

**Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
der Universität Würzburg**

Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. N. Roewer

**Auswirkungen verschiedener Volumensubstitutionslösungen auf die Integrität der
Leber in der CLP-induzierten Sepsis der Ratte**

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Tanja Nadine Stüber

aus Würzburg

Würzburg, Mai 2012

Referent: Prof. Dr. med. Christian Wunder
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Nicolas Schlegel
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 14.05.2013

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung..... | 1 |
| 1.1 | Definitionen der Sepsiserkrankungen | 1 |
| 1.1.1 | SIRS..... | 1 |
| 1.1.2 | Sepsis | 2 |
| 1.1.3 | Schwere Sepsis..... | 2 |
| 1.1.4 | Septischer Schock | 3 |
| 1.1.5 | PIRO-Konzept..... | 3 |
| 1.2 | Epidemiologie..... | 3 |
| 1.3 | Pathophysiologie der Sepsis..... | 4 |
| 1.4 | Leber und Sepsis..... | 10 |
| 1.5 | Volumentherapie | 13 |
| 1.5.1 | Kristalloide Lösungen..... | 14 |
| 1.5.2 | Kolloidale Lösungen | 15 |
| 2 | Fragestellung | 19 |
| 3 | Material und Methoden | 20 |
| 3.1 | Operation der Tiere..... | 20 |
| 3.1.1 | Erfassung der makrohämodynamischen Parameter | 21 |
| 3.1.2 | Intravitale Mikroskopie der Leber | 22 |
| 3.2 | Zytokinwertbestimmung mittels Luminex Assay | 22 |
| 3.3 | Pathologisch-histologische Untersuchungen am Paraffinschnitt der Leber | 24 |
| 3.3.1 | Herstellung von Paraffinschnitten | 24 |
| 3.3.2 | Hämatoxylin-Eosin (H.E.)-Färbung..... | 25 |
| 3.4 | Pathologisch-histologische Untersuchungen am Cryostatschnitt der Leber | 27 |
| 3.4.1 | Herstellung der Cryostatschnitte | 27 |
| 3.4.2 | Naphthol AS-D Chloracetat-Esterase- und α -Naphthylacetat-Esterase- Verfahren zum Anfärben von Granulozyten..... | 27 |
| 3.5 | Materialbezeichnung..... | 29 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4 | Ergebnisse | 30 |
| 4.1 | Sterblichkeit der Tiere | 30 |
| 4.2 | Hämatoxylin-Eosin (H.E.)-Schnitte | 31 |
| 4.3 | Serumblut-Parameter | 32 |
| 4.3.1 | Leberenzymparameter | 32 |
| 4.3.2 | Lebersyntheseparameter | 34 |
| 4.3.3 | Entzündungsparameter | 37 |
| 4.3.4 | Gerinnungsparameter | 38 |
| 4.4 | Zytokinspiegel..... | 41 |
| 4.5 | Hepatische <i>In vivo</i> -Flussmessung und intrahepatische Gefäßdurchmesser | 45 |
| 4.6 | Granulozytenfärbung..... | 47 |
| 4.7 | Hämodynamische Parameter | 50 |
| 5 | Diskussion | 54 |
| 5.1 | Diskussion der Methodik | 54 |
| 5.2 | Diskussion der Ergebnisse | 56 |
| 5.2.1 | Einfluss der Volumenssubstitutionsmittel auf die Zytokinlevel..... | 56 |
| 5.2.2 | Einfluss der Volumenssubstitutionsmittel auf die Funktion der Leber | 59 |
| 5.2.3 | Beeinträchtigung von makro-, mikrozirkulatorischen und inflammatorischen Parametern..... | 66 |
| 6 | Zusammenfassung | 70 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 72 |

Abkürzungen

| | |
|--------------------|--|
| A | Arterie |
| CARS | Compensatory anti-inflammatory response syndrome (Antiinflammation) |
| CLP | Coecum-Ligation und Punktion |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| DIC | Disseminierte intravasale Gerinnung |
| DO ₂ -I | globales Sauerstoffangebot |
| ELISA | Enzym-linked Immunosorbent Assay |
| FFP | Fresh-Frozen-Plasma |
| FiO ₂ | inspiratorischer Sauerstoffgehalt |
| G | Gauge |
| GOT | Glutamat-Oxalat-Transferase |
| GFR | Glomeruläre Filtrationsrate |
| GPT | Glutamat-Pyruvat-Transferase |
| Gruppe | Grp |
| GSH | Glutathion |
| h | Stunde |
| Hb | Hämoglobin |
| H.E. | Hämatoxylin-Eosin |
| HES | Hydroxyethylstärke |
| HMGB | High-Mobility-Group-Protein |
| HMW | High molecular weight (hohes Molekulargewicht) |
| HZV | Herzzeitvolumen |
| ICAM | Inter-Cellular Adhesion Molecule |
| iNOS | induzierbare NO-Synthase |
| kg | Kilogramm |
| KOD | kolloidotischer Druck |
| LMW | low molecular weight (niedriges Molekulargewicht) |
| MAP | Mean arterial pressure (mittlerer arterieller Druck) |
| MG | Molekulargewicht |
| MIF | Makrophageninhibitionsfaktor |

| | |
|------------------|--|
| min | Minute |
| MODS | Multiple Organ dysfunction syndrome (Multiorgandysfunktionssyndrom) |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| PaO ₂ | arterieller Sauerstoffpartialdruck |
| PAMP | Pathogen associated molecular patterns |
| PRP | Pattern recognition proteins |
| RES | Retikuloendotheliales System |
| s | Sekunde |
| SaO ₂ | arterielle Sauerstoffsättigung |
| TLR | Toll-like Rezeptoren |
| V | Vene |
| VCAM | vascular cell adhesion molecule |
| vWF | von-Willebrand-Faktor |
| W | Watt |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

1 Einleitung

Eine fulminante Reaktion des Organismus auf Bakterien oder deren Bestandteile wird als Sepsis bezeichnet. Neben der lokalen physiologischen Entzündungsreaktion kommt es dabei durch eine überschießende Immunaktivierung zu einer Beeinflussung wichtiger körpereigener Steuerungsmechanismen. Die daraus folgende Dysfunktion von Hämodynamik, Gerinnung und wichtigen Organen bedingt eine hohe Rate an Morbidität und Mortalität. Auf Grund dieser schweren Komplikationen und einer hohen Prävalenz von 12,9 %, stellt die Sepsis ein bedeutendes intensivmedizinisches Krankheitsbild dar (Engel *et al.*, 2007). Ein wichtiger Eckpunkt der Sepsistherapie ist neben Herdsanierung, antiinfektiöser Therapie und Sicherung der Organfunktionen auch die Kreislaufstabilisation mittels Volumensubstitution. Zur Volumensubstitution stehen verschiedene Infusionslösungen zur Verfügung. Diese werden hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf Flüssigkeitsverteilung, Nebenwirkungsprofil sowie Leber- und Nierenfunktionsbeeinträchtigungen kontrovers diskutiert, sodass bis heute keine eindeutige Empfehlung für eines der Produkte besteht.

1.1 Definitionen der Sepsiserkrankungen

Der 1914 durch Schottmüller geprägte Begriff Sepsis wurde 1991/1992 durch die American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (ACCP/SCCM) in Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock untergliedert (Bone *et al.*, 1992).

1.1.1 SIRS

Unter einem SIRS versteht man eine systemische inflammatorische Entzündungsreaktion, unabhängig ihrer Genese.

Zwei der folgenden Kriterien müssen mindestens erfüllt sein:

1. Körpertemperatur $> 38^{\circ}\text{C}$ **oder** $< 36^{\circ}\text{C}$
2. Herzfrequenz $> 90/\text{min}$ (Tachykardie)
3. Tachypnoe mit einer Atemfrequenz $> 20/\text{min}$ **oder** Hyperventilation mit $\text{pCO}_2 < 33$ mmHg

4. Leukozytose ($> 12000/\mu\text{l}$) **oder** Leukopenie ($< 4000/\mu\text{l}$) **oder** 10 % unreife Neutrophile im Differentialblutbild (Linksverschiebung)

1.1.2 Sepsis

Die Sepsis ist ein durch Infektion entstandenes systemisches inflammatorisches Response-Syndrom (SIRS). Dabei verursacht die systemische Einschwemmung von Mikroben oder mikrobiellen Produkten eine Aktivierung körpereigener Mediatorsysteme, mit der häufigen Folge von Organschädigungen (Janssens und Graf, 2008).

Ein frühzeitiger Therapiebeginn ist für das Überleben des septischen Patienten entscheidend. Kumar et al. verdeutlichen in einer retrospektiven Observationsstudie die Auswirkungen einer verspäteten antimikrobiellen Therapie anhand von 2154 Patienten im septischen Schock. Die Sterblichkeit stieg dabei um 7 % pro Stunde ohne Antibiotikagabe (Kumar *et al.*, 2006).

