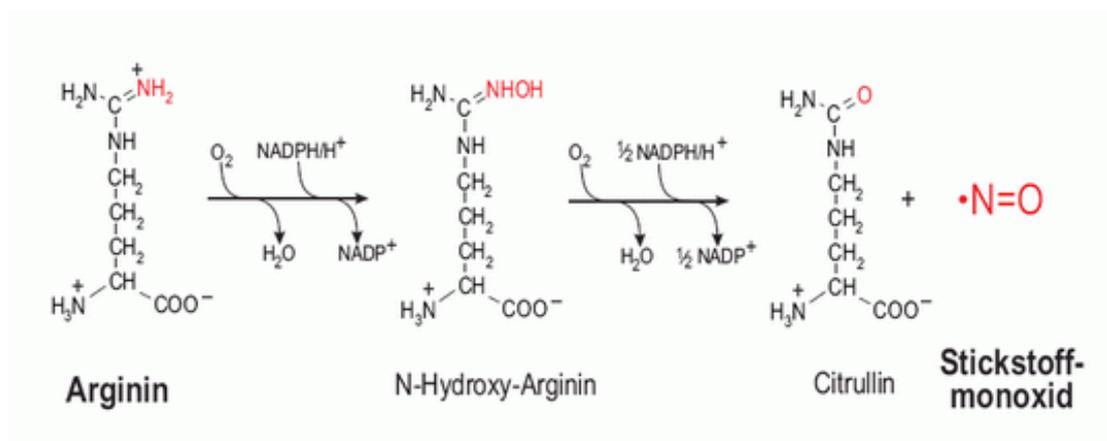


Abbildung 2: NO - Entstehung aus L - Arginin

Die Aminosäure L - Arginin stellt die Vorstufe verschiedener Syntheseprodukte wie Harnstoff, Polyamine, Kreatinphosphat dar und wird auch noch durch zwei weitere Enzyme aus dem Harnstoffzyklus oder Krebs -

Einleitung

Henseleit - Zyklus synthetisiert wie der L - Argininsuccinat - Synthase (AS) und der L - Argininsuccinat - Lyase (AL) aus Citrullin. Diese weitere Möglichkeit der NO-Entstehung stellt einen Kurzschluss des Harnstoffzyklus oder Krebs-Henseleit-Zyklus dar [Watkins 1995] und ist in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

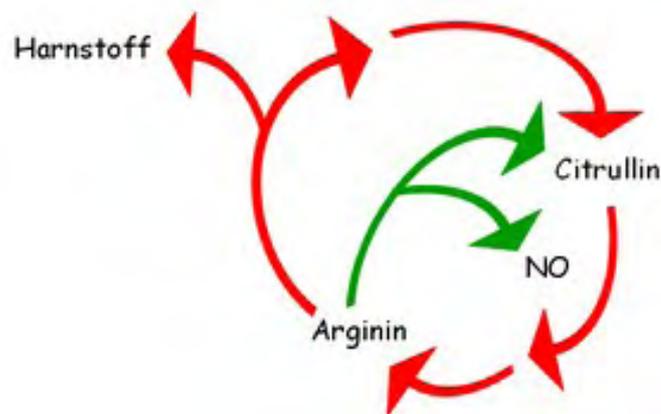


Abbildung 3: Kurzschluss des Krebs - Henseleit - Zyklus bzw. Harnstoffzyklus

Es existieren drei verschiedene Formen der NO - Synthase, die alle eine hohe Sequenz - Homologie zur Cytochrom P - 450 - Reduktase aufweisen, welches ein bedeutsames Enzym des Phase I Metabolismus zur Entgiftung von Fremdstoffen ist: eNOS (NOS III), nNOS (NOS I) und iNOS (NOS II).

Die Namensgebung der verschiedenen NO - Synthasen wurde Produktionsort bzw. Produktionsart gebunden vergeben: endotheliale NO - Synthase (eNOS) wird demnach im Endothel, neuronale NO - Synthase (nNOS) wird in Nervenzellen synthetisiert und die induzierbare NO - Synthase (iNOS) wird durch pro - inflammatorische Stimuli wie Endotoxin - LPS oder Zytokine induziert produziert und in verschiedenen Zellen, wie Makrophagen, Hepatozyten, glatte Gefäßmuskelzellen und Herzmuskelzellen exprimiert [Thiemermann 1997], [Denninger and Marletta 1999].

eNOS und nNOS werden konstitutiv, d.h. ständig exprimiert, und regulieren den Gefäßtonus kontinuierlich. Diese beiden Isoformen der NO - Synthase

Einleitung

werden aufgrund ihrer ständigen Expression zusammenfassend als konstitutive NO - Synthase (cNOS) bezeichnet. Mit Hilfe der cNOS - Isoformen wird der Gefäßtonus gesteuert, diese stellen somit einen gut regulierbaren Feineinstellungsmechanismus dar [Ignarro 1989]. Die Regulierung der cNOS wird Calcium-abhängig gesteuert. Hierbei wird durch einen extrazellulären Calziumeinstrom die intrazelluläre Calziumkonzentration erhöht, was die cNOS aktiviert. Im Gegensatz dazu ist die Aktivierung der iNOS vom Calzium - Einstrom unabhängig [Liu et. al. 1996], [Kirkeböen and Strand 1999], [Scott and Mc Cormack 1999].

1.5 Die biologische Wirkung von NO

Die Auswirkungen von Stickstoffmonoxid werden über die Aktivierung der zytosolischen Guanylatzyklase und deren Folgeprozesse in der Zielzelle vermittelt. Die Guanylatzyklase wie auch die Adenylatzyklase gehören in die Kategorie der Nucleotidzyklasen, die ihre Substrate GTP (Guanosintriphosphat) bzw. ATP (Adenosintriphosphat) katalytisch in die zyklische Form cyclisches Guanosinmonophosphat bzw. cyclisches Adenosinmonophosphat (cGMP bzw. cAMP) umgewandelt [Tesmer and Sprang 1998], was in Abbildung 4 schematisch zu sehen ist.

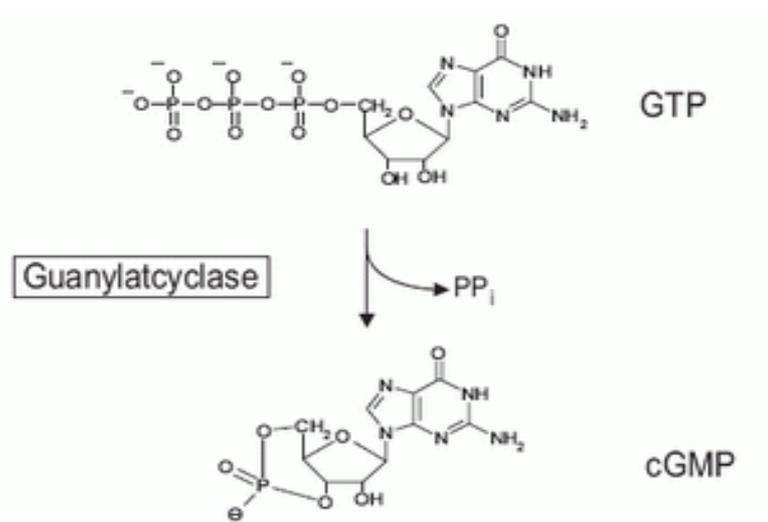


Abbildung 4: Arbeitsweise der Guanylatzyklase

Einleitung

1958 wurde das erste zyklische Nucleotid, cAMP entdeckt, wobei der NO-abhängige Wirkmechanismus aufgedeckt wurde [Rall and Sutherland 1958]. Da noch nach anderen Nucleotiden gesucht wurde, wurde 1963 cGMP im Rattenurin entdeckt [Ashman et. al. 1963], und später auch in diversen anderen Geweben [Goldberg et. al. 1969].

Von der Guanylatzyklase sind zwei verschiedene Formen (Isoenzyme) existent. Die eine stellt die membrangebundene Guanylatzyklase dar und die andere die lösliche (zytosolische) Guanylatzyklase [Hardman and Sutherland 1969], [Schultz et. al. 1969].

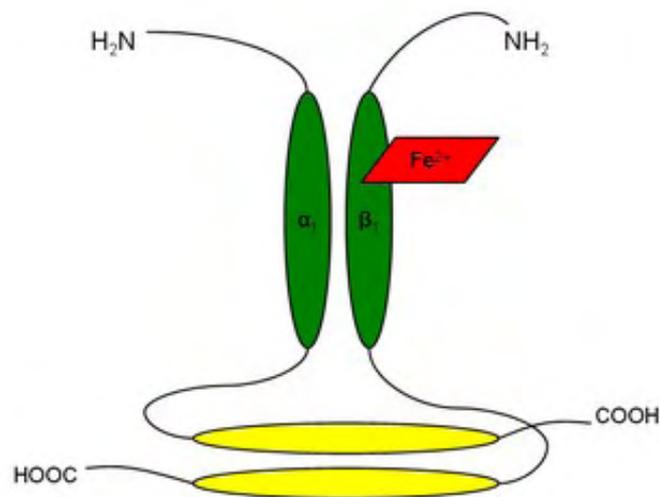


Abbildung 5: Schematische Darstellung der löslichen Guanylatzyklase

Die zytosolische (lösliche) Guanylatzyklase ist ein Rezeptor für das Stickstoffmonoxid. Der Rezeptor ist ein heterodimeres Protein, welches aus einer α und einer β Untereinheit besteht, die spezie- und isoformbedingt in ihrem Molekulargewicht variieren kann (siehe Abbildung 5). Zudem ist eine prosthetische Hämgruppe vorhanden, aufgrund dessen dieses Protein zu den Holoproteinen gehört, die für die Aktivierung des Enzyms durch NO essentiell ist. Die Aktivierung des Enzyms erfolgt durch NO, welches an das Häm bindet und mit dem dortigen zentralen Eisenatom der β -Untereinheit einen Komplex bildet [Zhao et. al. 1998]. Die Aktivierung des Enzyms bewirkt eine

Einleitung

Umwandlung des Guanosintriphosphat in cyklisches Guanosinmonophosphat [Murad 2006].

Im Rahmen der Signalkaskade werden schließlich cGMP - abhängige Proteinkinasen, Ionen - Kanäle (direkte Wirkung) und Phosphodiesterasen aktiviert, die in einer zellulären Antwort münden. Durch die Aktivierung der cGMP - abhängigen Proteinkinase kommt es zu einer Proteinphosphorylierung, die entscheidend für die Relaxation des Gefäßendothels ist. Hierbei wird der Inositol - 1,4,5 - triphosphat - Rezeptor der glatten Gefäßmuskulatur phosphoryliert, was zu einem Abfall der intrazellulären Ca^{2+} - Konzentration und somit zu einer Gefäßrelaxation führt.

Die NO - Synthese wird nicht nur direkt calziumkonzentrationsabhängig bzw. durch pro - inflammatorische Stimuli vermittelt, sondern auch durch vasoaktive Botenstoffe, wie Acetylcholin oder Bradykinin. Diese rufen ebenfalls eine rezeptorvermittelte Vasodilatation hervor durch Aktivierung der Guanylatzyklase. Hierbei binden Acetylcholin oder Bradykinin an membranständige Rezeptoren des Gefäßendothels und aktivieren dadurch die Produktion des sekundären Botenstoffes (Second Messengers) Inositol - 1,4,5 - triphosphat, was zur Folge hat, dass Ca^{2+} aus dem endoplasmatischen Retikulum freigesetzt wird und einen Komplex mit Calmodulin bildet und somit die cNOS aktiviert [Feldmann et. al. 1993], [Stuehr and Griffith 1992].

Diese vasodilatierende Wirkung von Stickstoffmonoxid ist temporär und relativ kurzlebig, da NO als Radikal physiologisch mit anderen Radikalen und Molekülen wie dem Superoxid und dem Oxyhämoglobin reagiert. Dadurch wird NO schnell inaktiviert. Es hat demzufolge eine kurze Halbwertszeit und wird zum Abbauprodukt Nitrat oxidiert und schließlich über die Nieren ausgeschieden.

1.6 Der Aufbau und die Funktion des Gefäßendothels

Das Gefäßendothel ist eine einschichtige Zellschicht, die zum Gefäßlumen hin gerichtet ist und die innere Gefäßwand darstellt. Sie hat die Funktion einer Grenzschicht zwischen dem strömenden Blut und der eigentlichen glattmuskulären Gefäßwand. Zudem hat das Endothel weitere diverse Aufgaben, wie die lokale Gefäßtonusregulation durch Freisetzung verschiedener, vasoaktiver Botenstoffe aufgrund physikalischer und chemischer Reize [Frey et. al. 2002 a], [Engelhardt et. al. 2005].

Das Gefäßendothel bildet zudem besondere anatomische Barrieren, beispielsweise die sogenannte Blut - Hirn - Schranke, um das Gehirn vor äußeren Einflüssen zu schützen. Sie besteht hierbei aus dicht aneinander liegenden Endothelzellen, einer Basalmembran und einer weiteren Schicht aus dicht aneinander liegenden Ausläufern von Astrogliazellen. Die durchgehend dichte Verbindung der Endothelzellen mittels tight junctions, auch Schlussleisten oder kontinuierliches Endothel genannt, die von Epithel - und Endothelzellen gebildet werden und nach dem Reißverschlussprinzip ein Kontaktband zwischen den Nachbarzellen bilden, kommt die entscheidende Funktion der Blut - Hirn - Schranke zu. Die Schlussleisten ermöglichen eine Polarisierung des Zellverbandes, d.h. durch die unterschiedliche Konzeption des apikalen und basolateralen Poles der Zelle bzw. des Zellverbandes ist der parazelluläre Transport eingeschränkt [Frey et. al. 2002 b].

1.7 Die cerebrale Autoregulation und die neurovaskuläre Kopplung

Das Gehirn macht nur 2 % des Körpergewichtes aus, weist aber einen ausgesprochen aktiven Metabolismus auf und reagiert äußerst sensibel gegenüber Sauerstoff - und Substratmangel. Schon im Ruhezustand fallen 20 % des Herzminutenvolumens und ca. 25 % des Glukoseverbrauchs auf das Gehirn an. Während der Aktivität erhöht sich der Bedarf, was durch eine

Einleitung

gesteigerte Perfusion und somit einer gesteigerten Substratzufuhr kompensiert wird.

Die Gehirnzelle gehört zu der Kategorie der hochspezialisierten Zellen und weist einen geringen Sauerstoff- und Energiespeicher auf. Perfusionsschwankungen müssen somit rasch ausgeglichen werden, um Schaden an der Zelle zu vermeiden. Große Bedeutung kommt somit der adäquaten Regulation der Blutversorgung zu, wobei das cerebrale Gefäßsystem und speziell die cerebrale Mikrozirkulation eingeschlossen sind. Parameter wie die Ruhedurchblutung, die cerebrale Autoregulation und die neurovaskuläre Kopplung können hinzu gezogen werden, um die Integrität der Mikrozirkulation überprüfen zu können, was als Grundlage für die vorliegende Arbeit dient.

Um eine adäquate Perfusion und somit Substratversorgung gewährleisten zu können, besitzt das Gehirn den Mechanismus der „cerebralen Autoregulation“. Das Gehirn ist hiermit in der Lage seine eigene Durchblutung mit hoher räumlicher und zeitlicher Präzision weitgehend unabhängig vom systemischen Blutdruck zu steuern [Lassen 1959], [Vinke, Bryn, Klawans 1988]. Dieser Schutzmechanismus basiert auf der Grundlage der Umverteilung des Blutes, wobei ein konstanter cerebraler Blutfluss aufrecht gehalten werden kann bei sich ändernden Perfusionsdrücken.

Ein weiterer Mechanismus zur adäquaten Blutzufuhrsicherung stellt die sogenannte „neurovaskuläre Kopplung“ dar. Sie wurde bereits 1890 von Roy und Sherrington [Roy and Sherrington 1890] beobachtet und beschreibt die Kopplung zwischen der neuronalen Aktivität und der Durchblutung eines Gehirnnareales. Dieser Mechanismus basiert auf Deckung des Neuronen - Nährstoffbedarfes. Bei einer Neuronenaktivierung steigt der Glukose - und Sauerstoffverbrauch was durch gleichzeitige Steigerung der Durchflussrate des Blutes und somit Steigerung der Nährstoffzufuhr durch Dilatation der dortigen Arterien und Arteriolen kompensiert wird.

Einleitung

Eine Neuronenaktivität wird als gesteigerte Anzahl bzw. Höhe an Aktionspotentialen pro Zeiteinheit gegenüber der Ruheaktivität bzw. dem Ruhepotential definiert. Diese Aktivität führt zu einer Ausschüttung von Neurotransmittern aus den Neuronenendigungen in den synaptischen Spalt, wodurch ein Signal bewirkt wird. Nachdem dieses neuronale Signal induziert wurde, werden die Neurotransmitter mit Hilfe von Helferzellen, den Astrozyten wieder aus dem synaptischen Spalt entfernt, indem sie aufgenommen, umgewandelt und wieder an die Neuronen abgegeben werden. Diese Ausschüttung, Aufnahme und Umwandlung der Neurotransmitter verbraucht Energie, die in Form ATP (Adenosintriphosphat) durch oxydativen Metabolismus von Glukose (Nährstoff) in den Nervenzellen und deren Helferzellen erzeugt wird. Auch die elektrische Weiterleitung von Strömen in Dendriten und Axonen verbraucht Energie, wenn die Membrangradienten der Ionen wiederhergestellt werden.

1.8 Das SEP: Somatosensorisch evozierte Potentiale

Die Neuronenaktivität kann experimentell durch eine funktionelle Stimulationen induziert werden. Dabei werden Reizantworten peripherer sensibler Nerven in Form von evozierten Potentialen (EP) hervorgerufen, die gemessen und aufgezeichnet werden können. Diese evozierten Potentiale sind elektrische Signale, die Folge einer Depolarisation (Beginn des Aktionspotential) einer sensiblen, neuronalen Struktur sind und die Funktionsfähigkeit der Nervenbahnen darstellt. Die Modalität des Reizes benennt das daraus folgende evozierte Potential. Beispielsweise gibt es sogenannte VEP's, die visuell ausgelöst werden und die Beurteilung der Funktion des Sehnerves und der Sehbahnen ermöglichen. SEP's werden somatosensorisch ausgelöst, d.h. eine elektrische Stimulation eines peripheren Nerves induziert eine cortikale Antwort. Dabei wird ein somatosensorischer Reiz über dem Cortex abgeleitet und resultiert in einer elektrischen, messbaren Antwort [Berlit et. al. 1999].

Einleitung

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit somatosensorisch evozierten Potentialen (SEP), die mit Hilfe der Elektro - Encephalo - Graphie (EEG) gemessen wurden.

Die Neuronenaktivität bzw. der Prozess der Entstehung und Fortleitung der Signale spielt sich im Millisekundenbereich ab. Um diese neuronalen Signale bzw. diese neuronale Aktivität darstellen zu können, bedarf es einer Messmethode, die über eine sehr hohe zeitliche Auflösung verfügt. Ein neuronales Signal wird durch einen beispielsweise peripheren Reiz ausgelöst, der ein Aktionspotential mit einer Reizfortleitung, Verschaltung und eine zentrale Auswertung zur Folge hat. Im Rahmen der Reizauslösung wird eine zentrale Antwort mit einer sehr niedrigen Amplitude ausgelöst. Diese muss technisch aufbereitet werden, um ausgewertet werden zu können. Mit Hilfe von einem Verstärker, Filter und einer computergestützten Mittelung (Averaging) ist diese Aufbereitung möglich. Das Averaging ermöglicht die Bündelung der sensorischen Reizantwort der Hirnrindenaktivität aus 50 - 100 Einzelreizen und illustriert den Verarbeitungsprozess auf neuronaler Ebene durch ein Signal, das proportional an die Aktivität der Nervenzelle gekoppelt ist.

1.9 Die LDF: Laser - Doppler - Flussmetrie

Um zeitgleich die neurovaskuläre Kopplung und damit die gleichzeitige Intaktheit der adäquaten Blutzufuhr messen zu können wurde bei der vorliegenden Arbeit eine etablierte Technik zur Erkennung der lokalen Durchblutung genutzt: die Laser - Doppler - Flussmetrie (LDF). Die Laser - Doppler - Flussmessung (LDF - Messung) besitzt den Vorteil der hohen räumlichen (1 mm^3) und zeitlichen (10 ms) Auflösung [Dirnagl et. al. 1993], [Dirnagl et. al 1994], [Ances et. al 1998], [Matsuura and Kanno 2001].

Der Ausschnitt, den der LDF misst, ist der sogenannte regionale Blutfluss (rCBF, regional Cerebral Blood Flow) der kortikalen Gefäße. Dieser lässt sich mit Hilfe der Laser Doppler Fluxmetrie (LDF - Messung) durchgehend und mit

Einleitung

einer hohen zeitlichen Auflösung darstellen. Diese Messtechnik wurde erstmals 1975 publiziert [Stern 1975].

Das Prinzip dieser Methode ist die Ermittlung der relativen Änderung der lokalen cerebralen Perfusion mittels der Veränderung der Flussgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen in einem zylindrischen Gewebavolumen von etwa 1 mm^3 [Dirnagl et. al. 1989], [Detre et. al. 1998]. Damit beruht die Technik auf dem Doppler - Effekt. Laserlicht ist ein streng monochromatisches Licht einer bestimmten Frequenz oder Wellenlänge, das, wenn es auf eine unbewegte Struktur trifft eine Richtungsänderung aber keine Frequenzänderung erfährt. Wenn das Licht auf sich bewegende Strukturen, wie Erythrozyten, trifft wird es nicht nur reflektiert sondern auch in seiner Frequenz abhängig von der Erythrozytengeschwindigkeit verschoben [Stern 1975].

Dieses in seiner Frequenz verschobene Licht wird von einem Photodetektor aufgenommen, aufbereitet und in einem Signal visualisiert. Dieses Signal zeigt einen typischen Anstieg - Plateau - Zeitverlauf des cerebralen Blutflusses und wurde erstmals 1979 an Chloralose anästhesierten Katzen mit einer Microclearance - Technik gezeigt [Leniger-Follert und Hossmann 1979].

Es zeigte sich eine Abhängigkeit der Frequenz, Stärke und Dauer der Stromimpulse auf die cerebrale Blutflussantwort, die in neueren Studien an Ratten mit Hilfe der LDF - Technik bestätigt wurden [Ngai et. al. 1995], [Ances et. al. 1998], [Rosengarten et. al. 2003]. Das induzierte Signal kann detailliert in Phasen eingeteilt und charakterisiert werden. Zudem ist dieser Vorgang sehr gut reproduzierbar [Ances et. al. 2000], [Matsuura and Kanno 2001], [Rosengarten et. al. 2003].

Mit Hilfe der LDF - Technik lässt sich neben der neurovaskulären Kopplung auch die cerebrale Autoregulation erfassen, die durch temporäre Okklusion der hirnversorgenden Arterien stimuliert werden kann. Durch die temporäre Okklusion der Arteria carotis communis kommt es zu einer Veränderung der cerebralen Perfusion was zu einer Aktivierung der cerebralen Autoregulation führt, um die Blutdruckschwankungen auszugleichen [Ances et. al. 2000].

1.10 Die tierexperimentellen Sepsismodelle

Tierexperimentelle Versuche sind trotz Erfolgen molekularer oder zellulärer Modelle nach wie vor ein fester Bestandteil auf dem Forschungssektor. Sie werden für die Aufklärung verschiedener Pathomechanismen in der Grundlagenforschung am Gesamtorganismus mit der Möglichkeit der Entwicklung von Therapieformen genutzt. Zudem werden sie bei der Simulation von klinischen Studien und molekular - bzw. zellbiologische Untersuchungen unter dem Aspekt der Reproduzierbarkeit verwendet.

Bei der Entwicklung eines tierexperimentellen Sepsismodells werden hohe Anforderungen gestellt, da das Krankheitsbild der Sepsis sich als sehr uneinheitlich und komplex darstellt. Zudem müssen speziesabhängige, anatomische und metabolische Unterschiede und Reaktionen auf exogene Noxen in der Übertragbarkeit auf andere Spezies - insbesondere auf den Menschen - berücksichtigt werden.

Es gibt verschiedene Modelle zur Simulation der Sepsis im Tierexperiment. Ziel ist es pathophysiologische Veränderungen, die dem Bild der Sepsis ähneln zu erzeugen. Dazu gehören Modelle, bei denen vollständige, noch lebende Infektionserreger von außen in den Organismus eingebracht oder innerhalb des Organismus frei gesetzt werden. Zudem besteht noch die Möglichkeit Bestandteile von Infektionserregern wie das Endotoxin (LPS / Lipopolysaccharid) auf verschiedene Applikationswege in den Wirtsorganismus einzubringen. In allen Verfahren lassen sich akute und sepsisähnliche Zustände hervorrufen, die sich je nach Dosis und Zeitraum der Applikation entwickeln.

Bereits im Jahre 1964 wurde eine Sepsisinduktion über eine Weichteilinfektion als Sepsisherd beschrieben. Die Sepsisinduktion wurde hierbei über einen definierten Oberschenkelabszess [Albrecht and Clowes 1964] oder einen Hautabszess mit *Pseudomonas aeruginosa* [Walker et. al 1964] induziert.

Einleitung

Mit Hilfe der Implantation von lebenden Erregern oder Fäzes in die Bauchhöhle konnte ebenfalls das klinische Bild einer Peritonitis, die eine häufige Sepsis - Ursache darstellt, simuliert werden [Browne and Leslie 1976], [Ahrenholz and Simmons 1980]. Hieraus hat sich das sogenannte CLP - Modell (Caecal Ligation and Puncture) entwickelt und etabliert, das für die Entwicklung des Symptomkomplexes eine gewisse Zeitspanne benötigt und somit stark dem klinischen Verlauf ähnelt. Dieses Modell wurde erstmal 1980 beschrieben und wird seitdem sehr häufig benutzt [Wichtermann et. al. 1980], um die Entwicklung einer Peritonitis - Symptomatik nach Darmperforation zu simulieren.

Die Sepsisinduktion kann auch über die intraperitoneale oder intravenöse Applikation von Endotoxin erfolgen. Der daraufhin resultierende klinische Verlauf unterscheidet sich nicht wesentlich von den oben genannten Infektionsmodellen. Jedoch beeinflussen verschiedene Parameter wie der Zeitraum der Applikation, ob das Endotoxin als Bolus oder als kontinuierliche Gabe erfolgt und ob eine adäquate Volumentherapie durchgeführt wird den Verlauf der induzierten Sepsis, da dadurch verschiedene Sepsisbilder hervorgerufen werden. Mit Hilfe der intravenösen Endotoxingabe sind kurzfristig verschiedene Sepsis - Phasen hervorrufbar. Beispielsweise ruft eine niedrige Dosis bei verschiedenen Spezies ein hyperdynamisches Sepsissyndrom hervor [Brackett et. al 1985] während höhere Dosen zu einem hypodynamisches Sepsisbild [Johnston et. al. 1989] führen. Unter Berücksichtigung dieser Aspekte und definierter Zielsetzung ist über die standardisierte intravenöse LPS - Applikation ein gut reproduzierbares Sepsissyndrom induzierbar.

1.11 Das Therapieregime

Im Verlauf der Sepsis kommt es zu einem massiven Abfall des systemischen Blutdruckes, was in einem häufig tödlich endenden septischen Schock mit Zentralisation des Kreislaufgeschehens endet. Darüber hinaus nimmt die cerebrale Autoregulation ab und die neurovaskuläre Kopplung wird

Einleitung

entkoppelt. Somit kommt es im Rahmen der Sepsis zu einer Mikro - und Makrozirkulationsstörung und damit zu Perfusionsstörungen mit folgendem Zelltod.

Klassischerweise werden bei der Therapie der Sepsis Katecholamine verabreicht, wie auch in der vorliegenden Arbeit. Das Katecholamin Norepinephrin (NE), auch Noradrenalin genannt, stellt einmal ein Hormon des Nebennierenmarkes dar und ist gleichzeitig Neurotransmitter der postganglionären Synapsen des sympathischen Nervensystems. Über Adrenozeptoren wird eine Konstriktion der Gefäße herbeigeführt, speziell von Arteriolen, was eine Erhöhung des Gefäßwiderstandes und somit eine Blutdruckerhöhung zur Folge hat. Das Hormon wird im peripheren System von sympathischen Nervenfasern nach Aktivierung ausgeschüttet. Durch enzymatische Spaltung wird das Hormon inaktiviert oder es wird durch Wiederaufnahme (bis zu 95 %) aus dem synaptischen Spalt in die präganglionäre Synapse entfernt.

Neuere tierexperimentelle Studien legen einen Effekt von spezifischen iNOS - Inhibitoren dar, wobei einer in der vorliegenden Arbeit in Form von 1400 W als zweite Therapievariante gewählt wurde. 1400 W, N - (3 (Aminomethyl) - benzylacetamin) - dihydrochlorid, ist ein potenter und selektiver Inhibitor der induzierbaren Stickstoffmonoxid - Synthase (iNOS). Durch Hemmung der exzessiven Produktion von NO kann die Progredienz des Mikrozirkulationsversagen unterdrückt bzw. gehemmt werden.

1.12 Das Ziel dieser Arbeit

Im Verlauf der Sepsis kommt es zu einer massiven Störung der Mikro - sowie der Makrozirkulation, wobei Perfusionsbeeinträchtigungen entstehen und damit verbundene metabolische Störungen, die letztlich ohne externe Intervention in einem septischen Multiorganversagen enden können. Die dabei sich entwickelnde septische Enzephalopathie stellt einen zentralen, aber noch unvollständig erforschten Themenkomplex dar.

Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich erstmals mit der Therapie des Mikrozirkulationsversagens im Gehirn. Es werden hierbei ein klassisches Therapieregime mit Noradrenalin und ein neues Regime mit einer spezifischen Inhibition der exzessiv synthetisierten iNOS verglichen. Als Parameter werden neben systemischen Kreislaufparametern die neurovaskuläre Kopplung und die cerebrale Autoregulation erfaßt.

Ziel dieser Arbeit ist es die zeitlichen Abläufe gestörter neuronaler Funktionen, die die SEP - Änderungen beinhalten, und neurovaskulären Funktionen, wie die neurovaskuläre Kopplung und die cerebrale Autoregulation, zu erfassen und zu Parametern des systemischen inflammatorischen Kreislaufversagens in Relation zu setzen. Durch den Vergleich moderner und klassischer Therapieregime könnte ein weiterführendes Verständnis für die sich entwickelnden pathologischen Kaskaden erlangt werden, was ein Gewinn für das eventuell möglicherweise effektive Therapieregime für die Klinik bedeuten könnte.

2 Material und Methoden

2.1 Das Tiermodell und die Narkoseführung

Um die cerebrale Autoregulation und die neurovaskuläre Kopplung unter realen Bedingungen erfassen zu können wurde ein Tiermodell genutzt. Hierbei konnten cerebrale Vorgänge auf neuronaler und vaskulärer Ebene während physiologischer und pathophysiologischer Gegebenheiten kontinuierlich und zeitgleich aufgezeichnet und untersucht werden. Zudem wurden biophysikalische Parameter wie der systemische arterielle Blutdruck und die Blutflussgeschwindigkeit des cerebralen Cortex erfasst.

Um die cerebrale Autoregulation und die neurovaskuläre Kopplung untersuchen und erfassen zu können, ist die Narkosewahl von entscheidender Bedeutung, da die Narkose die Hirnfunktion negativ beeinflussen und die Messungen damit beeinträchtigen kann. Eine seit Jahren in der Neurowissenschaften etablierte Narkosedurchführung ist die Narkose mit α -Chloralose [Dirnagl et. al. 1993], die auch in diesen Versuchen durchgeführt wurde.

