

**Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
des Zentrums für Anästhesiologie und Intensivmedizin  
der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf  
Direktor Univ.-Prof. Dr. med. Alwin E. Goetz**

Calcium-Sensitizer reduzieren den gastrointestinalen und  
hepatischen Gewebeschaden im experimentellen septischen Schock

**Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Michael Ehrenfort**

**aus Hamburg**

**Hamburg, im Jahre 2017**

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am:  
12.10.2017

Datum der Disputation: 07.02.2018

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität  
Hamburg

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Jens Kubitz (Vorsitzender)

PD Dr. Alexander Schwoerer (Gutachter)

PD Dr. Marcus Nalaskowski (Prüfer)

PD Dr. Valentin Fuhrmann (stellv. Mitglied)

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	- 3 -
1. Einleitung .....	- 12 -
1.1. Geschichte der Sepsis und ihrer Therapie.....	- 12 -
1.2. Begriffsdefinitionen „SIRS“, „Sepsis“ und „septischer Schock“ .....	- 13 -
1.3. Sepsistherapie .....	- 18 -
2. Fragestellung .....	- 25 -
3. Material und Methoden .....	- 26 -
3.1. Versuchstiere .....	- 26 -
3.2. Prämedikation und Narkose .....	- 27 -
3.3. Präparation und Gefäßzugänge .....	- 28 -
3.4. Messapparaturen und Messverfahren.....	- 34 -
3.5. Interventionen.....	- 54 -
3.6. Statistik .....	- 64 -
4. Ergebnisse .....	- 66 -
4.1. Demographische Daten .....	- 66 -
4.2. Hämodynamik.....	- 67 -
4.3. Beatmung .....	- 72 -
4.4. Parameter der abdominellen Organfunktion und –perfusion.....	- 77 -
4.5. Klinische Chemie.....	- 90 -
5. Diskussion .....	- 94 -
5.1. Methodik .....	- 97 -
5.1.1. Tierexperimentelles Modell und Präparationen.....	- 97 -
5.1.2. Interventionen .....	- 100 -
5.2. Ergebnisse .....	- 104 -
5.2.1. Demographische Daten .....	- 104 -
5.2.2. Veränderungen der Makrozirkulation.....	- 105 -
5.2.3. Veränderungen der Mikrozirkulation .....	- 108 -
5.2.4. Gewebeschaden .....	- 110 -

5.2.5.	Blutgasanalysen .....	- 112 -
5.2.6.	Klinische Chemie.....	- 114 -
6.	Schlussfolgerung.....	- 118 -
7.	Zusammenfassung.....	- 119 -
Anhang - 121 -		
	Normalwerte Schwein .....	- 121 -
	Literaturverzeichnis .....	- 123 -
	Danksagung .....	- 143 -
	Eigene Publikationen.....	- 144 -
	Lebenslauf .....	- 145 -
	Eidesstattliche Erklärung.....	- 145 -

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Versuchstierzahl und -verteilung .....	- 26 -
Abbildung 2 Schema der Gefäßzugänge beim Schwein .....	- 30 -
Abbildung 3 Gefäßzugänge Hals.....	- 32 -
Abbildung 4 Präparation der Leberpforte.....	- 32 -
Abbildung 5 Präparation der Harnblase und der Leistengefäße.....	- 33 -
Abbildung 6 Narkosearbeitsplatz .....	- 35 -
Abbildung 7 Herzfrequenz .....	- 68 -
Abbildung 8 Herzminutenvolumen .....	- 69 -
Abbildung 9 arterio-portalvenöse pCO <sub>2</sub> -Differenz.....	- 80 -
Abbildung 10 ApvDO <sub>2</sub> .....	- 81 -
Abbildung 11 Tonometrie .....	- 82 -
Abbildung 12 portalvenöser Fluss .....	- 83 -
Abbildung 13 intraabdomineller Druck.....	- 84 -
Abbildung 14 Relaparotomiezeitpunkt.....	- 85 -
Abbildung 15 Galleproduktion.....	- 86 -
Abbildung 16 Urinproduktion .....	- 87 -
Abbildung 17 Dünndarmhistologie .....	- 88 -

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Diagnosekriterien SIRS .....	- 15 -
Tabelle 2 verwendete Geräte .....	- 34 -
Tabelle 3 Verwendete Monitoring.....	- 37 -
Tabelle 4 Beatmungsparameter .....	- 38 -
Tabelle 5 Blutgasanalysen und Laborparameter .....	- 40 -
Tabelle 6 Parameter und Messzeitpunkte.....	- 41 -
Tabelle 7 Dosierung und Laufrate der Studienmedikamente .....	- 56 -
Tabelle 8 Starteinstellung Beatmung.....	- 59 -
Tabelle 9 PEEP-Adaptation bei FiO <sub>2</sub> -Erhöhung .....	- 60 -
Tabelle 10 arterieller Mitteldruck.....	- 67 -
Tabelle 11 rechtsatrialer Mitteldruck .....	- 67 -
Tabelle 12 Herzfrequenz .....	- 68 -
Tabelle 13 Herzminutenvolumen .....	- 69 -
Tabelle 14 gemischtvenöse Sauerstoffsättigung.....	- 70 -
Tabelle 15 Noradrenalinbedarf.....	- 70 -
Tabelle 16 Bilanz und Infusionen.....	- 71 -
Tabelle 17 Beatmungsparameter .....	- 72 -
Tabelle 18 arterielle Blutgasanalyse - Gasaustausch und Säure-Basen-Haushalt.....	- 73 -
Tabelle 19 arterielle Blutgasanalyse - Stoffwechsel und Elektrolyte.....	- 75 -
Tabelle 20 avDO <sub>2</sub> .....	- 76 -
Tabelle 21 portalvenöse Blutgasanalyse - Gasaustausch und Säure-Basen-Haushalt....	- 78 -
Tabelle 22 portalvenöse Blutgasanalyse - Stoffwechsel und Elektrolyte.....	- 79 -
Tabelle 23 pCO <sub>2</sub> -Differenz arteriell und portalvenös.....	- 80 -
Tabelle 24 ApvDO <sub>2</sub> .....	- 81 -
Tabelle 25 pgCO <sub>2</sub> .....	- 82 -
Tabelle 26 portalvenöser Fluss .....	- 83 -
Tabelle 27 IAP.....	- 84 -

Tabelle 28 Relaparotomiezeitpunkt.....	- 85 -
Tabelle 29 Galleproduktion .....	- 86 -
Tabelle 30 Urinproduktion .....	- 87 -
Tabelle 31 Darmhistologie .....	- 88 -
Tabelle 32 Überlebenszeit .....	- 89 -
Tabelle 33 Hämatokrit .....	- 90 -
Tabelle 34 Erythrozytenzahl.....	- 90 -
Tabelle 35 Leukozytenzahl.....	- 91 -
Tabelle 36 Thrombozytenzahl.....	- 91 -
Tabelle 37 Enzyme und Plasmawerte.....	- 92 -
Tabelle 38 Gerinnungsparameter.....	- 93 -
Tabelle 39 Normalwerte Schwein .....	- 122 -

## Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ACS	abdominelles Kompartmentsyndrom
ADH	antidiuretisches Hormon
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	alkalische Phosphatase
ApvDO <sub>2</sub>	arterio-portalvenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz
AST	Aspartat-Aminotransferase
AT	Antithrombin
ATP	Adenosintriphosphat
avDO <sub>2</sub>	arteriovenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BE	base excess
BGA	Blutgasanalyse
BL	Messzeitpunkt Baseline
c <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	arterielle Sauerstoffkonzentration
CD	Cluster of differentiation
CH	Charrière (1 CH entspricht 0,33 mm)
CI	Herzindex
CK	Kreatinin-Kinase
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
Con	Versuchsgruppe Kontrolle
c <sub>pv</sub> O <sub>2</sub>	portalvenöse Sauerstoffkonzentration
CRP	C-reaktives Protein
c <sub>v</sub> O <sub>2</sub>	venöse Sauerstoffkonzentration
CVP	zentralvenöser Druck
ΔpCO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxidpartialdruckdifferenz

Dobu	Versuchsgruppe Dobutamin
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
etCO <sub>2</sub>	endtidale CO <sub>2</sub> -Konzentration
EVB	Erythrozytenverteilungsbreite
EVLW	extravakuläres Lungenwasser
F	French (1F entspricht 0,33 mm)
F <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
G	Gauge (1G entspricht 7,348 mm)
G-CSF	G – colony-stimulating-factor
GEDV	Globales enddiastolisches Volumen
γGT	γ-Glutamyltransferase
HAES	Hydroxyethylenstärke
Hb	Hämoglobin-Konzentration
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Hydrogenkarbonat
HF	Herzfrequenz
H-Index	Horovitz-Index
Hkt	Hämatokrit
HZV	Herzzeitvolumen
IAP	intraabdomineller Druck
ID	Innendurchmesser in [mm]
I:E	Inspiration zu Expiration
IFN	Interferon
IL	Interleukin
INR	international normalized ratio
ITBV	intrathorakales Blutvolumen
KG	Körpergewicht
k.S.	keine Signifikanz
LAE	Lungenarterienembolie

LDH	Lactatdehydrogenase
LBP	Lipopolysaccharid-binding protein
Levo	Versuchsgruppe Levosimendan
LOCF	last observation carried forward
LPS	Lipopolysaccharid
M	Messzeitpunkt
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MCH	mean corpuscular haemoglobin = mittlerer Hämoglobingehalt des Erythrozyten
MCHC	mean corpuscular haemoglobin concentration = mittlere Hämoglobinkonzentration des Hämatokrits
MCV	mean corpuscular volume = mittleres Erythrozyteneinzelvolumen
MODS	Multi organ dysfunction syndrome (Multiorganversagen)
MPAP	Mittlerer pulmonalarterieller Druck
OP	Operationssaal
PAF	plättchenaktivierender Faktor
PAK	Pulmonalarterienkatheter
$P_{aO_2}$	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	pulmonalarterieller Druck
$p_aCO_2$	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
$p_aO_2$	arterieller Sauerstoffpartialdruck
$pCO_2$	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PEEP	positive endexpiratory pressure (positiver endexpiratorischer Atemwegsdruck)
$P_gCO_2$	$CO_2$ - Partialdruck in der Mukosa des Magens
pHi	intestinaler pH-Wert
$pO_2$	Sauerstoffpartialdruck

PPV	Pulsdruckvarianz
p <sub>pv</sub> CO <sub>2</sub>	portalvenöser Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PTT	partielle Thromboplastinzeit
p <sub>v</sub> O <sub>2</sub>	venöser Sauerstoffpartialdruck
RAP	rechtsatrialer Druck
S <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	arterielle Sauerstoffsättigung
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SEM	Standardfehler
Sep	Messzeitpunkt Septischer Schock
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
sO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
SOFA	sequential organ failure assessment
S <sub>p</sub> O <sub>2</sub>	pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung
S <sub>v</sub> O <sub>2</sub>	zentralvenöse Sauerstoffsättigung
SV	Schlagvolumen
SVR	systemisch vaskulärer Widerstand
SVV	Schlagvolumenvarianz
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
TLR	toll-like-Rezeptor
TZ	Thrombinzeit
UKE	Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf
V.	Vena
WOCF	worst observation carried forward
ZVK	zentralvenöser Katheter

# 1. Einleitung

Das Krankheitsbild der Sepsis hat eine hohe intensivmedizinische Relevanz. Nach Datenlage von vor zehn Jahren sind 12,4% bzw. 11,0% der Intensivpatienten von einer Sepsis bzw. einer schweren Sepsis betroffen (Engel et al. 2007). Neuere Erhebungen gehen von einer Zahl von mehr als 250.000 Fällen pro Jahr in deutschen Krankenhäusern aus, wobei die Rate an Fällen weiter zunimmt (Fleischmann et al. 2016). Die Erkrankung ist mit einer außerordentlich hohen Letalität verbunden, nahezu jeder zweite Patient stirbt (Finfer et al. 2004, Brun-Buisson et al. 1995).

Dies bedeutet, dass jährlich von ca. 60.000 Todesfällen auf deutschen Intensivstationen ausgegangen werden muss, die durch den schweren Verlauf einer Sepsis verursacht werden. Somit erreicht die Sepsis hinter dem akuten Myokardinfarkt und malignen Neubildungen Platz drei der Todesursachenstatistik in Deutschland (Brunkhorst 2006).

Aus gesundheitsökonomischer Sicht gehören Patienten, die an einer Sepsis erkrankt sind, zur Gruppe mit den höchsten Behandlungskosten pro Tag (ca. 1.000 Euro/Tag/Patient). Dies entspricht in Deutschland einer Aufwendung von 1,7 Milliarden Euro pro Jahr. Die erfolglose Therapie ist dabei noch teurer als die erfolgreiche (Moerer et al. 2007).

Es besteht also sowohl aus medizinischer als auch volkswirtschaftlicher Sicht ein großes Interesse an besseren Behandlungsstrategien der Sepsis.

## 1.1. Geschichte der Sepsis und ihrer Therapie

Die Sepsis gehört zu den ältesten bekannten Krankheitsbildern. Bereits Hippokrates (ca. 460–370 v. Chr.) beschrieb das Krankheitsbild und führte den Begriff Sepsis ein, abgeleitet vom griechischen Wort seps (σηπω), was Fäulnis bedeutet. Sina (979-1037 n. Chr.) stellte fest, dass eine Sepsis mit Fieber einhergeht. Es dauerte jedoch bis zum Beginn des 20. Jahrhunderts, bis die

Erkenntnisse der vergangenen Jahrhunderte über Hygiene und Infektionen zu einer Beschreibung des Krankheitsbildes der Sepsis zusammengeführt werden konnten.

Eine erste Definition erstellte der Hamburger Arzt Hugo Schottmüller: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem kontinuierlich oder periodisch pathogene Bakterien in den Kreislauf gelangen und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden“ (Schottmüller 1914). Dieser Erkenntnis stand noch eine therapeutische Machtlosigkeit gegenüber, die sich erst mit der Entdeckung der Antibiotika verbesserte. Antibiotische Behandlung und chirurgische Sanierung stellen bis heute die zwei kausalen Therapieoptionen der Sepsis dar. Der großzügige Einsatz von Antibiotika sowie die Einführung von Intensivstationen, auf denen sich zu einem hohen Anteil Patienten mit einer Sepsis befinden, sorgen für einen Selektionsdruck, durch den vermehrt resistente Bakterienstämme hervorgehen, was die Entwicklung neuer, wirksamerer Antibiotika erforderlich macht.

In der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts gelang die Etablierung supportiver und adjunktiver Maßnahmen, z.B. Beatmung und Katecholamintherapie, die zu einer Verbesserung der Prognose geführt haben. Neue Therapieansätze sind Gegenstand der aktuellen Forschung und führen zu einer kontinuierlichen Anpassung der gültigen Therapiestandards. Aufgrund der hohen Erkrankungszahl werden zunehmend einheitliche Therapiestandards etabliert (Dellinger et al. 2008). Im Sinne einer verbesserten Versorgungsqualität wurden diese auch in einer Behandlungsleitlinie von Reinhart et al. (2005) für Deutschland veröffentlicht.

## **1.2. Begriffsdefinitionen „SIRS“, „Sepsis“ und „septischer Schock“**

Bevor es zu einem septischen Schock kommt, werden verschiedene Kontaktstadien des Organismus mit den schädigenden Bakterien durchlaufen. Die Sepsis-Richtlinien des American College of Chest Physicians und der Society of

Critical Care Medicine (SCCM) beschreiben diese umfassend und genau, so dass diese Definitionen im Folgenden näher erläutert werden (Bone et al. 1992). Zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung waren dies ebenfalls die in der Klinik verwendeten Definitionen.

Werden in einem ansonsten sterilen Gewebe Bakterien nachgewiesen, ohne dass es zu einer Entzündungsreaktion kommt, spricht man von einer Kolonisation.

Kommt es zu einer Entzündungsreaktion der Umgebung, spricht man von einer Infektion. Werden Bakterien im Blut nachgewiesen, liegt eine Bakteriämie vor.

Bei der Ausbreitung eines Krankheitserregers über die Blutbahn kommt es zu einer Reaktion des gesamten Organismus, man spricht vom systemic inflammatory response syndrom (SIRS), das auch im Rahmen anderer Schädigungen des Organismus, z.B. großflächige Verbrennungen oder Polytrauma, auftreten kann. Unabhängig von der Noxe kommt es zu einer immer ähnlich ablaufenden Reaktion des Organismus, die vor allem die Immunabwehr betrifft. Die Initialphase ist geprägt von einer überschießenden Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie Interleukin (IL) -1, Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- $\alpha$ ). Diese ermöglichen die Extravasation von immunkompetenten Zellen aus den Blutgefäßen, was ein entscheidender Schritt zum Erreichen eines Infektionsherds im Gewebe darstellt, gleichzeitig aber auch zu einer gestörten Makro- und Mikrozirkulation führt. Die Blutgefäße werden durchlässiger für Flüssigkeiten, so dass es zur Volumenverschiebung von intra- nach extravasal kommt. Hieraus resultiert ein intravasaler Volumenmangel, der unbehandelt zum Schock führt. Auf Kapillarebene führt dies in Verbindung mit einer sepsisbedingten Fehlverteilung zu einer Reduktion der funktionellen Kapillardichte (Ragaller et al. 2007), was das Minderangebot von Sauerstoff in den abhängigen Geweben weiter verstärkt. Die Entzündungsreaktion wird vom Körper unterhalten, indem weitere Chemokine ausgeschüttet werden, z.B. IL-12, IL-18 und C-reaktives Protein (CRP), aber auch Komponenten der Blutgerinnung wie Fibrinogen und Komplementfaktor C3. Gleichzeitig kommt es aber auch zu dem Versuch, die Entzündungsreaktion zu

begrenzen, indem es zu einer immunsuppressiven Reaktion, z.B. durch IL-10 kommt (Siegenthaler und Blum, 2006).

Die Diagnosestellung des SIRS erfordert das Vorliegen von mindestens zwei der folgenden fünf Symptome oder Befunde:

Kriterium	Wert
Temperatur	> 38,0°C oder <36,0°C
Herzfrequenz	> 90 / Minute
Atemfrequenz	> 20 / Minute
Leukozytenzahl	> 12.000 / mm <sup>3</sup> oder < 3000 / mm <sup>3</sup>
Linksverschiebung	> 10% unreife Granulozyten

**Tabelle 1 Diagnosekriterien SIRS**

Die Sepsis ist als bakterielle Entzündung mit systemischer Entzündungsreaktion definiert. Das Krankheitsbild der schweren Sepsis umfasst zusätzlich schwere Organfunktionsstörungen. Hierbei müssen mindestens zwei Organsysteme und deren Funktionen betroffen sein. Dies können sein:

- Enzephalopathie: Verwirrtheit, Delir, Koma
- Hypoxie: arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $p_aO_2$ ) < 75mmHg oder Horowitz-Index < 250 mmHg
- Nierenversagen: Harnproduktion < 0,5 ml/kg KG/h über 2 Stunden trotz adäquater Volumensubstitution oder Anstieg des Serumkreatinins auf das Doppelte des Ausgangswertes
- Thrombozytopenie: gesamt < 100.000 /  $\mu$ l oder Abfall > 30% in 24h

Der septische Schock ist definiert als Sepsis mit einem Blutdruckabfall des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) von 30-40 mmHg gegenüber dem Ausgangsdruck oder der Notwendigkeit der Katecholamintherapie zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Blutdrucks, nachdem adäquat Volumen

substituiert wurde (Reinhart et al. 2010). Der letzte Schweregrad einer Sepsis ist das Multiorganversagen (multiple organ dysfunction syndrome, MODS), bei dem mehrere Organe ausfallen. Patienten in diesem Stadium benötigen unterstützende oder vollständige Organersatzverfahren, wie z.B. Beatmung oder eine Hämofiltration (Schulte am Esch et al. 2011). Es ist bekannt, dass diese Patienten die höchste Mortalität aufweisen, je nach Anzahl der ausgefallenen Organsysteme 40-98% (Knaus et al. 1985).

Auf diese Erkenntnis baut auch die neue internationale Konsensus-Sepsisdefinition auf, die seit Beginn des Jahres 2016 verwendet werden sollte. Hier wird die Abstufung der Schweregrade vor allem von der Organdysfunktion abhängig gemacht, die mit dem Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) bzw. dessen Kurzform (quickSOFA) erfasst wird (Singer et al. 2016).

Ursächlich für die Organdysfunktionen ist eine Störung der Makro- und Mikrozirkulation und damit eine Störung des Sauerstoffangebotes.

Frühere Definitionen des Schocks konzentrierten sich vor allem auf die Makrozirkulationsstörung, z.B. der sog. „Schockindex“ (Allgöver und Burri 1967), der lediglich die Parameter Herzfrequenz und systolischer Blutdruck beinhaltet. Neuere Definitionen rücken das Missverhältnis von Sauerstoffangebot und –bedarf auf Kapillarebene in den Mittelpunkt: „Als Schock definieren wir eine akute unzureichende nutritive Durchblutung der lebenswichtigen Organe mit nachfolgender Gewebhypoxie.“ (Riecker 1984).

Als Reaktion des Körpers auf das Minderangebot von Sauerstoff kommt es zu einer Umverteilung der Blutversorgung. Dieser physiologische Prozess soll die ausreichende Perfusion des Gehirns sicherstellen und wird als Zentralisation bezeichnet. Dieses ist auch an Parametern der Makrozirkulation (z.B. Blutfluss) nachweisbar. Als Folge des verminderten Sauerstoffangebots kommt es zur Fehlfunktion und schließlich zum Versagen der in diesem Zustand weniger perfundierten Organe. Dieses sind im Schockgeschehen vor allem Lunge, Niere und Darm (Burchardi et al. 2011).

Zusätzlich zur Verschlechterung der Makrozirkulation kommt es auf kapillärer Ebene zur Dysregulation der Vasomotorik und zu Shuntbildungen, was die Perfusion und damit das Sauerstoffangebot in den abhängigen Organen weiter verschlechtert (Spronk et al. 2004).

Kommt es im Verlauf eines septischen Schocks zur verminderten Perfusion kleiner Gefäße, ist dies mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (Sakr et al. 2004). Durch die hieraus resultierende weitere Verschlechterung des Sauerstoffangebots kommt es zu einer Abwärtsspirale aus Zentralisation und reduziertem Sauerstoffangebot, die nur durch therapeutische Maßnahmen unterbrochen werden kann.

Die Organe Darm und Niere, deren Fehlfunktionen im septischen Schock im Fokus dieser Arbeit stehen, sind früh von einer Zentralisation beeinträchtigt.

Die nutritive Darmfunktion ist für den Organismus für eine begrenzte Zeit entbehrlich. Der Darm verliert allerdings auch seine Barrierefunktion gegen Mikroorganismen, die so in den Körper eindringen können. Dieser Vorgang wird als Translokation bezeichnet und kann zur Aggravierung eines Schocks beitragen, wenn es zur Ausbreitung der Erreger kommt (Werdan et al. 2005).

Auch die Leber kann in der Sepsis geschädigt werden. Ein Leberversagen im Rahmen einer Sepsis gilt als prognostisch ungünstiges Zeichen und geht mit einer hohen Letalität einher. Wichtige Leberfunktionen sind die Elimination von Giftstoffen und die Produktion von Gerinnungsfaktoren und immunologischen Proteinen. Da sich der Funktionsausfall mit üblichen diagnostischen Kriterien schwer definieren lässt, werden betroffene Patienten häufig erst spät identifiziert und behandelt. Anders als beim Nierenversagen gibt es bisher kein ausreichendes Leberersatzverfahren (Nessler et al. 2012).

Ein akutes Nierenversagen im Rahmen eines septischen Schocks ist ebenfalls mit einer erhöhten Mortalität verbunden. Seine Ursachen sind komplexer als bei einem akuten Nierenversagen ohne Sepsis. So kommt es zu einer veränderten Hämodynamik innerhalb des Organs, zur Immigration von Zellen der Immunabwehr, glomerulären Thrombosen und zum Verstopfen der Tubuli (Zarjou und Agarwal 2011).

### **1.3. Sepsistherapie**

Die Therapieoptionen der Sepsis gliedern sich in kausale, supportive und adjunktive Maßnahmen. Die Grundlage der Sepsistherapie in Deutschland bildet die S2k-Leitlinie „Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis“ der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF), die zuletzt im Februar 2010 überarbeitet wurde und derzeit überprüft wird (Reinhart et al. 2010). Nachfolgend werden die wichtigsten Therapieoptionen aus dieser Leitlinie zusammengefasst.

Die kausale Therapie der Sepsis besteht in der Fokussanierung und/oder der antimikrobiellen Therapie der Erreger. Eine Fokussanierung ist die zumeist chirurgische oder interventionelle Beseitigung eines Entzündungsherdes, z.B. Drainage eines Abszesses, von dem aus sich die Bakterien auf den Organismus ausbreiten.

Der Einsatz von Antibiotika ist die zweite Säule der kausalen Sepsistherapie. Der Beginn wird innerhalb der ersten Stunde nach Diagnose empfohlen und erfolgt meistens empirisch.

Kausale Therapieansätze führen zu einer signifikanten Reduktion der Mortalität.

Ebenso wichtig ist bei kritisch kranken Patienten die Aufrechterhaltung der Vitalfunktionen. Diese Maßnahmen werden in der Leitlinie als supportive Maßnahmen beschrieben.

Bei hypotonen Patienten wird die Volumengabe von kristalloiden Lösungen empfohlen, die sich an einem erweiterten hämodynamischen Monitoring oder der zentralvenösen Sauerstoffsättigung orientiert. Besteht die Hypotonie fort, wird der Einsatz von Vasopressoren, z.B. Noradrenalin, empfohlen. Bei erniedrigtem Herzzeitvolumen (HZV) sollen Dobutamin und bei Fortbestehen ggf. Levosimendan und Phosphodiesterase-Hemmer angewendet werden, wobei diese Empfehlungen lediglich eine Expertenmeinung darstellen. Patienten mit akutem Nierenversagen unter optimierter Hämodynamik sollen eine

Nierenersatztherapie erhalten. Bei Oxygenierungsstörungen soll eine lungenprotektive Beatmung erfolgen.

Trotz einer großen Menge an vorliegenden Studien zur Sepsistherapie konnte für keine der o.g. Maßnahmen eine Empfehlung mit dem höchsten Evidenzgrad gegeben werden.

Das Gleiche gilt für die adjunktiven Maßnahmen, die verschiedene medikamentöse Maßnahmen umfassen. Genannt werden die Gabe von Hydrokortison, rekombinantem aktivierten Protein C, Antithrombin, Immunglobulinen und Selen sowie die enge Blutzuckereinstellung mit Insulin. Keine dieser ursprünglich als vielversprechend geltenden und bereits eingesetzten Therapien kann nach aktueller Studienlage weiter empfohlen werden.

Ein weiterer Abschnitt beschreibt das Management von parenteraler Ernährung, Sedierung und dem Transfusionsregime. Beim Einsatz von Erythrozytenkonzentraten wird ein Trigger von  $<7,0$  g/dl empfohlen. Auch hier erreichen nur wenige Empfehlungen den höchsten Evidenzgrad.

Zusammengefasst umfasst die leitliniengerechte Therapie der Sepsis die Fokussierung, die Behandlung einer Hypotonie mit kristalloiden Infusionen und ggf. den Einsatz von Noradrenalin, die Erhöhung des HZV mit Dobutamin und die pulmoprotektive Beatmung zur Aufrechterhaltung einer adäquaten Oxygenierung. Zur Hinführung auf die Fragestellung werden alle in der AWMF-Leitlinie genannten Katecholamine vorgestellt.

### **Noradrenalin**

Noradrenalin (auch Norepinephrin) ist ein körpereigenes Hormon, das im Nebennierenmark produziert wird. Seine Strukturformel lautet (R)-2-Amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol. Damit ähnelt es der chemischen Zusammensetzung des Adrenalins und unterscheidet sich lediglich durch eine fehlende Methygruppe.

Dadurch ist seine Wirkung größtenteils agonistisch an den Alpha-Adrenorezeptoren, wodurch es vor allem vasokonstriktorisches in den Arteriolen wirkt. Dies führt zum Blutdruckanstieg und zu steigender Nachlast am Myokard.

Als Medikament ist sein Einsatz bei Hypotonie in der Notfall- und Intensivmedizin weit verbreitet.

Bei zu hohen Dosierungen kann es zu einer Hypoperfusion der nachgeschalteten Gewebe kommen, was zu Organfunktionseinschränkungen führen kann. Die Studienlage hierzu ist jedoch nicht eindeutig, ebenso wird der Einfluss auf die Mortalität im septischen Schock kontrovers diskutiert (Martin et al. 2000).

### **Dobutamin**

Bei dem Medikament Dobutamin ((RS)-4-(2-(3-(4-Hydroxyphenyl)1-methylpropylamin)ethyl)benzen-1-2-diol) handelt es sich um ein synthetisches Katecholamin. Es wirkt als Agonist an den Adrenorezeptoren  $\alpha_1$ ,  $\beta_1$  und  $\beta_2$ . Da  $\alpha_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptoren gegensätzliche Wirkungen haben (Vasokonstriktion und -dilatation) hebt sich die Wirkung an diesen nahezu auf. Es bleibt die agonistische Wirkung am  $\beta_1$ -Rezeptor, der die Eigenschaften von Dobutamin bestimmt. Die Signalkaskade führt zu einer intrazellulären Erhöhung der cAMP-Konzentration und aktiviert den L-Typ-Calciumkanal. Dies führt zu einem schnelleren und stärkeren Calciumeinstrom in die Zelle, was am Myokard positiv chronotrop, inotrop und lusitrop wirkt und v.a. über eine Steigerung des Schlagvolumens zu einem Anstieg des HZV führt, was jedoch gleichzeitig auch mit einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs verbunden ist (Van Aken et al. 2001).

Hieraus resultiert auch eine bessere Perfusion des Splanchnikusgebiets, was zu einer Abnahme des Serumlaktats und einem Anstieg des intestinalen pH-Wertes (pHi) führt (Gutierrez et al. 1994). Dobutamin scheint dabei zumindest teilweise die negativen Effekte von Noradrenalin auf die periphere Perfusion aufzuheben, wie Beale et al. (2004) in ihrem Review darlegen.

Indikationen für die Therapie mit Dobutamin sind die akute Herz- und Kreislaufinsuffizienz, wie der kardiogene oder der septische Schock.

Als unerwünschte Wirkungen sind vor allem tachykarde Herzrhythmusstörungen zu nennen. Klinische Studien zeigen, dass Dobutamin die Freisetzung von TNF- $\alpha$  verstärkt (Kern et al. 2001), woraus höhere Plasmaspiegel resultieren (Hartemink

und Groeneveld 2012), was die Autoren auf eine verbesserte Leberperfusion zurückführen. TNF- $\alpha$  ist als Zytokin an Entzündungsreaktionen und der Initialphase der Sepsis beteiligt. Seine Funktion und auch potenziell schädliche Mechanismen sind jedoch nicht abschließend geklärt.

### **Adrenalin**

Adrenalin ist ein endogenes Katecholamin, das im Nebennierenmark synthetisiert wird. Es gehört zu den Stresshormonen. Wird es in die Blutbahn freigesetzt, führt es vor allem zu Effekten am Herz-Kreislauf-System. Es wirkt positiv inotrop und chronotrop. Die Wirkung auf den Blutdruck ist abhängig von der Dosierung und der Verteilung der Rezeptoren. Bei hohen Dosierungen wirkt es eher auf  $\alpha_1$ -Rezeptoren, was zu einer Blutdruckerhöhung führt. Bei niedrigeren Dosierungen überwiegt die  $\beta_2$ -mimetische Wirkung, da es zu diesen Rezeptoren eine höhere Affinität besitzt.

In den Blutgefäßen der Nieren überwiegen die  $\alpha_1$ -Rezeptoren, weswegen es dort fast nur zu vasokonstriktischen Effekten kommt. In den Koronarien überwiegt der  $\beta_2$ -mimetische Effekt, was zu einer Steigerung der Koronarperfusion führt (Klinke et al. 2009).

Die AWMF-Leitlinie empfiehlt den Einsatz von Adrenalin beim septischen Schock nur bei fortbestehender linksventrikulärer Funktionsstörung trotz des Einsatzes von Dobutamin, auch wenn die Datenlage diesbezüglich nicht ausreichend ist (Müllner et al. 2004). Eine Kombinationstherapie mit Dobutamin ist nicht zu empfehlen (Prielipp et al. 1994).

Adrenalin hat möglicherweise einen modulierenden Einfluss auf eine Gruppe von T-Lymphozyten (Anane et al. 2009), dessen Bedeutung für den septischen Schock allerdings weiterhin unklar bleibt.

### **Vasopressin**

Vasopressin - auch antidiuretisches Hormon (ADH) genannt - ist ein Peptidhormon aus der Hypophyse. Es bewirkt hauptsächlich eine Wasserrückresorption im

distalen Tubulus der Niere. In hohen Dosierungen wirkt es vor allem in den Arteriolen vasokonstriktiv und führt somit zu einem Blutdruckanstieg. Die Halbwertszeit beträgt ca. 20 Minuten (Barrett et al. 2012).

Sein Einsatz im septischen Schock wird nicht empfohlen, da es Hinweise auf eine höhere Rate von unerwünschten Wirkungen, z.B. vermindertes HZV (Luckner et al. 2005), Mesenterial- (van Haren et al. 2003) und Hautschämien (Dünser et al. 2003) gibt.

Dellinger et al. (2013) hingegen empfehlen es in einer niedrigen Dosierung als Kombination mit Noradrenalin, wenn Noradrenalin nicht ausreicht oder um dessen Dosis zu reduzieren. Der körpereigende Vasopressinspiegel im Blut ist in der Sepsis reduziert (Landry et al. 1997).

### **Dopexamin**

Dopexamin ist ein synthetisches Katecholamin und ist vom Dopamin abgeleitet. Es ist ein Agonist an peripheren Dopaminrezeptoren und den  $\beta_2$ -Adrenorezeptoren ohne Wirkung an den  $\alpha$ -Adrenorezeptoren. Es besitzt eine schwach positive inotrope Wirkung. Hieraus resultieren eine periphere Vasodilatation und eine Zunahme des HZV (Brown et al. 1985). Die Wirkung auf die Perfusion im Splanchnikusgebiet ist nicht abschließend geklärt, so dass der Einsatz bei Sepsis-Patienten in den aktuellen Leitlinien nicht empfohlen wird.

### **Dopamin**

Auch Dopamin gehört zu den endogenen Katecholaminen und ist eine Vorläufersubstanz von Noradrenalin und Adrenalin. Es wirkt dosisabhängig als Agonist an allen Adrenorezeptoren und den Dopaminrezeptoren. Durch Inotropie- und Chronotropiezunahme, Nachlastsenkung und Vorlastserhöhung kommt es zu einem gesteigerten HZV. Höhere Dosierungen führen zu Vasokonstriktion und vermehrter Noradrenalinfreisetzung. Dopamin erhöht den pulmonalarteriellen Druck (Barash et al. 2009). Im klinischen Alltag wird Dopamin kaum noch eingesetzt und auch in der Leitlinie der AWMF zur Sepsistherapie nicht empfohlen.

## **Levosimendan**

Die Substanz Levosimendan ((R)-([4-(1,4,5,6-tetrahydro-4-methyl-6-oxo-3-pyridazinyl)phenyl]-hydrazono)-propandinitril) ist der bekanntests Vertreter der Wirkstoffgruppe der Calcium-Sensitizer. Daneben gibt es noch den Wirkstoff Pimobendan, der ein ähnliches Wirkprofil besitzt, nach aktueller Literaturrecherche aber nur in der Tiermedizin und -forschung Verwendung findet.