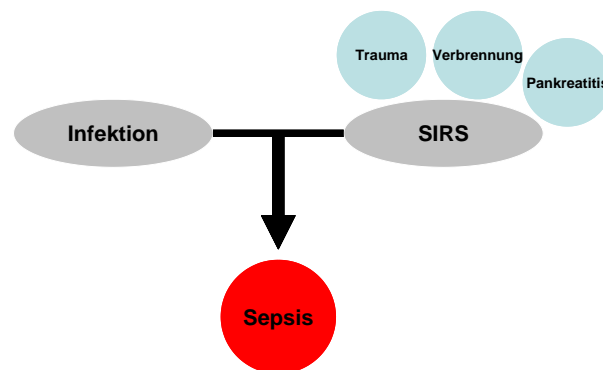


Abb. 1.1: Pathophysiologie der Sepsis. Eine systemische inflammatorische Reaktion des Körpers kann beispielsweise durch Trauma, Verbrennung und Pankreatitis entstehen. Ist eine zusätzliche Infektion nachweisbar spricht man von einer Sepsis. Abbildung verändert nach K.Reinhart et al.

1.1.3 Schwere Sepsis

Von einer schweren Sepsis spricht man, wenn sich zusätzlich zu den oben genannten Kriterien noch eine Organdysfunktion einstellt. Mindestens ein Kriterium muss erfüllt sein:

1. Enzephalopathie
2. Thrombozytopenie $< 100000/\text{mm}^3$ **oder** Gesamtzahlabfall $> 30 \%/24 \text{ h}$
3. Arterielle Hypotension $< 90 \text{ mmHg}$
4. Hypoxie mit $\text{PaO}_2 < 75 \text{ mmHg}$ (10 kPa) **oder** $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250 \text{ mmHg}$ (33 kPa)

5. Akutes Nierenversagen

6. Metabolische Azidose mit BE < -5 mmol **oder** Laktat > 1,5-facher Referenzwert

1.1.4 Septischer Schock

Der septische Schock umfasst die Kriterien für SIRS und Sepsis, sowie einen systolischen Blutdruckwert von unter 90 mmHg, oder eine Reduktion um 40 mmHg vom Ausgangswert für mindestens eine Stunde. Auch mit adäquater Volumengabe und dem Einsatz von Vasopressoren bleiben Hypoperfusion und Organdysfunktion bestehen.

Damit hat der septische Schock eine deutlich schlechtere Prognose als die schwere Sepsis (Levy *et al.*).

1.1.5 PIRO-Konzept

2001 wurde auf der International Sepsis Definition Conference das sogenannte PIRO-Konzept vorgestellt, in der Absicht die Consensuskriterien weiterzuentwickeln und mit dem Ziel, einen praktischen Rahmen für die Definition einer systemischen Inflammation durch Infektion zu entwickeln (Vincent *et al.*, 2003). In Anlehnung an die TNM-Klassifikation für Tumore wurde ein Staging-System geschaffen, das aus den folgenden vier Punkten besteht:

P - Prädisposition (Vorerkrankungen, die die Überlebenschance senken)

I - Infektion

R - Inflammatorische Reaktion

O - Organdysfunktion

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist das PIRO-Konzept allerdings noch nicht weit genug ausgereift, um den routinemäßigen klinischen Einsatz zu rechtfertigen.

1.2 Epidemiologie

Anhand der prospektiven multizentrischen Studie des Kompetenznetzwerkes Sepnet konnten erstmals zuverlässige Daten bezüglich der Häufigkeit septischer Krankheiten in Deutschland ermittelt werden. In Deutschland erkranken ca. 79.000 Menschen im Jahr an einer Sepsis und zusätzlich ca. 75.000 an schwerer Sepsis oder septischem Schock, wobei Atemwegsinfektionen vor abdominellen Infektionen den häufigsten Fokus darstellen. (Engel *et al.*, 2007)

In einer Longitudinalstudie von Dombrovskiy et al. zeigte sich, dass sich die Anzahl von Patienten mit schwerer Sepsis von 1993-2003 mehr als verdoppelte (Dombrovskiy *et al.*, 2007). Damit ist die schwere Sepsis eine der häufigsten Erkrankungen sowohl im Bereich der operativen, als auch der konservativen Intensivtherapie (Hachenberg, 2008). Die mittlere Krankenhausverweildauer liegt bei 12,3 Tagen. 19,4 % der Infektionen werden im Krankenhaus außerhalb der Intensivstation und 36,6 % auf Intensivstationen erworben. Diese stehen 35,4 % ambulant erworbenen Infektionen gegenüber, und verdeutlichen die Relevanz nosokomialer Infektionen für die Entstehung der Sepsis (Engel *et al.*, 2007).

Mit einer Letalität von 55,2 % unter stationärer, nicht intensivmedizinischer Versorgung und 48,4 % auf der Intensivstation stellen septische Krankheitsbilder die dritthäufigste Todesursache hinter akutem Myokardinfarkt und Tumorleiden dar (Reinhart *et al.*, 2006).

30% der finanziellen Ausgaben für die Intensivmedizin werden für die Therapie der Sepsis benötigt. Die direkten Kosten für die Behandlung der schweren Sepsis belaufen sich somit auf ca. 1,77 Milliarden Euro (Engel *et al.*, 2007).

In Anbetracht der Komplexität dieses Krankheitsbildes stellt das Management von Diagnosesicherung über die Behandlung bis zur Nachsorge eine große Herausforderung an die Forschung und die Ärzteschaft dar.

1.3 Pathophysiologie der Sepsis

Die Pathogenese der Sepsis ist durch unterschiedliche Faktoren charakterisiert, die über komplexe Interaktionen miteinander verknüpft sind. Der Krankheitsverlauf ist dabei durch den Ablauf und das Ausmaß der individuellen Immunreaktion bestimmt, welche im septischen Patienten oft unkontrolliert und überschießend erfolgt. Der Körper reagiert normalerweise auf eine Invasion pathogener Keime mit einer lokalen Elimination und verhindert damit eine systemische Entzündungsreaktion. Bei der Entstehung der Sepsis stellen grampositive Kokken wie Staphylokokkus oder gramnegative Stäbchen wie E. coli (*Escherichia coli*) und Pseudomonas in Deutschland die häufigsten Erreger dar (K. Reinhart, 2006a). Diese umgehen die lokale Elimination und induzieren eine systemische Abwehrreaktion des Körpers.

Auslöser der Abwehrreaktion sind mikrobielle Moleküle wie DNA, Exotoxine und Bestandteile der bakteriellen Zellwand. Diese Moleküle bezeichnet man als „pathogen associated molecular patterns“ (PAMP) und sie werden im Organismus durch membranständige oder zytoplasmatische „pattern recognition proteins“ (PRP) erkannt. PRPs werden auf der Oberfläche von Zellen des angeborenen Immunsystems exprimiert, welches sich aus Natürlichen Killerzellen, Mastzellen, Basophilen, Eosinophilen, Neutrophilen, Makrophagen und Dendritischen Zellen zusammensetzt. Zu den membranständigen PRPs gehören beispielsweise die „Toll-like-Rezeptoren“ (TLR), von denen zehn verschiedene Varianten bekannt sind (K. Reinhart, 2006a).

Grampositive und gramnegative Erreger bewirken unterschiedliche Abwehrmechanismen des Wirtsorganismus. Bei der Reaktion auf grampositive Erreger spielen Zellwandbestandteile und bakterielle Exotoxine eine große Rolle. Die Erkennung findet mittels CD14-Rezeptor und TLR2 statt (Dziarski *et al.*, 2000). Dagegen ist die Reaktion auf gramnegative Infektionen durch Endotoxine, nämlich Lipopolysaccharide, vermittelt. Diese binden sich sowohl an CD14-Rezeptoren, als auch an TLR4 (Wright, 1990). TLR4-Mutationen können eine erhöhte individuelle Suszeptibilität für Infektionen und die Entstehung einer Sepsis begründen (Arbour *et al.*, 2000). Beiden Erregerarten gemeinsam ist die Aktivierung des "Nuclear Factor Kappa B " (NF-kB). Dieser nukleäre Faktor fördert im Zellkern die Transkription von proinflammatorischen Zytokinen (Annane *et al.*, 2005).

Allerdings kommt es nicht immer zu einer homogenen Immunantwort, da hyper- und hypoinflammatorische Komponenten möglicherweise gleichzeitig ablaufen.

In der hyperinflammatorischen Phase werden so genannte primäre Mediatoren, wie TNF- α und IL-1, von Makrophagen und T-Zellen ausgeschüttet, die die Freisetzung von sekundären Mediatoren induzieren. Zu diesen sekundären Mediatoren gehört u.a. das Komplementfragment C5a, welches chemotaktisch wirkt und circa 2 Stunden nach Beginn der Sepsis auftritt, der macrophage migration inhibitory factor (MIF), der T-Zellen aktiviert, circa 8 Stunden nach Beginn auftritt und außerdem das „high mobility group 1 protein“ (HMGB), welches NF-kB aktiviert und erst circa 24 Stunden nach Beginn nachweisbar ist (Riedemann *et al.*, 2003). Dieser späte Mediator korreliert mit dem Outcome septischer Patienten (Wang *et al.*, 1999; Andersson *et al.*, 2000).