2.2 Die Versuchstiere

Für das Tiermodell wurden Ratten gewählt. Es wurden hierfür ausschließlich männliche Ratten (CD - Ratten) der Firma Charles River (Sulzfeld, Deutschland) mit einem Gewicht von 300 bis 350 Gramm verwendet. Die bestellten Tieren wurden von der Firma mit einem Kurier verschickt und wurden bei Anlieferung in den universitätseigenen Tierstall verbracht, wo sie von examinierten Tierpflegern der Justus - Liebig - Universität fachgerecht versorgt wurden. Die Versuche wurden gemäß eines vom Regierungspräsidium bestätigten Tierversuchsantrages (Aktenzeichen II 25.3-19 c 20 / 15 (1) 51 / 98) durchgeführt.

Material und Methoden

2.3 Der Versuchsaufbau und die Versuchsdurchführung

2.3.1 Die Übersicht des Versuchsplatzes

Der Aufbau des Versuchsplatzes und die für den Versuch verwendeten Geräte sind in der Abbildung 6 dargestellt. Die verwendeten Geräte sind hierbei mit Nummern gekennzeichnet und benannt.

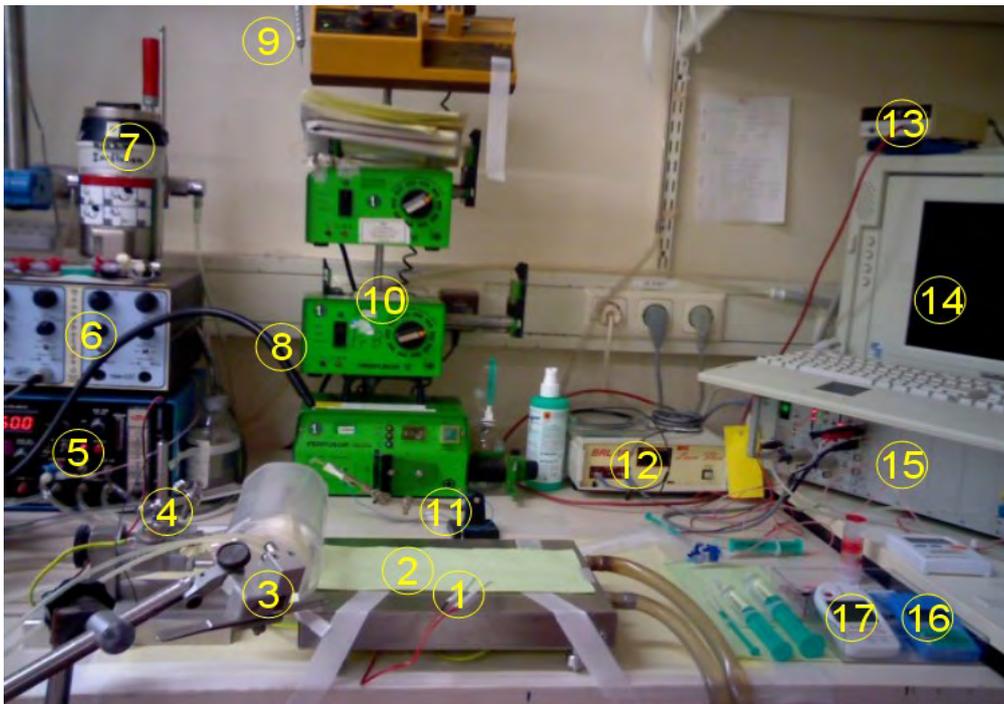


Abbildung 6: Versuchsplatz mit aufgelisteten Geräten:

1 Stimulationsnadeln, 2 Wasserbad, 3 Clip - Halterung, 4 Stereotaktische (drehbare) Halterung, 5 Beatmungspumpe, 6 Verstärker 1, 7 Isofluranpumpe, 8 Lichtquelle, 9 Dremel®, 10 Perfusor, 11 EEG - Halter, 12 LDF, 13 Thermometer, 14 PC mit Neurodyn Software, 15 Verstärker 2, 16 Laktat - Meßgerät, 17 Glukose - Meßgerät

2.3.2 Die Inhalationsnarkose zur Einleitung der Narkose

Die durchgeführten Versuche fanden unter dem Aspekt des Tierschutzes in Vollnarkose statt. Dieser Vollnarkose war eine Sedierung mit Isofluran vorangestellt, die mit Hilfe einer Glasglocke durchgeführt wurde. Hierbei wurde

Material und Methoden

in der Glasglocke eine gesättigte Isofluran - Atmosphäre erzeugt, indem ein isoflurangetränkter Wattebausch mindestens fünf Minuten vor Versuchsbeginn in die Glasglocke verbracht wurde. Über diesen Zeitraum hinweg konnte sich das Gas gleichmäßig in dem Gefäß verteilen. Danach wurde das Tier in diese Glasglocke verbracht. Nachdem das Narkosestadium III (Toleranzstadium) erreicht wurde, wurde die so anästhesierte Ratte aus der Gasglocke entnommen und in Rückenlage auf eine mit Warmwasser temperierte Wärmeplatte gelegt. Die Wärmeplatte verhinderte ein vorzeitiges Auskühlen des Tieres und die damit verbundene unerwünschte Reduzierung der Körperfunktionen. Mit Hilfe eines Thermometers, das rektal eingeführt wurde, konnte man die Körperkerntemperatur überwachen und die Wärmeplatte so regulieren, dass die Körpertemperatur bei + 37 °C bis + 38 °C eingehalten wurde. Der Kopf der Ratte wurde in eine Beatmungsmaske verbracht, die an ein Isofluran - Narkosegerät und eine Beatmungspumpe angeschlossen war. Somit wurde die Inhalationsnarkose von einer druckgesteuerten Beatmungsnarkose mit Atemmaske fortgeführt, die eine Atemfrequenz von 60 Atemzügen pro Minute, einer Inspirationszeit von 0,75 Sekunden und einem Atemdruckvolumen von 700 ccm pro Minute bei einem PEEP (positive end - expiratory pressure, positiv end - expiratorischer Druck) von 4 cm Wassersäule aufwies. Diese Inhalationsanästhesie fand mit 2 - 4 %igem Isofluran statt, das mit einem Trägergasgemisch aus 50 % Stickstoff und 50 % Sauerstoff appliziert wurde. Nach Erreichen des Toleranzstadiums III wurden die chirurgischen Eingriffe begonnen, was mit Hilfe des Zwischenzehenreflexes überprüft wurde. Je nach Bedarf wurde die Inhalationsnarkose individuell vor und während der chirurgischen Eingriffe angepasst.

2.3.3 Die Arteria und Vena femoralis Kannülierung

Die Hinterbeine des auf dem Rücken liegenden Tieres wurden in Abduktionsstellung mit Klebeband fixiert. Dann wurde die Stelle der chirurgischen Intervention mit Desinfektionsspray besprüht. Der erste Hautschnitt wurde danach ca. 1,5 cm mal 1 cm, medial des rechten

Material und Methoden

Innenschenkels gesetzt. Hierbei wurde die Innenschenkelmuskulatur und ein Teil der Bauchmuskulatur sichtbar, die häufig von einer individuell unterschiedlich dicken Bauchfettschicht überzogen war. Zuerst wurde stumpf in die Tiefe präpariert und mit Hilfe von Wundspreizern wurde das frei zu präparierende Gebiet dargestellt. Hierbei kamen die Arteria femoralis (A. Femoralis) und Vena femoralis (V. Femoralis) sowie der Nervus femoralis (N. Femoralis) unter einer bindegewebigen Schicht zum Vorschein.

Mit Hilfe einer anatomischen Irispinzette wurden die Gefäße von der bindegewebigen Schicht frei präpariert. Danach wurden offene Ligaturen für die spätere Kannülierung gesetzt. Die erste offene Ligatur wurde um die distalen Anteile der A. Femoralis und V. Femoralis gelegt. Anschließend wurden offene Ligaturen vorbereitend gelegt, die proximal der ersten Ligatur (kurz nach den Abgängen der A. und V. Femoralis) lagen.

Als erstes wurde die Arteria femoralis kannüliert. Hierzu wurde mit einem Aesculap - Clip kurz oberhalb der vorbereiteten Ligaturen die Blutzufuhr reversibel mit einem Gefäßclip unterbrochen. Mit Hilfe einer Nachstarschere nach Vannas wurde der Einschnitt getätigt, wo der Katheder eingebracht wurde. Die Arteria femoralis wurde nun kannüliert wobei der Katheder bis zum Clip vorgeschoben wurde. Nachdem der Clip entfernt wurde und der Katheder bis zu seiner endgültigen Lage vorgeschoben wurde, wurde der Katheder mit der vorbereiteten proximalen Ligatur fixiert. Nun konnte der arterielle Druck gemessen werden. Um eine Thrombosierung des Katheders zu vermeiden, war er über Nacht mit Heparin befüllt worden. Vor Einführung wurde der Katheder mit physiologischer Kochsalzlösung gespült, um das überschüssige, nicht an der Wand des Katheders haftende Heparin zu entfernen.

Anschließend wurde die Vena femoralis nach dem gleichen Prinzip kannüliert, wobei der Katheder bis in die V. cava inferior vorgeschoben wurde.

Mit Hilfe einer abschließenden Massenligatur, die cranial der separaten Kathederfixierung lag, wurden die in die Gefäße eingebrachten Katheder abschließend fixiert. Mit Hilfe eines Klebebandes in Höhe der Achillessehne

Material und Methoden

und distal der Massenligatur wurden die beiden Katheder ein weiteres Mal fixiert.

2.3.4 Die Tracheotomie und die Intubation

Nach der Arteria und Vena femoralis - Kannülierung wurde das Versuchstier für die Intubation durch Desinfektion des Halsbereiches für den zweiten Hautschnitt vorbereitet. Der Hautschnitt fand medio - cranial des Sternums statt, mit einer Längsausdehnung von ca. 2 cm mal 1 cm. Mit dem gesetzten Hautschnitt wurde die Halsmuskulatur und die darüber liegenden Speicheldrüsen freigelegt. Die Halsmuskeln wurden in ihrer Medianen stumpf auseinander präpariert und mit Hilfe von Wundspreizern auseinandergehalten. Mit Hilfe der anatomischen Irispinzetten wurde schichtweise, unter Schonung der anliegenden Gefäße, in die Tiefe präpariert bis die Trachea frei lag. Mit einer offenen Ligatur wurde die Trachea unterlegt, um den Tubus abschließend fixieren zu können. Bevor der Einschnitt der Trachea zum Einführen des Endotrachealtubus durchgeführt wurde, wurde der Isolfuranverdampfer auf 1 % gestellt, damit eine spätere Überdosis an Narkotika nicht entsteht. Das weitere Vorgehen musste zügig statt finden, da sonst die Gefahr der Luftzufuhrunterbrechung mit nachfolgenden Hirnschäden oder eine zu schnelle Abatmung des Inhalationsnarkotikum mit einem Aufwachen bestand. Der Einschnitt zur Tubuseinführung fand zwischen der vierten oder fünften Trachealspange statt. Nachdem der Tubus in die Trachea eingeführt wurde, wurde abschließend der Tubus zusammen mit der Trachea durch die Ligatur in Position gehalten. Die Beatmungsmaske wurde vom Kopf des Tieres abgenommen und vom Beatmungsschlauch entfernt. Der Beatmungsschlauch wurde abschließend an den Tubus angeschlossen, um die Beatmung zu sichern. Der Wechsel der Beatmung erfolgte zügig ohne Aufwachen der Tiere.

2.3.5 Die Injektionsnarkose und die Muskelrelaxation

Nach der Intubation wurde die Inhalationsnarkose durch eine Chloralose / Borax - Injektionsnarkose ersetzt. Die Chloralose / Borax - Injektionsnarkose

Material und Methoden

wurde intravenös durch den gelegten V. Femoralis - Katheder wie folgend beschrieben appliziert. Zuerst wurde eine Stammlösung aus α - Chloralose und Borax hergestellt, indem 350 mg Borax (Sigma - Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) und 250 mg Chloralose (Sigma - Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) in 10 ml 0,9 %iger NaCl (Natrium - Chlorid) bei 40 °C mit Hilfe eines Magnetrührers in Lösung gebracht wurden bis die Lösung ungetrübt und frei von Borax - Kristallen war. Anschließend wurde dieses Gemisch in eine 10 ml Spritze aufgezogen und mit Hilfe eines Filteraufsatzes (Millex®GP Filter) filtriert und intravenös in der folgenden Dosierung verabreicht: Als Initialdosis wurden 60 mg / kg Körpergewicht und im weiteren Verlauf des Versuches eine Erhaltungsdosis von 30 mg / kg Körpergewicht stündlich appliziert.

Um die maschinelle Beatmung zu erleichtern wurde die Spontanatmung unterdrückt indem zusätzlich ein Bolus von 0,3 ml Pancuronium (Inresa Arzneimittel GmbH, 79114 Freiburg) intravenös als Initialdosis verabreicht wurde. Als Erhaltungsdosis wurden 1,2 ml pro Stunde (Verdünnung mit 0,9 %iger NaCl 1 : 10) per Perfusor über den venösen Zugang gegeben was gleichzeitig zur Volumentherapie genutzt wurde.

2.3.6 Die Präparation der Arteria carotis communis

Nun wurde die linke Arteria carotis communis frei gelegt indem die begleitenden Nervenfasern des Nervus vagus durch stumpfe Präparation mit Hilfe einer Irispinzette gelöst wurden, damit bei späterer Schließung des angesetzten Clips dieser Nerv nicht irritiert oder traumatisiert wurde und damit gegebenenfalls provozierte unerwünschte Reaktionen hervorgerufen würden.

2.3.7 Die Schädelpräparation

Nachdem die Kannülierung und die Präparation der Arteria carotis communis statt gefunden hat, wurde das Tier auf den Bauch verbracht und mit Hilfe des drehbaren, stereotaktischen Kopfrahmens fixiert, um die Schädelpräparation durchführen zu können. Hierbei wurden die Schneidezähne

Material und Methoden

in die dafür vorgesehenen Ösen eingehakt und der Kopf mit Hilfe von Bolzen, die in den Gehörgang eingebracht wurden, eingespannt. Beim Einbringen der Bolzen in den Gehörgang wurde darauf geachtet, dass das Trommelfell nicht perforiert wurde, um keine Schmerzreaktion und somit eine Versuchsstörung auszulösen. In Höhe der linken Kalotte wurde ein ca. 1cm langer Hautschnitt gesetzt und mit Hilfe der Metzenbaum-Präparierschere wurde die Haut des Nasenrückens als Verlängerung des ersten Hautschnittes bis hin zur Nasenspitze untertunnelt. In diesen Hauttunnel wurde eine NaCl - Elektrode subcutan des Nasenrückens verbracht, die als neutrale Referenz zur Cortexelektrode diente. Über Spannungsdifferenzen konnte das EEG gemessen und die daraus resultierenden somatosensorischen Potentiale errechnet werden.

Die weitere Präparation beinhaltete den Hautschnitt in Höhe der Kalotte und brachte Bindegewebe der Haut und das Periost zum Vorschein. Mit Hilfe der Nachstar-Schere und einer anatomischen Irispinzette wurde das Bindegewebe, welches verbunden mit dem Periost war, entfernt. Die Benutzung eines Elektrokauters stillte etwaige Blutungen, die beim Fenstern des Schädeldaches auftraten. Unter mikroskopischer Sichtkontrolle wurde eine ca. 0,5 cm im Durchmesser betragende Stelle unter Zuhilfenahme eines wassergekühlten Bohrers ausgedünnt. Der Knochen wurde bis zur Compacta interna abgetragen, so dass die Gefäße durchschimmerten, jedoch die Dura mater und zugleich das darunter befindliche Gehirn nicht beschädigt wurden. Auf dieser ausgedünnten Schädeldecke wurde im Rahmen des Versuchsverlaufes der LDF zur Messung aufgesetzt (siehe unten).

2.3.8 Die abschließende Präparation

Nachdem die Schädelpräparation abgeschlossen war, wurde das Versuchstier mit Hilfe des stereotaktischen, drehbaren Kopfrahmens in die rechte Seitenlage verbracht und fixiert. In Abbildung 7 ist diese drehbare stereotaktische Halterung von oben ohne Tier, mit den Bolzen zur Fixierung des

Material und Methoden

Kopfes in einer ca. 45 ° Drehung dargestellt. Während des Versuches beträgt seine Stellung ca. 90 °.



Abbildung 7: Stereotaktische Halterung mit Bolzen für die Ohren zur Kopffixierung in einer ca. 45 ° Drehung im Bereich von oben ohne Tier

Die gesamte Präparation dauerte circa eine Stunde.

2.3.9 Die Erfassung der cerebralen Autoregulation

Um die Messung der cerebralen Autoregulation durchführen zu können, wurde die zuvor frei präparierte Arteria carotis communis mit Hilfe eines Wundspreizer nach Logan Modell Reill von den Halsmuskeln und den darüber liegenden Geweben befreit. Um eine bessere Ansatzfläche für den Clip zur Untersuchung der cerebralen Autoregulation zu schaffen wurde ein kleines gerolltes Wattestückchen unter die Arterie verbracht, die das Gefäß vom Untergrund empor hob und so das Ansetzen des Clips erleichtert.

Die Methode der reversiblen Carotiskompression ermöglicht die Untersuchung und Auswertung der cerebralen Autoregulation [Smielewsky et. al. 1996],[Rosengarten et. al 2006], die schematisch in Abbildung 8 dargestellt ist.

Material und Methoden

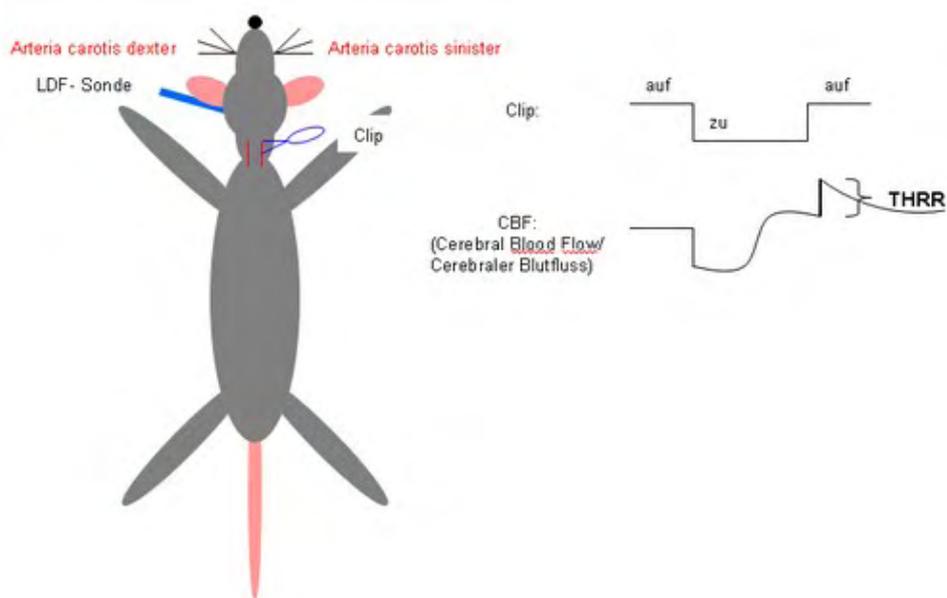


Abbildung 8: Schematische Zeichnung der experimentellen Überprüfung der cerebralen Autoregulation

Abbildung 8 zeigt zudem den Sitz des Clips (Aesculap, Trossingen, Germany). Dieser wurde ipsilateral zur präparierten Hemisphäre angesetzt, der die Carotis in bestimmten Zeitabständen mit einem Schliessungsdruck von 0,25 N komprimierte. Dieser definierte Schliessungsdruck gewährleistete, dass keine Traumatisierung des Gewebes auftrat. In Zeitabständen von 10 Sekunden Kompression und darauf folgenden 10 Sekunden Öffnungsphase wurden 10 Durchgänge durchgeführt.

2.3.10 Die Erfassung der neurovaskulären Kopplung

Nach der erfolgten Carotis - Präparation und der Positionierung des Clips wurden subcutan gelegte Stimulationsnadeln im Bereich des rechten Metatarsus positioniert, die den Nervus medianus stimulierten und einen somatosensorischen Reiz auslösten. Diese Stimulationsnadeln führten einen Stimulationsstrom, der mit 2 Hz 0,3 ms und in einer Stromstärke von 2 mA floss, und somit unter der Schmerzschwelle lag. Dieser Versuchsabschnitt wurde zyklisch in einem 30 Sekunden Takt durchgeführt, d.h. nach

Material und Methoden

30 Sekunden Stimulation folgte eine Ruhephase von 30 Sekunden. Hiervon wurden 10 Zyklen durchgeführt. Der experimentelle Aufbau zur Messung der neurovaskulären Kopplung ist schematisch in Abbildung 9 dargestellt.

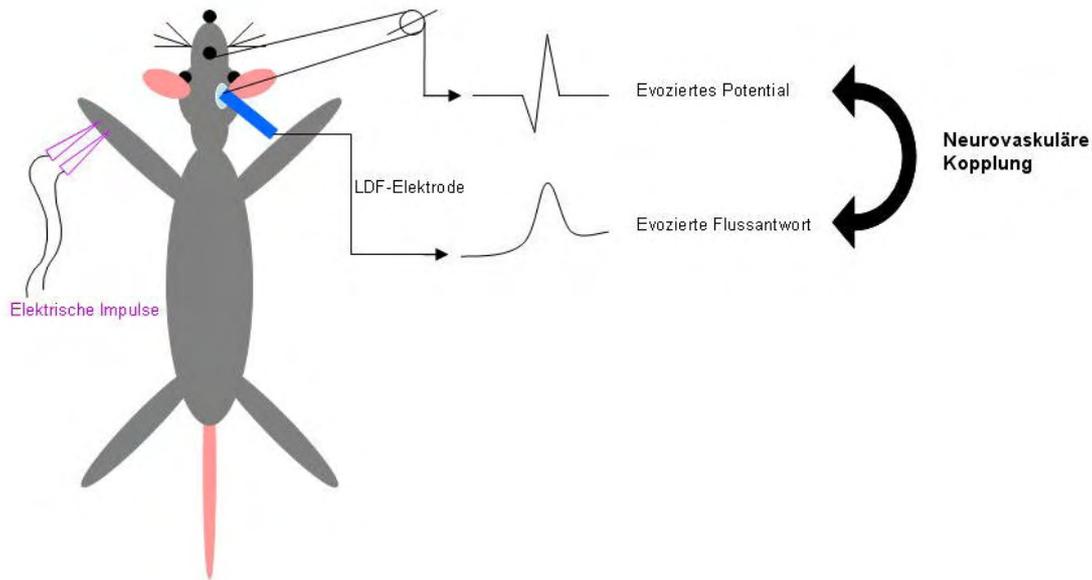


Abbildung 9: Schematische Zeichnung der experimentellen Überprüfung der neurovaskulären Kopplung

2.3.11 Die technische Versuchsdurchführung

Nachdem der Laser auf der ausgedünnten Schädeldecke positioniert wurde, wurde ein Blutfluss zwischen 300 und 350 Fluxeinheiten gemessen, was dem kapillaren mikrozirkulatorischen Stromgebiet entsprach. Der LDF wurde über dem Vorderpfotenareal des somatosensorischen Cortex positioniert das sich ca. 3,5 mm lateral und 1 mm rostral des Bregmas befand. Die Bezeichnung „Bregma“ ist eine Bezeichnung aus der Kraniometrie, der Schädelvermessung und wird als Punkt beschrieben, an dem die Kranznaht (sutura coronalis, die das Stirnbein von den Scheitelbeinen trennt) und die Pfeilnaht (sutura sagittalis, die die beiden Scheitelbeine trennt) zusammentreffen. Diese Koordinaten stimmen mit dem somatosensorischen Cortex überein, wo die erwarteten Flussantworten erfasst werden konnten. Hiernach wurde die Erdung des

Material und Methoden

stereotaktischen Kopffrahmens und die NaCl - Elektrode, die subcutan der Nase lag mit dem Auswertungscomputer verbunden. Anschließend wurde das EEG in einem Radius von 0,5 mm um den Laser herum platziert, wobei die korrekte Position des EEG's anhand des Monitors überprüft wurde, indem eine repetitiv erscheinende hervorstechende Zacke im EEG - Signal während der Stimulation sichtbar werden musste, womit die korrekte Lage des EEG's bestätigt wurde.

2.3.12 Die Auswertung

Mit Hilfe eines Auswertungscomputers und der darauf installierten NEURODYN Software war eine kontinuierliche Aufzeichnung und spätere Auswertung der Ergebnisse gewährleistet. Hierbei wurden die somatosensorisch evozierten Potentiale gemittelt und die daraus entstandenen Wellen wurden wie folgt bezeichnet: Ausschläge nach oben wurden als „negativ“ und nach unten als „positiv“ bezeichnet. Hierbei wurden die positiven Gipfel mit „P“ und die negative Gipfel mit „N“ gekennzeichnet. Bei Ableitungen über den Schädel traten zuerst ein positiver (P_1), gefolgt von einem negativen (N_1) und anschließend wieder ein positiver (P_2) Gipfel auf. Die Gipfel N_1 und P_2 zusammen werden als kortikaler Primärkomplex bezeichnet.

Abbildung 10 zeigt ein typisches Bild gemittelter SEP's während der kontralateralen elektrischen Stimulation.

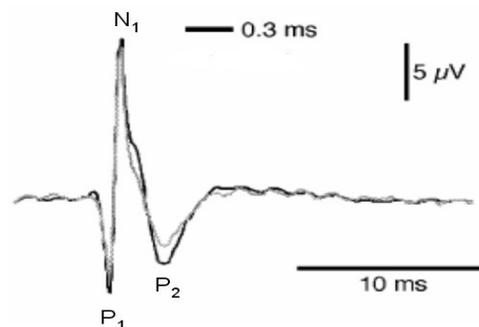


Abbildung 10: Corticales SEP nach kontralateraler elektrischer Vorderpfotenstimulation.
Mittelung von 60 Signalen während einer 30 Sekunden dauernden Stimulation

Material und Methoden

Die nächste Abbildung (Abbildung 11) zeigt das Bild der Flussantworten während der zehn Stimulationszyklen wobei einmal die Originalableitung neben der gemittelten Antwort dargestellt sind. Hierbei wurde der relative Blutflussanstieg unter Stimulation mit dem Ruhefluss verglichen. Dabei wurde die Durchblutung unter Stimulation für 30 Sekunden gemittelt.

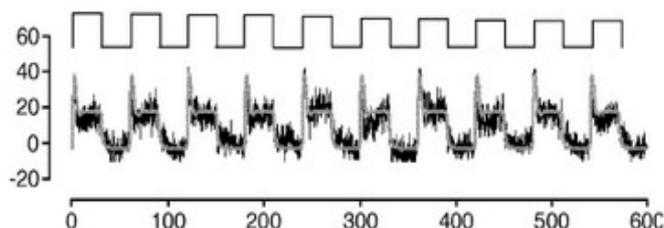


Abbildung 11: LDF - Aufzeichnung vom somatosensorischen Cortex während wiederholter Stimulation der kontralateralen Vorderpfote mit elektrischen Impulsen für 30 Sekunden gefolgt von einer Pause von 30 s. 10 Wechsel sind dargestellt. Neben der Originalableitung (schwarze, unterlegte Kurve) wird die gemittelte Antwort (graue, überlagert dargestellte Kurve) nebeneinander dargestellt.

Als Maß der dynamischen Autoregulation gilt der (Transient Hyperemic Response Ratio) THRR bei der Carotis - Okklusion. Er ist ein Maß der kompensatorischen Weitstellung der Widerstandsgefäße im Rahmen der Okklusion. Er zeigt sich in einer transienten Hyperämie nach Öffnung des Clips und Normalisierung der cerebralen Kreislaufbedingungen.

Die zeitliche Positionierung der Carotiskompression und die abhängigen cerebralen Durchblutungsänderungen aus dem der THRR berechnet wird, sind in Abbildung 12 dargestellt.

Material und Methoden

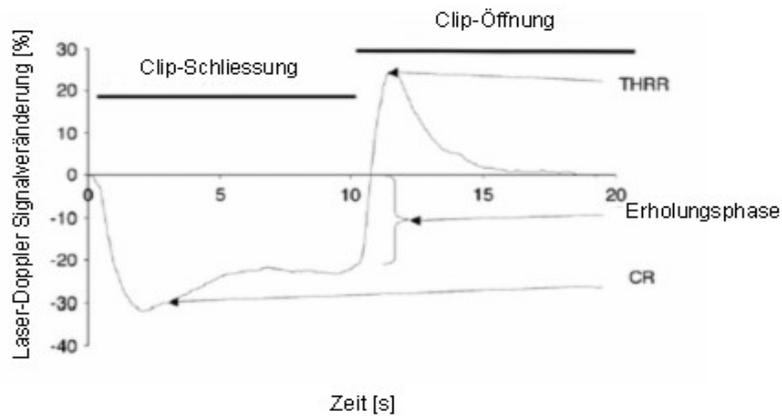


Abbildung 12: LDF - Aufzeichnung während und nach der Okklusion der Arteria carotis

Berechnungsformel um den THRR berechnen zu können:

$$\text{Transient hyperaemic response ratio} = \frac{F_{\text{MAX}}}{F_{\text{BASE}}}$$

F_{max} = Maximale Flussgeschwindigkeit, Anstieg nach Clipöffnung

F_{base} = Baseline / Ruhefluss der Flussgeschwindigkeit vor Clip - Schließung

[Smielewsky et. al. 1996], [Harrison et. al. 2002]

Um die Ergebnisse als Blutflussgeschwindigkeitsänderung in Bezug auf den Ruhefluss spezifizieren zu können, wurde folgende modifizierte Formel verwendet:

Material und Methoden

$$\text{THRR} = \left[\left(\frac{F_{\text{MAX}}}{F_{\text{BASE}}} \right) - 1 \right] \times 100$$

F_{max} = Maximale Flussgeschwindigkeit, Anstieg nach Clipöffnung

F_{base} = Baseline / Ruhefluss der Flussgeschwindigkeit vor Clip - Schließung

Des weiteren konnte man aus den absoluten Werten der LDF - Sonde noch die CR (Compression Rate / Kompressionsrate) berechnen, die die Stärke des Abfalles der Blutflussgeschwindigkeit während der Kompression angibt und ein Indiz für eine autoregulative Störung darstellt. Die CR wurde wie folgt berechnet:

$$\text{CR} = \frac{(F_{\text{BASE}}/F_{\text{MIN}}) \times 100}{F_{\text{BASE}}}$$

F_{base} = Maximaler Abfall der Blutflussgeschwindigkeit nach Clipschließung

F_{Min} = Minimale Flussgeschwindigkeit, Abfall nach Clipschließung

[Smielewsky et. al. 1996], [Harrison et. al. 2002]

2.4 Die Kontrolle der Blutparameter

Im Verlaufe des Versuches wurde eine kontinuierlich, kontrollierte Beatmung durchgeführt. Der arterielle Blutdruck, die Körperkerntemperatur, der Glukose - und Laktatwert sowie die Blutgasparameter wurden protokolliert. Die Glukose - und Laktatwerte sowie die Blutgasparameter pH, pO_2 und pCO_2 wurden über die jeweiligen Geräte mit Hilfe einer arteriellen Blutprobe ermittelt.

