

**Aus der Universitätsklinik für Anästhesiologie
Klinikum der Universität Ulm
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Michael Georgieff**

**Einfluss des selektiven iNOS-Inhibitors 1400W auf
Mikrozirkulation, Säure-Basen-Haushalt und Energiebilanz
des Darms während hyperdynamer Endotoxinämie beim Schwein**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin der Medizinischen
Fakultät der Universität Ulm

Von
Yang, Yan
aus Sui Zhou, V. R. China

2001

Amtierender Dekan: Prof. Dr. R. Marre

1. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Radermacher

2. Berichterstatter: Prof. Dr. U. B. Brückner

Tag der Promotion: 07.02.2002

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitungen	1
1. 1 Definition der Sepsis	1
1. 2 NO und Sepsis	1
1. 3 Wichtigkeit des Darms bei der Sepsis	2
1. 4 NOS-Inhibitoren	3
1. 5 Fragen	3
2. Material und Methode	5
2. 1 Versuchstiere	5
2. 2 Narkose	5
2. 3 Operative Präparation	6
2. 4 Versuchsablauf	8
2. 5 Versuchsprotokoll	8
2. 6 Messungen und Berechnungen	9
2. 7 Statistische Analyse	12
3. Ergebnisse	13
3. 1 Hämodynamische Ergebnisse und systemische Sauerstoffbilanz.....	14
3. 2 NO und Nitrat	15
3. 3 Systemische Säure-Basen-Haushalt	17
3. 4 Regionale Hämodynamik und Sauerstoff-Extraktion des Darms	17
3. 5 Intestinale Säure-Basen Parameter und mukosal-arterielle PCO ₂ - Differenz.....	18
3. 6 Mikrozirkulation der Ileummukosa	20
4. Diskussion	26
5. Zusammenfassung	32
6. Literaturverzeichnis	34
7. Danksagung	39

Abkürzungen

NO	Stickstoffmonoxid
NOS	NO Synthase
iNOS	induzierbare NO Synthase
LPS	Lipopolysaccharid
ETX	Endotoxin
EKG	Elektrokardiogramm
EEG	Elektroenzephalogramm
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MPAP	Mittlerer Pulmonalarterieller Druck
PAOP	Pulmonalkapillärer Okklusionsdruck
ZVD	Zentralvenöser Druck
HZV	Herzminutenvolumen
HF	Herzfrequenz
ITBV	Intrathorakales Blutvolumen
A	Arterien
PA	Pulmonalarterien
PV	Portalvene
v	venös
a	arteriell
Qpv	Fluss Portalvene
DO ₂	Sauerstoffangebot
VO ₂	Sauerstoffverbrauch
iO ₂ EX	intestinale Sauerstoff-Extraktion
S	Sauerstoffsättigung
SO ₂	Sauerstoffsättigung
CCO ₂	CO ₂ Gehalt
Co ₂	Sauerstoffgehalt
CaO ₂	arterieller Sauerstoffgehalt
CpvO ₂	portal-venöser Sauerstoffgehalt
a-vDO ₂	arterio-gemischtvenöse O ₂ -Differenz
PCO ₂	CO ₂ Partialdruck
PO ₂	O ₂ Partialdruck

p	plasmatisch
Hb	Hämoglobin
BE	Basen Excess
T	Temperatur
pH	negativer dekadischer Logarithmus der H^+ -Konzentration
pK	negativer dekadischer Logarithmus der Dissoziationskonstante
FiO ₂	Fraktioneller inspiratorischer Sauerstoff-Anteil (1=100 %)
PEEP	Positiv-endexpiratorischer Druck
h	Stunde

Einleitung

1. Definition der Sepsis

Sepsis, die systemische Antwort des Organismus auf eine Einschwemmung von Bakterien und/oder ihrer Toxine, und septischer Schock, bei dem Hypotension und Organdysfunktion entstehen, stellen in der Intensivmedizin noch immer eine lebensdrohliche Komplikation dar. Trotz der heute zur Verfügung stehenden potenten Antibiotika, vasoaktiver Medikamente und der verbesserten intensivmedizinischen Überwachung ist die Letalität immer noch hoch (40-50%), besonders bei Patienten mit Schock und Multiorganversagen (Astiz 1998, Schoenberg 1998, Friedman 1998). Charakteristisch für den septischen Schock sind der Abfall des systemischen Gefäßwiderstands, die anhaltende arterielle Hypotension und vaskuläre Hyporeaktivität auf Vasopressoren, obwohl das Herzzeitvolumen hoch und die Volumenzufuhr ausreichend sind. Nach heutigen Kenntnissen spielt Stickstoffmonoxid (NO) in der Pathophysiologie der Endotoxinämie bzw. des septischen Schocks eine wesentliche Rolle (Gomez Jimenez 1995, Moncada 1991/1993).

2. NO und Sepsis

2.1. Synthese und Wirkung von NO

NO wird durch verschiedene Synthesen aus der essentiellen Aminosäure L-Arginin gebildet. Unter physiologischen Bedingungen wird die konstitutive NO-Synthase in Endothelzellen (ecNOS) und neutrophilen Leukozyten durch Scherkräfte aktiviert (Moncada 1993), was zu einer kontinuierlichen Freisetzung von NO (in picomolaren Mengen) führt, das in bedeutender Weise zur Regulation des Gefäßtonus (Blutdruck) und der Organdurchblutung sowie der Funktion von Thrombozyten und Granulozyten (die Leukozytenaggregation bzw. -adhäsion wird verhindert) beiträgt (Cines 1998, Moncada 1991/1993)

Unter pathologischen Bedingungen führen die in die Zirkulation eingeschwemmten Bakterien oder Endotoxin zur Freisetzung von verschiedenen Mediatoren (z.B. $\text{INF-}\alpha$, $\text{INF-}\gamma$ und $\text{IL-1}\beta$ u.s.w.) (Roumen 1993/1995), die die Aktivierung der induzierbaren NO-Synthase (iNOS) in vielen Zellen (Makrophagen, Gefäßmuskelzellen, Hepatozyten usw.) auslösen. Dadurch wird eine relativ große Menge NO (nanomolar) produziert, und die NO-Produktion durch ecNOS wird unterdrückt (Gomez-Jimenez 1995)

Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass der vermehrten Bildung von NO durch die oben

genannten Zellen, die unter physiologischen Bedingungen kein oder relativ wenig NO bilden, zumindest in der Pathophysiologie der Zirkulationsstörungen eine entscheidende Rolle zukommt, z.B. für die Hypotension (periphere Vasodilatation), die Hyporeaktivität der Gefäßmuskulatur auf Vasopressoren (z.B. Katecholamin), die myokardiale Dysfunktion und die Fehlverteilung des Organblutflusses (Villamor 1995).

Außer bei Zirkulationsstörungen wird NO während einer Sepsis auch eine besondere Rolle bei zellulären Energiestoffwechselstörungen und eines Defekts in der Gewebe-Sauerstoff-Extraktion, der zur Zellhypoxie führt, zugeschrieben. Die lokale Bildung von großen Mengen NO trägt einerseits zur Abtötung von Bakterien bei, andererseits kann das durch iNOS vermehrte NO zu zytotoxischen Effekten führen. So hemmt die exzessive NO-Bildung direkt Schlüsselenzyme der mitochondrialen Atemungskette, wie z.B. der Cytochromoxidasen (Darley-Usmar 1995). Dieses Phänomen wird auch als „zytotoxische Hypoxie“ bezeichnet (Fink 1997). Die zytotoxische Wirkung wird einerseits durch die direkte Wirkung von NO verursacht, andererseits durch die Wechselwirkung von NO mit dem Superoxid-Anion, durch die das noch toxischere Peroxynitrit (ONOO^-) entsteht (Szabo 1996, Szabo 1997).

3.Wichtigkeit des Darms bei der Sepsis

Das Splanchnikusgebiet, also Magen-Darm-Trakt und Leber, gilt in der Pathogenese der Sepsis als ein zentrales Organsystem, sowohl als Quelle als auch als Zielorgan: Einerseits spielt der Gastrointestinaltrakt eine bedeutende Rolle bei der Entstehung des Multiorganversagens, andererseits fungiert er auch als empfindliches System des Körpers hinsichtlich einer reduzierten Perfusion und Sauerstoffverfügbarkeit und stellt damit gleichsam ein Wach- und Warnsystem des Körpers dar (Carrico 1986, Mythen 1994). Der Magen-Darm-Trakt dient als natürliche Barriere gegen die Einschwemmung von intraluminalen Mikroben und ihrer Produkte in den Körper. In vielen pathologischen Prozessen wird die natürliche Barrierefunktion des Darms beschädigt (Froon 1994, Marshall 1993).

Bei Tierversuchen führen Endotoxin oder Bakterien durch überschießende NO-Freisetzung zur Darmwandazidose und danach zur mukosalen Hyperpermeabilität (Johnston 1996) aufgrund einer Schädigung der Mikrozirkulation bzw. der Gewebeoxygenierung.

Eine Darmwandazidose kann jedoch auch vorhanden sein, wenn die mukosale Durchblutung im Darm und/oder die Gewebeoxygenierung normal oder sogar erhöht sind. Als Ursache dieser Azidose wird die oben genannte „zytotoxische Hypoxie“ angesehen.

4.NOS-Inhibitoren

4.1. Nicht-selektive NOS-Inhibitoren

Auf Grund der Vielzahl experimenteller Befunde, dass eine erhöhte NO-Freisetzung für die Entstehung der Hypotension im Rahmen einer Sepsis verantwortlich ist, besteht ein zunehmendes Interesse an der Erforschung verschiedener NOS-Inhibitoren. Zuerst wurden nicht-selektive NOS-Inhibitoren, die neben der iNOS auch die ecNOS hemmen, wie N-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) (Laszlo 1997) und N-Nitro-L-Arginin (L-NAME) (Kilbourn 1997), untersucht. Diese Substanzen können zwar den Blutdruck von septischen Tieren und Patienten stabilisieren, doch bringen sie gleichzeitig deutliche Nebenwirkungen mit, die auf eine Hemmung der ecNOS-Aktivität zurückzuführen sind. Zu diesen Nebenwirkungen zählen der erhöhte Gefäßwiderstand (exzessive Vasokonstriktion), eine Abnahme des Herzzeitvolumens und die verminderte Organperfusion v.a. im Bereich des Hepatosplanchnikusgebiet sowie eine vermehrte Endotheladhäsion von Thrombozyten und neutrophilen Granulozyten (Offner 1995, Kilbourn 1997, Laszlo 1997).

4.2. Selektive iNOS-Inhibitoren

Selektive iNOS-Inhibitoren, die die iNOS potenter als die ecNOS-Aktivität hemmen, schwächen die Hypotension und die vaskuläre Hyporeaktivität auf Vasopressoren im septischen Schock ab, ohne die wesentlichen physiologischen Funktionen der ecNOS zu beeinflussen. Eine mögliche Substanz ist N-(3-(Aminomethyl)-Benzyl)-Azetamidin (1400W), das hoch selektiv für die iNOS ist (Garvey 1997). In einer früheren Untersuchung konnte gezeigt werden, dass dieser iNOS-Inhibitor die erhöhte mukosal-arterielle PCO₂-Differenz nahezu normalisierte, ohne die Makrozirkulation, d.h. den Blutfluss in der Vene Portae, zu beeinflussen (Matejovic 2001). Bis jetzt gibt es jedoch keine Daten, welche Rolle eine iNOS-Hemmung für Mikrozirkulation und Oxygenierung im Dünndarm bei der Endotoxinämie spielt. Deshalb untersuchten wir in einem Langzeit-Endotoxinämie-Modell beim Schwein den Effekt von 1400W auf den systemischen und regionalen Kreislauf, den Säure-Basen-Haushalt und die Mikrozirkulation im Dünndarm.

5. Fragen

Es sollten folgenden Fragen beantwortet werden:

- Erlaubt die selektive Hemmung der iNOS von 1400W eine Verbesserung der Mikrozirkulation im Dünndarm?

- Hat 1400W Einfluss auf die Oxygenierung der Darmmukosa?
- Welche Faktoren erklären die verbesserte mukosal-arterielle PCO_2 -Differenz unter 1400W?

Material und Methode

2.1 Versuchstiere

14 Schweine (Deutsches Landschwein) beiderlei Geschlechts (Körpergewicht 48 (40-60) kg, Alter 12-16 Wochen) aus pathogenfreier Zuchtreihe wurden verwendet. Die Studie war vom Tierschutzbeauftragten der Universität Ulm und vom Regierungspräsidium Tübingen genehmigt worden.

2.2 Narkose

Prämedikation: Nach 24-stündiger Nahrungskarenz (Wassereinnahme ad libitum) wurden die Versuchstiere eine Stunde vor Narkosebeginn mit 4 mg/kg Azaperon (Stresnil, Janssen-Cilag, Neuss) und 0.05mg/kg Atropin (Atropinsulfat, B.Braun, Melsungen) intramuskulär prämediziert. Anschließend wurden die Tiere schlafend in den Tier-OP transportiert.