Die dieser Hyperinflammation entgegenwirkende antiinflammatorische Reaktion wird als compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) bezeichnet. Sie ist durch die Freisetzung von IL-4 und IL-10 charakterisiert (Bone, 1996). Zudem wirken lösliche TNF- α -Rezeptoren und IL-1-Rezeptorantagonisten den proinflammatorischen Mediatoren entgegen. Ihre Relevanz verdeutlicht sich in der erhöhten Sterblichkeitsrate bei hohen TNF- α -Konzentrationen im Blut. So zeigte sich in Tierversuchen nach TNF- α -Injektion eine starke Inflammation mit Gewebeschädigung und bei einem weiteren Versuch mit Gabe von tödlichen Dosen an Endotoxin eine erhöhte Blutkonzentration dieser spezifischen Mediatoren. Daraus schloss man, dass durch eine Hemmung des Mediators eine verbesserte Überlebenschance im Endotoxinschock resultiert (E. Hüttemann, 2004). Andere Studien, sowohl experimentell als auch klinisch, zeigten eine erhöhte Mortalität nach Gabe von TNF- α -Antagonisten (Eskandari *et al.*, 1992; Fisher *et al.*, 1996; Echtenacher *et al.*, 2001).

Die primären und sekundären Mediatoren initiieren eine Chemotaxis (Anlockung) und Wanderung der Leukozyten in das geschädigte Gewebe. Außerdem kommt es zu einer gesteigerten Leukozytenproduktion im Knochenmark, welche frühzeitig als teils unreife Zellen ins Blut entlassen werden. Die Migration der Leukozyten aus dem Blut findet vor allem in den postkapillären Venolen statt. Durch die Zytokinausschüttung exponiert das Gefäßendothel P- und E-Selektine auf der Oberfläche, die durch Glykoproteine der Leukozyten erkannt und gebunden werden. Dadurch kommt eine lose Haftung der beiden Komponenten zustande. Die endothelial-leukozytäre Adhäsion erfolgt dann durch „Inter-Cellular Adhesion Molecules“ (ICAM-1, ICAM-2) und „Vascular Cell Adhesion Molecule-1“ (VCAM-1) auf endothelialer, und durch Integrine auf leukozytärer Seite. Nach der Diapedese gelangen die Leukozyten durch Chemokine wie C5a, IL-8 und PAF (Plättchen aktivierender Faktor) an den Ort der entzündlichen Reaktion. Chemokine setzen an Rezeptoren auf den Leukozyten an. Dadurch bilden sich fußförmige Fortsätze (Pseudopodien), die der amöboiden Zellbewegung dienen. Diese Bewegung ist abhängig vom Stoffkonzentrationsgradienten und erfolgt in Richtung des entzündlichen Gewebes, in dem höhere Chemokinkonzentrationen vorliegen. Man spricht in diesem Fall von positiver Chemotaxis (Lüllmann-Rauch, 2003a; Vollmar and Menger, 2009).

Die Aktivierung der Leukozyten führt zum sogenannten „respiratory burst“ mit Freisetzung von Elastase und Myeloperoxidase, was wiederum eine Schädigung von Endothel und umliegendem Gewebe bewirkt. Durch die resultierende Dysfunktion der endothelialen Barriere kommt es zum „capillary leakage“ und einer Ödementstehung mit folgendem intravasalen Volumenmangel. Es handelt sich dabei um eine absolute Hypovolämie. Außerdem bildet das Endothel verschiedene vasoaktive Substanzen (Stickstoffmonoxid und Prostazykline), welche zur Vasodilatation führen.

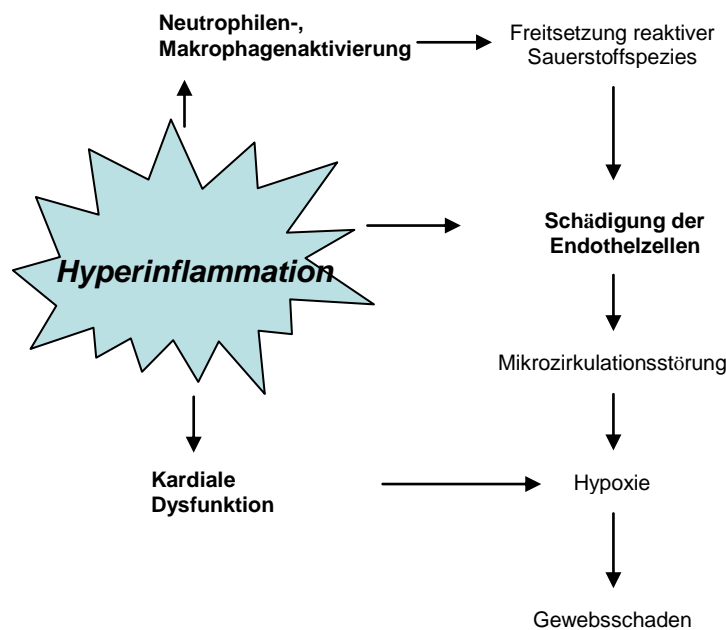


Abb. 1.2: Pathophysiologie von der Hyperinflammation bis zum Gewebeschaden. Eine Hyperinflammation im Wirtsorganismus aktiviert Neutrophile sowie Makrophagen, welche durch Freisetzung reaktiver Sauerstoffmetaboliten eine Schädigung des Endothels bewirken. Die daraus resultierenden Mikrozirkulationsstörungen führen zur Hypoxie, ebenso wie eine durch Hyperinflammation begründete kardiale Dysfunktion. Es resultiert ein hypoxischer Gewebeschaden. Abbildung verändert nach K.Reinhart et al.

Stickstoffmonoxid (NO) wird mittels der NO-Synthetase (NOS) gebildet, welche sich in induzierbar (iNOS) und konstitutiv (cNOS) unterscheiden lässt. Die Expression von iNOS wird in der Sepsis durch IL-1 und TNF- α erhöht, was somit zu einer verstärkten Vasodilatation führt (Taylor und Geller, 2000). Die Dilatation bedingt einen verringerten venösen Rückstrom zum Herzen und damit eine relative Hypovolämie. Die Kombination aus absoluter und relativer Hypovolämie führt dann zu einer kardialen Vorlastsenkung und somit zu hämodynamischen Instabilitäten. Die effiziente Verteilung des HZV an die Organe ist gestört. Des Weiteren kann es bei einer exzessiven NO-

Produktion durch eine Reaktion mit Superoxidanionen zur Bildung von Peroxynitrit kommen, das durch ein verringertes Glutathion-Level (GSH) nicht mehr effizient abgebaut wird und somit zytotoxisch wirkt.

Trotz aller genannten negativen Auswirkungen, sind die Faktoren Vasodilatation und Antiinflammation auch wichtige Komponenten zur Sicherung der Mikrozirkulation während der Sepsis. NO verhindert sowohl den programmierten Zelltod, als auch Leukozyten- und Thrombozytenanhaftungen an das Endothel. Insbesondere die Aspekte Endothelschädigung mit Ödembildung, intravasale Gerinnung, adhärenente aktivierte Leukozyten und die Dysregulation der NO-Freisetzung führen zu arteriovenösen Kurzschlüssen (Shunts) und einer Reduktion der funktionellen Kapillardichte. Dies führt zu einer gestörten Sauerstoffbilanz und einem anaeroben Stoffwechsel, der zu erhöhten Laktatkonzentrationen und einer metabolischen Azidose führt (K. Reinhart, 2006b). Diese Gewebhypoxie veranlasst den Körper zu einer hyperdynamen Reaktion, einer Steigerung des HZV, welches durch eine myokardiale Dysfunktion (septische Kardiomyopathie) während der Sepsis erschwert sein kann (Ognibene *et al.*, 1988). Wird die Verteilungsstörung durch das erhöhte Herzzeitvolumen nicht verbessert, schließt sich eine hypodynamen Reaktion des Körpers an, die durch eine zunehmende Zentralisation charakterisiert ist (Ragaller, 2008). Diese Situation kann verstärkt werden durch die myokarddepressive Wirkung von TNF- α und IL-1. Letztlich führen eine verminderte Ejektionsfraktion, ein dilatierter linker Ventrikel und die Erhöhung des linksventrikulären enddiastolischen Drucks durch den Frank-Starling-Mechanismus zu einer Rechtsverschiebung auf dem Arbeitsdiagramm des Herzens. Infolgedessen benötigt der septische Patient höhere Füllungsdrücke für ausreichende Schlagvolumina (Riedemann *et al.*, 2003). Ein weiterer Aspekt der Pathophysiologie ist die Störung des Gerinnungssystems durch eine Verschiebung des Gleichgewichts hin zu einem prokoagulatorischen Zustand. Dabei sind drei Punkte entscheidend. Erstens kommt es zu einer vermehrten Thrombinbildung durch das extrinsische System unter Beteiligung von Tissue factor und Faktor VII. Zweitens wird auch das intrinsische System im Bereich von Endotheldefekten durch die Aktivierung von Faktor XII in Gang gesetzt. Die Aktivierung dieser beiden Gerinnungskaskaden kann zum klinischen Bild der „disseminierten intravasalen Gerinnung“ (DIC) führen, die eine maßgebliche Rolle in der Verschlechterung der Mikrozirkulation spielt. Drittens wird die Thrombinbildung

durch den Verbrauch von Antithrombin III und aktiviertem Protein C weiter unterstützt, während die Auflösung der Thromben durch eine Inhibition der Fibrinolyse gestört ist (Max, 2003).