Die Blutentnahme erfolgte über den arteriellen Zugang mit Hilfe einer Hämatokritkapillare. Der arterielle Katheder wurde hierbei mit einer Klemm - Schere abgeklemmt und der Druckabnehmer wurde abgenommen. Die Klemme wurde behutsam geöffnet, sodass sich ein Tropfen Blut am Ende des Katheders bilden konnte. Das Glukose - und Laktatgerät bzw. deren Sticks wurden mit dem Bluttropfens am Ende des Katheders befüllt und die Hämatokritkapillare wurde anschließend angesetzt damit das Blut direkt in die

Material und Methoden

Kapillare aufgrund der kapillären Kräfte fließen konnte. Hiernach wurde der Druckabnehmer wieder angeschlossen und der Katheder gespült, damit keine Blutkoagel zurück blieben. Das abgenommene Blut in der Hämatokritkapillare wurde direkt der Blutgasanalyse - Maschine zugeführt und die Werte für die Glukose- und Laktatbestimmung konnten vom jeweiligen Gerät nach einer gewissen Wartezeit direkt abgelesen werden.

2.5 Die Materialien

In der Tabelle 2 sind die verwendeten Materialien aufgelisteten, die für die vorliegende Studie verwendet wurden.

Tabelle 2: Verwendete Materialien

Material	Hersteller	Maßeinheit	Anschrift Hersteller
Isofluran	Baxter	250ml	Baxter Deutschland GmbH, 85716 Unterschleißheim
Gasgemisch	Sauerstoff 4.5 Stickstoff 5.0	100l	Air Liquide
Druckluft	Druckluft	50l	Air Liquide
Isotone NaCl - Injektionslösung	DeltaSelect GmbH	100ml	DeltaSelect GmbH 72793 Pfullingen
Kaliumchlorid 7,45% gefärbt	BiBraun Melsungen AG	100ml	B.Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Heparin - Natrium 2500	Ratiopharm	5 x 5ml	Ratiopharm GmbH 89070 Ulm
Chloralose, α - Chloarlose	Sigma - Aldrich	100g	Sigma - Aldrich Chemie GmbH 89555 Steinheim
Borax, Natriumtetraborat 99%	Sigma - Aldrich	100g	Sigma - Aldrich Chemie GmbH 89555 Steinheim
Pancuronium Inresa, Pancuroniumbromid	Inresa	10 x 2ml	Inresa Arzneimittel GmbH 79114 Freiburg
Lipopolysaccharid E.coli, O111:B4, L2630, LOT 115K4092	Sigma - Aldrich	400mg	Sigma - Aldrich Chemie 82024 Taufkirchen
Arterenol@1ml Norepinephrinhydro - chlorid	Aventis	1ml	Aventis Pharma Deutschland GmbH 65926 Frankfurt am Main

Material und Methoden

Material	Hersteller	Maßeinheit	Anschrift Hersteller
1400 W Dihydrochloride	Axxora Deutschland (Alexis) GmbH	650mg	AXXORA DEUTSCHLAND GmbH Marie-Curie-Straße 8 DE-79539 Lörrach
Aprotinin (Trasylol)	Bayer Health care		Bayer vital GmbH, 51368 Leverkusen
NSE – EIA Kit	Hoffmann - La Roche		Hoffmann-La Roche AG Diagnostics Division. Bau 52 CH-4070 Basel
LIA Sangtec 100	Sangtec Medical		Sangtec Medical, Box 20045, SE-161 02 Bromma, Sweden
Softasept®N	BiBraun Melsungen AG	250ml	B. Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Haematokrit - Kapillaren Na - Heparin	Hirschmann Laborgeräte	10 x 100 Stk.	Hirschmann Laborgeräte GmbH&Co.Kg 74246 Eberstadt
Einmalspritze: Inject - F	BiBraun Melsungen AG	1ml, 2ml, 5ml, 10ml, 20ml	B. Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Original - Perfusor® - Spritze OPS	BiBraun Melsungen AG	50ml	B. Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Original - Perfusor® - Leitung	BiBraun Melsungen AG	150cm	B. Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Combitrans 1 - fach Set Mod.II Uni Gießen	BiBraun Melsungen AG		B. Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Polyäthylenschlauch	Portex®Fine Bore Polythene Tubing 30m,0.58mm ID,0.96mm OD		Smith Medical ASD, Inc.Keene, USA
Wasserbad	Haake 83	Haake 83 DC 30	Thermo Haake GmbH Dieselstr. 4 D - 76227 Karlsruhe
Isofluranpumpe	Dräger	ARDB - 0715	Dräger Safety AG & Co. KGaA Revalstraße 1 23560 Luebeck
Perfusor®VI	BiBraun Melsungen AG		B. Braun Melsungen AG 34209 Melsungen
Millex®GP Filter	Millex®GP	0.22µm	Millipore Corporate Headquarters 290 Concord Rd. Billerica, MA 01821 USA

Material und Methoden

Material	Hersteller	Maßeinheit	Anschrift Hersteller
Magnetrührer	IKA - Combimag RCT		IKA® Werke GmbH & Co. KG Janke & Kunkel - Str. 10 D - 79219 Staufen
Laser Flow BRL - 100	BRC Bio Research Center Co.,Ltd		BRC Bio Research Center Co.Ltd. 4F Yokota Bldg. 2 - 28 - 24 Izumi Higashi - ku Nagoya 461 - 0001 Japan
Beatmungspumpe	Dwyer USA	SAR - 830/P Ventilator	Dwyer Instruments Inc. P.O. Box 373, 102 Indiana Hwy. 212, Michigan City, IN 46361 USA
Blutzuckermessgerät	Bayer Health care	Glucometer elite XL	Bayer vital GmbH, 51368 Leverkusen
Ascensia®Elite Sensor	Bayer Health care	1 x 100Stk.	Bayer vital GmbH, 51368 Leverkusen
Laktatmessegerät	Arkray	Laktate Pro	Arkray Inc. 57 Nishi Aketa - Cho, Higashi - Kujo,Minami - Ku Kyoto Japan
Laktate Pro®Test Strip	Arkray	1 x 25 Stk.	Arkray Inc. 57 Nishi Aketa - Cho, Higashi - Kujo,Minami - Ku Kyoto Japan
Blutgasmessgerät, Rapidlab™ 348	Bayer Health care		Bayer vital GmbH, 51368 Leverkusen
Thermostat	Alfos	PT 100	Alfos AG, 4105 Biel - Benken
Elektrokauter	Aaron	Aaron 900, High Frequency Desiccator	Aaron Medical 7100 30 th Avenue N. St. Petersburg, FL 33710
Dremel®	Dremel Europe	Dremel Moto - flex 250Watt 22.000 Umdrehungen	Dremel Europe Kortijnenberg 60 Breda - NL
Kleine Graviermesser	Dremel Europ	Nr. 107 für Dremel®	Dremel Europe Kortijnenberg 60 Breda - NL
Lichtquelle 1	Olympus europe	Highlight 3100	Olympus Deutschland GmbH Wendenstr. 14 - 18 20097 Hamburg
Lichtquelle 2	Original Hanau	OP - Lampe	Original Hamau Quarzlampen GmbH
Auswertungs-computer	Pentium III, Windows 98		

Material und Methoden

Material	Hersteller	Maßeinheit	Anschrift Hersteller
Verstärker 1	WPI	Transbridge 4 M	World Precision Instruments 175 Sarasota Center Boulevard Sarasota, FL 34240 - 9258
Verstärker 2	HSE		HUGO SACHS ELEKTRONIK - HARVARD APPARATUS GmbH Gruenstrasse 1 D - 79232 March - Hugstetten
Auswertungssoftware	HSE	NEURODYN	HUGO SACHS ELEKTRONIK - HARVARD APPARATUS GmbH Gruenstrasse 1 D - 79232 March - Hugstetten

In Abbildung 13 sind die verwendeten Instrumente dargestellt.

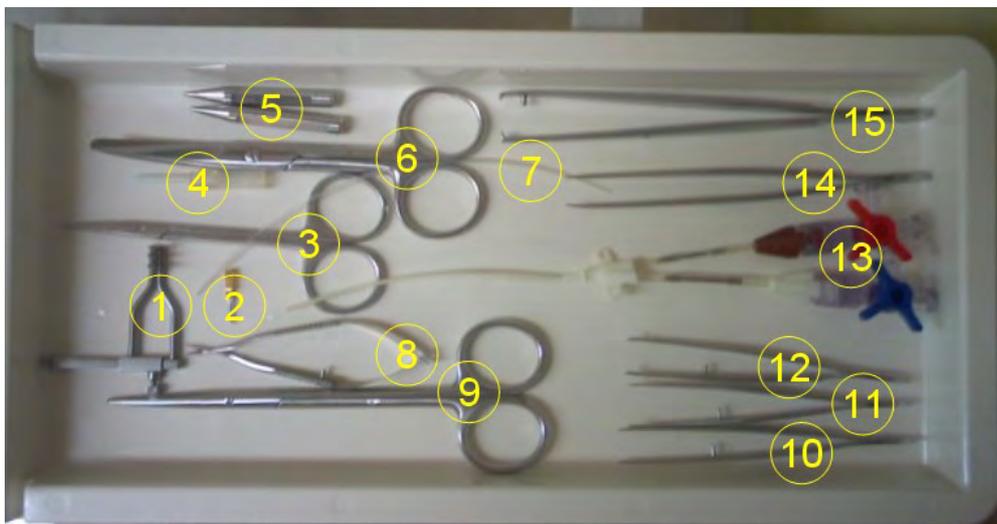


Abbildung 13: Verwendete Instrumente

1 Wundspreizer nach Logan Modell Reill, 2 Aesculap - Clip, 3 , 4 Tubus, 5 Ohrbolzen zur Fixierung in der steretaktischen (drehbar) Halterung, 6 anatomische Schere, 7 Polyäthylenschlauch für arteriellen Zugang, 8 Nachstarschere nach Vanna, 9 Metzenbaum Präparierschere, 10 gerade anatomische Irispinzette, 11 + 12 gekrümmte anatomische Irispinzette, 13 Polyäthylenschlauch für venösen Zugang, 14 anatomische spitze, gekrümmte Pinzette, 15 Pinzette zur Clip - Halterung

2.6 Die Versuchsdurchführung

Für die Versuchsdurchführung wurden Randomisierungen der Tiere zu verschiedenen Gruppen mit unterschiedlichem LPS - Regime und zur Kontrollgruppe durchgeführt.

Die Randomisierung der Tiere wurde wie folgt durchgeführt: Die CD - Ratten wurden in sieben Gruppen eingeteilt. Die Kontrolltier - Gruppe unterlag keiner Intervention und wurden mit den Sepsis - Gruppen (therapierte wie nicht therapierte) verglichen. Diese Sepsis - Gruppen erhielten 1 oder 5 mg / kg LPS (Lipopolysaccharid / Endotoxin) intravenös appliziert, wobei mittelschwere und schwere Sepsis - Symptome ausgelöst wurden. 30 Minuten später wurden sie weiter in Untergruppen aufgeteilt, wobei entweder keine weiteren Interventionen statt fanden oder zusätzlich kontinuierlich Noradrenalin oder 1400 W per Perfusor verabreicht wurde. Hierbei erhielten alle Gruppen einen begleitenden NaCl - Pancuronium Flüssigkeitsersatz (vgl. Kapitel 2.3.5), der dem physiologischen Flüssigkeitsverlust über Transpiration und Miktion entsprach.

Zudem war bei der 1400 W Gruppe eine externe Glukosezufuhr notwendig, um einen adäquaten Blutglukosespiegel über 60 mg / dl aufrecht erhalten zu können. Unter septischen Bedingungen wirkt 1400 W glukosereduzierend, was die Funktion der Neuronen negativ beeinflussen kann. Hierzu wurden 10 %ige Glukose intraperitoneal appliziert.

Die gebrauchsfertige LPS - Lösung wurde mit Hilfe einer 0,9 %igen Kochsalzlösung hergestellt. Hierbei wurden 100 mg LPS in 10 ml Kochsalzlösung gelöst und zu je 100 µl (1 mg LPS) aliquotiert. Die Aliquots wurden bei - 80 °C aufbewahrt und bei Bedarf einzeln aufgetaut. Bei den LPS - Gruppen gab es zwei verschiedenen Dosierungen. Die eine Gruppe bekam 1 mg LPS / kg Körpergewicht, die andere Gruppe 5 mg LPS / kg Körpergewicht verabreicht. Das LPS wurde über 1 - 3 Minuten langsam intravenös appliziert, um anaphylaktische Symptome zu vermeiden.

Material und Methoden

Die Therapien wurden in den zwei LPS Dosierungen durchgeführt. Diese zwei LPS - Dosierungen wurden in den beiden Therapiegruppen getestet.

Die eine Gruppe wurde mit dem Katecholamin Norepinephrin behandelt, was in einer Verdünnung von 1 : 1000 appliziert wurde. Um diese Verdünnungsstufe zu erreichen wurden 4 ml Arterenol bzw. Norepinephrinhydrochlorid in 36 ml 0,9 %iger NaCl gelöst. Der Beginn der Behandlung fand nach einer Stunde Inkubationszeit des LPS statt. Das Katecholamin wurde in einer Dosierung von 0.01 bis 10 µg pro kg Körpergewicht verabreicht. Von dieser Lösung wurden circa 1 ml pro Stunde mit Hilfe des Perfusors bis zum Versuchsende appliziert. Die Dosierung des Norepinephrin wurde an den arteriellen Blutdruck adaptiert bis dieser 90 - 100 mmHg erreichte. Dies entsprach der bekannten blutdruckstabilisierenden Wirkung von Norepinephrin.

Die andere Gruppe wurde mit 1400 W behandelt. Das 1400 W wurde in 0,9% NaCl gelöst und für jeden Versuch neu angesetzt. Da das 1400 W als Pulverware geliefert wurde, konnte die Dosis individuell abgewogen und hergestellt werden. Als Initialdosis wurden über 2 Minuten 2,6 mg verabreicht. Danach wurde eine Erhaltungsdosis von 2,6 mg / ml / Std, was einer Dosierung von 7,5 mg pro kg Körpergewicht entsprach, kontinuierlich appliziert. Der Therapiebeginn erfolgte ebenfalls nach einer Stunde Inkubationszeit des LPS.

Um einen intraindividuellen Vergleich zu den physiologischen Reaktionen zu ermöglichen wurden bei allen Ratten vor der LPS - Gabe und des folgenden Interventionsregimes die neurovaskuläre Kopplung und cerebrale Autoregulation unter Baseline - Bedingungen gemessen, was in Abbildung 14 dargestellt ist.

Material und Methoden

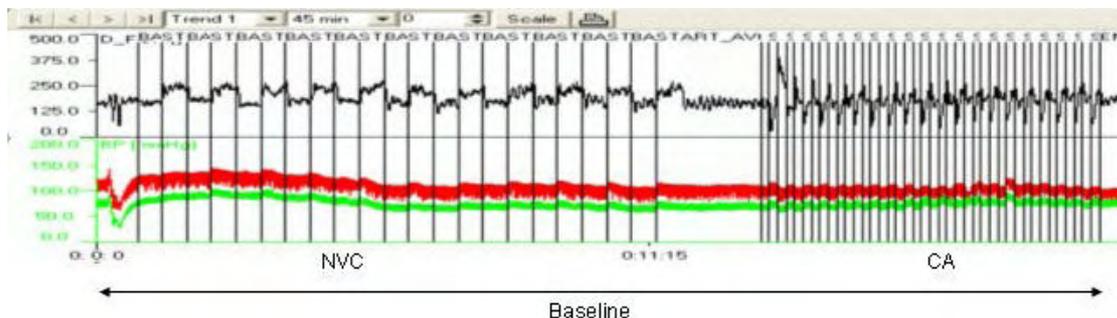


Abbildung 14: Auswertung der neurovaskulären Kopplung (NVK) und der cerebralen Autoregulation (CA), die im Wechsel stattfanden

Der Versuch ging über einen Zeitraum von insgesamt viereinhalb Stunden exklusive der Präparation. Die Durchführung der NVK und der CA fand im Wechsel statt, wobei Pausen zwischen den einzelnen Zyklen von ca. 5 Minuten eingehalten wurden. Zur Auffrischung der Chloralosenarkose wurden diese Pausen genutzt damit keine Messstörung während der einzelnen Zyklen auftraten.

Die Blutproben wurden jeweils vor Versuchsbeginn, 30 Minuten nach Versuchsbeginn und danach stündlich bis Versuchsende genommen. Parallel dazu wurden jeweils die Parameter Blutdruck und Körperkerntemperatur protokolliert.

Die Tötung des Versuchstieres fand in tiefer Narkose mit Kaliumchlorid statt, wobei ein Herzstillstand induziert wurde.

2.7 Die laborchemische Auswertung

Am Ende der jeweiligen Versuche wurde eine finale Blutprobe in ein Röhrchen mit Aprotinin (Trasyolol, Bayer AG, Leverkusen, Deutschland) gefüllt, zentrifugiert und das so gewonnene Plasma sofort von den Blutzellen getrennt. Das Plasma wurde bis zur weiteren Analyse bei - 80 °C aufbewahrt. Zur Bestimmung der neuronenspezifische Enolase (NSE) wurde ein ELISA (NSE EIA Kit, Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) verwendet. Zur Bestimmung des Astrozytenmarkers (S - 100B) wurde mit einem immunoluminometric Assay (LIA Sangtec 100; Sangtec Medical, Bromma, Schweden) unter Verwendung

Material und Methoden

monoklonaler Antikörper spezifisch für die beta-Untereinheit des S - 100 Protein gearbeitet. Die Daten der Zytokine IL - 6, TNF - α und Interferon - γ wurden mit kommerziell erhältlichen Ratten ELISA Kits (BD Bioscience, Heidelberg, Deutschland) ermittelt.

2.8 Die statistische Auswertung

Alle Daten wurden als Mittelwerte mit \pm Standardabweichung angegeben. Die Unterschiede innerhalb der Gruppe und zwischen den einzelnen Gruppen wurde durch die Varianzanalyse ANOVA (Analysis of variance) und einem Scheffé post hoc Test ermittelt. Wenn die Voraussetzungen einer Normalverteilung und Streuungsgleichheit nicht gewährleistet waren (überprüft mittels F - Test), wurde ein nicht - parametrischer Kruskal - Wallis Test statt dessen durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0.05$ gewählt.

3 Ergebnisse

Im Rahmen der Versuchsdurchführung ist kein Versuchstier durch die LPS - Injektion verstorben, da die LPS - Gabe langsam verabreicht wurde und damit ein anaphylaktischer Schock verhindert werden konnte.

Mit Hilfe der maschinellen Beatmung wurde eine kontinuierliche und kontrollierte Sauerstoffversorgung gewährleistet wobei die Blutgase pO_2 und pCO_2 keine großen Schwankungen zeigten. Der pCO_2 wurde im Bereich von 35 mm Hg konstant gehalten. Die Ergebnisse der pH - Werte, der Laktatspiegel und der weiteren Blutparameter wie Glukose und Hämoglobin sind für die verschiedenen Gruppen und Zeitpunkte ausführlich in Tabelle 3 aufgelistet.

Weitere Werte wie der mittlere Blutdruck, die somatosensorisch evozierten Potentiale (SEP), die P_1 Latenz, die evozierten Flussgeschwindigkeitsantworten, das Ruhe - LDF (Laser Doppler Flow) und die THRR (Transient Hyperemic Response Ratio) sind detailliert in Tabelle 4 aufgelistet. Des weiteren sind in Tabelle 5 die Werte der Destruktionsmarker NSE (neuronenspezifische Enolase) und S - 100 B (Astrozytenmarker) sowie der Zytokine IL - 6 (Interleukin - 6), TNF - α (Tumornekrosefaktor - α) und IFN - γ (Interferon - γ) aufgeführt.

3.1 Die Kontrollgruppe

Die Kontrolltiere unterlagen keinen weiteren Interventionen und zeigten über die ganze Versuchsdauer hinweg konstante Werte im physiologischen Bereich.

Der Blutdruck zeigte kaum signifikante Abweichungen und blieb bei physiologischen Werten zwischen 108 ± 12 mm Hg und 107 ± 14 mm Hg im Verlauf des Versuches konstant (siehe dazu Abbildung 15).

Ergebnisse

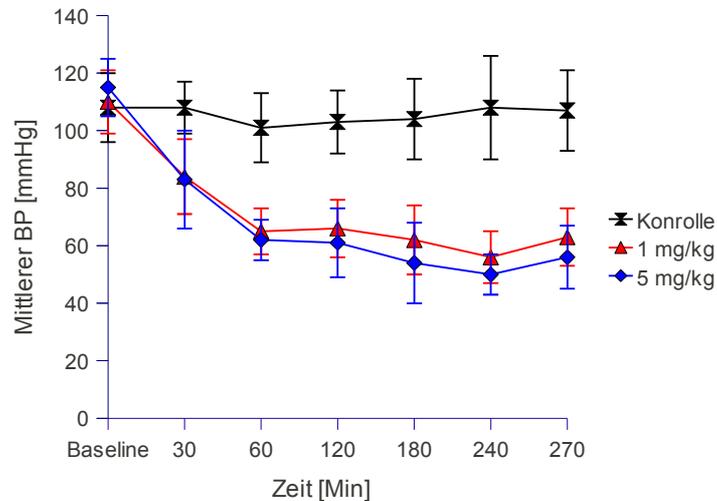


Abbildung 15: Mittlerer Blutdruck (BP) der Kontrollgruppe, 1 mg/kg und 5 mg/kg Sepsis-Gruppe

Der Hämoglobinwert blieb ebenfalls über den ganzen Versuchsverlauf hinweg konstant zwischen 137 ± 7 mg / l und 135 ± 6 mg / l. Der arterielle pH zeigt Werte zwischen $7,57 \pm 0,06$ zu Beginn des Versuches bis zu einem pH von $7,53 \pm 0,05$ gegen Ende des Versuches. Die leicht alkalischen Werte sind auf die Chloralose zurückzuführen. Die arteriell gemessenen Laktatwerte lagen am Ende des Versuches bei $0,7 \pm 0,7$ mg / dl und die Glukosewerte bewegten sich zwischen 78 ± 12 mg / dl bis 82 ± 8 mg / l im Verlauf des Versuches.

Die evozierten Flussgeschwindigkeitsantworten nahmen über den Zeitraum des Versuches geringfügig ab von anfangs 20 ± 8 % auf 18 ± 4 % bei Versuchsende, was auch aus Abbildung 16 ersichtlich ist. Diese Veränderungen waren aber nicht signifikant.

Ergebnisse

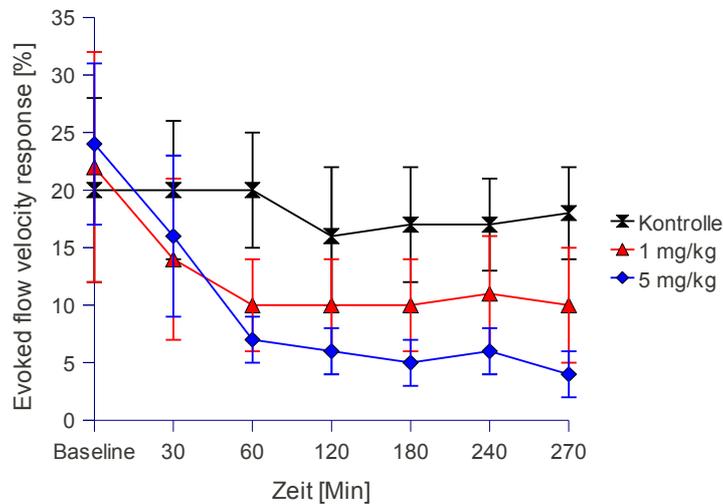


Abbildung 16: Evozierte Flussantworten bei der Kontrollgruppe, 1 mg/kg und 5 mg/kg Sepsis - Gruppe

Der Ruheblutfluss, der mit Hilfe der LDF - Sonde gemessen wurde, war ebenfalls konstant und variierte um etwa 10 U zwischen 176 ± 49 U und 186 ± 32 U, was auch Abbildung 17 zeigt.

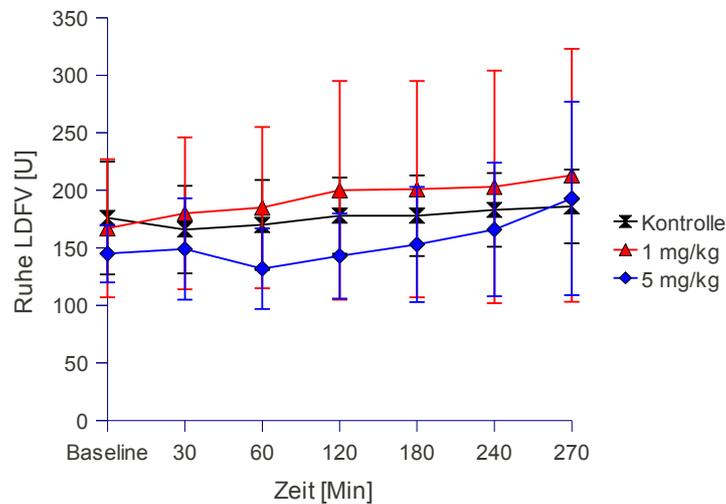


Abbildung 17: Cerebraler Blutfluss im Verlauf des Versuches bei der Kontrollgruppe, 1 mg/kg und 5 mg/kg Sepsis - Gruppe

Die somatosensorisch evozierten Potentiale blieben über den gesamten Versuchszeitraum erhalten. Die gemessenen Werte der SEP's lagen zwischen

Ergebnisse

$21 \pm 4 \mu\text{V}$ zu Versuchsbeginn und $20 \pm 4 \mu\text{V}$ bei Versuchsende, was in Abbildung 18 zu sehen ist.

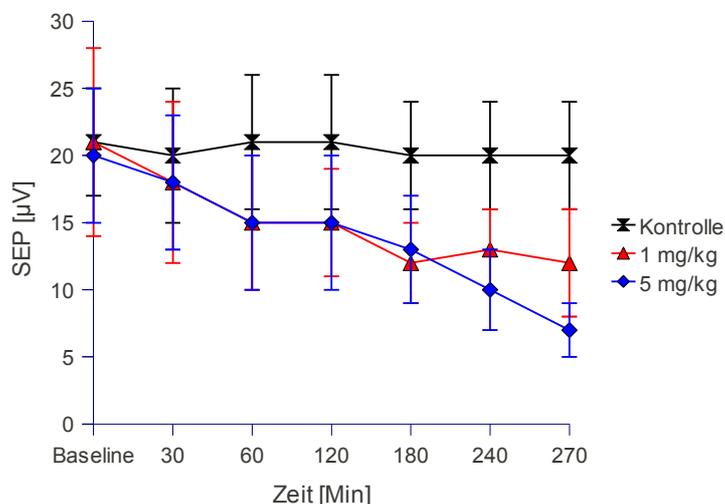


Abbildung 18: SEP - Amplituden im Verlauf des Versuches bei der Kontroll - , 1 mg/kg - und 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe

Auch die P_1 Latenz blieb bei den Kontrolltieren physiologisch konstant zwischen 11 und 12 ms.

Diese gemessenen Werte dieser Kontrollgruppe dienen als Referenzwerte für die nachfolgenden Gruppen und werden mit dieser verglichen.

3.2 Die unbehandelten Sepsisgruppen

Nach venöser Endotoxin - Gabe zeigte sich bei den unbehandelten Sepsis - Tieren, wie erwartet, ein Zeichen des schweren Kreislaufschockes, der sich in einem starken systemischen Blutdruckabfall äußerte, was in Abbildung 15 dargestellt ist. Hierbei war ein signifikanter Abfall des Blutdruck zu beobachten, der bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe auf $63 \pm 10 \text{ mm Hg}$ und bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe auf $56 \pm 11 \text{ mm Hg}$ nach der Endotoxinapplikation bis zum Versuchsende zeigte. Die entsprechenden Signifikanzniveaus und die Zwischenwerte sind in den Tabellen 3 und 4 ausgewiesen.

Die Blutwerte zeigten weiterhin ein statistisch signifikantes Absinken der jeweiligen Werte. Hierbei sank der Hämoglobinwert von $137 \pm 6 \text{ mg / l}$ auf 124

Ergebnisse

± 15 mg / l in der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe und von 133 ± 9 mg / l auf 122 ± 15 mg / l in der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe. Eine metabolische Azidose stellte sich ein und der pH sank auf 7.48 ± 0.04 bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe und auf 7.46 ± 0.04 bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe. Der Laktatwert stieg dementsprechend bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe auf 2.5 ± 0.8 mmol / l und bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe auf 2.4 ± 0.7 mmol / l. Der Glukosewert sank bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe von anfangs 89 ± 18 mg / dl auf 55 ± 9 mg / dl und in der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe von 74 ± 19 mg / dl auf 46 ± 15 mg / dl.

Des weiteren zeigten die jeweiligen neurologischen Parameter einen Trend zur Wert - bzw. Funktionsabnahme, wie beispielsweise die Entwicklung der evozierten Flussantworten, die in Abbildung 16 zu sehen ist. Hierbei ist eine Abnahme der Flussantworten zu sehen, die sich in der unbehandelten 1 mg/kg Sepsis - Gruppe von anfangs 22 ± 10 % auf 10 ± 5 % im Verlaufe des Versuches reduziert und eine Abnahme von 12 % bedeutet. Die evozierten Flussantworten verringern sich sogar in der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe um 20 %, d.h. Von anfänglichen 24 ± 7 % auf 4 ± 2 % zum Versuchsende hin.

Des weiteren nahmen die somatosensorisch evozierten Potential bei den beiden unbehandelten Sepsis - Gruppen verglichen mit der Kontrollgruppe stark ab, was in Abbildung 18 zu sehen ist. Hierbei ist der stärkste Abfall bei der 5 mg/kg Gruppe zu verzeichnen. Die 1 mg/kg Sepsis - Gruppe nahm von anfangs 21 ± 7 μ V auf 12 ± 4 μ V und bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe von 20 ± 5 μ V auf 7 ± 2 μ V ab.

Auch die P_1 Latenz war verändert und zeigte bei den unbehandelten Sepsis - Gruppen eine Verlängerung von anfangs 11 ± 0.4 ms (1 mg/kg Sepsis - Gruppe) auf 13 ± 1 ms (5 mg/kg Sepsis - Gruppe) zum Ende des Versuches hin was auf eine Störung der neuronalen Tätigkeit hin deutet.

Der cerebrale Blutfluss der beiden Sepsis - Gruppen steigt signifikant gegenüber der Kontrollgruppe an. Werden nun die nicht therapierten Sepsis - Gruppen untereinander verglichen, stellt man fest, dass es trotz der in Erscheinung tretenden systemischen Hypotension (vgl. Abbildung 15) zu einer

Ergebnisse

deutlichen Zunahme des cerebralen Blutflusses (vgl. Abbildung 17) kam. Zudem verminderten sich die evozierten Blutflussantworten (vgl. Abbildung 16), was am beeindruckendsten anhand der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe zu sehen ist.

Das parallele Nebeneinander der cerebralen Hyperämie und der reduzierten evozierten Flussantworten bedeutet nicht, dass es aufgrund der Hyperämie zu einer geringeren Flusskopplung kommt, denn in der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe bleiben die evozierten Flussantworten verglichen mit der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe erhalten, was in Abbildung 16 dargestellt ist.