Narkoseeinleitung: Die Narkose wurde mit 8-10mg/kg Pentobarbital-Natrium (Narkodorm, Alvetra, Neumünster), 2mg/kg Ketamin (Ketavet, Pharmacia & Upjohn, Erlangen) über eine Ohrenvenekanüle eingeleitet. Die Tiere wurden auf dem Rücken gelagert. Nach orotrachealer Intubation wurden die Tiere mit 10 mg Alcuronium (Alloferin, Roche, Frankreich) relaxiert und volumenkontrolliert (FiO_2 0.3, PEEP 5cmH₂O) mit einer Atemfrequenz von 10-12/min und einem Atemzugvolumen 15ml/kg beatmet (Servo Ventilator 900B, Siemens, Erlangen). Es wurde eine Normoventilation mit einem end-tidalen Kohlendioxid-Partialdruck (PCO₂) von 35-40 mmHg und eine transkutan gemessene arterielle Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung >90% angestrebt (transkutane Pulsoxymetrie, Hewlett Packard 66S Monitor, San Antonio, Texas, USA). Zur Dekompression und Ableitung des Magensaftes wurde eine Magensonde eingelegt.

Aufrechterhaltung der Narkose Zur Muskelrelaxation wurden 10-15mg/h Alloferin kontinuierlich infundiert. Die Narkose wurde durch eine Dauerinfusion von Pentobarbital (6-12mg/kg/h) und Buprenorphin 0.9-1.5 mg alle 6-8 Stunden als Bolus aufrechterhalten. Die Narkosetiefe wurde durch EEG-Monitoring (Neurotrac, Interspec Inc., Cronshocken PA, USA) überwacht. Die spektrale Eckfrequenz lag immer unter 15Hz, die Median-Frequenz lag bei 5-10 Hz.

Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Tiere mit einem Luft-Sauerstoff-Gemisch beatmet (FiO_2 30-40%). Außerdem wurden das EKG und die Rektaltemperatur überwacht.

Die Körpertemperatur wurde nach Bedarf mit einer Heizmatte oder durch externe Kühlung konstant bei 37.5°-38.5°C gehalten.

Zur Flüssigkeitssubstitution wurde kontinuierlich Ringer-Lösung (10ml/kg/h) und zur Kreislaufstabilisierung HES 6% (Serumwerk Bernburg) infundiert. Zur Thromboseprophylaxe wurden 20.000 IE/24h Heparin zugeführt.

Der Blutglucosespiegel wurde in regelmäßigen Abständen kontrolliert und bei Bedarf (Glukose < 60 mg/dl) mit Glukose/Xylit 20% (Pharmacia& Upjohn, Erlangen) auf normoglykämischen Werten gehalten.

2.3.operative Präparation

Abbildung 2 zeigt die schematische Darstellung der bei den Versuchstiere durchgeführten Instrumentierung und verwendeten Messmethoden:

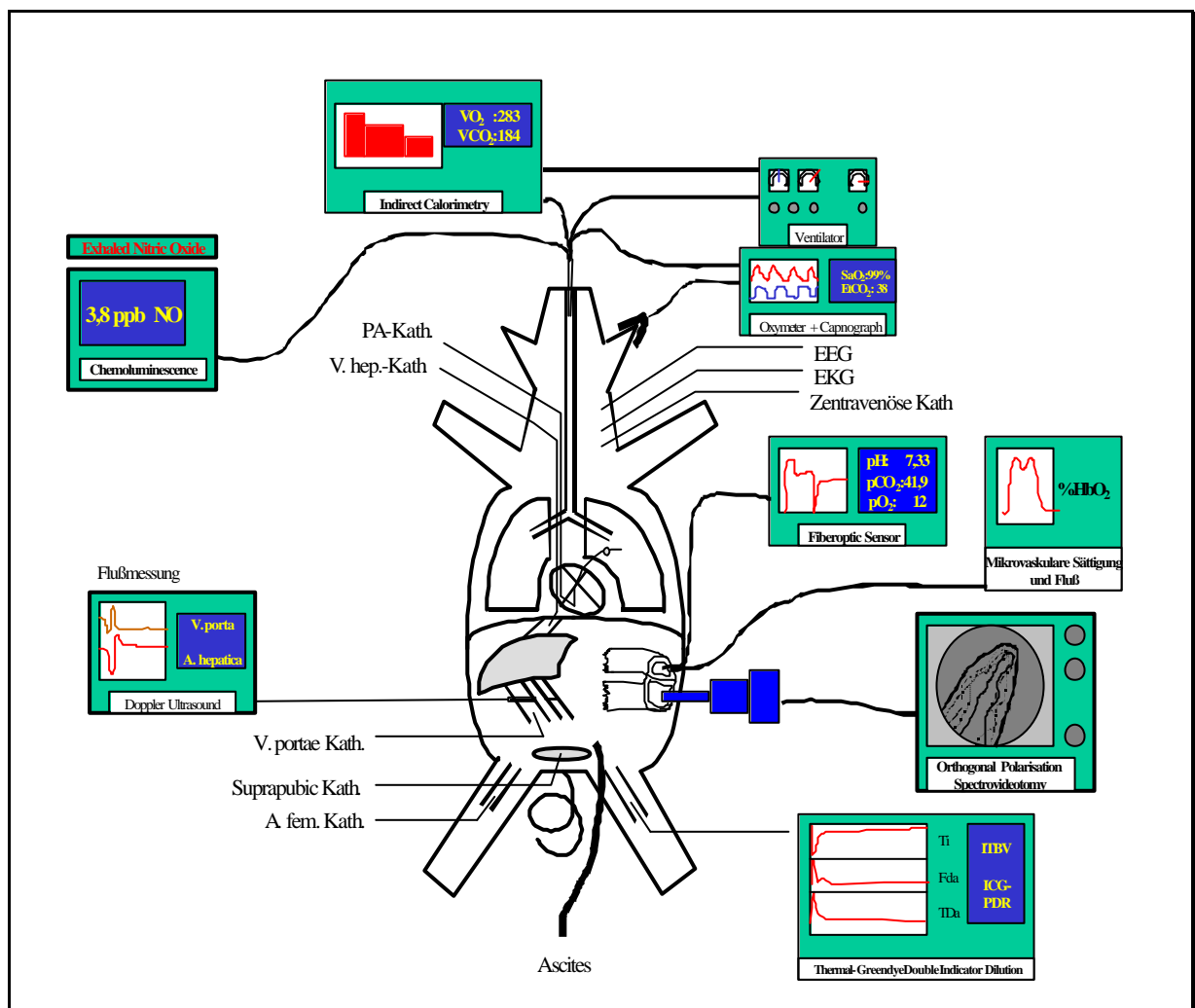


Abb. 2. Schematische Darstellung der Instrumentierung der Versuchstiere

Die Tiere wurden unter aseptischen Bedingungen präpariert. Nach Rasieren der Haare und Desinfektion der Haut wurden die Tiere steril abgedeckt. Die Hautareale, an denen chirurgische Eingriffe erfolgten, wurden mit einer transparenten Klebefolie abgeklebt.

Die rechte und linke Jugularvene bzw. die beiden Femoralarterien wurden freipräpariert. Ein dreilumiger zentraler Venenkatheter (Cavafix, Fa.Braun) wurde über die linke Submandibularvene zur Applikation von Medikamenten und zur Flüssigkeitzufuhr eingeführt. Zur kontinuierlichen Messung des zentravenösen Drucks (ZVD) und des mittleren Pulmoarteriendrucks (MPAP) sowie zur intermittierenden Messung des pulmonalarteriellen Okklusionsdrucks (PAOP) und des Herzzeitvolumens (Thermodilution) wurde ein Pulmonalarterienkatheter (Thermodilutionskatheter Modell 93A 754 7F, Fa.Baxter Healthcare, Irwine CA, USA) über die rechte Submandibularvene eingeschwenkt. Ein 7F Katheter (Multipurpose A-1, Cordis, Roden, NL) wurde unter sonographischer Kontrolle in eine Lebervene vorgeschoben. In die rechte A. femoralis wurde ein Katheter zur Blutabnahme und kontinuierlichen Messung des arteriellen Mitteldrucks (MAP) eingelegt, in die linke A. femoralis wurde ein 3F fiberoptischer Katheter (ET-Pulsiocath PV 2023, Pulsion, München) zur Messung der Indocyanin-Grün-(ICG)-Konzentration im Blut eingeführt.

Nach einer medianen Laparatomie wurde die Vene Portae freipräpariert und eine Ultraschallflußsonde (Transonics Systems, Ithaca, NY, USA) zur Messung der Durchblutungsrate platziert. Die Vene Portae wurde punktiert und ein 4F Katheter (Arrow, Reading USA) zur Blutabnahme eingeführt. Eine kurze Ileumschlinge wurde über einen lateralen Hautschnitt ausgeleitet. Auf der antemesenterialen Seite wurde das Ileumsegment eröffnet und an der Bauchwand fixiert, so daß die mukosale Seite an der Oberfläche zu liegen kam und ein doppelläufiges Ileostoma entstand. Das Ileostoma wurde mit einem Stomabeutel (Stomadres plus Bristol-Myers, Baar, Schweiz) versorgt, um die Schleimhaut vor Austrocknung zu schützen. Anschließend wurde ein fiberoptischer Katheter zur kontinuierlichen intramukosalen PCO₂-Messung (Paratrend 7[®], Biomedical Sensors, Highwycombe, UK), eine Kamera (CYTOSCAN[®], Cytometrics Inc., Philadelphia, PA) zur intermittierenden Videoaufnahme (Sony DSR-20P, Sony Corporation, Tokyo, Japan) der Mikrozirkulation des Ileums und ein endoskopischer Sensor zur simultanen Messung von mikrovaskulärer Sauerstoff-Sättigung (Remissionsspektrophotometrie) und Blutfluss (Laser-Doppler-Methode) in der Darmwand platziert (O₂C Sensor, Lea Medizintechnik, Gießen, Deutschland).

Zur Aszitesableitung wurde durch die seitliche Bauchwand eine Drainage (Silikon 36-CH) angebracht und zur Urinableitung ein Blasenkatheter perkutan angelegt (Zystofix, Fresenius,

Bad Homburg). Nach der Präparation wurde eine 8-stündige Erholungsphase eingehalten, danach erfolgte die Messung der Ausgangswerte. Abbildung 2.3.1 zeigt die schematische Darstellung der Instrumentierung der Versuchstiere.

2.4. Versuchsablauf

	Basalwert	12h LPS	24 h LPS
	- LPS-Start	- 1400WStart	-
	Präparation	Erholung	Endotoxin-Infusion
<i>Stunden</i>	← 4 →	← 8 →	← 12 →
ETX-Gruppe			LPS →
1400W-Gruppe			LPS → LPS+1400W →

2.5. Versuchsprotokoll

14 Versuchstiere wurden zwei Gruppen zugeteilt:

- Endotoxin ohne Therapie (Kontrollgruppe, ETX, n=6)
- Endotoxin mit dem selektiven iNOS-Inhibitor 1400W (Therapiegruppe) (1400W, n=8).

Nach Bestimmung der Basalwerte erhielten die Versuchstiere in beiden Gruppen Endotoxin (Lipopolysaccharide B E.coli 0111:B4, DIFCO Laboratoris, Detroit, USA; 20mg/l in 5% Dextrose) mit einer Startdosis von 4ml/h, bis der Pulmonalarterienmitteldruck (MPAP) auf ca. 40 mmHg anstieg. Danach wurde die Endotoxindosis über 12 Stunden so titriert, dass ein MPAP von 35-40mmHg aufrechterhalten wurde. Die nach 12 Stunden erreichte Infusionsgeschwindigkeit wurde in beiden Gruppen dann bis zum Ende des Experiments beibehalten. Um den Mitteldruck (MAP) über 65mmHg zu halten, wurde Hydroxyäthylstärke (HES 6 %) nach Bedarf infundiert.

Nach 12 stündiger Endotoxin-Infusion wurden die Tiere zufällig entweder der Kontrollgruppe oder der Therapiegruppe zugeordnet. Die Tiere in der Therapiegruppe erhielten zusätzlich zur kontinuierlichen Endotoxin-Infusion 1400W bis zum Versuchsende. In der ersten Stunde lag die Startdosis von 1400W bei 0,5 mg/kg/h, dann wurde die Infusionsgeschwindigkeit so titriert, dass der MAP auf dem Niveau der Ausgangswerte vor Start der Endotoxininfusion gehalten wurde.

Nach Erhebung der Basalwerte (Basalwert vor LPS) wurden in beiden Gruppen 12 (12 h LPS) und 24 (24 h LPS) Stunden nach Start der ETX-Infusion weitere Messungen durchgeführt. Nach dem letzten Messzeitpunkt wurden die Versuchstiere mit KCl-Injektion in tiefer Narkose getötet.

2.6 Messungen und Berechnungen

2.6.1 Hämodynamische Messungen:

2.6.1.1 Systemische hämodynamische Messungen:

Folgende Parameter wurden mit kalibrierten Druckwandlern (Model 1290A, Hewlett Packard, Rockville, MD) gemessen:

- der arterielle Mitteldruck (MAP)
- der zentrale Venendruck (ZVD)
- der mittlere Pulmonalarteriendruck (MPAP)
- der pulmonalarterielle Verschlussdruck (PAOP).