Der Abbau erfolgt durch hepatische Verstoffwechselung, wodurch der aktive Metabolit OR-1896 ((R)-N-(4-(4-methyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-pyridazin-3-yl)-acetamide)) entsteht, der am kardiovaskulären System ähnliche Wirkung wie die Ausgangssubstanz hat (Takahashi et al. 2000), allerdings eine wesentlich längere Halbwertszeit von ca. 80 Std. aufweist. Die Ausscheidung erfolgt zu etwa gleichen Teilen über Niere und Leber.

Die Wirkung von Calcium-Sensitizern beruht auf der Interaktion mit drei verschiedenen Strukturen.

Levosimendan bindet intrazellulär an das N-terminale Ende des kardialen Troponin C (Haikala et al. 1995a, Pollesello et al. 1994). Hierdurch wird die Bindungsfähigkeit von Calcium an Troponin C während der Systole verstärkt, was zu einer Erhöhung der Inotropie führt. Da sich die Gesamtkonzentration von intrazellulärem Calcium unter dem Einfluss von Levosimendan nicht verändert, fehlt die proarrhythmogene Wirkung anderer positiv inotroper Substanzen (Flevari et al. 2006).

Die Wirkung von Levosimendan wiederum ist abhängig von der intrazellulären Calciumkonzentration. Somit ist die Wirkung während der Systole deutlich stärker als während der Diastole, da während der Systole eine höhere intrazelluläre Calciumkonzentration vorliegt. Aus diesem Mechanismus erklärt sich die Verbesserung der systolischen Ventrikelfunktion (Edes et al. 1995, Haikala et al. 1995b).

Der zweite Mechanismus ist die Öffnung adenosintriphosphatabhängiger Kaliumkanäle in der Zellmembran und den Mitochondrien von Gefäß- und

Herzmuskelzellen (Yokoshiki et al. 1997, Kopustinskiene et al. 2001). Durch den ausgelösten Kaliumausstrom kommt es zur Hyperpolarisation der Zelle und damit zur Relaxation. Somit erklärt sich die verursachte Hypotonie durch die periphere Vasodilatation. Zusätzlich kommt es auch zu einer Erschlaffung der Gefäßmuskelzellen der Koronararterien, was zu einer verbesserten Myokardperfusion führt (Kaheinen et al. 2001).

Als dritter Wirkmechanismus konnte vor allem bei höheren Dosierungen eine inhibitorische Wirkung auf die Phosphodiesterase III in vitro nachgewiesen werden, ähnlich der von Milrinon (Edes et al. 1995, Gruhn et al. 1998). Die klinische Relevanz ist noch unklar.

An den Kardiomyozyten bewirkt Levosimendan eine erhöhte Ischämietoleranz (Gruhn et al. 1998), was als präkonditionierender Effekt gewertet werden kann. Präkonditionierung bedeutet, dass ein Gewebe durch eine erste leichte Beeinträchtigung der Versorgung eine nachfolgende größere Beeinträchtigung besser kompensieren kann. Beispielsweise nimmt die Infarktgröße beim Myokardinfarkt ab, wenn zuvor mehrere kurze Ischämiezeiten bestanden haben (Murry et al. 1986). Der genaue Mechanismus auf Zellebene ist bisher weitgehend unbekannt, wichtige Zielstrukturen scheinen aber Adenosintriphosphat (ATP) - abhängige Kaliumkanäle (Zaugg et al. 2003) zu sein. Dieser Effekt kann auch pharmakologisch herbeigeführt werden. Für Levosimendan ist daher ein positiver Effekt auf die Myokardfunktion nachgewiesen (Hein et al. 2009, Lahtinen et al. 2011). Präkonditionierende Eigenschaften werden auch anderen Medikamenten zugeschrieben, z.B. volatilen Anästhetika wie Sevofluran (Novalija et al. 1999). Ketamin kann eine Aufhebung des präkonditionierenden Effekts durch Blockierung der ATP-abhängigen Kaliumkanäle auslösen (Ko et al. 1997).

Levosimendan wird klinisch erfolgreich zur Therapie von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz eingesetzt (Delaney et al. 2010). Hierbei macht man sich die bereits genannten Wirkmechanismen zunutze. Die Kontraktilitätszunahme erfolgt unabhängig vom Sauerstoffangebot und der Koronarperfusion, was bei diesen Patienten von Vorteil ist.

## 2. Fragestellung

Zur Stabilisierung der Hämodynamik ist bei schweren Sepsisverläufen regelhaft neben der Volumentherapie der Einsatz von Medikamenten wie z.B. Katecholaminen notwendig. Im septischen Schock wird in den aktuellen Leitlinien das Alphasympathomimetikum Noradrenalin in Kombination mit dem überwiegend  $\beta_1$ -Rezeptor-stimulierenden Dobutamin als Therapie der Wahl angesehen.

Im Rahmen eines Volumenmangels kommt es als Gegenregulation zur peripheren Vasokonstriktion und Zentralisation. Diese Körperreaktion soll die Blutversorgung der wichtigsten Organe wie Herz und Gehirn sichern.

Die periphere Vasokonstriktion betrifft allerdings auch lebenswichtige Organe wie Niere, Leber und den Darm und verursacht durch Minderperfusion eine Funktionseinschränkung.

Ziel der durchgeführten Versuchsreihe ist es, die Wirksamkeit des Calcium-Sensitizers Levosimendan im experimentellen septischen Schock im Tiermodell nachzuweisen und im Vergleich die Überlegenheit dieser Therapie gegenüber der Standardtherapie mit Dobutamin zu beweisen. Hierzu wurden Parameter der Hämodynamik, der metabolischen Funktionen und des Gasaustausches erhoben. Gegenstand dieser Arbeit war speziell die Wirkung von Levosimendan auf die Organfunktion und –perfusion im Splanchnikusgebiet.

Als Grundlage dieser Studie wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

1. Levosimendan steigert die intestinale Mikrozirkulation.
2. Levosimendan reduziert im Vergleich mit Dobutamin und Placebo den intestinalen Gewebeschaden im endotoxämischen Schock.

### 3. Material und Methoden

Die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden in einem Zeitraum von zehn Monaten im Großtier-Operationsbereich (OP) der Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf durchgeführt.

Die Versuche begannen nach der Genehmigung durch die Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz, Veterinärwesen / Lebensmittelsicherheit (Nr. 79/07) und dem positiven Votum der Ethikkommission des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE). Die Zahl von ursprünglich 42 geplanten Versuchen musste nachträglich wegen vorbestehender Pathologien, die einen Einschluss in die Studie verhinderten, auf 48 erhöht werden.

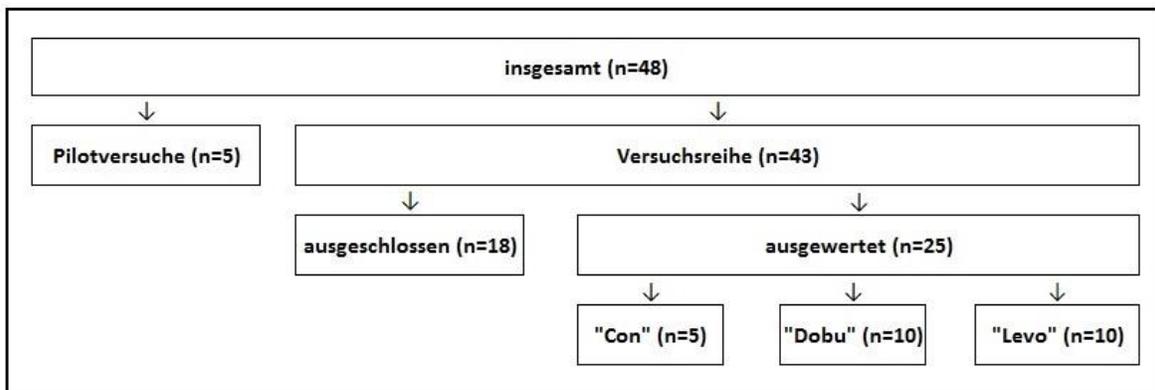


Abbildung 1 Versuchstieranzahl und -verteilung

#### 3.1. Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 48 männliche Hausschweine. Die Haltung erfolgte in Gruppen von zwei bis drei Tieren entsprechend dem deutschen Tierschutzgesetz und den Richtlinien für die Haltung und Verwendung von Versuchstieren (Rat der Europäischen Gemeinschaft 1986) in der Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Die Tiere waren dort mindestens drei Tage vor dem geplanten Versuch untergebracht und standen unter kontinuierlicher tierpflegerischer Betreuung und tiermedizinischer

Aufsicht. Sie erhielten artgerechtes Futter bis zum Vorabend des Versuchstags, danach hatten die Tiere weiterhin freien Zugang zu Wasser. Eine medikamentöse Vorbehandlung (z.B. mit Antibiotika) erfolgte nicht.

### **3.2. Prämedikation und Narkose**

Die Prämedikation erfolgte intramuskulär in den Nacken und umfasste 45 mg Midazolam und 450 mg Azaperone (bezogen auf das Standardgewicht von 30 kg 1,5 mg/kg Körpergewicht (KG) Midazolam und 15 mg/kg KG Azaperone). Nach erfolgreicher Analgosedierung wurde ein periphervenöser Zugang in einer Ohrvene etabliert, über den die weiteren Medikamentengaben erfolgten.

Bis zur Sicherung des Atemwegs wurden die Tiere mit Midazolam und Propofol intravenös per Boli sediert, worunter die Tiere eine suffiziente Spontanatmung aufwiesen. Nach sorgfältiger Hautsäuberung und Wiegen der Tiere wurde sie in den Eingriffsraum der Versuchstierhaltung verbracht. Dieser war bereits vor der Analgosedierung vollständig vorbereitet und alle notwendigen Geräte auf ihre Funktionsfähigkeit gemäß anästhesiologischer und chirurgischer Standards geprüft worden.

Nach der chirurgischen Tracheotomie wurde die Narkose mittels kontinuierlicher Gabe von Fentanyl (30 µg/kg KG/h), Midazolam (0,5 mg/kg KG/h) und Propofol (5 mg/kg KG/h) aufrechterhalten. Die Muskelrelaxierung erfolgte bolusweise mit Pancuronium (0,2 mg/kg KG). Nach Abschluss der Präparation wurden die Tiere weiterhin mit Fentanyl (15 µg/kg KG/h), Midazolam (0,35 mg/kg KG/h) und Propofol (5 mg/kg KG/h) analgosediert, ohne dass weitere Muskelrelaxantien verabreicht wurden.

Im Anschluss erfolgte die Platzierung aller benötigten Gefäßzugänge und Messkatheter, bevor mit der Induktion der Endotoxinämie begonnen wurde.

### **3.3. Präparation und Gefäßzugänge**

Die Tiere wurden zur Präparation auf dem Rücken gelagert und am Operationstisch fixiert. Zunächst erfolgte die chirurgische Tracheotomie. Anschließend wurden alle Gefäßzugänge platziert. Nach der offen-chirurgischen Blasenkatheteranlage wurden die Tiere laparotomiert und eine Jejunalsonde sowie eine Gallengangsdrainage eingebracht.

#### **Atemweg:**

Die Sicherung des Atemwegs war nach der Prämedikation die erste Maßnahme nach Lagerung auf dem Rücken. Nach Durchtrennung der oberen Hautschichten mit einem Skalpell erfolgte die weitere Präparation und Blutstillung unter monopolarer Elektrokauterisation und -koagulation. Die Trachea wurde am spontan atmenden Tier sorgfältig präpariert und anschließend eröffnet. Die direkte Intubation durch diese Öffnung wurde mit einem Endotrachealtubus mit Innendurchmesser (ID) 7,0 (Tracheal Tubus, Lo-Contour™ Murphy, Mallinckrodt Medical, Athlone, Ireland) durchgeführt, der dann sicher in dieser fixiert wurde. Die beidseitige Ventilation wurde auskultatorisch nachgewiesen und die Beatmung kapnographisch überwacht.

#### **Gefäßzugänge:**

Ein periphervenöser Zugang wurde nach der Prämedikation in einer Ohrvene platziert (Vasofix® Safety, 20 Gauge (G), B. Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) und für die Aufrechterhaltung der Narkose verwendet, bis ein zentraler Venenkatheter verfügbar war. Nach der Tracheotomie wurden die verschiedenen Gefäßzugänge gelegt.

Zur Volumentherapie wurde ein großlumiger Shaldon-Katheter (Certofix® Duo HF, B. Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland) in die linke Vena femoralis eingebracht. Die Anlage erfolgte in üblicher Seldinger-Technik.

Ein dreilumiger zentralvenöser Zugang (Certofix® Trio, B. Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland) wurde ebenfalls in Seldinger-Technik in die rechte Vena jugularis externa eingebracht. Jeweils ein Lumen wurde für die weitere Verabreichung der Narkosemedikamente und des Noradrenalins genutzt. Das dritte Lumen wurde sichtundurchlässig geschwärzt und für das entsprechende Studienmedikament verwendet.

Für die Gefäßzugänge an der linken Halsseite wurden die Gefäße im Sinne einer Vena Sectio dargestellt und die entsprechenden Katheter dann direkt in die Gefäße eingebracht. Grund hierfür war, dass hier drei Gefäßschleusen unmittelbar nebeneinander platziert werden mussten. Außerdem konnten hiermit Fehlpunktionen vermieden werden, um die exakte Katheterlage nicht zu gefährden, da über diese Zugänge die Aufzeichnung und elektronische Dokumentation der hämodynamischen Druckparameter erfolgten. Hierzu wurde die Haut ca. 10 cm längs inzidiert und Muskeln und Faszien stumpf präpariert. Die Gefäße wurden sorgfältig dargestellt und vor der direkten Inzision mittels Fadenligatur nach distal verschlossen.

In die linke Vena jugularis interna brachten wir eine Gefäßschleuse (8F Intradyn™, Venous Hemostasis Introducer, B. Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) ein, die im Verlauf mit einem Pulmonalarterien-Katheter (PAK) genutzt wurde. Zwei weitere Gefäßschleusen (5 French (F) Intradyn™, Venous Hemostasis Introducer, B. Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) platzierten wir in der linken Arteria carotis interna und der linken Vena jugularis externa, welche später für die Druckaufnahmekatheter verwendet wurden. Nach Platzierung der Schleusen wurde die Haut schichtweise mittels Einzelknopfnahnt wieder verschlossen und die Schleusen entsprechend ausgeleitet. Die invasive Blutdruckmessung zur klinischen Überwachung erfolgte über einen arteriellen Katheter in der rechten Arteria femoralis. In der linken Arteria femoralis wurde ebenfalls eine Gefäßschleuse (5F Intradyn™, Venous Hemostasis Introducer, B. Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) platziert, über die später der arterielle PiCCO-Katheter eingebracht wurde.

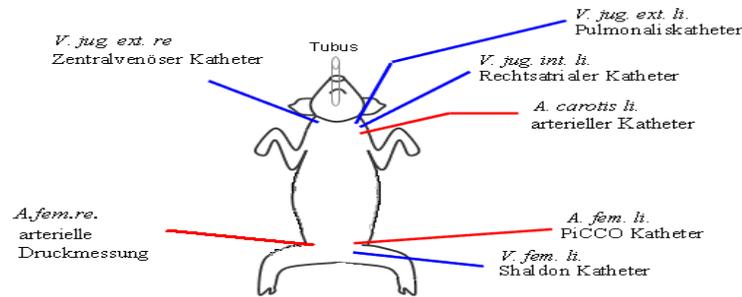


Abbildung 2 Schema der Gefäßzugänge beim Schwein (© Dr. Christian Petersen)

## Laparotomie

Die Laparotomie erfolgte mit einem medianen Längsschnitt vom distalen Ende des Sternums bis zur Symphyse. Die Präparation wurde mithilfe eines Diathermie-Messers unter sorgfältigem chirurgischen Vorgehen und Blutstillung durchgeführt. Es wurden schichtweise Muskulatur und Faszien eröffnet, ebenso wie das Peritoneum und die Bauchorgane dargestellt. Zunächst erfolgte die Anlage eines Dauerkatheters: Nach Darstellung und Präparation der Blase wurde eine Tabaksbeutelnaht vorgelegt, die Blase direkt inzidiert und ein Dauerkatheter (Urosid® silicone, Nelaton, 2-way, 16 Charrière (Ch), Asid Bonz GmbH, Herrenberg, Deutschland) eingelegt. Hieran wurde ein Sammelsystem zur Bestimmung der Stundenurinmenge konnektiert. Zusätzlich wurde ein Druckmesskatheter für die intraabdominelle Druckmessung eingelegt. Anschließend wurden die Katheter an der Blase fixiert und die Inzision vollständig verschlossen.

Zur Ableitung des Magensafts wurde am Magen eine Tabaksbeutelnaht vorgelegt und der Magen direkt inzidiert. Über die Inzision wurde eine Magensonde (Ch 16) in den Magen gelegt, über die der Magensaft abgeleitet und in einem Beutel zur Mengenbestimmung gesammelt wurde. Nach dem Einlegen wurde die Magensonde fixiert und die Einstichstelle vollständig verschlossen.

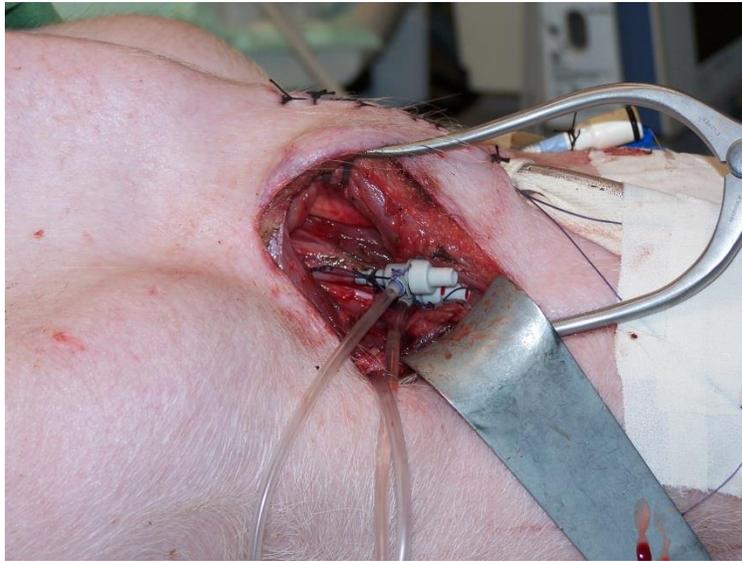
Anschließend wurde der Katheter für den gastralen Kohlendioxid-Partialdruck ( $p_g\text{CO}_2$ , Tonometrics-catheter, TONO-16F, Datex-Ohmeda Division, Helsinki, Finnland) im Jejunum platziert. Dieses wurde nach Vorlage einer Tabaksbeutelnaht eröffnet und der Messkatheter retrograd eingeführt, so dass dieser im proximalen Duodenum in der pars cranialis zu liegen kam. Die Jejunalflüssigkeit drainierte über diesen Katheter und wurde zur Mengenbestimmung in einem Auffangbeutel gesammelt.

Die Präparation der Leberpforte erfolgte unter manuellem Weghalten der Leber. Hier wurden die Leitstrukturen präpariert und identifiziert. Der Ductus choledochus wurde nach distal legiert und mit einer Infusionsleitung nach Inzision kanüliert. Anschließend wurde der Katheter fixiert und die Gallensekretion in einem Auffangbehälter quantifiziert.

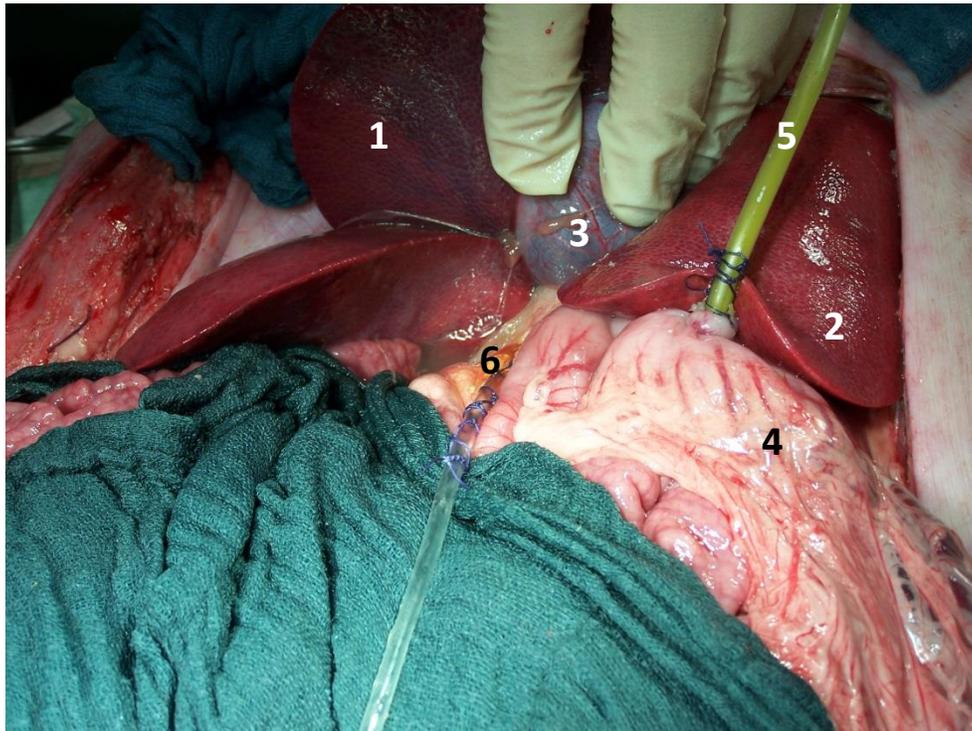
An der freipräparierten Vena portae wurde eine U-Naht mit einem Teflonfaden, der sich durch möglichst atraumatisches Einbringen und eine hohe Reißfestigkeit auszeichnet, vorgelegt. Zentral in die vorgelegte U-Naht wurde die Vena (V.) portae punktiert und ein einlumiger Zentraler Venenkatheter (ZVK) mittels Seldinger-Technik eingebracht. Anschließend erfolgten die Sicherung des Katheters mittels der vorgelegten U-Naht und die Kontrolle auf Dichtigkeit der Punktionsstelle. Um die V. portae wurde eine Flussmesssonde (Medi-Stim ASA, Probe, 10 mm, Oslo, Norwegen) gelegt und hierüber das Minutenvolumen des Blutflusses gemessen.

Zur Ableitung des Aszites und zur Vorbeugung eines abdominellen Kompartmentsyndroms wurden zwei großlumige Robinsondrainagen links und rechts in der mittleren Axillarlinie durch direkte Hautschnitte intraperitoneal platziert. Der abgeleitete Aszites wurde aufgefangen und quantifiziert.

Nach Abschluss der o.g. Präparation wurde das Abdomen wieder mehrschichtig verschlossen. Alle Katheter wurden über die Laparotomie ausgeleitet. Anschließend erfolgten der schichtweise Peritoneal- und Faszienschluss mittels fortlaufender Naht sowie der Hautverschluss mittels Einzelknopfnähten.

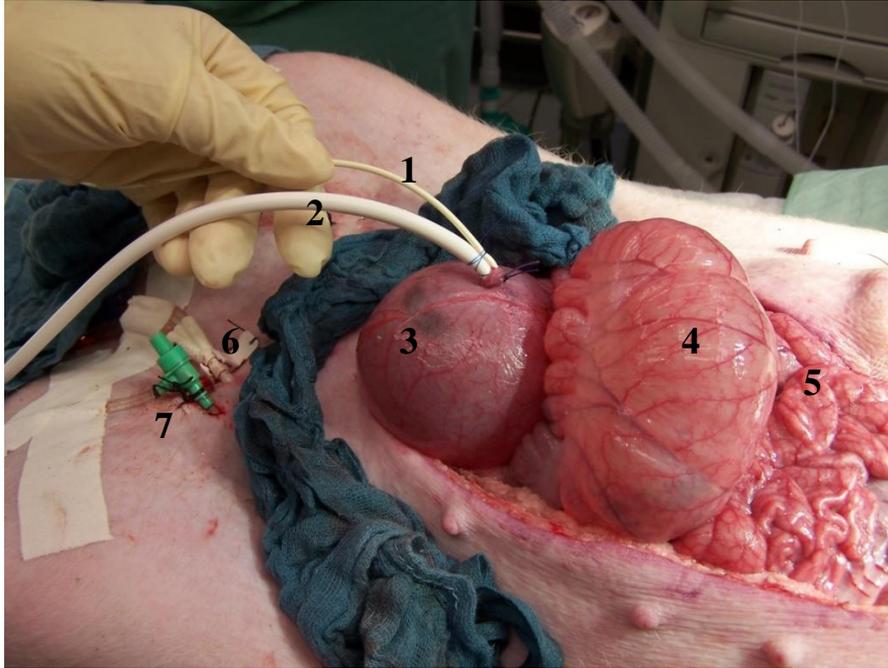


**Abbildung 3 Gefäßzugänge Hals**



**Abbildung 4 Präparation der Leberforte**

**Legende:** 1: rechter Leberlappen 2: linker Leberlappen 3: Gallenblase  
 4: Duodenum 5: Jejunalsonde / Tonometrikatheter  
 6: Leberforte mit Drainage im Ductus choledochus



**Abbildung 5 Präparation der Harnblase und der Leistengefäße**

- Legende:**
- |  |                 |         |
|--|-----------------|---------|
| 1 Einlumen-ZVK zur Druckmessung  | 2 Dauerkatheter |         |
| 3 Harnblase  | 4 Colon         | 5 Ileum |
| 6 Shaldonkatheter in der V. femoralis links                            |                 |         |
| 7 5F-Schleuse in der Arteria (A.) femoralis links (für PiCCO-Katheter) |                 |         |

### 3.4. Messapparaturen und Messverfahren

Folgende Geräte kamen während der Versuchsreihe zum Einsatz:

Funktion	Bezeichnung
Beatmungsgerät	Zeus, Dräger, Draeger Medical Systems, Inc., Denver, U.S.A.
Patientenmonitor	Infinity Delta, Draeger Medical Systems, Inc., Danvers, U.S.A.
Aufnahmeschnittstelle für invasive Druckmessungen	Haemobox, Dräger, Infinity PiCCO Technology, Pulsion Medical systems, München, Deutschland
Monitor und Anschluss des pulmonalarteriellen Katheters (PAK)	Edwards Lifesciences™, Volumetrics Vigilance™, CEDV, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleissheim, Deutschland
Monitor für Tonometriemessung	Datex Ohmeda S/5, Kompaktmonitor Anästhesie, GE Healthcare Finland Oy, Helsinki, Finnland
Tonometrikatheter	Datex Ohmeda Division Instrumentarium Corp, Type M-Tono, SN 3952313, Helsinki, Finland
PiCCO	PiCCO plus, Pulsion Medical systems, München, Deutschland mit PiCCO-VoLEF Data Acquisition Version 6.0, Release V 7.0.0
Flussmesssonde	Transit Time & Doppler Flowmeter, CM-4000, CadioMed, Medistim, Norwegen
Perfusoren	Perfusor® fm B. Braun, B. Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland
Infusomat	IVAC 591 Star Flow, Volumetrische Pumpe, IVAC Corporation, San Diego, California, U.S.A
hämodynamischer Messarbeitsplatz	iox <sub>2</sub> , Version 2.2.17.17, EMKA Technologies, Paris, Frankreich
Blutgasanalysen	Radiometer Copenhagen, ABL 800 Flex, Kopenhagen, Dänemark

**Tabelle 2** verwendete Geräte



**Abbildung 6 Narkosearbeitsplatz**

**Legende:**      1 Monitor Beatmungsgerät      2 Monitor Vitalparameter  
                  3 Ergänzungsmonitor Vitalparameter  
                  4 Perfusor mit Studienmedikament  
                  5 Perfusoren mit Narkosemedikamenten

Die Überwachung von Herzfrequenz und –rhythmus erfolgte über ein Oberflächen-Elektrokardiogramm (EKG) mit Klebeelektroden unter Darstellung der Extremitätenableitungen nach Einthoven und Goldberger, die kontinuierlich auf dem Überwachungsmonitor angezeigt wurden. Nach Abschluss der chirurgischen Präparation wurde ein weiteres 6-Kanal-EKG zur kontinuierlichen Datenaufzeichnung hinzugefügt.

Der arterielle Blutdruck wurde über ein System zur kontinuierlichen invasiven Blutdruckmessung über die gesamte Versuchsdauer auf dem Überwachungsmonitor dargestellt. Nach Abschluss der chirurgischen Präparation wurde über die 5F-Schleuse in der linken A. carotis interna ein Katheter zur Druckaufzeichnung (MICRO-TIP CATHETER Pressure Transducer, Model: SPC-350, Millar Instruments Inc., Houston, Texas, U.S.A) im peripheren arteriellen

Gefäßsystem platziert. Durch vollständiges Vorschieben über mehr als 20 cm wurde sichergestellt, dass die Katheterspitze nicht in der Aorta ascendens, sondern distal des Aortenbogens zu liegen kam und somit ein verlässliches arterielles Blutdrucksignal aufzeichnete. Die Messkatheter wurden gemäß der Herstellerempfehlung durch mehrminütiges Einlegen in warmem Wasser vorbereitet. Diese Messmethode gilt als die zuverlässigste zur Bestimmung von Blutdrucksignalen bei Tieren (Erhardt und Henke 2000).

Die Überwachung des pulmonalarteriellen Drucks (PAP) erfolgte über einen Swan-Ganz-Katheter (Edwards Lifesciences, REF: 744HF75, Swan-Ganz CCombo CCO/SvO<sub>2</sub>, 7,5 F, Edwards Lifesciences Germany GmbH, Unterschleissheim, Deutschland), der über die 8F-Schleuse in der linken Vena jugularis interna in der Arteria pulmonalis in Wedgeposition durch Darstellung der üblichen Druckkurven beim Durchqueren von rechtem Atrium und rechtem Ventrikel platziert wurde. Der PAP wurde kontinuierlich überwacht, nach Beendigung der chirurgischen Präparation wurde an den Katheter ein Druckaufnehmer zur Aufzeichnung des PAP angeschlossen. Es erfolgte ebenfalls die kontinuierliche Messung des HZV.

Eine zweite Überwachung des HZV erfolgte über den PiCCO-Katheter (Pulsioath, 5F Thermodilutions-Katheter 20 cm, PV2015L20N, Pulsion Medical systems, München, Deutschland) in der 5F-Schleuse der rechten Arteria femoralis. Die Injektion der 8°C kalten physiologischen Kochsalzlösung erfolgte am ZVK. Als weitere Parameter der Messung wurden Schlagvolumenvarianz (SVV), Pulsdruckvarianz (PPV), extravaskuläres Lungenwasser (EVLW) und globales enddiastolisches Volumen (GEDV) erfasst. Außerdem wurde die Körperkerntemperatur gemessen.

Über den ZVK in der rechten Vena jugularis interna erfolgte die kontinuierliche Messung des zentralvenösen Drucks (CVP).

Durch die 5F-Schleuse in der linken Vena jugularis externa wurde ein Microtip-Katheter in den rechten Vorhof vorgeschoben, um den rechtsatrialen Druck (RAP) aufzuzeichnen. Die Lagekontrolle erfolgte durch Vorschieben des Katheters, bis die typische Druckkurve des rechten Ventrikels dargestellt werden konnte. Dann

wurde der Katheter zurückgezogen, bis er nach Passieren der Trikuspidalklappe wieder eine Lage im rechten Vorhof erreichte.

Gerät	Parameter
Überwachungsmonitor	Herzfrequenz, EKG, invasiver Blutdruck (A. fem.; systolisch, diastolisch, MAP) pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung ( $S_pO_2$ ), enttidales Kohlenstoffdioxid ( $etCO_2$ ), PAP (systolisch, diastolisch, mittlerer pulmonalarterieller Druck (MPAP))
häodynamischer Messarbeitsplatz (EMKA-Technologies)	invasive Blutdruckmessung (Aorta descendens; systolisch, diastolisch, MAP), HF, Pfortaderfluss
PAK-Monitor	PAP (systolisch, diastolisch, MPAP), HZV
PiCCO-Monitor	HZV, Herzfrequenz, art. Blutdruck (systolisch, diastolisch, MPAP), SVV, PPV, GEDV, EVLW, totaler peripherer Widerstand (SVR)

**Tabelle 3 Verwendetes Monitoring**

Die Beatmungsparameter Spitzendruck, positiver endexpiratorischer Druck (PEEP), Tidalvolumen und Frequenz, der  $etCO_2$  und die inspiratorische Sauerstofffraktion ( $F_iO_2$ ) wurden über den Monitor des Narkosebeatmungsgerätes überwacht. Zusätzlich erfolgte die Aufzeichnung der Beatmungsdruckkurve.

Die periphere Sauerstoffsättigung des Blutes wurde mittels Pulsoxymetrie am Schwanzende gemessen.

Gerät	Parameter
Beatmungsgerät	Atemfrequenz, Tidalvolumen, Atemminutenvolumen, Beatmungsdrücke (Spitzendruck, PEEP), Kapnometrie und -graphie, $F_{iO_2}$

**Tabelle 4 Beatmungsparameter**

Arterielle, gemischt-venöse und portalvenöse Blutgasanalysen wurden zweistündlich durchgeführt. Die Entnahme der arteriellen BGA ebenso wie die Laborblutentnahmen erfolgten über die arterielle Gefäßschleuse in der A. femoralis. Die gemischt-venöse Blutgasanalyse (BGA) wurde über das distale Lumen des PAK und die portalvenöse BGA über den 1-Lumen-ZVK in der V. portae entnommen.

<b>Probenart</b>	<b>Messzeitpunkte (M)</b>	<b>Bestandteile</b>
arterielle BGA	Baseline, septischer Schock, M2, M4, M6, M8, M10	pH, Sauerstoffpartialdruck (pO <sub>2</sub> ), Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pCO <sub>2</sub> ), Sauerstoffsättigung (sO <sub>2</sub> ), Base-Excess (BE), Bikarbonat (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ), Lactat, Natrium (Na), Kalium (K), Calcium (Ca), Chlorid (Cl), Hämoglobin (Hb), Glucose
gemischt-venöse BGA	Baseline, septischer Schock, M2, M4, M6, M8, M10	pH, pO <sub>2</sub> , pCO <sub>2</sub> , sO <sub>2</sub> , BE, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Lactat, Na, K, Ca, Cl, Hb, Glucose
portalvenöse BGA	Baseline, septischer Schock, M2, M4, M6, M8, M10	pH, pO <sub>2</sub> , pCO <sub>2</sub> , sO <sub>2</sub> , BE, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Lactat, Na, K, Ca, Cl, Hb, Glucose
EDTA-Röhrchen	Baseline, septischer Schock, M5, M10	Hb, Hämatokrit (Hkt), mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Erythrozytenverteilungsbreite (EVV), Erythrozyten-, Thrombozyten-, Leukozytenzahl

Citrat-Röhrchen	Baseline, septischer Schock, M5, M10	Quick, International Normalized Ratio (INR), Thrombinzeit (TZ), partielle Thromboplastinzeit (PTT), Fibrinogen, Antithrombin (AT) III
Serum-Röhrchen	Baseline, septischer Schock, M5, M10	Albumin, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Alkalische Phosphatase (AP) Bilirubin gesamt, Kreatininkinase (CK), Gamma-Glutamyltransferase ( $\gamma$ GT), Gesamt-Eiweiß, Harnstoff, Laktat-Dehydrogenase (LDH), Lipase, pankreas-spezifische Amylase

**Tabelle 5 Blutgasanalysen und Laborparameter**

Der Blutfluss in der V. portae wurde über eine Flussmesssonde gemessen und als kontinuierliches Minutenvolumen angezeigt. Zweistündlich wurden Blutgasanalysen der V. portae durchgeführt.