Im Rahmen der Sepsis kommt es häufig zur Ausbildung eines Multiorgan-dysfunktionssyndroms (MODS), welches durch eine parallele oder sequenzielle Funktionseinschränkung von mindestens zwei Organsystemen charakterisiert ist. Das akute Nieren-, Lungen- oder Leberversagen stellt dabei eine schwere Komplikation der Sepsis dar und trägt maßgeblich zur Sterblichkeit auf der Intensivstation bei. Prinzipiell kann aber jedes Organ betroffen sein. Pathogenetisch haben verschiedene Mechanismen Einfluss auf die Entstehung eines MODS. Einen wichtigen Faktor stellt die Sepsis-induzierte Gewebhypoxie mit daraus folgender zellulärer Dysfunktion dar. Weitere Faktoren sind proinflammatorische Zytokine und eine Bakterientranslokation aus dem Gastrointestinaltrakt in die Blutbahn. Das Ausmaß eines MODS kann anhand diverser Scores wie dem Multiorgan-dysfunctions (MOD)-Score und dem Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)-Score eingeteilt werden. Bei Letzterem spielen Atmung, Gerinnung, Leber (Bilirubin), Kreislauf, ZNS und Nierenfunktion (Kreatinin) eine Rolle (Bauer *et al.*, 2006).

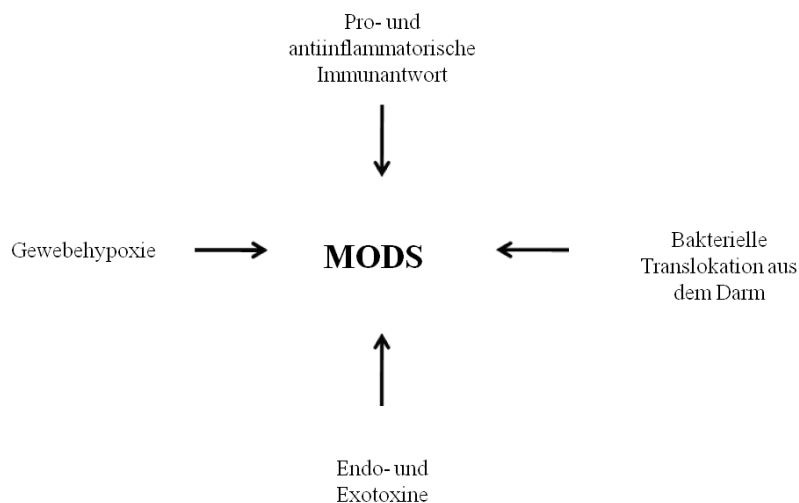


Abb. 1.3: Ursachen des Multiorganversagens. Für die Entwicklung eines Multiorganversagens spielen vier Komponenten eine entscheidende Rolle. Durch eine bakterielle Translokation aus dem Darm entsteht ein septischer Fokus. Endo- und Exotoxine provozieren im Wirtsorganismus sowohl pro- als auch antiinflammatorische Reaktionen, in deren Verlauf es zur Gewebhypoxie kommt. Abbildung verändert nach K. Reinhart et al.

1.4 Leber und Sepsis

Die Leber ist mit 1,5-2 kg die größte Drüse des Körpers und gleichzeitig das zentrale Organ für Stoffwechsel und Entgiftung.

Neben der Produktion von Gerinnungsfaktoren, Serumproteinen, Lipoproteinen, Galle und Harnstoff, findet in der Leber auch die Regulation von Glucosespiegel, Säure-Base-Haushalt und Vitamin-Stoffwechsel statt. Des Weiteren ist die Leber für die Biotransformation diverser Pharmaka verantwortlich.

Die Leber wird zu 70 % über die Vena portae mit sauerstoffarmem, aber nährstoffreichem Blut aus den unpaaren Bauchorganen versorgt. Die restlichen 30 % fließen aus der Aorta über die Arteria hepatica propria. Auf der Facies visceralis treten diese beiden Gefäße über die Leberpforte ein, während die in der Leber gebildete Galle über den Ductus choledochus abfließt. Der parallele Verlauf der Gefäße besteht intrahepatisch in Form der Periportalfelder (Glisson-Trias).

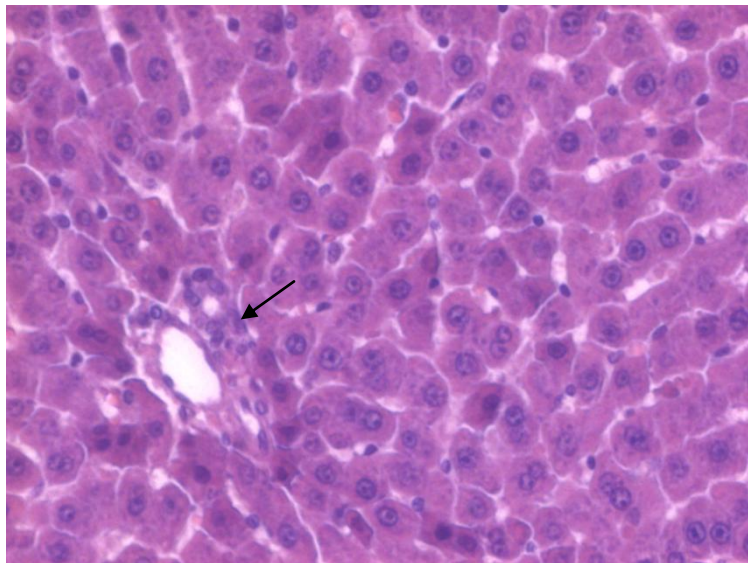


Abb. 1.4: Histologie der Rattenleber in H.E.-Färbung. Die Abbildung zeigt den hepatischen H.E.-Schnitt eines septischen Tieres mit Sterofundin® Iso-Substitution. Die Darstellung ist in 20-facher Vergrößerung. Im linken Bildbereich stellt sich ein Periportalfeld dar (Pfeil).

Die Leberläppchen sind hexagonal aufgebaut, wobei das Blut von den am Rand liegenden Periportalfeldern durch die Sinusoide in Richtung Zentralvene fließt. Zwischen den Sinusoiden liegen die Hepatozyten in Bälkchen. Die Hepatozyten sind zu 80 % einkernig, 20 % allerdings sind zweikernig. Sie besitzen Mitochondrien vom Christa-Typ, Peroxisomen, Lysosomen, glattes und raues Endoplasmatisches Retikulum

und haben eine durchschnittliche Lebensdauer von 150-180 Tagen. Die Sinusoide besitzen ein diskontinuierliches Endothel durch das alle Blutbestandteile, außer Zellen, diffundieren können und damit Zugang zum Disse-Raum haben. Dieser perisinusoidale Raum liegt an der basolateralen Hepatozytenmembran und stellt den Ort des Sauerstoffaustausches zwischen Blut und Hepatozyt dar. Im Disse-Raum befinden sich so genannte Ito-Zellen. In ihren Lipidtröpfchen speichern sie Vitamin-A und können sich nach Aktivierung in Myofibrozyten umwandeln, die Bindegewebsfasern produzieren. Zwischen den Endothelzellen liegen leberspezifische Makrophagen, die Kupfferschen Sternzellen (KSZ), welche gemeinsam mit den sinusoidalen Endothelzellen das Retikuloendotheliale System (RES) der Leber bilden (Lüllmann-Rauch, 2003b). In der Ratte sind Kupfferstern-Zellen periportal, midzonal und perizentral im Verhältnis 4:3:2 verteilt. Die periportalen KSZ sind größer und haben eine höhere lysosomale Enzymaktivität als KSZ in anderer Lokalisation. Zudem weisen sie die höchste Produktion an TNF- α auf. Damit lässt sich die wichtige Rolle der periportalen KSZ in der Abwehr bakteriellen Materials, welches vom Gastrointestinalen Trakt über das Blut in die Leber gelangt, veranschaulichen. Die Aufgaben der KSZ umfassen neben der Sekretion löslicher Mediatoren, die Phagozytose partikulären Materials und die Präsentation von Antigenen (Vollmar und Menger, 2009). Die Ausschüttung von inflammatorischen Mediatoren, wie zum Beispiel TNF- α , IL-1 α , IL- β und Chemokinen, führt in der Leber zur Aktivierung von Endothelzellen und Leukozyten. Dies umfasst auf endothelialer Seite die Induktion von E-Selektin, P-Selektin und ICAM-1. Auf den Leukozyten fördern die Mediatoren eine Expression von CD11b/CD18. Dabei handelt es sich um ein Adhäsionsmolekül aus der Gruppe der β -2 Integrine. Bevor die aktivierten Leukozyten ihren transendothelialen Weg in das geschädigte Lebergewebe nehmen, findet eine Interaktion mit dem vaskulären Endothel statt. Primär binden dabei Selektine korrespondierende leukozytäre Glykoproteine und führen zu einem Rollen der Leukozyten entlang des Endothels. Sekundär findet eine Interaktion zwischen leukozytären β -2 Integrinen und endothelialen ICAMs statt. Mit Hilfe von Kollagenasen durchbrechen die Leukozyten dann die Basallamina und gelangen ins Interstitium, von wo aus sie durch Chemokine vermittelt zum Ort des entzündlichen Geschehens geleitet werden. Durch die Bildung von Sauerstoffradikalen, Stickstoff und Proteasen tragen Leukozyten außerdem zur Verstärkung der

entzündlichen Vorgänge bei und spielen eine zentrale Rolle für den Schweregrad der Leberschädigung (Jaeschke *et al.*, 1996; Croner *et al.*, 2006; Vollmar und Menger, 2009).