Die Herzfrequenz (HF) wurde aus dem EKG abgeleitet.

Das Herzzeitvolumen (HZV) wurde mit Thermodilution nach einem Bolus von 10 ml kalter 0,9 % NaCl-Lösung über den Pulmonalarterienkatheter (66S-Monitor, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA) als Mittelwert von 4-5 Messungen bestimmt.

Das intrathorakale Blutvolumen (ITBV) wurde nach einer Bolusinjektion von 10 ml kalter Indocyaningrün-Lösung (2,5mg/ml) über den in der A. femoralis liegenden fiberoptischen Katheter gemessen (COLD Z-021, Pulsion, München).

2.6.1.2 Regionale hämodynamische Messungen:

Der Fluss in der Vene Portae (Qpv) wurde als Maß für die Durchblutung des Darms erfaßt.

2.6.2. Mikrozirkulation der Ileummukosa

Die Mikrozirkulation wurde mit der CYTOSCANTM Kamera unter Verwendung der orthogonalen Polarisations-Videospektrometrie aufgezeichnet. Zu jedem Meßzeitpunkt wurden fünf verschiedene Orte der Ileumschleimhaut zufällig ausgewählt und die Mikrozirkulation für ca. 45 Sekunden auf ein Videoband aufgenommen. Die Auswertung der Videosequenzen erfolgte durch einen bzgl. der Versuchsgruppen „blinden“ Untersucher. Da die Bilder die Unterscheidung einzelner Villi erlauben, wurden alle Villi pro Gesichtsfeld gezählt und semiquantitativ als „perfundiert“, „nicht perfundiert“ oder „teilweise perfundiert“ klassifiziert.

Zur Messung der mikrovaskulären Durchblutungsrate und der kapillären Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung wurde der O₂C-Sensor verwendet. Dieser flexible Sensor ermöglicht die gleichzeitige Messung der mikrovaskulären Sauerstoffsättigung durch Remissionsspektrophotometrie und des kapillären Blutflusses mit Hilfe der Laser-Doppler-Methode. Zu jedem Messzeitpunkt wurde an 10 unterschiedlichen Schleimhautarealen jeweils 1 Minute lang Sauerstoffsättigung und Blutfluss registriert. Da das Gerät alle 2 Sekunden Werte registriert, erhält man pro Minute 30 Wertepaare.

2.6.3 Systemischer und intestinaler Säure-Basen-Haushalt

Der CO₂-Partialdruck (PCO₂) der Ileummukosa wurde mit Hilfe eines fiberoptischen Katheters kontinuierlich gemessen (Paratrend Sensor, Trend Care, Diametrics Medical Inc. Roseville, USA). Aus dem PCO₂ einer simultan entnommenen arteriellen Blutprobe errechnet sich die mukosal-arterielle Partialdruckdifferenz dann als:

$$DPCO_2 = P_{\text{Darm}}CO_2 - PaCO_2$$

Zu jedem Messzeitpunkt wurden zusätzlich portalvenöse und gemischtvenöse Blutgasanalysen zur Bestimmung des pH, BE, PO₂ und PCO₂-Wertes mit einem Blutgas-Analysator (Nova Stat Profile Ultra, Nova Biomedical, Waltham) durchgeführt. Das Gesamthämoglobin (Hb) und die Hämoglobin-Sauerstoffsättigung wurden ebenfalls gemessen (IL 682 CO-Oximeter, Instrumentation Laboratories, speziell für Schweineblut kalibriert). Aus diesen Werten berechneten wir den CO₂-Gehalt im arteriellen und portalvenösen Blut bzw. die CO₂-Gehalt-Differenz zwischen portalvenösem und arteriellem Blut folgendermaßen (Douglas 1988):

$$CCO_2 = pCCO_2 \left[1 - \frac{0.0289[Hb]}{(3.352 - 0.456 \cdot SO_2)(8.142 - pH)} \right] \quad [\text{ml}/100\text{ml}]$$

wobei $pCCO_2 = 2.226 \cdot S \cdot pPCO_2 \cdot (1 + 10^{pH-pK})$,

$$S = 0.0307 + 0.00057 \cdot (37 - T) + 0.00002 \cdot (37 - T)^2,$$

und $pK=6.086+0.042*(7.4-pH)+ (38-T)*(0.00472+0.00139*(7.4-pH))$

2.6.4 Sauerstoffbilanz

Nach folgenden Formeln wurden der Sauerstoffgehalt und die Sauerstoffkinetik berechnet.

2.6.4.1 Sauerstoffgehalt (CaO_2) :

$$CaO_2=(Hb*1,36) *SaO_2+(PaO_2*0,0031) \quad [ml/100ml]$$

$$CvO_2=(Hb*1,36) *SvO_2+(PvO_2*0,0031) \quad [ml/100ml]$$

$$C_{pv}O_2=(Hb*1,36) *S_{pv}O_2+(P_{pv}O_2*0,0031) \quad [ml/100ml]$$

2.6.4.2 Systemische Sauerstoffkinetik

Das systemische O_2 -Angebot (DO_2) wurde nach der Standardformel berechnet.

$$DO_2=10*CaO_2*HZV \quad [ml/min/kg]$$

Für den systemischen O_2 -Verbrauch (VO_2) gilt:

$$VO_2 =10*a-vDO_2*HZV \quad [ml/min/kg]$$

2.6.4.3 Regionale Sauerstoffbilanz: O_2 -Kinetik der Darm (intestinale O_2 -Extraktion)

Als Maß für die intestinale Sauerstoff-Extraktion (iO_2EX) des Darmes wurde die Sauerstoffextraktion der über die Portalvene drainierten Organe gewählt. Die intestinale O_2 -Extraktion berechnet sich als

$$iO_2EX = \frac{CaO_2 - C_{pv}O_2}{CaO_2} \quad [\%]$$

2.6.5. NO-Bestimmung:

Die expiratorische NO-Konzentration wurde als Maß für die endogene NO-Produktion im Nebenstrom über Chemolumineszens gemessen (NOATM 280 NO Analyzer, Sievers Medical Instruments, Boulder, CO, USA). Das Prinzip dieses Verfahrens wurde früher schon beschrieben (Mehta 1997, 1999, Matejovic 2001). Um eine exogene Zufuhr von NO aus Raumluft auszuschließen, wurde die Inspirationsluft über einen Kohle- und Kaliumpermanganat-Filter geleitet. Vor jedem Messzeitpunkt wurde das Gerät mit „Nullgas“ kalibriert. Da das Atemminutenvolumen zur Aufrechterhaltung einer Normokapnie im Verlauf des Experimentes angepaßt werden mußte, ist die NO-Produktion als Produkt aus der expiratorischen NO-Konzentration und dem Atemminutenvolumen dargestellt.

Die Chemilumineszenz-Methode wurde auch zur Messung der arteriellen und portalvenösen Nitrat (NO₃)-Konzentration verwendet. Hierfür wurden Nitrit und Nitrat im Serum nach Enteiweißung mit Methanol mit Hilfe von Vanadiumchlorid zu NO reduziert. Vor der Analyse der Proben wurde das Gerät kalibriert, indem eine Standardkurve erstellt wurde.

2.7. Statistische Analyse

Angabe der Werte:

In den Tabellen sind alle Werte als Median (Min, Max) angegeben.

kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zum Ausgangswert ($p < 0.05$) .

§ kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p < 0.05$) .

In den Grafiken sind alle Werte als Box Plot abgebildet. Dabei sind der Median, Quartile sowie die 5. und 95. Perzentile angegeben.

kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zum Ausgangswert($p < 0.05$) .

§ kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen($p < 0.05$) .

Zur statistischen Analyse wurden folgende Verfahren verwendet:

Der Dunnett-Test, um Unterschiede innerhalb einer Gruppe gegenüber dem Basalwert darzustellen, und der Mann-Whitney-Rangsummen-Test, um Unterschiede zwischen den Gruppen (ETX versus 1400W) zu den jeweiligen Messzeitpunkten darzustellen.

Signifikanz wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.05$ angenommen.

Ergebnisse

Alle Tiere in beiden Gruppen bekamen während des Versuchs gleiche Menge von HES, wie es in der Tab. 3.0.1 gezeigt wurde. Es gab keinen Intergruppenunterschied.

Tab. 3.0.1: HES Menge

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
kumulative HES	ETX	0.5 (0.5-1.5)	10.5 (8.0-12.5)#	21.5 (16.0-25.0)#
Menge (Liter)	1400W	0.5 (0-1.5)	10.0 (6.0-14.0)#	18.0 (13.0-23.5)#

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, $p < 0,05$; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, $p < 0,05$
LPS= Lipopolysaccharide

Tab. 3.0.2 stellt die Endotoxin Dosis dar. Es bestand kein Intergruppenunterschied von Endotoxin-Dosis.

Tab. 3.0.2: Endotoxin Dosis

Endotoxin Dosis	ETX	2.4 (1.3-5.5)
($\mu\text{g kg}^{-1}\text{h}^{-1}$)	1400W	3.1 (1.5-5.0)

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, $p < 0,05$; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, $p < 0,05$
LPS= Lipopolysaccharide

Es gab keinen signifikanten Unterschied bzgl. des Körpergewichts zwischen den beiden Gruppen (Tab. 3.0.3)

Tab. 3.0.3: Körpergewicht

Körpergewicht	ETX	49.5 (46-52)
(kg)	1400W	48.3 (44-60)

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, $p < 0,05$; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, $p < 0,05$

3.1. Hämodynamische Ergebnisse und systemische Sauerstoffbilanz

3.1.1. Systemische Hämodynamik

Tab. 3.1.1.1: Systemische Hämodynamik

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
MAP	ETX	85 (78- 95)	88 (66-105)	75 (53- 115)
(mmHg)	1400W	85 (74- 105)	86 (67-126)	92 (65-118)
ZVD	ETX	6 (4- 8)	14 (9- 17)#	14 (9-15)
(mmHg)	1400W	8 (4- 9)	14 (11-18)#	13 (10-18)#
MPAP	ETX	22 (16-23)	38 (32-42)#	34 (27-39)#
(mmHg)	1400W	21 (15-22)	37 (32-50)#	40 (30-46)#
PAOP	ETX	8 (4-9)	14 (11-17)#	16 (14-17)#
(mmHg)	1400W	9 (7-10)	17 (14-21)#	14 (12-17)#
HZV	ETX	80 (67-100)	153(133-182)#	156(129-222)#
(ml min ⁻¹ kg ⁻¹)	1400W	90 (77-104)	146(81-155)	156(129-191)#
SVR	ETX	1591(1143-1972)	743(468-1150)#	631(452-934)#
(dyn s cm ⁻⁵)	1400W	1433(1271-1694)	808(577-1947)	861(478-997)#
HF	ETX	90 (71-96)	115(106-120)#	119(95-134)#
(min ⁻¹)	1400W	92 (70-112)	106(85-113)	110(99-137)#
ITBV	ETX	25 (16-29)	34 (22-39)	32 (28-42)#
(ml kg ⁻¹)	1400W	21 (16-29)	31 (15-34)#	32 (23-35)#

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05

LPS: Lipopolysaccharide , MAP: Mittlerer arterieller Druck, ZVD: Zentralvenöser Druck , HR: Herzfrequenz, HZV: Herzminutenvolumen, MPAP: Mittlerer Pulmonalarterieller Druck, PAOP: Pulmonalarterieller Okklusionsdruck, ITBV: Intrathorakales Blutvolumen

Tabelle 3.1.1.1 zeigt die Reaktion der systemischen hämodynamischen Parameter auf die Endotoxin-Infusion und Therapie mit 1400W.

Nach 12-stündiger Endotoxin-Infusion entwickelten alle Tiere einen hyperdynamen, normotensiven Kreislaufzustand:

(1) der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) änderte sich während der ETX-Infusion in beiden Gruppen nicht signifikant.

(2) das Herzminutenvolumen nahm in den beiden Gruppen zu; bis zum Versuchsende war es in den beiden Gruppen signifikant höher als der Basalwert. Es war kein

Intergruppenunterschied festzustellen.

(3) der systemische Gefäßwiderstand (SVR), der charakteristisch für den hyperdynamen Kreislaufzustand ist, fiel in beiden Versuchsgruppen bis zum Versuchsende signifikant ab, es gab keinen Intergruppenunterschied.

Der Zentralvenendruck (ZVD), der mittlere pulmonale Druck (MPAP) und der pulmonalarterielle Okklusionsdruck (PAOP) sowie die Herzfrequenz (HF) waren nach 24 stündiger ETX-Infusion signifikant erhöht, ohne daß ein Intergruppenunterschied vorlag. Das intrathorakale Blutvolumen (ITBV) nahm in beiden Gruppen signifikant zu, es gab jedoch keinen Intergruppenunterschied.

3.1.2 Systemische Sauerstoffaustausch

Tab. 3.1.2: Systemische Sauerstoffkinetik.