Die beiden Abbildung 19 und Fehler: Referenz nicht gefunden zeigen die cerebrale Autoregulation bei der 1 mg/kg - und bei der 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe. Die THRR Daten wurden im Vergleich zu den Antworten gesunder Tiere unter verschiedenen

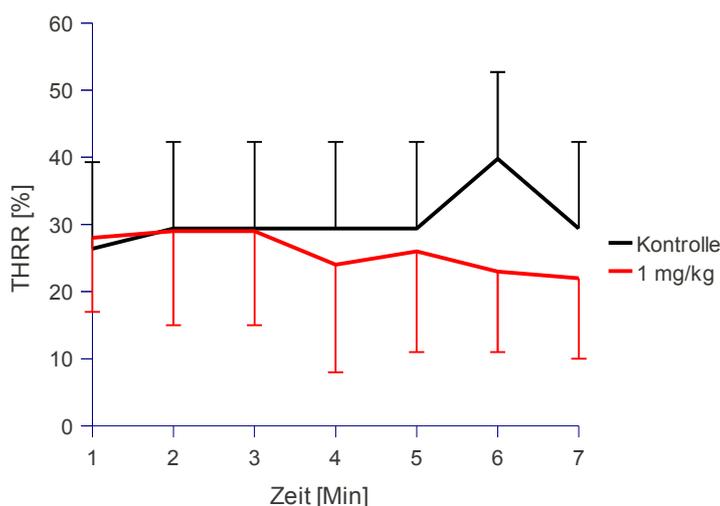


Abbildung 19: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der nicht therapierten 1 mg/kg Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

Blutdruckwerten gemessen. Hierbei wurde für jede Messung der systemische Blutdruck unter Sepsisbedingungen ausgelesen und mit den Daten der Kontrolle unter den gleichen Blutdruck - Werten verglichen. Bei der 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe fehlt der kompensatorische Anstieg der THRR unter hypotonen Kreislaufbedingungen zum Ende der Versuche hin, wie der Vergleich mit der Kontrollgruppe zeigt. Die Differenz zur Kontrollgruppe war

Ergebnisse

statistisch signifikant und deutet auf eine gestörte Autoregulation hin. Bei der 1 mg/kg - Sepsis - Gruppe zeigte sich noch keine Störung der cerebralen Autoregulation, da ein kompensatorischer Anstieg vorhanden war.

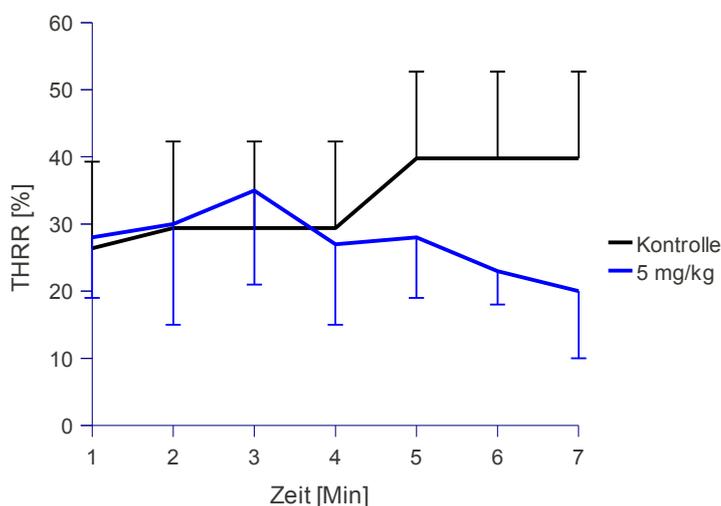


Abbildung 20: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der nicht therapierten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

Diese aufgeführten Werte der unbehandelten Sepsis - Gruppen (inklusive der Werte aus Tabelle 4, die hier nicht explizit aufgeführt sind) gelten als Referenzwerte, um mit den therapierten Gruppen verglichen zu werden.

3.3 Die Norepinephrin - Gruppen

Die mit Norepinephrin therapierten Sepsis - Gruppen hatten bei Versuchsbeginn einen Blutdruckwert in der 1 mg/kg - Sepsis - Gruppe von anfangs 108 ± 12 mm Hg, der nach Endotoxingabe und 30 minütiger Inkubationszeit auf 84 ± 14 mm Hg statistisch signifikant ab fiel. Nach Applikation des Katecholamins konnte der Blutdruck bis zum Ende des Versuches hin auf 105 ± 17 mm Hg stabilisiert werden. Bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe fiel der Blutdruck ebenfalls statistisch signifikant von anfangs 104 ± 10 mm Hg, nach Endotoxingabe und einer Inkubationszeit von 30 Minuten, auf 79 ± 13 mm Hg. Die Therapie mit dem Katecholamin Norepinephrin bewirkte hierbei einen Blutdruckanstieg auf 102 ± 15 mm Hg. Dieser Vorgang ist in

Ergebnisse

Abbildung 21 zu sehen. Verglichen mit der nicht therapierten 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe konnte Norepinephrin somit die systemische Makrozirkulation stabilisieren.

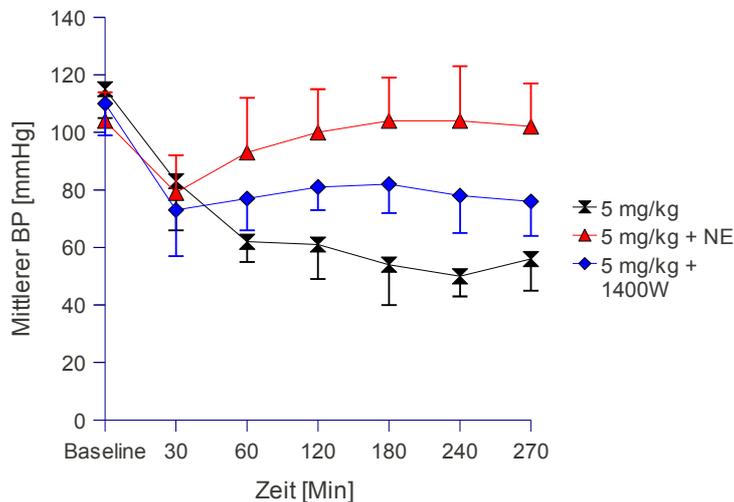


Abbildung 21: Mittlerer Blutdruck (BP) bei der 5 mg/kg -, 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400 W - Gruppe

Der Hämoglobinwert in der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe fiel signifikant von 139 ± 10 mg / l auf 119 ± 19 mg / l und in der 5 mg/kg Gruppe von anfangs 145 ± 12 mg / l im Verlaufe des Versuches auf 122 ± 17 mg / l. Auch der pH - Wert fiel wie erwartet in der 1 mg - Sepsis - Gruppe von 7.52 ± 0.05 auf 7.48 ± 0.05 und in der 5 mg - Sepsis - Gruppe von anfangs 7.52 ± 0.05 auf 7.46 ± 0.05 zum Versuchsende hin. Dieser signifikante Blut - pH - Abfall deutet auf eine metabolische Azidose hin und spiegelt sich im Laktatwert wieder. Der Laktatwert lag hierbei bei der 1 mg/kg Gruppe bei 1.4 ± 0.4 mmol / l und bei der 5 mg/kg Gruppe bei 1.5 ± 0.6 mmol / l. Der Glukosewert fiel statistisch signifikant von 85 ± 15 mg / dl auf 68 ± 14 mg / dl zum Ende des Versuches hin. Bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe zeigte sich ein ähnliches Bild, wobei der Glukosewert von anfangs 76 ± 17 mg / dl auf 70 ± 23 mg / dl zum Ende des Versuches hin ab fiel.

Die Entwicklung der somatosensorisch evozierten Potentiale in dieser mit Norepinephrin behandelten Sepsis - Gruppe zeigten im Verlauf des Versuches

Ergebnisse

eine Stabilisierung der Amplitude verglichen mit der unbehandelten Kontrollgruppe, was in den Abbildungen 22 und 23 dargestellt ist. Hierbei konnten die SEP's von anfangs gemessenen $21 \pm 4 \mu\text{V}$ auf $16 \pm 3 \mu\text{V}$ bei der 1 mg/kg und $21 \pm 7 \mu\text{V}$ auf $14 \pm 3 \mu\text{V}$ bei der 5 mg/kg Gruppe stabilisiert werden.

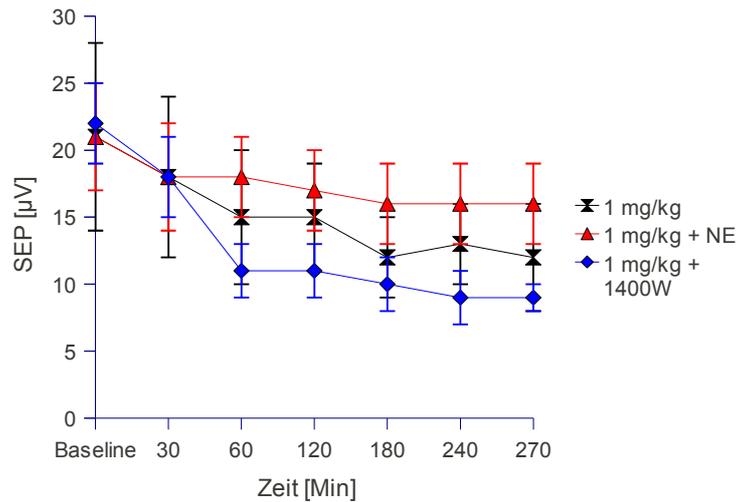


Abbildung 22: SEP - Amplitude bei der 1 mg/kg -, 1 mg/kg + NE -, 1 mg/kg + 1400 W - Gruppe

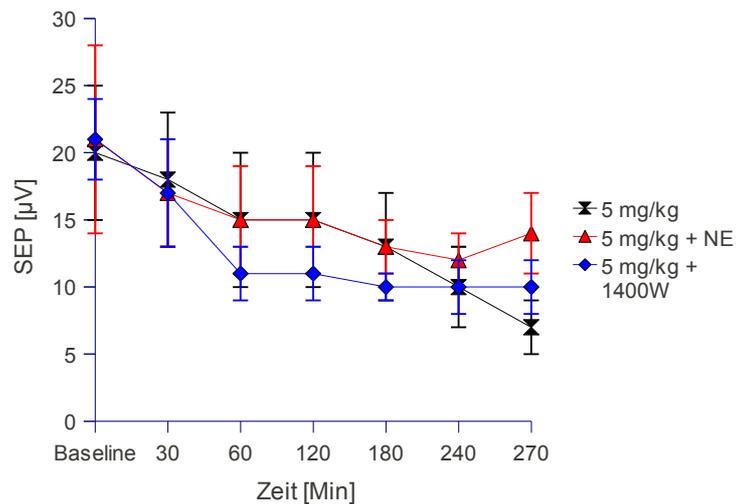


Abbildung 23: SEP - Amplitude bei der 5 mg/kg -, 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400 W - Gruppe

Ergebnisse

In Abbildung 24 sind die evozierten Flussantworten dargestellt, verglichen mit der nicht therapierten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe als Referenzwert. Hierbei ist eine signifikante Abnahme der Flussgeschwindigkeit zu sehen, die sich von

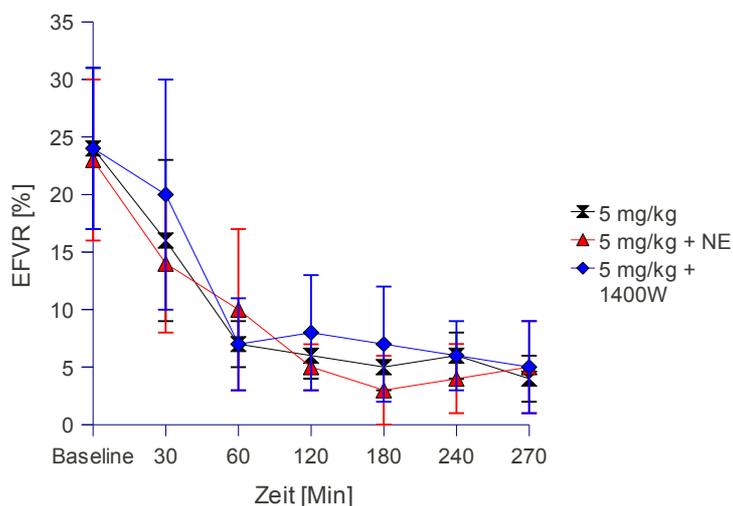


Abbildung 24: Evozierte Flussantworten bei der 5 mg/kg -, 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400W - Gruppe

anfangs 23 ± 7 % auf 5 ± 4 % bei der mit Norepinephrin behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe reduziert. Dasselbe Bild wird aus den Werten der Tabelle 4 deutlich bzgl. der behandelten 1 mg/kg Sepsis - Gruppe, die einen Trend zu erniedrigten Werten zeigt, die sich von anfänglichen 23 ± 7 % auf 9 ± 6 % reduzieren.

Die Therapie mit Norepinephrin verstärkt statistisch signifikant die cerebrale Hyperämie (Abbildung 25), was am deutlichsten in der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe zu erkennen ist. Bei der therapierten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe steigt der anfängliche cerebrale Ruhefluss von 145 ± 25 U bis auf 193 ± 84 U zum Versuchsende hin. Somit scheint Norepinephrin die Entwicklung einer cerebralen Hyperämie zu begünstigen verglichen mit der unbehandelten Sepsis - Gruppe.

Ergebnisse

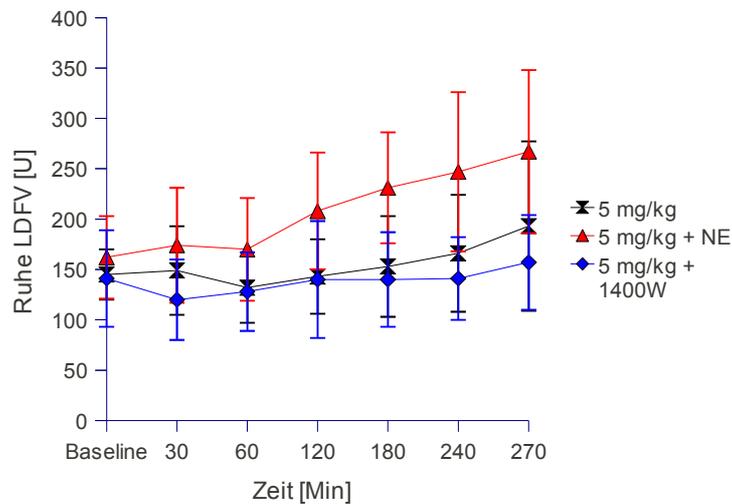


Abbildung 25: Cerebraler Blutfluss (Ruhefluss) bei der 5 mg/kg - , 5 mg/kg + NE -, 5 mg/kg + 1400 W - Gruppe

Bezüglich der Latenzen zeigte sich bei der mit Norepinephrin behandelten 1 mg/kg Sepsis - Gruppe keine Abweichung von der Vormessung und blieb bei 12 ms konstant. Die 5 mg/kg Sepsis - Gruppe, die mit Norepinephrin behandelt wurde zeigte eine Verlängerung der P_1 Latenz von zu Beginn gemessenen 11 ± 1 ms auf zum Ende ansteigende 14 ± 3 ms.

Die Abbildung 26 zeigt den Therapieeinfluss auf die cerebrale Autoregulation. Die THRR Daten der mit Norepinephrin behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe wurden im Vergleich zu den Antworten der unbehandelten 5 mg/kg Sepsis Tiere (Kontrollgruppe, grüne Linie) unter verschiedenen Blutdruckwerten gemessen. Hierbei wurde für jede Messung der systemische Blutdruck unter den jeweils behandelten Sepsisbedingungen ausgelesen und mit den Daten der unbehandelten Sepsis - Tiere unter den gleichen Blutdruck - Werten verglichen. Hierbei wird deutlich, dass kein kompensatorischer Anstieg der THRR mehr statt findet.

Ergebnisse

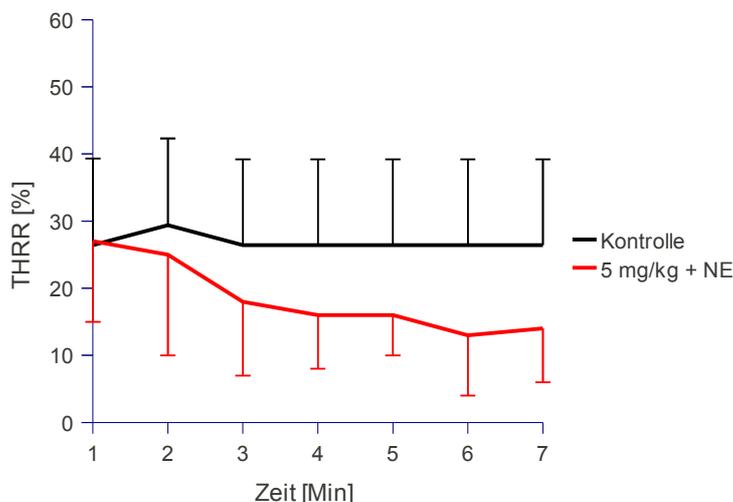


Abbildung 26: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der 5 mg/kg + NE - Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

Aus Tabelle 5 wird ersichtlich, dass die Werte bzgl. der Destruktionsmarker und der Zytokine kaum eine Veränderung gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe zeigen.

3.4 Die 1400 W - Gruppen

Bei den mit 1400 W therapierten Sepsis - Gruppen war im Verlaufe des Versuches ein Trend zum Anstieg des Blutdrucks bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe nach Endotoxingabe und 30 minütiger Inkubationszeit von 79 ± 18 auf 82 ± 12 mm Hg zu verzeichnen. Bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe ist ebenfalls ein ansteigender Trend des systemischen Blutdrucks von 73 ± 16 auf 76 ± 12 mm Hg zu sehen, was auch aus Abbildung 21 ersichtlich ist. Hierbei wird jedoch ersichtlich, dass, verglichen mit der nicht - therapierten Sepsis - Gruppe, 1400 W die systemische Kreislagsituation nicht signifikant verbessern konnte.

Die Hämoglobinwerte sanken signifikant von zu Beginn gemessenen 142 ± 12 mg / l auf 121 ± 18 mg / l in der 1 mg/kg Gruppe und von 139 ± 9 mg / l auf 120 ± 15 mg / l in der 5 mg Sepsis - Gruppe zum Ende des Versuches hin. Der arteriell gemessene pH fiel statistisch signifikant bei der 1 mg/kg - Sepsis - Gruppe von anfangs gemessenen 7.53 ± 0.06 auf 7.46 ± 0.09 und bei der

Ergebnisse

5 mg/kg - Sepsis - Gruppe von 7.52 ± 0.03 auf 7.46 ± 0.04 zum Versuchsende hin, was ebenfalls auf eine metabolische Azidose hinweist und sich im Laktatwert bestätigt. Hierbei lag der Laktatwert in der 1 mg/kg Gruppe bei $2,5 \pm 0.6$ mmol / l und bei der 5 mg/kg Gruppe bei 2.4 ± 0.4 mmol / l. Der Glukosewert sank signifikant bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe von anfangs gemessenen 78 ± 14 auf 51 ± 7 mg / dl und bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe von 73 ± 15 auf 46 ± 8 mg / dl am Ende des Versuches. Der Blutglukosespiegel zeigte trotz der externen Glukosezufuhr ein erhebliches Absinken. Hierbei bestätigt sich, dass 1400 W die Glukosereserven ausschöpft. Um dies zu verhindern ist eine externe Glukosezufuhr über die gesamte Versuchsdauer hinweg notwendig gewesen.

Bezüglich der SEP Entwicklung, zeigten die mit 1400 W behandelten Gruppen, einen sehr starken Abfall der SEP's von anfänglich gemessenen 22 ± 3 μ V auf 9 ± 1 μ V bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe und von 21 ± 3 μ V auf 10 ± 2 μ V bei der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe. Die beiden Abbildungen 22 und 23 spiegeln diesen statistisch signifikanten Abfall der SEP's wieder.

Ebenfalls wie in der Norepinephrin Gruppe ist eine erhebliche Reduktion der evozierten Flussgeschwindigkeiten zu erkennen, die in Abbildung 24 verglichen mit der unbehandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppen dargestellt ist. Hierbei ist ein signifikanter prozentualer Abfall von anfangs 24 ± 7 % auf 5 ± 4 % zum Versuchsende hin zu verzeichnen. Das gleiche Bild stellt sich in der 1mg Sepsis - Gruppe dar, wobei hier ein statistisch signifikanter prozentualer Abfall von anfänglichen 18 ± 5 % auf 5 ± 3 % zu erkennen ist, was in Tabelle 4 protokolliert ist.

In Abbildung 25 ist die Entwicklung des Ruhe LDF und somit des cerebralen Blutflusses in den 5 mg/kg Gruppen zu sehen. Hierbei ist erkennbar, dass 1400 W die Entwicklung einer cerebralen Hyperämie unterdrückt. Die Werte bei der behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe liegen deutlich unter den Werten der nicht behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe. Hierbei sind Werte zu verzeichnen, die von Anfangs 141 ± 48 U auf 157 ± 47 U ansteigen, wohingegen die Werte

Ergebnisse

der unbehandelten Gruppe bei anfangs 145 ± 25 U bis hin zu 193 ± 84 U liegen.

Die Verlängerung der Latenz von ± 12 ms auf ± 15 ms bei der mit dem iNOS behandelten Gruppen stellt sich in der 1 und 5 mg/kg einheitlich dar.

Um den Therapieeinfluss auf die cerebrale Autoregulation auswerten zu können, wurden auch hier die THRR Daten der mit 1400 W behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe im Vergleich zu den Antworten der unbehandelten 5 mg/kg Sepsis Tiere (Kontrollgruppe, grüne Linie) unter verschiedenen Blutdruckwerten gesetzt. Auch hier wurde für jede Messung der systemische Blutdruck unter den jeweils therapierten Sepsisbedingungen ausgelesen und mit den Daten der unbehandelten Sepsis Tiere unter den gleichen Blutdruck - Werten verglichen. In Abbildung 27 ist der THRR Verlauf dargestellt. Hierbei wird deutlich, dass die Behandlung mit 1400 W einen positiven Effekt auf die cerebrale Autoregulation hat und ein kompensatorischer Anstieg der THRR gewährleistet war.

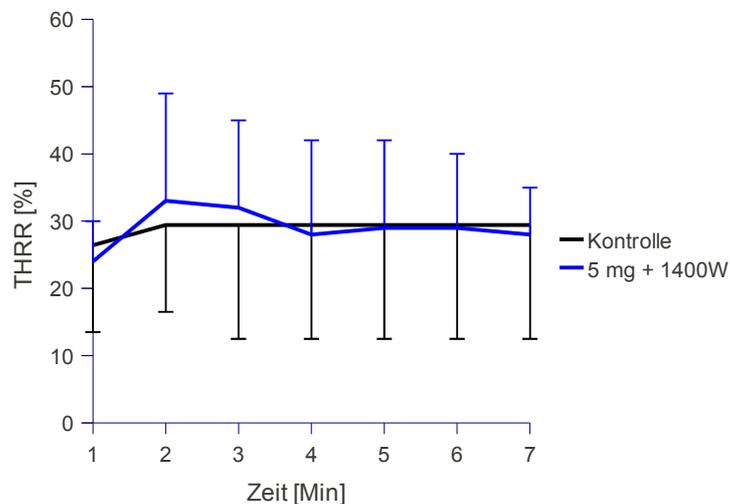


Abbildung 27: THRR [%] (cerebrale Autoregulation) bei der 5 mg/kg + 1400 W - Sepsis - Gruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

Bezüglich der Destruktionsmarker und der Zytokine (Tabelle 5) sind ebenfalls keine bedeutende Wertunterschiede verglichen mit der unbehandelten Kontrollgruppe zu erkennen.

3.5 Der Vergleich der Therapieregime

Die Behandlung mit 1400 W hatte, verglichen mit den Ergebnissen der Norepinephrin - Gruppe, eine nicht so signifikante Auswirkung auf den systemischen Blutdruck, was in Abbildung 21 gezeigt wird. Jedoch zeigt der Vergleich der Blutdruckverläufe der therapierten Gruppen mit der nicht therapierten Gruppe, dass beide Regime einen positiven Einfluss auf den systemischen Blutdruck im Verlauf der Sepsis haben.

Abbildung 25 zeigt den cerebralen Blutfluss im Rahmen der Sepsis, wobei eine cerebrale Hyperämie in Erscheinung tritt. Diese cerebrale Hyperämie konnte mit Hilfe von 1400 W unterbunden werden, verglichen mit der nicht therapierten 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe und mit der therapierten 5 mg/kg + NE-Gruppe, wohingegen die Therapie mit Norepinephrin das Gegenteil bewirkte.

In den Abbildungen 26 und 27 ist die cerebrale Autoregulation anhand der gemessenen und vergleichenden THRR Werten dargestellt. Hierbei wird deutlich, dass Norepinephrin keinen positiven Effekt verglichen mit der Therapie mit 1400 W auf die cerebrale Autoregulation hatte, da der kompensatorische Anstieg der THRR ausblieb.

Die in Tabelle 4 sowie in Abbildung 24 aufgeführten bzw. dargestellten evozierten Flussgeschwindigkeitsantworten (EFVR evoked flow velocity responses), zeigten signifikante Reduktionen in den behandelten Sepsis - Gruppen, wobei die 5 mg/kg Sepsis - Gruppe die größte Reduktion der evozierten Blutflussgeschwindigkeitsantworten zeigte.

Vergleicht man den Therapieeffekt der beiden getesteten Substanzen bzgl. der SEP - Entwicklung, so zeigt sich, dass durch die Gabe von Norepinephrin ein weiterer Abfall der Amplitude verhindert werden kann. Am deutlichsten ist dies anhand der 5 mg/kg Gruppenvergleiche zu erkennen. Bei der unbehandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe ist ein signifikanter Abfall von $20 \pm 5 \mu\text{V}$ auf $7 \pm 2 \mu\text{V}$ zu verzeichnen. Bei der mit 1400 W behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe ist ein statistisch signifikanter Abfall von $21 \pm 3 \mu\text{V}$ auf $10 \pm$

Ergebnisse

2 μ V protokolliert. In der mit Norepinephrin behandelten 5 mg/kg Sepsis - Gruppe ist ein Trend zum Abfall der Werte von $21 \pm 3 \mu$ V auf nur $14 \pm 3 \mu$ V zu sehen.

Jedoch zeigt Norepinephrin keinen protektiven Effekt auf die P1 Latenzen oder die evozierten Flussgeschwindigkeiten, was bei 1400 W ebenfalls nicht erreicht werden konnte.

Bei dem Vergleich mit den nicht therapierten Sepsisgruppen als auch mit den mit Norepinephrin behandelten Sepsis - Gruppen wird deutlich, dass 1400 W einen unerwarteten depressiven Effekt auf die SEP's hat. Dies zeigt sich sowohl in der niedrigen (Abbildung 22) 1 mg/kg Sepsis - Gruppe als auch hohen (Abbildung 23) 5 mg/kg LPS - Dosis - Gruppe. Die SEP's brechen mit Gabe von 1400 W ein und bleiben auf einem niedrigen Niveau.

Abbildung 28 zeigt die Beziehung zwischen den somatosensorisch evozierten Potentialamplituden und den daraus resultierenden evozierten hämodynamischen Antworten, wobei eine Korrelation zwischen diesen Parametern besteht (neurovaskuläre Kopplung). Im Verlauf einer Sepsis kommt es zuerst zu einer Entkopplung der hämodynamischen Antworten, die man in einem deutlichen Abfall der evozierten Flußantwort bei nach wie vor stabilen SEP erkennen kann (vertikaler Pfeil 1). Erst später folgt dann auch ein Abfall der Potentialamplituden (horizontaler Pfeil 2). Aus diesen Ergebnissen zeigt sich, dass Norepinephrin nicht vor der Entkopplung schützt, aber den Abfall der Amplitude aufhalten kann.

Ergebnisse

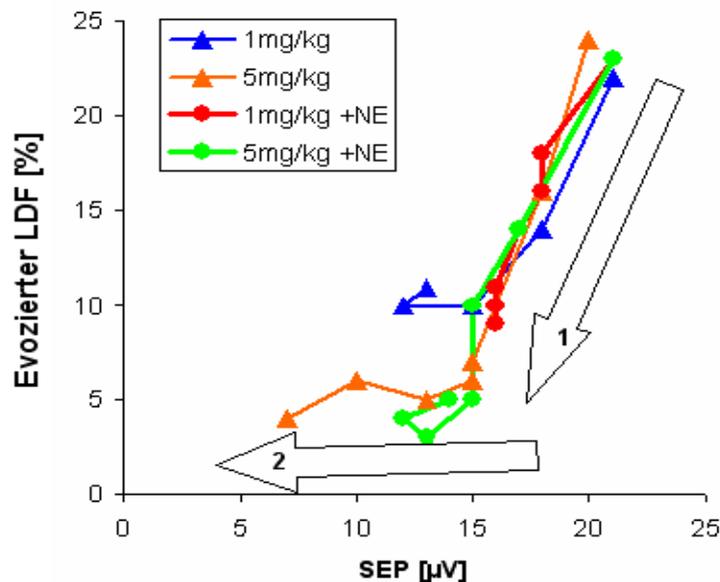


Abbildung 28: Beziehung zwischen SEP Amplituden und daraus resultierenden evozierten hämodynamischen Antworten (evozierte Laser - Doppler - Flow) bei der 1 mg/kg -, 5 mg/kg - Kontrollgruppe und 1 mg/kg -, 5 mg/kg + NE - Sepsis - Gruppe (zur Erklärung siehe Text)

Für 1400 W wurde die Korrelation nicht dargestellt, da 1400 W unter septischen Bedingungen einen direkten negativen Effekt auf die SEP - Amplituden hat. Unter physiologischen Bedingungen kommt es nicht zu einem Effekt auf die SEP - Amplituden (Daten nicht gezeigt).

Werden die Destruktionmarkerwerte NSE und S 100 - B miteinander verglichen, so erkennt man einen geringen Unterschied innerhalb der therapierten Gruppen. Hierbei zeigt die mit dem iNOS Inhibitor behandelten Gruppe einen Wert von 1.6 ± 0.9 ng / l was einen erniedrigenden Trend der Werte verglichen mit der Katecholamin behandelten Gruppe 2.2 ± 0.4 ng / l zeigt. Bezüglich der Zytokine ist ein geringer Abfall des TNF - α und ein Anstieg des IFN - γ Wertes bei der mit Norepinephrin behandelten Gruppe im Vergleich zu der mit 1400 W behandelten Gruppe zu erkennen. Des weiteren ist ein Abfall des IL - 6 bei der mit 1400W behandelten Gruppe im Vergleich zu der mit Norepinephrin behandelten Gruppe ersichtlich (siehe Tabelle 5).

Ergebnisse

Diese Werte zeigen geringe Differenzen und haben demnach keine signifikanten Abweichungen im Rahmen der Therapievergleiche und es sind demnach keine eindeutigen Therapieunterschiede zu erkennen.

Tabelle 3: Durchschnittliche Werte von Glukose, Laktat, pH, pCO₂ und Hämoglobin der verschiedenen Gruppen.