Im Verlauf der Sepsis kommt es bei rund 20 % der Patienten zu Leberfunktionsstörungen, welche in ihrer Häufigkeit hinter Nieren- und Lungenversagen stehen (Bakker *et al.*, 2004). Das in der Sepsis auftretende verminderte Herzzeitvolumen und die damit einhergehende Minderperfusion verursachen diese Funktionseinschränkungen, wobei Sauerstoffmangel, reaktive Sauerstoffmetaboliten und Entzündungsmediatoren eine wesentliche Rolle spielen. Die in den ersten Stunden der Sepsis stattfindende Hypoperfusion führt zu primär zentrilobulär lokalisierten Ischämien (Lenz *et al.*, 1982). Die spätere Hyperperfusion bedingt eine Zunahme der Leberdurchblutung bei gleichzeitig steigendem Sauerstoffverbrauch im Splanchnikusgebiet. Der erhöhte Sauerstoffbedarf übersteigt das erhöhte Angebot, woraus ebenso wie in der hypodynamen Phase eine Hypoxie resultiert.

Um die Integrität der Leber zu überprüfen, werden die Leberenzyme Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT) bestimmt. Die Höhe des Enzymanstiegs korreliert mit dem Umfang der Schädigung, wobei der de-Ritis-Quotient GOT/GPT eine Aussage über die Schwere der Leberzellschäden macht. Bei schweren Leberzellschäden beträgt der de-Ritis-Quotient >1 .

Die Gerinnungsfaktoren X, IX, VII und II sowie die Proteine C und S werden Vitamin K-abhängig in der Leber gebildet. Ein Mangel dieser Faktoren gibt einen Hinweis auf die Syntheseleistung der Leber (Dan L. Longo).

Als wichtige Parameter für die Schwere des Organversagens gelten Bilirubin und Alkalische Phosphatase. Im Mittel kommt es ca. 7-20 Tagen nach Beginn des Erkrankung zu einem 5-fachen Anstieg der Werte (Pirovino *et al.*, 1989). Mit der Indozyangrün-Clearance wurde aber auch ein früher Marker gefunden (Gottlieb *et al.*, 1984), welcher Hinweise über Schwere und Prognose von Patienten mit schwerer Sepsis geben kann (Kimura *et al.*, 2001).

1.5 Volumentherapie

Der menschliche Körper weist einen Gesamtkörperwassergehalt von 60 % auf, das sich zu circa 75 % intrazellulär und 25 % extrazellulär befindet (Grocott *et al.*, 2005). Die extrazelluläre Flüssigkeit verteilt sich wiederum im Verhältnis 1:4 auf Blutplasma und Interstitium. Die Verteilung der Flüssigkeit erfolgt im Körper u.a. nach dem Prinzip der Osmose, also der Diffusion von Teilchen durch eine semipermeable Membran auf Grund eines unterschiedlichen osmotischen Drucks. In kolloidalen Flüssigkeiten wie dem Blutplasma wird der osmotische Druck als kolloidosmotischer Druck bezeichnet und hauptsächlich durch Albumin bestimmt (Adams *et al.*, 1998).

Im Verlauf der Sepsis kommt es häufig zu einem intravasalen Abfall der genannten Proteine und damit zu einem Austritt von Flüssigkeit in den interstitiellen Raum. Dieser Effekt verstärkt die sepsisbedingte Vasodilatation mit kapillärem Leck. Diesem sogenannten Kapillarlecksyndrom oder „capillary leakage syndrome“ liegt der Zusammenbruch der endothelialen Barriere zugrunde. Dadurch tritt vermehrt intravaskuläre Flüssigkeit in das Interstitium aus. Die klinischen Folgen sind generalisierte Ödeme, Aszites, Pleuraergüsse und weitere Symptome resultierend aus dem intravasalen Volumenmangel. Um die Organversorgung durch ein ausreichendes Herzzeitvolumen dennoch sicherzustellen, nimmt neben den physiologischen Kompensationsmechanismen mit sympathoadrenerger Aktivierung, Sekretion von antidiuretischem Hormon (ADH) und Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) auch die gezielte Substitution von Flüssigkeits- und Volumenersatzmitteln eine bedeutende Rolle (Adams *et al.*, 1998; Dan L. Longo, 2012). Sie stellt somit einen zentralen Behandlungsaspekt in der Sepsis dar und dient sowohl der Zufuhr des Erhaltungsbedarfs, als auch dem Ausgleich bestehender Flüssigkeitsdefizite.

Wichtige Anforderungen an ein Volumenersatzmittel sind eine geringe Antigenität, sowie ein geringer Einfluss auf Gerinnung und Organfunktionen. Außerdem sollte es lange genug intravasal verweilen, um den größtmöglichen Volumeneffekt zu erzielen, generell aber aus dem Organismus eliminierbar sein. Die Volumensubstitution beeinflusst neben Mikro- und Makrozirkulation auch den Hämoglobingehalt (Hb) des Blutes und den kolloidosmotischen Druck (KOD). So führt die Hämodilution zu einem Abfall von Hämoglobingehalt und Blutviskosität mit einer Verbesserung der

rheologischen Eigenschaften des Blutes. Eine Beeinflussung der plasmatischen Gerinnung macht oft eine differenzierte Blutkomponententherapie notwendig.

Zur Infusionstherapie stehen kristalloide und kolloidale Infusionslösungen, sowie verschiedene Blutprodukte zur Verfügung.

1.5.1 Kristalloide Lösungen

Zu den kristalloiden Lösungen zählen unterschiedliche Elektrolytlösungen wie Ringer-Laktat, Sterofundin® Iso, Kochsalzlösung (kaliumfreie Elektrolytlösungen) und 5 %-ige Glucoselösung. Für die Volumentherapie sind vor allem die Vollelektrolytlösungen mit einem Natriumgehalt von > 120 mmol/l relevant, da sie demjenigen der Zelle entsprechen. Wenn der Natriumgehalt der Infusionslösung geringer ist, wird die Lösung als hypoton bezeichnet. Die Flüssigkeitssubstitution mit Kristalloiden erfasst den gesamten Extrazellulärbereich und verteilt sich auf Intravasalraum und Interstitium, da sie keine Makromoleküle als onkotische Komponente besitzen. Die Kristalloide verbleiben deshalb nur kurze Zeit im Gefäß und diffundieren dann in das Interstitium, so dass ein kurzzeitiger Volumeneffekt von maximal einer Stunde erzeugt wird. Bisher galt die Vorstellung, dass mit kristalloiden Lösungen im Vergleich zu kolloidalen Lösungen das 4-fache Volumen infundiert werden muss, um einen gleichwertigen Volumeneffekt zu erzielen (Adams *et al.*, 1998). Allerdings zeigte sich in der VISEP-Studie, beim Vergleich von kristalloiden mit kolloidalen Lösungen bei Patienten mit schwerer Sepsis, dass ein entsprechender Volumeneffekt auch bei niedrigeren Mengen an Kristalloiden eintritt. Das Verhältnis von Hydroxyethylstärke (HES) zu Ringer-Laktat-Lösung lag durchschnittlich bei 1:1,32 (Brunkhorst *et al.*, 2008a). Balancierte Vollelektrolytlösungen sollten der physiologischen Zusammensetzung des menschlichen Plasmas an Kationen wie Natrium, Kalium, Kalzium und Magnesium sowie Anionen wie Chlorid und Phosphat möglichst ähneln. Der Chloridanteil sollte nicht mehr als 103 mmol/l betragen, da ein unphysiologisch hoher Chloridwert durch verminderte Reninfreisetzung, Vasokonstriktion und verminderte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) zu funktionellen Nierenschäden führen kann (Kotchen *et al.*, 1983; Wilcox, 1983). Außerdem sollten die Vollelektrolytlösungen aus galenischen Gründen kein Bicarbonat enthalten, was allerdings durch eine fehlende Pufferfunktion die Gefahr einer Dilutionsazidose birgt (Zander, 2002). Als Ersatz können Anionen wie Malat, Laktat und Acetat zugesetzt werden, die der Körper in Bicarbonat umwandeln

und damit einen Azidoseausgleich schaffen kann. Laktat als Zusatz muss über die Leber unter Sauerstoffverbrauch oder die Nieren abgebaut werden und verändert zudem das im Serum bestimmte Laktat, als Marker für einen anaeroben Stoffwechsel. Aus diesen Gründen wird es nicht mehr bevorzugt eingesetzt. In dieser Arbeit wurden NaCl 0,9 % Fresenius Kabi und Sterofundin® Iso B.Braun verwendet.