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
DO ₂	ETX	11 (9-12)	15 (12-21)#	15 (10-19)#
ml min ⁻¹ kg ⁻¹	1400W	11 (10-14)	16 (10-19)	16 (12-19)#
VO ₂	ETX	4.1 (2.9-4.4)	4.6 (3.8-5.4)#	3.9 (3.6-5.2)
ml min ⁻¹ kg ⁻¹	1400W	3.9 (3.4-5.5)	4.2 (2.5-5.4)	4.3 (3.4-5.3)

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05

LPS: Lipopolysaccharide, DO₂: Sauerstoff-Angebot, VO₂: Sauerstoff-Verbrauch

Nach 12- und 24-stündiger ETX-Infusion bestand kein signifikanter Unterschied bzgl. des systemischen Sauerstoffangebots und des systemischen Sauerstoffverbrauchs zwischen den beiden Gruppen.

3.2. NO und Nitrat

3.2.1. Exspiratorische NO-Produktion

Tabelle 3.2.1 Exspiratorische NO-Produktion

		Basalwert (vor LPS)	12 h LPS	24 h LPS
Expiratorisches NO	ETX	16 (7-24)	40 (14-107) #	31 (25-90) #
(pmol min ⁻¹ kg ⁻¹)	1400W	18 (8-30)	33 (13-146)	20 (12-38) §

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05

LPS: Lipopolysaccharide, NO: Stickstoffmonoxid

Die Tabelle 3.2.1 stellt die abgeatmete expiratorische NO-Menge im $\text{pmol min}^{-1} \text{kg}^{-1}$ dar. Nach 12-stündiger Endotoxin-Gabe war die NO-Menge in den beiden Gruppen erhöht. Während die NO-Exhalation in der Kontrollgruppe bis zum Versuchsende erhöht blieb, ging sie unter Therapie mit 1400W wieder zurück, es wurden am Ende sogar die Basalwerte erreicht. Nach 24 Stunden Endotoxin-Infusion bestand ein signifikanter Intergruppenunterschied zwischen der Kontrollgruppe und der 1400W-Gruppe.

3.2.2. Nitrat-Konzentration im Plasma

Tab. 3.2.2 Nitrat-Konzentration im arteriellen und portalvenösen Blut.

		Basalwert (vor LPS)	12 h LPS	24 h LPS
Nitrat A ($\mu\text{mol/g Protein}$)	ETX	1.0 (0.2-1.6)	2.8 (1.4-7.1)	4.0 (3.2-12.7)#
	1400W	0.5 (0-1.4)	1.9 (0.2-5.6)	2.6 (0.2-9.5)#
Nitrat PV ($\mu\text{mol/g Protein}$)	ETX	1.1 (0.2-1.5)	3.0 (1.7-7.2)	3.9 (3.6-15.6)#
	1400W	0.5 (0.1-1.3)	1.8 (0.1-4.8)	2.7 (0.2-8.4)#

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, $p < 0,05$; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, $p < 0,05$

LPS: Lipopolysaccharide, A: Arterien, PV: Portalvene

Um die Dilutionseffekte durch die Volumensubstitution zu berücksichtigen, sind die Werte für die Nitrat-Konzentration in $\mu\text{mol/g Protein}$ angegeben (Gebhard 1998). Die Nitrat-Konzentration im arteriellen und portalvenösen Blut stieg unter Endotoxin-Gabe in beiden Gruppen bis zum Versuchsende signifikant an, ohne dass ein Intergruppenunterschied festzustellen war.

3.3. Systemischer Säure-Basen-Haushalt

Tab. 3.3.: Systemischer Säure-Basen Haushalt.

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
Arterieller pH	ETX	7.50 (7.48-7.51)	7.38 (7.22-7.39)#	7.34 (7.17-7.43)#
	1400W	7.50 (7.45-7.51)	7.37 (7.34-7.42)#	7.37 (7.18-7.42)#
Hb (g/dl)	ETX	9.6 (7.6-11.9)	8.0 (7.6-9.3)	7.0 (6.6-7.8)#
	1400W	9.0 (8.1-10.7)	8.5 (7.2-9.7)	7.9 (7.1-8.8)#
Arterieller BE	ETX	6.1 (3.6-8.1)	-0.5 (-2.9-2.2)	-2.1 (-7.4--1.6)#
	1400W	5.1 (2.8-7.1)	1.6 (-3.6-5.2)	-0.7 (-6.1-5.2)#
Arterieller PCO ₂ (mmHg)	ETX	38 (35-42)	43 (39-65)#	42 (36-54)
	1400W	36 (34-40)	45 (37-51)#	45 (31-70)
PaO ₂ (mmHg)	ETX	142 (111-153)	114 (49-141)	96 (66-171)
	1400W	159 (142-187)	106 (81-157)#	105 (70-165)

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05

LPS: Lipopolysaccharide, Hb: Hämoglobin, BE: Base Excess, PCO₂: CO₂ Partialdruck, PaO₂: O₂ Partialdruck

Als Zeichen einer kombinierten respiratorischen (Anstieg des PCO₂) und metabolischen (Abfall des BE) Azidose fiel der arterielle pH in beiden Gruppen bis zum Versuchsende signifikant ab. Es bestand kein signifikanten Intergruppenunterschied. Der arterielle PaO₂ zeigte keinerlei signifikante Änderungen.

3.4 Regionale Hämodynamik und Sauerstoff-Extraktion des Darms

3.4.1 Regionale Hämodynamik des Darms

Tab. 3.4.1 Regionale Hämodynamik

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
Qpv (ml min ⁻¹ kg ⁻¹)	ETX	18 (14-29)	27 (23-35)#	33 (22-39)#
	1400W	16(10-21)	23 (15-35)#	30 (15-37)#

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05

LPS: Lipopolysaccharide, Qpv: Fluß Portalvene,

Die regionale Durchblutung in der Portalvene (Qpv) zeigte in den beiden Gruppen einen deutlichen Anstieg. Es gab keinen signifikanten Intergruppenunterschied zwischen den beiden Gruppen.

3.4.2. Sauerstoff-Extraktion des Darmes

Tab. 3.4.2. Sauerstoff-Extraktion des Darmes

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
O ₂ Extraktion	ETX	31 (24-46)	23 (20-31)	21 (17-26)#
(%)	1400W	35 (27-41)	27 (23-37)	22 (20-31)#

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05
LPS: Lipopolysaccharide

24-stündige ETX-Infusion führte in den beiden Gruppen zu einer signifikanten Abnahme der Sauerstoff-Extraktion der durch die Portalvene drainierten Organe.

Intergruppenunterschiede konnten nicht festgestellt werden.

3.5. Intestinale Säure-Basen Parameter und mukosal-arterielle PCO₂-Differenz

3.5.1. intestinale Säure-Basen Parameter

Tab. 3.5.1.1: Intestinaler Säure-Basen Haushalt.

		Basalwert (vor LPS)	12h LPS	24h LPS
Portalvene	ETX	7.45 (7.43-7.47)	7.35 (7.20-7.38)#	7.32 (7.15-7.40)#
pH	1400W	7.46 (7.42-7.48)	7.33 (7.30-7.40)#	7.34 (7.16-7.40)#
Portalvenöser BE	ETX	6.8 (5.4-11.2)	0.9 (-2.0-2.9)	-1.7 (-7.9-1.8)#
(mmol/l)	1400W	5.5 (1.4-8.4)	1.4 (-1.9-6.0)	-1.6 (-4.8-7.9)#
Portalvenöser PCO ₂	ETX	38 (35-42)	43 (39-65)#	42 (36-54)
(mmHg)	1400W	36 (34-40)	45 (37-51)#	45 (31-70)

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05
LPS: Lipopolysaccharide, BE: Base Excess, PCO₂: CO₂ Partialdruck

Als Zeichen einer gemischten metabolischen (Abfall des BE) und respiratorischen (Anstieg des PCO₂) Azidose fiel der portavenöse pH in den beiden Versuchsgruppen bis zum Versuchsende signifikant ab. Kein signifikanter Intergruppenunterschied war festzustellen.

Tab. 3.5.1.2: CO₂-Gehaltsdifferenz zwischen Arterie und Portalvene

		Basalwert	12h LPS	24h LPS
CCO ₂ _{PV-a} (mmol/l)	ETX	6.2 (0.5-11.5)	3.3 (1.6-5.8)	3.0 (0.8-3.5)
	1400W	6.2 (2.0-10.7)	6.6 (1.8-8.0)	2.8 (1.1-7.2)

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, p<0,05 ; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, p<0,05

LPS: Lipopolysaccharide, CCO₂: CO₂ Gehalt, a: arteriell, PV: Portalvene

Tabelle 3.5.1.2 zeigt, dass die arterio-portalvenöse CO₂-Gehaltsdifferenz zwischen Arterie und Portalvene nach Endotoxin-Infusion abnahm, es gab jedoch keinen signifikanten Intra- und Intergruppenunterschied.

3.5.2. Mukosal-arterielle PCO₂-Differenz

Die mukosal-arterielle PCO₂-Differenz stieg nach dem Endotoxin-Start bis zum Versuchsende in der ETX-Gruppe signifikant von 18 (4-40) auf 116 (34-141) mmHg an, p<0.05.

In der 1400W-Gruppe stieg der PCO₂-Differenz Wert nach 12-stündiger Endotoxin-Infusion zunächst von 16 (5-39) auf 35 (19-134) mmHg signifikant an, fiel dann unter Therapie jedoch wieder auf 23 (7-90) mmHg, was dem Basalniveau entspricht. Am Versuchsende bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Therapiegruppe und der Kontrollgruppe.

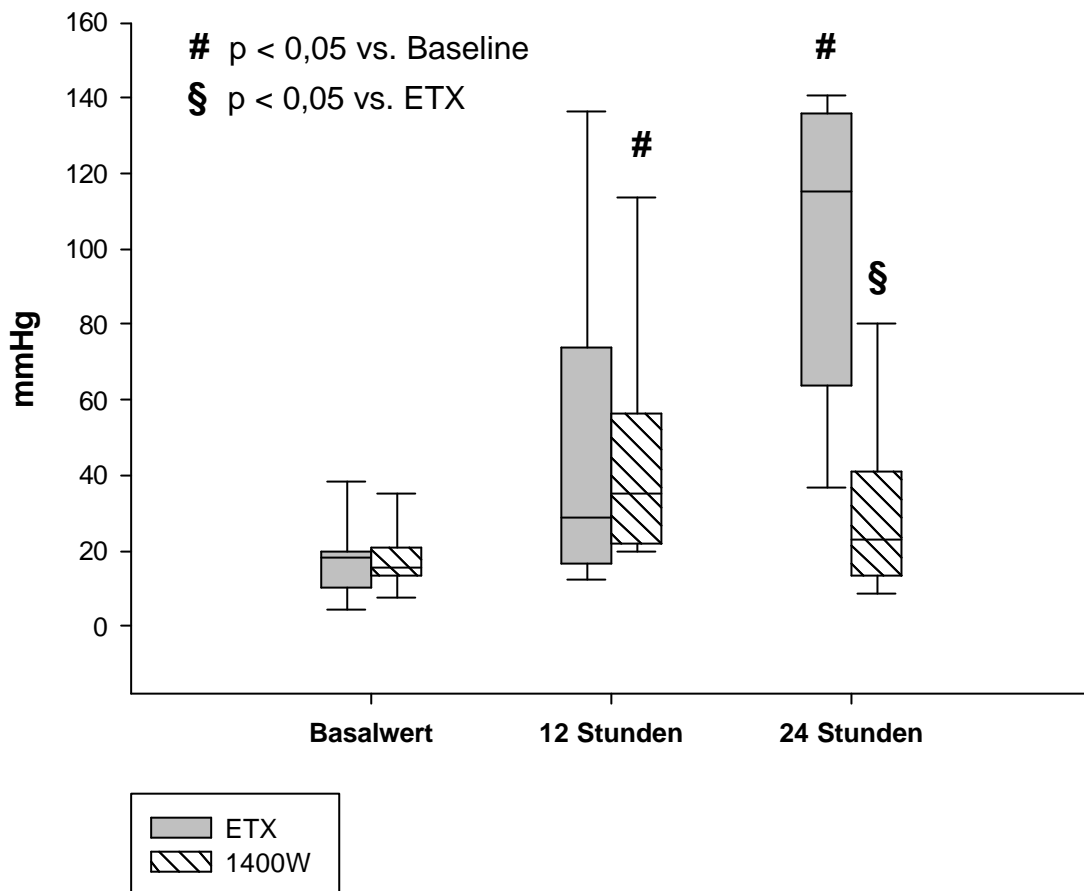


Abbildung. 3.5.2.1: Mukosal-arterielle PCO_2 -Differenz des Ileums
 Alle Angaben sind als Median, 25. und 75. Perzentile, sowie 5. und 95. Perzentile dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, $p < 0,05$; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, $p < 0,05$.
 PCO_2 : CO_2 Partialdruck

3.6. Mikrozirkulation der Ileummukosa

3.6.1. OPS Daten

Tabelle 3.6.1. faßt die Ergebnisse der quantitativen Analyse der Videoaufnahmen (OPS) der Ileummukosa zusammen. Vor Endotoxin-Start waren alle Villi in beiden Gruppen perfundiert; 12 Stunden Endotoxin-Infusion führte zu einer deutlichen Heterogenität der Mikrozirkulation in beiden Gruppen: nur noch etwa die Hälfte der Villi in den beiden Gruppen waren perfundiert.