Werte als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben mit statistischen Ergebnissen nach ANOVA. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden durch Varianzanalyse nach Scheffé ermittelt (*p < 0.05, *p < 0.01, *p < 0.001). KGW = Körpergewicht, NE = Norepinephrin

Gruppe	Glukose [mg/dl]		Laktat [mmol/l]		pH		pCO ₂ [mmHg]		Hämoglobin [mg/l]	
	Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Kontrolle	78±12	82±8	-	0.7± 0.7	7.57± 0.06	7.53± 0.05	32.6± 4.5	33.5± 2.2	137± 7	135± 6
Sepsis 1mg/kg KGW	89±18	55±9*	-	2.5± 0.8*	7.53± 0.05	7.48± 0.04*	34.5± 5.1	32.8± 2.2	137± 6	124± 15*
Sepsis 5mg/kg KGW	74±19	46±15*	-	2.4± 0.7*	7.51± 0.05	7.46± 0.04*	35.5± 4.1	32.3± 1.7	133± 9	122±1 5*
Sepsis 1mg/kg KGW+NE	85±15	68±14*	-	1.4± 0.4*	7.52± 0.05	7.48± 0.05*	35.4± 0.4	34.3± 3.1	139± 10	119± 19*
Sepsis 5mg/kg KGW+NE	76±14	70±23	-	1.5± 0.6*	7.52± 0.05	7.4± 0.05*	34.8± 3.2	32.8± 2.5	145± 12	122± 17*
Sepsis 1mg/kg KGW+1400 W	78±14	51±7*	-	2.5± 0.6*	7.53± 0.06	7.46± 0.09*	36.4± 4.8	35.2± 2.6	142± 12	121± 18*
Sepsis 5mg/kg KGW+1400 W	73±15	46±8*	-	2.4± 0.4*	7.52± 0.03	7.46± 0.04*	34.8± 3.4	34.3± 1.4	139± 9	120± 15*

Aus der unten stehenden Tabelle 4 kann man folgende Werte entnehmen: Mittlerer BP = Blood Pressure/Blutdruck, SEP = Somatosensory Evoked Potential, P1 Latenz, EFVR = Evoked Flow Velocity Response und Ruhe LDFV = Laser Doppler Flow Velocity / Laser Doppler Flussgeschwindigkeit. Werte als Mittelwert und ± Standardabweichung angegeben. Statistische Ergebnisse verglichen zu den Kontrollen sind gegeben und berechnet nach dem Scheffé Test (*p < 0.05, *p < 0.01, *p < 0.001). EFVR = Evoked Flow Velocity Response

Ergebnisse

Tabelle 4: Systemischer Blutdruck, SEP, P₁ - Latenz, EFVR, Ruhe LDFV, THRR, THRR* = Kontrollgruppe

		Baseline	30min	60min	120min	180min	240min	270min
Mittl.BP [mmHG]	Kontrolle	108 ±12	108 ±9	101 ±12	103 ±11	104 ±14	108 ±18	107 ±14
Mittl.BP [mmHG]	1mg/kg	110 ±11	84 ±13*	65 ±8*	66 ±10*	62 ±12*	56 ±9*	63 ±10*
Mittl.BP [mmHG]	5mg/kg	115 ±10	83 ±17*	62 ±7*	61 ±12*	54 ±14*	50 ±7*	56 ±11*
Mittl.BP [mmHG]	1mg/kg +NE	108 ±12	84 ±14*	99 ±12	102 ±13	107 ±13	104 ±17	105 ±17
Mittl.BP [mmHG]	5mg/kg +NE	104 ±10	79 ±13*	93 ±19	100 ±15	104 ±15	104 ±19	102 ±15
Mittl.BP [mmHG]	1mg/kg +1400 W	106 ±13	79 ±18*	80 ±7*	83 ±10*	85 ±10*	79 ±10*	82 ±12*
Mittl.BP [mmHG]	5mg/ +1400 W	110 ±11	73 ±16*	77 ±11*	81 ±8*	82 ±10*	78 ±13*	76 ±12*
SEP [µV]	Kontrolle	21 ±4	20 ±5	21 ±5	21 ±5	20 ±4	20 ±4	20 ±4
SEP [µV]	1mg/kg	21 ±7	18 ±6	15 ±5*	15 ±4	12 ±3	13 ±3	12 ±4
SEP [µV]	5mg/kg	20 ±5	18 ±5	15 ±5*	15 ±5*	13 ±4*	10 ±3*	7 ±2*
SEP [µV]	1mg/kg +NE	21 ±4	18 ±4	18 ±3*	17 ±3*	16 ±3*	16 ±3*	16 ±3*
SEP [µV]	5mg/kg +NE	21 ±7	17 ±4	15 ±4*	15 ±4*	13 ±2*	12 ±2*	14 ±3*
SEP [µV]	1mg/kg +1400 W	22 ±3	18 ±3	11 ±2*	11 ±2*	10 ±2*	9 ±2*	9 ±1*
SEP [µV]	5mg/ +1400 W	21 ±3	17 ±4	11 ±2*	11 ±2*	10 ±1*	10 ±2*	10 ±2*
P1 Latenz [ms]	Kontrolle	11 ±1	11 ±1	11 ±2	11 ±1	12 ±1	11 ±1	12 ±1
P1 Latenz [ms]	1mg/kg	11 ±0.4	11 ±1	12 ±1*	12 ±1	12 ±1	12 ±2	13 ±1
P1 Latenz [ms]	5mg/kg	11 ±1	12 ±1	12 ±1*	12 ±2	12 ±1	13 ±2	13 ±2
P1 Latenz [ms]	1mg/kg +NE	12 ±0.5	12 ±1	12 ±1	12 ±1	12 ±1	12 ±1	12 ±1
P1 Latenz [ms]	5mg/kg +NE	11 ±1	12 ±0.4	12 ±0.5*	12 ±2	12 ±1	12 ±1	14 ±3
P1 Latenz [ms]	1mg/kg +1400 W	12 ±0.5	13 ±1*	14 ±1*	14 ±1*	15 ±2*	15 ±3*	15 ±2*
P1 Latenz [ms]	5mg/ +1400 W	12 ±0.5	13 ±1*	14 ±1*	14 ±1*	14 ±1*	14 ±1*	15 ±1*
EFVR [%]	Kontrolle	20 ±8	20 ±6	20 ±5	16 ±6	17 ±5	17 ±4	18 ±4
EFVR [%]	1mg/kg	22 ±10	14 ±7	10 ±4*	10 ±4*	10 ±4*	11 ±5*	10 ±5*
EFVR [%]	5mg/kg	24 ±7	16 ±7	7 ±2	6 ±2*	5 ±2*	6 ±2*	4 ±2*
EFVR [%]	1mg/kg +NE	23 ±7	18 ±6	16 ±10	14 ±10	11 ±8*	10 ±7*	9 ±6*
EFVR [%]	5mg/kg +NE	23 ±7	14 ±6	10 ±7*	5 ±3*	3 ±3*	4 ±3*	5 ±4*
EFVR [%]	1mg/kg +1400 W	18 ±5	16 ±8	8 ±4*	7 ±3*	6 ±2*	5 ±4*	5 ±3*
EFVR [%]	5mg/ +1400 W	24 ±7	20 ±10	7 ±4*	8 ±5*	7 ±5*	6 ±3*	5 ±4*
Ruhe LDFV [U]	Kontrolle	176 ±49	166 ±38	170 ±39	178 ±33	178 ±35	183 ±32	186 ±32
Ruhe LDFV [U]	1mg/kg	167 ±60	180 ±66	185 ±70	200 ±95	201 ±94	203 ±101	213 ±110
Ruhe LDFV [U]	5mg/kg	145 ±25	149 ±44	132 ±35	143 ±37	153 ±50	166 ±58	193 ±84
Ruhe LDFV [U]	1mg/kg +NE	153 ±57	140 ±38	187 ±63	220 ±96	243 ±90*	248 ±92	258 ±82*
Ruhe LDFV [U]	5mg/kg +NE	162 ±41	174 ±57	170 ±51	208 ±58	231 ±55	247 ±79	267 ±81*
Ruhe LDFV [U]	1mg/kg +1400 W	171 ±45	156 ±47	170 ±90	176 ±53	185 ±61	195 ±63	190 ±85
Ruhe LDFV [U]	5mg/ +1400 W	141 ±48	120 ±40	128 ±39	140 ±58	140 ±47	141 ±41	157 ±47
THRR [%]	Kontrolle	28±9	32±10	29±10	27±8	27±9	28±9	29±7
THRR [%]	1mg/kg	28±11	29±14	29±14	24±16	26±15	23±12	22±12
THRR [%]	5mg/kg	28±9	30±15	35±14	27±12	28±9	23±5	20±10
THRR [%]	1mg/kg +NE	31±9	34±12	27±12	16±11	16±6	21±13	13±4
THRR [%]	5mg/kg +NE	27±12	25±15	18±11	16±8	16±6	13±9	14±8
THRR [%]	1mg/kg+1400 W	26±8	29±14	29±13	23±12	19±18	22±14	16±14

Ergebnisse

		Baseline	30min	60min	120min	180min	240min	270min
THRR [%]	5mg/ +1400 W	24±6	33±16	32±13	28±14	29±13	29±11	28±7
THRR [%]	Kontrolle*	26,4±13	26,4±12,9	29,5±13	29,5±13	29,5±13	29,5±13	29,5±13
THRR [%]	1mg/kg*	26,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,9	39,8±12,9	29,4±12,9
THRR [%]	5mg/kg*	26,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,9	39,8±12,9	39,8±12,9	39,8±12,9
THRR [%]	1mg/kg + NE*	26,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,8	26,4±12,8	26,4±12,8	26,4±12,8	26,4±12,8
THRR [%]	5mg/kg + NE*	26,4±12,9	29,4±12,9	29,4±12,8	26,4±12,8	26,4±12,8	26,4±12,8	26,4±12,8
THRR [%]	1mg/kg+1400W*	26,4±12,9	29,4±12,9	29,4±16,9	29,4±16,9	29,4±16,9	29,4±16,9	29,4±16,9
THRR [%]	5mg/kg+1400W*	26,4±12,9	29,4±12,9	29,4±16,9	29,4±16,9	29,4±16,9	29,4±16,9	29,4±16,9

Tabelle 5: Destruktionsmarkermessung der neuronenspezifischen Enolase (NSE), Astrozytenmarker (S - 100 B) und Daten von Zytokinen als Gruppe gemittelter Daten ± Standardabweichung

	NSE ng / l	S -100 B ng / ml	IL - 6pg / ml	TNF - α pg ml/	IFN - γ pg / ml
Kontrolle	0.29 ± 0.14	0.63 ± 0.3	93 ± 28	60 ± 22	32 ± 3
5 mg LPS	1.8 ± 0.9	12 ± 8.6	5498 ± 1980	1868 ± 977	1600 ± 540
5 mg LPS + 1400 W	1.6 ± 0.9	11 ± 9.7	4998 ± 1780	1655 ± 877	1800 ± 820
5 mg LPS + NE	2.2 ± 0.4	10 ± 7.7	5300 ± 1654	1285 ± 592	1960 ± 660

4 Diskussion

Das multifaktoriell bedingte Krankheitsbild der Sepsis besitzt einen besonderen Stellenwert in der Intensivmedizin und stellt hier die häufigste Todesursache dar [Bone et. al. 1997].

Da der Pathomechanismus der Sepsis großen Einfluss auf die Regulationsmechanismen der verschiedenen Gefäße hat, fokussierten die meisten Studien ihre Untersuchungen auf die Wiederherstellung der gestörten Makrozirkulation [Thiemermann et.al. 1993]. Neuere Arbeiten zeigen aber, dass vor allem der Mikrozirkulation und somit der bedarfsadaptierten Durchblutung eine besondere Rolle im septischen Krankheitsgeschehen zukommt [Ince 2005].

Die bisherigen Untersuchungen zu den cerebrovaskulären Regulationsmechanismen bedarfsadaptierter Durchblutung beruhen vor allem auf klinische Untersuchungen, die sich auf Tests der cerebralen Autoregulation, die das Vermögen zur Kompensation von systemischen Blutdruckänderungen darstellt, oder der cerebralen Reservekapazität, die die Befähigung zur maximalen Dilatation und somit Blutflusssteigerung darstellt, beziehen. Die wenigen Untersuchungen zur cerebralen Autoregulation bestätigen hierbei die eigenen, vorliegenden Ergebnisse einer recht stabilen Funktion unter septischen Bedingungen [Rosengarten et. al 2006]. Demgegenüber kommen die Studien zur cerebralen Reservekapazität zu unterschiedlichen, zum Teil widersprüchlichen, Ergebnissen. Das Problem hierbei ist, dass verschiedene Patientengruppen mit unterschiedlichen Erkrankungsgraden und - stadien untersucht wurden. Ein weiteres Problem des Testverfahrens zur cerebralen Reservekapazität ist, dass die Vasodilatation auf eine erhöhte pCO₂ Spannung hin untersucht wird. Dabei ist es nicht das CO₂, was vasoaktiv wirkt, sondern das durch die erhöhte Spannung vermehrt auftretende Wasserstoffion H⁺ und die damit verbundene pH - Verschiebung. Da es im Rahmen der Sepsis ebenfalls zu einer Azidose kommt, kann dies das Testverfahren und die dadurch gewonnenen Ergebnisse verfälschen.

Diskussion

Aus diesem Grunde wurde anstelle der Reservekapazität die neurovaskuläre Kopplung bestimmt, was den zusätzlichen Vorteil hat, dass die Gefäßantwort in Relation zu einem cortikalen Signal gesetzt werden kann. Dies erlaubt gegenüber der CO₂ Methode zur Untersuchung der Reservekapazität eine differenziertere Auswertung zu neuronalen oder vaskulären Änderungen.

Die vorliegende Studie befasst sich somit systematisch mit der Störung der bedarfsadaptierten cerebralen Mikrozirkulation und den damit verbundenen cerebrovaskulären Regulationsmechanismen im Rahmen des septischen Krankheitsgeschehen. Die Versuchsgrundlage basiert auf bestimmte Modelle und Techniken, die auf den folgenden Seiten als erstes vorgestellt werden, bevor die Ergebnisse dieser Arbeit diskutiert werden.

4.1 Das Versuchs - Modell

Bei den verschiedenen existierenden Versuchs - Modellen werden „in vivo“ und „in vitro“ Modelle unterschieden. Hierbei beinhaltet das in vivo - Modell den lebenden Organismus und die in vitro - Methode bzw. die Gewebekultur - Modelle beinhalten Zellen, Gewebe, Organe oder Teilorgane, die außerhalb des Körpers mit Hilfe eines Mediums eine bestimmte Zeit am Leben erhalten werden können und werden somit zu der Kategorie der alternativen Methoden zum Tierversuch gezählt.

Zu den in vitro Modellen gehört die Zellkultur. Bei den Zellkulturen handelt es sich um Zellen, die chemisch oder mechanisch voneinander gelöst und in ein Nährmedium überführt werden, wodurch keine Bindung zu einem bestimmten Gewebekomplex besteht. Dieses Modell wird für Rezeptorbindungsstudien in der Pharmakologie genutzt. Zur Beantwortung der vorliegenden Fragestellung ist dieses Modell jedoch nicht geeignet, da das komplexe Geschehen aus Immunreaktion, Stoffwechselreaktionen und Blutdruck nicht imitiert und untersucht werden kann.

Als weitere Stufe ist die Gewebekultur anzusehen. Die Gewebekultur setzt sich aus Teilen von Geweben oder Organen, die in einem Nährmedium

Diskussion

verbracht werden zusammen. Diese werden zur Untersuchung struktureller und funktioneller Beziehungen zwischen Zellen und Geweben eines zu untersuchenden Organs genutzt. Bezogen auf die vorhandene Studie würde das Gehirn als Ganzes oder seine Teile extrahiert und separat vom Körper untersucht werden. In Folge dessen bleibt jedoch die Funktion im Zusammenhang auf bestimmte Körperreaktionen ebenfalls aus, da essentielle Verbindungen zur Peripherie wie Gefäße und Nervenbahnen nicht existieren, was dieses Modell für die vorliegende Studie unanwendbar macht.

Als nächst höhere Stufe gegenüber den in - vitro Modellen ist das Tiermodell als in - vivo Modell anzusehen. Mit Hilfe des Tiermodells können Organfunktionen im komplexen Zusammenhang verschiedener Körperreaktionen dargestellt und untersucht werden. Das Tier sollte hierbei idealerweise eindeutig auf einen bestimmten, möglichst physiologischen Reiz reagieren, so dass biologische Prozesse im Rahmen induzierter pathologischer Vorgänge untersucht werden können. Das Tiermodell soll als Stellvertreter und für den Menschen stehen und soll modellhaft die Prozesse der induzierten Erscheinungen beim Menschen widerspiegeln.

Bezüglich der Tiermodelle werden die meisten Untersuchungen bei Nagern durchgeführt. Hierbei wird die Ratte alternativ zur Maus als Versuchstier für Sepsismodelle verwendet, wenn die Notwendigkeit zur knock out - Maus, wo gezielt ein oder mehrere bestimmte Gene deaktiviert wurden, nicht gegeben ist. Aufgrund der Größe des Tieres ist bei Ratten gegenüber Mäusen die Narkoseführung, Medikamenten - und Substratgabe einfacher. Ausserdem ist sie auch wegen ihrer Größe besonders gut geeignet im Rahmen der vorliegenden Studie die elektrisch stimulierten somatosensorisch evozierten Potentiale bzw. cortikalen Flussänderungen zu erfassen.

Neben der genannten somatosensorischen Stimulation gibt es noch die Möglichkeiten der visuellen, akustischen oder olfaktorischen Stimulation.

Die visuelle Stimulation findet durch die Reizweiterleitung über die Augen bzw. den Nervus opticus statt. Sie ist bezogen auf den verwendeten

Diskussion

Versuchsaufbau bei der Ratte nicht ausreichend ausgeprägt, da die Ratte als Nachttier ihre Augen nicht als Orientierungshilfe gebraucht. Somit kann keine ausreichende Repräsentation auf dem Cortex bewirkt werden, die für die vorliegende Studie benötigt wurde.

Des Weiteren besteht die Verwendung der akustischen Stimulation zur Verfügung, die eine sensitive Stimulation darstellt und über den Gehörgang erfolgt. Hierbei werden Schallwellen über den Meatus acusticus externus (äußerer Gehörgang) fortgeleitet, die einen physiologischen Reiz zur Folge haben. Zur Durchführung ist die ungehinderte Schallwellenfortleitung zu gewährleisten, was in der vorliegenden Arbeit nicht möglich war, da der Kopf des Tieres während der Präparation und dem weiteren Versuchsverlauf in einer stereotaktischen, drehbaren Halterung fixiert wurde (siehe Abbildung 7). Die Fixierung fand über Bolzen statt, die im äußeren Gehörgang eingeführt wurden und dort während des weiteren Versuchsverlaufs verweilten. Somit war eine uneingeschränkte Übertragung der durch akustische Stimulation erzeugte Schallwelle nicht möglich und diese Art der Stimulation war für die vorliegende Studie ebenfalls nicht geeignet.

Zuletzt sei noch die olfaktorische Stimulation, die mit Hilfe von Gerüchen durchgeführt wird, erwähnt. Die olfaktorische Stimulation bedingt einen aufwendigen Aufbau und ist zudem schwer steuerbar [Major and Silver 1999]. Des Weiteren stellen sich die zeitlichen Antworten der Stimulation und Ruhephase zu langsam ein, die eine Auswertung erschweren. Darüber hinaus wäre eine Übertragung der Ergebnisse in die Klinik ebenfalls schwierig, da olfaktorische Reize beim Menschen genauso schwer untersuchbar sind.

4.2 Das Sepsis - Modell

Im Rahmen der Fragestellung der vorliegenden Arbeit wurden pathophysiologische Veränderungen, die dem Verlauf der Sepsis ähneln, in einem ausgewählten Sepsis - Modell simuliert. Dieses verwendete Sepsis - Modell zeichnete sich durch Standardisierbarkeit und Reproduktivität aus, die

Diskussion

essentiell sind, um den zeitlichen Verlauf der neurovaskulären und autoregulativen Integrität im Verlauf der Sepsis erfassen zu können.

In der Einleitung wurde schon auf verschiedene Sepsis - Modelle eingegangen, wobei sich in der vorliegenden Arbeit für das Endotoxinmodell entschieden wurde. Das intravenös geführte Endotoxinmodell bietet eine sehr gute Standardisierbarkeit durch die zeitpunktbekannte und genaue Dosisgabe, wobei durch die intravenöse Gabe zudem eine sichere systemische Aktivierung erreicht werden kann. Es besteht hierbei eine weitgehend reproduktive Dosis - Wirkungs - Beziehung [Fink and Heard 1990].

Ein weiteres oft genutztes Sepsis - Modell stellt das Caecal Ligation and Puncture (CLP) - Modell dar. Es zeichnet sich durch heterogene Faktoren aus und bietet keine exakt vergleichbare Dosis - Wirkungs - Beziehung durch die unbekannte Menge an austretenden Mikroorganismen. Des weiteren ist der Zeitpunkt der Sepsisinduktion variabel, da im Rahmen der Mikroorganismen - Translokation aus dem Darmlumen in die Bauchhöhle keine präzise Zeitpunktbestimmung möglich ist. Darüber hinaus besteht die Darmflora aus einer inhomogenen Mikroorganismen - Population, die einer eindeutigen Artbestimmung entgegen steht.

Unter Berücksichtigung der Fragestellung der vorliegenden Arbeit wurde aufgrund der aufgeführten heterogenen Faktoren des CLP - Modells das Endotoxin - Modell genutzt.

4.3 Die Narkoseführung

Zur Umsetzung der Versuchsdurchführung wurde eine Chloralose - Narkose gewählt. Mit der Wahl des Narkotikums Chloralose ist die Neuronenaktivität nicht beeinträchtigt und die sensorische Stimulation kann einfach durch eine elektrische, somatosensorische Stimulation der Pfoten durchgeführt werden. Hierbei wird ein somatosensorischer Reiz über dem Cortex abgeleitet und kann mit Hilfe eines neurophysiologischen Monitoring über den gesamten

Diskussion

Versuchszeitraum protokolliert werden [Silverman and Muir 1993], [Austin et. al. 2003].

Die Chloralose - Narkose ist aus neurologischer Sicht zur Untersuchung der cerebralen Aktivität geeignet, da sich diese Narkose nicht depressiv auf die Hirn - bzw. Neuronenaktivität auswirkt. Hierbei ist die γ - Oszillation der Gehirnaktivität reduziert, jedoch ohne die Neuronenfunktion einzuschränken [Wang et. al. 2008]. Die γ - Oszillation wird mit höheren kognitiven Funktionen des Gehirns assoziiert [Bragin et. al. 1995] und tritt bei wachen Individuen in Erscheinung. Diese beziehen sich auf Prozesse der sensorischen Informationsverarbeitung [Gray et. al. 1989] und des Bewusstseins [Ward 2003], [John and Prichep 2005], [Jensen et. al. 2007]. Verglichen mit den klassischen Narkosen, wie beispielsweise Ketamin oder Benzodiazepinen, sind diese aus neurologischer Sicht zur Versuchsdurchführung nicht geeignet, da sich diese Narkosen depressiv auf die Hirnaktivität und somit auf die Neuronenfunktion auswirken [Ueki et. al. 1992]. Inhalative Anästhetika wie Isofluran oder Halothan eignen sich ebenfalls nicht, da sie einen NO - stimulierenden Effekt aufweisen und damit die Studienergebnisse beeinflussen könnten. Dies begründet auch die Ausschleichphase zwischen inhalativer Narkose und Beginn der Versuche von 45 Minuten.

Im Rahmen der Chloralose - Narkoseführung kann es zu Hyperexzitationen kommen, die durch Berührungen und sensorische Reize entstehen können. Diese Hyperexzitationen äußern sich in impulsiven Zuckungen [Harding et. al. 1979]. Um diesen Hyperexzitationen vorzubeugen wurde Pancuronium als Muskelrelaxanz verabreicht. Pancuronium relaxiert ausschließlich die somatische Muskulatur und nicht die für den Versuch essentielle, glatte Gefäßmuskulatur.

Zur Versuchsdurchführung ist eine adäquate Narkosetiefe erforderlich. Um dies zu Überprüfen, wurde mittels des Zehenreflexes die Reaktion auf Schmerz getestet. Der Reflex wird durch Klemmen der Zwischenzehenhaut ausgelöst, was eine Schmerzreaktion bei wachen Individuen hervorruft. Hierbei reagiert

Diskussion

das Tier auf diesen Schmerz mit zurückziehen des betroffenen Beines. Aufgrund der Relaxation mittels Pancuronium, was zur Hyperexzitationsprävention verabreicht wurde, kann über die Bewegung die Narkosetiefe nicht herangezogen werden. Da es aber durch den Schmerz zu einer Kreislaufreaktion kommt, kann das Ausmaß der Blutdruckänderung auf den Zehenreflex zur Narkosetiefenbeurteilung herangezogen werden. Es wurde darauf geachtet, dass ein mittleres Zwicken zu keinen Blutdruckänderungen führt. In diesem Fall wurde die Narkose über zusätzliche Gabe von Chloralose nachgesteuert.

Ein wesentlicher Nachteil der Chloralose - Narkose liegt in ihrer schlechten Ausschleichbarkeit bei eventuellen kurzzeitigen und reversiblen Narkoseprotokollen. Dies hat aber in den vorliegenden Finalversuchen keine Relevanz. Des weiteren weist die Chloralose - Narkose eine minimal cardio - vaskuläre Depression auf und hat einen geringgradigen Einfluss auf den Blutdruck [Balis and Monroe 1964], [Metz et. al. 1996], [Wang et. al. 2008]. Zudem induziert die Chloralose - Narkose eine geringe Alkalose, was sich in den gemessenen pH - Werten widerspiegelt, jedoch nicht weiter den Versuchsablauf beeinträchtigt.

4.4 Der Begriff der Mikrozirkulation

Die Fragestellung der vorliegenden Studie beschäftigt sich unter anderem mit der Störung der bedarfsadaptierten cerebralen Mikrozirkulation, die mit Hilfe der LFD - Sonde kontinuierlich aufgezeichnet wurde. Unter dem Begriff der Mikrozirkulation wird die Gesamtheit der Arteriolen, Venolen und Kapillaren verstanden, die man zusammengefasst auch als terminale Strombahn bezeichnet. Der Austausch von Atemgase (O_2 , CO_2), Nährstoffen, Stoffwechselprodukten und Flüssigkeiten findet auf der Ebene der Kapillaren, präkapillaren Arteriolen und postkapillären Venolen per Diffusion statt. Die terminale Strombahn bietet optimale Bedingungen für diesen Prozess, da hier kurze Diffusionswege und dünne Gefäßwände kombiniert mit einer großen

Diskussion

Austauschfläche existieren. Des weiteren fließt das Blut und damit die Erythrozyten in diesem Bereich langsam, was den Substrataustausch erleichtert. Die Mikrozirkulation stellt somit die Grundvoraussetzung für eine adäquate Gewebeoxygenation und letztlich Organfunktion dar. Sauerstoff und Nährstoffe werden den Zellen zugeführt und die Abbauprodukte müssen abtransportiert werden. Zudem werden bei Bedarf immunologische Zellen und diverse körpereigene wie auch von außen zugeführte pharmakologisch wirksame Substanzen zu ihrem Bestimmungsort transportiert [Ince 2005].

Die Mikrozirkulation unterliegt verschiedenen regulatorischen Mechanismen die myogen, durch Dehnungs - und Druckrezeptoren in den Gefäßen, metabolisch, durch die Messung von Substraten und Blutgasen und neurohumoral, d.h. sowohl durch das Nervensystem als auch durch das Hormonsystem gesteuert werden. Hierbei spielen die Gefäßendothelzellen der terminalen Gefäße eine besondere Rolle, da sie den präkapillären Schenkel der glatten Muskelzellen der Arteriolen regulieren [Vallet 2002] und hierdurch den Blutfluss regulieren und das intrazelluläre Milieu aufrecht erhalten. Auftretende Störungen der Mikrozirkulation gehen somit mit einer Dysfunktion der Perfusion und der damit verbundenen Gewebemalnutrition und Ischämie einher. Vorangegangene Studien zeigten im Rahmen der Untersuchung der Sepsis ebenfalls eine mikrozirkulatorische Störung beispielsweise im sublingualen Kapillargebiet [De Backer et. al. 2002].

4.5 Die Hämodynamik im Verlauf der Sepsis

Bei der Sepsisinduktion können kurz nach der Applikation des Endotoxins in Abhängigkeit von der Dosis, spezifische klinische Symptome, pathophysiologische Veränderungen und laborchemische Abweichungen beobachtet werden [Xu et. al. 1993].

Hierbei bestätigen die Ergebnisse der unbehandelten Sepsis - Gruppen der vorliegende Arbeit die erwartete massive systemische Hypotension nach LPS - Gabe, die in Abbildung 15 dargestellt ist.

Diskussion

Diese massive systemische Hypotension wird durch eine pathologische NO - Produktion ausgelöst, die durch die induzierte Aktivität der iNOS entsteht. Dieser Vorgang stellt den Motor des septischen Organversagens dar [Spronk et. al. 2004] und bewirkt einen erheblichen NO - Anstieg, wobei eine Dilatation der Gefäße bis hin zur Vasoplegie entsteht. Die Vasoplegie beinhaltet den Tonusverlust der Gefäßmuskulatur, sodass eine Gefäßkontraktion nicht mehr möglich ist. Dabei versackt das Blut im venösen Schenkel und eine adäquate Perfusion wichtiger Organe kann nicht mehr gewährleistet werden.

Die vorliegende Studie zeigt die beeindruckendsten Ergebnisse im Rahmen der sepsisbedingten Hypotension in der unbehandelten 5 mg/kg - Sepsis - Gruppe. Diese Dosis ist 100 - 1000 mal stärker als unter physiologischen Bedingungen. Da jedoch unter pathologischen Bedingungen eine LPS - Stimulation durch die eigenen im Körper lebenden, fakultativ pathogenen Bakterien stattfinden kann [Fink 1991], [Carrico et. al. 1986], ist diese verabreichte Dosis im Rahmen krankhafter Prozesse durchaus zu erwarten. Die in dieser Studie angewandten Dosen stellen einen Zeitraffer dar, aufgrund der Korrelation mit den Krankheitsstadien. Es kann hierbei ein bestimmter Zeitraum von der Manifestation bis hin zum gewünschten zu untersuchenden Krankheitsstadium dargestellt werden.

Solange physiologische Bedingungen herrschen, ist die mukosale Mikrozirkulation ein Bestandteil der gastrointestinalen Barriere und hilft die im Darmlumen lebenden Bakterien abzugrenzen. Bei Schädigung der mukosalen Mikrozirkulation, die im Rahmen des septischen Krankheitsgeschehen auftritt, wird dieser Bestandteil der physiologischen Barriere des Gastrointestinaltraktes abgeschwächt bis hin zur völligen Aufhebung der protektiven Funktion. Mikroorganismen können aufgrund der Durchlässigkeit der Darmwand aus dem Darmlumen in die Blutbahn gelangen und den Effekt der Sepsis verstärken. In Folge dessen wird das inflammatorische Geschehen aufrecht erhalten bzw. noch verstärkt.

Diskussion

Im Verlauf der Sepsis verändert sich laborchemisch der Hämoglobinwert, was aus Tabelle 3 ersichtlich wird. Hierbei sinkt der Wert in allen Sepsis - Gruppen. Der NaCl - Pancuronium Flüssigkeitsersatz kann diesen Abfall nicht alleine ausreichend erklären, da er nur zum Ausgleich des physiologischen Flüssigkeitsverlust über Transpiration und Miktion dient. Vielmehr kann die später in Erscheinung tretende Nierenfunktionsstörung mit Sistieren der Ausscheidung zum Blutvolumenanstieg beitragen. Parallel kann durch eine Mangel durchblutung der Nieren das Renin - Angiotensin - Aldosteron - System aktiviert werden, was zu einer Wasserrückresorbierung und somit einer Volumenakquisition beiträgt. Des Weiteren kann neben der Nierenfunktionsstörung der weiter unten aufgeführte ansteigende Laktatspiegel als osmotisch wirkende Substanz fungieren und die Flüssigkeitakquisition aus dem Interstitium mit stimulieren.

4.6 Der Metabolismus im Verlauf der Sepsis

Der erhöhte Laktatspiegel entwickelt sich in der Phase des septischen Krankheitsgeschehens, wo das Versacken des Blutes im venösen Schenkel und die sich entwickelnde Kreislaufdepletion eine defizitäre Organperfusion induziert und eine Minderdurchblutung entsteht. Der Stoffwechsel muss vom aeroben auf den anaeroben Stoffwechsel umstellen, um überhaupt noch Energie produzieren zu können. Durch den Beginn des anaeroben Stoffwechsels entsteht vermehrt Laktat wodurch der Blut - Laktatspiegel ansteigt. Dies war bei den unbehandelten Sepsis - Gruppen am Stärksten zu beobachten und ist in Tabelle 3 protokolliert. Zudem läßt der ansteigende Laktatspiegel den Blut pH als Salz der Milchsäure sinken. Es entwickelt sich demnach eine metabolische Azidose, die ein Hinweis auf einen anaeroben Metabolismus ist.