Zu vier Zeitpunkten erfolgte die Bestimmung von Laborparametern, die in der folgenden Tabelle aufgezählt werden. Die Probenauswertung erfolgte durch das Zentrallaboratorium, Institut für Klinische Chemie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Über die Druckmesssonde im Blasenlumen wurde der intraabdominelle Druck bestimmt. Hierzu wurde die Blase retrograd über den Dauerkatheter mit 50 ml

physiologischer Kochsalzlösung gefüllt und der Druckmesskatheter mit einem System zur kontinuierlichen Druckmessung verbunden (Cheatham und Safcsak 1998).

Die Urinproduktion wurde stündlich bilanziert und der Urin mit Urinsticks (Urinstick-Aution Sticks 10EA, AKRAY Factory, Inc., Shiga, Japan) getestet.

Die Produktion von Galle, Duodenal- und Magensekret wurde ebenfalls stündlich in Millilitern bestimmt.

Die folgende Tabelle zeigt als Übersicht die verschiedenen Messungen zu den jeweiligen Messzeitpunkten.

Parameter	Baseline	Sepsis	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
	Zeit *	0h	+1h	+2h	+3h	+4h	+5h	+6h	+7h	+8h	+9h	+10h
Hämodynamik	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Beatmung	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
PiCCO	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
BGA	X	X		X		X		X		X		X
pgCO <sub>2</sub>	X	X		X		X		X		X		X
Laborproben	X	X					X					X
Urin	X	X					X					X
Bilanzierung	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

**Tabelle 6 Parameter und Messzeitpunkte; \* Zeit in [h] relativ zum Zeitpunkt „Sepsis“**

### **Sepsisinduktion**

Die Herbeiführung eines septischen Schocks im Großtiermodell ist ein Verfahren, das praktiziert wird, seit an diesen Tieren Forschungsversuche zu diesem Thema durchgeführt werden. Das Problem hierbei ist, einen Schock zu induzieren, der zeitnah seine pathophysiologische Wirkung auf den Organismus zeigt, damit diese mit den entsprechenden Messverfahren detektiert werden können. Eine weitere Herausforderung ist, die experimentelle Durchführung möglichst nah an der pathophysiologischen Realität zu gewährleisten, um eine Übertragbarkeit der Ergebnisse sicherzustellen. Um eine Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen

Studien zu haben, ist die Methodik der Sepsisinduktion auf möglichst wenige Arten zu reduzieren. Aus diesem Hintergrund haben sich letztlich drei Standardverfahren etabliert, um einen septischen Schock zu erreichen (Doi et al. 2009):

- Legierung und proximale Eröffnung eines Darmabschnitts
- intravenöse Einleitung mit einem Endotoxin, z.B. Lipopolysaccharid (LPS)
- Injektion oder Instillation eines Bakteriums, z.B. *Pseudomonas aeruginosa*

Wir wählten die intravenöse Zufuhr eines Endotoxins, in diesem Fall LPS von *Escherichia coli* (*E. coli*). Grund hierfür war die gute Steuerbarkeit, aber auch die schnelle Reaktion der Schweine auf ein intravenös eingebrachtes Endotoxin, da die Zeit ein limitierender Faktor unseres Versuchsablaufs darstellte. Die Versuche waren auf eine Gesamtdauer von knapp 24 Stunden geplant, so dass wir eine sichere, schnelle und effiziente Methode zur Induktion des septischen Schocks benötigten. All diese Kriterien erfüllt die intravenöse Injektion von LPS. Hinzu kommt die Zuverlässigkeit, mit der die intravenöse Gabe einen Schock verursacht. Es gab kein Tier, das ausgeschlossen werden musste, weil kein Schockzustand erreicht werden konnte.

Für die Dosierung und die Länge der Applikation gibt es keine einheitliche Strategie, da keines der praktizierten Verfahren den anderen gegenüber entscheidende Vorteile bietet. Die Literaturangaben zu diesem Thema reichen von einer Einmalgabe bis zu einer begrenzten zeitlichen Zufuhr von 5 µg/kg KG über eine Stunde (Klosterhalfen et al. 1997). Ebenso gibt es Arbeitsgruppen, die mit einer kontinuierlichen Zufuhr von LPS arbeiten, z.B. in einer Dosierung von 0,5 µg/kg KG/h bis zum Erreichen einer Hypotension (Tenhunen et al. 2003).

Wir führten eine kontinuierliche Infusion von 2 µg/kg KG/h durch, die stündlich gesteigert wurde, bis die Kriterien für den septischen Schock im Studienprotokoll erfüllt waren.

Diese Dosierung ist grundsätzlich vergleichbar mit den beiden Dosierungen der o.g. Studien. Die Startdosis ist zwar viermal so hoch wie in der Studie von

Terhunen et al., aber immer noch nur knapp die Hälfte derer von Klosterhalfen et al., wobei diese Gabe auf eine Stunde limitiert war. Da der Mittelpunkt dieser Studie die Reaktion von Heat-Shock-Protein-70 und Zink war, wurde hier formell kein septischer Schock erreicht, sondern nur die Reaktion des Organismus auf den Kontakt mit LPS abgewartet, z.B. ein pulmonalerterieller Hypertonus. Auch Terhunen et al. begannen mit der Baseline-Messung nach dem Nachweis eines pulmonalerteriellen Hypertonus und einem nicht näher definierten Abfall des HZV. Durch unser Studienprotokoll war der septische Schock und somit der Beginn der Baseline-Messung nach den klinischen Kriterien der AWMF-Leitlinie definiert, so dass wir die auf die Initialphase folgende Hypotension abwarteten. Hierfür waren deutlich höhere Dosierungen von LPS notwendig.

Die Bezeichnung Lipopolysaccharide umfasst eine Gruppe heterogener Makromoleküle, die jedoch alle aus einem Lipid- und einem Saccharid-Anteil bestehen. Sie sind Bestandteil der Zellmembran gramnegativer Bakterien, wobei der Lipidanteil die Verankerung in der Zellwand bildet, der Saccharidanteil als Antigen auf der Zelloberfläche wirkt. Das LPS-Molekül besteht aus:

- Lipid A: In der Zellwand verankerter Bestandteil, der zum Großteil aus Phospholipiden besteht. Reagiert bei Kontakt mit immunkompetenten Zellen über den Toll-like-Rezeptor (TLR) -4-Rezeptor, der wiederum mit dem IL-1-Rezeptor interagiert.
- Kern-Oligosaccharide: Bestehen aus einem inneren Teil, der am Lipid A liegt, und einem äußeren Teil, der die serologische Spezifität definiert und Ansatzpunkt für die O-Polysaccharid-Seitenkette ist.
- O-Polysaccharid-Seitenkette: Besteht aus Zuckermolekülen. Die Heterogenität wird durch die unterschiedlichen Wiederholungen verschiedener Zuckermoleküle erreicht. Sie fungiert als O-Antigen des Bakteriums, daher auch der Name (Raetz und Whitfield 2002).

Im Plasma liegt LPS meist gebunden an das lipopolysaccharid binding protein (LBP) vor.

Das Immunsystem reagiert über verschiedene Wege auf den Kontakt mit LPS. An der Zellmembran von immunkompetenten Zellen reagiert es mit dem Cluster-of-differentiation (CD)14-Rezeptor. Dies führt zu einer Aktivierung der Entzündungsmediatoren TNF- $\alpha$ ,

Interferon (IFN)- $\gamma$ , IL-1, IL-6 und IL-8. Diese lösen die Ausschüttung von Eikosanoiden, Stickstoffmonoxid (NO) und Plättchenaktivierender Faktor (PAF) aus, die im Organismus ein SIRS verursachen.

Der CD14-Rezeptor findet sich vor allem auf der Oberfläche von Monozyten und Makrophagen. Er ist Bestandteil des spezifischen LPS-Rezeptors, den es zusammen mit dem TLR-4 und dem Lymphozytenantigen 96 bildet (Löffler 2005).

Durch die Freisetzung von Granulozyten-Kolonien-stimulierender Faktor (G-CSF) kommt es schnell zur Neutrophilie und kompensatorisch zur Leuko- und Monozytopenie (DeFranco et al. 2007).

Tavernier et al. (2001) zeigten, dass LPS die Kontraktilität des Myokards reduziert, indem es die Signalkaskade des  $\beta$ -adrenergen Systems stört und die Calciumsensitivität herabsetzt. Es kommt zur Makro- und Mikrozirkulationsstörung mit Hypotonie und Multiorganversagen. TNF- $\alpha$  und IL-1 beeinträchtigen direkt die myokardiale Pumpfunktion (DeFranco et al. 2007). Es kommt zu einer Umverteilung des zirkulierenden Blutes, um die Oxygenierung der wichtigsten Organe, v.a. Herz und Gehirn sicherzustellen, was als Zentralisation beschrieben wird. Dies geschieht zu Ungunsten der peripheren Organe, zu denen auch die intraabdominellen Organe gehören. Es zeigt sich das Bild eines septischen Schocks.

## **PAK und PiCCO**

Zur Datenerhebung über die Makrozirkulation dienen in dieser Studie vor allem der PAK und das PiCCO-System. Als wichtigster Parameter sei an dieser Stelle das HZV genannt. Ebenso erfolgte die Steuerung der Volumentherapie über die SVV.

Der PAK erfüllt in der vorliegenden Studie drei Funktionen: die Messung des PAP und des HZV sowie zur Entnahme einer gemischt-venösen BGA.

Die PAP-Messung erfolgt mittels der Druckaufnahme an der Katheterspitze und der automatischen Verarbeitung des Signals. Aus der Messung des systolischen und des diastolischen PAP errechnet sich der MPAP.

Die HZV-Messung erfolgt über eine Thermodilution mit einem Wärmebolus. Dies funktioniert nur mit speziellen PAK mit im distalen Ende integrierter Heizspirale. Die Heizspirale des Katheters erwärmt das Blut in der proximalen Pulmonalarterie mit einer definierten Temperatur über einen bestimmten kurzen Zeitraum. Dieser Wärmebolus wird am distalen Ende des PAK detektiert. Aus Temperaturverlauf und -anstiegszeit wird über ein Integral nach der Stewart-Hamilton-Gleichung das HZV berechnet. Das Messintervall beträgt eine Minute, so dass das Prinzip einer kontinuierlichen HZV-Überwachung nahekommt. Da der Katheter in der Pulmonalarterie platziert wird, erfolgt die Messung des HZV für den rechten Ventrikel.

Limitationen des Verfahrens ergeben sich aus der Invasivität der Katheteranlage, bei der neben den üblichen Risiken einer zentralvenösen Punktion durch die transkardiale Platzierung des Katheters ein besonderes Risiko für Herzklappen-, Endokard- und Gefäßverletzungen, Thrombosen und kardiale Arrhythmien besteht (Swan et al. 1970).

Beim PiCCO-System handelt es sich ebenfalls um eine HZV-Messung, die mit Thermodilution arbeitet. Anders als beim PAK wird hierbei jedoch transpulmonal gemessen und somit die linksventrikuläre Funktion erfasst. Daneben können weitere Parameter berechnet werden.

Bei der Messung wird ein definierter Bolus kalter Kochsalzlösung zentralvenös appliziert und das Thermosignal in einer peripheren Arterie aufgezeichnet. Zur

Vermeidung von Messungenauigkeiten wird dieser Vorgang dreimal wiederholt und aus den drei Ergebnissen der Mittelwert gebildet. Das Verfahren funktioniert mathematisch ebenso wie die HZV-Messung des PAK mit einer Integralbildung über den zeitlichen Temperaturverlauf. Die kontinuierliche HZV-Messung erfolgt über eine Pulsconturanalyse des arteriellen Blutdrucksignals im Vergleich mit dem über Bolusgaben gemessenen HZV. Deswegen sind regelmäßige Wiederholungen der Kalibration des Systems mit Bolusgaben notwendig, was wir stündlich durchführten (Reuter et al. 2010).

Da in dieser Studie mit der hämodynamischen Fragestellung die Messung der pulmonalarteriellen Drücke notwendig war, verwendeten wir sowohl einen PAK als auch das PiCCO-System. Die Ergebnisse der HZV-Berechnung zwischen pulmonalarterieller und transpulmonaler Thermodilution mittels PiCCO unterscheiden sich nur geringfügig (Goedje et al. 1999), wobei die transpulmonal erhobenen Werte eher zu hoch liegen (Böck et al. 1989), was sich in unseren Ergebnissen nicht zeigte. Wir verwendeten zur HZV-Berechnung die mittels pulmonalarterieller Thermodilution berechneten Werte. Bei beiden Verfahren wurden drei Messungen durchgeführt und daraus der Mittelwert berechnet, um Messfehler zu minimieren.

Der PAK ist im Vergleich mit dem PiCCO-System das invasivere Verfahren, zumal in der klinischen Praxis auf der Intensivstation zu dem meist vorhandenen ZVK und der arteriellen Kanüle keine zusätzlichen Gefäßzugänge gelegt werden müssen. Eine Hauptkomplikation des PAK ist die Lungenarterienembolie (LAE). Bei der Messung des Wedge-Druckes bei einem der Pilotiere für diese Versuchsreihe kam es zu einem irreversiblen Herz-Kreislaufstillstand durch die Ruptur des Messballons mit nachfolgender Luftembolie, weswegen in dieser Studie auf die Messung des Wedge-Druckes verzichtet wurde.

## **Flussmessung**

Die Flussmessung der Vena portae befindet sich an der Schnittstelle von Makro- und Mikrozirkulation. Es handelt sich um ein großes Gefäß, durch das ein großer Anteil des HZV fließt. Andererseits drainiert es einen Großteil des Splanchnikusgebiets, dessen regionale Perfusionsverschlechterung eines der zentralen Themen dieser Untersuchung ist.

Bei der Flussmessung handelt es sich um ein ultraschallgestütztes Verfahren. Der Vorteil der Methode besteht in der Unabhängigkeit von Parametern wie z.B. des Gefäßdurchmessers. Die Flussmesssonde besteht aus zwei Ultraschalltransducern und einem akustischen Reflektor. Die Flussmesssonde wird perivaskulär platziert, wobei das Gefäßlumen innerhalb der halbmondförmigen Messvorrichtung zu liegen kommt. Auf der einen Seite der Messsonde befinden sich die Ultraschalltransducer, ihnen gegenüber liegt der Reflektor. Die beiden Ultraschallsignale werden in unterschiedliche Richtungen gesendet, reflektiert und aufgenommen. Ultraschallwellen, die sich in gleicher Richtung ausbreiten wie der Blutfluss (downstream) benötigen eine kürzere Zeit für die gleiche Strecke als die Wellen, die sich entgegen der Blutflussrichtung ausbreiten (upstream). Aus dieser Zeitdifferenz kann die Flussgeschwindigkeit des Blutes berechnet werden (Beldi et al. 2000). Die Ultraschallwellen erfassen den gesamten Gefäßquerschnitt und somit auch unterschiedliche Flussgeschwindigkeiten in unterschiedlichen Bereichen des Gefäßes, die in die Berechnung eingehen. Somit kann von einer hohen Genauigkeit des Verfahrens ausgegangen werden (Drost 1978).

Es handelt sich um den Goldstandard der Flussmessung im Tierexperiment (Rémond et al. 1998).

## **Tonometrie**

Die Tonometrie ist ein Messverfahren, mit dem indirekt Rückschlüsse auf die Mikrozirkulation gezogen werden.

Es findet zurzeit überwiegend im Tierexperiment und in klinischen Studien Anwendung, selten im klinischen Alltag. Grund dafür ist vor allem, dass bisher kein

klinischer therapeutischer Benefit des Verfahrens nachgewiesen werden konnte und methodische Schwierigkeiten wie schlechte Reproduzierbarkeit und Störungen die Messung beeinflussen können (Brinkmann et al. 1998). Der Katheter wird wie eine Magensonde oral eingeführt und im Duodenum platziert. Nach Kalibrierung wird der Messballon zeitgesteuert mit Raumluft gefüllt. Kohlenstoffdioxid diffundiert durch die Membran in den Ballon und führt zu einer Angleichung der Kohlenstoffdioxidkonzentration in Ballon und intestinaler Mukosa. Durch Entnahme einer Gasprobe aus dem Ballon wird vom Monitor mittels Infrarotsensor die Kohlenstoffdioxidkonzentration gemessen.

Die luminal gemessene Kohlenstoffdioxidkonzentration befindet sich im Gleichgewicht mit der mukosalen Konzentration, so dass sowohl der Absolutwert als auch Änderungen über die Zeit erfasst werden (von Aken et al. 2014).

Auf die Messung des  $pH_i$  verzichteten wir, da aus vorangegangenen Publikationen bekannt ist, dass der  $pH_i$  ein weniger verlässlicher Parameter als der  $p_gCO_2$  ist (Upadhyay et al. 2007).

Wir berechneten jedoch die Differenz zwischen  $p_gCO_2$  und arteriellem Kohlenstoffdioxidpartialdrucks ( $p_aCO_2$ , sog. „ $CO_2$ -gap“), die ein validerer Parameter als der  $pH_i$  ist. Grundlage hierfür ist die Tatsache, dass bei geringerer Perfusion der  $pCO_2$  im Gewebe ansteigt. Dies geschieht einerseits durch vermehrten anaeroben Stoffwechsel bei Hypoxie, bei dem vermehrt Wasserstoffionen entstehen, die eine Azidose verursachen, deren Pufferung durch  $HCO_3^-$  zu einem vermehrten Anfall von Kohlenstoffdioxid ( $CO_2$ ) führt. Andererseits kommt es durch die Minderperfusion zu einem verzögerten Abtransport des  $CO_2$  (Schuster und Werdan 2000). Dies wird mathematisch dargestellt durch eine steigende Differenz zwischen  $pCO_2$  im arteriellen System und im Gewebe (Schlichtig et al. 1996).

## **Intraabdominelle Druckmessung**

Beim abdominalen Kompartmentsyndrom (ACS) handelt es sich um ein intensivmedizinisches Krankheitsbild, dessen Bedeutung zunimmt. Bereits seit über hundert Jahren ist bekannt, dass eine Erhöhung des intraabdominellen Drucks zu respiratorischer Insuffizienz führt (Emerson 1911). Vom ACS muss eine intraabdominelle Hypertension, bei der ein konstanter intraabdomineller Druck über 25 mmHg vorliegt, abgegrenzt werden. Pathophysiologisch wird das primäre vom sekundären ACS unterschieden (Wilhelm et al. 2005). Das primäre ACS entwickelt sich aus einer akuten Erkrankung oder Verletzung, die unmittelbar zur intraabdominellen Druckerhöhung führt, z.B. ein rupturiertes Bauchortenaneurysma. Ein sekundäres ACS tritt infolge eines Bauchdeckenverschlusses nach größeren Baueingriffen oder u.a. durch ödematöse Schwellung der abdominalen Organe im Sinne eines Reperfusionsschadens auf (Pusajo et al. 1994). Die intraabdominelle Druckmessung etabliert sich als Standardverfahren auf Intensivstationen, dabei gilt die von uns durchgeführte intravesikale diskontinuierliche Messung heute als Verfahren der Wahl bei Screening-Untersuchungen (Malbrain 2004).

Ein abdominales Kompartmentsyndrom schädigt nachfolgend andere Organsysteme.

Durch Zwerchfellhochstand kommt es zur Abnahme der funktionellen Residualkapazität und einer Erhöhung des Beatmungsdruckes (Raeburn et al. 2001).

Die Abnahme des intrathorakalen Blutvolumens (ITBV), ein valider Vorlastparameter, ist hierauf und auf den verminderten venösen Rückstrom zum rechten Ventrikel zurückzuführen, was beides zu einer Abnahme des HZV führt (Hachenberg et al., Kashtan et al. 1981).

Auch auf die intraabdominellen Organe wirkt sich ein erhöhter intraabdomineller Druck negativ aus. Er erscheint ursächlich für eine Verschlechterung der Nierenfunktion (Cullen et al. 1989) und sogar eines akuten anurischen Nierenversagens (Richards et al. 1983) zu sein. Ebenso kommt es zu einer

verminderten Leber- (Rasmussen et al. 1995) und Darmperfusion (Caldwell und Ricotta 1987).

Um den Einfluss der schockbedingt verschlechterten Hämodynamik und darauffolgende abdominelle Perfusions- und Organfunktionsstörungen nicht durch ein ACS zu kaschieren, wurden Tiere mit ACS relaparotomiert, wenn der intraabdominelle Druck (IAP) über 20 mmHg anstieg, was als kritische Grenze des IAP angesehen wird (Meldrum et al. 1997).

### **Blutgasanalysen**

Blutgasanalysen lassen sich prinzipiell aus allen Strombahnen des Organismus entnehmen. Am weitesten in der Klinik verbreitet sind arterielle und zentral- bzw. gemischt-venöse Blutgasanalysen, die Informationen über den Gasaustausch, den Säure-Basen- und Volumenstatus und die Konzentration der wichtigsten Elektrolyte liefern.

In der vorliegenden Studie kamen drei verschiedene Entnahmeorte zum Einsatz, was eine Besonderheit darstellt. Es erfolgten zeitgleiche Entnahmen aus dem arteriellen, zentralvenösen und portalvenösen Gefäßsystem.

Arterielle Blutgasanalysen ermöglichen Rückschlüsse auf die respiratorischen und zirkulatorischen Funktionen, z.B. Perfusions- und Diffusionsstörungen der Lunge, die metabolische Funktion des Organismus (z.B. Lactat) und den Elektrolytstatus (Van Aken et al. 2001). Da die Elektrolytkonzentrationen sich im venösen und arteriellen System nur geringfügig unterscheiden, eignet sich die arterielle BGA insbesondere zur Überwachung der Lungenfunktion, da sie ohne größeren Einfluss metabolischer Vorgänge die Fähigkeit der Lunge, Sauerstoff aufzunehmen und gleichzeitig Kohlendioxid zu eliminieren, darstellen kann.

Gemischt-venöse Blutgasanalysen sind wesentlich seltener, nicht zuletzt wegen der Invasivität des Verfahrens; hierzu benötigt man einen PAK. Die gemischt-venöse Sauerstoffsättigung stellt dabei eine Messgröße dar, die sowohl vom Sauerstoffangebot über das HZV, als auch über die Sauerstoffausschöpfung des Gewebes beeinflusst wird (Bloos und Reinhart 2004). Die Bedeutung der

gemischt-venösen Sauerstoffsättigung auf die Therapiesteuerung zeigt sich in der engen Einbindung in die Therapiealgorithmen der AWMF-Leitlinie zur Sepsis-Therapie. Zur Verbesserung der Gewebeoxygenierung und damit parallel verbesserter gemischt-venöser Sauerstoffsättigung muss das HZV gesteigert werden (Volumensubstitution, Katecholamine) oder das Sauerstoffangebot erhöht werden (Anheben des Hämatokrits durch Erythrozyten-Transfusion). Dies führe zu einer signifikanten Reduktion der Letalität (Rivers et al. 2001).

Die BGA des Blutes aus der Vena portae ist ein nur im experimentellen Setting durchgeführtes, hier jedoch erprobtes Verfahren. Analog zur Aussagekraft der gemischtvenösen BGA über den großen Kreislauf bietet die BGA der Vena portae genauere Informationen über die hämodynamische und metabolische Funktion im Splanchnikus-Perfusionssystem (Martikainen et al. 2003).

Die Blutgasanalysen wurden mit heparinisierten Spritzen zu den definierten Zeitpunkten entnommen und von uns unmittelbar nach Entnahme mittels automatischer Messung analysiert.

Aus den Ergebnissen der Blutgasanalysen berechneten wir weitere Parameter.

Die arteriovenöse Sauerstoffgehaltssdifferenz ( $avDO_2$ ) berechnet sich aus der Differenz des arteriellen und zentralvenösen Sauerstoffgehalts. Es beschreibt die Sauerstoffmenge, die aus dem arteriellen Blut im Gewebe extrahiert wird.

Gleichung 1:  $avDO_2 = c_aO_2 - c_vO_2$

( $C_aO_2$ : arterielle Sauerstoffkonzentration,  $c_vO_2$ : venöse Sauerstoffkonzentration)

Der Normalwert beim Menschen ist 4,0 – 5,0 ml  $O_2$  / dl Blut. Ein höherer Wert entsteht, wenn mehr Sauerstoff in der Endstrombahn aus dem Blut extrahiert wird, was durch ein Minderangebot von Sauerstoff durch Hypoxie und/oder vermindertes HZV entsteht. Ein niedrigerer Wert entsteht durch intrapulmonale Shunts oder einen septischen Schock (Zerkowski und Baumann 2006). Dies erklärt sich durch eine Fehlregulation der Perfusion der Kapillaren, wodurch Bereiche mit zu

niedrigem Sauerstoffangebot und Bereiche mit niedriger Sauerstoffextraktion entstehen (Ellis et al. 2002, Ince und Sinaasappel 1999).

Arterieller und zentralvenöser Sauerstoffgehalt berechnen sich aus dem physiologisch an Hämoglobin gebundenem Sauerstoff und physikalisch im Blut gelöstem Sauerstoff:

$$\text{Gleichung 2a: } C_{aO_2} = Hb \times 1,36 \times S_{aO_2} + p_{aO_2} \times 0,0031$$

$$\text{Gleichung 2b: } C_{vO_2} = Hb \times 1,36 \times S_{vO_2} + p_{vO_2} \times 0,0031$$

( $S_{aO_2}$ : arterielle Sauerstoffsättigung,  $p_{aO_2}$ : arterieller Sauerstoffpartialdruck,  $S_{vO_2}$ : venöse Sauerstoffsättigung,  $p_{vO_2}$ : venöser Sauerstoffpartialdruck, 1,36: Sauerstoffbindungskapazität von 1g Hämoglobin (sog. Hüfner'sche Zahl), 0,0031 – Löslichkeitskoeffizient von Sauerstoff in menschlichem Plasma)

Die Determinanten des Sauerstoffgehalts sind die Hämoglobinkonzentration und die Sauerstoffsättigung. Die Sauerstoffausschöpfung beträgt unter physiologischen Bedingungen ca. 25% und ist weitgehend unabhängig vom Sauerstoffangebot (Van Aken et al., 2001).

Die arterio-portalvenöse Sauerstoffdifferenz ( $A_{pv}DO_2$ ) berechnet sich analog dieser Gleichung unter Ersatz der zentralvenösen durch die portalvenösen Werte.

$$\text{Gleichung 3: } A_{pv}DO_2 = C_{aO_2} - C_{pvO_2}$$

( $C_{pvO_2}$ : portalvenöser Sauerstoffgehalt)

Die arterio-portalvenöse Sauerstoffpartialdruckdifferenz ( $\Delta pCO_2$ ) berechnet sich aus arterieller und portalvenöser Blutgasanalyse:

$$\text{Gleichung 4: } \Delta pCO_2 = p_{pvCO_2} - p_{aCO_2}$$

( $p_{pvCO_2}$ : portalvenöser Kohlenstoffdioxidpartialdruck)

Der  $\Delta p\text{CO}_2$  ist ein Parameter, der sowohl durch zirkulatorische als auch durch metabolische Effekte beeinflusst wird. Ein Anstieg des  $\Delta p\text{CO}_2$  wird durch ein vermindertes Angebot an Sauerstoff, also Hypoxämie oder Hypoperfusion, mit konsekutiv erhöhtem anaeroben Stoffwechsel oder einen erhöhten Anfall an Kohlenstoffdioxid durch erhöhten oxidativen Stoffwechsel verursacht (Knichwitz et al. 1998).

### **Histologie**

Die histologischen Untersuchungen wurden in Kooperation mit dem Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (Leitung: Prof. Dr. med. Guido Sauter) durchgeführt.

Unmittelbar nach dem Kreislaufstillstand des Versuchstieres wurde ein Teil vom Jejunum entnommen und in Formalin fixiert. Die Proben wurden dem Institut für Pathologie zugeführt. Es erfolgte eine mikroskopische Einteilung nach dem Grad der Zellschädigung des jeweiligen Präparates. Die Klassifizierung wurde je nach mikroskopischer Ausprägung der Schädigungszeichen wie Apoptosen, Nekrosen und Epithelverletzungen in vier Schweregrade vorgenommen.

### **3.5. Interventionen**

#### **Sepsisinduktion**

Nach Abschluss der chirurgischen Präparation wurde bei jedem Versuchstier eine Stabilisierungsphase von einer Stunde angeschlossen, in der keine Manipulationen erfolgten, das Tier jedoch weiterhin analgosediert wurde. Danach startete die Sepsisinduktion.

Die Sepsisinduktion erfolgte durch die stetige zentralvenöse Zufuhr von Lipopolysaccharid von *Escherichia coli* (L 2630 – 100 mg, 028K4090, Lipopolysaccharides from *Escherichia coli*, 0111:B4, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland). Die Startdosierung betrug 2 µg/kg KG/h und erfolgte kontinuierlich durch einen Perfusor. Die Dosierung wurde nach Ablauf der ersten Stunde verdoppelt. Nach Ablauf der zweiten Stunde wurde die Dosierung erneut verdoppelt. Die weiteren Verdopplungen der Laufrate erfolgten dann halbstündlich, bis die Definition des septischen Schocks erfüllt war. Die Definition war laut Studienprotokoll bei ausreichendem Volumenangebot (SVV < 12%) ein MAP < 50 mmHg und eine Tachykardie mit einer Herzfrequenz (HF)  $\geq 90$  /min. Das Volumenmanagement mit einer Infusionsrate isotonischer Kochsalzlösung von 10 ml/kg KG/h und freier Infusion bei Überschreiten der SVV von 12% wurde bereits in der Phase der Sepsisinduktion etabliert. Es erfolgten keine Gaben hämodynamisch wirksamer Substanzen in dieser Phase.

Die Steuerung der Volumentherapie mit dem dynamischen Vorlastparameter SVV ist eine valides Verfahren (Benes et al. 2010), auch bei septischen Patienten (Khwannimit und Bhurayanontachai 2011). Zwischenzeitlich ist dieses Vorgehen in die S3-Leitlinie zur Volumentherapie beim Erwachsenen mit dem höchsten Empfehlungsgrad aufgenommen worden (Marx et al. 2014).

Nach dem Erreichen des septischen Schocks wurden die entsprechenden Messungen gestartet und die aktuelle Laufrate des LPS-Perfusors wieder um 50 Prozent reduziert und während der weiteren Versuchsdauer in dieser Einstellung

belassen. Die individuell benötigten LPS-Dosen zur Sepsisinduktion wurden dokumentiert und ausgewertet.

Bei der gewählten Dosierung von anfangs 2 µg/kg KG/h mit folgenden Dosisverdopplungen und einer durchschnittlichen Infusionsmenge über die Messperiode von 7,8 µg/kg KG/h befinden wir uns niedriger als bei bereits durchgeführter Studien, die mit höheren Dosierungen zuverlässig einen endotoxämischen Schock induzieren konnten (Greif und Forse 1998; Magder und Rastepagarnah 1998). Die Dosierung und das Regime zeigten sich bei den Pilotversuchen als wirksam. Als Vorteil ist zu nennen, dass kein Tier unmittelbar durch den endotoxämischen Schock ohne Erreichen der Messphase verstarb, was möglicherweise auf die „schonende“ Verfahrensweise der geringen Startdosis und der stufenweisen Erhöhung zurückzuführen ist. Durch die lange Versuchsdauer musste ein schnelles, aber gut steuerbares Verfahren gewählt werden. Diese Kriterien erfüllt die intravenöse Verabreichung und von LPS über einen Perfusor, da der Organismus primär auf das Endotoxin des Auslösers reagiert. Zudem konnte die verabreichte LPS-Menge genau dokumentiert und ausgewertet werden. LPS ist als Trockensubstanz erhältlich und wird zu einer gebrauchsfertigen Lösung in fünfprozentiger Glukoselösung hergestellt. Bei dem Modell handelte es sich um eine etablierte Vorgehensweise zur Simulation eines septischen Schocks im Tiermodell, mit dem bereits zahlreiche Studien durchgeführt wurden.

### **Studienmedikation**

Vor Versuchsbeginn erfolgte die Randomisierung und Zuordnung zur Studiengruppe.

Je nach Gruppenzugehörigkeit erhielten die Tiere Kochsalzlösung (NaCl, B. Braun, B. Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland), Dobutamin oder Levosimendan (Simdax<sup>TM</sup>, 5 ml, 2,5 mg / ml, Abbott Ges.mbH, Wien, Österreich). Mit der Studienmedikation wurde begonnen, nachdem die Messungen zum Zeitpunkt „Septischer Schock“ abgeschlossen waren. Dobutamin wurde mit einer Dosis von 10 µg / kg KG / min verabreicht, Levosimendan mit 0,5 µg / kg KG / min. Auf einen

Initialbolus wurde verzichtet. Die Zufuhr erfolgte kontinuierlich mit einem Perfusor. Da unsere Studie doppelblind durchgeführt wurde, erfolgte die Vorbereitung der Perfusorspritzen durch eine am Versuch nicht beteiligte Person so, dass die Laufrate nur noch vom Gewicht des Tieres abhing. Da Levosimendan eine intensive gelbe Farbe hat, kamen ausschließlich lichtundurchlässige Perfusorspritzen und –leitungen zum Einsatz, die an einen geschwärzten Schenkel des ZVK angeschlossen wurden. Die Studienmedikation wurde mit unveränderter Laufrate bis zum Versuchsende infundiert.

<b>Levosimendan</b>		
Dosierung	0,5 µg/kg/min	
Zubereitung	12,5 mg/50ml	0,25 mg/ml
bei 30 kg	900 µg/h	
Laufrate		3,6 ml/h

<b>Dobutamin</b>		
Dosierung	10 µg/kg/min	
Zubereitung	250 mg/50ml	5 mg/ml
bei 30 kg	18 mg/h	
Laufrate		3,6 ml/h

<b>Kontrolle</b>		
Laufrate		3,6 ml/h

**Tabelle 7 Dosierung und Laufrate der Studienmedikamente**

## **Hämodynamische Therapie**

Während der gesamten Versuchsdauer wurden die hämodynamischen Daten der Versuchstiere kontinuierlich überwacht. Da zu den essentiellen therapeutischen Strategien nicht nur die Gabe der o.g. Studienmedikamente gehören, führten wir unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit zwei weitere Interventionen durch, nämlich die Volumengabe und die Therapie mit Noradrenalin.

### **- Volumengabe**

Eine grundlegende Therapieoption der Sepsis ist die ausreichende Volumensubstitution. Als basale Rate wurden jedem Tier 10 ml/kg KG/h infundiert. Zum Einsatz kam hierbei 0,9-prozentige isotone Kochsalzlösung. Des Weiteren wurden bei Bedarf weitere Infusionen vorgenommen. Diese wurden schnell tropfend über einen vorhandenen großlumigen Zugang infundiert, bis der Volumenstatus wieder ausgeglichen war. Als Richtwert wurde hier die vom PiCCO-System kontinuierlich aufgezeichnete SVV herangezogen, deren Wert  $\leq 12\%$  gehalten werden sollte.

Kolloidale Volumenersatzmittel, in diesem Fall Voluven 6% (FreseniusKabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H, Deutschland), kamen als freie Infusionen zum Einsatz, wenn die SVV durch kristalloide Infusion nicht unter 12% gebracht werden konnte. Die Menge berechnete sich aus dem Körpergewicht der Tiere und lag immer unterhalb der empfohlenen Tageshöchstdosis von 50 ml/kg KG.