Nach 24-stündiger Endotoxin-Infusion war dieser Effekt noch verstärkt.

Während des ganzen Versuches gab es keinen Intergruppenunterschied.

Tab. 3.6.1: OPS Daten

		Basalwert (vor LPS)	12 h LPS	24 h LPS
Gesamtzahl	ETX	62 (45-67)	50 (37-66)	52 (32-61)
analysierter Villi	1400W	62 (50-74)	53 (44-74)	51 (44-71)
Perfundierte Villi	ETX	98 (89-100)	55 (5-81)#	19 (0-76)#
(%)	1400W	98 (97-100)	55 (0-89)#	20 (0-80)#

Alle Daten sind als Median, Min. und Max. dargestellt. # Signifikanz zum Ausgangswert, $p < 0,05$; § Signifikanz zur ETX-Gruppe, $p < 0,05$
LPS: Lipopolysaccharide

3.6.2. Mikrovaskulärer Fluss und mikrovaskuläre Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung der Ileummukosa

(ETX-Gruppe n=4, 1400W-Gruppe n=5)

Für die Darstellung der Häufigkeits-Verteilungshistogramme der kapillären Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung bzw. des mikrovaskulären Blutflusses wurden pro Messzeitpunkt alle Einzelwerte aller Tiere einer Gruppe zusammengefaßt und Rubriken aufsteigender Werte zugeordnet. Die angegebenen Häufigkeiten entsprechen also jeweils dem Anteil einer Rubrik an insgesamt ca. 1200 Werten in der Kontroll- bzw. 1500 Werten in der 1400W-Gruppe.

Die Abbildung 3.6.2.1 (A, B, C) zeigte die Häufigkeitsverteilung des kapillären Blutflusses in der Ileumwand.

Vor Endotoxin-Infusion (Basalwert) lagen alle Flusswerte zwischen 0 und 350 Einheiten. 12 Stunden Endotoxin-Infusion führte dazu, dass die Daten in beiden Gruppen in einem sehr breiten Intervall verteilt waren (Flusswerte von 0 bis 1800 Einheiten). Am Versuchsende fanden sich die extrem hohen Flusswerte, wie man sie nach 12 h finden konnte, nicht mehr. Jedoch waren höhere Flusswerte in der 1400W-Gruppe häufiger: 56% der Flusswerte in der 1400W-Gruppe lagen im Bereich zwischen 51 bis 100 Einheiten vs. 35% in der ETX-Gruppe. Dagegen waren in der Kontrollgruppe ein mehrmals doppelt so hoher Anteil niedriger (0-50 Einheiten) Flusswerte (51 %) als in der 1400W-Gruppe (21 %) zu sehen.

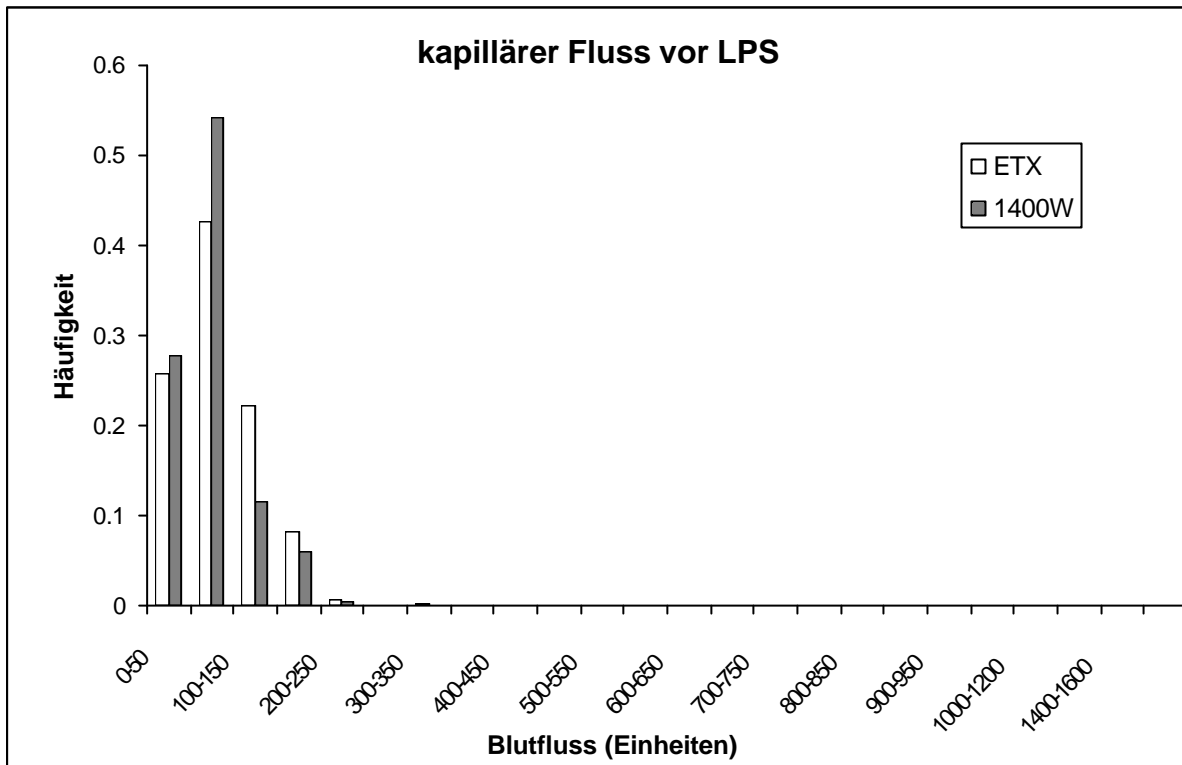


Abb. 3.6.2.1 A

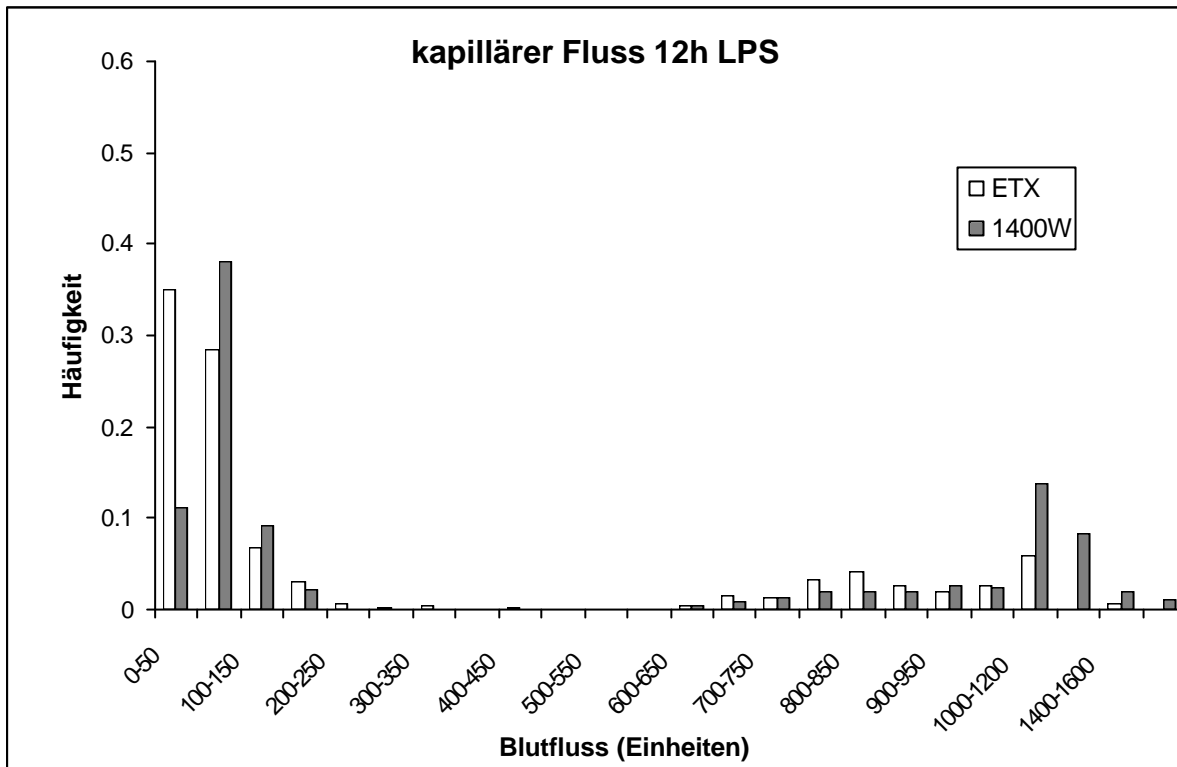


Abb. 3.6.2.1.B

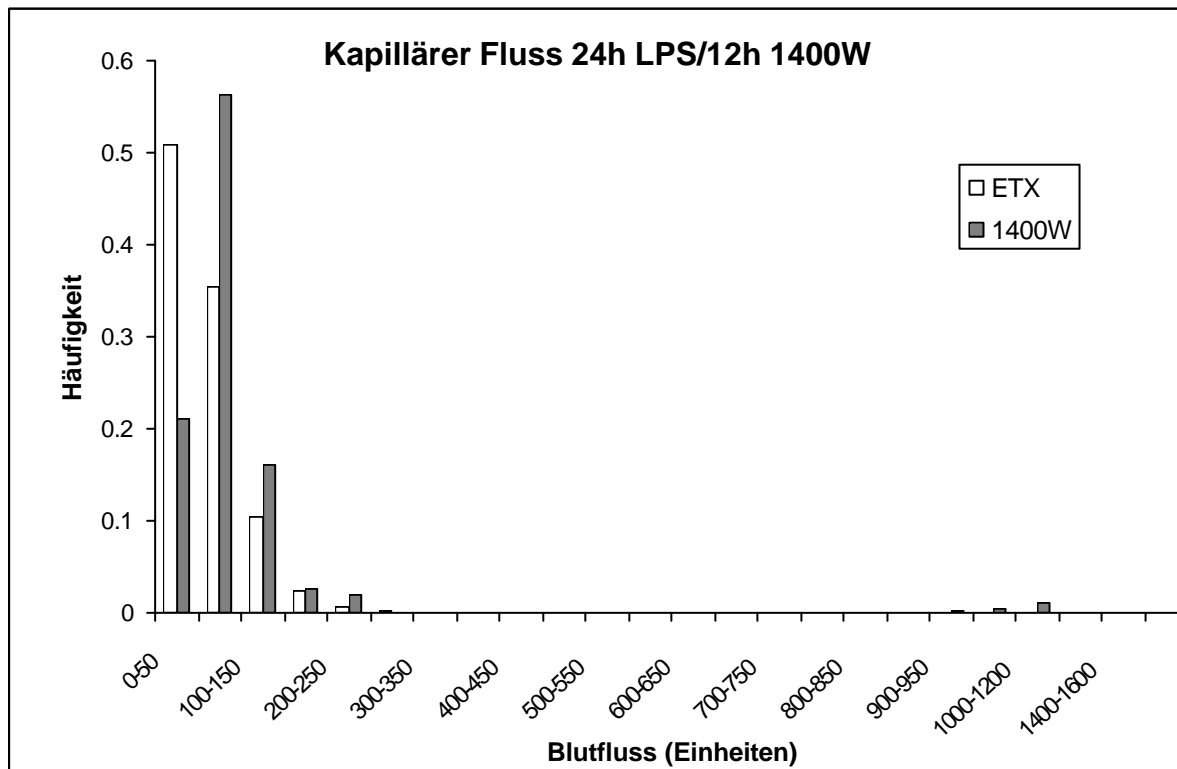


Abb. 3.6.2.1.C

Abbildung 3.6.2.1 Häufigkeitsverteilung des kapillären Blutflusses in der Ileumwand vor LPS (Abb. A), sowie nach 12h (Abb. B) und 24h (Abb. C) Endotoxin-infusion.

Die Abbildung 3.6.2.2 zeigt die Häufigkeitsverteilung der kapillären Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung. Am Anfang sind alle Werte homogen entsprechend einer Gauss-Kurve verteilt. Nach 12-stündiger Endotoxin-Infusion stieg der Anteil niedriger Sättigungswerte (0-20 %) in beiden Gruppen. 24 Stunden nach Start der Endotoxin-Infusion war der Anteil normaler Sättigungswerte (40-60 %) in 1400W-Gruppe doppelt so hoch wie in der ETX-Gruppe: 46% der Werten lagen zwischen 40-60% Sättigung in der 1400W-Gruppe vs. 19% in der ETX-Gruppe.