Koch [Koch et. al. 2001] definiert diesen anaeroben Metabolismus als zellulären Stress, der als Indikator einer Gewebe - Dysoxygenierung zu sehen ist. Verbunden mit einer verminderten Muskelperfusion, einem reduzierten Leberstoffwechsel und der reduzierten renalen Ausscheidung, die sich im

Diskussion

Verlauf des septischen Krankheitsgeschehen durch die Minderdurchblutung und der damit verbundenen Funktionsreduzierung entwickelt, steigt die Konzentration des Blut - Laktates weiter an.

Der Anstieg des Blut - Laktatwertes kann darüber hinaus auch mitochondrial bedingt sein kann. *El - Gawad* und *Khalifa* [El-Gawad and Khalifa 2001] demonstrieren in ihrer Arbeit, dass nach LPS - Applikation, in einem frühen Zeitraum von weniger als zwei Stunden, eine Erhöhung von freien Radikalen im Rattenhirn stattfindet, die durch Störung der mitochondrialen Atmungskette entstehen. Hierbei werden vermehrt instabile Reaktionsprodukte produziert, die oxidativen Stress bis hin zur Apoptose verursachen [Messaris et. al. 2004]. Somit kann die mitochondriale Dysfunktion mit zur Pathogenese von MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome) und daraus resultierenden neurologischen Störungen beitragen [Crouser 2004], [Mancuso et. al. 2007].

Eine vermehrte Radikalbildung kann nicht nur mitochondrialbedingt sein, sondern auch durch das gestörte Immunsystem verursacht werden. Eine inflammatorische Antwort aktiviert endogene humorale und zelluläre Mediatoren, inklusive des Komplementsystemes, des koagulations und fibrinolytischen Systems wobei Zytokine und Lipidmediatoren ausgeschüttet werden, wie Eikosanoide, Endothelin - 1 und Plättchen - aktivierender Faktor, die eine DIC (Disseminierte Intravasale Coagulation / Gerinnung) und Leukozytenadhäsion zur Folge haben. Des weiteren führt diese inflammatorische Antwort zu einer Aktivierung der endothelialen Zellen, der Blutplättchen, Makrophagen, Monozyten und Neutrophilen, die Sauerstoff und Stickstoffradikale generieren, die zudem eine Mitochondriendysfunktion triggern können [Koch et. al. 2001].

Im Zusammenhang mit der induzierten Mitochondriendysfunktion kann auch die Kreatin - Kinase Aktivität modifiziert werden. Die Kreatin - Kinase ist ein ATP - regenerierendes Enzym, welches Phosphor auf Adenosindiphosphat (ADP) überträgt und somit ATP produziert. In einem frühen Stadium der Sepsis wird die Mitochondrienfunktion inhibiert, was demzufolge einen Abfall des

Diskussion

Adenosintriphosphat (ATP) - Spiegels hat [Comim et. al. 2008] und einen kompensatorischen Anstieg der Kreatin - Kinase Aktivität induziert. *Whittingham und Lipton* bestätigen in ihrer Studie einen Anstieg der Kreatin - Kinase Aktivität im Cerebellum, Hippocampus, Kortex und Striatum nach Mitochondrieninhibition. Diese Erhöhung der Kreatin - Kinase - Reaktion steigert die ATP - Regenerationskapazität und kann die ATP - Depletion reduzieren, wodurch das Gehirn geschützt und die drohende Zelldegeneration unterbunden werden kann [Whittingham and Lipton 1981]. Dieser protektive Kreatin - Kinase Effekt auf die Gewebe bzw. Organe, die einen hohen Energieverbrauch haben, wie das Gehirn, bewirkt somit bei Ausbleiben eine neurodegenerative Entwicklung, die in einem neuronalen Verlust endet [Brustovetsky et. al. 2001].

4.7 Die Messung der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Cortex

Um im Verlauf der Sepsis einer neuronalen Schädigung präventiv entgegen wirken zu können, ist ein neurologisches Monitoring zu gewährleisten. Folglich wurde zur Überprüfung der neuronalen Aktivität somatosensorische Stimulation gewählt, die durch eine elektrische Vorderpfoten - bzw. Hinterpfotenstimulation ausgeführt und mit Hilfe der Elektro - Encephalo - Graphie (EEG) gemessen werden kann.

Um die neuronale Aktivität darzustellen, stehen neben dem EEG mit der Magnetencephalographie (MEG) und der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) zwei weitere nicht - invasive Alternativen mit der nötigen hohen zeitlichen Auflösung zur Verfügung.

Bei der Magnetencephalographie werden die elektrischen Ströme der Nervenzellenverbände erfasst. Hierbei werden die aktivierten Hirnareale lokalisiert und können zu jedem Zeitpunkt nach einem Reiz gemessen werden. Das Verfahren kann also die neuronale Aktivität ähnlich wie das EEG abbilden. Da es jedoch im Vergleich zum EEG technisch wesentlich aufwendiger ist und

Diskussion

bei Nagern nur schlecht angewandt werden kann, ist dieses Verfahren für die vorliegende Fragestellung einer gestörten neurovaskulären Kopplung weniger geeignet und stellt für die vorliegende Untersuchung keine praktikable Alternative dar.

Die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT oder fMRI - functional magnetic resonance imaging) stellt ein bildgebendes Verfahren dar, das die bedarfsadaptierte Durchblutung und somit nur indirekt die Neuronenaktivität erfasst. Hierbei macht man sich die unterschiedlichen magnetischen Eigenschaften von oxygeniertem und desoxygeniertem Blut zu Nutze, um die Vorgänge mit Hilfe des BOLD (Blood - Oxygen - Level - Dependency) - Effekt, bildlich darzustellen und auszuwerten. Dieses Verfahren setzt eine intakte neurovaskuläre Kopplung voraus, was gerade in der vorliegenden Studie jedoch nicht der Fall war.

In der vorliegenden Arbeit entschieden wir uns für das EEG als direkte Messmethode der neuronalen Aktivität, was den weiteren Vorteil der simultanen Nutzung der LDF - Sonde hat ohne dass Signalinterferenzen entstehen. Hierbei stellt sich somit die EEG - LDF Ableitung als eine ideale Methode dar, um eine zeitlich hoch auflösende Messung der neuronalen Aktivität und der gekoppelten Flussantwort im Verlauf der Sepsis methodisch einfach erfassen zu können.

Zur Induktion der neuronalen Aktivität bzw. der somatosensorischen Signale wurde eine computergestützte elektrische Stimulation gewählt. Die so erhaltenen Signale bzw. Ergebnisse konnten mittels eines Computerprogramms aufgerechnet, zeitabhängig aufsummiert und gemittelt (engl. Averaging) werden, was nach Versuchsende mit Hilfe des Auswertungsprogrammes NEURODYN (Hugo Sachs Elektronik - Harvard Apparatus GmbH, HSE, March - Hugstetten) erfolgte. Folglich wurden die vorliegenden Daten in eine Excel - Datei transferiert, gemittelt und konnten schließlich graphisch dargestellt werden. Diese graphische Darstellung in typischer Wellenform des Potentials nach Latenz und Amplitude, wie in Abbildung 10 gezeigt, ist erst nach 20 - 30 Mittelungen möglich, da die Amplitude der evozierten Potentiale meist kleiner

Diskussion

als die der spontanen EEG - Wellen ist. Hierbei entsteht erst nach 60 durchgeführten Stimulationen eine stabile Potentialkonfiguration, so dass Abweichungen und Störungen der Reizleitung und Reizverarbeitung leicht diagnostiziert werden können.

Bei der genannten elektrischen Stimulation kann zwischen mehreren Orten der Nadelpositionierung gewählt werden. Die somatosensorischen Potentiale können somit über die kontralaterale Vorderpfoten - oder Hinterpfotenstimulation induziert werden, wobei in der vorliegenden Arbeit die kontralaterale Vorderpfotenstimulation gewählt wurde, was die meist genutzte Methode zur Stimulation und Überprüfung der neurovaskulären Kopplung darstellt [Dirnagl et. al. 1993], [Lindauer et. al. 1993], [Ances et. al. 2000], [Rosengarten et. al. 2003].

Ein wesentlicher Vorteil der Vorderpfotenstimulation im Rahmen der Versuchsdurchführung der vorliegenden Arbeit besteht darin, dass das cortikale Vorderpfotenareal zentral im Stromgebiet der Arteria cerebri media liegt. Demzufolge kann neben der Messung der neurovaskulären Kopplung auch die Auswertung der cerebralen Autoregulation mittels Clip - Apparatur zur Überprüfung der cerebralen Autoregulation (Kapitel 4.8) ohne Umsetzen der Laser - Doppler - Sonde für das gleiche mikrozirkulatorische Stromgebiet erfolgen. Hierfür wäre die Hinterpfotenreizung weniger geeignet, da dessen cortikales Areal von der Arteria cerebri anterior versorgt wird, bei der unter der autoregulativen Testung kompensatorisch eine Kollateralisierung aus der gegenüberliegenden Arteria carotis interna über die Arteria communicans anterior zu Ergebnisverfälschungen führen würde.

Des weiteren wäre die Hinterpfotenstimulationen im Rahmen der vorliegenden Fragestellung weniger geeignet gewesen, da durch die eingebrachten Katheder und die Klebebandfixierung der Hinterbeine die Blutentnahmen für die laborchemische Auswertung, die über den arteriellen Zugang stattfand und die Narkoseauffrischungen, die über den venösen Hinterbeinkatheder durchgeführt wurde, erschwert gewesen wäre. Zudem wäre

Diskussion

aufgrund dieser sich wiederholenden Manipulationen auch die Möglichkeit des Verrutschens, wenn nicht sogar das Rausrutschen der Stimulationsnadeln gegeben.

Neben der genannten elektrischen Vorderpfoten - bzw. Hinterpfotenstimulation gibt es die Methode der Barthaarauslenkung, die sogenannte "Whisker" - Stimulation, bei der die Bart - / Schnurrhaare mechanisch ausgelenkt werden. Diese Methode funktioniert ebenfalls aufgrund der ausgeprägten Somatotopie, d.h. der Eigenschaft stimulierte Körperregionen in ihrer neuronalen Repräsentation auf dem Kortex wieder zu geben. Auf dem Kortex, wo die jeweiligen Körperregionen neuronal abgebildet werden, wird diese Region des menschlichen Gyrus postcentralis "Homunculus" genannt. Analog wurde die somatotopische Verteilung der Whiskerareale bei der Ratte als „Ratunculus“ bezeichnet [Welker 1976]. Dieses neuronal abgebildete Areal auf dem Cortex ist bei der Ratte besonders gut ausgeprägt, da die Ratte als Nachttier auf ihre Bart - bzw. Tastaare angewiesen ist, um ihre Umwelt wahr zu nehmen [Cox et. al. 1993]. Es stellt damit ebenfalls ein sensitives System zur Erforschung der neurovaskulären Kopplung dar, da die minimalste Barthaarauslenkung ein neurologisches Signal ergibt [Peterson et. al. 1998]. Ein Nachteil diesen Verfahrens ist die fehlende Übertragbarkeit in die humanmedizinische Anwendung, da der Mensch keine Tastaare in diesem Sinne besitzt.

4.8 Messung der cerebralen Autoregulation

Neben der genannten elektrischen Vorderpfotenstimulation zur Induktion der somatosensorischen Potentiale wurde simultan mittels Clip - Apparatur die Überprüfung der cerebralen Autoregulation, die mit Hilfe der LDF - Sonde aufgezeichnet wurde, durchgeführt. Zur Überprüfung der cerebralen Autoregulation gibt es verschiedene Methoden, die sich etabliert haben [Aaslid et. al. 1989], [Smielewski et. al. 1995], [Matta et. al. 1995], [Smielewsky et. al. 1996], [Cavill et. al. 1998]. Darunter gehören die temporäre Okklusion der

Diskussion

Arteria carotis, die Exsanguation und die medikamentöse Kreislaufdepression. Bezüglich der vorliegenden Arbeit wurde sich für die temporäre Okklusion der Arteria carotis entschieden [Matta et. al. 1995], [Smielewski et. al. 1995], [Smielewsky et. al. 1996], [Cavill et. al. 1998], [Harrison et. al. 2002]. Der Vorteil der temporären Arteria carotis Kompression liegt, wie schon oben ausgeführt (Kapitel 4.7), darin, dass das Vorderpfotenareal im Territorium des Stromgebietes der Arteria carotis media liegt und somit ein Umsetzen des Laser Dopplers somit nicht nötig ist. Diese temporäre Okklusion bzw. Kompression der Arteria Carotis wird mit Hilfe eines Gefäßclips durchgeführt. Diese Methode hat den Vorteil, dass durch Verwendung eines speziellen Gefäßclips eine komplette Okklusion der Arteria carotis communis bewirkt wird, aber es nicht zu einer Traumatisierung des Gefäßes kommt. Ein weiterer Vorteil ist, dass es durch Verwendung des Clips zu keinen massiven systemischen Kreislaufeffekten kommt, die eine Verwendung der Methoden im Rahmen eines hypodynamen Kreislaufversagens im Verlauf der Sepsis problematisieren würde. Dieser, für diese Studie verwendete Gefäßclip, hatte einen Anpreßdruck von 0,25 N. Die Clip - Okklusion - Zeit von 10 Sekunden wurde gewählt, da die Autoregulation in demselben Zeitbereich abgeschlossen ist. Die Parameter, wie THRR (Transient hyperemic response ratio) und CR (Compression Rate), die aus diesem Versuch resultierten, ergaben repräsentative Daten [Rosengarten et. al 2006].

Eine weitere Möglichkeit zur Messung der cerebralen Autoregulation stellt die Technik der temporären Exsanguation dar. Bei der exsanguatorischen Methode wird dem Tier über einen Katheder Blut in eine heparinisierten Spritze entzogen bis der gewünschte Blutdruck zur Messung erreicht ist. Nach der Messung wird das entnommene Blut wieder zurückgeführt. Hierbei besteht jedoch die Gefahr des negativen systemischen Kreislaufeffektes in Form von Zentralisation und der damit verbundenen Hypoperfusion von Organen. Außerdem ist die Reversibilität dieser Methode begrenzt, da das Blut nicht lange in der Spritze verbleiben kann, da das Blut trotz der Heparinisierung

Diskussion

koagulieren kann und die Blutkörperchen zerstört werden können, was die weiteren Messungen sukzessiv negativ beeinflusst.

Zuletzt ist noch die medikamentöse Intervention zur künstlichen Blutdruckvariation genannt. Diese birgt jedoch die Gefahr von diversen unerwünschten pharmakologischen Effekten an dem Gefäßsystem, was die Messungen ebenfalls verfälschen kann.

Zur Aufzeichnung und Auswertung der cerebralen Autoregulation wurde wie für die neurovaskulär Kopplung, die Laser - Doppler - Flussmetrie - Technik mit Hilfe der LDF - Sonde gewählt. Hierbei stellt die Laser - Doppler - Flussmetrie keine absolute Messung des cerebralen Blutflusses dar, jedoch wurde gezeigt, dass relative Änderungen der Perfusion in Autoregulations - Tests gut mit Werten absoluter Messungen übereinstimmen [Ueki et. al. 1992], [Tonnesen et. al. 2005].

4.9 Das cerebrale septische Krankheitsgeschehen

Die Untersuchung und Messung der cerebralen Autoregulation hat in der Intensivmedizin klinische Relevanz, da ein Ausfall der cerebralen Autoregulation eine direkte Abhängigkeit der cerebralen Zirkulation von der Blutdrucksituation bedeutet. Im Krankheitsfall können sich cerebrale autoregulative Störungen entwickeln, die bei entsprechend frühzeitiger Detektierung durch externe Interventionen unterbunden werden können und somit Schutz vor der sekundären Ischämie des Gehirns bieten kann. Um eine autoregulative Störung detektieren zu können sind Funktionsgrenzen zu definieren, ab der die cerebrale Autoregulation beeinträchtigt wird. Bezogen auf die vorliegende Arbeit liegt die untere cerebrale autoregulative Grenze bei Ratten bei einem mittleren Blutdruck von 50 - 60 mmHg, was in vorangegangenen Studien belegt wurde [Hossmann 1994], [Panerai 1998], [Tonnesen et. al. 2005], [Rosengarten et. al 2006]. Diese Druckbereiche sollten nicht unterschritten werden, da es sonst zu Funktionsstörungen des Gehirns kommen kann, da die Gehirnzelle äußerst sensibel gegenüber Sauerstoff - und

Diskussion

Substratmangel bei einem Perfusionmangel reagiert und nicht in der Lage ist dieses Defizit lange zu überbrücken.

In der vorliegenden Studie fiel der Blutdruck auf 65 ± 8 mm Hg bei der 1 mg/kg Sepsis - Gruppe und auf 62 ± 7 mm Hg in der 5 mg/kg Sepsis - Gruppe. Somit blieben die Drücke oberhalb der unteren autoregulativen Grenze. Während dessen ist der cerebrale Blutfluss nicht abgefallen, sondern im weiteren Verlauf der Sepsis sogar angestiegen und es hat sich eine cerebrale Hyperämie eingestellt, die mit einer bedarfsadaptierten Hirndurchblutung nichts mehr zu tun hat. Die cerebrale Hyperämie kann durch Öffnung von Shuntsystemen oder vermehrt inadäquater Kapillarperfusion aufgrund erhöhter NO - Spiegel und resultierender Vasoplegie entstehen. Die Öffnung der Shunts verschlechtern die bedarfsadaptierte Hirndurchblutung weiter und verstärken die inadäquate Hirndurchblutung.

Infolge der inadäquaten Hirndurchblutung oder der Unterschreitung der unteren autoregulativen Grenze kann der cerebrale Blutfluss nicht aufrecht erhalten werden. Dadurch stellt der cerebrale Stoffwechsel vom aeroben auf den anaeroben Stoffwechsel um, infolge dessen vermehrt Laktat produziert wird. Hierdurch wird, wie vorher schon beschrieben, eine weitere Erhöhung des schon vorhandenen Blut - Laktat - Spiegels provoziert, da das so entstandene Laktat, bedingt durch die vorhandene Minderdurchblutung, nicht abtransportiert und verstoffwechselt werden kann.

Obendrein kommt es aufgrund der Minderdurchblutung zu einem Energiemangel, da unter anaeroben Bedingungen nur 2 Mol ATP pro Mol Glukose gebildet werden, während es unter aeroben Bedingungen 36 Mol ATP pro Mol Glukose sind. In Folge dessen stellt die Natrium - Kalium - Pumpe, die ATP - abhängig ist, ihre Funktion ein, die für die Erhaltung des Membrangradienten der Nervenzelle verantwortlich ist. Stellt nun die Natrium - Kalium - Pumpe aus Energiemangel ihre Funktion ein, so bricht das Membranpotential zusammen, da dies abhängig vom Ionenstrom ist, welcher wiederum abhängig vom Ionengradienten ist, der von der Natrium - Kalium -

Diskussion

Pumpe in der Regel erhalten wird. In Folge des Zusammenbruchs des Membranpotentials kann eine physiologische Neuronenfunktion nicht mehr gewährleistet werden und die betroffenen Neuronen bis hin zu den Neuronenverbänden stellen ihre Funktion letztlich ein. Um die Störungen im Reizleitungs- und Verarbeitungssystem identifizieren zu können stehen Parameter zur Verfügung anhand dieser eine Diagnose möglich ist. Diese beginnende Funktionsstörung der Neuronen äußert sich in der Veränderung der Latenzzeiten, wie es die unbehandelten Sepsis - Gruppen zeigen. Hierbei war eine Verlängerung der Latenzzeiten um etwa 2 ms nach einstündiger LPS - Gabe zu beobachten. Hierbei gibt die Latenzzeit den Zeitraum an, den die Nervenzelle benötigt, um auf einen Reiz reagieren zu können. Demnach ist die Verlängerung der Latenzen ein Indiz für die reduzierte Reaktionsfähigkeit der Nervenzelle. Ferner ist eine Verminderung der SEP - Amplituden zu beobachten, die vorerst konstant und erst nach 180 Minuten nach LPS - Gabe eine Abnahme erfuhren und die Stärke der Antwort der Nervenzelle auf einen Reiz wieder geben. Demnach nimmt im Verlauf der Sepsis die Amplitude und damit auch die Reizantwort an Stärke sukzessiv ab.

In der Studie von *Zauner* [Zauner et. al. 2002] und *Ohnesorge* [Ohnesorge et. al. 2003] wird die im Verlauf der Sepsis entstehende SEP Veränderung beschrieben, die durch den Zerfall der Mikrozirkulation und der sich entwickelnden metabolischen Minderversorgung der aktiven Hirnzellen entwickelt. Daraus resultiert die Einstellung der Aktivität der Gehirnzellen, da sie ihren Stoffwechsel nicht aufrecht erhalten können. Dies zeigt sich in einer Veränderung des SEP. Diese SEP - Veränderung könnte Ausdruck des frühen sepsisbedingten Deliriums sein. Das Delirium stellt meist ein Initialsymptom dar und wurde hypothetisch in einem Zusammenhang mit einer bedarfsadaptierten Durchblutung gesehen.

Der cerebralen Blutfluss nimmt demnach eine bedeutende Stellung bezüglich der Nervenzellvitalität ein und hat bei einer defizitären Hirndurchblutung auch negative Auswirkung auf die evozierten Flussantworten,

Diskussion

die sich vermindern, wie es in den unbehandelten Sepsis - Gruppen zu sehen ist (siehe Abbildung 16) aufgrund der sepsisinduzierten NO - Produktion, die eine cerebrale Autoregulation und damit einen adäquaten Blutfluss und somit Stoffwechsel verhindert. In der Studie von *Hossmann* [Hossmann 1994] wird dieser gravierende Einfluss der Hirndurchblutung auf die Stoffwechselfunktionen und die Überlebenschancen der jeweiligen Zellen bestätigt. Ausgehend von normalen Werten von 0,55 ml / mg / Min Hirngewebe wird bei einer Unterschreitung der Durchblutung von 0,45 ml / mg / Min Hirngewebe die Proteinsynthese um 50 % reduziert und wird vollkommen eingestellt bei einer Durchblutung von 0,35 ml / mg / Min. Hiernach wird die anaerobe Glykolyse aktiviert. Der Glukose - Metabolismus wird ab Werten unter 0,25 ml / mg / Min eingestellt und es wird eine Gewebeazidose manifest. Zudem ist die Freisetzung der Neurotransmitter und der Energiemetabolismus ab Werten unter 0,20 ml / mg / Min gestört. Des weiteren sinkt der ATP - Spiegel bei Durchblutungswerten unter 0,13 - 0,14 ml / mg / Min und es entwickelt sich letztlich eine anoxische Depolarisation bei Werten unter 0,15 ml / mg / Min. Schließlich wird die Einstellung der elektrischen Aktivität der Hirnzelle im EEG zwischen Werten von 0,15 und 0,23 ml / mg / Min erkennbar und die evozierten Flussantworten nehmen bei Werten zwischen 0,15 und 0,25 ml / mg / Min ab. Diese Werte der Reduzierung der elektrischen Aktivität und der evozierten Flussantworten liegen weit unter dem Wert der Einstellung der Proteinsynthese und der Aktivierung der anaeroben Glykolyse, jedoch bedeuten sie den Beginn einer neuronalen Funktionsstörung.

Diese Neuronenfunktionsstörung kann bei kurzzeitiger Minderdurchblutung bzw. inadäquaten Anpassung der Hirndurchblutung reversibel sein, führt jedoch bei über mehrere Minuten anhaltender defizitäre Durchblutung bzw. manifest gewordener Mikrozirkulationsstörung zu irreversiblen Gehirnschäden durch Absterben der Hirnzellen. Es ist also intensivmedizinisch von Bedeutung eine frühzeitige Erkennung und Behandlung einzuleiten, beispielsweise bei der sich im Rahmen der Sepsis entwickelnden metabolischen Enzephalopathie, um

Diskussion

Folgeschäden wie der absoluten Dysfunktion der Gehirnzellen entgegen zu wirken. Diese septische Enzephalopathie entwickelt sich in 70 % der Fälle [Ohnesorge et. al. 2003], die bei frühzeitiger Erkennung und Behandlung eine reversible Dysfunktion des zentral - nervösen Systemes darstellt. Der Schweregrad dieser Enzephalopathie kann mit Hilfe der SEP - Latenzen bestimmt werden [Zauner et. al. 2000].

Ohnesorge [Ohnesorge et. al. 2003] interpretiert die Ergebnisse seiner Studie so, dass die somatosensorisch evozierten Potentiale als erstes abnehmen und daher früher detektierbar sind als die makrozirkulatorischen hämodynamischen Veränderungen oder das klinische Auftreten der SIRS. Dieser elektrophysiologische Parameter stellt eine sensitive Vorhersage dar, um eine frühzeitige Erkennung der Sepsis zu ermöglichen.

Verglichen mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie wird ersichtlich, dass die neurovaskuläre Kopplung sogar sensitiver als die SEP - Parameter auf septische Veränderungen reagierte, da die evozierten Flussantworten nach 60 Minuten (vgl. Abbildung 16) und die SEP - Amplituden (vgl. Abbildung 18) erst nach 180 Minuten abnahmen. Diese Konstellation der verminderten evozierten Flussantworten bei noch gleichbleibenden SEP - Amplituden deutet somit auf eine inadäquate Hirndurchblutung hin. Demgegenüber zeigte sich die cerebrale Autoregulation gegenüber den Sepsisveränderungen weitgehend stabil. Erst zum Ende der Versuche hin und beschränkt auf die 5 mg/kg Sepsis - Gruppe, kam es zu einer verminderten Regulation, was in Abbildung Fehler: Referenz nicht gefunden dargestellt ist. Demzufolge muss die klinische Verwendung der cerebralen Autoregulation als Indikator adäquater Hirndurchblutungsregulation im Rahmen inflammatorischer Prozesse kritisch hinterfragt werden. Zu dem Zeitpunkt beginnender Auffälligkeiten der cerebralen Autoregulation besteht schon ein nahezu vollständiger Verlust der neurovaskulären Kopplung und damit inadäquate bedarfsadaptierte Hirndurchblutung.

Des Weiteren geht aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie hervor, dass die zirkulatorischen Änderungen oder die laborchemischen Parameter wie

Diskussion

die Laktat - oder pH - Werte eher späte Marker der Sepsis sind. Dies erklärt sich aufgrund der Tatsache, dass das Laktat zuerst entstehen muss damit ein Einfluss auf den Blut - pH - Wert entstehen kann und dessen Absinken damit induziert.

4.10 Die Katecholamine

Sind die ersten Anzeichen einer mit der Sepsis einhergehenden klinischen Symptome zu erkennen, sind eingrenzende Behandlungsmaßnahmen zu ergreifen. Die klassische Behandlung der sepsisbedingten klinischen Symptome zielen auf die Eingrenzung der Folgesymptome ab. Hierbei können Katecholamine, die zu den körpereigenen Stoffen gehören als stimulierende Substanzen, die an den sympathischen α - und β - Rezeptoren des Herz - Kreislaufsystems wirken, eingesetzt werden. Die Wirkung der Katecholamine wird über G - Protein assoziierte Rezeptoren vermittelt, die sich in folgende Klassen und Subklassen aufteilen: α_1 , α_2 , β_1 , β_2 und β_3 . Diese verschiedenen Subklassen bewirken bei Aktivierung unterschiedliche Signale in der jeweiligen Zielzelle.

Zu dieser Stoffklasse gehören unter anderem das Norepinephrin (Noradrenalin) und das Adrenalin, die je nach Freisetzung - und Wirkort eine weitere Einteilung erfahren.

Hierbei werden Stoffe, die auf dem Blutweg, d. h. endokrin, abgegeben werden und so zur Zielzelle gelangen als Hormone bezeichnet. Des weiteren werden Moleküle, die von Nervenzellen zu denselben abgegeben werden als Neurotransmitter bezeichnet. Norepinephrin ist ein Hormon und Neurotransmitter und wird von verschiedenen Nervenzellen im Gehirn, in den postsynaptischen (noradrenergen) Neuronen des Sympathikus und im Nebennierenmark gebildet.

Die Synthetisierung des Norepinephrin findet im Körper in Varikositäten des sogenannten Terminalretikulums statt, wo es auch gespeichert wird. Dieses Terminalretikulum ist in allen noradrenerg innervierten Organen zu finden bzw.

Diskussion

in den dortigen postganglionär - sympathischen, noradrenergen Nervenfasern. Bedingt durch das Terminalretikulum wird Norepinephrin nicht synaptisch (lokal) sondern diffus über die Nervenendigungen frei gesetzt und es stehen hierdurch große Areale unter noradrenergem Einfluss. Die Freisetzung des Norepinephrins bewirkt eine Blutdruckregulierung in Form einer systemischen Hypertonie über Neurone, die in den vasomotorischen Zentren und in der Nähe des 4. Ventrikels gelegen sind [Engelhardt et. al. 2005]. Bezogen auf das Gefäßsystem hat demnach das Norepinephrin eine höhere Affinität zu α - Rezeptoren und bewirkt eine Vasokonstriktion der glatten Gefäßmuskulatur durch Anstieg der Kalziumkonzentration in der Zielzelle.

Als weiteres Katecholamin ist das Adrenalin genannt, das ebenfalls zu den Hormonen gehört und in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarkes synthetisiert wird. Die Freisetzung des Katecholamins aus dem Nebennierenmark wird durch präganglionäre und sympathisch fortgeleitete Reizantworten ausgelöst durch Hypothalamus und Hirnstamm aufgrund von Stress, Hypoglykämie, Hypoxie, Hyperkapnie, Azidose, Blutverlust, Hypovolämie, Blutdruckabfall u. v. a.. Das Adrenalin besitzt im allgemeinen eine höhere Affinität zu β - Rezeptoren. Die Gefäßwirkung von Adrenalin ist dosisabhängig. Eine geringe Adrenalinkonzentration induziert eine Vasodilatation durch die überlagernde Aktivierung von β_2 - Rezeptoren kombiniert mit einer gering ausgeprägten Vasokonstriktion durch Aktivierung von α_1 - Rezeptoren. Entsprechend induziert eine hohe Adrenalinkonzentration eine Vasokonstriktion durch die ausgeprägte α_1 - Wirkung verbunden mit einer schwachen Vasodilatation durch die β_2 - Wirkung [Duranteau et. al. 1999], [Revelly et. al. 2000], [Wang et. al. 2000], [Yang et. al. 2001].

Die Aktivierung der einzelnen Rezeptoren und deren Subtypen bewirken nicht nur eine Vasokonstriktion oder Vasodilatation im Gefäßgebiet, sondern beinhalten noch weitere Funktionen. Die Aktivierung von α_1 - Rezeptoren bewirkt neben der Vasokonstriktion von Venen und Arteriolen auch eine Vasokonstriktion im Splanchnikusgebiet, der Haut, des Herzens und des

Diskussion

Skelettmuskels. Zudem wird in der Leber die Glukoneogenese (Synthese von Glukose) und Glykogenolyse (Glykogenabbau zu Glukose, Synthese von Glukose) aktiviert, die eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels und damit einer Energiebereitstellung zur Folge hat.

Die α_2 - Rezeptorenaktivierung bewirkt eine Hemmung der Noradrenalinfreisetzung, was eine Tonusreduzierung bewirkt, eine Aktivierung der Thrombozytenaggregation und die Insulinsekretion wird reduziert, was eine Stagnierung des Blutglukosespiegels und damit Energiebereitstellung bedeutet.

Eine Aktivierung der β_1 - Rezeptoren bewirkt eine Frequenz - , Kontraktilitäts - und Leitfähigkeitssteigerung des Herzen. Zudem wird in der Niere die Reninfreisetzung gesteigert, womit das Blutvolumen und gleichzeitig eine Blutdruckerhöhung induziert wird.