Die Tatsache, dass Patienten im septischen Schock Volumen benötigen, ist bekannt und hinreichend belegt. Aktueller Gegenstand der Forschung ist vor allem die Suche nach dem optimalen Volumenersatzmittel, wobei vor allem die Verwendung kolloidaler Infusionslösungen zurzeit in der Kritik steht. Die zu infundierende Menge ergibt sich aus der Klinik, wofür es verschiedene Zielgrößen gibt (MAP, SVV,  $S_vO_2$ , Diurese). Da wir ein erweitertes hämodynamisches Monitoring mit PiCCO verwendeten, erhielten Tiere mit einer SVV  $>12\%$  als Indikator für eine Hypovolämie zusätzlich freie kristalloide Infusionen. Die Volumentherapie nach SVV ist ein erprobtes Verfahren (Hofer et al. 2008).

Die Verwendung von isotonischer Kochsalzlösung muss näher erläutert werden. Es handelt sich um ein bekanntes, lang erprobtes Kristalloid. In der Therapie des septischen Schocks fehlt es an eindeutigen Empfehlungen, welches Kristalloid zu verwenden ist. Bei 0,9%iger Kochsalzlösung handelt es sich jedoch um eine der wenigen isotonischen Elektrolytlösungen. Alle balancierten Elektrolytlösungen wie Ringer etc. sind hypoton und haben damit eine größere Gefahr der interstitiellen Überwässerung. Dies würde sich bei einem Sepsismodell, wo ohnehin mit einem Kapillarleck zu rechnen ist, negativ auswirken. Nachteilig zu sehen ist die Zusammensetzung im Gegensatz zu einer balancierten Vollelektrolytlösung, da es zwar Chloridionen, aber kein Kalium enthält und somit bei Hyperinfusion die Gefahr der Hypokaliämie und hyperchlorämischen Azidose birgt. Bei hohen Infusionsmengen mit Ringer-Laktat-Lösung muss allerdings davon ausgegangen werden, dass die Laktatkonzentration im Blut angestiegen wäre (Raum et al. 2002). Dadurch wäre Laktat als Indikator einer mesenterialen Hypoperfusion und valider Parameter im septischen Schock in einer experimentellen Studie nicht verwendbar gewesen. Lediglich der Einsatz neuerer balancierter Lösungen wie Ringer-Acetat wäre denkbar gewesen.

#### - Katecholamine

Alle Tiere erhielten unabhängig von ihrer Gruppenzugehörigkeit Noradrenalin (Arterenol®, 25 ml, 1 mg/ml, Sanofi aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland). Die Applikation erfolgte zentralvenös und kontinuierlich über einen Perfusor nach dem Abschluss des Messzeitpunktes „Septischer Schock“. Die Startdosierung betrug 0,06 µg/kg KG/min. Die Dosis wurde schrittweise erhöht, bis ein MAP von 55-60 mmHg erreicht wurde. Im Verlauf wurde die Dosierung schrittweise gesteigert oder gesenkt, um den MAP in diesem Bereich zu halten. Bei einer Dosierung von 5 µg/kg KG/min erfolgte keine weitere Erhöhung der Laufrate mehr, da bei einer derartigen Hypotonie von keiner weiteren Wirksamkeit des Noradrenalins auszugehen ist, wenn keine anderen therapeutischen

Interventionen (z.B. Ausgleichen des Säure-Basen-Haushalts) durchgeführt werden.

### **Supportive Maßnahmen**

- Beatmung

Die Tiere wurden mit der folgenden Grundeinstellung maschinell beatmet:

<b>Parameter</b>	<b>Einstellung</b>
Atemfrequenz	16 min <sup>-1</sup>
Tidalvolumen	10 ml/kg KG
PEEP	5 cmH <sub>2</sub> O
FiO <sub>2</sub>	0,3
Inspirations- zu Expirations (I:E) - Verhältnis	1:2

**Tabelle 8 Starteinstellung Beatmung**

Die volumenkontrollierte Beatmung spielt in der Intensivmedizin nur noch eine untergeordnete Rolle. Daher verwendeten wir bei dieser Studie einen druckkontrollierten und volumengarantierenden Beatmungsmodus. Dies ermöglichte ein standardisiertes Verfahren mit einer Grundeinstellung nach dem Körpergewicht des Tieres und der gleichzeitigen Durchführung einer in der Praxis obligaten druckkontrollierten Beatmung. Der Verlauf der Druck- und Flussänderungen im Beatmungszyklus entsprechen dabei denen der druckkontrollierten Beatmung. Das Narkosegerät misst jedoch das applizierte Volumen pro Atemhub und passt danach im Verlauf den Beatmungsdruck an. Daher ist die einstellbare Variable in diesem Modus nicht der Inspirationsdruck, sondern das Tidalvolumen.

Modifikationen wurden nach einem festen Schema vorgenommen. Das Atemminutenvolumen wurde anhand des enttidalen Kohlenstoffdioxidpartialdrucks (etCO<sub>2</sub>) gesteuert, eine Anpassung erfolgte durch eine Änderung der

Beatmungsfrequenz bis auf maximal 30 min<sup>-1</sup>. Angestrebt wurde eine Normoventilation (etCO<sub>2</sub> 30-40 mmHg, p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> 35-45 mmHg). Die Oxygenierung wurde anhand des p<sub>a</sub>O<sub>2</sub> überwacht, der > 90 mmHg sein sollte. Bei Unterschreitung erfolgte die schrittweise Erhöhung der F<sub>i</sub>O<sub>2</sub> gemeinsam mit dem PEEP. Gleichzeitig erfolgte ein Rekrutierungsmanöver, bei dem die Tiere für eine Minute mit einem Tidalvolumen von 20 ml/kg KG, einem PEEP von 10 cmH<sub>2</sub>O, einer Frequenz von 10 min<sup>-1</sup> bei einer F<sub>i</sub>O<sub>2</sub> von 1,0 und gleich bleibendem I:E-Verhältnis beatmet wurden. Danach wurde die Ursprungseinstellung wieder übernommen. Das Rekrutierungsmanöver verbessert die Lungenfunktion (Lachmann 1992; Lapinsky und Metha 2005). Wegen der temporären Veränderungen der Hämodynamik (Nielsen et al 2006) wurde es nicht kurz vor oder während einer Messphase durchgeführt.

PEEP (cmH <sub>2</sub> O)	FiO <sub>2</sub>
5	0,3
7	0,5
9	0,7
11	ab 0,9

**Tabelle 9 PEEP-Adaptation bei FiO<sub>2</sub>-Erhöhung**

Eine Anpassung des Atemminutenvolumens erfolgte über die Atemfrequenz, eine Änderung von Compliance und Resistance wurde über die Dokumentation des Beatmungsdrucks erfasst und ausgewertet. Der PEEP wurde zwar nach Studienprotokoll angepasst, dennoch ergaben sich individuelle Unterschiede bei den Beatmungsparametern durch unterschiedlich ausgeprägte ventilatorische Insuffizienz. Da die Beatmungsdrücke auch Einfluss auf die Hämodynamik haben, bestanden hier zum Teil unterschiedliche Bedingungen. Da das Lungenversagen jedoch ein Teil des septischen Krankheitsbildes ist, die Anpassung der Beatmungsparameter notwendig für das Überleben der Tiere war und in der

klinischen Praxis unter der Prämisse der pulmoprotektiven Beatmung ähnlich verfahren worden wäre, ist dieses Vorgehen als das bestmögliche anzusehen. So weit wie möglich wurde das Verfahren der pulmoprotektiven Beatmung umgesetzt (Brower et al. 2000) und auch erhöhte  $p_a\text{CO}_2$ -Werte (lt. Studienprotokoll bis 45 mmHg) im Sinne einer permissiven Hyperkapnie toleriert (Bidani et al. 1994).

#### - Relaparotomie

Der IAP wurde zweistündlich mittels o.g. Messverfahren gemessen. Als Grenzwert wurde ein Druck von 20 mmHg definiert. Bei Überschreiten dieser Grenze wurde eine Relaparotomie durchgeführt, wobei die erste Laparotomienäht wiedereröffnet wurde. Durch diese Maßnahme sollte ein abdominelles Kompartmentsyndrom verhindert werden. Die freiliegenden Bauchorgane wurden mit feuchten Tüchern abgedeckt, um einem Flüssigkeits- und Wärmeverlust entgegenzuwirken. Nach der Relaparotomie wurden keine intraabdominellen Druckmessungen mehr durchgeführt, die Zeit bis zur Relaparotomie wurde jedoch dokumentiert und ebenfalls ausgewertet.

Das abdominelle Kompartmentsyndroms hat eine sehr hohe Letalität (Nast-Kolb et al. 2005). Um die negative Beeinflussung der Überlebenszeit durch ein ACS zu verhindern, wurden die Tiere bei Erhöhung des intraabdominellen Drucks relaparotomiert. Da wir kein System zur kontinuierlichen Druckmessung verwendeten, wurde der IAP nur alle zwei Stunden gemessen. Hierbei könnte es theoretisch zur negativen Beeinflussung der Ergebnisse gekommen sein, wenn ein ACS erst über eine Stunde nach Überschreiten des kritischen Wertes des IAP von 20 cmH<sub>2</sub>O entlastet wurde. Allerdings führten wir bei zunehmenden klinischen Zeichen eines ACS (z.B. harte, gespannte Bauchdecke) sowie hämodynamischer und respiratorischer Instabilität Kontrollmessungen auch zwischen den Messzeitpunkten durch, die im Falle eines Anstiegs des IAP auf über 20 cm H<sub>2</sub>O auch zwischen den Messzeitpunkten zur Relaparotomie führten.

- Elektrolyt- und Blutzuckerregulation

Auf die Ergebnisse der Blutgasanalysen hin wurden verschiedene Interventionen durchgeführt.

Die Hypoglykämie ist eine Störung des Glukosestoffwechsels, die unbehandelt zum Tod führt, da Glukose essentiell für den Hirn- und Erythrozytenstoffwechsel ist. Im Falle einer Hypoglykämie therapierten wir mit einer Kurzinfusion von 100 ml einer fünfprozentigen Glukoselösung und kontrollierten auch hier den Anstieg mittels BGA. Eine Hypoglykämie kann durch sepsisbedingte Behinderung des Glukosestoffwechsels als unmittelbare Folge der Erkrankung gesehen werden (Miller et al. 1980). Dennoch entschieden wir uns aufgrund der Einfachheit der Therapie dafür, diese durchzuführen.

Bei einer Hyperglykämie erfolgte keine Intervention. Dies entspricht zwar nicht dem klinischen Vorgehen, die kurzfristigen Auswirkungen einer moderaten Hyperglykämie sind jedoch eher als gering einzustufen. Eine Therapie der Hyperglykämie mit Insulin greift wiederum in den Kaliumstoffwechsel ein und würde hier eine Beeinflussung der Messergebnisse nach sich ziehen. Dazu kommt, dass in einer Metaanalyse gezeigt werden konnte, dass eine intensive Insulintherapie mit Ziel einer Normoglykämie mit einer erhöhten Gefahr für Hypoglykämien einhergeht (Wiener et al. 2008, Brunkhorst et al. 2008).

Bei einer Hypokaliämie  $<3,5$  mmol/l mit zeitgleich auftretenden Herzrhythmusstörungen wurde den Tieren eine Ampulle Trophicard verabreicht und danach erneut eine Blutgasanalyse zur Überprüfung des Kaliumspiegels durchgeführt und ggf. eine weitere Ampulle injiziert. Trophicard ist ein Mischpräparat aus Magnesium und Kalium. Eine Ampulle enthält 10 ml, die jeweils 2,8 mval Kalium- und Magnesiumionen enthalten. Da mit einer Hypokaliämie oft auch eine Hypomagnesiämie verbunden ist (Leier et al. 1994), handelt es sich bei diesem Medikament um das Mittel der Wahl. Eine Hypokaliämie stellt ein bedeutendes Risiko für tachykarde Herzrhythmusstörungen dar, was sowohl die Datenerhebung beeinflusst als auch zum Kreislaufstillstand führen kann (Osadchii

2010). Die Therapie ist wie oben erwähnt einfach und effizient und entspricht dem klinischen Vorgehen genauso wie die Kontrolle des Therapieerfolgs mittels BGA. Bei einer Hyperkaliämie erfolgte keine Intervention, ebenso nicht bei allen anderen Elektrolytstörungen. Eine Hyperkaliämie tritt häufig im Rahmen einer Azidose auf, da es durch Elektrolytverschiebung zu einem Anstieg der Kaliumkonzentration extrazellulär kommt. Auch erhöhter Zerfall von Zellen, z.B. im Schockgeschehen oder bei einer Rhabdomyolyse, führt zur Hyperkaliämie (Siegenthaler und Blum 2006). Anders als die Hypokaliämie ist die Hyperkaliämie daher als Folge des Schockgeschehens zu sehen, wenn gleichzeitig eine Azidose vorliegt, weswegen wir uns dazu entschieden, diese nicht zu therapieren. Die Therapie der Hyperkaliämie ist zudem deutlich aufwendiger und endet in letzter Konsequenz bei der Hämodialyse, die in unserem Versuchsaufbau nicht durchführbar gewesen wäre. Eine Hyperkaliämie führt zu bradykarden Herzrhythmusstörungen bis zur Asystolie.

Der Verzicht auf supportive Maßnahmen wie Selen- oder Hydrokortisongabe erfolgten aus Gründen der aktuellen Studienlage (Heyland 2007, Sprung et al. 2008). Da in allen Gruppen hierauf verzichtet wurde und es sich eher um mögliche Maßnahmen der langfristigen Prognoseverbesserung handelt, halten wir den Verzicht für vertretbar und unproblematisch für die Ergebnisbewertung unserer Studie. Zudem ist Gegenstand aktueller Studien, wie die Wirksamkeit von supportiven Maßnahmen in der Sepsis zu bewerten ist und diese Therapiestandards einer schnellen Dynamik unterliegen.

### 3.6. Statistik

Die Aufteilung auf die drei Versuchsgruppen erfolgte entsprechend der jeweiligen Behandlung mit Dobutamin, Levosimendan oder isotonischer Kochsalzlösung. Nach Beendigung der Versuchsreihe konnten 5 Tiere in der Kontrollgruppe, die nur isotonische Kochsalzlösung erhielten, in die Auswertung eingeschlossen werden. In den beiden Interventionsgruppen betrug die Anzahl jeweils 10.

Die Durchführung erfüllte die Kriterien einer randomisierten, kontrollierten, doppelblinden Studie.

Die Parameter Herzfrequenz, Atemwegsmitteldruck, Blutfluss der Pfortader, arterieller, pulmonalarterieller und rechtsatrialer Blutdruck wurden automatisch in einem fünfminütigen Intervall mit der PC-Software iox 2 (Version 2.2.17.17., emka Technologies, Paris, Frankreich) aufgezeichnet und mit der Software dataanalyst (emka Technologies, Paris, Frankreich) ausgewertet. Die Protokollierung der Messdaten erfolgte mittels Eintrag in eine Tabelle des Programms excel 2003 (Fa. Microsoft, Redmond, Washington, U.S.A.).

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS Statistics (Version 19.0, IBM SPSS, Ammonk, New York, U.S.A.). Nach Prüfung auf Normalverteilung wurden die Daten mit einem gemischten Modell (mixed model) untersucht. Eine post-hoc-Analyse wurde mit dem Test Least-Significant-Difference (Fisher) durchgeführt.

Ein signifikanter Unterschied wurde angenommen bei einem Wert von  $p < 0,05$ . Alle Daten werden, soweit nicht anderweitig gekennzeichnet, als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler (SEM) angegeben.

Tiere, die vor dem Messzeitpunkt M5 verstarben, wurden gemäß dem Studienprotokoll von der Auswertung ausgeschlossen.

Bei Tieren, die den Messzeitpunkt M5 erreichten, aber vor dem Messzeitpunkt M10 verstarben, erfolgte eine Ergänzung der fehlenden Messwerte durch Übernahme des zuletzt gemessenen Wertes, sog. Last observation carried forward (LOCF). Hierbei handelt es sich um ein bekanntes und etabliertes Statistikwerkzeug, das

vor allem in Beobachtungsstudien Anwendung findet. Durch das Einfügen von nicht erhobenen Werten ist es nicht unumstritten, was aber vor allem für Studienverläufe gilt, bei denen der Verlauf nicht präzise vorhergesagt werden kann. Die ist in unserem Modell nicht der Fall gewesen. Wir haben diese Methode daher als konservatives Statistikelement eingesetzt, da die Tiere mit dem letzten Messergebnis weitergeführt werden, welches sich mit fortschreitender Versuchsdauer eher weiter verschlechtern würde und somit der bestmögliche Fall der Stabilisierung angenommen wird (sog. WOCF, „worst observation carry forward“).

In der Kombination mit einem konservativen Verfahren wie dem LOCF ist die Durchführung eines liberaleren post-hoc-Tests wissenschaftlich vertretbar.

Zur Auswertung der Ergebnisse wurden mehrfach statistische Beratungen durch das Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie (Direktor: Prof. Dr. rer. pol. Karl Wegscheider) in Anspruch genommen.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt für alle durchgeführten Messzeitpunkte. Der Zeitpunkt Baseline (BL) erfolgte nach einer einstündigen Stabilisierung nach Abschluss der Präparationen, Etablierung der Gefäßzugänge und Messkatheter. Danach erfolgte der Beginn der Infusion von LPS. Der Messzeitpunkt Septischer Schock (Sep) erfolgte unmittelbar nach Erreichen der Kriterien des septischen Schocks. Ab diesem Zeitpunkt wurden die entsprechenden Parameter stündlich gemessen (M1-M10). Die Angaben in den Ergebnistabellen sind der Mittelwert und die Standardabweichungen. Signifikanzen sind entsprechend gekennzeichnet und in der Legende der Tabelle erläutert.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Demographische Daten

In der Versuchsreihe wurden 48 Tiere untersucht, von denen 25 Tiere die Kriterien des Studienprotokolls erreichten und in die Auswertung eingeschlossen wurden. 23 Tiere erreichten diese Kriterien nicht oder verstarben bereits vor dem festgelegten Messzeitpunkt M5 (s.o.).

Die Gruppenverteilung lag bei jeweils 10 Tieren in den Gruppen Levosimendan (Levo) und Dobutamin (Dobu) und 5 Tieren in der Kontrollgruppe (Con).

Das Gewicht der Tiere betrug vor Versuchsbeginn  $37,1 \pm 4,9$  kg. Die Dauer der Sepsisinduktion betrug  $3,49 \pm 0,87$  Stunden (Con  $4,06 \pm 1,26$ ; Dobu  $3,68 \pm 0,72$ ; Levo  $3,07 \pm 0,55$ ).

Die Kriterien des septischen Schocks nach dem Studienprotokoll zum Zeitpunkt „Sepsis“ wurden in allen Gruppen erreicht. Die Induktionsdauer war in allen Gruppen vergleichbar (Con:  $4,1 \pm 1,3$  h; Dobu:  $3,7 \pm 0,7$  h; Levo:  $3,1 \pm 0,5$  h; k.S.). Alle Tiere wiesen hypotone arterielle Mitteldruckwerte auf (Con:  $64,0 \pm 12,8$  mmHg; Dobu:  $53,4 \pm 2,1$ ; Levo:  $51,7 \pm 4,6$ ; k.S.) und waren tachykard (Con:  $114 \pm 5$ /min; Dobu:  $120 \pm 11$ ; Levo:  $111 \pm 6$ ; k.S.), wobei eine normovoläme Kreislaufsituation nach SVV bestand (Con:  $11,3 \pm 2,1\%$ ; Dobu:  $11,4 \pm 1,3$ ; Levo:  $10,9 \pm 1,3$ ; k.S.).

Die Erhaltungsdosis des LPS war in der Gruppe Con höher als in den anderen beiden Gruppen (Con:  $14,5 \pm 7,7$   $\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{h}$ ; Dobu:  $6,8 \pm 1,2$ ; Levo:  $5,5 \pm 0,9$ ), was jedoch vor allem durch ein Tier mit sehr hoher Erhaltungsdosis ( $44$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) resultierte.

## 4.2. Hämodynamik

### 4.2.1. arterieller Mitteldruck

Der arterielle Mitteldruck war über die Versuchsdauer in allen Gruppen vergleichbar und wurde im Zielbereich von mindestens 55 mmHg, der im Studienprotokoll definiert worden war, gehalten.

Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	99±4	64±13	62±1	62±3	61±2	62±2	61±3	58±3	56±4	60±4	52±2	49±2
Dobu	101±6	53±2	73±3	68±3	66±2	65±2	62±3	58±3	56±4	55±4	56±4	53±3
Levo	90±5	52±5	70±2	72±2	70±2	64±2	67±3	64±2	61±2	61±2	61±2	56±3

**Tabelle 10 arterieller Mitteldruck; alle Werte in mmHg; alle Werte Mittelwert ± SEM**

### 4.2.2. rechtsatrialer Mitteldruck

Der rechtsatriale Mitteldruck zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	8±1	9±1	10±3	12±3	8±2	10±2	10±2	10±3	10±3	12±1	10±2	10±2
Dobu	7±1	9±0	9±1	10±1	11±1	12±2	11±1	10±2	11±1	11±1	11±1	11±1
Levo	8±1	9±1	10±1	10±1	11±1	11±1	12±1	12±1	13±1	14±2	13±1	12±2

**Tabelle 11 rechtsatrialer Mitteldruck; alle Werte in mmHg; alle Werte Mittelwert ± SEM**

### 4.2.3. Herzfrequenz

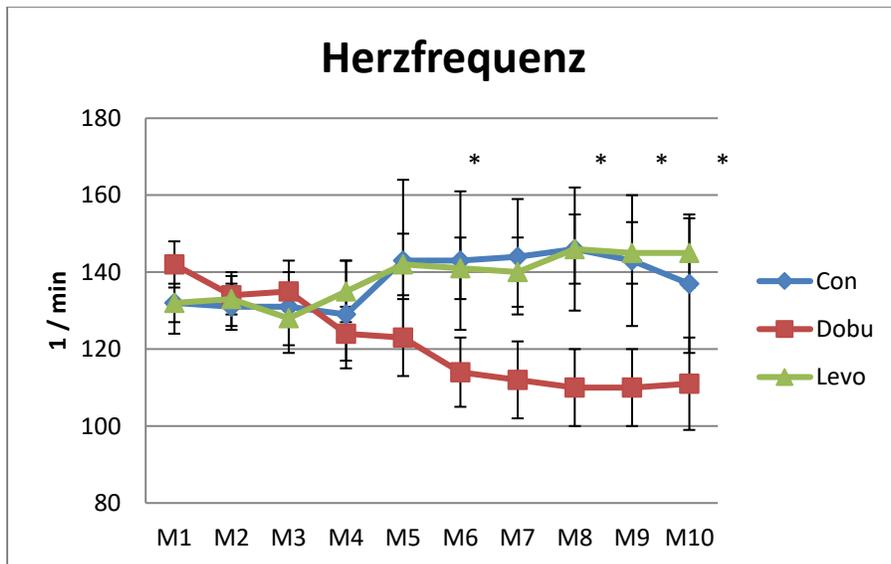
Es zeigte sich in allen Gruppen eine erhöhte Herzfrequenz mit durchgehenden Werten höher als 110/min.

Die Herzfrequenz lag in der Kontroll- und Levosimendangruppe höher als in der Dobutamingruppe. Dieser Trend verstärkte sich mit zunehmender Versuchsdauer. Hatten die Tiere der Gruppe Dobu zum Zeitpunkt M1 noch die höchste

Herzfrequenz, haben sie zum Messzeitpunkt M10 die niedrigste. Im Vergleich zur Gruppe Levo ist dieser Unterschied signifikant.

Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	89±17	115±14	132±8	131±6	131±12	129±14	143±21	143±18	144±15	146±15*	143±17	137±18
Dobu	81±12	121±33	142±6	134±5	135±5	124±7	123±10	114±9	112±10	110±10	110±10	111±12
Levo	89±14	110±18	132±5	133±7	128±7	135±8	142±8	141±8*	140±9	146±9*	145±8*	145±9*

**Tabelle 12 Herzfrequenz; alle Werte in 1/min; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu**



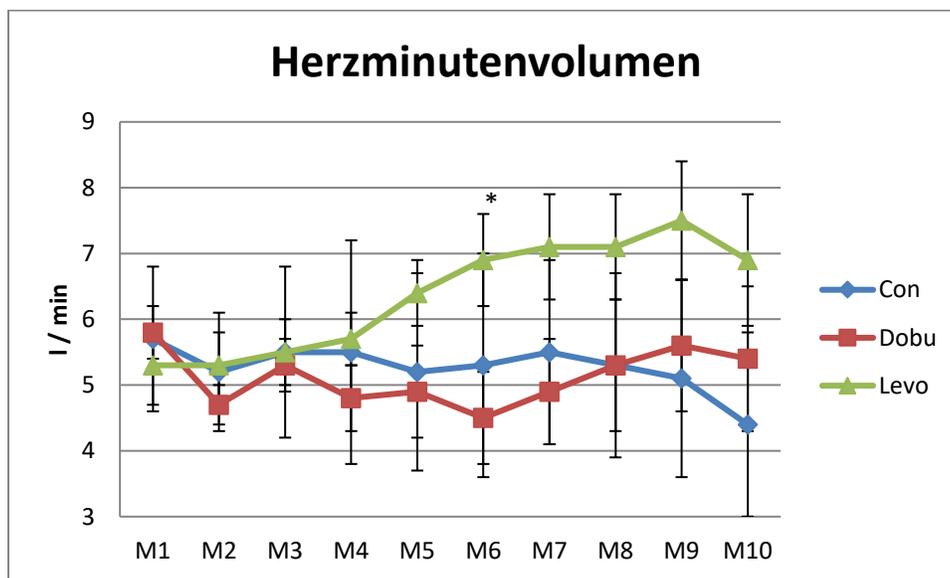
**Abbildung 7 Herzfrequenz; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu**

#### 4.2.4. Herzzeitvolumen

Das Herzzeitvolumen war zum Messzeitpunkt M1 in allen Gruppen vergleichbar, am niedrigsten in der Gruppe Levo. Es stieg in dieser Gruppe jedoch im Versuchsverlauf bis M9 an, während es in den Gruppen Con und Dobu konstant blieb bzw. abfiel.

Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	5,2±0,5	3,7±0,2	5,7±1,1	5,2±0,9	5,5±1,3	5,5±1,7	5,2±1,5	5,3±1,7	5,5±1,4	5,3±1,4	5,1±1,5	4,4±1,4
Dobu	4,8±0,2	3,4±0,3	5,8±0,4	4,7±0,3	5,3±0,4	4,8±0,5	4,9±0,7	4,5±0,7	4,9±0,8	5,3±1,0	5,6±1,0	5,4±1,1
Levo	5,1±0,3	3,6±0,3	5,3±0,6	5,3±0,5	5,5±0,5	5,7±0,4	6,4±0,5	6,9±0,7*	7,1±0,8	7,1±0,8	7,5±0,9	6,9±1,0

**Tabelle 13 Herzminutenvolumen; alle Werte in l/min; alle Werte Mittelwert ± SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu**



**Abbildung 8 Herzminutenvolumen; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu**

#### 4.2.5. gemischtvenöse Blutgasanalyse

Die Ergebnisse der gemischtvenösen Blutgasanalyse in den Bereichen Stoffwechsel und Elektrolyte ähneln sehr stark denen der arteriellen Blutgasanalyse, weswegen auf eine Ergebnisdarstellung an dieser Stelle verzichtet wird. Der wichtigste Parameter der gemischtvenösen Blutgasanalyse ist die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
Con	64±5,7	51±3,2	50,0±4,5	64,8±2,3	54,0±7,7	59,6±9,3	52,7±8,9
Dobu	68±1,5	53±4,7	57,8±3,1	59,9±4,0	54,8±6,2	56,2±6,5	56,8±6,6
Levo	68±1,5	46±4,5	57,9±2,7	62,0±2,8	66,7±5,1	61,9±7,8	55,2±7,4

**Tabelle 14 gemischtvenöse Sauerstoffsättigung; alle Werte in %; alle Werte Mittelwert±SEM**

#### 4.2.6. Katecholaminbedarf

Der Gesamtbedarf an Noradrenalin über die Versuchsdauer war in der Gruppe Levo am niedrigsten, am höchsten in der Gruppe Dobu. Tiere der Gruppe Levo brauchten im Mittel weniger als die halbe Menge Noradrenalin als Tiere der Gruppe Dobu. Die Berechnung erfolgte aus der dokumentierten Gesamtmenge des verbrauchten Noradrenalins ab dem Zeitpunkt „Sepsis“ bis zum Versuchsende. Diese Menge wurde durch die Versuchsdauer und das Körpergewicht geteilt, so dass die Werte über die Versuchsdauer gemittelt in der vergleichbaren Einheit µg/kg KG/h dargestellt werden können.

Gruppe	Noradrenalinbedarf
Con	4,15 ± 1,73
Dobu	5,54 ± 1,54
Levo	2,58 ± 1,08

**Tabelle 15 Noradrenalinbedarf; alle Werte in µg/kg KG/min; alle Werte Mittelwert ± SEM**

#### 4.2.7. Bilanz und Infusionen

Die Infusion von Kristalloiden und Kolloidalen war in allen drei Gruppen vergleichbar, ebenso die Bilanzen der Gesamteinfuhr und -ausfuhr. In die Berechnung der Gesamteinfuhr gingen neben den Infusionen auch alle Medikamentengaben ein.

Die Volumengabe erfolgte SVV-gesteuert wie im Studienprotokoll dargestellt. Die ausführlichen Daten der Pulskonturanalyse sind zentraler Bestandteil der Dissertation von S. Holst und können dort eingesehen werden.

<b>Gruppe</b>	<b>Kristalloide</b>	<b>Kolloidale</b>	<b>Gesamteinfuhr</b>	<b>Gesamtausfuhr</b>
Con	20700±2695	2000±274	30308±3423	1505±461
Dobu	15889±2947	2500±236	26719±2900	2044±326
Levo	20300±1961	2300±133	29921±2042	2403±616

**Tabelle 16 Bilanz und Infusionen; alle Werte in ml; alle Werte Mittelwert±SEM**

#### 4.2.8. Temperatur

Die durchschnittliche Körperkerntemperatur, gemessen in der Blase über den Blasenkatheter, war in allen Versuchsgruppen vergleichbar und normotherm.

### 4.3. Beatmung

#### 4.3.1. Allgemeine Parameter

Die Auswertung der Beatmungsparameter zeigte Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen. Die Daten sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Der druckkontrollierte, volumengarantierende Beatmungsmodus führte dazu, dass Atemfrequenz und die nach Körpergewicht vorgegebenen Tidalvolumina in allen Gruppen vergleichbar waren. Zu Unterschieden kam es jedoch bei den Atemwegsdrücken und der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration.

Atemwegsspitzenndruck (AWP <sub>max</sub> )												
Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	24±1	28±1	33±3	36±4	32±2	37±4	39±2	38±3	39±2	39±2	40±3	40±2
Dobu	22±1	31±3	36±3	36±3	39±3	42±4	41±4	40±4	39±4	41±3	41±3	41±3
Levo	22±1	26±1	30±1*	32±2	34±2	34±2	37±2	37±2	40±3	38±3	39±3	40±3
Positiver endexpiratorischer Druck (PEEP)												
Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	8,2±0,9	7,8±0,8	8,6±1,0	9,2±0,5	9,0±0,4	13,0±2,3	13,0±2,3	13,0±2,3	13,0±2,3	13,4±2,1	13,8±2,0	14,0±1,9
Dobu	7,1±0,6	8,8±0,6	10,1±0,9	11,3±1,3	12,5±1,5	13,5±1,8	12,0±1,3	10,8±1,8	11,2±1,8	11,4±1,8	11,6±1,8	11,6±1,8
Levo	6,5±0,5	7,1±0,4	7,5±0,7*	8,9±1,1	8,8±1,1*	9,8±1,4	10,7±1,5	11,1±1,4	10,9±1,2	9,2±1,4	11,1±1,6	10,6±1,5
Inspiratorische Sauerstoffkonzentration (FiO <sub>2</sub> )												
Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	0,35±0,02	0,45±0,04	0,56±0,04	0,64±0,07	0,78±0,09	0,86±0,09	0,70±0,10	0,72±0,09	0,72±0,09	0,79±0,10	0,73±0,11	0,73±0,11**
Dobu	0,35±0,02	0,73±0,09	0,74±0,07	0,77±0,07	0,81±0,08	0,81±0,08	0,82±0,08	0,88±0,07	0,89±0,07	0,90±0,07	0,89±0,07	0,91±0,06
Levo	0,34±0,02	0,54±0,07	0,64±0,04	0,74±0,05	0,73±0,05	0,78±0,05	0,80±0,05	0,84±0,05	0,88±0,05	0,87±0,05	0,87±0,06	0,98±0,01

**Tabelle 17 Beatmungsparameter; AWP<sub>max</sub> in mmHg; PEEP in cmH<sub>2</sub>O; alle Werte Mittelwert ± SEM; \* signifikant gegenüber der Gruppe Dobu; \*\* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Levo**

#### 4.3.2. arterielle Blutgasanalyse

Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalyse in zwei Tabellen dargestellt.

In der Tabelle 18 befinden sich Parameter des Gasaustauschs und des Säure-Basen-Haushalts.

In allen Versuchsgruppen kam es zu einer kombinierten Azidose. Der respiratorische Anteil über den pCO<sub>2</sub> war in der Gruppe Levo am ausgeprägtesten, der metabolische in allen Gruppen vergleichbar.

Der pO<sub>2</sub> und der Horowitz-Index (H-Index) waren ebenfalls in der Gruppe Levo am niedrigsten.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
<b>pH</b>							
Con	7,40±0,03	7,21±0,04	7,12±0,05	7,05±0,08	7,01±0,09	6,95±0,08	6,87±0,07
Dobu	7,39±0,02	7,15±0,03	7,08±0,05	7,02±0,06	6,97±0,06	6,93±0,05	6,91±0,05
Levo	7,38±0,02	7,21±0,01	7,12±0,03	7,12±0,04	7,03±0,05	6,93±0,07	6,86±0,06
<b>pCO<sub>2</sub></b>							
Con	38,6±2,9	50,0±4,7	49,9±3,2	45,0±3,3	45,80±2,00	44,8±3,7	40,9±2,8
Dobu	37,0±1,7	53,9±3,7	52,6±4,1	50,7±3,7	48,0±3,3	49,5±3,2	50,2±3,0
Levo	36,1±1,8	49,0±1,7	52,6±3,4	47,5±2,4	52,0±3,1	52,7±3,3	53,8±4,1*
<b>pO<sub>2</sub></b>							
Con	179,6±12,5	94,4±5,2	97,1±8,2	213,4±45,3	157,6±18,3	181,4±39,2	166,4±30,8
Dobu	164,1±12,5	109,6±10,3	141,6±18,9	169,7±30,2	198,3±50,9	171,7±41,2	174,2±43,1
Levo	185,4±14,8	127,3±29,4	127,4±19,5	158,3±18,6	141,2±15,0	139,1±22,1	128,0±21,6
<b>H-Index</b>							
Con	517±40	206±23	163±19	248±41	231±43	247±54	247±47
Dobu	479±31	174±31	208±41	232±40	240±55	213±53	208±51
Levo	518±36	237±27	168±14	212±29	179±23	164±25	131±22
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>							
Con	22,8±0,8	17,6±0,8	14,6±1,6	12,1±2,0	11,4±1,8	9,5±1,4	7,6±1,3
Dobu	22,3±0,6	16,1±0,7	13,5±1,0	12,0±1,3	10,1±1,3	9,4±1,1	8,9±1,2
Levo	22,6±1,0	17,7±0,6	15,0±0,8	14,0±1,0	11,9±1,2	9,7±1,3	8,1±1,1
<b>Base-Excess (BE)</b>							
Con	-2,0±0,9	-7,8±0,9	-11,8±2,2	-15,6±3,0	-16,6±2,7	-19,3±2,2	-22,4±2,1
Dobu	-2,7±0,7	-9,5±0,8	-13,3±1,2	-16,3±2,0	-19,0±1,9	-20,0±1,7	-20,7±1,7
Levo	-3,4±0,8	-7,7±0,8	-11,2±1,0	-12,8±1,3	-15,8±1,6	-19,0±1,8	-21,2±1,6

**Tabelle 18 arterielle Blutgasanalyse - Gasaustausch und Säure-Basen-Haushalt; pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub> in mmHg; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> und BE in mmol/l; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con**

In der Tabelle 19 sind die Ergebnisse der arteriellen Blutgasanalysen aus den Bereichen Stoffwechsel und Elektrolyte dargestellt.