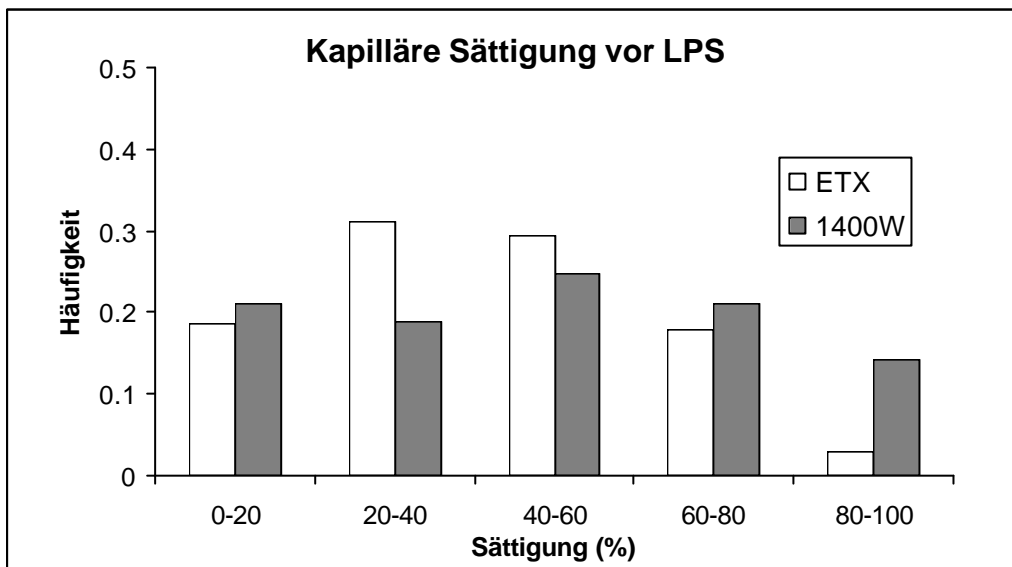


Abb. 3.6.2.2 A

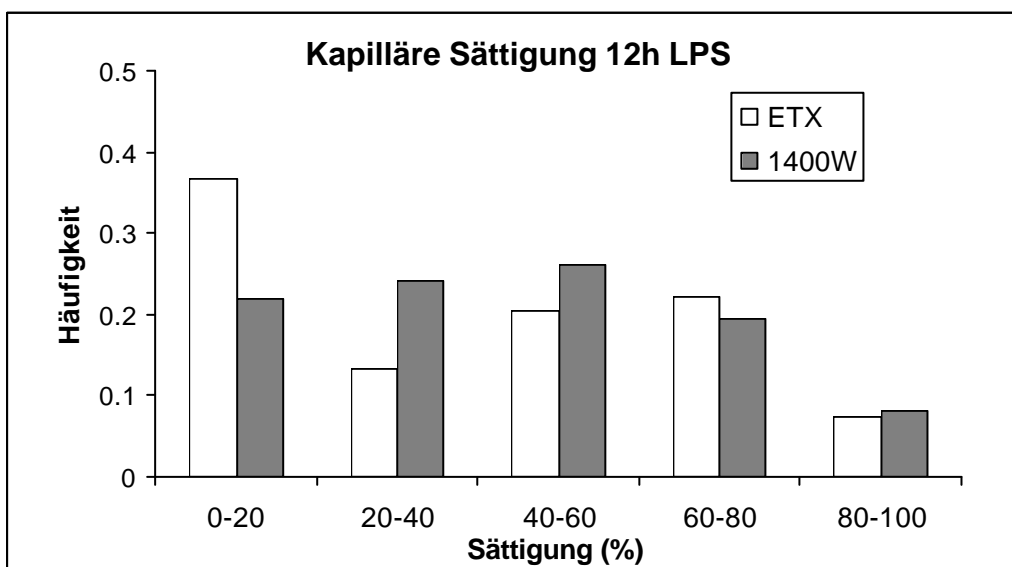


Abb.3.6.2.2 B

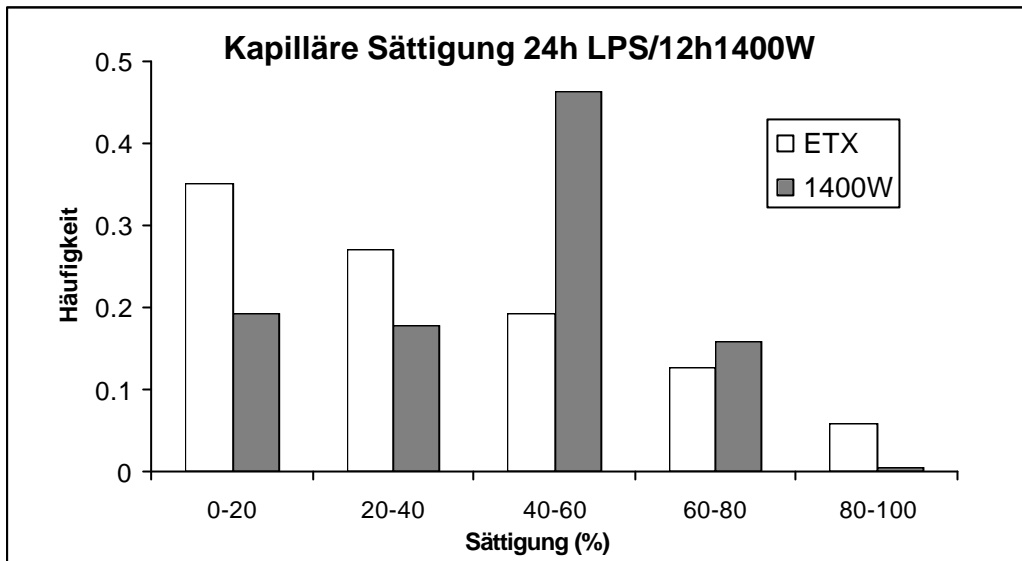


Abb.3.6.2.2.C

Abbildung 3.6.2.2 die Häufigkeitsverteilung der kapillären Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung vor LPS (Abb. A), sowie nach 12 h (Abb. B) und 24 h (Abb. C) Endotoxin-Infusion

Diskussion

Das Hauptziel unseres Versuchs war, die Wirkung des hoch selektiven iNOS-Inhibitors 1400W auf die Mikrozirkulation und den Energiestoffwechsel des Ileums zu charakterisieren. Die wesentlichen Ergebnisse waren:

1. 1400W konnte die durch Endotoxin gesteigerte PCO_2 -Differenz zwischen Darm und Arterien nahezu normalisieren.
2. 1400W konnte die durch Endotoxin stark reduzierte Anzahl der perfundierten Villi im Ileum nicht beeinflussen.

Mit Hilfe der Remissionsspektrophotometrie bzw. der Laser-Doppler-Methode wurde gezeigt, dass der Anteil normaler mikrovaskulärer Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigungswerte (40-60%) in der 1400W-Gruppe doppelt so häufig war wie in der Endotoxin-Gruppe. Ähnliches gilt auch für den Blutfluss in den Kapillaren.

4.1. Modell und Methode

Für unsere Untersuchungen wurde ein hyperdynamisches Langzeitmodell beim Schwein gewählt. Die Induktion des septischen Schocks erfolgte durch Endotoxin-Infusion. Wie viele Autoren vorher beschrieben haben, ist die Spezies Schwein besonders geeignet, weil sie anatomisch, metabolisch, physiologisch und pathophysiologisch die größte Homologie zum Menschen besitzt (Douglas 1972).

Bei unserem Modell wurde Endotoxin über 24 Stunden kontinuierlich infundiert. Ein Bolus oder eine kurze Endotoxin-Infusion führen zu einer Vasokonstriktion mit einem deutlich verminderten Herzzeitvolumen, d.h. im Gegensatz zur klinischen Realität entwickelt sich ein hypodynamer Schock (Fink 1990). Die kontinuierliche Infusion von Endotoxin dagegen führt zum deutlichen Anstieg des Herzzeitvolumens, was die Kriterien eines klinisch relevanten Modells des septischen Schocks besser erfüllt (Fink 1990, Traber 1989).

Die Therapie mit 1400W wurde nach 12-stündiger Endotoxin-Infusion begonnen, da sich erst nach dieser Zeitspanne ein dem Menschen vergleichbarer hyperdynamischer Kreislaufzustand etabliert (Santak 1998). Außerdem wurde dieser Therapiezeitpunkt gewählt, weil die induzierbare NO-Synthase erst mit einer zeitlichen Latenz nach Beginn einer Endotoxin-Infusion aktiviert wird. So zeigten Pastor et al. z.B., dass sowohl die iNOS-mRNA als auch das iNOS-Protein im Schwein erst ca. 6 Stunden nach Endotoxin-Exposition nachgewiesen werden konnte (Pastor 2000). 1400W schließlich wurde gewählt, weil diese Substanz in der

Literatur als hoch selektiver iNOS-Inhibitor charakterisiert ist (Garvey 1997). Zudem lagen bereits Erfahrungen aus einem vorausgegangenen Experiment vor (Matejovic 2001).

4.2. NO-Produktion

Da die direkte Messung der iNOS-Aktivität nicht möglich war, wurde eine indirekte Abschätzung der endogenen NO-Produktion durchgeführt über die Messung der expiratorischen NO-Abatmungsrate sowie der Nitrat-Konzentration im arteriellen und portalvenösen Plasma.

Nitrat ist das wesentliche Abbauprodukt von NO (Archer 1993, Marzinig 1997). In unserem Versuch gab es zwischen der 1400W-Gruppe und der Kontrollgruppe keinen Unterschied der Nitratspiegel, weder im arteriellen noch im portalvenösen Blut. Die Plasma-Nitratkonzentrationen wurden also durch 1400W nicht beeinflusst. Dass die Messung Nitratspiegel bei Schweinen kein geeigneter Parameter für die NO-Produktion ist, wurde auch von anderen Autoren vermutet: Pastor et al zeigten am Schwein ebenfalls, dass sich nach Endotoxin-Gabe die Nitratkonzentration im Plasma nicht änderte, obwohl iNOS-mRNA nachgewiesen wurde (Paster 2000). Unveränderte Blut-Nitratspiegel während einer Endotoxinämie beim Schwein wurden auch von Mehta et al. beschrieben (Mehta 1997, 1999). An einem sehr ähnlichen hyperdynamen Schockmodell schließlich, wie wir es verwendeten, kam es in einer Studie von Santak et al. zu einem Anstieg der NO-Bildung (Bestimmung mit Hilfe stabiler, nicht-radioaktiv markierter $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ -Isotope), aber zu keiner Veränderung der Nitratkonzentration im Plasma (Santak 1997). Veränderungen der Körperwasserkompartimente im Rahmen einer Sepsis könnten diese Ergebnisse erklären: Endotoxin verursacht eine Schädigung der endothelialen Barrierfunktion, es kommt zur Bildung generalisierter Ödeme bzw. von Ascites (McQuaid 1997). Da sich Nitrat wie andere kleine Anionen im gesamten Körperwasser verteilt, also auch in Ödemen und Ascites (sogenannte „dritte Räume“) (Wennmalm 1993), läßt die Plasmakonzentration nicht zwingend einen Rückschluß auf die gesamte NO-Produktion zu.

Die expiratorische NO-Menge ist ein anderer möglicher Parameter für die endogene NO-Produktion. Entsprechend der Studie von Mehta et al. kam es bei unserem Versuch in der Endotoxin-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der expiratorischen NO-Menge (Mehta 1999). Beim Einsatz des selektiven iNOS-Inhibitors 1400W nahm die expiratorische NO-Menge wieder ab und erreichte am Versuchsende sogar wieder Anfangswerte.

Dennoch kann man nur sagen, dass die von uns gemessene expiratorische NO-Menge nur ein Anhaltspunkt für die iNOS-Aktivität war. Zudem spiegelt sie möglicherweise nur die NO-Produktion innerhalb der Atemwege wider, nicht aber des gesamten Körpers. Mehta et al hatten in ihrer Studie allerdings gezeigt, dass die expiratorische NO-Menge nach intravenöser Gabe von Nitroglycerin stark anstieg, die intravasale NO-Produktion also einen Einfluss auf die expiratorische NO-Menge hatte.

4.3. Mukosal-arterielle PCO₂ Differenz

Die PCO₂-Differenz zwischen Darmmukosa und arteriellem Blut ist ein integrativer Parameter, der sowohl die Durchblutung als auch die Energiebilanz einschließt (Uusaro 2000) und in unserem Versuch einen besonderen Stellenwert hatte. Während der Endotoxinämie stieg die PCO₂-Differenz signifikant an, iNOS-Inhibition mit 1400W konnte sie nahezu normalisieren.

Viele Faktoren, z.B. ein verminderter regionaler Blutfluss, eine verminderte Sauerstoffversorgung, eine gestörte Mikrozirkulation und eine zelluläre Stoffwechselstörung können zum Anstieg der PCO₂-Differenz führen (Brinkmann 1998, Knichwitz 1998, Tugtekin 2001). Dementsprechend könnte die Therapie mit 1400W die Werte für die PCO₂-Differenz durch folgende Mechanismen beeinflussen:

(1) Makrozirkulation:

Die Ursache für die Normalisierung der PCO₂-Differenz durch 1400W in unserem Versuch ist nicht in einer veränderten Makrozirkulation zu suchen, weil keine Unterschiede im arteriellen Mitteldruck (MAP), Herzminutenvolumen (HZV) und der systemischen Sauerstoffangebot (DO₂) zwischen der 1400W-Gruppe und der Kontrollgruppe beobachtet wurden. Außerdem unterschieden sich auch die Perfusion der durch die Pfortader drainierten Organen (Q_{pv}) und die intestinale Sauerstoffextraktion (iO₂EX) in der 1400W-Gruppe nicht von der Kontrollgruppe. Ähnliches hatten Matejovic et al. in einer früheren Studie unter vergleichbaren Versuchsbedingungen gezeigt (Matejovic 2001).