Bei NaCl 0,9 % handelt es sich um eine kaliumfreie Elektrolytlösung. Mit einer Osmolarität von 308 mosmol/l entspricht sie zwar annähernd dem menschlichen Plasma, dennoch sind Natrium- und Chloridionen mit 154 mmol/l deutlich höher konzentriert als das physiologische Serum. Es besteht die Gefahr einer hyperchlorämischen metabolischen Azidose, weil die Infusion die Bikarbonatkonzentration im Extrazellarraum verdünnt, während der CO₂-Partialdruck konstant bleibt (Lang und Zander, 2005).

Sterofundin® Iso hingegen gehört zu der Gruppe der balancierten Vollelektrolytlösungen. Durch den Zusatz von im Muskel und in der Leber verstoffwechselbaren Anionen wie Azetat wird einer potentiellen Dilutionsazidose entgegengewirkt.

1.5.2 Kolloidale Lösungen

Kolloidale Lösungen werden in natürliche und künstliche mono- und polydisperse Kolloide unterteilt. Zu den natürlichen Kolloiden gehören das menschliche Albumin, das Fresh-frozen-plasma (FFP) und pasteurisierte Plasmaproteine, wohingegen Hydroxyethylstärke, Dextrane und Gelatinepräparate den künstlichen Kolloiden angehören.

Kolloidale Lösungen enthalten hochmolekulare Substanzen, die die Gefäßwand bei intaktem Gefäßendothel nicht überschreiten können und durch ihre Wasserbindungsfähigkeit einen onkotischen Druck aufbauen. Im Vergleich zu kristalloiden Lösungen verweilen die Kolloide länger im Intravasalraum und mobilisieren extravasale Flüssigkeit nach intravasal. Sie haben damit einen höheren Volumeneffekt als kristalloide Lösungen (Lazrove *et al.*, 1980; Rackow *et al.*, 1983).

Kolloide, deren Wasserbindungsfähigkeit genauso groß ist wie die der Plasmaproteine, werden als „Plasmaersatzmittel“ bezeichnet, so wie mittelmolekulares HES, Gelatine oder Humanalbumin 5 %. Bei hyperonkotischen Kolloiden ist die Wasserbindungsfähigkeit höher als die der Plasmaproteine, was zur

Flüssigkeitsverschiebung aus dem Gewebe in den Intravasalraum führt. Deshalb werden sie auch „Plasmaexpander“ genannt. Dazu gehören beispielsweise die Lösungen 10 % HES, Dextrane oder Humanalbumin 20 %. Ihr initialer Volumeneffekt liegt bei über 100 % (Thomas Karow, 2011).

Da in dieser Arbeit HES und Gelatine als Vertreter der Kolloide verwendet wurden, werden diese genauer beschrieben.

Hydroxyethylstärke (HES)

Hydroxyethylstärke ist ein aus Mais- oder Kartoffelstärke hergestelltes Derivat des Amylopektins. Die stark verzweigten Glucosemoleküle sind α -1,4-glycosidisch verbunden und besitzen Hydroxyethylgruppen, die einen schnellen Abbau durch α -Amylase aus dem Serum verhindern (Dieterich und Unertl, 1998). Aus diesem Grund kann natürliche Stärke nicht als Plasmasubstitution genutzt werden. Sie ist instabil und wird schnell durch zirkulierende Amylase abgebaut.

Die verschiedenen HES-Präparationen unterscheiden sich in Molekulargewicht, Konzentration, Substitutionsgrad und Substitutionsmuster. Das Molekulargewicht wird durch das arithmetische Mittel des Molekulargewichts aller HES-Moleküle errechnet und in die Gruppen LMW (Low molecular weight: 70 kD), MMW (medium molecular weight: 130-270 kD) und HMW (High molecular weight: >450 kD) eingeteilt. Dabei gilt: Je höher das Molekulargewicht, desto länger ist die Wirkdauer. Gleiches gilt auch für die Konzentration der HES-Präparate, welche in 3 % (hyponkotisch), 6 % (isoonkotisch) und 10 % (hyperonkotisch) vorliegen. Als Substitutionsgrad (MS, molar substitution) wird der Anteil an Hydroxyethylgruppen in Bezug auf den Anteil an Glucoseeinheiten bezeichnet. 0,4 und 0,5 stellen einen niedrigen Substitutionsgrad, 0,62 und 0,7 einen hohen Substitutionsgrad dar. Beispielsweise ist Voluven®, ein Drittgenerationsmedium mit einem MS von 0,4. Das bedeutet, dass 40 % der Glucoseeinheiten mit einer Hydroxyethylgruppe substituiert sind.

Das Substitutionsmuster stellt das Verhältnis der in C2- oder C6-Position substituierten Glucose-Einheit dar. Dies scheint einen wichtigen Einfluss auf Pharmakokinetik und Nebeneffekte wie Akkumulation und Blutungsrisiko zu haben. Da C6-Bindungen beispielsweise schneller durch die α -Amylasen abgebaut werden, ergibt sich ein

Zusammenhang zwischen Substitutionsmuster, Plasmaverweildauer und dem daraus resultierenden Volumeneffekt.

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Präparat handelt es sich um Voluven® 6 % (HES 130/0,4). Das Molekulargewicht beträgt 130.000 Dalton (MMW-HES) und der Substitutionsgrad 0,4 (niedrige MS). Voluven® hat eine Konzentration von 6 % (isoonkotisch). Nach Infusion beträgt das mittlere *in vivo* Molekulargewicht ca. 70.000-80.000 Dalton und liegt damit während der Wirkzeit oberhalb der Nierenschwelle (Fachinformation, Fresenius Kabi, Germany).

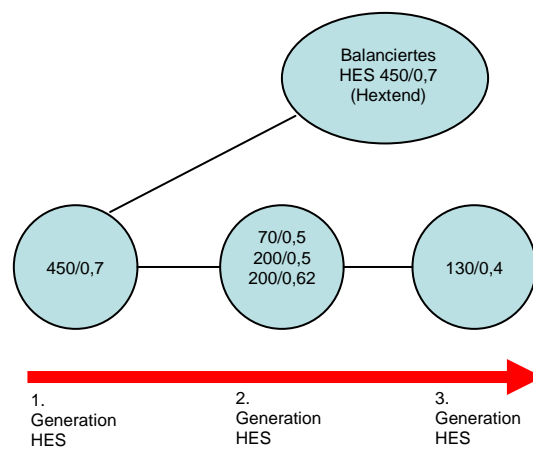


Abb. 1.5: Entwicklung der HES-Generationen. Die Abbildung zeigt die Entwicklung von HES mit seinen Veränderungen bezüglich Molekulargewicht und Substitutionsgrad. Das heute vorrangig verwendete HES hat sowohl ein niedriges Molekulargewicht, als auch einen niedrigen Substitutionsgrad. Abbildung verändert nach S.Suttner et al.

Gelatine

Es handelt sich um Gemische verschiedener Polypeptide mit unterschiedlichen Molekülgrößen zwischen 5000-50000 Da. Die helikale Grundstruktur ist ursächlich für die Bindung von Wassermolekülen, die zur Gelbildung führt. Gelatine wird durch Hydrolyse aus Kollagen von Rinderhaut und -knochen hergestellt. Das Übertragungsrisiko der bovinen spongiösen Enzephalopathie liegt im Bereich der natürlichen Inzidenz und ist damit gering (Laubenthal, 1997). Zu den heutigen modifizierten Gelatinepräparaten gehören: harnstoffvernetzte Gelatine 3,5 % (Haemaccel ®), succinylierte Gelatine 4 % (Gelofusine ®) und Oxypoly-Gelatine 5,5 % (Gelifundol ®).

| | Haemaccel® | Gelifundol® | Gelofusine® |
|---------------------------------|------------|-------------|-------------|
| Mittleres Molekulargewicht (Da) | 35000 | 30000 | 30000 |
| Konzentration (%) | 3,5 | 5,5 | 4,0 |
| Volumeneffekt (h) | 1-3 | 1-3 | 1-3 |
| Volumeneffizienz (%) | 80% | 80% | 80% |
| Osmolarität (mosmol/l) | 301 | 296 | 274 |

Abb. 1.6: Vergleich unterschiedlicher Gelatinepräparate. Die Abbildung zeigt unterschiedliche Gelatinepräparate und deren Eigenschaften. Abbildung verändert nach S.Suttner et al.

Auf Grund der schnellen Passage ins Interstitium und der glomerulären Filtration ist die Zunahme des Blutvolumens geringer als das infundierte Gelatinevolumen. Zudem wird Gelatine im endoretikulären System von Proteasen abgebaut (Adams *et al.*, 1998).

Um dennoch einen effizienten Volumeneffekt zu erzielen, sind Infusionen in kurzen Abständen nötig. Im Vergleich zu HES oder Dextranen gibt es für Gelatinepräparate keine Dosislimitierung. Lange Zeit galten Gelatinepräparate als inert für den Gerinnungsstatus, mittlerweile gibt es jedoch einige Hinweise darauf, dass Gelatine Einfluss auf die Koagulation besitzt (de Jonge und Levi, 2001). Weiterhin scheinen Gelatinepräparate ebenso wie HES-Präparate sowohl in experimentellen als auch klinischen Studien Veränderungen der Niere zu verursachen (Schabinski *et al.*, 2009; Schick *et al.*, 2009). In der vorliegenden Arbeit wurde Gelafundin® 4% von B.Braun verwendet.