Alle Tiere entwickelten eine Anämie, die sich mit zunehmender Versuchsdauer weiter ausprägte und in der Gruppe Levo am geringsten war.

Ebenso entwickelte sich mit zunehmender Versuchsdauer eine Hyperkaliämie, die ebenfalls in der Gruppe Levo am geringsten ausgeprägt war.

Alle Tiere wiesen eine Hyperchloridämie in vergleichbarem Umfang auf.

Tiere der Gruppen Con und Dobu hatten niedrigere Blutzuckerkonzentrationen als Tiere der Gruppe Levo.

Alle Tiere waren normonatriäm und -calciäm, weswegen auf eine tabellarische Darstellung dieser Parameter verzichtet wird.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
<b>Hämoglobinkonzentration (Hb)</b>							
Con	8,6±0,5	9,2±0,6	8,3±0,7	7,8±0,5	7,3±1,3	6,9±1,3	6,3±1,1
Dobu	8,3±0,3	9,1±0,4	8,7±0,4	7,8±0,4	7,4±0,7	7,0±0,7	7,2±0,7
Levo	7,9±0,4	9,0±0,3	8,7±0,4	8,2±0,3	7,7±0,2	7,3±0,3	7,5±0,4
<b>K<sup>+</sup>-Konzentration</b>							
Con	3,7±0,5	5,2±0,6	4,8±0,2	4,7±0,2	5,5±0,2	5,4±0,2	5,9±0,6
Dobu	3,8±0,3	4,5±0,4	4,5±0,2	4,7±0,2	5,4±0,3	5,3±0,3	5,4±0,2
Levo	3,8±0,4	4,4±0,3	4,6±0,1*	4,8±0,1	4,9±0,1	5,1±0,2	5,1±0,2
<b>Cl<sup>-</sup>-Konzentration</b>							
Con	111±2	116±1	121±4	124±4	127±4	128±4	131±2
Dobu	113±1	120±1	123±1	126±2	128±2	129±2	129±2
Levo	115±1	119±1	124±2	126±2	127±1	129±1	130±2
<b>Glukose-Konzentration</b>							
Con	104±42	71±20	45±11	44±11	35±10	121±46	50±6
Dobu	104±9	72±4	58±10	55±11	52±6	51±6*	56±6
Levo	89±5	70±16	88±10 <sup>*/**</sup>	64±12	79±11 <sup>*/**</sup>	74±8	80±7 <sup>*/**</sup>
<b>Laktat-Konzentration</b>							
Con	1,5±0,3	1,9±0,4	2,5±0,7	2,7±1,1	2,8±1,2	3,4±1,1	4,5±1,1
Dobu	1,0±0,1	2,1±0,2	2,6±0,4	3,0±0,7	4,3±1,1	4,4±1,1	4,6±1,0
Levo	1,1±0,1	1,6±0,2	2,1±0,4	1,7±0,4	2,1±0,6	2,8±0,8	3,7±0,8

**Tabelle 19** arterielle Blutgasanalyse - Stoffwechsel und Elektrolyte; Hb in g/dl; K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> und Laktat in mmol/l; Glukose in mg/dl; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con; \*\* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu

#### 4.3.3. arterio-venöse Sauerstoffgehaltssdifferenz (avDO<sub>2</sub>)

Die Differenz war in der Gruppe Levo nach längerer Versuchsdauer am niedrigsten, die Gruppen Dobu und Con haben vergleichbare Werte.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
Con	4,50±0,62	5,53±0,78	5,06±0,56	4,20±0,30	4,93±0,77	3,68±0,44	4,31±0,71
Dobu	3,63±0,50	5,33±0,63	4,73±0,38	4,01±0,53	4,44±0,56	4,01±0,64	3,98±0,63
Levo	3,93±0,33	6,37±0,71	4,33±0,47	4,38±0,47	3,16±0,29*	2,74±0,21	3,34±0,23

**Tabelle 20 avDO<sub>2</sub>; alle Werte in ml/dl; alle Werte Mittelwert ± SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con**

#### **4.4. Parameter der abdominalen Organfunktion und –perfusion**

##### 4.4.1. portalvenöse Blutgasanalyse

Die Ergebnisse der portalvenösen Blutgasanalyse ergaben bei vielen Parametern ähnliche Werte wie in der arteriellen Blutgasanalyse. Ebenso wie bei der arteriellen Blutgasanalyse wird aus Gründen der Übersichtlichkeit eine Zweiteilung der Tabelle vorgenommen.

Die Azidose zeigte sich in der portalvenösen Blutgasanalyse ähnlich ausgeprägt wie in der arteriellen Blutgasanalyse.

In der Gruppe Levo war die Lactatkonzentration in den ersten Versuchsstunden konstant und stieg erst an den letzten Messzeitpunkten an. In den anderen beiden Gruppen kam es von Anfang an zu einem fortschreitenden Anstieg der Lactatkonzentration und lag durchgehend höher als in der Gruppe Levo. In allen Gruppen war die Lactatkonzentration höher als zu den gleichen Messzeitpunkten in der arteriellen BGA.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
<b>pH</b>							
Con	7,34±0,03	7,13±0,04	7,06±0,05	6,98±0,09	6,92±0,12	6,86±0,11	6,76±0,10
Dobu	7,32±0,02	7,07±0,03	7,02±0,04	6,95±0,06	6,88±0,07	6,84±0,06	6,82±0,06
Levo	7,31±0,01	7,13±0,01	7,07±0,03	7,06±0,03	6,98±0,05	6,88±0,07	6,82±0,06
<b>pCO<sub>2</sub></b>							
Con	48,7±3,1	67,8±6,1	64,8±4,8	63,0±4,3	58,9±4,4	57,7±5,5	58,6±3,7
Dobu	47,3±2,0	74,2±4,0	67,0±5,7	65,5±4,5	63,8±6,2	65,9±5,5	65,8±5,4
Levo	46,1±1,6	64,5±2,7	65,5±3,3	59,7±2,5	62,0±3,9	64,0±4,1	65,8±5,0
<b>pO<sub>2</sub></b>							
Con	47,0±2,5	46,0±6,6	48,8±2,9	59,3±2,7	56,5±3,5	63,3±5,7	56,5±5,8
Dobu	50,7±1,7	46,6±2,1	53,5±1,5	58,2±4,7	58,3±5,2	58,9±4,8	60,1±5,4
Levo	49,0±2,0	42,8±1,6	54,3±1,8	59,1±1,5	64,6±2,8	63,5±5,0	63,6±5,8
<b>sO<sub>2</sub></b>							
Con	65,6±3,5	46,0±5,0	52,2±5,4	63,1±3,2	64,2±3,7	69,2±4,5	55,9±8,9
Dobu	69,6±2,7	47,5±2,3	55,7±3,5	57,4±6,0	60,3±7,1	60,7±6,7	60,8±7,0
Levo	66,9±2,9	45,2±3,4	59,7±2,8	65,9±2,0	68,3±4,0	68,2±4,5	64,9±5,2
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>							
Con	23,6±1,0	17,4±0,7	14,4±1,5	12,1±2,0	10,8±2,2	8,9±1,8	6,8±1,6
Dobu	22,1±0,6	15,5±0,7	12,8±1,0	11,2±1,5	9,0±1,4	8,4±1,3	7,9±1,3
Levo	21,5±0,7	16,9±0,6	14,8±0,8	13,7±0,9	11,7±1,2	9,5±1,3	7,9±1,1
<b>Base-Excess (BE)</b>							
Con	-0,2±1,1	-6,7±0,9	-10,9±2,3	-14,7±3,0	-16,8±3,6	-19,7±3,1	-22,9±2,6
Dobu	-2,0±0,6	-8,9±0,8	-13,3±1,2	-15,9±2,0	-19,2±2,0	-20,1±1,8	-20,8±1,8
Levo	-2,8±0,9	-7,3±0,7	-10,5±1,1	-12,3±1,2	-15,4±1,6	-18,8±1,9	-21,0±1,6

**Tabelle 21 portalvenöse Blutgasanalyse - Gasaustausch und Säure-Basen-Haushalt; pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub> in mmHg; sO<sub>2</sub> in %, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> und BE in mmol/l; alle Werte Mittelwert±SEM;**

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
<b>Hämoglobinkonzentration (Hb)</b>							
Con	8,7±0,6	9,3±0,9	9,1±0,7	8,8±0,6	7,7±1,6	7,3±1,6	6,8±1,4
Dobu	8,5±0,3	9,3±0,4	8,8±0,5	8,1±0,4	7,7±0,8	7,4±0,7	7,6±0,7
Levo	7,9±0,3	9,4±0,3	9,0±0,4	8,5±0,3	7,8±0,3	7,4±0,3	7,7±0,4
<b>K<sup>+</sup>-Konzentration</b>							
Con	4,0±0,2	5,0±0,4	4,94±0,26	5,08±0,16	5,72±0,12	5,52±0,22	6,28±0,70
Dobu	3,9±0,2	4,6±0,2	4,37±0,16*	4,84±0,20	5,67±0,44	5,75±0,41	5,79±0,38
Levo	3,9±0,2	4,2±0,5	4,29±0,09*	4,80±0,13	4,87±0,12	5,13±0,23	5,10±0,22
<b>Cl<sup>-</sup>-Konzentration</b>							
Con	110±2	115±1	120±4	122±4	126±4	128±3	130±2
Dobu	112±1	119±1	123±1	125±1	128±1	128±2	128±2
Levo	114±1	119±1	120±2	126±2	127±2	129±1	130±2
<b>Glukose-Konzentration</b>							
Con	108±43	68±22	42±10	42±9	32±12	105±38	47±7
Dobu	100±9	68±4	57±10	63±15	58±13	59±13	64±13
Levo	88±5	65±15	88±10 <sup>*/**</sup>	62±12	79±11*	73±8	77±8
<b>Laktat-Konzentration</b>							
Con	1,4±0,3	1,8±0,3	2,5±0,7	3,0±1,2	3,1±1,4	3,8±1,2	4,9±1,3
Dobu	1,1±0,1	2,3±0,2	2,7±0,4	3,3±0,8	4,7±1,3	4,8±1,2	5,0±1,2
Levo	1,1±0,1	1,8±0,2	2,1±0,3	1,8±0,4	2,1±0,6	3,0±0,9	3,8±0,9

**Tabelle 22 portalvenöse Blutgasanalyse - Stoffwechsel und Elektrolyte; Hb in g/dl; K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> und Laktat in mmol/l; Glukose in mg/dl; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con; \*\***

Die Hämoglobin-, Glukose- und Chloridkonzentrationen verhielten sich in der portalvenösen BGA ähnlich wie in der arteriellen BGA.

Die Hyperkaliämie war in der portalvenösen BGA stärker ausgeprägt.

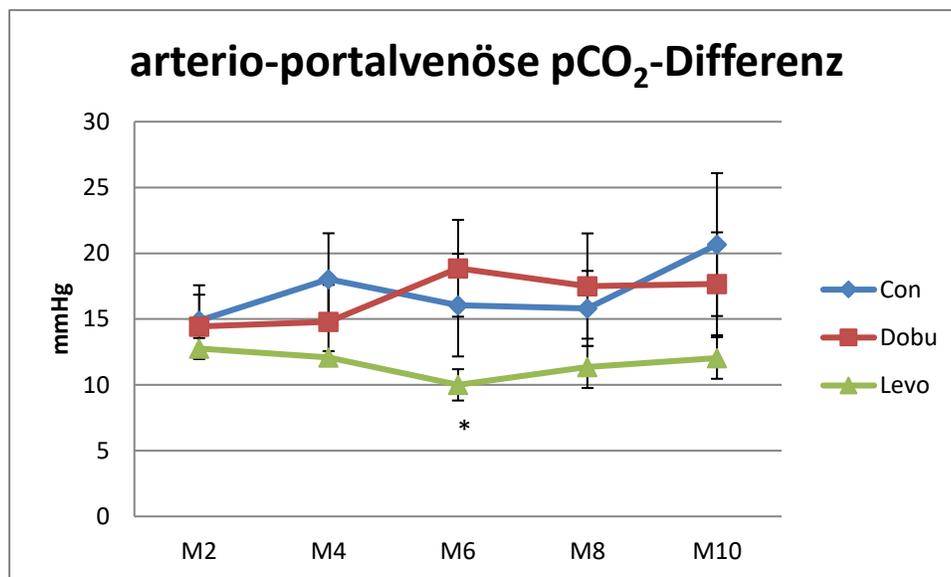
Auf die tabellarische Darstellung der Natrium- und Calciumkonzentrationen wird wie schon bei der arteriellen BGA wegen der Lage im Normbereich ohne Gruppenunterschiede verzichtet.

#### 4.4.2. Differenz des arteriellen und portalvenösen pCO<sub>2</sub>

Die pCO<sub>2</sub>-Differenz zwischen arterieller und portalvenöser BGA war in der Levo-Gruppe am geringsten. Sie blieb im Versuchsverlauf konstant. In den anderen beiden Gruppen kam es zu einem Anstieg der pCO<sub>2</sub>-Differenz.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
Con	11,3±0,6	17,9±4,3	14,9±2,7	18,0±3,5	16,1±3,9	15,8±2,9	20,7±5,4
Dobu	9,4±1,0	20,2±1,5	14,4±2,4	14,8±2,8	18,9±3,7	17,5±4,0	17,7±3,9
Levo	10,0±0,8	17,4±1,1	12,8±0,8	12,1±0,5	10,0±1,2*	11,4±1,6	12,0±1,6

**Tabelle 23 pCO<sub>2</sub>-Differenz arteriell und portalvenös; alle Werte in mmHg; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu**



**Abbildung 9 arterio-portalvenöse pCO<sub>2</sub>-Differenz**

#### 4.4.3. arterio-portalvenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz (ApvDO<sub>2</sub>)

Die Betrachtung der Sauerstoffausschöpfung im portalvenösen Versorgungsgebiet zeigt die niedrigsten Werte für die Gruppe Levo, zu den Zeitpunkten M2 und M6 signifikant niedriger als in der Gruppe Dobu, zu den Zeitpunkten M6 und M10 signifikant niedriger als in der Gruppe Con.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
Con	4,16±0,65	6,42±0,40	4,39±0,61	4,26±0,64	4,52±0,28	3,60±0,54	4,85±0,87
Dobu	3,44±0,41	5,73±0,32	4,98±0,29	4,28±0,57	4,12±0,58	3,69±0,65	3,66±0,66
Levo	3,94±0,32	6,10±0,31	3,90±0,22*	3,69±0,18	2,84±0,15**/**	2,64±0,18	2,74±0,19**

Tabelle 24 ApvDO<sub>2</sub>; alle Werte in ml/dl; alle Werte Mittelwert±SEM; \*signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu; \*\* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con

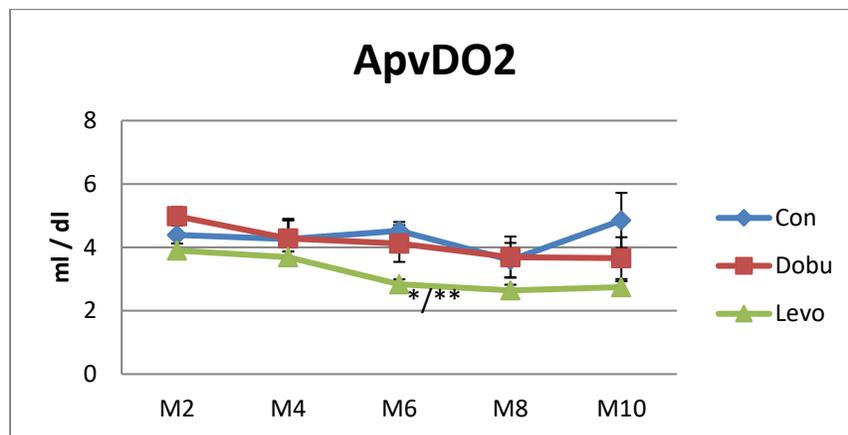


Abbildung 10 ApvDO<sub>2</sub>; \*signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu; \*\* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con

#### 4.4.4. Tonometrie

Die Messung des mukosalen CO<sub>2</sub>-Partialdrucks (pgCO<sub>2</sub>) stand bei 19 Versuchen (Con: 4; Dobu: 8; Levo: 7) zur Verfügung. Tiere der Gruppe Levo hatten von Beginn an die niedrigsten Werte, was sich über die gesamte Versuchsdauer fortsetzte. Die Werte in den Gruppen Con und Dobu waren vergleichbar.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
Con	7,13±0,92	11,03±0,49	11,86±0,74	12,90±1,24	12,68±1,58	11,33±1,36	11,55±1,59
Dobu	7,01±0,22	10,36±0,46	10,31±0,55	11,38±1,73	10,79±1,71	10,73±1,76	10,94±1,73
Levo	7,36±0,66	9,71±0,36	9,44±0,38*	8,87±0,98	9,00±0,69	8,46±0,53	8,26±0,37

Tabelle 25 pgCO<sub>2</sub>; alle Werte in mmHg; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con

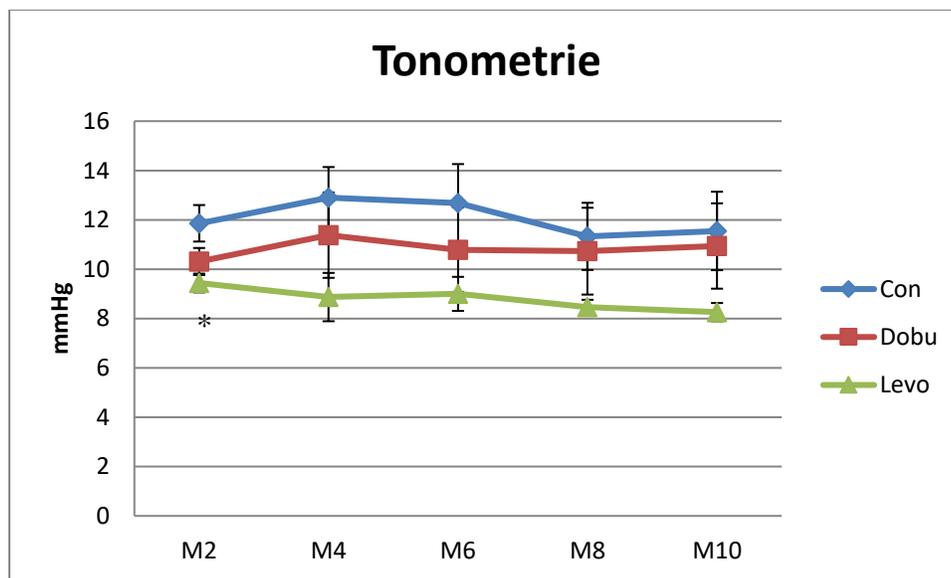


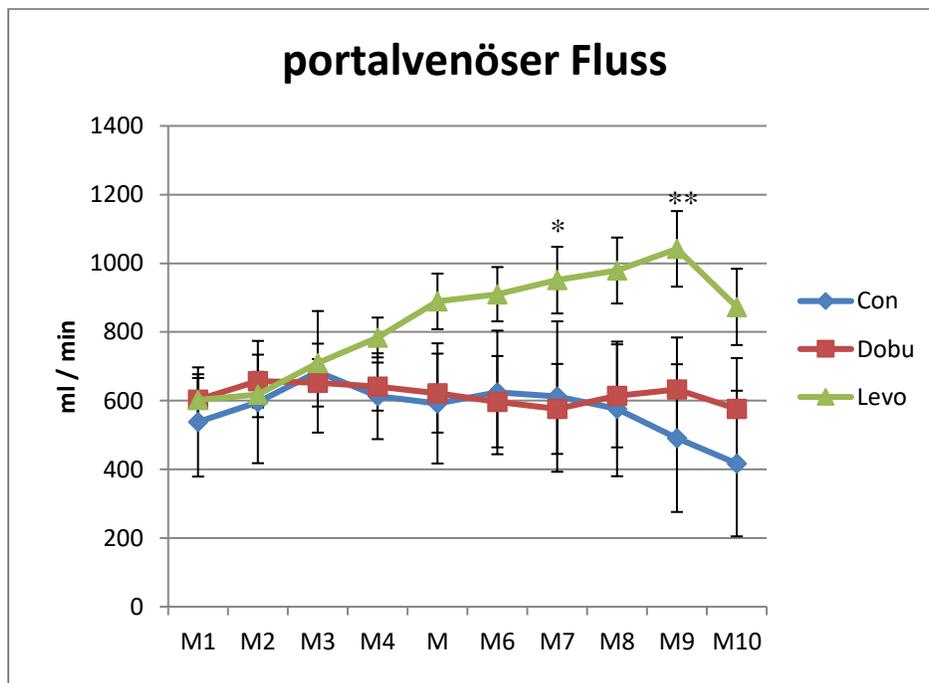
Abbildung 11 Tonometrie; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con

#### 4.4.5. portalvenöse Flussmessung

Der portalvenöse Fluss war zum Zeitpunkt M1 in allen Gruppen fast gleich. In den Gruppen Con und Dobu kommt es erst zu einem Anstieg, dann zu einem Abfall des Blutflusses. In der Gruppe Levo steigt der Blutfluss kontinuierlich bis M9 an und erreicht an diesem Messzeitpunkt auch einen signifikant höheren Wert als die Gruppen Con und Dobu.

Gruppe	BL	Sep	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	771±141	448±60	538±159	596±178	684±177	613±125	592±175	624±180	612±219	576±196	491±215	417±212
Dobu	800±106	493±67	603±74	657±77	652±69	641±70	622±115	597±133	576±131	614±150	633±151	576±148
Levo	770±89	395±40	602±64	618±66	710±56	784±58	889±81	910±79	951±97*	979±96	1042±110**	873±111

**Tabelle 26 portalvenöser Fluss; alle Werte in ml/min; alle Werte Mittelwert ± SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu; \*\* signifikant (p<0,05) gegenüber den Gruppen Dobu und Con**



**Abbildung 12 portalvenöser Fluss; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu; \*\* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Con**

#### 4.4.6. intraabdomineller Druck (IAP)

Der intraabdominelle Druck war zu den Messzeitpunkten M2 und M4 in der Gruppe Levo signifikant niedriger als in der Gruppe Dobu. In allen Gruppen kam es zu einer kontinuierlichen Zunahme während der gesamten Versuchsdauer.

Gruppe	BL	Sep	M2	M4	M6	M8	M10
Con	9,4±1,0	12,4±1,0	14,0±0,5	15,2±1,4	16,2±0,9	17,4±1,4	15,0±3,9
Dobu	10,3±0,8	10,4±0,8	14,5±0,7	17,2±1,5	18,2±1,3	19,0±1,4	19,1±1,4
Levo	9,0±0,6	9,5±0,7	11,4±0,7*	12,7±0,7*	15,6±1,0	16,1±1,3	17,4±1,3

Tabelle 27 IAP: alle Werte in cm H<sub>2</sub>O; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu

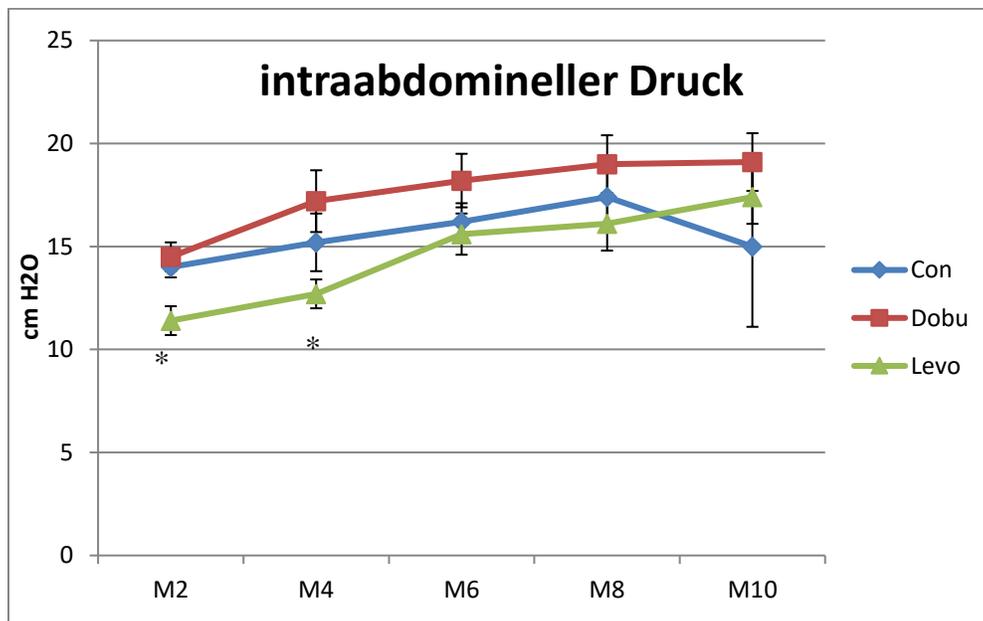


Abbildung 13 intraabdomineller Druck; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu

#### 4.4.7. Relaparotomiezeitpunkt

Eine Relaparotomie wurde bei 14 Tieren (Con: 3; Dobu: 7; Levo: 4) durchgeführt, wenn die Indikation nach Studienprotokoll bestand. Tiere der Gruppe Levo mussten dabei später relaparotomiert werden als andere Tiere.

Gruppe	Relaparotomiezeit
Con	4,8 ± 1,8
Dobu	5,2 ± 1,2
Levo	6,9 ± 1,3

Tabelle 28 Relaparotomiezeitpunkt; alle Werte in Stunden; alle Werte Mittelwert±SEM

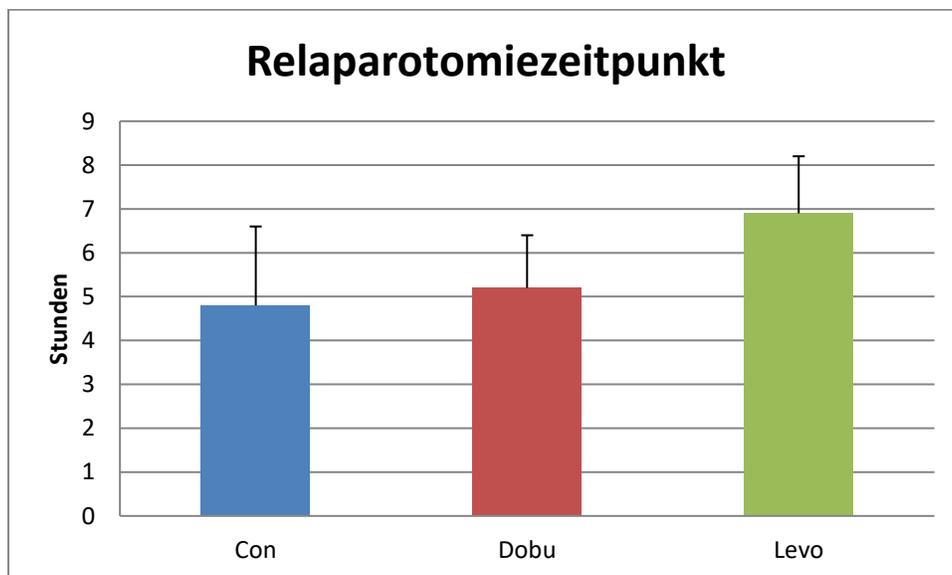


Abbildung 14 Relaparotomiezeitpunkt

#### 4.4.8. Galleproduktion

Die Galleproduktion war in der Gruppe Con am geringsten. In den Gruppen Dobu und Levo war die Produktionsmenge vergleichbar.

Gruppe	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	5,6±3,1	2,0±1,0	2,0±0,8	3,0±1,3	2,4±1,0	2,4±1,0	1,6±0,5	2,4±0,9	1,2±0,6	1,4±0,7
Dobu	7,1±2,0	7,4±2,7	9,4±3,3	4,5±0,8	5,6±1,1	6,1±2,0	4,9±1,5	5,9±1,8	4,5±1,2	3,5±1,1
Levo	5,6±1,5	4,4±1,2	6,5±1,3	8,0±1,6*	6,3±1,5	7,1±1,2	4,9±0,8	4,6±1,4	3,3±0,9	4,2±1,3

Tabelle 29 Galleproduktion; alle Werte in ml/h; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant ( $p<0,05$ ) gegenüber der Gruppe Con

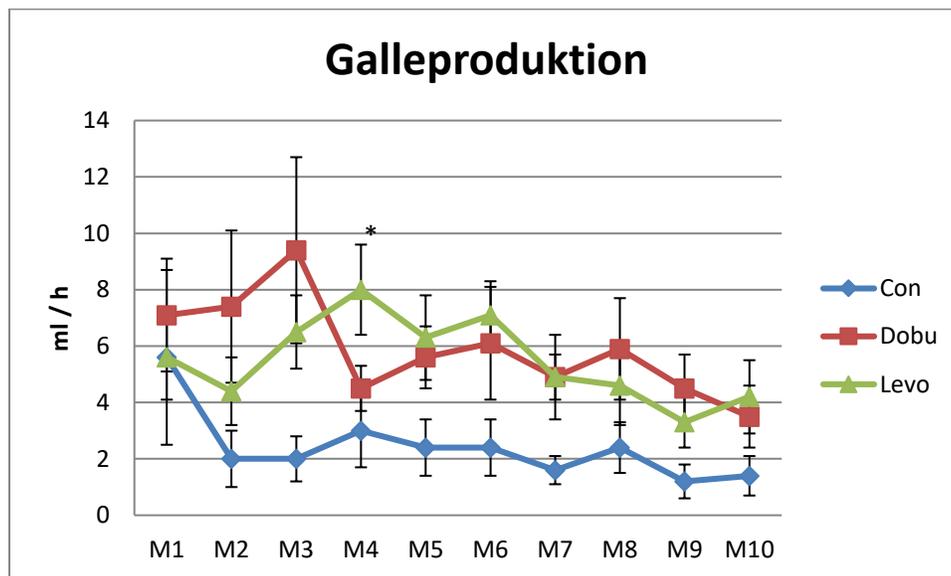


Abbildung 15 Galleproduktion; \* signifikant ( $p<0,05$ ) gegenüber der Gruppe Con

#### 4.4.9. Urinproduktion

Die stündliche Urinproduktion war in den Gruppen Dobu und Levo vergleichbar und dabei höher als in der Gruppe Con. Im Verlauf kam es in allen Gruppen zu einem Rückgang.

Gruppe	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Con	37±18	41±19	37±22	31±17	39±12	16±5	30±10	23±12	33±14	20±10
Dobu	118±37	69±22	86±33	95±36	99±47	59±30	56±21	61±34	59±29	34±14
Levo	192±57	167±52	118±50	108±60	84±58	79±58	61±34	70±59	62±44	46±34

Tabelle 30 Urinproduktion; alle Werte in ml/h; alle Werte Mittelwert±SEM

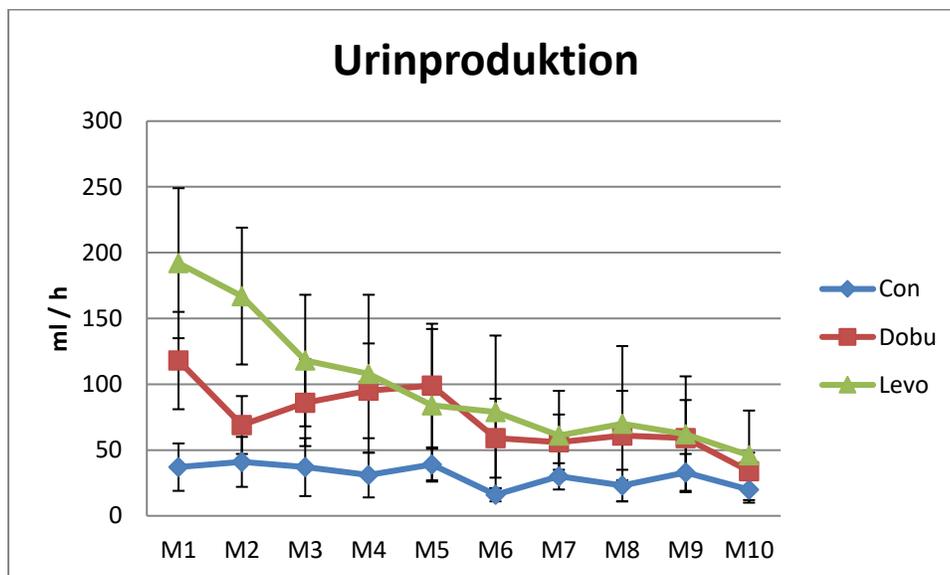


Abbildung 16 Urinproduktion

#### 4.4.10. Darmhistologie

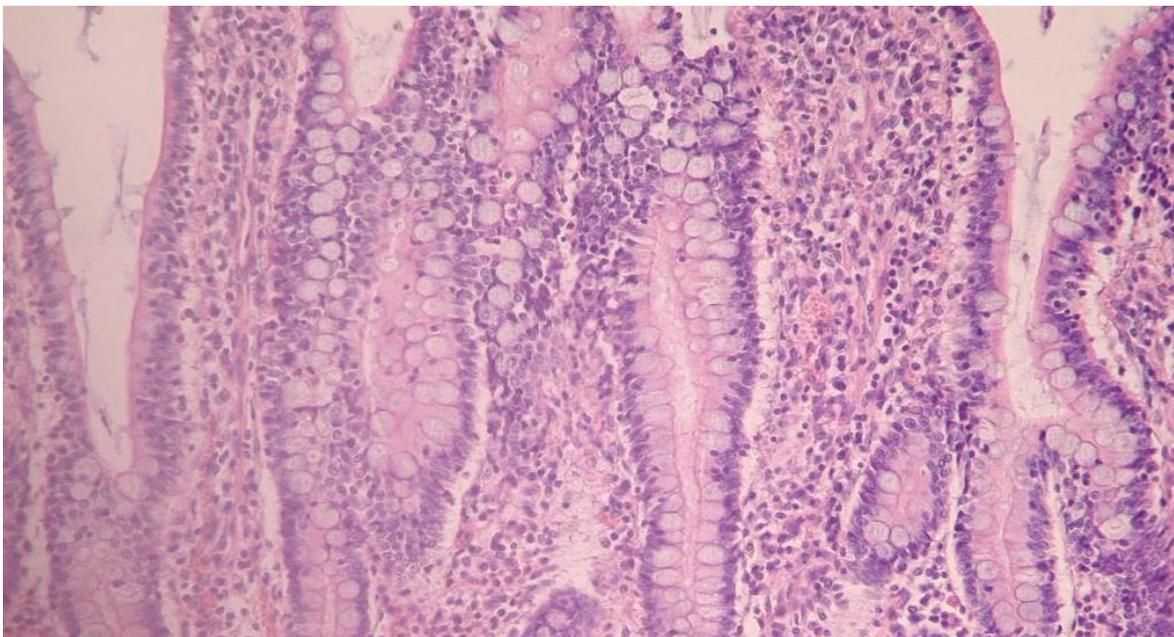
Die Begutachtung des Darmes erfolgte durch eine Fachärztin für Pathologie des Instituts für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, die für die Gruppenzugehörigkeit des Präparates verblindet war. Je nach Grad der

Schädigung erfolgte die Eingruppierung von 0 (keine Schädigung) bis 4 (sehr hochgradige Schädigung) in Schritten von 0,5 Punkten.