Die β_2 - Rezeptoren - Aktivierung bewirkt an den Bronchien eine Dilatation zur Volumensteigerung und der damit verbundenen Erhöhung der O_2 Aufnahme ins Blut. Zudem wird durch eine Vasodilatation an der Skelettmuskulatur eine Durchblutungssteigerung sowie Energiebereitstellung induziert. Des Weiteren wird eine Blutzuckererhöhung durch die Aktivierung der Glukoneogenese und Glykogenolyse in der Leber und der Glykogenolyse im Muskel hervorgerufen. Ferner wird in den Fettzellen die Lipolyse gesteigert, was ebenfalls eine Energiebereitstellung bedeutet.

Bei der β_3 - Rezeptorenaktivierung wird im braunen Fettgewebe, das nur bei neugeborenen Säugern, bei adulten Winterschläfern und bei Nagern vorhanden ist, die Lipolyse aktiviert, die eine weitere Energiequelle und damit Energiebereitstellung darstellt.

Die beschriebenen Wirkungen auf die verschiedenen Rezeptorentypen und deren überwiegend erwünschten Wirkungen machten Norepinephrin für die symptomatische Therapie im Verlauf der Sepsis gegen die massive Hypotension zu einem sinnvollen Therapeutikum. Dennoch entwickelten sich in den letzten Jahren kritische Einwände zur Verwendung von Norepinephrin

Diskussion

durch die starke vasokonstriktorische Wirkung, die in frühen Stadien der Sepsis auch zu einer negativen regionalen Perfusion von Leber, Niere und Gastrointestinaltrakt führen kann. Dies führt zur möglichen Verschlechterung der Mikrozirkulation und folgenden Verstärkung der Organdysfunktion [Duranteau et. al. 1999], [Revelly et. al. 2000], [Wang et. al. 2000], [Yang et. al. 2001]. Dennoch wurde für die vorliegende Arbeit Norepinephrin als Therapeutikum gewählt. Da es im Rahmen der iNOS Induktion zu exzessiven NO - Spiegeln kommt und eine Vasoparalyse induziert wird, erscheint Norepinephrin als sinnvolles Therapeutikum aufgrund der positiven blutdrucksteigernden Eigenschaften. Um jedoch eine negative Wirkung durch vorzeitige Konstriktion auf die Mikrozirkulation und damit substratspezifische negative Effekte von Norepinephrin vermeiden zu können, wurde mit der Therapie verzögert angefangen und der Blutdruck nur in einem niedrig normalen Bereich angehoben. Als Alternativsubstanz wäre Adrenalin denkbar gewesen, jedoch ist der Adrenalineffekt mit einer zusätzlich unerwünschten dilatativen Wirkung behaftet, infolge dessen auf diese Substanz vollständig verzichtet wurde.

Als weitere Alternativsubstanz ist das Nonapeptid Vasopressin (auch Antidiuretisches Peptid, Antidiuretisches Hormon, ADH, Adiuretin, genannt) genannt. Das Vasopressin, was zu den Hormonen gehört, wird im Hypothalamus gebildet und im Hypophysenhinterlappen gespeichert. Seine Freisetzung wird durch Angiotensin II aus dem Hypophysenhinterlappen induziert. Die Freisetzung bewirkt eine vermehrte renale Wasserretention. Bei Fehlen des Vasopressin kann es zum Diabetes insipidus, einer vermehrten Wasserausscheidung kommen. Bei der Verabreichung einer 10 - 100fachen Dosis des Vasopressin kommt es zur Kontraktion von Arteriolen, was auch eine direkte Wirkung auf die Gefäßmuskulatur bedeutet und eine Blutdruckerhöhung zur Folge hat. Negativ ist, dass es keine kompetitiven Antagonisten gibt, und die Coronargefäße vom Herzen, mit betroffen sind, was zu sekundären Herzwirkungen, wie Ischämie, die im weiteren Verlauf bis zum Herztod

Diskussion

verlaufen kann. Das Derivat Felypressin soll eine ähnliche antidiuretische Wirkung, aber eine geringere Wirkung auf die Coronargefäße haben. Felypressin wird als Alternativsperrkörper bei Überempfindlichkeit gegenüber Adrenalin zur Verlängerung der Wirkdauer bestimmter Lokalanästhetika eingesetzt [Engelhardt et. al. 2005], [Frey et. al. 2002]. Ob Felypressin beim septischen Krankheitsgeschehen eingesetzt werden kann, bedarf der weiteren Untersuchung.

4.11 Die iNOS - Inhibitoren

Neben der Anwendung von Katecholaminen erhofft man sich zukünftig von iNOS - Inhibitoren eine klinische Anwendbarkeit. Es existieren zwei verschiedene Arten der iNOS - Inhibitoren, die je nach Funktion in spezifische und unspezifische Inhibitoren kategorisiert werden.

Spezifische Inhibitoren sind seit 1992 bekannt und hemmen selektiver die iNOS Aktivität als die der konstitutiven NOS. Der in der vorliegenden Studie verwendete spezifische iNOS - Inhibitor 1400 W wirkt einer überschießenden NO - Produktion entgegen, indem selektiv die iNOS gehemmt wird. Hierbei führt 1400 W zu einer irreversiblen bzw. extrem langsamen reversiblen Inhibition der induzierbaren NO - Synthase. Außerdem verfügt 1400 W über eine 50fach potentere Wirkung gegen iNOS als gegen eNOS [Garvey et. al. 1997].

In der vorliegenden Arbeit wurde der spezifische iNOS Inhibitor 1400W aufgrund der möglichen Reversibilität der Hemmung und der Neubildung von iNOS als kontinuierliches Bolus - Infusionsregime appliziert, sodass über die 4,5 h Experimentdauer eine sichere Inhibition der iNOS zu erreichen war.

Neben den spezifischen iNOS - Inhibitoren sind noch nicht selektive Hemmer der NO - Synthase, wie L - NA (N(G) - Nitro - L - Arginin) und dessen Methylester L - NAME, bekannt, die in anfänglichen Studien den Wissenschaftlern zur Verfügung standen. Zudem gibt es noch L - NMMA (L - N (G) - Mono - Methyl - L - Arginin), das dosisabhängig wirkt und eine

Diskussion

Zwischenstellung einnimmt. In niedrigen Dosen ist L - NMMA ein relativ selektiver Hemmer der iNOS, wohingegen in höheren Dosen alle Isoformen der NO - Synthase inhibiert werden. Negativ fielen diese nicht - selektiven Hemmer bezüglich ihrer starken Nebenwirkungen auf, die durch Hemmung der konstitutiven NOS erklärbar sind. So spielt eNOS eine wichtige Rolle in der physiologischen Regulation des regionalen Blutflusses. Die Inhibition von eNOS bewirkt somit einen exzessiven vasokonstriktorisches Effekt, was negative Effekte auf die Mikrozirkulation hat. Zudem wird die Adhäsion der Blutplättchen und der Neutrophilen an das Gefäßendothel gefördert, was in einer Verbrauchskoagulopathie mit folgender disseminierter, intravasaler Gerinnung (DIC) und einer mikrovaskulären Thrombose mündet. Des Weiteren hat es einen negativen Effekt auf den kardialen Output. Hierdurch wird der myocardiale Blutfluss zusätzlich reduziert, was zu einer Verschlechterung der Organfunktion führt [Thiemermann et. al. 2001]. Des Weiteren bewirkt die Inhibition von nNOS eine Reduktion der neurovaskulären Kopplung was ebenfalls kontraproduktiv in der therapeutischen Intervention der Sepsis ist.

4.12 Laborchemische Effekte

Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen frühen Zytokinänderungen sind ein Produkt der angeborenen Immunität. Das Immunsystem setzt sich zusammen aus dem angeborenen und dem adaptiven Immunsystem. Hierbei dient das angeborene Immunsystem der ersten Abwehr von Pathogenen. Dabei werden Neutrophile, Makrophagen und dendritische Zellen über die Stimulation des Toll - like Rezeptor 4 aktiviert. Dieser Vorgang geschieht innerhalb von Minuten bis Stunden nach dem Eindringen von Pathogenen in den Wirtsorganismus und basiert auf schnellen Effektor - Mechanismen wie Phagozytose, Aktivierung von proteolytischen Kaskaden, Synthese von potenten antimikrobiellen Peptiden und von der Bildung von Zytokinen. Wird diese erste Barriere von dem Pathogen durchbrochen, wird das adaptive Immunsystem aktiviert durch Stimulierung der T - und B - Lymphozyten, was einen längeren Zeitraum (Stunden bis Tage) aufgrund des komplizierteren

Diskussion

Stimulationsweges in Anspruch nimmt. Die Aktivierung des angeborenen Immunsystems basiert auf keimbahnkodierte Rezeptoren, die sofort auf Pathogene unspezifisch reagieren können, wohingegen beim adaptiven Immunsystem diese Rezeptoren erst gebildet werden müssen und dementsprechend eine spezifische Reaktion hervorrufen. Diese Molekülerkennungsrezeptoren des angeborenen Immunsystems werden zu den pathogen recognition receptors (PRRs) gezählt. Die bekannteste Gruppe von PRRs ist die Familie der Toll - like Rezeptoren (TLR), die mit Hilfe von Signaltransduktionskaskaden das angeborene Immunsystem aktiviert [Ortega-Cava et. al. 2003]. Das Toll - like Protein wurde 1984 von der Biochemikerin Christiane Nüsslein - Vollhard in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* identifiziert [Anderson and Nüsslein-Vollhard 1984]. TLR - 4 wurde als Rezeptor für das LPS identifiziert und steht somit als signalübertragender Rezeptor im Mittelpunkt des Sepsisgeschehens [Abreu und Arditi 2004]. Bei Aktivierung des TLR - 4 werden über intrazelluläre Signalkaskaden die proinflammatorischen Zytokine IL - 6 und TNF - α von Monozyten, die Bestandteil des angeborenen Immunsystems sind synthetisiert [Gosemann et. al. 2010]. Die Ausschüttung von IFN - γ wird von Lymphozyten, die Teil der adaptiven Immunabwehr sind, gebildet, das wiederum eine aktivierende Wirkung auf Makrophagen hat, die Teil des angeborenen Immunsystems sind.

Um die sepsisbedingten Vorgänge im Gehirn nachweisen zu können, wurden biochemische hirnspezifische Markerproteine wie die neuronenspezifische Enolase (NSE) und das S - 100 B gewählt.

Die neuronenspezifische Enolase ist ein glukosespaltendes Enzym, das physiologisch in den Neuronen des Gehirns, im peripheren Nervensystem und im neuroendokrinen Gewebe nachweisbar ist. Das Enzym tritt bei einer globalen cerebralen Ischämie aus dem Zytoplasma der Neuronen in den Liquor und das Blut über und korreliert mit dem klinischen Outcome [Panni und Panni 2008].

Diskussion

Das S - 100 B ist ein Protein der Astroglia, was bei fokalen Ischämien im Liquor und im Serum nachweisbar ist. Der Mechanismus des Übertretens ins Serum ist außer beim Nachweis der Zerstörung einer zuerst intakten Blut- Hirn - Schranke noch nicht weiter erforscht. Des weiteren korreliert die gemessene Menge des S - 100 B mit der Dauer des Kreislaufstillstandes und somit der Ischämie im betroffenen Gebiet. NSE und S - 100 B stellen somit Marker zur Prognose und zur Abschätzung von Folgeschäden dar. Hierbei hat NSE eine prognostische Aussagekraft über das Ausmaß der neuronalen Schädigung, die mit der Höhe der NSE korreliert. [Astudillo et. al. 1996].

4.13 Therapieeffekte

In der vorliegenden Arbeit wurden im Verlauf der Sepsis zwei Therapieregime miteinander verglichen, die die Behandlung mit dem Katecholamin Norepinephrin und mit dem spezifischen iNOS - Inhibitor 1400 W umfassten.

Es wurde endotoxinbedingt eine progressive Hypotension induziert, die experimentell nach LPS - Applikation und einem Verstreichen von einer 30 minütigen Inkubationszeit simuliert wurde. Um dieser systemischen Hypotension entgegen zu wirken wurde das Katecholamin Norepinephrin appliziert, das den Blutdruckabfall wie erwartet effektiv verhindern konnte (siehe Abbildung 21). Diese positive systemische Wirkung von Norepinephrin lässt sich durch die schon oben beschriebene Eigenschaft der Katecholamine erklären, die die sympathischen α - und β - Rezeptoren des Herz - Kreislaufes direkt stimulieren können und die Herzaktivität verstärken und zugleich die Vasokonstriktion fördern. Zudem kann es potenzierend zusammen mit dem Renin - Angiotensin - Aldosteron - System wirken, was aktiv mit an der Blutdrucksteuerung beteiligt ist. Hierbei wird die sepsisbedingte systemische Hypotension mit Hilfe von renalen Barorezeptoren (Druckrezeptoren) registriert, was eine Reninausschüttung zur Folge hat. Das Enzym Renin ist Bestandteil des Renin - Angiotensin - Aldosteron - Systems und zieht, bei Aktivierung, eine

Diskussion

Enzymkaskade nach sich. Zuerst spaltet Renin aus der Leber das Enzym Angiotensin I, was schließlich in Angiotensin II umgewandelt wird und einen vasokonstriktorischen Effekt hat. Das Angiotensin II setzt zudem aus der Nebenniere das Hormon Aldosteron frei, was eine renale Wasserrückresorption und damit Blutdrucksteigerung zur Folge hat. In diesem Zusammenhang hat diese Wasserrückresorption einen verdünnenden Charakter und kann den im Verlauf des Versuches gemessenen sukzessiv sinkenden Hämoglobinwert erklären. Des Weiteren setzt Angiotensin II das Hormon Vasopressin aus der Hypophyse frei, was ebenfalls eine Vasokonstriktion induziert und somit eine potenzierend blutdrucksteigernde Wirkung hat [Koch et. al. 2001].

Im Vergleich hierzu hat 1400 W schon in eigenen Untersuchungen gezeigt, dass diese Therapie über einen blutdruckstabilisierenden Effekt verfügt [Pulamsetti et. al. 2006]. Jedoch zeigte die Behandlung mit 1400 W, verglichen mit den Ergebnissen der Norepinephrin - Gruppe, eine nicht so signifikante Auswirkung auf den systemischen Blutdruck. Dies ist durch die Abwendung der überschießenden NO - Produktion durch Hemmung der iNOS zurück zu führen, wobei weniger NO entsteht und die erhebliche Vasoplegie vermieden wird. Somit können körpereigene Blutdruckregulationssysteme, wie beispielsweise die körpereigene sympathomimetische Achse der Kreislaufregulation oder das Renin - Angiotensin - Aldosteron - System, wenn auch eingeschränkt, wirken. Die fehlende komplette Kompensation lässt auf weitere Faktoren schließen, die eine Rolle bei der sepsisbedingten Kreislaufdepletion haben, was in weiteren Untersuchungen zu klären ist.

Beide Therapieregime haben somit zusammengefaßt einen, wenn auch im unterschiedlich ausgeprägten Maße, positiven Effekt auf die Blutdruckverläufe im Vergleich zu den nicht therapierten Gruppen.

Während des septischen Krankheitsverlaufs entsteht eine metabolische Azidose, die durch einen ansteigenden Blut - Laktatwert erkennbar ist (siehe Tabelle 3). Dieser erhöhte Blut - Laktatwert ist als Indikator einer Gewebe - Dysoxygenierung zu sehen (vgl. Kapitel 4.6) und kann anhand des Blut - Laktat

Diskussion

- Spiegel als indirekter metabolischer Indikator für zellulären Stress [Mizock and Falk 1992] interpretiert werden. Weiterhin kann eine Korrelation zwischen dem Laktat - Wert und der Mortalitäts - Rate gesehen werden, die durch eine fortlaufende Messung des Laktatwertes nicht nur zur Differenzierung von Überlebenden und Nicht - Überlebenden genutzt werden kann [Abramson et. al. 1993]. In dieser Hinsicht ist die Effektivität der Anwendung des Norepinephrin möglicherweise gegeben, da der Laktatwert verglichen mit der Sepsis - Kontrollgruppe gesunken ist. Dies kann durch die Stoffwechselanregung von Norepinephrin erklärt werden, da der Glykogenabbau (Gluconeogenese: Glukosesynthese und Speicherung als Glykogen) aus Laktat in der Leber gefördert wird. Einschränkend muss jedoch auch festgestellt werden, dass auch im geringen Maße durch Katecholamine der Glykogenabbau zu Laktat in Leber und Muskulatur gefördert wird [Lang und Lang 2007]. Obendrein kann Norepinephrin über die Aufrechterhaltung eines mittleren arteriellen Blutdruckes die Organdurchblutung verbessern, wodurch das angehäuften Laktat und andere Stoffwechselprodukte aus den Organen abtransportiert und in der Leber und der Muskulatur verstoffwechselt werden können.

Die Anwendung des spezifischen iNOS Inhibitors 1400 W führt zu keiner Verbesserung des Blut - Laktatwertes verglichen mit der unbehandelten Sepsisgruppe. Hieraus resultiert nach Definition von *Abramson* [Abramson et. al. 1993], dass 1400 W den metabolischen Stress während der Sepsis nicht abwenden kann. Da 1400 W als spezifischer iNOS Inhibitor nur die alleinige Eigenschaft der exzessiven NO Produktionsunterdrückung hat, bleibt die Wirkung auf die Glukoneogenese aus Laktat und damit eine Absenkung der Laktatspiegel wie unter den Katecholaminen aus.

Für das cerebrale Gefäßsystem wurde im Rahmen der vorliegenden Studie eine cerebrale Hyperämie gefunden, die mit Hilfe von 1400 W unterbunden werden konnte. Dies lässt sich ebenfalls durch die Eigenschaft des spezifischen iNOS Inhibitors erklären, wobei eine exzessive NO - Produktion

Diskussion

unterbunden wurde. Dieser Effekt des spezifischen iNOS - Inhibitors kann in Folge dessen auch die Erhaltung der cerebralen Autoregulation erklären, deren Steuerung auf Muskelkontraktionen basiert. Im Vergleich dazu kann Norepinephrin die cerebrale Autoregulation nicht erhalten, da keine protektive Wirkung gegen die massive NO - Produktion im Hirngewebe vorliegt. Aufgrund der intakten Blut - Hirn - Schranke kann Norepinephrin während der ersten Stunden der Sepsis nicht die paravasalen α - Rezeptoren im Hirngefäßsystem erreichen, was eine vasokonstriktive Wirkung gehabt hätte. Auf das intakte cerebrale Gefäßsystem hat Norepinephrin ansonsten keine vasokonstriktive Wirkung. Ferner kann hierüber auch der fehlende protektive Effekt auf die Entstehung der cerebralen Hyperämie erklärt werden [Rosengarten et. al. 2008]. Die gegenüber den nicht behandelten Gruppen sogar verstärkten Hyperämie kann dann durch den Anstieg des systemischen Blutdruckes erklärt werden. Bei auch fehlendem Effekt auf die bedarfsadaptierte Durchblutungsregulation ist dann auszugehen, dass die vermehrte Hirndurchblutung über Shuntsysteme im Gehirn an den Neuronen vorbei geht und somit einer adäquaten Perfusion entspricht.

Norepinephrin wirkt jedoch protektiv gegenüber einem weiteren Abfall der SEP Amplitude. Dieser positive Effekt ist schon in der Literatur beschrieben und deutet auf eine direkte medikamentenspezifische Wirkung von Norepinephrin, die unter nicht septischen Bedingungen getestet wurde [Drouin et. al. 2007]. Unterstützt wird diese Aussage durch das Ergebnis der Destruktionsmarker NSE und S - 100 B, die keine Änderung im Vergleich zu der nicht therapierten Gruppe aufweisen. Der Anstieg der SEP Amplituden durch die Norepinephrintherapie wird über eine vermehrt fokussierte Aktivierung der kortikalen Neuronen erklärt. Dies wird gestützt von Untersuchungen, die zeigten, dass der Sauerstoffmetabolismus bei der Anwendung von Norepinephrin im septischen Krankheitsverlauf nicht verändert ist [Moller et. al. 2004]. Somit kommt es wohl nicht zu einer denkbaren vermehrten Bereitstellung von Energie durch Förderung der Glykogenolyse im Gehirn was

Diskussion

möglicherweise die Neuronenfunktion aufgrund der erhöhten Substratkonzentration verbessern könnte obwohl keine adäquate Perfusion vorhanden ist. Hierbei könnte die Versorgung mit Substraten, wenn auch suboptimal, und damit der Abfall der SEP's gewährleistet werden.

Im Gegensatz dazu hat die Gabe von 1400 W einen depressiven Effekt auf die SEP - Amplituden. Die SEP's brechen mit Gabe von 1400 W ein und bleiben auf einem niedrigen Niveau. Da 1400 W wie schon erwähnt (Kapitel 3.4) die Glukosereserven auszuschöpfen und eine parallele externe Gabe von Glukose obligat zu sein scheint, kann die depressive Wirkung auf die SEP Amplituden durch die fehlenden Energiesubstrate und damit verminderte Neuronenfunktion erklärt werden. Weitere Parameter wie die P1 Latenzen spiegeln dies wieder, wobei eine Latenzverlängerung bis zu 3 ms über den Versuchsverlauf hinweg zu beobachten war. Jedoch zeigt 1400 W diese depressive Wirkung nur unter septischen Bedingungen. Unter nicht septischen Bedingungen zeigten weder der spezifische Inhibitor 1400 W noch andere unspezifische Inhibitoren diese Wirkung [Lindauer et. al. 1996], [Garvey et. al. 1997]. Die Ursache dafür ist noch nicht weiter erforscht und müsste in weiteren Studien geklärt werden. Bezüglich der P1 Latenzen zeigte Norepinephrin ebenfalls keinen protektiven Effekt.

Der weiter oben genannte positive Effekt von Norepinephrin zur Organperfusionsverbesserung ist nicht mit einer Stabilisierung der Mikrozirkulation zu sehen, da die vorliegende Studie zumindest für das Gehirn zeigen konnte, dass eine Störung der Mikrozirkulation im Verlauf der Sepsis durch Norepinephrin nicht verhindert werden konnte. Norepinephrin zeigt keinen protektiven Effekt auf die evozierten Flussantworten und somit auf die adäquate Perfusion bzw. Substratversorgung der Neurone, da Norepinephrin die massive NO - Produktion nicht zu verhindern vermag. 1400 W vermag zwar die evozierten Flussantworten zu stabilisieren in Bezug auf die SEP - Amplitudenverläufe, hat aber selbst unter septischen Bedingungen einen depressiven Effekt auf die SEP's.

Diskussion

Diese evozierten Blutflussantworten vermindern sich schon sehr früh und in der ersten Phase der Sepsis, was zu einer Hirndysfunktion beitragen und in einem Sepsis assoziierten Delirium (septische Enzephalopathie) enden kann.

Diese Ergebnisse der beiden Therapieregime mit Norepinephrin oder 1400 W deuten auf keinen signifikanten neuroprotektiven Effekt hin, was die Werte der Zelldestruktionsmarker NSE und S - 100 B wider spiegeln, die keine Änderung im Vergleich zu der nicht therapierten Sepsis - Gruppe erfahren.

Des weiteren zeigen die Werte der Zytokine, wie die pro - inflammatorischen Entzündungsmediatoren IL - 6, TNF- α und IFN - γ keine signifikante Änderung der Werte gegenüber der nicht therapierten Sepsis - Gruppe [Rosengarten et. al. 2009], [Wolff et. al. 2009]. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass weder 1400 W noch Norepinephrin einen immunmodulatorischen Effekt haben. Darüber hinaus wurde vermutet, dass Katecholamine eine gewisse antiinflammatorische Wirkung haben [Maes et. al. 2000]. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse kann dies jedoch nicht für die frühe Phase der Sepsis bestätigt werden.

5 Zusammenfassung

In der humanmedizinischen, aber auch in der tiermedizinischen Intensivmedizin stellt die Sepsis einen lebensbedrohlichen Zustand dar, der bei kritisch kranken Patienten tödlich enden kann. Hierbei entwickelt sich eine Störung der Makro - , aber auch der Mikrozirkulation mit damit verbundenen Perfusionsstörungen, die in einer klinisch relevanten Organdysfunktion mündet.

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss einer endotoxinvermittelten Sepsis auf die Mikrozirkulation des Gehirnes untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass es schon sehr früh zu einer gestörten bedarfsadaptierten Blutflussregulation (neurovasuläre Kopplung) kommt, gefolgt von einer verzögerten substratmangel - bedingten Neuronendysfunktion. Demgegenüber zeigte sich die cerebrale Autoregulation als wesentlich stabiler, so dass die Testung der Autoregulation in klinischen Situationen falsch negative Befunde liefert.

Die therapeutischen Effekte des Katecholamins Noradrenalin und des spezifischen iNOS - Inhibitors 1400 W zeigten, dass Norepinephrin wie auch 1400 W in der Lage sind den systemischen Kreislauf zu stabilisieren. Demgegenüber konnte Norepinephrin aber das Auftreten einer cerebralen Hyperämie nicht verhindern, während 1400 W hier eine Stabilisierung erbrachte. Die Mikrozirkulationsstörung konnte ebenfalls von Norepinephrin nicht verhindert werden, wobei 1400W eine relative Stabilisierung bei jedoch negativen Auswirkungen auf die somatosensorisch evozierten Potentiale (SEP's) hatte, sodass die Therapie mit iNOS Inhibitoren bzgl. eines klinischen Einsatzes zur Zeit als problematisch gewertet werden muss.

Für die Praxis ergeben sich als Schlussfolgerungen, dass vor allem die Mikrozirkulation im Verlauf einer Sepsis stabilisiert und verbessert werden sollte.

Während Norepinephrin oder 1400 W auf Teilbereiche einen positiven Einfluss haben, zeigen sie auch nachteilige Wirkungen, so dass nach weiteren Therapieregimes geforscht werden muss, die gegebenenfalls das

Zusammenfassung

Mikrozirkulationsversagen verbessern können. Bevor dies endgültig erforscht ist, scheinen Kombinationstherapien erfolgversprechend zu sein, um verschiedene Aspekte der sepsisbedingten Organschädigung therapieren zu können.

6 Summary

In the human and veterinary intensive care unit sepsis represents a life-threatening condition, which can be deadly to critically ill patients.

Here, a dysfunction of the macro - and also micro - circulation with combined perfusion disorders is developed, which ends in a relevant clinical organ dysfunction.

The present work examines the influence of an endotoxin mediated sepsis syndrome on the microcirculation of the brain. It showed an early disturbance of the demand adapted blood flow regulation (neurovascular coupling), followed by a delayed neuronal dysfunction that is based on a limited substrate absence.

On the other hand the cerebral autoregulation is considerably stable, so that clinical tests focussing on the autoregulation might lead to false negative results in clinical situations.

The therapeutical effects of the catecholamine norepinephrine or the specific iNOS - inhibitor 1400 W indicated that norepinephrin and 1400 W can stabilise the macro - circulation. However, norepinephrine cannot prevent the occurrence of cerebral hyperemia, whereas 1400 W showed a stabilisation. However, the breakdown of the microcirculation cannot be prevented by norepinehrine. 1400W showed a relative stabilisation in parallel direct negative effects on the somatosensory evoked potentials (SEP's), so that the therapy with iNOS inhibitors cannot be recommanded in clinical practice unequivocally.

From the study it can be concluded for the praxis that the microcirculation during the course of sepsis syndrome should be stabilised and improved.

While norepinephrin or 1400 W have several positive effects on subdomains, they also have negative effects, so that further therapy regimes are needed, which can improve the microcirculation.

Until final research, combination therapies seems to be successful, to therapy diverse aspects of organic damages induced by a sepsis.

7 Anhang

Literaturverzeichnis

Aaslid et. al. 1989: Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, Normes H, " Cerebral autoregulation dynamics in humans", *Stroke*, 1989; 20(1): 45-52.

Abraham et. al. 2000: Abraham E, Matthay MA, Dinarello CA, Cohen J, Opal SM, et. al., " Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation", *Crit Care Med*, 2000; 28(1): 232-235.

Abramson et. al. 1993: Abramson D, Scalea TM, Hitchcock R, Trooskin SZ, Henry SM, Greenspan J, " Lactate clearance and survival following injury", *J Trauma*, 1993; 35(4): 584-588.

Abreu und Arditi 2004: Abreu MT, Arditi M, " Innate immunity and toll-like receptors: clinical implications of basic science research", *J Pediatr*, 2004; 144(4): 421-429.

ACCP/SCCM 1992: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference, Definition for sepsis and organ failure guidelines for the use of innovative therapies in sepsis, 1992

Ahrenholz and Simmons 1980: Ahrenholz D, Simmons R, " Fibrin in peritonitis. I. Beneficial and adverse effects of fibrin in experimental E. coli peritonitis", *Surgery*, 1980; 88(1): 41-47.

Albrecht and Clowes 1964: Albrecht M, Clowes GH Jr., " The increase of circulatory requirements in the presence of inflammation", *Surgery*, 1964; 56 Jul: 158-171.

Ances et. al 1998: Ances BM, Detre JA, Takahashi K, Greenberg JH, " Transcranial laser doppler mapping of activation flow coupling of the rat somatosensory cortex", *Neurosci Lett*, 1998 Nov 20; 257(1): 25-28.

Ances et. al. 2000: Ances BM, Greenberg J, Detre JA, Dietrich W, " Acute carotid occlusion alters the activation flow coupling response to forepaw stimulation in a rat model", *Stroke*, 2000 Apr; 31(4): 955-960.

Anderson and Nüsslein-Volhard 1984: Anderson KV, Nüsslein-Volhard C, " Information for the dorsal-ventral pattern of the Drosophila embryo is stored as maternal mRNA", *Nature*, 1984 Sep 20-26; 311(5983): 223-227.

Angus and Wax 2001: Angus DC, Wax S., " Epidemiology of sepsis: an update", *Crit Care Med*, 2001 Jul; 29(7 Suppl): 109-116.

Angus et. al. 2001: Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR, " Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated

Anhang

costs of care", Crit Care Med, 2001 Jul; 29(7): 1303-1310.

Arnold et. al. 1977: Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F, " Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3',5'-cyclic monophosphate levels in tissue preparations", Proc Natl Acad Sci USA, 1977 Aug; 74(8): 3203-3207.

Ashman et. al. 1963: Ashman D, Lipton R, Melicow M, Price T, " Isolation of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosin 3',5'-monophosphate from rat urine", Biochem Biophys Res Commun, 1963 May 22; 11: 330-334.

Astudillo et. al. 1996: Astudillo R, Van der Linden J, Radegran K, Hansson LO, Aberg B, " Elevated serum levels of S-100 after deep hypothermic arrest correlate with duration of circulatory arrest", Eur J Cardiothorac Surg, 1996 10(12); : 1107-1112.

Austin et. al. 2003: Austin VC, Blamire AM, Styles P, Matthews PM, Sibson NR, " Anaesthesia dependence of the fMRT response to direct cortical stimulation in the rat ", Proc Intl Soc Mag Reson Med, 2003; 11: 351.

Balis and Monroe 1964: Balis GU, Monroe RR, " The pharmacology of chloralose. A review", Psycho, 1964 Jul 6; 6(1): 1-30.

Bauer 2002: Bauer P, " Microvascular response to sepsis: clinical significance", Pathophysiology, 2002 Jun; 8(3): 141-148.

Berlit et. al. 1999: Berlit P., Kühne D., Meyring S., Strehlow K., Klinische Neurologie, 4.6. Evozierte Potentiale; 1999, ISBN 3-540-65281-7

Bochud and Calandra 2003: Bochud PY, Calandra T, " Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment", BMJ, 2003 Feb 1; 326(7383): 262-266.

Bone 1991: Bone RC, " The pathogenesis of sepsis", Ann Intern Med, 1991 Sep 15; 115 (6): 457-469.