Als Konsequenz müssen als Erklärung für die Verbesserung der PCO₂-Differenz Effekte auf die Mikrozirkulation und/oder den zellulären Energiestoffwechsel diskutiert werden.

(2) Mikrozirkulation:

In unserem Versuch wurden die orthogonale Polarisations-Videospektrometrie (mit OPS-Kamera) und die Remissionsspektrophotometrie bzw. die Laser-Doppler-Methode (mit O₂C-Sensor) zur Erfassung der Mikrozirkulation der Ileumwand eingesetzt. Der O₂C ist ein fiberoptischer Sensor, in dem zwei Messmethoden kombiniert sind: ein Laser-Doppler zur Messung des Blutflusses und eine Weißlicht-Gewebespektrometrie zur Messung der Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung (Krug 1998). Die OPS-Methode (*orthogonal polarization spectral imaging*) ist eine Technik, die die Beobachtung der Mikrozirkulation auf Organoberflächen *in vivo* ermöglicht. Die gewonnenen Bilder können auf einem Videoband aufgezeichnet und ausgewertet werden. Da die gewählte Wellenlänge des polarisierten Lichtes besonders durch Hämoglobin absorbiert wird, können die Erythrozyten in den Kapillaren direkt beobachtet werden. Im Gegensatz zu anderen Messmethoden, wie z.B. der Intravitalmikroskopie (Schmidt 1996, Harris 1997) oder der Pd-Porphyrin-Phosphoreszenz-Methode (Sinaasappel 1996), kann man mit OPS die Mikrozirkulation *in situ* und *in vivo* beobachten (Tugtekin 2001), ohne diese direkt oder durch die Gabe von Marker-Substanzen zu beeinflussen.

Die Auswertung der mit OPS aufgezeichneten Bilder zeigte, dass sich die Anzahl der perfundierten Villi nach 24 Stunden Endotoxin-Infusion, also 12 Stunden Therapie in der 1400W-Gruppe, nicht von denen in der Kontrollgruppe unterschied. Aus diesem Ergebnis allein könnte möglicherweise geschlossen werden, dass die durch Endotoxin verschlechterte Durchblutung der Ileummukosa durch 1400W nicht beeinflusst wurde. Die selektive iNOS-Hemmung zeigte jedoch eine Erhöhung der kapillären Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung und des mikrovaskulären Blutflusses. Zwei möglichen Erklärungen, wie 1400W den PCO₂-Differenz auf der mikrozirkulatorischen Ebene beeinflusst, sind denkbar: (1) 1400W erhöht den Blutfluss und damit die Sauerstoffverfügbarkeit in den restlichen, noch perfundierten Villi und/oder (2) 1400W verbessert die Mikrozirkulation in der Submukosa/Muskularis. Für die Beantwortung dieser Frage ist die Kenntnis der Detektionstiefe des O₂C-Signals erforderlich: Laut Angaben des Herstellers beträgt die Detektionstiefe des O₂C 100-300 µm (Krug 1998), was beim Schwein der Mukosaschicht entspricht. Nach Spreuwenberg et al. (Spreuwenberg 2001) betragen im Ileum des Schweins die Villus-Länge ca. 250 µm und die Krypten-Tiefe ca. 150 µm, d.h. die Mukosa im Ileum ist ca. 300-400 µm dick. Demzufolge erfaßt das O₂C-System v.a. die kapilläre Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung und den mikrovaskulären Blutfluss der Darmmukosa. Unsere Ergebnisse deuten also v.a. auf eine erhöhte Durchblutung der noch perfundierten Villi hin. Saure Stoffwechselprodukte und CO₂

werden schneller abtransportiert, die PCO_2 -Differenz wird dadurch verringert bzw. nahezu normalisiert .

Inwieweit der O_2C - Sensor auch tiefere Gewebsschichten der Darmwand erfaßt, ist nicht abzuschätzen. Eine günstiger Effekt von 1400W auf die Durchblutung und Sauerstoffversorgung von Submukosa bzw. Muskularis kann deshalb nicht ausgeschlossen werden. In der Tat konnten Siegemund et al. zeigen, dass 1400W beim Schwein mit Endotoxin-Schock die mukosal-arterielle PCO_2 -Differenz vor allem durch die Erhöhung des mikrovaskulären PO_2 der Submukosa bzw. Serosa verbesserte (Siegemund 2001). In Analogie zu Schwarz et al. führten wir einen „Spiegelversuch“ durch, um die Eindringtiefe des O_2C Signals zu überprüfen. Diese Autoren hatten eine sofortige Verstärkung des Laser-Doppler- und des Remissionsspektrophotometrie-Signals beobachtet, wenn sie einen Spiegel auf der Serosa des Darms und den Laser-Doppler- und Remissionsspektrophotometrie-Sensor intraluminal auf der Mukosa plazierten (Schwarz 2001). Da wir keine Veränderung des Signals beobachteten, konnten wir ausschließen, dass das O_2C Signal bis zur Serosa durchdringt, d.h. nur ein Teil der Darmwand erfaßt wird.

(3). Mitochondriale Respiration:

Neben der Wirkung auf die Mikrozirkulation können hemmende Effekte von NO auf die Zellatmung und damit mögliche Effekte von 1400W noch auf Zellebene die Normalisierung der PCO_2 -Differenz erklären. King et al. hatten demonstriert, dass Endotoxin den mukosalen Sauerstoffverbrauch verringerte und ein iNOS-Inhibitor, Aminoguanidin, den mukosalen Sauerstoffverbrauch wieder normalisierte (King 1999). Die Autoren waren der Ansicht, dass die mit Endotoxinämie verbundene Verringerung des mukosalen Sauerstoffverbrauchs durch eine geschädigte Zellatmung ausgelöst wurde, die mindestens teilweise durch NO verursacht wurde und durch iNOS-Hemmung verbessert werden konnte.

Die Hypothese, dass die mitochondriale Respiration während einer Sepsis geschädigt ist, wird durch verschiedene Befunde gestützt: VanderMeer et al. haben im Schweinmodell gezeigt, dass Endotoxin trotz eines sogar erhöhten mukosalen PO_2 zur mukosalen Azidose führte, d.h., die Sauerstoffverwertung im Gewebe war offensichtlich beeinträchtigt (VanderMeer 1995). Unno et al fanden Hinweise, dass die mitochondriale Respiration 24 Stunden nach Endotoxin-Gabe geschädigt war. Sie konnten gleichzeitig zeigen, dass der iNOS-Inhibitor Aminoguanidin die mitochondriale Dysfunktion normalisierte, was darauf hinwies, dass die überschießende NO Produktion durch iNOS die Schädigung der mitochondrialen Atmung

verursacht hatte (Unno 1997). In der Tat kann NO die mitochondriale Funktion durch verschiedene Mechanismen beeinflussen: durch Hemmung der Komplexe I und IV der mitochondrialen Atmungskette (Clementi 1998, Schweizer 1994) und durch Peroxynitrit, einem Produkt aus NO und dem Superoxid-Anion. (Szabo 1996, Zingarelli 1996).

Wir konnten in unserem Versuch die Zellatmung nicht separat messen, so dass eine direkte Bewertung nicht möglich ist. Zudem waren die Ergebnisse zur Mikrozirkulation im Gewebe nicht identisch, und es existiert derzeit keine Messmethode der mitochondrialen Respiration, die *in vivo* vom Blutfluss unabhängig ist.

Schlußfolgerung

Aus den Ergebnissen unserer Versuchsreihe kann gefolgert werden, dass die durch 1400 W erreichbare Verbesserung mukosal-arteriellen PCO_2 -Differenz im Ileum auf folgende Mechanismen zurückgeführt werden kann:

- (1) 1400W erhöhte den Blutfluss und die Sauerstoff-Verfügbarkeit in den noch perfundierten Villi, verbesserte also v.a. die Mikrozirkulation der Dünndarm-Mukosa.
- (2) 1400W verbesserte zusätzlich die Mikrozirkulation in der Submukosa/Muskularis, ein Effekt auf Serosaebene hatte angesichts des Resultats des „Spiegelversuchs“, wenn überhaupt vorhanden, allenfalls untergeordnete Bedeutung.
- (3) Die Frage, ob 1400W auch die NO-bedingte Hemmung der mitochondrialen Atmung günstig beeinflusste, kann anhand unserer Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden, war aber auf Grund des gewählten Versuchsaufbaus nicht zu beantworten.

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war, die Auswirkungen einer hochselektiven iNOS (induzierbare NO Synthase)-Inhibition mit 1400W auf Makro- und Mikrozirkulation, Sauerstoffkinetik und Energiebilanz des Darms in einem Langzeitmodell des septischen Schocks zu charakterisieren.

Als Tiermodell wurde die kontinuierliche Endotoxin-Infusion beim Schwein gewählt, weil das Schwein anatomisch, metabolisch und pathophysiologisch die größte Homologie zum Menschen besitzt und der hyperdynamische Zustand mit hohem Herzminutenvolumen die Charakteristika des Patienten in der Klinik widerspiegelt.

Als Parameter für die iNOS-Aktivierung wurde die expiratorische NO-Menge als Maß für die endogene NO (Stickstoffmonoxid)-Produktion gemessen. Während der Endotoxinämie stieg sie stark an und fiel unter 1400W nahezu auf Ausgangspunkte ab.

Zur Messung der Mikrozirkulation im Darmwand wurden zwei Methoden angewandt: eine Kombination eines Laser-Doppler zur Messung des kapillären Blutflusses und der Remissionsspektrophotometrie zur Messung der intrakapillären Hämoglobin-Sättigung der Ileumwand. Zudem kam die orthogonale Polarisations-Videospektrometrie zum Einsatz zur Aufzeichnung der Villus-Mikrozirkulation *in situ*. Die Versuchstiere wurden zwei Gruppen zugeteilt: Endotoxingruppe n=6, Therapiegruppe n=8. Der Versuchsablauf begann mit einer Präparationsphase von vier Stunden. Anschließend folgte eine Erholungsphase von acht Stunden. Danach wurden die Basalwerte erhoben und die Endotoxin-Infusion gestartet. Die initiale Dosis wurde so eingestellt, daß der mittlere Pulmonalarteriendruck zwischen 35 und 40 mmHg lag. Messungen erfolgten jeweils 12 und 24 Stunden nach Beginn der Endotoxin-Infusion.

In der Therapiegruppe wurde 1400W nach 12-stündiger Endotoxin-Infusion eingesetzt in einer Dosis von initial 0.5 mg/kg * h, später 0.1 – 0.2 mg/kg * h entsprechend den Erfahrungen einer früheren Untersuchung.

Als systemische Kreislaufparameter wurden der arterielle Mitteldruck, das Herzminutenvolumen und der systemische vaskuläre Widerstand bestimmt. Der Fluss in der Portalvene wurde als regionaler Kreislaufparameter des Darms gewählt.

Nach 12-stündiger ETX-Infusion entwickelte sich ein normotensiver hyperdynamer Kreislauf mit einem stark reduzierten systemischen Gefäßwiderstand und einem zunehmenden Herzminutenvolumen. Der mittlere Blutdruck sowie die regionale Durchblutung im Darm

waren in den beiden Versuchsgruppen nicht signifikant verändert, die systemische Sauerstoffverbrauch, das Sauerstoffangebot und O_2 -Extraktion des Darms blieben durch 1400W unbeeinflusst.

Als Energiebilanz- und Durchblutungsparameter des Dünndarms wurde die mukosal-arterielle PCO_2 -Differenz im Ileum bestimmt. Die Endotoxin-Infusion führte zum Anstieg dieser PCO_2 -Differenz in beiden Gruppen (von 18 (4-40) auf 29 (12-143) mmHg in der ETX-Gruppe und von 16 (5-39) auf 35 (19-134) mmHg in der 1400W-Gruppe). Nach 24-stündiger Endotoxin-Infusion wurde in der 1400W-Gruppe wieder Ausgangswerte erreicht (23 (7-90) mmHg), während die PCO_2 -Differenz in der ETX-Gruppe weiter anstieg (116 (34-141) mmHg). Zu diesem Meßzeitpunkt gab es signifikanten Intergruppenunterschied.

Vor Endotoxin-Start waren alle Villi der Ileummukosa perfundiert. Nach 12 Stunden Endotoxin-Infusion nahm die Anzahl der perfundierten Villi in beiden Gruppen signifikant ab auf 55 % in der ETX-Gruppe und 53 % in der 1400W-Gruppe. Nach 24-stündiger Endotoxin-Infusion waren in beiden Gruppen fast keine Villi mehr perfundiert (19 % in der ETX-Gruppe und 20 % in der 1400W-Gruppe), es gab jedoch keinen Intergruppenunterschied.

Am Anfang waren alle Werte der kapillären Hämoglobin-Sauerstoff-Sättigung homogen verteilt. 24 Stunden nach der Endotoxin-Start war der Anteil normaler Sättigungswerte (40-60%) in der 1400W-Gruppe doppelt so hoch wie in der ETX-Gruppe (46% in 1400W-Gruppe vs. 19% in der ETX-Gruppe). In Analogie zu diesem Ergebnis lagen vor der Endotoxingabe alle kapillären Flusswerte zwischen 0 und 350 Einheiten. Nach 24-stündiger Endotoxin-Infusion waren hohe Flusswerte in der 1400W-Gruppe häufiger (56% der Flusswerten in der 1400W-Gruppe lagen im Bereich zwischen 51 bis 100 Einheiten vs. 35% in ETX-Gruppe).