2 Fragestellung

Die Sepsis stellt heutzutage ein klinisch relevantes Krankheitsbild mit lebensbedrohlichen Komplikationen und einer hohen Mortalität dar. In Folge der systemischen Entzündungsreaktion mit assoziierter Mikrozirkulationsstörung resultiert im Verlauf der Sepsis häufig ein Multiorganversagen mit Funktionseinschränkungen von Lunge, Nieren und Leber.

Eine frühe und effiziente Volumensubstitution ist für die erfolgreiche Therapie der Sepsis entscheidend. Dabei hat die Diskussion über die Wahl des Volumenersatzes noch zu keinem eindeutigen Konsens geführt und die Frage, ob und welche Kolloide verwendet werden sollen, wird weiterhin kontrovers diskutiert.

Auf Grund der häufigen Leberdysfunktion in der Sepsis ist es Ziel dieser Arbeit, die Auswirkungen von kristalloiden und kolloidalen Volumenssubstitutionsmittel auf dieses Organ im Tiermodell mit CLP-induzierter Sepsis zu untersuchen.

3 Material und Methoden

3.1 Operation der Tiere

Nach behördlicher Genehmigung durch die Regierung von Unterfranken, wurden die Experimente an 40 männlichen Sprague-Dawley-Ratten [330 +/- 33 g Körpergewicht (BW), Harlan Winkelmann, Deutschland] durchgeführt. Alle Tiere wurden gemäß den deutschen Richtlinien für die Durchführung von Tierversuchen versorgt. Sie bekamen Standardernährung, Wasser nach Belieben und wurden weder vor noch nach der Versuchsdurchführung nüchtern gehalten.

Die Tiere wurden randomisiert und den Gruppen 1-5 (n=6/Grp) zugeteilt.

- 1: Sham (Kontrolle)
- 2: NaCl (NaCl 0,9 %, Fresenius Kabi, Deutschland)
- 3: SteroIso (Sterofundin® ISO, B.Braun Melsungen AG, Deutschland)
- 4: Gel (GelaFundin® 4 %, B.Braun Melsungen, Deutschland)
- 5: HES (6 % HES 130/0,4, Voluven®, Fresenius Kabi, Germany)

Bei der Sepsisinduktion durch coecale Ligation und Punction (CLP) handelt es sich um ein etabliertes Kleintiermodell zur Induktion enterogener abdominaler Infektionen. (Wichterman *et al.*, 1980). Dieses Verfahren wurde wie folgt durchgeführt.

Die Tiere wurden mit 1,5 % Isofluran (Forene®, Abbott, Deutschland) anästhesiert und die rechte V. jugularis interna für Volumenersatz und Medikamentenapplikation kanüliert. Für eine kontinuierliche Messung von Blutdruck und Herzfrequenz, sowie zur Blutentnahme wurde die linke A. carotis kanüliert. Im Anschluss wurden alle Tiere median laparotomiert und das Coecum mobilisiert. Während das Coecum der Kontrolltiere in seinem ursprünglichen Zustand verblieb, wurde das Coecum der Tiere der Gruppen 2-5 standardisiert und zweifach mit einer 18G Kanüle perforiert. Durch den Austritt von Darmbakterien in den Peritonealraum verursacht die CLP-Prozedur die klinische Situation einer mikrobiellen Sepsis (Singer *et al.*, 2007).

Das Abdomen wurde schichtweise wieder verschlossen und alle Ratten postoperativ mit Volumen substituiert. Zur Deckung des Flüssigkeitsgrundbedarfs wurde allen Tieren 0,5ml/100g KG/h NaCl infundiert. Zusätzlich erhielten die septischen Tiere entsprechend ihrer Gruppe 1ml/100g KG/h NaCl (Grp 2), Sterofundin® Iso (Grp 3), GelaFundin® (Grp 4), HES (Grp 5). Zur Analgesie erhielt die Kontrollgruppe

0,25µg/100g KG/h Fentanyl (Fagron, Deutschland), die Gruppen 2-5 2,0µg/100g KG/h Fentanyl. Nach 24 h wurden die Tiere mittels Midazolam (Midazolam-ratiopharm, Ratiopharm, Deutschland) 0,7mg/100g KG/h, Fentanyl 7µg/100g KG/h und Isofluran erneut anästhesiert. Um eine suffiziente Oxygenierung ($\text{SaO}_2 > 93\%$ und $\text{PaO}_2 > 60$ mmHG) zu gewährleisten, wurden die Tiere tracheotomiert und mittels einer Nagetier-Beatmungsmaschine (Hugo Sachs Elektronik KG, Deutschland, Rodent Ventilator Type 7025) mit FiO_2 0,3 % mechanisch beatmet. Die rechte A. femoralis wurde kanüliert und ein Thermokatheter zur Messung des Herzzeitvolumens (Ficksches Prinzip) implantiert. Tiere, die innerhalb von 24 h starben, oder welche MAP-Werte von unter 70 mmHG 24 h nach CLP aufwiesen, wurden von der Studie ausgeschlossen.

Die Leber wurde 24 h nach der CLP und nach intravitaler Mikroskopie aus dem Situs entfernt und in 3,5 prozentigem Formaldehyd für mehr als 24 h fixiert.

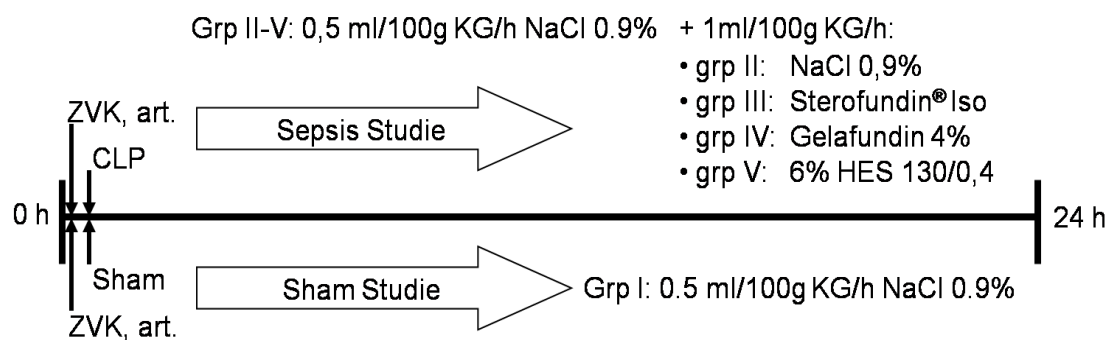


Abb. 3.1: Darstellung des Versuchsablaufs. Shamtiere (Grp 1) erhielten eine mediane Laparotomie mit Coecummobilisation, wohingegen Tiere der Gruppen 2-5 eine zusätzliche Ligation und Perforation des Coecums erhielten. Alle Tiere wurden mit 0,9 % NaCl infundiert. Die septischen Tiere erhielten zusätzlich abhängig von ihrer Gruppe 0,9 % NaCl, Sterofundin® Iso, 4 % Gelafundin® oder 6 % HES. Der Versuch wurde nach 24 h beendet.

3.1.1 Erfassung der makrohämodynamischen Parameter

Die Herzfrequenz und der mittlere arterielle Druck (MAP) wurden kontinuierlich gemessen. Weitere Parameter wie der Herzindex (CI), der Stroke Volume Index (SVI), das globale Sauerstoffangebot ($\text{DO}_2\text{-I}$) und der totale periphere Resistenzindex (TPRI) wurden mit Hilfe der folgenden Formeln bestimmt. $\text{CI} [\text{ml}/\text{min}/\text{kg}] = \text{Herzminutenvolumen}/\text{KG}$; $\text{SVI} [\text{ml}/\text{Schlag}/\text{kg}] = \text{CI}/\text{HF}$; $\text{DO}_2\text{-I} [\text{ml}/\text{kg}/\text{min}] = \text{Herzindex} * \text{Hb} * 1,34 * \text{SaO}_2$; $\text{TPRI} [\text{mmHg}/\text{ml}/\text{min}/\text{kg}] = \text{MAP}/\text{CI}$

3.1.2 Intravitale Mikroskopie der Leber

24 h nach Induktion der Sepsis wurden alle Tiere erneut anästhesiert, tracheotomiert und median laparotomiert. Die Ligamenta des linken Leberlappens wurden durchtrennt und das Tier linksseitig in 110° Position auf dem Mikroskop (Axiovert 200, Carl Zeiss, Göttingen, Deutschland) platziert. Die Unterseite des linken Leberlappens lag dem Objektträger spannungsfrei auf. Zur Kontrastverstärkung wurden Fluorescein Isothiozyanat-Albumin (5 mg/100g/KG Sigma, Deisenhofen, Deutschland) und Fluorescein Natrium (1µg/g/KG Sigma, Deisenhofen, Deutschland) intravenös verabreicht. Die Oberfläche der Leber wurde mittels einer 100 W Quecksilberlampe und einem Filterset bestehend aus einem 450- bis 490-nm Exzitationsfilter und einem 520-nm Emissions-Bandpass-Filter epi-illuminiert. Die hepatischen Sternzellen wurden mit Vitamin-A gebundener Autoimmunfluoreszenz detektiert und daraus der sinusoidale Durchmesser ermittelt. Die Bilder wurden mit Hilfe verschiedener Linsen (Achromplan x10 NA0,25/x20 NA0,4/x40 NA0,6) hergestellt und für die folgende off-line Analyse digital und verblindet, also ohne Wissen der Zugehörigkeit der Tiere, gespeichert. Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit wurde offline ausgewertet (Metamorph Software Version 6.1r4). Pro Tier wurden 8 Blickfelder analysiert, von denen wiederum jeweils 10 Sinusoide beurteilt wurden.