Bei der Auswertung der Ergebnisse zeigte sich ein signifikant besseres Resultat der Gruppe Levo im Vergleich aller Tiere ( $p=0,01$ ). Die Auswertung erfolgte mittels Vielfeldertafel und Fisher exact test.

Gruppe	geringer Schaden (0-1,5)	hoher Schaden (2-4)
Con	0	5
Dobu	7	3
Levo	9*	1*

**Tabelle 31 Darmhistologie; Anzahl der Tiere in der jeweiligen Schadensgruppe; \* signifikant ( $p<0,06$ ) gegenüber den Gruppen Dobu und Con**



**Abbildung 17 Dünndarmhistologie mit Epithelabhebung an den Vilusseiten von der Lamina epithelialis propria (HE-Färbung, 200fache Vergrößerung). Mit freundlicher Genehmigung durch Herrn Dr. med. C. Hadem.**

Parallel zum Grad der Darmschädigung überlebten Tiere aus der Gruppe Levo im Durchschnitt am längsten.

Die Überlebensraten unterschieden sich in den Gruppen und lagen bei 80% in der Kontrollgruppe, 50% in der Dobutamingruppe und 80% in der Levosimendangruppe. Die mittlere Überlebensdauer betrug dabei  $8,91 \pm 1,69$  Stunden. Tiere der Levosimendangruppe wiesen eine signifikant höhere Überlebenszeit als Tiere in der Dobutamingruppe auf.

<b>Gruppe</b>	<b>MW <math>\pm</math> SEM</b>
Con	$9,2 \pm 1,5$
Dobu	$8,1 \pm 2,0$
Levo	$9,6 \pm 0,8^*$

**Tabelle 32 Überlebenszeit; MW=Mittelwert; SEM= Standard Error of the Mean; alle Werte in Stunden; \*signifikant ( $p < 0,05$ ) im Vergleich mit der Gruppe Dobu**

## 4.5. Klinische Chemie

Die Ergebnisse der laborchemischen Analysen werden nach den jeweiligen Probenröhrchen vorgestellt.

### 4.5.1. Kleines Blutbild – Ethyldiamintetraessigsäure (EDTA)

Auf die Darstellung der Hämoglobinkonzentrationen wird an dieser Stelle verzichtet, da in der arteriellen BGA dieser Wert bereits im zweistündigen Intervall erhoben wurde und keine signifikanten Ergebnisse bei der Laboranalyse vorliegen.

Der Hämatokrit lag in allen Gruppen deutlich unterhalb des Normbereichs.

Gruppe	BL	Sep	M5	M10
Con	24,4±1,3	27,3±1,6	22,8±2,5	20,7±1,7
Dobu	24,3±1,0	25,5±1,1	19,1±2,6	18,9±2,5
Levo	22,3±1,1	26,1±0,9	23,5±0,6	23,1±1,1

**Tabelle 33 Hämatokrit; alle Werte in %; alle Werte Mittelwert±SEM**

Die Ergebnisse für die Messung von MCV, MCH und MCHC lagen alle im Normalbereich und zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die Erythrozytenzahl unterschied sich nicht zwischen den einzelnen Messgruppen und lag über dem Normbereich.

Gruppe	BL	Sep	M5	M10
Con	4,51±0,30	5,15±0,33	7,98±0,53	7,14±0,41
Dobu	4,53±0,20	4,83±0,25	6,41±0,49	6,32±0,47
Levo	4,22±0,20	4,92±0,18	7,84±0,12	7,42±0,19

**Tabelle 34 Erythrozytenzahl; alle Werte in  $1 \times 10^6 / \mu\text{l}$ ; alle Werte Mittelwert±SEM**

In allen Gruppen lagen zur Baseline die Leukozytenzahlen im Normalbereich. Zum Zeitpunkt „Sepsis“ kam es in allen Gruppen zu einem Absinken. Im Versuchsverlauf stiegen sie in allen Gruppen wieder in den Normalbereich an, ohne sich signifikant zu unterscheiden.

Gruppe	BL	Sep	M5	M10
Con	5,8±0,7	1,6±0,5	2,7±1,1	4,3±1,4
Dobu	3,9±0,9	0,4±0,2	1,4±0,4	2,7±1,3
Levo	5,0±1,0	1,4±0,4	2,5±0,6	5,4±1,9

**Tabelle 35 Leukozytenzahl; alle Werte in  $1 \times 10^9/l$ ; alle Werte Mittelwert±SEM**

Die Thrombozyten lagen in der Gruppe Levo am höchsten, in den Gruppen Dobu und Con hatten die Tiere eine Thrombozytopenie.

Gruppe	BL	Sep	M5	M10
Con	210.400±43.300	135.000±23.700	59.800±16.600	43.800±21.000
Dobu	179.900±21.200	100.300±12.400	53.000±17.000	42.700±11.500
Levo	151.200±22.000	134.800±21.400	87.700±15.900	61.600±13.300

**Tabelle 36 Thrombozytenzahl; alle Werte in  $1/\mu l$ ; alle Werte Mittelwert±SEM**

#### 4.5.2. Enzyme und Plasmawerte

Das C-reaktive Protein lag bei jedem Tier zu jedem Messzeitpunkt unter dem Grenzwert von 5 mg/l.

Gruppe	BL	Sep	M5	M10	Gruppe	BL	Sep	M5	M10
Kreatinin					Harnstoff				
Con	0,55±0,03	0,63±0,10	0,73±0,32	1,10±0,33	Con	5,8±2,1	5,8±2,2	5,8±2,1	6,0±2,1
Dobu	0,57±0,03	0,55±0,07	0,76±0,10	0,82±0,11	Dobu	8,9±1,4	9,3±1,5	8,7±1,3	9,1±1,4
Levo	0,50±0,04	0,50±0,06	0,92±0,12	1,06±0,14	Levo	8,4±0,6	8,9±0,9	10,7±1,5	11,6±2,0
AST					ALT				
Con	45,5±8,3	61,5±8,1	159,8±63,3	163,8±61,7	Con	39,3±2,1	30,3±1,5	23,0±3,1	17,3±1,3
Dobu	77,6±22,5	69,1±10,9	88,9±16,5	89,8±17,2	Dobu	40,9±3,0	29,6±2,4	18,6±4,6	16,4±5,0
Levo	50,3±4,8	61,3±8,7	81,6±13,8	94,7±17,5	Levo	35,1±5,0	32,2±4,3	21,9±3,2	19,1±2,8
γGT					Bilirubin				
Con	31,0±4,4	30,5±12,1	19,3±5,3	16,5±6,9	Con	0,20±0,00	0,28±0,13	0,23±0,14	0,18±0,12
Dobu	54,7±10,8	20,9±1,8	17,7±4,1	16,0±4,5	Dobu	0,26±0,05	0,37±0,08	0,26±0,09	0,18±0,09
Levo	42,5±11,6	29,9±4,4	16,8±1,9	15,9±3,3	Levo	0,33±0,09	0,35±0,09	0,40±0,10	0,32±0,10
Amylase					AP				
Con	999±45	849±57	455±114	250±53	Con	102,7±38,7	109,0±33,9	139±39	162±58
Dobu	1255±143	888±65	439±72	386±69	Dobu	112,6±15,5	118,8±16,5	148±25	157±24
Levo	926±85	838±100	524±83	485±112	Levo	93,0±10,0	105,7±13,0	138±15	195±28
CK					LDH				
Con	1117±222	1075±262	1479±475	1259±397	Con	368±27	352±26	548±69	498±75
Dobu	1172±180	1045±142	1122±209	1201±251	Dobu	424±51	311±28	396±58	392±59
Levo	1044±219	1227±341	1475±219	1515±404	Levo	367±34	344±39	399±47	466±51

**Tabelle 37 Enzyme und Plasmawerte; Kreatinin, Harnstoff und Bilirubin in mg/dl; AST, ALT, γGT, Amylase, AP, CK und LDH in U/l**

Die Kreatinin- und Harnstoffwerte waren in allen drei Gruppen vergleichbar.

Auch bei den Transaminasen kam es zu keinen signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen. Die Ergebnisse für γGT und Bilirubin lagen im Normbereich und zeigten keinen Unterschied.

In der Gruppe Levosimendan lag die pankreasspezifische Amylase höher als in den Gruppen Dobu und Con.

Die alkalische Phosphatase stieg mit zunehmender Versuchsdauer an, war aber in allen Gruppen vergleichbar.

In allen Gruppen lagen die CK und das LDH vergleichbar deutlich im erhöhten Bereich.

### 4.5.3. Gerinnungsparameter

Gruppe	BL	Sep	M5	M10	Gruppe	BL	Sep	M5	M10
Quick					INR				
Con	72±8	59±4	18±8	10±8	Con	1,23±0,07	1,33±0,04	3,43±0,68	4,33±0,67
Dobu	66±5	49±3	17±7	12±6	Dobu	1,27±0,05	1,51±0,07	3,86±0,51	4,24±0,51
Levo	60±6	58±6	30±7	24±7	Levo	1,39±0,08	1,46±0,12	3,03±0,52	3,37±0,55
aPTT					Thrombinzeit				
Con	121±24	85±13	89±30	115±29	Con	97±33	19±4	77±30	96±26
Dobu	138±12	62±9	110±20	129±21	Dobu	71±18	20±3	96±22	104±20
Levo	100±14	43±8	87±19	97±19	Levo	71±20	23±5	36±7*	67±16
Fibrinogen					AT III				
Con	3,72±0,40	3,00±0,28	0,83±0,60	0,64±0,64	Con	53,9±6,4	37,2±4,2	16,1±3,5	8,7±4,2
Dobu	3,34±0,33	2,35±0,26	0,81±0,42	0,67±0,39	Dobu	48,0±3,1	29,4±1,8	12,8±3,0	10,4±2,4
Levo	2,85±0,28	2,24±0,39	1,17±0,38	1,17±0,42	Levo	43,7±4,1	35,3±3,1	23,0±3,6*	17,1±3,4

**Tabelle 38 Gerinnungsparameter; Quick in %; aPTT und Thrombinzeit in Sekunden; Fibrinogen in µmol/ml; AT III in %; alle Werte Mittelwert±SEM; \* signifikant (p<0,05) gegenüber der Gruppe Dobu**

Fast alle Gerinnungsparameter waren erniedrigt. Der Quick ist in der Gruppe Levo am höchsten, der INR entsprechend am niedrigsten. In der Gruppe Dobu ist die aPTT höher als in den anderen beiden Gruppen. Die Thrombinzeit ist in der Gruppe Levo am kürzesten. In der Gruppe Levo sind die ATIII-Aktivität und die Fibrinogenkonzentration höher als in den anderen beiden Gruppen.

## 5. Diskussion

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war der Vergleich zwischen Levosimendan und Dobutamin im tierexperimentellen Sepsismodell mit Fokussierung auf die Perfusion und Organprotektion im Splanchnikusgebiet. Ziel war es zu überprüfen, ob Levosimendan im septischen Schock eine positive Wirkung und in Bezug auf die intestinale Funktion ein günstigeres Wirkprofil als Dobutamin hat.

Levosimendan rückt zunehmend in den Fokus der Sepsisforschung. Die Gründe hierfür sind vielfältig. Der Wirkmechanismus auf Zellebene des Herzens sorgt für eine positiv inotrope Wirkung ohne höheren Sauerstoffverbrauch, was bei der häufig bereits bestehenden Hypoxie im septischen Schock attraktiv erscheint. Zusätzlich hat Levosimendan präkonditionierende Effekte, was bedeutet, dass vorbehandelte Zellen eine nachfolgende Schädigung (z.B. Hypoxie) besser überstehen können. Das Medikament wird bereits erfolgreich in der Klinik zur Therapie von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz eingesetzt, deren Krankheitsbild sich in Bezug auf die hämodynamischen Parameter zumindest teilweise mit dem der Sepsis und der hierbei häufig zu findenden septischen Kardiomyopathie überschneidet. Erhöhte kardiale Troponinwerte lassen sich bei 30-80% der Patienten mit schwerer Sepsis bzw. septischem Schock nachweisen (Muller-Werdan et al. 2006). Überleitend auf unsere Fragestellung hat Levosimendan einen positiv inotropen Effekt und kann das Herzzeitvolumen steigern. Durch Mikro- und Makrozirkulationsstörungen und den therapeutischen Einsatz von Vasopressoren im septischen Schock kann es zu Minderperfusion kommen, was besonders in der Splanchnikusregion negative Folgen hat. Hier besteht bei einer Minderperfusion nicht nur die Gefahr der Organdysfunktion, sondern auch beim Darm ein Verlust der Barrierefunktion. Eine folgende Bakteriendislokation kann das Krankheitsbild weiter verschlimmern und zu einer Art Teufelskreis führen.

Die aktuellen Studiendaten zur Verwendung von Levosimendan als Therapeutikum im septischen Schock sind nicht eindeutig. Chew et al. (2011) konnten in ihrem

Modell einer Endotoxinämie beim Schwein keine Vorteile von Levosimendan feststellen. Zu dieser Studie bleibt anzumerken, dass die Fallzahl noch geringer war als in unserer Studie (19 Tiere). Als ein Kriterium zur Definition des endotoxämischen Schocks in dieser Studie wurde der mittlere PAP verwendet. Hierzu muss angemerkt werden, dass fast alle unserer Versuchstiere initial mit einer pulmonalen Hypertonie reagierten, ohne dass Tachykardie oder arterielle Hypotonie vorlagen. Das Kriterium des pulmonalen Hypertonus erscheint daher als Definitionsbestandteil eines septischen Schocks zumindest fragwürdig. Zudem wurde eine sehr hohe Dosis LPS (40µg/kg/h) gewählt.

Oldner et al. (2001) führten ebenfalls eine Studie an Schweinen durch. Der experimentelle endotoxämische Schock wurde durch die intravenöse Zufuhr von LPS und die schrittweise Erhöhung der Dosierung, begonnen mit 2,5 µg/kg/h, ausgelöst. Auch hier lag die Enddosierung mit 20 µg/kg/h deutlich über den Dosierungen, die wir benötigten. Außerdem erhielten die Tiere den Levosimendan-Bolus bereits 30 Minuten vor der LPS-Gabe. Die Studie konnte wie unsere Studie auch eine Erhöhung des Herzzeitvolumens zeigen, wobei es nur den Vergleich von Levosimendan mit einer Placebo-Kontrollgruppe gab. Die Erhöhung des Pfortaderblutflusses blieb ohne Einfluss auf die intestinale Azidose (gemessen mit der Tonometrie). Auch auf die Drucksteigerung in der pulmonalarteriellen Strombahn hatte Levosimendan einen günstigen Einfluss, ohne den Gasaustausch zu verbessern. Über die weitere hämodynamische Therapie (Volumen, Katecholamine etc.) werden leider keine Angaben gemacht. Der Überwachungszeitraum war mit 5 Stunden kürzer als in unserer Studie und auch die Fallzahl (n=14) war geringer.

In einer klinischen, prospektiven Studie an 40 Patienten im septischen Schock konnte gezeigt werden, dass Levosimendan (0,2 µg/kg/min) im Vergleich mit Dobutamin (5 µg/kg/min) die Mikrozirkulation, gemessen sublingual, verbessert, ohne die Makrohämodynamik negativ zu beeinflussen (Morelli et al. 2010).

Es gibt Fallberichte, bei denen Levosimendan erfolgreich in der Sepsis bei Patienten eingesetzt wurde, die auf die Leitlinientherapie nicht adäquat reagierten.

Die Autoren berichten über den Einsatz bei zwei Kindern mit kardialer Dysfunktion im Rahmen eines septischen Schocks (Papoff et al. 2012).

## 5.1. Methodik

### 5.1.1. Tierexperimentelles Modell und Präparationen

Die Versuchstierauswahl ist eine der wichtigsten Grundlagen für die Übertragbarkeit der Ergebnisse tierexperimenteller Studien auf die klinische Humanmedizin. Je nach Forschungsgebiet gibt es unterschiedliche Tierarten, die für die entsprechenden Versuche besondere Vorteile bieten. Für eine Studie wie diese, bei der diverse Messkatheter verwendet werden, die auch in der Humanmedizin Anwendung finden, kommen Kleintiere, z.B. Ratten, nicht in Frage, da die Platzierung dieser Katheter und andere Präparationen sehr schwierig oder unmöglich wären. Somit kommen nur Großtiere als Versuchstiere in Frage. In der Herz-Kreislaufforschung, zu der auch diese Studie zu zählen ist, haben sich Schweine als besonders geeignet erwiesen. In zahlreichen Untersuchungen konnte eine direkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Klinik gezeigt werden (Almond 1996). Als Gründe hierfür sind zum einen die ähnlichen elektrophysiologischen Eigenschaften (Bowman und Hughes 1984), zum anderen das Verhältnis von Herzgröße zum Körpergewicht, das bei Schweinen mit einem Gewicht von 30-40 kg dem menschlichen Verhältnis sehr nahe kommt (Hannon et al. 1990), zu nennen. Schweine haben einen stabilen Sinusrhythmus mit einer Ruhefrequenz von 65-80/min und eine geringe respiratorische Arrhythmie. Die Nutzung von Schweinen als Versuchstiere für hämodynamische Fragestellungen ist bereits seit langem bekannt und somit als etabliertes Modell anzusehen (Douglas 1972).

Als Nachteil ist die im Vergleich zum Menschen deutlich niedrigere Masse der Extremitäten relativ zur Gesamtkörpermasse, was Einfluss auf den SVR hat.

Trotz aller Ähnlichkeit mit dem Menschen dürfen Ergebnisse tierexperimenteller Studien nicht ohne gründliche Prüfung auf den Menschen übertragen werden.

In unserer Studie betrug das Gewicht der Schweine  $37,1 \pm 4,9$  kg, womit die o.g. größtmögliche Ähnlichkeit zum menschlichen Herz-Kreislaufsystem hergestellt wurde. Das Herzzeitvolumen lag mit  $4,95 \pm 0,19$  l/min im physiologischen Bereich

des Menschen, dagegen erfüllen konsequenterweise die Parameter Cardiac Index (CI) und Schlagvolumen (SV) nicht die physiologischen Parameter des Menschen. Dies zeigt, dass sich trotz sorgfältiger Tierausswahl nie gleiche Bedingungen wie in klinischen Studien am Menschen erreichen lassen.

Experimentelle Versuche zu klinischen Fragestellungen am Großtiermodell lassen selten ähnliche Versuchsbedingungen wie in klinischen Studien zu.

Die schwere Sepsis bzw. der septische Schock ist ein Krankheitsbild, das zwar akut auftritt, aber einen längeren zeitlichen Verlauf hat und bei Überleben zu einem längeren Aufenthalt auf der Intensivstation führt, wie Engel et al. (2007) in ihrer Studie belegen konnten.

Die Präparationen und Anlagen der Gefäßzugänge wurden aus Gründen der Datenerhebung und der Vitalparameterüberwachung durchgeführt. Für Katheter und Präparationen, die nicht regelhaft in der Klinik zur Anwendung kommen, bestand umfangreiche Expertise der Versuchsleiter.

Levosimendan besitzt präkonditionierende Effekte, die im Methodikteil dieser Arbeit dargestellt wurden. Um diesen Effekt nicht durch andere Substanzen, die ebenfalls präkonditionierende Effekte haben, zu kaschieren, wurde auf diese bewusst so weit wie möglich im Studienprotokoll verzichtet. Daher ist als Besonderheit bei der Narkoseführung ist zu erwähnen, dass auf das im Tierversuch häufig verwendete Medikament Ketamin verzichtet wurde, da hierfür anti-präkonditionierende Effekte beschrieben sind, auch wenn die Datenlage für das Enantiomer S-Ketamin nicht eindeutig ist (Müllenheim et al. 2001). Ebenso wurde auf volatile Anästhetika verzichtet, für die präkonditionierende Effekte beschrieben sind. Folglich wurde die Analgosedierung durch intravenöse Anästhetika aufrechterhalten.

Präkonditionierende Effekte sind allerdings auch für von uns verwendete Medikamente beschrieben, z.B. Opiate (Schultz et al. 1998) und auch Noradrenalin (Tsuchida et al. 1994), wobei diese Studien lediglich die Wirkung am Myokard untersuchten. In einer Großtierstudie mit narkotisierten Tieren ist es nicht möglich, bei der Analgosedierung auf Opiate *und* Ketamin zu verzichten. Noradrenalin ist

das Mittel der Wahl bei fortbestehender Hypotonie trotz Volumensubstitution im septischen Schock gemäß der Leitlinie der AWMF. Da es keine Substanz mit ähnlichem Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil wie Noradrenalin gibt, ist ein Verzicht sowohl experimentell als auch im klinischen Kontext schwierig.

Die Erhebung der Kreislaufparameter in kontinuierlichen Messungen und stündlichen Aufzeichnungen ist gängige Praxis und wurde von uns ebenso durchgeführt. Bei Parametern, die sich nicht schnell verändern und deren Messaufwand höher ist (z.B. Laborbestimmungen von Enzymaktivitäten), wurde das Intervall verlängert. Bei Überleben des zehnstündigen Beobachtungszeitraums wurden jedoch alle zu erhebenden Parameter auch am letzten Messzeitpunkt erhoben.

Messmethoden zur Perfusion des Gastrointestinaltraktes (z.B. die Tonometrie) werden in der klinischen Praxis noch nicht flächendeckend eingesetzt. Als Grund hierfür ist die nur bedingte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu nennen, was die Verlässlichkeit einschränkt (Zander 1998). So gibt es neben der veränderten Splanchnikusperfusion weitere Faktoren, z.B. Vasodilatoren und Katecholamine, die das Ergebnis der Tonometrie beeinflussen (Uusaro et al. 2000). Direkte Messmethoden, z.B. die Flussmessung, sind sehr invasiv und scheiden somit für ein klinisches Routinemonitoring aus.

Während bei humanmedizinischen klinischen Fragestellungen zu einer Erkrankung mit hoher Prävalenz wie der Sepsis durch Werkzeuge wie Multicenter-Studien oder Metaanalyse eine hohe Fallzahl erreicht werden kann, ist dieser im Tierexperiment aus ethischen und ökonomischen Gründen eine Grenze gesetzt. So kann trotz erfolgter Fallzahlberechnung nicht die Anzahl der Versuche durchgeführt werden, die möglicherweise nötig gewesen wäre, um die gezeigten Unterschiede auch mit statistischer Signifikanz belegen zu können. Da es gerade bei der Erhebung von Hämodynamik-Daten zu Unterschieden der Messwerte zwischen den einzelnen Individuen kommt, ergeben sich größere Werte für den Standardfehler, den SEM und die Standardabweichung. Dies ist bei der Interpretation der Daten zu berücksichtigen.

### 5.1.2. Interventionen

Alle Interventionen erfolgten auf Grundlage des Studienprotokolls und wurden dokumentiert.

Die Sepsisinduktion erfolgte nach dem im Studienprotokoll genannten Prozedere. Die Dosisfindung erfolgte in den Pilotversuchen, da das Verfahren der halbstündlichen Dosisverdopplung und der Halbierung auf die Erhaltungsdosis nach Erreichen der definierten Kriterien für den endotoxämischen Schock bisher nach unserem Kenntnisstand so noch nicht praktiziert worden ist. Die Pilotversuche zeigten, dass die LPS-Dosis, die zu einem endotoxämischen Schock nach Definition des Studienprotokolls führt, sehr individuell ist. Dazu kam die Erkenntnis, dass bei Erreichen der Kriterien bereits eine starke hämodynamische Intabilität existierte, deren Therapie möglicherweise durch Beibehalten der Dosis nicht mehr adäquat zu therapieren gewesen wäre. Unser Vorgehen vereint also sowohl das Titrieren bis zur individuell nötigen Dosis zum Erreichen der Schockkriterien als auch die Dosisanpassung, um den Schock nicht weiter zu aggravieren und therapeutische Effekte der eingesetzten Medikamente messen zu können. Alle Tiere konnten durch dieses Verfahren in einen Schockzustand gebracht werden und kein Tier verstarb während der Sepsisinduktion, was die Wirksamkeit und Kontrollierbarkeit dieser Methode beweist. Rittirsch et al. (2007) zeigten in Ihrer Übersichtsarbeit, dass das Sepsismodell mit der intravenösen Applikation von LPS der Pathophysiologie der Sepsis beim Menschen ähnlich ist. Die Aufteilung auf die drei Versuchsgruppen erfolgte nach der Therapiestrategie, die vor Beginn der Messphase nach den Regeln der randomisierten, kontrollierten und doppelblinden Versuchsdurchführung erfolgte. Die erste Gruppe diente als Kontrollgruppe und erhielt als einzige hämodynamisch wirksame Substanz Noradrenalin. Die zweite Gruppe erhielt als Studienmedikament Dobutamin, stellt also die Gruppe dar, die die leitliniengerechte Sepsistherapie aus Inotropikum und Vasopressor erhielt. Levosimendan kam als Studienmedikament in der dritten Gruppe zum Einsatz, deren Ergebnisse die Fragestellungen unserer Studie

beantworten sollen, ob diese Substanz in Bezug auf den gastrointestinalen Gewebeschaden der leitliniengerechten Therapie überlegen ist.

Die Auswahl von Levosimendan erfolgte aufgrund der klinischen Erfahrung im Einsatz bei Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz und dem günstigen Wirkstoffprofil für diese Fragestellung: positiv inotrop und peripher vasodilatierend. In Bezug auf die Hämodynamik erwarteten wir eine Steigerung des HZV und eine Verbesserung der Splanchnikusperfusion im Vergleich mit Dobutamin und Placebo. Da es widersprüchliche Studienergebnisse bezüglich der Auslösung von Hypotensionen durch Levosimendan gibt (De Luca et al. 2006), wurde im Studienprotokoll festgelegt, dass die Tiere der Interventionsgruppe Levo ebenfalls mit Noradrenalin zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdrucks therapiert werden dürfen.

Die Volumengabe erfolgte in allen Versuchsgruppen gleich und es gab in Bezug auf die Gesamtmenge des infundierten Volumens auch keinen signifikanten Unterschied.

Kritisch beurteilt werden muss der Einsatz von isotonischer Kochsalzlösung als Volumenersatz. Nach heutigem Kenntnisstand würden wir auf den Einsatz dieser Lösung verzichten, zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung handelte es sich noch um einen leitliniengerechten Einsatz. Wir entschieden uns bei zu erwartender hoher Infusionsmenge dafür, da es auch weiterhin das einzige isotone Kristalloid ist. Bei hohen Infusionsmengen besteht das Risiko einer hyperchlorämischen Azidose. Für die Ergebnisse unserer Studie ist es trotzdem von nachrangiger Bedeutung, da alle Tiere isotonische Kochsalzlösung in vergleichbaren Mengen erhielten und die Studie keine Fragestellung zur differenzierten Therapie mit Kristalloiden beinhaltet. Ein Einfluss auf die Splanchnikusperfusion kann teilweise sogar widerlegt werden, da es trotz vergleichbarer Infusionsmengen in den Gruppen gerade bei diesem Parameter zu deutlichen Unterschieden zwischen den Gruppen kam.

Gleiches gilt für die Verwendung von Hydroxyethylstärke (HAES). Zum Zeitpunkt der Versuche war es noch bei Schockzuständen, die mit Kristalloiden nicht

behooben werden konnten, Therapeutikum der Wahl. Wir setzten das auch in der klinischen Praxis verwendete HAES 130/0,42 ein. Hoffmann et al. (2002) konnten zeigen, dass im normotensiven Endotoxinämie-Modell des Hamsters die Mikrozirkulation durch HAES (130 kD) verbessert werden konnte. Außerdem wurden Hinweise auf ein antiinflammatorisches Potenzial von HAES gefunden. HAES 130/0,42 ist dabei der älteren Zusammensetzung mit einer Molekülmasse von 200 kD überlegen (Marx et al. 2006).

Dementgegen zeigen neueste Studienergebnisse eine erhöhte Mortalität und erhöhte Rate an Nierenfunktionsstörungen bei Patienten, die in der schweren Sepsis mit HAES 130/0,4 behandelt wurden gegenüber einer alleinigen Therapie mit Ringer-Acetat (Perner et al. 2012). Da die Studie vor allem die Langzeitergebnisse der Therapie mit HAES beschreibt, ist die Relevanz für einen zehnstündigen Überwachungszeitraum eher nachrangig zu bewerten. Die VISEP-Studie von Brunkhorst et al. aus dem Jahre 2008 zeigte ähnliche Ergebnisse. Um den klinischen Umständen möglichst nahe zu kommen, sollte in weiteren Studien mit einem Sepsismodell auf den Einsatz von HAES verzichtet werden. Inzwischen wird durch den Ausschuss für Risikobewertung im Bereich der Pharmakovigilanz vom Einsatz von HAES bei Patienten in der Sepsis abgeraten (European Medicines Agency 2013) und diese Empfehlung wurde auch in die aktuell gültige S3-Leitlinie „Intravasale Volumentherapie beim Erwachsenen“ der AWMF (Marx et al. 2014) übernommen.

Bezüglich der Ergebnisse gilt aber auch hier das gleiche wie für die isotonische Kochsalzlösung – alle Gruppen erhielten eine vergleichbare Menge pro Tier und es ist somit nicht davon auszugehen, dass sich der Einsatz von Hydroxyethylstärke positiv oder negativ auf das Ergebnis nur einer Gruppe ausgewirkt hat.

Die Verwendung von Noradrenalin als Vasopressor im septischen Schock ist leitlinien- und studienprotokollgerecht erfolgt. Ein signifikanter Unterschied ließ sich nicht nachweisen, obwohl Tiere der Gruppe Levo weniger als die Hälfte der Menge im Vergleich mit Tieren der Gruppe Dobu benötigten. Dieses Ergebnis ist überraschend, da beim Einsatz von Levosimendan mit einer ausgeprägten

Vasodilatation gerechnet werden muss – die Wirkstoffgruppe heißt dementsprechend „Inodilatoren“. Dass unter dem Einsatz von Levosimenda ein solch deutlicher Minderverbrauch gegenüber der Therapie mit Dobutamin entsteht, muss an dieser Stelle als beachtenswert herausgestellt werden. Ursächlich hierfür kann man zwei Mechanismen diskutieren, die sich im Rahmen unserer Studie durch die Ergebnisse belegen lassen: Ein erhöhtes HZV und eine periphere Vasodilatation, die nicht so stark ausgeprägt ist wie bisher vermutet – indirekt ersichtlich aus dem geringeren Bedarf von Noradrenalin zur Aufrechterhaltung des Studienprotokolls festgelegten MAP.

Die Beatmung erfolgte im druckkontrollierten, volumengarantierenden Modus, der in der klinischen Anästhesiologie heute einen der Standard-Beatmungsmodi darstellt. In der Intensivmedizin hat weiterhin die druckkontrollierte Beatmung mit der Möglichkeit, jederzeit spontan zu atmen, den höchsten Stellenwert. Dies hatte für unsere Studie jedoch keine Relevanz, da die Tiere in so tiefer Analgosedierung gehalten wurden, dass sie keine spontane oder assistierte Atmung hatten. Unser Beatmungsmodus hat den Vorteil, dass man das Atemminutenvolumen konstant halten kann, die hierfür notwendigen Druckniveaus wurden dokumentiert, ebenso der PEEP.

## 5.2. Ergebnisse

### 5.2.1. Demographische Daten

Alle in die Auswertung eingeschlossenen Tiere erfüllten die Kriterien des septischen Schocks aus dem Studienprotokoll. Hierbei wurde eine Hypotonie mit einem MAP  $<50$  mmHg und eine Tachykardie mit  $>90$ /min erreicht. Die SIRS-Kriterien nach SCCM wurden dabei formal nicht erreicht, da nur eine Tachykardie gemessen werden konnte. Bei den SIRS-Kriterien handelt es sich allerdings um eine Definition zur Identifizierung und Einteilung bisher nicht diagnostizierter Patienten. Die Kriterien Temperatur und Tachypnoe konnten durch die initiale kontrollierte Beatmung und Maßnahmen zum Wärmeerhalt nicht erreicht werden, so dass die SIRS-Diagnose nach SCCM für unsere Studie nicht anwendbar erscheint. Da eine Normovolämie aufrechterhalten wurde und das Herzzeitvolumen kontinuierlich überwacht wurde, kann davon ausgegangen werden, dass der Schock durch die Endotoxininfusion hervorgerufen wurde.

Jedes Tier erhielt eine individuelle Dosierung des LPS. Diese wurde dokumentiert und ausgewertet, es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. LPS ist kein Wirkstoff, der einem festen Dosis-Wirk-Prinzip folgt. Dies zeigen die zahlreichen unterschiedlichen Induktionsarten, die andere Arbeitsgruppen zur Schockinduktion verwendeten. Das Ziel war das Erreichen eines Schockzustandes nach Definition des Studienprotokolls. Dies wurde mit unserem Regime erreicht. Dadurch ergibt sich eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse, da alle Tiere zu Beginn der Studienmedikation die gleichen Ausgangsbedingungen hatten.

Im Verlauf bis zum Messzeitpunkt M5 verstarben mehrere Tiere und wurden gemäß Studienprotokoll von der Auswertung ausgeschlossen. Bei diesen Tieren scheint es nicht gelungen zu sein, eine Stabilisierung nach Erreichen des endotoxämischen Schocks nach Protokoll herbeizuführen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit der zeitnahen Behandlung von Patienten im septischen Schock, so wie sie in der S3-Leitlinie gefordert wird. Gleichzeitig belegt es den Schweregrad

des induzierten endotoxämischen Schocks. Einen Ausschluss sehen wir als indiziert an, da es in dieser Studie nicht um den Nachweis der Induktion eines schweren Krankheitsbildes durch die Endotoxinämie mit LPS ging. Zentraler Bestandteil war die Testung der Wirksamkeit des Medikaments Levosimendan und hierfür mussten die Tiere sich in einem stabilisierbaren Zustand befinden. Dies sahen wir erst erfüllt an, wenn die Tiere den Messzeitpunkt M5 erreichten.

Letztlich konnten 25 Tiere in die Auswertung eingeschlossen werden.

Die Überlebensraten zeigen, dass die Tiere der Dobu-Gruppe die niedrigste Rate erreichten, nur die Hälfte der Tiere konnte das Versuchsende nach zehn Stunden erreichen. Deutlich mehr Tiere, nämlich 80%, überlebten in der Gruppe Levo, genauso viele wie in der Placebogruppe Con. Die Überlebenszeit war dabei in der Gruppe Levo signifikant länger gegenüber der Gruppe Dobu. Unmittelbar nach Versuchsende erfolgte die Entnahme der Gewebeprobe zur pathologischen Begutachtung.

#### 5.2.2. Veränderungen der Makrozirkulation

Störungen der Makro- und Mikrozirkulation sind ein wesentlicher Pathogenesefaktor der Sepsis und des septischen Schocks. Sie sind entscheidend für eine ausreichende Endorganperfusion und somit für die Aufrechterhaltung des Stoffwechsels und der Homöostase. Das Hauptinteresse dieser Dissertation ist die Fragestellung nach der Perfusion des Splanchnikusgebiets, weswegen hämodynamische Parameter, die unmittelbar an der Perfusion dieser Region beteiligt sind, ausgewertet und diskutiert werden.

Der arterielle Mitteldruck zeigte den Verlauf, der im Studienprotokoll mit den Interventionen Volumengabe und Noradrenalin-Therapie festgelegt worden war, nämlich <50 mmHg zum Erreichen des Messzeitpunktes Sepsis und eine Anhebung im Versuchsverlauf auf 55-60 mmHg.