Bone 1996: Bone RC, " Sir Isaak Newton, sepsis, SIRS and CARS", Crit Care Med, 1996 Jul; 24(7): 1125-1128.

Bone et. al. 1997: Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA, " Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process", Chest, 1997 Jul; 112(1): 235-243.

Brackett et. al 1985: Brackett DJ, Schaefer CF, Tompkins P, Fagraeus L, Peters LJ, Wilson MF, " Evaluation of cardiac output, total peripheral vascular resistance, and plasma concentrations of vasopressin in the conscious, unrestrained rat during endotoxemia", Circ Shock, 1985; 17(4): 273-284.

Bragin et. al. 1995: Bragin A, Jando G, Nadasdy Z, Hefke K, Buzsaki G, " Gamma (40-100 Hz)

Anhang

oscillation in the hippocampus of the behaving rat", *J Neurosci*, 1995 Jan; 15(1 Pt 1): 47-60.

Browne and Leslie 1976: Browne MK, Leslie GB, " Animal models of peritonitis", *Surg Gynecol Obstet*, 1976 Nov; 143(5): 738-740.

Bruin et. al. 1994: Bruin KF, Von der Mühlen MA, Van Deventer DJ , " Endotoxemia and sepsis: Important roles for lipopolysaccharide binding protein and CD14 in endotoxin signal transduction", Berlin Heidelberg, New York, Springer Verlag, 1994; : 53-60.

Brustovetsky et. al. 2001: Brustovetsky N, Brustovetsky T, Dubinsky JM, " On the mechanisms of neuroprotection by creatine and phosphocreatine ", *J Neurochem*, 2001 Jan; 76(2): 425-434.

Calandra et. al. 2002: Calandra T, Bochud PY, Heumann D, " Cytokines in septic shock", *Curr Clin Top Infect Dis*, 2002; 22: 1-23.

Carrico et. al. 1986: Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, " Multiple - organ - failure - syndrome: The gastrointestinal tract: the "motor of MOF"", *Arch Surg*, 1986; 121: 197-201.

Cavill et. al. 1998: Cavill G, Simpson EJ, Mahajan RJ, " Factors affecting assessment of cerebral autoregulation using the transient hyperaemic response test", *Br J Anaesth*, 1998 Sep; 81(3): 317-321.

Ciesielski and Modzelewski 1995: Ciesielski L, Modzelewski B, " Pathogenesis and treatment of multiorgan failure dysfunction syndrome in shock.", *Rocz Akad Med Bialymst*, 1995; 40(1): 13-24.

Comim et. al. 2008: Comim CM, Rezin GT, Scaini G, Di-Pietro PB, Cardoso MR, Petronilho FC, Ritter C, Streck EL, Quevedo J, Dal-Pizzol F, " Mitochondrial respiratory chain and creatine kinase activities in rat brain after sepsis induced by caecal ligation and perforation", *Mitochondrion*, 2008 Jul 9; 8(4): 313-318.

Cox et. al. 1993: Cox S, Woolsey T, Rovainen C, " Localized dynamic changes in cortical blood flow with whisker stimulation corresponds to matched vascular and neuronal architecture of rat barrels", *J Cereb Blood Flow Metab*, 1993 Nov; 13(6): 899-913.

Crouser 2004: Crouser ED, " Mitochondrial dysfunction in septic shock and multiple organ dysfunction syndrome", *Mitochondrion*, 2004 Sep; 4(5-6): 729-741, Epub 2004 Oct 2.

De Backer et. al. 2002: De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL, " Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis", *Am J Respir Crit Care Med*, 2002 Jul 1; 166(1): 98-104.

Denninger and Marletta 1999: Denninger JW, Marletta MA, " Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway", *Biochim Biophys Acta*, 1999 May 5; 1411(2-3): 334-350.

Detre et. al. 1998: Detre JA, Ances BM, Takahashi K, Greenberg JH, " Signal averaged laser doppler measurements of activation-flow coupling in the rat forepaw somatosensory cortex", *Brain*

Anhang

Res, 1998 Jun 15; 796: 91-98.

Dirnagl et. al 1994: Dirnagl U, Niwa K, Lindauer U, Villringer A, " Coupling of cerebral blood flow to neuronal activation: role of adenosine and nitric oxide", Am J Physiol, 1994 Jul; 267(1 Pt 2): H296-H301.

Dirnagl et. al. 1989: Dirnagl U, Kaplan B, Jacewicz M, Pulsinelli W, " Continuous measurement of cerebral cortical blood flow by laser-doppler flowmetry in a rat stroke model", J Cereb Blood Flow Metab, 1989 Oct; 9(5): 589-596.

Dirnagl et. al. 1993: Dirnagl U, Lindauer U, Villringer A, " Role of nitric oxide in the coupling of cerebral blood flow to neuronal activation in rats", Neurosci Lett, 1993 Jan 4; 149(1): 43-46.

Drouin et. al. 2007: Drouin C, Wang D, Waterhouse BD, " Neurophysiological actions of methylphenidate in the primary somatosensory cortex", Synapse, 2007 Dec; 61(12): 985-990.

Duranteau et. al. 1999: Duranteau J, Sitbon P, Teboul L, Vicaut E, Anguel N, Richard C, Samii K, " Effects of epinephrine, norepinephrine, or the combination of norepinephrine and dobutamine on gastric mucosa in septic shock", Crit Care Med, 1999 May; 27(5): 893-900.

El-Gawad and Khalifa 2001: El-Gawad Abd HM, Khalifa AE, " Quercetin, coenzyme Q10 and L-canavanine as protective agents against lipid peroxidation and nitric oxide generation in endotoxin-induced shock in rat brain", Pharmacol Res, 2001 Mar; 43(3): 257-263.

Engelhardt et. al. 2005: W.von Engelhardt, G.Breves, Physiologie der Haustiere, 9.4.2 Kontrolle der lokalen Durchblutung; 2005, ISBN 3-7773-1429-3

Faust et. al. 2001: Faust SN, Heyderman R, Levin M, " Coagulation in severe sepsis: a central role for thrombomodulin and activated protein C", Crit Care Med, 2001 Jul; 29(7 Suppl): S62-S67.

Feldmann et. al. 1993: Feldmann PL, Griffith OW, Stuehr DJ, " The surprising life of nitric oxide", Chem Engin News, 1993; 71: 26-38.

Fink 1991: Fink MP, " Gastrointestinal mucosal injury in experimental models of shock, trauma and sepsis", Crit Care Med, 1991 May; 19(5): 627-641.

Fink and Heard 1990: Fink MP, Heard SO, " Laboratory models of sepsis and septic shock", J Surg Res, 1990 Aug; 49(2): 186-196.

Frey et. al. 2002: H.H.Frey, W.Löscher, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 7.3.1 Antidiuretisches Hormon (ADH, Vasopressin); 2002, ISBN 3-7773-1797-7

Frey et. al. 2002 a: H.H.Frey, W.Löscher, G.Sponer, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 5.3.2.2 Vasodilatoren, die überwiegend die Kapazitätsgefäße relaxieren; 2002, ISBN 3-7773-1797-7

Anhang

Frey et. al. 2002 b: H.H.Frey, W.Löscher, U.Ebert, R.Schulz, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 3.1.1 Blut-Hirn-Schranke; , ISBN 3-7773-1797-7

Furchgott and Zawadzki 1980: Furchgott RF, Zawadzki JV, " The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine", Nature, 1980 Nov 27; 288(5789): 373-376.

Garvey et. al. 1997: Garvey EP, Oplinger JA, Furfine ES, Kiff RJ, Laszlo F, Whittle BJ, Knowles RG, " 1400W is a slow, tight binding, and highly selective inhibitor of inducible nitric-oxide synthase in vitro and in vivo", J Biol Chem, 1997 Feb 21; 272(8): 4959-4963.

Gogos et. al. 2000: Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A, " Pro- versus antiinflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options", J Infect Dis, 2000 Jan; 181(1): 176-180.

Goldberg et. al. 1969: Goldberg ND, Dietz SB, O'Toole AG, " Cyclic guanosine 3',5'-monophosphate in mammalian tissues and urine", J Biol Chem, 1969 Aug 25; 244(16): 4458-4466.

Gosemann et. al. 2010: Gosemann JH, Van Griensven M, Barkhausen T, Kobbe P, Thobe BM, Haasper C, Pape HC, Hildebrand F, Frink M, " TLR4 influences the humoral and cellular immune response during polymicrobial sepsis", Injury Int. J Care Injured 41, 2010 Jun 28; : 1060-1067.

Gray et. al. 1989: Gray CM, König P, Engel A, Singer W, " Oscillatory response in cat visual cortex exhibit intercolumnar synchronization which reflects global stimulus properties", Nature, 1989; 338: 334-337.

Grinnell and Joyce 2001 : Grinnell BW, Joyce D, " Recombinant human activated protein C: a system modulator of vascular function for treatment of severe sepsis", Crit Care Med, 2001 Jul; 29(7 Suppl): S53-S60.

Harding et. al. 1979: Harding GW, Stogsdill RM, Towe AL, " Relative effects of pentobarbital and chloralose on the responsiveness of neurons in sensorimotor cerebral cortex of the domestic cat", Neuroscience, 1979; 4(3): 369-378.

Hardman and Sutherland 1969: Hardman JG, Sutherland EW, " Guanylyl cyclase, an enzyme catalyzing the formation of guanosin 3',5'-monophosphate from guanosine triphosphate. Catalytic activity", J Biol Chem, 1969; 244: 6363-6370.

Harrison et. al. 2002: Harrison JM, Girling KJ, Mahajan RP, " Effects of propofol and nitrous oxide on middle cerebral artery flow velocity and cerebral autoregulation", Anaesthesia, 2002 Jan; 57(1): 27-32.

Hossmann 1994: Hossmann KA, " Viability Thresholds and the Penumbra of Focal Ischemia", Ann Neurol, 1994 Oct; 36(4): 557-565.

Anhang

Hotchkiss et. al. 1992: Hotchkiss RS, Karl IE, Parker JL, Adams HR, " Inhibition of NO synthesis in a septic shock ", Lancet, 1992 Feb 15; 339(8790): 434-435.

Ignarro 1989: Ignarro LJ, " Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein", Circ Res, 1989 Jul; 65(1): 1-21.

Ignarro et. al. 1987: Ignarro LJ, Buga GM, Keith SW, Byrns RE, Chaudhuri G, " Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide", Proc Natl Acad Sci USA, 1987 Dec; 84: 9265-9269.

Ince 2005: Ince C, " The microcirculation is the motor of sepsis", Crit Care Med, 2005; 9(Suppl 4): S13-S19.

Jensen et. al. 2007: Jensen O, Kaiser J, Lachaux J, " Human gamma-frequency oscillations associated with attention and memory", Trends Neurosci, 2007 Jul; 30(7): 317-324 Epub 2007 May 17.

John and Prichep 2005: John EP, Prichep LS, " The anaesthetic cascade: a theory of how anesthesia suppresses consciousness", Anesthesiology, 2005 Feb; 102(2): 447-471.

Johnston et. al. 1989: Johnston TD, Hampton WW, Fry DE, " Septic hemodynamics produced by infusion of endotoxin", Curr Surg, 1989 Mar-Apr; 46(2): 101-103.

Katsuki et. al. 1977: Katsuki S, Arnold W, Mittal C, " Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine", J Cyclic Nucleotide Res, 1977 Feb; 3(1): 23-35.

Kirkeböen and Strand 1999: Kirkeböen KA, Strand OA, " The role of nitric oxide in sepsis-an overview", Acta Anaesthesiol Scand, 1999 Mar; 43(3): 275-288.

Koch et. al. 2001: Koch T., Geiger S., Ragaller M., " Monitoring of organ dysfunction in sepsis/systemic inflammatory response syndrome: novel strategies", J Am Soc Nephrol, 2001; 12: S53-S59.

Landmann et.al. 1996: Landmann R, Reber A, Sansano S, Zimmerli W, " Function of soluble CD14 in serum from patients with septic shock ", J Infect Dis, 1996 Mar; 173(3): 661-668.

Lang und Lang 2007: Lang F., Lang P., Basiswissen Physiologie, 10.3Energiehaushalt und Wachstum ; 2007, ISBN 3540714014

Lassen 1959: Lassen N, " Cerebral blood flow and oxygen consumption in man", Physiol Rev, 1959 Apr; 39(2): 183-238.

Leniger-Follert und Hossmann 1979: Leniger-Follert E, Hossmann KA, " Simultaneous measurements of microflow and evoked potentials in the somatomotor cortex of the cat brain during

Anhang

specific sensory activation", *Pflugers Arch*, 1979 May 15; 380(1): 85-89.

Lindauer et. al. 1993: Lindauer U, Villringer A, Dirnagl U, " Characterization of CBF response to somatosensory stimulation: model and influence of anesthetics", *Am J Physiol*, 1993 Apr; 264(4 Pt 2): H1223-H1228.

Lindauer et. al. 1996: Lindauer U, Megow D, Schultze J, Weber JR, Dirnagl U, " Nitric oxide synthase inhibition does not affect somatosensory evoked potentials in the rat", *Neurosci Lett*, 1996; 216: 207-210.

Liu et. al. 1996: Liu SF, Adcock IM, Old RW, Barnes PJ, Evans TW, " Differential regulation of the constitutive and inducible nitric oxide synthase mRNA by lipopolysaccharide treatment in vivo in the rat", *Crit Care Med*, 1996 Jul; 24(7): 1219-1225.

Löffler und Petrides 1998: Löffler, Petriedes, , *Biochemie und Pathobiochemie*; 1998, ISBN 3-540-643-50-8

Lush and Kvietys 2000: Lush CW, Kvietys PR, " Microvascular dysfunction in sepsis", *Microcirculation*, 2000 Apr; 7(2): 83-101.

Maes et. al. 2000: Maes M, Lin A, Kenis G, Egyed B, Bosmans E, " The effects of noradrenaline and alpha-2 adrenoceptor agents on the production of monocytic products", *Psychiatry Res*, 2000 Nov 20; 96(3): 245-253.

Major and Silver 1999: Major DA, Silver WL, " Odorants presented to the rat nasal cavity increase cortical blood flow", *Chem Senses*, 1999 Dec; 24(6): 665-669.

Mancuso et. al. 2007: Mancuso C, Scapagini G, Curro D, Giuffrida Stella AM, De Marco C, Butterfield DA, Calabrese V, " Mitochondrial dysfunction, free radical generation and cellular stress response in neurodegenerative disorders", *Front Biosci*, 2007 Jan 1; 12: 1107-1123.

Marshall 2000: Marshall JC, " SIRS and MODS: what is their relevance to the science and practice of intensive care?", *Shock*, 2000 Dec; 14(6): 586-589.

Matsuura and Kanno 2001: Matsuura T, Kanno I, " Quantitative and temporal relationship between local cerebral blood flow and neuronal activation induced by somatosensory stimulation in rats", *Neurosci Res*, 2001 Jul; 40(3): 281-290.

Matta et. al. 1995: Matta B, Lam A, Strebel S, Mayberg T, " Cerebral pressure autoregulation and carbon dioxide reactivity during propofol-induced EEG suppression", *Br J Anaesth*, 1995; 74(2): 159-163.

Mc Cuskey et. al. 1996: Mc Cuskey R, Urbaschek R, Urbaschek B, " The microcirculation during endotoxemia", *Cardiovasc Res*, 1996 Oct; 32(4): 752-763.

Anhang

Messarís et. al. 2004: Messaris E, Memos N, Chatzigianni E, Konstadoulakis MM, Menenakos E, Katsaragakis S, Voumvourakis C, Androulakis G, " Time-dependent mitochondrial-mediated programmed neuronal cell death prolongs survival in sepsis", Crit Care Med, 2004 Aug; 32(8): 1764-1770.

Metz et. al. 1996: Metz CJ, Ise T, Häberle DA, " Chloralose/ketamine anaesthesia preserves a form of postprandial sodium chloride balance in wistar rats", Pflugers Arch, 1996 Sep; 432(5): 944-947.

Mizock and Falk 1992: Mizock BA, Falk JL, " Lactic acidosis in critical illness", Crit Care Med, 1992 Jan; 20(1): 80-92.

Moller et. al. 2004: Moller K, Qvist T, Tofteng F, Sahl C, Sonderkaer S, Dethloff T, Knudsen GM, Larsen FS, " Cerebral blood flow and metabolism during infusion of norepinephrin and propofol in patients with bacterial meningitis", Stroke, 2004 Jun; 35(6): 1333-1339.

Moncada et. al. 1988: Moncada S, Palmer RM, Higgs EA, " The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator", Hypertension, 1988 Oct; 12(4): 365-372.

Murad 2006: Murad F., " Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development", N Engl J Med, 2006; 355: 2003-2011.

Ngai et. al. 1995: Ngai AC, Meno JR, Winn HR, " Simultaneous measurements of pial arteriolar diameter and laser-doppler flow during somatosensory stimulation", J Cereb Blood Flow Metab, 1995; 15(1): 124-127.

Ohnesorge et. al. 2003: Ohnesorge H, Bischoff P, Scholz J, Yekebas E, Schulte am Esch J, " Somatosensory evoked potentials as predictor of systemic inflammatory response syndrome in pigs?", Intensive Care Med, 2003; 29(5): 801-807.

Ortega-Cava et. al. 2003: Ortega-Cava CF, Ishihara S, Rumi MA, Kawashima K, Ishimura N, Kazumori H, Udagawa J, Kadowaki Y, Kinoshita Y, " Strategic compartmentalization of Toll-like-receptor 4 in the mouse gut", J Immunol, 2003 Apr 15; 170(8): 3977-3985.

Palmer et. al. 1987: Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S, " Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor", Nature, 1987 Jun 11-17; 327(6122): 524-526.

Panerai 1998: Panerai RB, " Assessment of cerebral pressure autoregulation in humans- a review of measurement methods", Physiol Meas, 1998; 19(3): 305-338.

Panni und Panni 2008: Panni JK, Panni MK, " Changes in S100B levels rather than absolute values may be a better marker of severity of septic encephalopathy", Br J Anaesth, 2008 Mar; 100(3):419: 419-420.

Parillo 1993: Parillo JE, " Pathogenetic mechanisms of septic shock", N Engl J Med, 1993 May;

Anhang

328(20): 1471-1477.

Peterson et. al. 1998: Peterson BE, Goldreich D, Merzenich MM, " Optical imaging and electrophysiology of rat barrel cortex. I. Response to small single-vibrissa deflections", *Cereb Cortex* , 1998 Mar; 8(2): 173-183.

Pinsky et. al. 1993: Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, Alegre M, Kahn RJ, Dupont E, " Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality", *Chest*, 1993 Feb ; 103(2): 565-575.

Pulamsetti et. al. 2006: Pulamsetti SS, Maring D, Ghofrani H, Mayer K, Weissmann N, Rosengarten B, Lehner M, Schudt C, Boer R, Grimminger F, Seeger W, Schermuly RT, " Effect of nitric oxide synthase (NOS) inhibition on macro- and microcirculation in a model of rat endotoxic shock", *Thromb Haemost*, 2006 Apr; 95(4): 720-727.

Rall and Sutherland 1958: Rall TW, Sutherland EW, " Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles", *J Biol Chem*, 1958 Jun; 232(2): 1065-1076.

Revelly et. al. 2000: Revelly JP, Liaudet L, Frascarolo P, Joseph JM, Martinet O, Markert M, " Effects of norepinephrine on the distribution of intestinal blood flow and tissue adenosine triphosphate content in endotoxic shock", *Crit Care Med*, 2000 Jul; 28(7): 2500-2506.

Rosengarten et. al 2006: Rosengarten B, Hecht M, Kaps M, " Carotic compression: investigation of cerebral reserve in rats", *J Neurosci Methods*, 2006 Apr; 152(1-2): 202-209.

Rosengarten et. al. 2003: Rosengarten B, Lutz H, Hossmann KA, " A control system approach for evaluating somatosensory activation by laser-doppler flowmetry in the rat cortex", *J Neurosci Methods*, 2003 Nov; 130(1): 75-81.

Rosengarten et. al. 2008: Rosengarten B, Walberer M, Allendoerfer J, Mueller C, Schwarz N, Bachmann G, Gerriets T, " LPS-induced endotoxic shock does not cause early brain edema formation - A MRI study in rats", *Inflamm Res*, 2008 Okt; 57(10): 479-483.

Rosengarten et. al. 2009 : Rosengarten B., Wolff S., Klatt S. Schermuly RT, " Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition or norepinephrine on the neurovascular coupling in an endotoxic rat shock model", *Crit Care*, 2009 Aug; 13(4):R139: 1-8.

Roy and Sherrington 1890: Roy CS, Sherrington CS, " On the regulation of the blood supply of the brain", *J Physiol*, 1890 Jan; 11(1-2): 85-158.

Sands et. al. 1997: Sands KE, Bates DW, Lanken PN, Graman PS, Hibberd PS, Kahn KL, Parsonnet J, Panzer R, Orav EJ, Snyderman DR, Black E, Schwartz JS, Moore R, Johnson BL Jr., Platt R, Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group, " Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers", *JAMA*, 1997 Jul 16; 278(3): 234-240.

Anhang

- Schottmüller 1914:** Schottmüller H, " Wesen und Behandlung der Sepsis", Verh Dtsch Ges Inn Med , 1914; 31: 257-280.
- Schultz and Schultz 1977:** Schultz K, Schultz G, " Sodium nitroprosside and other smooth muscle-relaxants increase cyclic GMP levels in rat ductus deferens", Nature, 1977 Feb 24; 265 (5596): 750-751.
- Schultz et. al. 1969:** Schultz G, Böhme E, Munske K, " Guanyl cyclase. Determination of enzyme activity", Life Sci, 1969 Dec 15; 8(24): 1323-1332.
- Schusser 2004:** Schusser G, " Septikämie beim Fohlen", Vet Med Report, 2004; 28: V91-V93.
- Scott and Mc Cormack 1999:** Scott JA, Mc Cormack DG, " Selective in vivo inhibition of inducible nitric oxide synthase in a rat model of sepsis", J Appl Physiol, 1999; 86(5): 1739-1744.
- Silverman and Muir 1993:** Silverman J, Muir WW Brd., " A review of laboratory animal anaesthesia with chloral hydrate and chloralose", Lab Anim Sci, 1993; 43(3): 210-216.
- Smielewski et. al. 1995:** Smielewski P, Czosnyka M, Piechnik S, Whitehouse H, " Computerised transient hyperaemic response test- a method for the assessment of cerebral autoregulation", Ultrasound Med Biol, 1995; 21(5): 599-611.
- Smielewsky et. al. 1996:** Smielewsky P, Czosnyka M, Kirkpatrick P, Mc Eroy H, Rutkowska H, Pickard JD, " Assessment of cerebral autoregulation using carotic artery compression", Stroke, 1996; 27(12): 2197-2203.
- Spronk et. al. 2004:** Spronk P., Zandstra D., Ince C., " Bench-to-beside review: sepsis is a disease of the microcirculation", Crit Care Med, 2004; 8: 462-468.
- Stern 1975:** Stern MD, " In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering", Nature, 1975 Mar; 254(5495): 56-58.
- Stuehr and Griffith 1992:** Stuehr DJ, Griffith OW, " Mammalian nitric oxide synthases", Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol, 1992; 65: 287-346.
- Tesmer and Sprang 1998:** Tesmer JJ, Sprang SR, " The structur, catalytic mechanism and regulation of adenylyl cyclase", Curr Opin Struct Biol, 1998 Dec; 87(6): 712-719.
- Thiemermann 1997:** Thiemermann C, " Nitric oxide and septic shock", Gen Pharmacol, 1997 Aug; 29(2): 159-166.
- Thiemermann et. al. 2001:** Thiemermann C, Spies C, Radermacher P, Briegel J, " Neue Ansätze der Therapie mit vasoaktiven Substanzen bei Sepsis und Multiorgandyfunktion-Syndrom", Steinkopff Verlag, 2001; 38: 128-137.
- Thiemermann et.al. 1993:** Thiemermann C., Szabo C., Mitchell J.A., Vane J.R., " Vascular

Anhang

hyporeactivity to vasoconstrictor agents and haemodynamic decompensation in haemorrhagic shock is mediated by nitric oxide", *Proc. Natl. Acad.* , 1993 Jan 1; USA 90 (1): 267-271.

Tonnesen et. al. 2005: Tonnesen J, Pryds A, Larsen EH, Paulson OB, Hauerberg J, Knudsen GM, " Laser doppler flowmetry is valid for measurement of cerebral blood flow autoregulation lower limit in rats", *Exp Physiol*, 2005 May; 90(3): 349-355.

Trampuz und Zimmerli 2003: Trampuz A, Zimmerli W, " Pathogenese und Therapie der Sepsis", *Schweiz Med Forum*, 2003; 35: 811-818.

Ueki et. al. 1992: Ueki M, Mies G, Hossmann KA, " Effect of alpha-chloralose, halothane, pentobarbital and nitrous oxide anaesthesia on metabolic coupling in somatosensory cortex of rat", *Acta Anaesthesiol Scand*, 1992 May; 36(4): 318-322.

Vallet 2002: Vallet B, " Endothelial cell dysfunction and abnormal tissue perfusion", *Crit Care Med*, 2002 May; 30(5Suppl): S229-S234.

Vincent 1997: Vincent JL, " Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you...", *Crit Care Med*, 1997 Feb; 25(2): 372-374.

Vinke, Bryn, Klawans 1988: Vinke P., Bruyn W., Klawans H., *Handbook of clinical Neurology*, Chapter Regulation of cerebral blood flow; 1988, ISBN

Virtala et. al. 1996: Virtala AM, Mechor GD, Gröhn YT, Erb HN, " Morbidity from nonrespiratory disease and mortality in dairy heifers during in the first three month of life", *J Am Vet Med Assoc*, 1996 Jun 15; 208(12): 2043-2046.

Walker et. al 1964: Walker HL, Mason AD Jr., Raulston GL, " Surface infection with pseudomonas aeruginosa", *Ann Surg*, 1964 Aug; 160: 297-305.

Walser 1973: Walser K, " Entstehung und Verhütung von Kälberkrankheiten", *Tierärztl Prax*, 1973; 1: 25-32.

Wang et. al. 2000: Wang P, Tait SM, Chaudry IH, " Sustained elevation of norepinephrine depresses hepatocellular function", *Biochim Biophys Acta*, 2000; 1535(1): 36-44.

Wang et. al. 2008: Wang K, Zheng C, Wu C, Gao M, Liu Q, Yang K, Ellsworth K, Xu L, Wu J, " Alpha-chloralose diminishes gamma oscillations in rat hippocampal slices", *Neurosci Lett*, 2008 Aug 15; 441(1): 66-71.

Ward 2003: Ward LM, " Synchronous neural oscillations and cognitive processes", *Trends Cogn Sci*, 2003 Dec; 7(12): 553-559.

Watkins 1995: Watkins LD, " Nitric oxide and cerebral blood flow: an update", *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 1995 Winter; 7(4): 324-337.

Anhang

Welker 1976: Welker C, " Receptive fields of barrels in the somatosensory neocortex of the rat", J Comp Neurol, 1976 Mar; 166(2): 173-189.

Whittingham and Lipton 1981: Whittingham TS, Lipton P, " Cerebral synaptic transmission during anoxia is protected by creatine", J Neurochem, 1981 Dec; 37(6): 1618-1621.

Wichtermann et. al. 1980: Wichtermann KA, Baue AE, Chaudry IH, " Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and a proposal", J Surg Res, 1980 Aug; 29(2): 189-201.

Wolff et. al. 2009: Wolff S., Klatt S., Wolff JC, Wilhelm J, Finl L, Kaps M, Rosengarten B, " Endotoxin - induced gene expression differences in the brain and effects of iNOS inhibition and norepinephrine", Intensive Care Med, 2009 Apr; 35(4): 730-739.

Xu et. al. 1993: Xu D, Qi L, Guillory D, Cruz N, Berg R, Deitch EA, " Mechanisms of endotoxin-induced intestinal injury in a hyperdynamic model of sepsis", J Trauma, 1993 May; 34(5): 676-682.

Yang et. al. 2001: Yang S, Zhou M, Chaudry IH, Wang P, " Norepinephrine induced hepatocellular dysfunction in early sepsis is mediated by activation of alpha2-adrenoceptors", Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001 Oct; 281(4): G1014-G1021.

Zauner et. al. 2000: Zauner C, Gendo A, Kramer L, Kranz A, Grimm G, Madl C, " Metabolic encephalopathy in critically ill patients suffering from septic or nonseptic multiple organ failure", Crit Care Med, 2000 May; 28(5): 1310-1315.

Zauner et. al. 2002: Zauner C, Gendo A, Kramer L, Funk GC, Bauer E, Schenk P, Ratheiser K, Madl C, " Impaired subcortical and cortical sensory evoked potential pathway in septic patients", Crit Care Med, 2002 May; 30(5): 1136-1139.

Zhao et. al. 1998: Zhao Y, Schelvis JP, Marletta MA, " Identification of the histidine 105 in the β 1 subunit of soluble guanylate cyclase as the heme proximal ligand", Biochemistry, 1998 Mar 31; 37(13): 4502-4509.

7.1 Eigene Publikationen

Rosengarten et. al. 2009: Rosengarten B., Wolff S., Klatt S. Schermuly RT, "Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition or norepinephrine on the neurovascular coupling in an endotoxic rat shock model", Crit Care, 2009 Aug; 13(4):R139: 1-8.

Wolff et. al. 2009: Wolff S., Klatt S., Wolff JC, Wilhelm J, Finl L, Kaps M, Rosengarten B, "Endotoxin - induced gene expression differences in the brain and effects of iNOS inhibition and norepinephrine", Intensive Care Med, 2009 Apr; 35(4): 730-739.

Danksagung

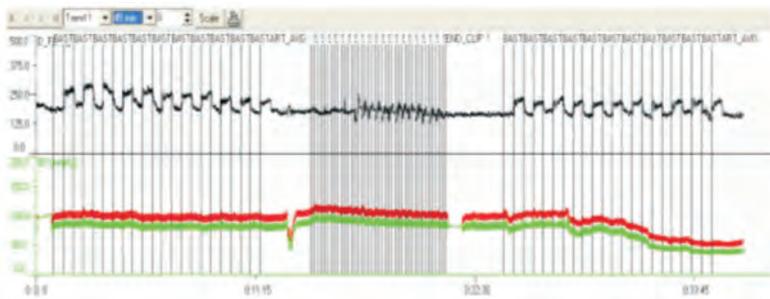
Ich danke Herrn Prof. Kaps für die Möglichkeit an dessen Institut promovieren zu dürfen. Ich danke ebenfalls Prof. Seeger, der mir die Möglichkeit gab als „gern gesehener Gast“ in seinem Institut arbeiten zu können. Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Bernhard Rosengarten, der mich in jeder Hinsicht immer voll unterstützt hat. Durch seine fachliche Kompetenz und immerwährenden Optimismus wusste er mich zu motivieren. Ich möchte ihm auch für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die Geduld bedanken und natürlich für die Hilfe bei der statistischen Aushilfe der hier vorliegenden Arbeit. Zudem hat mich Prof. Dr. Rosengarten sehr gut an die wissenschaftliche Arbeit herangeführt und wusste stets zu motivieren, um die wissenschaftliche Arbeiten voran zu treiben.

Des Weiteren möchte ich mich noch bei meiner Mutter bedanken, die mir das Studium überhaupt erst ermöglichte und mir immer den Rücken frei gehalten hat, damit ich meine Ziele verwirklichen konnte. Nicht zu vergessen, gilt mein Dank auch Melanie Zimmer, die es immer verstand mir mit Rat und Tat zur Seite zu stehen.

Danke!

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus - Liebig - Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten."



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
 STAUFENBERGRING 15
 D-35396 GIESSEN

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

ISBN: 978-3-8359-5700-8