Die Verbesserung der mukosal-arterielle PCO_2 -Differenz durch 1400W kann also durch folgende Mechanismen erklärt werden:

- 1400W verbessert den Blutfluss und damit die Oxygenierung in den restlichen, noch perfundierten Villi in der Mukosa.
- 1400W führt zu einer Umverteilung der Mikrozirkulation in die Submukosa/Muskularis.
- 1400W verbessert die NO-bedingte Störung der mitochondrialen Atmung.

Literaturverzeichnis

1. **Archer S**: Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 7:349-360 (1993)
2. **Astiz ME**, Rackow EC: Septic shock. *Lancet* 351:1501-1505 (1998)
3. **Brinkmann A**, Calzia E, Träger K, Radermacher P: Monitoring the hepato-splanchnic region in the critically ill patient. Measurement techniques and clinical relevance. *Intensive Care Med* 24:542-556 (1998)
4. **Carrico CJ**, Meakins JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV: Multiple- Organ-failure Syndrome: The gastrointestinal tract: The „moter“ of MOF. *Arch Surg* 121:196-208 (1986)
5. **Cines DB**, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmermann GA et al: Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 91:3527-3561 (1998)
6. **Clementi E**, Brown GC, Feelisch M, Moncada S: Persistent Inhibition of cell respiration by nitric oxide:Crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7631-7636 (1998)
7. **Darley-USmar V**, Wiseman H, Halliwell B: Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett* 369:131-135 (1995)
8. **Douglas WR**: Of pigs and men and research:a review of applications and analogies of the pig, sus scrofa, in human medical research. *Space Life Sci* 3:226-234 (1972)
9. **Douglas AR**, Jones NL, Reed JW: Calculation of whole blood CO₂ content. *Am Physiol Society* 65: 473-477 (1988)
10. **Fink MP**, Heard SO: Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res* 49:186-196 (1990)
11. **Fink M**: Cytopathic hypoxia in sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 110: 87-95 (1997)
12. **Friedman G**, Silva E, Vincent JL: Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med* 26:2078-2086 (1998)
13. **Froon AH**, Bemelmans MH, Greve JW, Van der Linden CJ, Buurman WA: Increased plasma concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors in sepsis syndrome: correlation with plasma creatinine values. *Crit Care Med* 22:803-809 (1994)
14. **Garvey EP**, Oplinger JA, Furfine ES, Kiff RjJ, Laszlo F, Whittle BJ: 1400W is a slow, tight binding, and highly selective inhibitor of inducible nitric-oxide synthase in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 271: 4959-4963 (1997)
15. **Gebhard F**, Nussler AK, Rosch M, Pfetsch H, Kinzl L, Brückner UB: Early posttraumatic increase in production of nitric oxide in humans. *Shock* 10: 237-242 (1998)

16. **Gomez-Jimenez J**, Salgado A, Mourelle M, Martin MC, Segura RM, Peracaula R, Moncada S: L-arginine: nitric oxide pathway in endotoxemia and human septic shock. *Crit Care Med* 23:253-258 (1995)
17. **Harris AG**, Hecht R, Peer F, Nolte D, Messmer K: An improved intravital microscopy system. *Int J Microcirc Clin Exp* 17: 322-327 (1997)
18. **Johnston JD**, Harvey CJ, Menzies IS, Treacher DF: Gastrointestinal permeability and absorptive capacity in sepsis. *Crit Care Med* 24:1144-1149 (1996)
19. **Kilbourn RG**, Szabo C, Traber DL: Beneficial versus detrimental effects of nitric oxide synthase inhibitors in circulatory shock: lessons learned from experimental and clinical studies. *Shock* 7: 235-246 (1997)
20. **King CJ**, Tytgat S, Delude RL, Fink MP: Ileal mucosal oxygen consumption is decreased in endotoxic rats but is restored toward normal by treatment with aminoguanidine. *Crit Care Med* 27: 2518-2524 (1999)
21. **Knickwitz G**, Rötter J, Möllhoff T, Richter KD, Brüssel T: Continuous intramucosal PCO₂ measurement allows the early detection of intestinal malperfusion. *Crit Care Med* 26: 1550-1557 (1998)
22. **Krug A**: Quantitative optische Gewebemessungen am Herz und an der Leber. Dissertation, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen Nürnberg 1998
23. **Laszlo F**, Whittle BJ: Actions of isoform-selective and non-selective nitric oxide synthase inhibitors on endotoxin-induced vascular leakage in rat colon. *Eur J Pharmacol* 334: 99-102 (1997)
24. **Marshall JC**, Christou NV, Meakins JL: The gastrointestinal tract. The „undrained abscess“ of multiple organ failure. *Ann Surg* 218: 111-119 (1993)
25. **Marzinzig M**, Nüssel AK, Stadler J, Marzinzig E, Barthlen W, Nüssler NC, Beger HG, Morris SM Jr, Brückner UB: Improved methods to measure and products of nitric oxide in biological fluids: nitrite, nitrate, and S-nitrosothiols. *Nitric Oxide* 1: 177-189 (1997)
26. **Matejovic M**, Radermacher P, Tugtekin I, Stehr A, Theisen M, Vogt J, Wachter U, Ploner F, Geogheff M, Träger K: Effects of selective iNOS inhibition on gut and liver O₂ -exchange and energy metabolism during hyperdynamic porcine endotoxemia. *Shock* 16: 203-210 (2001)
27. **McQuaid KE**, Keenan AK: Endothelial barrier dysfunction and oxidative stress: roles for nitric oxide? *Exp Physiol* 82: 369-376 (1997)
28. **Mehta S**, Magder S, Levy RD: The effects of changes in ventilation and cardiac output on expired nitric oxide. *Chest* 111: 1045-1049 (1997)

29. **Mehta S**, Javeshghani D, Datta P, Levy RD, Magder S: Porcine endotoxemic shock is associated with increased expired nitric oxide. *Crit Care Med* 27: 385-393 (1999)
30. **Moncada S**, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329: 2002-2012 (1993)
31. **Moncada S**, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 43: 109-142 (1991)
32. **Mythen MG**, Webb AR: The role of gut mucosal hypoperfusion in the pathogenesis of post-operative organ dysfunction. *Intensive Care Med* 20: 203-209 (1994)
33. **Offner PJ**, Robertson FM, Pruitt BA Jr: Effects of nitric oxide synthase inhibition on regional blood flow in a porcine model of endotoxic shock. *J Trauma* 39: 338-343 (1995)
34. **Pastor CM**, Hadengue A, Nüssler AK: Minor involvement of nitric oxide during chronic endotoxemia in anesthetized pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 278: G416-424 (2000)
35. **Roumen RM**, Hendriks T, Van der Ven Jongekrijg J, Sauerwein RW, van der Meer JW, Goris RJ: Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg* 218: 769-776 (1993)
36. **Rouman RM**, Redl H, Schlg G, Zilow G, Sandtner W, Koller W, Hendriks T, Goris RJ: Inflammatory mediators in relation to the development of multiple organ failure in patients after severe blunt trauma. *Crit Care Med* 23: 474-480 (1995)
37. **Santak B**, Radermacher P, Iber T, Adler J, Wachter U, Vassilev D, Geogieff M, Vogt J: In vivo quantification of endotoxin-induced nitric oxide production in pigs from Na¹⁵NO₃-infusion. *Br J Pharmacol* 122:1605-1610 (1997)
38. **Santak B**, Radermacher P, Adler J, Iber T, Rieger KM, Wachter U, Vogt J, Geogieff M, Träger K: Effect of increased cardiac output on liver blood flow, oxygen exchange and metabolic rate during longterm endotoxin-induced shock in pigs. *Br J Pharmacol* 124:1689-1697 (1998)
39. **Schmidt H**, Secchi A, Wellmann R, Bach A, Bohrer H, Gebhart MM, Martin E: Effect of endotoxemia on intestinal villus microcirculation in rats. *J Surg Res* 61: 521-526 (1996)
40. **Schoenberg MH**, Weiss M, Radermacher P: Outcome of patients with sepsis and septic shock after ICU treatment. *Langenbecks Arch Surg* 383:44-48(1998)
41. **Schwarz B**, Hofstätter H, Salak N, Pajk W, Knotzer H, Mayr A, Labeck B, Kafka R, Ulmer H, Hasibeder W: Effects of norepinephrine and phenylephrine on intestinal oxygen supply and mucosal tissue oxygen tension. *Intensiv Care Med* 27: 593-601 (2001)

42. **Schweizer** M, Richter C: Nitric Oxide potently and reversibly deenergizes mitochondria at low oxygen tension. *Biochem Biophys Res Commun* 204: 169-175 (1994)
43. **Siegemund** M, van Bommel J, Schwarte LA, Emons M, Ince C: Selective blockade of iNOS by 1400W restores the gut oxygenation in a pig model of low-dose endotoxemia. *Intensive Care Med* 27 (Suppl. 2): S147 (Abstract) (2001)
44. **Sinaasappel** M, Ince C: Calibration of Pd-porphyrin phosphorescence for oxygen concentration measurements in vivo. *J Appl Physiol* 81: 2297-2303 (1996)
45. **Spreeuwenberg** MAM, Verdonk JMAJ, Gasking HR, Verstegen MWA: Small intestinal epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. *Am Soci Nutri Sci* 131: 1520-1527 (2001)
46. **Szabo** C: Role of poly(ADP-ribose) synthetase activation in the suppression of cellular energetics in response to nitric oxide and peroxynitrite. *Biochem Soc Trans* 25: 919-924 (1997)
47. **Szabo** C: The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 6: 79-88 (1996)
48. **Traber** DL, Flynn JT, Herndon DN, Redl H, Schlag G, Traber LD: Comparison of the cardiopulmonary responses to single bolus and continuous infusion of endotoxin in an ovine model. *Circ Shock* 27: 123-138 (1989)
49. **Tugtekin** IF, Radermacher P, Theisen M, Matejovic M, Stehr A, Ploner F, Matura K, Ince C, Georgieff M, Träger K: Increased ileal-mucosal-arterial PCO₂ gap is associated with impaired villus microcirculation in endotoxic pigs. *Intensive Care Med* 27: 757-766 (2001)
50. **Unno** N, Wang H, Menconi MJ, Tytgat SH, Larkin V, Smith M, Morin MJ, Chavez A, Hodin RA, Fink MP: Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin-induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. *Gastroenterology* 113: 1246-1257 (1997)
51. **Uusaro** A, Russell JA, Walley KR, Takala J: Gastric-arterial PCO₂ gradient does not reflect systemic and splanchnic hemodynamics or oxygen transport after cardiac surgery. *Shock* 14: 13-17 (2000)
52. **VanderMeer** TJ, Wang H, Fink MP: Endotoxemia causes ileal mucosal acidosis in the absence of mucosal hypoxia in a normodynamic porcine model of septic shock. *Crit Care Med* 23: 1217-1226 (1995)
53. **Villamor** E, Perez-Vizcaino F, Ruiz T, Leza JC, Moro M, Tamargo J: Group B-Streptococcus and E. Coli LPS-induced NO-dependent hyporesponsiveness to noradrenaline in isolated intrapulmonary arteries of neonatal piglets. *Br J Pharmacol* 115: 261-266 (1995)

54. **Wennmalm** A, Benthin G, Edlund A, Jungersten L, Kieler-Jensen N, Lundin S, Westfelt UN, Petersson AS, Waagstein F: Metabolism and excretion of nitric oxide in humans. An experimental and clinical study. *Circ Res* 73:1121-1127 (1993)
55. **Zingarelli** B, O'Connor M, Wong H, Salzman AL, Szabo C: Peroxynitrite-mediated DNA strand breakage activates poly-adenosine diphosphate ribosyl synthetase and caused cellular energy depletion in macrophages stimulated with bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol* 156: 350-358 (1996)

Danksagung

Ich möchte mich sehr herzlich bei all denen bedanken, die mir Unterstützung und Hilfe gegeben haben.

Mein spezieller Dank gilt Herrn Prof. Dr. Peter Radermacher für die Überlassung dieser Arbeit und seine exakte und umfangreiche wissenschaftliche Betreuung.

Weiterhin möchte ich mich recht herzlich bei Frau Dr. Antje Pittner und Herrn Dr. Gebhard Fröba für ihre praktische und theoretische Hilfe bedanken.

Mein weiterer Dank gilt die Arbeitsgruppe vom Tier – OP, insbesondere Herrn Wolfgang Siegler, für die freundliche Aufnahme und Unterstützung.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. Michael Georgieff, dass er mir die Gelegenheit gegeben hat, in der Abteilung für Anästhesiologie der Uni Ulm diese Doktorarbeit zu machen.

Schließlich danke ich meinem Mann Xie Jing und meiner Tochter Xie Xinyi bzw. meinen Schwiegereltern für ihre Unterstützung und Liebe.