Alle Gruppen wiesen im Versuchszeitraum eine deutliche pulmonalarterielle Hypertonie auf. Dies ist als Ursache der LPS-Infusion zu sehen, was ein bekannter

Mechanismus dieser Art der Sepsisinduktion ist (Snapper et al. 1998). Als weitere mögliche Ursachen der pulmonalarteriellen Hypertonie wäre das akute Linksherzversagen im Rahmen des septischen Schocks und eine vermehrte hypoxische Vasokonstriktion der Lungenkapillaren im Sinne des Euler-Liljestrand-Reflexes durch eine zunehmende Lungenfunktionsstörung zu nennen. Die antipulmonalhypertensive Wirkung von Levosimendan ist ebenfalls bekannt (Wiklund et al. 2012). In der Levo-Gruppe war dementsprechend auch der stärkste Trend zur Normalisierung im Beobachtungszeitraum zu verzeichnen, auch wenn zu keinem Messzeitpunkt ein signifikanter Unterschied zu den anderen beiden Gruppen erreicht wurde.

Die Herzfrequenz war in der Gruppe Levo deutlich höher als in der Gruppe Dobu. Dabei war der Katecholaminbedarf in der Levo-Gruppe deutlich niedriger als in den anderen beiden Gruppen, was bei der vasodilatatorischen Wirkung von Levosimendan zunächst überrascht. Levosimendan führt vor allem nach einem (von uns nicht gegebenen) Initialbolus zur Hypotonie (Mebazza et al. 2008). Unsere Ergebnisse decken sich mit Erkenntnissen anderer Arbeitsgruppen. So konnten Morelli et al. (2005) zeigen, dass Levosimendan das HZV bei Patienten mit septischer Kardiomyopathie erhöht, auch, wenn eine Therapie mit Dobutamin wirkungslos blieb. Ein Vorteil in der Wirkung von Levosimendan ist darin zu sehen, dass der Mechanismus des Calcium-Sensitizings nicht zu einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs führt. Bei der Verteilung des höheren HZV auf die Organsysteme ist die Splanchnikusregion mit mehr Blut versorgt worden, wie bei der Auswertung der portalvenösen Flussmessung zu sehen ist.

Die Pulsdruckvariation (PPV) wurde zur Volumensteuerung herangezogen, wenn keine SVV-Messung möglich war. Die Ergebnisse sind analog zu denen der SVV. Bei der Auswertung der Flüssigkeitsbilanzen kam es zu interessanten Ergebnissen. So haben alle Versuchsgruppen im Durchschnitt ca. dreißig Liter kristalloide Infusionen erhalten, was im ersten Augenblick sehr viel erscheint. Bezogen auf den zehnstündigen Versuchsablauf ergibt sich jedoch eine Infusionsmenge von nur noch drei Litern pro Stunde, was zwar immer noch viel,

aber zumindest ein vorstellbarer Rahmen ist. Dabei muss auch berücksichtigt werden, dass die Tiere einem operativen Eingriff unterzogen wurden, was in einem höheren Volumenbedarf resultiert. Zahlreiche Tiere mussten laparotomiert werden. Es ist bekannt, dass dies zu einem hohen Flüssigkeitsverlust über die Laparotomiewunde führt. Die Infusionsmenge setzt sich aus einer kontinuierlichen Infusionsmenge nach Körpergewicht (in diesem Fall ungefähr 10% der Gesamtmenge), der Rest ergibt sich aus freien Infusionen. Da die Volumengabe SVV-gesteuert erfolgte, wurde hiermit auf einen sich entwickelnden intravasalen Volumenmangel reagiert. Parameter, die eine zu hohe Infusionsmenge und damit eine Hämodilution anzeigen würden, z.B. der Hämatokrit oder Elektrolyte, lagen durchweg im Normbereich. Somit muss davon ausgegangen werden, dass mit dieser Infusionsmenge lediglich der Bedarf gedeckt wurde, was bei ebenfalls die Schwere des endotoxämischen Schocks unterstreicht.

Bei Betrachtung der Gesamtausfuhr fällt auf, dass alle Gruppen eine hohe positive Flüssigkeitsbilanz aufwiesen, die Ausscheidungsmengen lagen bezogen auf die Einfuhrmengen im Bereich von 5-10%. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass bei der Bilanzierung lediglich Urin, Gallen- und Magensekret berücksichtigt wurden. Während der Versuche war ersichtlich, dass die Tiere hohe Mengen Flüssigkeit durch Aszitesbildung verloren. Ebenso kam es zu Flüssigkeitsverlusten durch Verdunstung, da viele Tiere vor Versuchsende relaparotomiert werden mussten und das Abdomen nicht wieder verschlossen wurde, was nicht bilanziert werden kann. In der Literatur werden hierbei Werte von bis zu 8 ml/kg KG/h angegeben (Kretz und Scheffler 2008). Hierfür ursächlich war ein drohendes abdominelles Kompartmentsyndrom, was wiederum z.T. durch ödematöse Auftreibung der Organe entstand, was eine Flüssigkeitsverschiebung nach extravasal darstellt. Ebenfalls nicht bilanziert wurden die Entnahmemengen von Blutgasanalysen und Labormonovetten. Eine statistische Bewertung der Flüssigkeitsbilanz ist somit nicht möglich.

Eine Bewertung der Körpertemperatur ist ebenso erschwert, da viele Tiere durch Konvektion über das (wieder-)eröffnete Abdomen Wärme verloren und auf aktive

Wärmemaßnahmen (erwärmte Infusionslösungen, Wärmematten) verzichtet wurde. Lediglich bei einem der Tiere, die nicht M10 erreichten, kam es zu einer Hypothermie von  $<33^{\circ}\text{C}$ . Dementgegen hatten 10 Tiere nach Induktion der Endotoxinämie eine subfebrile bzw. febrile Körperkerntemperatur.

### 5.2.3. Veränderungen der Mikrozirkulation

Die Diskussion der mikrozirkulatorischen Veränderungen fokussiert sich auf die Splanchnikusregion, was den zentralen Teil dieser Arbeit darstellt.

Die portalvenöse Flussmessung zeigt die höchste Perfusion in der Levo-Gruppe. Die Vena portae erhält Zufluss aus den Stromgebieten der Arteria mesenterica superior und inferior, von denen große Abschnitte des Intestinaltrakts sowie die Organe Pankreas und Milz versorgt werden. Sie repräsentiert also das gesamte Versorgungsvolumen dieser Organe.

Mehrere Studien zeigen eine Verbesserung der Perfusion im Splanchnikusgebiet und der Leber bei der Verwendung von Dobutamin (Reinelt et al. 1997). Bei dieser Studie handelte sich um eine kleine Fallzahl ( $n=12$ ) und es kam ein anderes Messverfahren (Indocyaningrün-Clearance) zum Einsatz. Das Ergebnis können wir nicht bestätigen, da es nach unseren Daten zu keiner Flusszunahme in der V. portae unter der Therapie mit Dobutamin kommt. Es bleibt festzustellen, dass die Therapie mit Levosimendan zu einer deutlich höheren Flusszunahme gegenüber der Dobutamin- und Kontrollgruppe geführt hat.

Der intraabdominelle Druck beträgt physiologisch weniger als  $10\text{ cmH}_2\text{O}$ . Eine akute intraabdominelle Druckerhöhung auf über  $20\text{ cmH}_2\text{O}$  wird als abdominelles Kompartmentsyndrom bezeichnet und benötigt eine chirurgische Intervention. Die Ursachen sind vielfältig. Ödeme der intraabdominellen Organe und Infektionen gehören neben dem Trauma zu den Hauptursachen. Ein erhöhter intraabdomineller Druck wirkt sich negativ auf das respiratorische und kardiozirkulatorische System aus, insbesondere auf den Blutfluss in der A. mesenterica superior, der Pfortader und der unteren Hohlvene (Diebel et al. 1992, Schneider et al. 2000). Über die Druckausübung auf die o.g. Gefäße kommt es

konsekutiv zu einer Verschlechterung der arteriellen Perfusion und des venösen Abstroms. Der intraabdominelle Druck lag in der Gruppe Levo immer niedriger als in der Gruppe Dobu, signifikant vor allem kurz nach Induktion des endotoxämischen Schocks. Ebenso mussten die Tiere erst später relaparotomiert werden.

In dieser Studie wurden große Mengen kristalloider Infusionen benötigt, um eine Normovolämie (nach PiCCO-Messung) aufrechtzuerhalten. Hohe Infusionsmengen stellen einen Risikofaktor für die Entwicklung eines Multiorganversagens dar. Zwar handelte es sich bei der Studie von Balogh et al. (2002) um Traumatpatienten, aber die posttraumatische Entwicklung eines SIRS mit Kapillarleck und nachfolgendem abdominellen Kompartmentsyndrom ist der Pathophysiologie der Endotoxinämie zumindest ähnlich. Unsere Daten lassen keinen unmittelbaren Zusammenhang zwischen Infusionsmenge und Relaparotomiezeit erkennen, zumal alle Versuchsgruppen vergleichbare Mengen an kristalloiden Infusionen erhalten haben.

Die Tonometrie ist ein interessantes Monitoringverfahren der gastrointestinalen Perfusion und Sauerstoffversorgung, das bisher jedoch keinen flächendeckenden Einzug in die Intensivmedizin geschafft hat. Dabei ist weniger der einzelne Messwert als vielmehr der Verlauf von Interesse (van Aken et al. 2001). Unsere Werte sind im Vergleich zum Menschen (Normalwert <50 mmHg) niedrig, Referenzwerte für Schweine existieren jedoch nicht. Dennoch zeige sich der niedrigste Wert in der Gruppe Levo und war im Versuchsverlauf leicht rückläufig (vgl. Abbildung 11).

Der CO<sub>2</sub>-gap lag wiederum in der Dimension vergleichbarer Werte beim Menschen (<10 mmHg physiologisch, >20 mmHg pathologisch). Referenzwerte für Schweine liegen uns auch zu diesem Parameter nicht vor.

Verschiedene Produktionsparameter wurden erhoben, um indirekt Rückschlüsse auf die Organfunktion der intraabdominellen Organe zu ziehen.

Die Galleproduktion kann allenfalls als Globalparameter der Leberfunktion beurteilt werden, da diese sowohl von der Leberfunktion als auch der -perfusion abhängt

und für die klinische Praxis ein unpraktikables Verfahren darstellt. Unsere Ergebnisse zeigen zumindest eine höhere Galleproduktion, wenn die Tiere Dobutamin oder Levosimendan erhielten. Die Leber ist maßgeblich am Laktatabbau beteiligt. Im Falle eines Funktionsausfalls kommt es zu einem Laktatanstieg, so wie es vor allem in der Dobutamingruppe der Fall war. Ebenso kommt es zu einem Ausfall der Produktion der Gerinnungsfaktoren, v.a. II, VII, IX und X. Dies zeigt sich in den Parametern Quick und INR. Diese waren in allen Gruppen deutlich reduziert. Die Gerinnungsstörung war in der Gruppe Levo am geringsten ausgeprägt. Da die Leberfunktionsstörung hämodynamisch bedingt ist, lässt dies den Rückschluss zu, dass die Leberperfusion in der der Levo-Gruppe am besten war.

Wenn man als Funktionsparameter der Niere die Urinproduktion zugrunde legt, lässt sich kein positiver Effekt von Levosimendan auf die Nierenfunktion nachweisen, der einer Therapie mit Dobutamin überlegen wäre. Die schnell eintretende Einschränkung der Nierenfunktion im Schock ist meistens eine Kombination aus Hypoperfusion infolge von Hypotonie bzw. Hypoperfusion, was wir adäquat therapierten, und einer tubulären Schädigung. Für den klinischen Nachweis eines organprotektiven Effekts von Levosimendan gegen eine Niereninsuffizienz durch organische Schädigung ist der Überwachungszeitraum von zehn Stunden sicher zu kurz. Zager et al. (2006) konnten in einer Studie allerdings zeigen, dass Levosimendan einen protektiven Effekt auf die Nierenfunktion im endotoxämischen Schock hat.

#### 5.2.4. Gewebeschaaden

Auf zellulärer Ebene wurden die mikroskopische Schädigung des Dünndarmepithels untersucht. Als Bewertungskriterien wurden hier sichtbare Schädigungen der Struktur des Epithels bewertet und indirekte Hinweise auf Schädigungen, z.B. Apoptosevorgänge, erfasst, in ein Klassifizierungssystem eingeordnet und anschließend statistisch ausgewertet. Als pathophysiologische

Ursachen kam es in dieser Studie zu einem Ineinandergreifen mehrerer Vorgänge, die sich teilweise in Wechselwirkung unterhalten oder verstärken. Erwähnt seien an dieser Stelle Ödembildung durch ein Kapillarleck, reduzierte Barrierefunktion des Darmepithels gegen die Translokation von intraluminalen, potenziell pathogenen Mikroorganismen, reduzierte Makro- und Mikrozirkulation und Druckschädigung durch erhöhten intraabdominellen Druck.

Der Darm ist für besonders anfällig bei Einschränkungen der Blutversorgung. Schachtrupp et al. (2005) konnten in ihrer Studie zeigen, dass der intestinale Gewebeschaden besonders von erhöhtem intraabdominellen Druck und damit reduzierter Mikrozirkulation beeinflusst wird. Die histologische Bewertung der entnommenen Darmanteile zeigt weniger Schädigungen in der Gruppe Levosimendan. Dieses Verfahren ist in der Literatur bisher nur selten beschrieben und es gibt verschiedenen Klassifikationen, weswegen keine aussagekräftigen Vergleichsdaten vorliegen. Die besseren Ergebnisse der Levo-Gruppe lassen verschiedene Hypothesen zu. Die Blutversorgung des Splanchnikusgebiets ist durch den Einsatz von Levosimendan verbessert worden, wodurch es zu weniger Gewebeschäden gekommen ist. Die verbesserte Perfusion kann auf zwei Mechanismen oder einer Kombination beider beruhen: periphere Vasodilatation als pharmakologische Eigenschaft der Substanz und eine Erhöhung des Herzzeitvolumens. Beides lässt sich durch unsere Daten zeigen. Ebenso kann der geringere intraabdominelle Druck indirekt die Perfusion weniger beeinträchtigt haben. Auch ist eine Präkonditionierung des initial noch gut perfundierten Gewebes denkbar, die dann bei der Abnahme der Perfusion zu einer höheren Ischämietoleranz der betroffenen Abschnitte geführt hat.

Als weiteren Marker einer Gewebeschädigung lässt sich auch an dieser Stelle Laktat anführen, dass sich in der Dobu-Gruppe gegenüber der Levo-Gruppe deutlich erhöht zeigt.

In Zusammenschau der Ergebnisse der portalvenösen Flussmessung und der Relaparotomiezeit passt dieses Ergebnis ebenfalls zu unserer Hypothese, dass Levosimendan für eine bessere Perfusion und Organprotektion im

Splanchnikusgebiet sorgt, was in der Konsequenz auch zu einem geringeren Schaden auf mikroskopischer Ebene führt.

#### 5.2.5. Blutgasanalysen

Die Ergebnisse zeigen bei allen Tieren eine zunehmende massive Azidose, die in allen Gruppen vergleichbar ausgeprägt war. Diese war gemischt, hatte also sowohl metabolische als auch respiratorische Anteile.

Eine Azidose zeigte sich bei nahezu allen Tieren, dabei lagen die Chloridwerte deutlich oberhalb des Normbereichs, was eine hyperchlorämische Azidose per definitionem erfüllt. Die Tiere waren allerdings eher hyperkaliäm, was eine massive Dilution durch Kochsalzlösung nicht zeigen würde. Eine Hypokaliämie könnte durch die massive Azidose und der damit verbundenen Verschiebung von Kaliumionen nach extrazellulär zumindest teilweise verschleiert worden sein.

Eine Azidose ist ein bekannter Befund im septischen Schocks als Zeichen der Organdysfunktion (Reinhart et al. 2010). Der metabolische Anteil erklärt sich aus dem Versagen der Regelmechanismen auf Säure-Basen- bzw. Elektrolytebene und der verschlechterten Nierenfunktion, die eine entscheidende Rolle in der Regulation des Säure-Basen-Haushalts darstellt. Ein weiterer Anteil ist die Hypoxie als Folge der Mikrozirkulationsstörung, die zu einer vermehrten anaeroben Glykolyse und dadurch zum vermehrten Anfall von Laktat führt. Der respiratorische Anteil resultiert aus der bereits oben erwähnten massiven Verschlechterung der Lungenfunktion, die sich in der BGA mit niedrigem  $p_{aO_2}$  und hohem  $p_{aCO_2}$  zeigt. Bei der Bewertung der Verläufe muss berücksichtigt werden, dass keine therapeutischen Maßnahmen zur Behandlung der Azidose vorgenommen wurden, außer der Therapie mit Volumen und den Studienmedikamenten. Klinisch stünden hier diverse Maßnahmen zur Verfügung. Auch die schlechte Lungenfunktion, die negativen Einfluss auf die Azidose hat, wurde nicht therapiert.

Die berechneten Parameter zur Sauerstoffausschöpfung und den Differenzen der  $p_{CO_2}$ -Werte sind Surrogatparameter für die Perfusion im Splanchnikusgebiet. Es wird nicht der exakte Blutfluss gemessen, sondern indirekt darauf geschlossen,

wobei der  $pH_i$  bzw. der  $pgCO_2$  als Indikator dient. Bei einer verminderten Perfusion wird davon ausgegangen, dass vermehrt  $CO_2$  anfällt, da es nicht adäquat abtransportiert wird und durch eine gleichzeitige Hypoxie vermehrt anaerobe Glykolyse betrieben werden muss, bei der Lactat anfällt. Das führt zu einem Absinken des  $pH_i$ , der durch die physiologische Pufferung mit  $HCO_3^-$  zu einem weiteren  $CO_2$ -Anstieg führt.

Die entstehende Anämie ist möglicherweise ein Resultat verstärkter Hämodilution durch das aggressive Volumenmanagement. Es kam bei keinem Tier zu einer akuten, Hb-relevanten Blutung.

Insgesamt kam es nur zu geringen Störungen im Kaliumhaushalt. Bei der Ansicht der Versuchsdaten ist nur bei zwei Tieren, die vor Messzeitpunkt M10 verstarben, eine moderate Hyperkaliämie zu erkennen. Eine Hyperkaliämie manifestiert sich im EKG mit den Zeichen einer hohen T-Welle und einer Verlangsamung der Überleitungszeiten (sinuatrialer und/oder atrioventrikuläre Blockierung, Verbreiterung der QRS-Komplexe) bis hin zur Asystolie. Diese Tiere wiesen eine normofrequente bis tachykarde Herzfrequenz auf, so dass nicht unmittelbar davon ausgegangen werden kann, dass diese Tiere an einer Herzrhythmusstörung durch eine unbehandelte Hyperkaliämie verstorben sind.

Alhashemi et al. (2009) konnten in einer kleinen klinischen Studie zeigen, dass bei Patienten im septischen Schock die Serumlaktatspiegel bei der Gabe von Levosimendan stärker abfielen als unter der Therapie mit Dobutamin. Offen blieb, ob eine bessere Perfusion durch Levosimendan ein höheres Sauerstoffangebot schafft, was zu weniger anaerobem Stoffwechsel führt, oder ob lediglich die bessere Perfusion das Laktat besser abtransportiert und der Metabolisierung zugänglich gemacht wird.

Die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung ist ein globaler Marker, der sowohl vom Sauerstoffangebot, als auch vom HZV abhängt. Auch nach Etablierung von erweitertem hämodynamischen Monitoring mit kontinuierlicher HZV-Überwachung (PiCCO, PAK) ist die gemischt- bzw. zentralvenöse Sauerstoffsättigung noch immer ein wichtiger Parameter in der Therapiesteuerung von Patienten mit

hämodynamischer Instabilität und deswegen auch immer noch in Behandlungsleitlinien, z.B. der S3-Leitlinie zur Sepsistherapie, erwähnt. Die Erhöhung der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung bei Patienten im septischen Schock lässt sich durch Volumengabe, Vasopressoren und den Einsatz von positiv inotropen Substanzen wie Dobutamin erreichen (Rosario et al. 2011). Unsere Daten zeigen eine durchgehend erniedrigte gemischtvenöse Sauerstoffsättigung. Dies ist u.a. damit zu erklären, dass hieran nicht das Therapieregime ausgerichtet wurde, sondern an anderen Parametern. Da es keinen Unterschied zwischen den Gruppen gab, lässt sich daraus ableiten, dass Levosimendan keine Verschlechterung im Vergleich mit Dobutamin darstellt und im Umkehrschluss hinterfragt werden muss, ob dieser Parameter im Rahmen dieser Versuchsdurchführung eine hohe Aussagekraft in Bezug auf die zirkulatorische Schocktherapie hat, wenn die Placebogruppe gleiche Werte wie die Interventionsgruppen aufweist.

Die portalvenöse BGA repräsentiert analog dazu die Verhältnisse von Perfusion und Sauerstoffangebot im vorgeschalteten Bereich der Bauchorgane. Unserer Hypothese entsprechend wäre es hier zu einem Unterschied zwischen den Versuchsgruppen gekommen, z.B. einem niedrigeren Laktatwert in der Gruppe Levo. Diese Hypothese konnte durch die erhobenen Daten nicht unterstützt werden. Die Ergebnisse zeigen ähnliche oder lediglich parallelverschobene Abweichungen im Vergleich mit der arteriellen und gemischtvenösen BGA, so dass auf eine ausführliche Diskussion dieser Ergebnisse an dieser Stelle verzichtet wird. Zu vermerken bleibt auch hier, dass der Einsatz von Levosimendan sich im Vergleich mit Dobutamin und Placebo nicht nachteilig ausgewirkt hat.

#### 5.2.6. Klinische Chemie

Der Hämatokrit lag unter dem Normwert, der untere Grenzwert für Schweine liegt bei 0,33 (s. Anhang). Bei massiver Überwässerung, z.B. im Rahmen der ausgeprägten Einfuhr von kristalloiden Infusionslösungen, würde man jedoch

weitaus niedrigere Werte erwarten können. Daraus kann gefolgert werden, dass die Flüssigkeit nach der intravenösen Infusion in den extravasalen Raum ausgetreten ist. Dieser Mechanismus ist im Rahmen einer Sepsis häufig festzustellen.

In der Auswertung zeigen sich in allen Versuchsgruppen Tiere mit Leukozytose und Leukopenie. Dies kann als Reaktion auf das pathogene LPS interpretiert werden. Auch bei den SIRS-Kriterien ist bewusst sowohl eine Leukozytose als auch eine Leukopenie aufgeführt.

Die höhere Thrombozytenzahl in der Gruppe Levo ist auch an dieser Stelle erwähnenswert. Auch bei den plasmatischen Gerinnungsparametern waren die Konzentrationen höher. Inwieweit Levosimendan einen positiven Einfluss auf – nicht selten – vorliegende Gerinnungsstörungen im septischen Schock aufweist, war nicht Gegenstand dieser Untersuchung, ist aber eine interessante Fragestellung. Allerdings muss hier angemerkt werden, dass es auch durch SIRS bzw. Infektionen zu einer Thrombozytose oder Thrombozytopenie kommen kann, was die Aussagekraft dieses Parameters einschränkt. Zudem wurde die Funktion der Thrombozyten nicht untersucht.

Der Normalbefund für Kreatinin im Serum spricht für eine ausreichende Nierenfunktion. Eine bessere Beurteilung würde die glomeruläre Filtrationsrate ermöglichen, die jedoch nicht berechnet wurde. Letztlich erlauben unsere Messdaten keine genaue Aussage über die Nierenfunktion im frühen septischen Schock, da weder genaue Perfusionsdaten, z.B. mit Flussmessung der A. renalis, noch eine histologische Begutachtung durchgeführt wurde. Es bleibt die Erkenntnis, dass zwar die Laboranalyse für eine normale Nierenfunktion spricht, alle Tiere jedoch mit zunehmender Versuchsdauer oligurisch wurden, was klinisch ein verlässlicher Parameter für eine verschlechterte Nierenfunktion ist.

Die Konstellation der Transaminasenwerte ist nicht eindeutig. Die Erhöhung der AST spricht für eine Leberschädigung, auf den z.B. auch die erniedrigten Harnstoffwerte hinweisen. Dagegen spricht der annähernd normale Befund der ALT. AST-Erhöhungen können auch durch Zerstörung von Herz- und

Skelettmuskelzellen resultieren. Dafür spräche die Erhöhung der CK. Diese zeigt einen Untergang von Muskelgewebe an. Der massive Anfall von CK und anderen Muskelabbauprodukten führt zu einer Schädigung der Nieren (sog. „Crush-Niere“), was mit unseren Ergebnissen der Nierenfunktion durchaus als mögliche Erklärung in Betracht kommt. Zumindest ein Teil kann auch aus dem Myokard im Rahmen einer Myokardschädigung durch eine septische Kardiomyopathie stammen, die bei solch schweren Verläufen ebenfalls beschrieben ist. Eine Differenzierung nach Herz- oder Skelettmuskelzellen kann nicht erfolgen, da weder die Subgruppe CK-MB noch andere spezifische Marker wie Troponin I oder T erhoben wurden. Eine Rhabdomyolyse im Rahmen einer Sepsis gehört zu den bekannten Komplikationen (Betrosian et al. 1999). Dies wäre auch eine weitere mögliche Erklärung für die verschlechterte Nierenfunktion.

Auch gibt es das Krankheitsbild der septischen Kardiomyopathie. Gegen die Myopathie spricht die Einheitlichkeit der Laborwerte über alle Versuchsgruppen, während die kardiale Funktion in der Levo-Gruppe deutlich gesteigert werden konnte. Dilek et al. (2012) konnten, wenn auch mit verändertem pharmakologischen Regime, zeigen, dass Levosimendan die Leberfunktion im Schock verbessert, während Dobutamin dies nicht tut.

Die Ergebnisse der Gerinnungsdiagnostik zeigen eine zunehmende Verschlechterung der Gerinnungsfunktion. Dabei sind alle Schenkel der Gerinnungskaskade betroffen. Dies ist im Rahmen eines fulminanten septischen Geschehens zu erwarten. Tiere der Levo-Gruppe haben allerdings im Vergleich mit der Dobu-Gruppe signifikant bessere Ergebnisse. Diese Funktion von Levosimendan ist bisher nicht beschrieben und bedarf möglicherweise einer genaueren Untersuchung. Eine sinnvolle Ergänzung zur Erfassung von Gerinnungsstörungen scheint das Verfahren der Thrombelastometrie zu sein, das bereits frühzeitig bei einer Endotoxinämie Veränderungen registriert (Schöchl et al. 2011). Hierin liegt möglicherweise eine weitere Einsatzmöglichkeit von Levosimendan im septischen Schock.

### 5.3. Limitationen

Die Herstellung von Versuchsbedingungen wie in diesem Modell, die im Tierexperiment eine Überwachung, Therapie, Interventionen und Messungen ermöglichen, stößt an Grenzen. Notwendig wäre hierfür eine tierintensivmedizinische Einheit, die nur an wenigen Instituten in Deutschland existiert. Es müsste die Möglichkeit für die Betreuung mehrerer Tiere gleichzeitig bestehen, da es sonst sehr lange dauert, bis eine adäquate Fallzahl für eine Studie generiert werden kann. In unserer Studie wurde im Studienprotokoll ein Überwachungszeitraum von zehn Stunden angestrebt, der sich in der praktikablen Durchführung mit drei an den Versuchen beteiligten Personen (ein Betreuer, zwei Doktoranden) schon als grenzwertig erwies, da ein solcher Versuchstag mit Aufbau, Präparation, Sepsisinduktion und Überwachungszeitraum knapp 24 Stunden in Anspruch nahm. Eine Versuchsausweitung ist nur mit mehr Personal und somit mehr Kosten zu bewerkstelligen. Trotzdem haben wir mit den Ergebnissen der zehnstündigen Überwachung Daten erhoben, die nach aktuellem Stand der Literaturrecherche in dieser Form noch von keiner anderen Arbeitsgruppe näherungsweise erreicht wurden.

## 6. Schlussfolgerung

Abschließend lassen sich die Eingangsthese der Fragestellung unserer Studie mit den Ergebnissen wie folgt beantworten:

1. Levosimendan verbessert die Makrozirkulation im experimentellen endotoxämischen Schock im Schweinemodell. Dies lässt sich an einem Anstieg des HZV belegen. Dieser Effekt konnte in der Dobutamin- und Kontrollgruppe in dieser Form nicht beobachtet werden. Die Splanchnikusregion scheint hiervon ebenfalls zu profitieren, es kam zu einer Flusszunahme in der V. portae.  
Der Noradrenalinbedarf war niedriger als in der Dobutamingruppe.
2. Levosimendan scheint zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation im Splanchnikusgebiet zu führen. Der histologische Gewebeschaden des Darms war geringer.
3. Tiere der Levosimendangruppe wiesen einen niedrigeren intraabdominellen Druck auf und mussten später als die beiden Vergleichsgruppen relaparotomiert werden.

Inwiefern Präkonditionierung einen Einfluss auf unsere Ergebnisse hatte, kann nicht mit abschließender Sicherheit geklärt werden. Es gibt möglicherweise weitere positive Effekte von Levosimendan im septischen Schock (z.B. auf die Blutgerinnung), deren Relevanz weiter untersucht werden sollte.

## 7. Zusammenfassung

Diese Untersuchung befasste sich mit der Fragestellung, ob Levosimendan einen Einfluss auf die abdominelle Gewebepfusion und Organfunktionen hat.

Hierfür wurde eine prospektive, randomisierte, kontrollierte, doppelblinde Studie an 48 juvenilen Hausschweinen durchgeführt. Diese wurden mit kontinuierlich intravenös appliziertem LPS in einen endotoxämischen Schock gebracht (mittlerer arterieller Blutdruck < 60 mmHg bei Schlagvolumenvariation <12%). Die Tiere wurden für die weitere Kreislaufstabilisierung in drei Gruppen randomisiert: Dobutamin (10 µg/kg/min), Levosimendan (0,5 µg/kg/min) oder Placebo. Das Herzzeitvolumen wurde mittels Pulmonalarterienkatheter gemessen. Der portalvenöse Fluss wurde mit einer Messsonde und die portalvenöse Sauerstoffsättigung mit einem einliegenden Katheter über Blutgasanalysen bestimmt. Des Weiteren wurden eine Tonometrie und eine intraabdominelle Druckmessung über einen Blasenkatheter durchgeführt. Für die Beurteilung des intestinalen Gewebeschadens wurde am Ende des Beobachtungszeitraums (10 Stunden nach septischem Schock) bzw. bei vorzeitigem Versterben des Versuchstieres eine Gewebeprobe aus dem Jejunum entnommen. Die Daten wurden mittels gemischtem Modell analysiert.

Es konnte bei 25 Tieren ein vollständiger Datensatz gemäß Studienprotokoll erhoben werden. Die Tiere der Gruppe Levo erreichten bei höherer Herzfrequenz ein höheres HZV bei niedrigerem Katecholaminbedarf. Es fand sich ein erhöhter Pfortaderfluss, geringere mikroskopische Schädigung des Darmepithels und ein verbesserter CO<sub>2</sub>-Transport verglichen mit den anderen beiden Gruppen. Ebenso mussten die Tiere später relaparotomiert werden.

Levosimendan führte zu einer verbesserten Splanchnikusperfusion, die wiederum zu einer besseren Oxygenierung des Darms führte. Dies zeigte sich in der häufiger erhaltenen Darmintegrität dieser Gruppe. Ob diese Ergebnisse auch auf Patienten übertragbar sind, müssen entsprechende klinische Studien zeigen.

This randomized, controlled, prospective and doubleblind study investigated if Levosimendan can influence the splanchnic perfusion and organ function.

Forty-eight landrace pigs received a continuous intravenous infusion of LPS until they met the criteria for endotoxaemic shock (MAP < 60 mmHg, SVV < 12%) and, subsequently, they were randomized into three groups: dobutamine (10 µg/kg/min), Levosimendan (0,5 µg/kg/min) or placebo. Cardiac output was measured with pulmonalis catheter. The flow of the portal vein was measured with a flow probe and portal venous oxygen saturation was measured with blood gas analysis taken from the portal vein. Further on, the intraabdominal pressure was measured with a bladder catheter. To analyse the intestinal tissue damage of the jejunum, a biopsy was taken after deceasing or the end oft he observation time of 10 hours. Data were analysed by mixed models.

Twenty-five animals could be enrolled reaching the criteria of the protocol. Pigs in the group Levo reached an increased cardiac output with a higher heart rate and needed less catecholamines. There was a higher flow in the portal vein, a lower microscopic damage of the bowel tissue and an improved transport of CO<sub>2</sub> compared tot he other groups. The need for relaparotomy was also later.

Levosimendan led to an improved splanchnic perfusion and a better oxygenation of the bowel. This could be shown by the increased integrity oft the bowel tissue. Clinical studies are needed to show if these results could be transmitted to human beings.

# Anhang

## Normalwerte Schwein

Parameter	Normalwert
<i>Rotes Blutbild:</i>	
Hämoglobin (Hb)	10,8-14,8 mg/dl <sup>b</sup>
Hämatokrit (Hkt)	0,33-0,45 <sup>b</sup>
Erythrozytenzahl	5,81-8,13 T/l <sup>b</sup>
Erythrozytenverteilungsbreite (EVV)	175-587 G/l <sup>b</sup>
MCHC	33% <sup>a</sup>
Leukozytenzahl	10,5-21,3 G/l <sup>b</sup>
<i>Klinische Chemie</i>	
Gesamteiweiß	55,4 – 88,4 g/l <sup>b</sup>
Aspartat-Aminotransferase (AST)	9-25 U/l <sup>b</sup>
Alanin-Aminotransferase (ALT)	7-70 U/l <sup>d</sup>
μ-GT	10-40 U/l <sup>d</sup>
Bilirubin gesamt	0,1-4,1 μmol/l <sup>b</sup>
Kreatinin	40-130 μmol/l <sup>c</sup>
Harnstoff	2,9-8,1 mmol/l <sup>b</sup>
Kreatininkinase (CK)	100-2000 U/l <sup>b</sup>
Alkalische Phosphatase (AP)	140-290 U/l <sup>b</sup>

<i>Gerinnung:</i>	
Quick	70-130% <sup>f</sup>
Thrombinzeit	18-32 s <sup>f</sup>
Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	11-15 s <sup>f</sup>
Fibrinogen	160-380 g/l <sup>f</sup>
<i>Arterielle Blutgasanalyse</i>	
pH	7,3 <sup>a</sup>
Standard-Bikarbonat	18-25 mmol/l <sup>a</sup>
Natrium	133-171 mmol/l <sup>b</sup>
Kalium	4,5 – 6,5 mmol/l <sup>b</sup>
Chlorid	99 – 105 mmol/l <sup>a</sup>
Calcium	2,4-3,0 mmol/l <sup>b</sup>
Laktat	0-11 mmol/l <sup>b</sup>
Glukose	72-115 mg/dl <sup>b</sup>

**Tabelle 39 Normalwerte Schwein; <sup>a</sup> nach Douglas (1972), <sup>b</sup> nach Waldmann und Wendt (2004), <sup>c</sup> nach Bickhardt (1992), <sup>d</sup> nach Merk (1992), <sup>f</sup> nach Plank (1988),**

## Literaturverzeichnis

Alhashemie JA, Alotaibl Q (2009) *Levosimendan versus dobutamine in septic shock*. Crit Care 13(Suppl.1):171.

Allgöwer M, Burri C (1967): *Der Schockindex*. Dtsch med Wschr 92:1947.

Almond GW (1996): *Research applications using pigs*. Vet Clin North Am Food Anim Pract 12:707-716

Anane LH, Edwards KM, Burns, VE, Drayson MT, Riddell NE, Veldhuijzen van Zanten JJ, Wallace GR, Mills PJ, Bosch JA (2009) *Mobilization of cd T lymphocytes in response to psychological stress, exercise, and b-agonist infusion*. Brain, Behavior, and Immunity 23:823-829.

Balogh Z, McKinley BA, Cocanour CS, Kozar RA, Holcomb JB, Ware DN, Moore FA (2002) *Secondary abdominal compartment syndrome is an elusive early complication of traumatic shock resuscitation*. Am J Surg 184:538-544.

Barash P, Cullen B, Stoelting R, Cahalan M, Stock M (2009) Clinical Anaesthesia. 6. Auflage, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA.

Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL (2012) *Ganong's Review of Medical Physiology*. The McGraw Hill Companies, New York City, New York, USA.

Beale RJ, Hollenberg SM, Vincent JL, Parillo JE (2004) *Vasopressor and inotropic support in septic shock: An evidence-based review*. Crit Care Med 32[Suppl]:455-465.

Benes J, Chytra I, Altmann P, Hluchy M, Kasal E, Svitak R, Pradl R, Stepan M (2010) *Intraoperative fluid optimization using stroke volumen variation in high risk surgical patients: results of a prospective randomized study*. Crit Care 14:R118.

Bernard G, Artigas A, Brigham K, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall J, Morris A, Spragg R (1994) *The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination.* Am J Respir Crit Care Med 149(3):818-24.

Betrosian A, Thireos E, Kofinas G, Balla M, Papanikolaou M, Georgiadis G (1999): *Bacterial sepsis-induced rhabdomyolysis.* Intensive Care Med 25:469-474.

Bickhardt K (1992) *Kompendium der Allgemeinen Inneren Medizin und Pathophysiologie für Tierärzte.* Pareys Studentexte 69, Berlin-Hamburg.

Bidani A, Tzouanakis AE, Cardenas VJ, Zwischenberger JB (1994) *Permissive Hypercapnia in Acute Respiratory Failure.* JAMA 272(12):957-962.

Bloos F und Reinhart K (2004) *Zentralvenöse Sauerstoffsättigung zur Abschätzung der Gewebeoxygenierung.* Dtsch Med Wochenschr 129:2601-2604.

Böck JC, Barker BC, Mackersie RC, Tranbough RF, Lewis FR (1989) *Cardiac Output Measurement Using Femoral Artery Thermodilution in Patients.* J Crit Care 4:106-111.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ (1992) *Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine.* Chest 101(6):1644-1655.

Brinkmann A, Calzia A, Träger K, Radermacher P (1998) *Monitoring the hepatosplanchnic region in the critically ill patient.* Intensive Care Med 24:542-556.

Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A (2000) *Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome*. N Engl J Med 342:1301-1308.

Brown R, Dixon J, Farmer J, Hall J, Humphries R, Ince F, O'Connor S, Simpson W, Smith G (1985) *Dopexamine: a novel agonist at peripheral dopamine receptors and  $\beta_2$ -adrenoreceptors*. Br J Pharmac 85:599-608.

Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, MD; Gouin F, MD; Lepoutre A, Mercier JC, Offenstadt G, MD; Régnier B (1995) *Incidence, Risk Factors, and Outcome of Severe Sepsis and Septic Shock in Adults - A Multicenter Prospective Study in Intensive Care Units*. JAMA 274:968-974.

Brunkhorst FM (2006) *Epidemiologie, Ökonomie und Praxis - Ergebnisse der deutschen Prävalenzstudie des Kompetenznetzwerkes Sepsis (SepNet)\**. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 41:43-44.

Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, Moerer O, Gruendling M, Opper M, Grond S, Olthoff D, Jaschinski U, John S, Rossaint R, Welte T, Schafer M, Kern P, Kuhnt E, Kiehntopf M, Hartog C, Natanson C, Loeffler M, Reinhart K (2008) *Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis*. N Engl J Med 358:125-139.

Bowman TA, Hughes HC (1984) *Swine as an in vivo model for electrophysiologic evaluation of cardiac pacing parameters*. Pacing Clin Electrophysiol 7:187-194.

Burchardi H, Larsen R, Marx G, Muhl E, Schölmerich J (2011) *Die Intensivmedizin*. Springer-Verlag Berlin, 11. Auflage, S. 277ff.

Caldwell CB und Ricotta JJ (1987) *Changes in visceral blood flow with elevated intraabdominal pressure*. J Surg Res 43:14-20.

Chetham ML, Safcsak K (1998) *Intraabdominal Pressure: A Revised Method for Measurement*. J Am Coll Surg 186(5):594-595.

Chew MS, Hawthorne WJ, Bendall J, Whereat S, Huang S, Ting I, Simond D, McLean A (2011) *No beneficial effects of levosimendan in acute porcine endotoxaemia*. Acta Anaesthesiol Scand 55:851-861.

Cullen DJ, Coyle JP, Teplick R, Long MC (1989): *Cardiovascular, pulmonary, and renal effects of massively increased intra-abdominal pressure in critically ill patients*. Crit Care Med 17:118-121.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M (2007) *Immunity – The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease*. New Science Press Ltd, London.

Delaney A, Bradford C, McCaffrey J, Bagshaw SM, Lee R (2010) *Levosimendan for the treatment of acute severe heart failure: A meta-analysis of randomised controlled trials*. Int J Card 138:281-289.

Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J et al. (2008) *Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008*. Intensive Care Med 34:17-60.

Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D et al. (2013) *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012*. Intensive Care Med 39(2):165-228.

De Luca L, Colucci WS, Nieminen MS, Massie BM, Georghiade M (2006) *Evidence-based use of levosimendan in different clinical settings*. European Heart Journal 27:1908-1920.

Diebel LN, Dulchavsky SA, Wilson RF (1992) *Effect of increased intra-abdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow.* J Trauma 33:45-48.

Dilek M, Inal MT, Sut N (2012): *The effects of levosimendan vs dobutamine added to dopamine on liver functions assessed with noninvasive liver function monitoring in patients with septic shock.* J Crit Care 27:318.e1-318.e6.

Doi K, Leelahavanichkul A, Yuen PST, Star RA (2009) *Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury.* J Clin Invest 119:2868-2878.

Douglas (1972) *Of pig and men and research: A Review of Applications and Analogies of the Pig, sus scrofa, in Human Medical Research.* Space Life Science 3:226-234.

Drost CJ (1978) *Vessel diameter-independent volume flow measurement using ultrasound.* Proceedings San Diego Biomedical Symposium 17: 299-302.

Dünser M, Mayr A, Tür A, Pajk W, Friesenecker B, Knotzer H, Ulmer H, Hasibeder W (2003) *Ischemic skin lesions as a complication of continuous vasopressin infusion in catecholamine-resistant vasodilatory shock: Incidence and risk-factors.* Crit Care Med 31:1394-1398.

Edes I, Kiss E, Kitada Y, Powers FM, Papp JG, Kranias EG, Solaro RJ (1995) *Effects of Levosimendan, a Cardiotonic Agent Targeted to Troponin C, on Cardiac Function and on Phosphorylation and Ca<sup>2+</sup> Sensitivity of Cardiac Myofibrils and Sarcoplasmic Reticulum in Guinea Pig Heart.* Circ res 77:107-113.

Ellis CG, Bateman RM, Sharpe MD, Sibbald WJ, Gill R (2002) *Effect of a maldistribution of a microvascular blood flow on capillary O<sub>2</sub> extraction in sepsis.* Am J Physiol Heart Circ Physiol 282:156-164.

Emerson H (1911) *Intra-abdominal pressures*. Arch Int Med 7:754-784.

Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S, Mayer K, Oppert M, Olthoff D, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Stuber F, Weiler N, Welte T, Bogatsch H, Hartog C, Faybik P, Hetz H (2006) *Plasma disappearance rate of indocyanine green in liver dysfunction*. Transplant Proc 38(3):801-802.

Erhardt W, Henke J (2000) in: Egner B: *Blutdruck auf den Punkt gebracht*. Parey Buchverlag, Berlin.

European Medical Agency (2013) *Hydroxy-ethyl starch (HES) should no longer be used in patients with sepsis or burn injuries or in critically ill patients – CMDh endorses PRAC recommendations*. EMA 640658/2013, [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news\\_and\\_events/news/2013/10/news\\_detail\\_001930.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2013/10/news_detail_001930.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1), zitiert am 22.11.2016.

Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J (2004) *Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units*. Intensive Care Med 30:589–596.

Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M,

Hartog CS, Welte T, Heublein S, Dennler U, Reinhart K (2016) *Hospital incidence and mortality rates of sepsis—an analysis of hospital episode (DRG) statistics in Germany from 2007 to 2013*. Dtsch Arztebl Int 113:159–66.

DOI:10.3238/arztebl.2016.0159.

Flevari P, Parissis JT, Leftheriotis D, Panou F, Kourea K, Kremastinos DT (2006) *Effect of Levosimendan on Ventricular Arrhythmias and Prognostic Autonomic Indexes in Patients With Decompensated Advanced Heart Failure Secondary to Ischemic or Dilated Cardiomyopathy*. Am J Cardiol 98:1641–1645.

Goedje O, Hoeke K, Lichtwarck-Achoff M, Faltchauser A, Lamm P, Reichart B (1999) *Continuous cardiac output by femoral artery thermodilution calibrated pulse contour analysis: Comparison with pulmonary artery thermodilution*. Crit Care Med 27(11):2407-2412.

Greif W, Forse A (1998) *Hemodynamic Effects of the Laparoscopic Pneumoperitoneum During Sepsis in a Porcine Endotoic Shock Model*. Ann Surg 227(4):474-480.

Gruhn N, Nielsen-Kudsk JE, Theilgaard S, Bang L, Olesen SP, Aldershvile J (1998) *Coronary Vasorelaxant Effect of Levosimendan, a New Inodilator with Calcium-Sensitizing Properties*. J Cardiovasc Pharmacol 31(5):741-749.

Gutierrez G, Clark C, Brown SD, Price K, Ortiz L, Nelson C (1994) *Effect of dobutamine on oxygen consumption and gastric mucosal pH in septic patients*. Am J Respir Crit Care Med 150:324-329.

Hachenberg T, Ebel C, Czorny M, Thomas H, Wendt M (1998) *Intrathoracic and pulmonay blood volume during CO<sub>2</sub>-pneumoperitoneum in humans*. Acta Anaesthesiol Scand 42:794-798.

Hadem C (2008) *Das Abdominelle Kompartmentsyndrom: hämodynamische, respiratorische und histologische Auswirkungen der wiederholten Druckerhöhungen am Tiermodell Schwein*. Medizinische Dissertation, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Deutschland.

Haikala H, Kaivola J, Nissinen E, Wall P, Levijoki J, Lindén IB (1995) *Cardiac Troponin C as a Target Protein for a Novel Calcium Sensitizing Drug, Levosimendan*. J Mol Cell Cardiol 27:1859-1866.

- Haikala H, Nissinen E, Etemadzadeh E, Levijoki J, Lindén IB (1995) *Troponin C-Mediated Calcium Sensitization Induced by Levosimendan Does Not Impair Relaxation*. J Cardiovasc Pharmacol 25:794-801.
- Hannon JP, Bossone CA, Wade CE (1990) *Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research*. Lab Animal Sci 40:293-298.
- Hartemink KJ, Groeneveld AB (2012) *Vasopressors and Inotropes in the Treatment of Human Septic Shock: Effect on Innate Immunity?* Inflamm 35(1):206-213.
- Hein M, Roehl AB, Baumert JH, Scherer K, Steendijk P, Rossaint R (2009) *Anti-ischemic effects of inotropic agents in experimental right ventricular infarction*. Acta Anaesthesiol Scand 53: 941–948.
- Heyland DK (2007) *Selenium supplementation in critically ill patients: can too much of a good thing be a bad thing?* Critical Care 11:153.
- Hofer CK, Senn A, Weibel L, Zollinger A (2008) *Assessment of stroke volume variation for prediction of fluid responsiveness using the modified FloTrac™ and PiCCOplus™ system*. Crit Care 12(3):R82.
- Hoffmann JN, Vollmar B, Laschke MW, Inthorn D, Schildberg FW, Menger MD (2002) *Hydroxyethyl starch (130 kD), but not crystalloid volume support, improves microcirculation during normotensive endotoxemia*. Anaesthesiol 97(2):460-470.
- Ince C, Sinaasappel M (1999) *Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock*. Crit Care Med 27(7):1369-1377.
- Kahainen P, Pollesello P, Levijoki J, Haikala H (2001) *Levosimendan Increases Diastolic Coronary Flow in Isolated Guinea –Pig Heart by Opening ATP-Sensitive Potassium Channels*. J Cardiovasc Pharmacol 37(4):367-374.

Kashtan J, Green JF, Parsons EQ, Holcroft JW (1981) *Hemodynamic effects of increased abdominal pressure*. J Surg Res 30:249-255.

Kern H, Schröder T, Kaulfuss M, Martin M, Kox WJ, Spies CD (2001) *Enoximone in contrast to dobutamine improves hepatosplanchnic function in fluid-optimized septic shock patients*. Crit Care Med 29(8):1519-1525.

Khwannimit B, Bhurayanontachai R (2011) *Prediction of fluid responsiveness in septic shock patients: comparing automated pulse pressure variation by IntelliVue MP monitor and stroke volume variation by FloTrac™/Vigileo™*. Crit Care 15(Suppl 1):p53.

Klinke R, Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S (2009) *Physiologie*. 6. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart.

Klosterhalfen B, Hauptmann S, Tietze L, Töns C, Winkeltau G, Küpper W, Kirkpatrick CJ (1997) *The influence of heat shock protein 70 induction on hemodynamic variables in a porcine model of recurrent endotoxemia*. Shock (7)5:358-363.

Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE (1985) *Prognosis in Acute Organ-System Failure*. Ann Surg 202(6):685-693.

Knichwitz G, Rotker J, Mollhoff T, Richter KD, Brussel T (1998) *Continuous intramucosal PCO<sub>2</sub> measurement allows the early detection of intestinal malperfusion*. Crit Care Med. 26:1550-1557.

Ko SH, Lee SK, Han YJ, Choe H, Kwak YG, Chae SW, Cho KP, Song HS (1997) *Blockade of Myocardial ATP-sensitive Potassium Channels by Ketamine*. Anaesthesiology 87:68-74.

Kopustinskiene DM, Pollesello P, Saris NE (2001) *Levosimendan is a mitochondrial  $K_{ATP}$  channel opener*. Eur J Pharmacol 428:311–314.

Kretz FJ, Schäffer J (2008) *Anästhesie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie*, 5. Auflage. Springer Medizin Verlag Heidelberg.

Lachmann B (1992) *Open up the lung and keep the lung open*. Intensive Care Med 18(6):319-21.

Lahtinen P, Pitkänen O, Pölonen P, Turpeinen A, Kiviniemi V, Uusaro (2011) *Levosimendan reduces heart failure after cardiac surgery: A prospective, randomized, placebo-controlled trial*. Crit Care Med 39(10):2263-2270.

Landry DW, Levin HR, Gallant EM, Ashton RC, Seo SB, D`Alessandro DB, Oz MC, Oliver JA (1997) *Vasopressin Deficiency Contributes to the Vasodilation of Septic Shock*. Circulation 95(5):1122-1125.

Lapinsky SE, Mehta S (2005) *Bench-to-bedside review: Recruitment and recruiting maneuvers*. Crit Care 9:60-65.

Leier CV, Dei Cas L, Metra M (1994) *Clinical relevance and management of the major electrolyte abnormalities in congestive heart failure Hyponatremia hypokalemia and hypomagnesemia*. Am Heart J 128:564-574.

Loeffler M, Reinhart K (2007) *Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study*. Intensive Care Med 33:606–618.

Löffler G (2005) *Basiswissen Biochemie*. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 6. Auflage, S.434 ff.

Luckner G, Dünser M, Jochberger S, Mayr V, Wenzel V, Ulmer H, Schmid S, Knotzer H, Pajk W, Hasibeder W, Mayr A, Friesenecker B (2005) *Arginine vasopressin in 316 patients with advanced vasodilatory shock*. Crit Care Med 33:2659-2666.

Magder S, Rastepagarnah M (1998) *Role of Neurosympathetic Pathways in the Vascular Response to Sepsis*. J Crit Care 13(4):169-176.

Malbrain ML (2004) *Different techniques to measure intra-abdominal pressure (IAP): time for a critical re-appraisal*. Int Care Med 30:357-371.

Martikainen TJ, Tenhunen JJ, Uusaro A, Ruokonen E (2003) *The effects of vasopressin on systemic and splanchnic hemodynamics and metabolism in endotoxin shock*. Anaesth Analg 97(6): 1756-1763.

Martin C, Viviand X, Leone M, Thirion X (2000) *Effect of norepinephrine on the outcome of septic shock*. Crit Care Med 28(8): 2758-2765.

Marx G, Pedder S, Smith L, Swaraj S, Grime S, Stockdale H, Leuwer M (2006): *Attenuation of capillary leakage by hydroxyethyl starch (130/0.42) in a porcine model of septic shock*. Crit Care Med 34(12):3005-3010.

Marx G, Albers J, Bauer M, Eikermann M, Gnass I, Hobohm C, Janssens U, Kluge S, Kranke P, Maurer T, Merz W, Mosch C, Neugebauer E, Quintel M, Schindler A, Senninger N, Trampisch HJ, Waydhas C, Wildenhauer R, Zacharowski K (2014) *S3-Leitlinie „Intravasale Volumentherapie bei Erwachsenen*. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Fachgesellschaften, zitiert am 21.10.2016. URL: [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/001-020I\\_S3\\_Intravasale\\_Volumentherapie\\_Erwachsenen\\_2014-09.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/001-020I_S3_Intravasale_Volumentherapie_Erwachsenen_2014-09.pdf)

Mebazza A, Gheorghide M, Zannad FM, Parillo JE (2008) *Acute Heart Failure*. Springer-Verlag London, UK. S. 176.

- Meldrum DR, Moore FA, Moore EE, Franciose RJ et al. (1997) *Prospective characterization and selective management of the abdominal compartment syndrome*. Am J Surg 174:667.
- Merk B (1992) *Einfluss von Alter, Rasse, Haltung, Fütterung und Fortpflanzungsstadium auf Serumenzymwerte beim Schwein*. Vet Med Diss, München.
- Miller SJ, Wallace Jr. RJ, Musher DM, Septimus EJ, Kohl S, Baughn RE (1980) *Hypoglycemia as a Manifestation of Sepsis*. Am J Med 68(5):649-654.
- Moerer O, Plock E, Mgbor U, Schmid A, Schneider H, Wischnewsky MB, Burchardi H (2007) *A German national prevalence study on the cost of intensive care: an evaluation from 51 intensive care units*. Crit Care 11:R69.
- Morelli A, De Castro S, Teboul JL, Singer M, Rocco M, Conti G, De Luca L, Di Angelantonio E, Orecchioni A, Pandian NG, Pietropaoli P (2005) *Effects of levosimendan on systemic and regional hemodynamics in septic myocardial depression*. Intensive Care Med 31:638-644.
- Morelli A, Donati A, Ertmer C, Rehberg S, Lange M, Orecchioni A, Cecchini V, Landoni G, Pelaia P, Pietropaoli P, Van Aken H, Teboul JL, Ince C, Westphal M (2010): *Levosimendan for resuscitating the microcirculation in patients with septic shock: a randomized controlled study*. Crit Care 14:R232.
- Müllenheim J, Rulands R, Wietschorke T, Fräßdorf J, Preckel B, Schlack W (2001) *Late Preconditioning is Blocked by Racemic Ketamine, But Not by S(+)-Ketamine*. Anaesth Analg 93:265-270.
- Muller-Werdan U, Buerke M, Ebel H et al. (2006) *Septic cardiomyopathy – A not yet discovered cardiomyopathy?* Exp Clin Cardiol 11(3):226-236.

Müllner M, Urbanek B, Havel C, Losert H, Waechter F, Gamper G. *Vasopressors for shock*. Cochrane Database Syst Rev 2004(3):CD003709

Murry C, Jennings RB, Reimer KA (1986) *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. Circulation 74(5):1124-1136.

Nast-Kolb D, Bail HJ, Taeger G (2005) *Moderne Diagnostik des Bauchtraumas*. Chirurg 76:919-926.

Nessler N, Launey Y, Aninat C, Morel F, Mallédant Y, Seguin P (2012) *Clinical review: The liver in sepsis*. Critical Care 16:235.

Nielsen J, Nilsson M, Fredén F, Hultman J, Alström U, Kjærgaard J, Hedenstierna G, Larsson A (2006) *Central hemodynamics during lung recruitment maneuvers in hypovolemia, normovolemia and hypervolemia. A study by echocardiography and continuous pulmonary artery flow measurements in lung-injured pigs*. Intensive Care Med 32:585-594.

Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF (1999) *Sevoflurane Mimics Ischemic Preconditioning Effects on Coronary Flow and Nitric Oxide Release in Isolated Hearts*. Anaesthesiology 91:701-712.

Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A, Rossi P, Wanecek M (2001) *Effects of levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock*. Crit Care Med 29(11):2185-2193.

Osadchii OE (2010) *Mechanisms of hypokalemia-induced ventricular arrhythmogenicity*. Fundam Clin Pharmacol 24(5):547-559.

Papoff P, Caresta E, Versacci P, Pinto R, Moretti C, Midulla F (2012) *Beneficial Effects of Levosimendan in Infants With Sepsis-Associated Cardiac Dysfunction*. Pediatr Emer Care 28:1062-1065.

Perner A, Haase N, Guttormsen AB, Tenhunen J, Klemenzson G, Åneman A, Madsen KR, Møller MH, Elkjær JM, Poulsen LM, Bendtsen A, Winding R, Steensen M, Berezowicz P, Søe-Jensen P, Bestle P, Strand K, Wils J, White JO, Thornberg KJ, Quist L, Nielsen J, Andersen LH, Holst LB, Thormar K, Kjældgaard AL, Fabritius ML, Mondrup F, Pott FC, Møller TP, Winkel P, Wetterslev J (2012) *Hydroxyethyl Starch 130/0.4 versus Ringer's Acetate in Severe Sepsis*. N Engl J Med 367:124-134.

Plank G (1988) *Untersuchungen über den Einfluss der Infektion mit Eperythrozoon suis auf das Hämostasepotential des Schweins*. Vet Med Diss, München.

Pollesello P, Ovaska M, Kaivolai J, Tilgmann C, Lundstrom K, Kalkkinen N, Ulmanen I, Nissinen E, Taskinen J (1994) *Binding of a New Ca<sup>2+</sup> Sensitizer, Levosimendan, to Recombinant Human Cardiac Troponin C*. J Biol Chem 269(46):28584-28590.

Prielipp RC, MacGregor DA, Royster RL, Kon ND, Hines MH, Butterworth J (1998) *Dobutamine antagonizes epinephrine's biochemical and cardiotoxic effects: results of an in vitro model using human lymphocytes and a clinical study in patients recovering from cardiac surgery*. Anesthesiology 89(1):49-57.

Pusajo JF, Bumaschny E, Aguirola A et al. (1996) *Postoperative intraabdominal pressure: its relation to splanchnic perfusion, sepsis, multiple organ failure and surgical intervention*. Int Crit Care Dig 13:2-8.

Raeburn CD, Moore EE, Biffi WL, Johnson JL, Meldrum DR, Ofner PJ, Franciose RJ, Burch JM (2001) *The abdominal compartment syndrome is a morbid complication of post injury damage control surgery*. Am J Surg 182:542-546.

Raetz C, Whitfield C (2002) *Lipopolysaccharide Endotoxins*. Annu Rev Biochem 71:635-700.

Ragaller M, Theilen H, Koch T (2007) *Mikrozirkulation bei Sepsis und septischem Schock*. Hämostaseologie 27:59-63.

Rasmussen IB, Berggren U, Arvidsson D, Ljungdahl M, Haglund U (1995) *Effects of pneumoperitoneum on splanchnic hemodynamics: an experimental study in pigs*. Eur J Surg 161:819-826.

Rat der Europäischen Gemeinschaft (1986) *Richtlinie des Rates vom 24. November 1986 zur Annäherung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendete Tiere*. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften (29) L358/1:1-28.

Raum M, Rixen D, Linker R, Gregor S, Holzgraefe B, Neugebauer E (2002) *Beeinflussung der Plasma-Laktatkonzentration durch laktathaltige Infusionslösungen*. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 37:356-358.

Reinelt H, Radermacher P, Fischer G, Geisser W, Wachter U, Wiedeck H, Georgieff M, Vogt J (1997): *Effects of a Dobtamine-induced Increase in Splanchnic Blood Flow on Hepatic Metabolic Activity in Patients with Septic Shock*. Anaesthesiol 86:818-824.

Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Bardutzky J, Dempfle PE, Forst H, Gastmeier P, Gerlach H, Gründling M, John S, Kern W, Kreymann G, Krüger W, Kujath P, Marggraf G, Martin J, Mayer K, Meier-Hellmann K, Oppert M, Putensen C, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Seifert H, Spies C, Stüber F, Weiler N, Weimann A, Werdan K, Welte T: *Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis*. Stand: 29.06.2010. [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/079-001l\\_S2k\\_Sepsis\\_Leitlinientext\\_01.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/079-001l_S2k_Sepsis_Leitlinientext_01.pdf) (abgerufen am: 10.01.2013).

Rémond D, Ortigues-Marty I, Isserty A, Lefaiivre J (1998) *Technical note: measuring portal blood flow in sheep using an ultrasonic transit time flow probe.* J Anim Sci 76(10):2712-2716.

Reuter DA, Huang C, Edrich T, Shernan SK, Eltzschig HK (2010) *Cardiac Output Monitoring Using Indicator-Dilution Techniques: Basics, Limits, and Perspectives.* Anaesth Analg 110:799-811.

Richards W, Scovill W, Shin B, Reed W (1983) *Acute renal failure associated with increased intra-abdominal pressure.* Ann Surg 197:183-187.

Riecker G (1984): *Schock.* Springer Verlag, Berlin, S. 1.

Rittirsch D, Hoesel LM, Ward PA (2007) *The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis.* J Leukoc Biol 81:137-143.

Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M (2001): *Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock.* N Eng J Med 345(19):1368-1377.

Rosário AL, Park M, Brunialti MK, Mendes M, Rapozo M, Fernandes D, Salomao R, Laurindo FR, Schettino GP, Azevedo LC (2011): *SvO<sub>2</sub>-guided resuscitation for experimental septic shock: Effects of fluid infusion and dobutamine on hemodynamics, inflammatory response, and cardiovascular oxidative stress.* Shock 36(6):604-612.

Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL (2004) *Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock.* Crit Care Med 32(9):1825-1831.

Schachtrupp A, Lawong G, Afify M, Graf J, Toens C, Schumpelick V (2005) *Fluid resuscitation preserves cardiac output but cannot prevent organ damage in a porcine model during 24h of intraabdominal hypertension*. Shock 24(2):153-158.

Schlichtig R, Mehta N, Gayowski TJ (1996) *Tissue-arterial PCO<sub>2</sub> difference is a better marker of ischemia than intramural pH (pHi) or arterial pH-pHi difference*. J Crit Care 11(2):51-56.

Schneider CG, Scholz J, Izbicki JR (2000) *Das abdominelle Kompartmentsyndrom*. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 35:523-529.

Schöchl H, Solomon C, Schulz A, Voelckel W, Hanke A, van Griensven M, Redl H, Bahrami S (2011): *Thrombelastometry (TEM®) Findings in Disseminated Intravascular Coagulation in a Pig Model of Endotoxemia*. Mol Med 17(3-4):266-272.

Schottmüller H (1914) *Verhandlungen des 31. Deutschen Kongresses für Innere Medizin*, Band 31, S. 257–280.

Schulte am Esch J, Bause H, Kochs E, Scholz J, Standl T, Werner C (2011) *Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*, 4. Auflage, Thieme, Stuttgart.

Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ (1998) *Ischemic Preconditioning in the Intact Rat Heart Is Mediated by  $\delta_1$ - But Not  $\mu$ - Or  $\kappa$ -Opioid Receptors*. Circ 97:1282-1289.

Schuster HP, Werdan K (2000) *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen*. 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin. S. 282f.

Siegenthaler W, Blum HE (2006) *Klinische Pathophysiologie*. 9. Auflage, Thieme, Stuttgart.

Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GM, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC (2016) *The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)*. JAMA 315(8):801-810.

Snapper JR, Thabes JS, Lefferts PL, Lu W (1998) *Role of Endothelin in Endotoxin-induced Sustained Pulmonary Hypertension in Sheep*. Am J Respir Crit Care Med 157:81-88.

Spronk PE, Zandstra DF, Ince C (2004) Bench-to-bedside review: Sepsis is a disease of the microcirculation. Crit Care 8:462-468.

Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H, Laterre PF, Reinhardt K, Cuthbertson BH, Payen D, Briegel J (2008) *Hydrocortisone Therapie for Patients with Septic Shock*. N Engl J Med 358:111-124.

Swan HJ, Ganz W, Forrester J, Marcus H, Diamond G, Chonette D (1970) *Catheterization of the heart in man with use of a flow-directed balloon-tipped catheter*. N Engl J Med 283(9):447-451.

Takahashi R, Talukder H, Endoh M (2000) *Inotropic effects of OR-1896, an active metabolite of levosimendan, on canine ventricular myocardium*. Eur J Pharmacol 400:103–112.

Tavernier B, Mebazza A, Mateo P, Sys S, Ventura-Clapier R, Veksler V (2001) *Phosphorylation-dependent Alteration in Myofilament Ca<sup>2+</sup>-Sensitivity but Normal Mitochondrial Function in Septic Heart*. Am J Respir Crit Care Med 163:462-367.

- Tenhunen JJ, Martikainen TJ, Uusaro A, Ruokonen E (2003) *Dopexamine reverses colonic but not gastric mucosal perfusion defects in lethal endotoxin shock*. Br J Anaesth 91:878-885.
- Tsuchida A, Liu Y, Liu GS, Cohen MV, Downey JM (1994)  *$\alpha_1$ -Adrenergic Agonists Precondition Rabbit Ischemic Myocardium Independent of Adenosine by Direct Activation of Protein Kinase C*. Circ Res 75:576-585.
- Upadhyay KK, Singh VP, Murty TV (2007) *Gastric tonometry as a prognostic index of mortality in sepsis*. Med J A For Ind 63(4):337-340.
- Uusaro A, Russell JA, Walley KR, Takala J (2000) *Gastric-arterial pCO<sub>2</sub> gradient does not reflect systemic and splanchnic hemodynamics or oxygen transport after cardiac surgery*. Shock 14(1):13-17.
- Van Aken H, Reinhart K, Zimpfer M (2001) *Intensivmedizin*. 1. Auflage, Thieme, Stuttgart, New York, S. 252 ff. S.290 ff., S. 462 f.
- Van Aken H, Reihart K, Welte T, Weigand M (2014) *Intensivmedizin*. 3. Auflage, Thieme, Stuttgart, S. 203 ff., S. 277 ff.
- Van Haren F, Rozendaal F, van der Hoeven J (2003) *The Effect of Vasopressin on Gastric Perfusion in Catecholamine-Dependent Patients in Septic Shock*. Chest 124(6):2256-2650.
- Waldmann KH, Wendt M (2004) *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*. 4. Auflage, Parey-Verlag, Stuttgart.
- Werdan K, Schuster HP, Müller-Werdan U (2005) *Sepsis und MODS*. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 4. Auflage, S. 26.
- Wiener RS, Wiener DC, Larson RJ (2008) *Benefits and Risks of Tight Glucose Control in Critically Ill Adults*. JAMA 300(8):933-944.

Wiklund A, Kylhammar D, Rådegran G (2012) *Levosimendan Attenuates Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension in a Porcine Model*. J Cardiovasc Pharmacol 59:441-449.

Wilhelm S, Schuster M, Standl T (2005) *Abdominelles Kompartmen-Syndrom*. Intensivmedizin up2date 1(1):69-81.

Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperlakis N (1997) *The Novel Calcium Sensitizer Levosimendan Activates the ATP-Sensitive K<sup>+</sup> Channel in Rat Ventricular Cells*. JPET 283:375–383.

Zager RA, Johnson AC, Lund S, Hanson SY, Abrass CK (2006) *Levosimendan protects against experimental endotoxemic acute renal failure*. Am J Physiol Renal Physiol 290(6):F1453-1462.

Zander R (1998) *Die arterio-intramukosale CO<sub>2</sub>-Partialdruck-Differenz (aiDCO<sub>2</sub>)*. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 33:52-53.

Zarjou A, Agarwal A (2011) *Sepsis and Acute Kidney Injury*. J Am Soc Nephrol 22:999-1006.

Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC (2003) *Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms*. Br J Anaesth 91:551-565.

Zerkowski HR und Baumann G (2006) *HerzAkutMedizin*. 2. Auflage Steinkopff Verlag, Darmstadt, S. 27f.

## **Danksagung**

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Alwin E. Goetz und Univ.-Prof. Dr. Daniel Reuter für die Aufnahme als Doktorand in Ihrer Klinik und der Arbeitsgruppe „Hämodynamisches Monitoring“ bedanken.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Jens Kubitz danke ich für die Überlassung des interessanten und praxisrelevanten Themas dieser Dissertation. In ihm und Herrn Dr. Hans Peter Richter hatte ich zwei verlässliche Betreuer, die jederzeit für Unterstützung und Rat bei der Fertigstellung dieser Arbeit zur Verfügung standen. Sie vermittelten mir wichtige Grundlagen des Faches Anästhesiologie und begleiteten mich auch auf meinen ersten Schritten in der Klinik. Das entstandene freundschaftliche Verhältnis schätze ich bis heute sehr.

Meinem Mitdoktoranden Stephan Holst gilt großer Dank für die Unterstützung während der gesamten Zeit der Studie.

Dem Team des Forschungslabors der Anästhesiologie am UKE um Frau Weber danke ich für die freundliche und engagierte Unterstützung unserer Versuchsreihe.

Herrn Kersten vom Institut für Medizinische Biometrie und Informatik am UKE danke ich für die geduldige Unterstützung bei der Datenauswertung. Herrn Volker Grabe danke ich für die Unterstützung bei der Arbeit mit dem Programm SPSS.

Der größte Dank gilt meiner Familie, vor allem meiner Frau Larissa, ohne deren Rückhalt und Motivation diese Arbeit nie zur Vollendung gekommen wäre.

## Eigene Publikationen

Ehrenfort M, Holst S, Kubitz JC, Richter HP (2010): *Levosimendan kann zur Therapie des septischen Schocks eingesetzt werden*. Postervortrag DIVI-Kongress, Hamburg.

Richter HP, Ehrenfort M, Holst S, Kubitz JC (2010): *Levosimendan provides better hemodynamics than dobutamine in experimental septic shock*. Electronic poster ESCIM-Congress, Barcelona

([http://poster-consultation.esicm.org/ModuleConsultationPoster/posterDetail.aspx?intIdPoster=2193&strGUIDConsultation=f6420c12-0dc2-481c-8c67-2f343fd a816f&strGUIDConsultation=6b61ad6e-c8ce-4308-8ef2-70bcbd618d07#ctl00\\_plhContainerModule\\_hypDepotCommentaireAncre](http://poster-consultation.esicm.org/ModuleConsultationPoster/posterDetail.aspx?intIdPoster=2193&strGUIDConsultation=f6420c12-0dc2-481c-8c67-2f343fd a816f&strGUIDConsultation=6b61ad6e-c8ce-4308-8ef2-70bcbd618d07#ctl00_plhContainerModule_hypDepotCommentaireAncre), Abrufdatum 07.10.2015)

## **Lebenslauf**

Entfällt aus datenschutzrechtlichen

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....