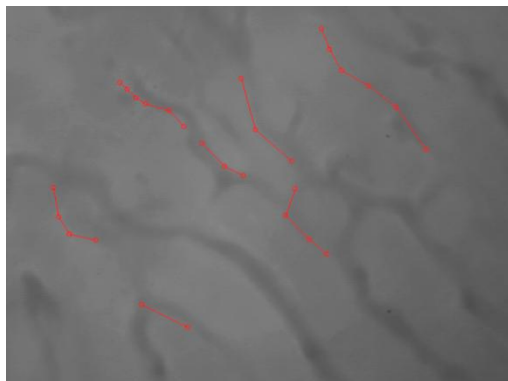


Abb 3.2: Intravitale Erythrozytenflussgeschwindigkeit. Die Abbildung stellt die intravitale Flussmessung in der Leber eines HES-substituierten Tieres in 400-facher Vergrößerung dar.

3.2 Zytokinwertbestimmung mittels Luminex Assay

Um die Einflüsse der unterschiedlichen Volumenersatzmittel auf die Zytokinspiegel zu untersuchen, wurde ein multiplexer Immunoassay genutzt. Dieser Immunoassay

unterscheidet sich vom konventionellen ELISA in der Form der Befestigung des „capture antibody“. Während der Antikörper im ELISA an die Mikrotiterplatte gebunden ist, wird im Luminex Assay eine Polystyrol-Kugel benutzt. Diese 5.6 Mikron Polystyrol-Mikrosphären sind mit roten und infraroten Fluorophoren gefärbt, wobei jede Perle eine unikate Region besitzt. Dies erleichtert die Differenzierung der Kugeln untereinander. Da die Kugeln mit unterschiedlichen Antikörpern beladen sind, kann die Zusammenstellung der zu untersuchenden Faktoren in einem Assay freier ausgewählt werden als bei einem konventionellen ELISA. Der von uns genutzte Assay wurde speziell für die Erfassung von Zytokinspiegeln der Ratte entwickelt und ermittelt 10 Parameter aus einer Probe.

Zur Vorbereitung wurde die im Kit enthaltene Mikrotiterplatte mit Waschlotion angefeuchtet und die verdünnte Beadlösung 30 s lang gemischt (Vortex). In jedes Well wurden 25 µl Antikörperlösung gegeben und anschließend folgte eine zweimalige Reinigung mit 200 µl Waschlösung. Diese Schritte sollten unter Ausschluss von Licht durchgeführt werden. Durch Aspiration wurde die Waschlotion entfernt und in jedes Well 50 µl Inkubationslösung pipettiert. Die Wells für die Kontrolle erhielten 100 µl Standardlösung, wohingegen in alle anderen Wells 50 µl Assaylösung und 50 µl des entsprechenden Serums pipettiert wurde. Die Platte wurde im Anschluss für 2 h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Inkubation wurde die Lösung abpipettiert und die Wells zweifach mit 200 µl Waschlösung versehen, die ca. 30 s einwirkte und im Anschluss abpipettiert wurde. Jedes Well wurde dann mit 100 µl biotinyliertem Detektor-Antikörper versehen und die Platte für 1 h inkubiert. Danach wurden 100 µl Streptavidin-RPE hinzugefügt und die Platte für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Flüssigkeit wurde abpipettiert und die Platte dreimal mit 200 µl Waschlösung gereinigt. In jedes Abteil wurde zweimal 100 µl Waschlösung gegeben und die Platte für 2-3 min geschüttelt. Danach wurde die Platte mit Hilfe des Luminex 100™ Instrument analysiert. Die Konzentration der Proben wurde im Vergleich zur Standardkurve mit Luminex-Assays (Invitrogen™, Luminex Assay Rat Ten-Plex) bestimmt.

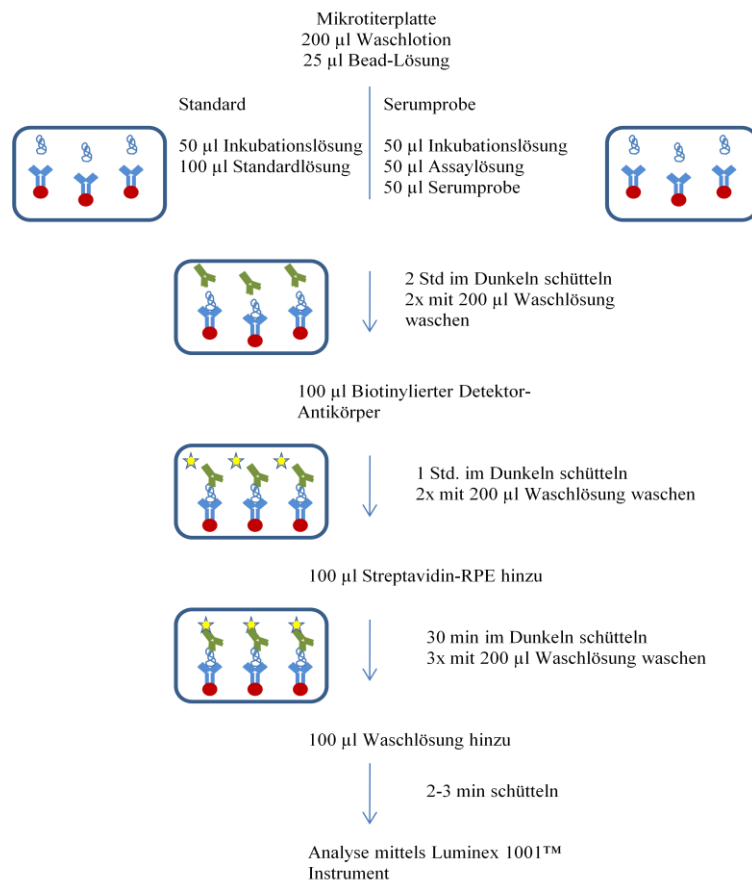


Abb. 3.3: Luminex-Assay. Abbildung verändert nach Luminex Invitrogen™

★ Streptavidin-RPE, 🌿 Detektorantikörper, ● Beads, 🧬 Protein

3.3 Pathologisch-histologische Untersuchungen am Paraffinschnitt der Leber

3.3.1 Herstellung von Paraffinschnitten

Die in Formalin fixierten Organe wurden in Scheiben von ca. 2-3 mm Breite geschnitten und in Einbettkassetten (Hartenstein) aufbewahrt. Für die Paraffineinbettung mussten die Schnitte zunächst vollständig entwässert werden, da Paraffin hydrophob ist und etwaige Wasserrückstände im Gewebe feingewebliche Strukturen zerstören. Deshalb wurden die Organe über Nacht mittels einer Entwässerungsmaschine des Pathologischen Institutes (Pathologisches Institut der Universität Würzburg, Prof. Dr. A. Rosenwald) über die Schritte: Alkohol 80 %, Alkohol 100 % und Xylol in flüssiges Paraffin (63°C) überführt.

Um die Organe später am Mikrotom schneiden zu können, wurden sie anschließend in Chromschälchen angeordnet und mit flüssigem Paraffin übergossen. Die gewünschte

Schnittfläche wurde flach zur Blockoberfläche positioniert, um das spätere Schneiden zu erleichtern. Zum Aushärten blieben die Blöcke in den Schälchen für einige Minuten auf der Kältefläche liegen. Durch das langsame Erstarren des Paraffins wurde es grobkristallin. Da Gleiches in den Organschnitten passieren kann, birgt dieser Schritt die Gefahr struktureller Schäden des Organs und einer schlechteren Schneidefähigkeit. Nach dem Auskühlen wurde der Paraffinblock samt Schnitt aus der Chromschale entfernt (Hagemann, 1989).

Die Blöcke wurden bei -20°C abgekühlt und in die Halterung des Mikrotoms (Gerät: Leica Jung Histoslides 2000 R) eingespannt. Die gewünschte Schnittfläche des Objekts lag so direkt unter der Oberfläche des Paraffinblockes. Um gleichmäßig alle Teile des Organs in einem Schnitt zu erhalten, wurde mit einem scharfen Messer (Feather Microtome blades S35 Type/ C35 Type) so viel Paraffin abgetragen, bis man einen gleichmäßigen Schnitt erhielt, der alle Teile des Organs beinhaltet. Dabei sollte die Schichtdicke von 1 mm nicht überschritten werden, da der Block sonst reißen könnte, oder das Objekt durch den Druck Schaden nehmen könnte. Für die Organschnitte wurde eine Schnittdicke von 2-3 μm eingestellt. Falls der Paraffinblock zu warm wurde, musste er erneut auf der Kälteplatte abgekühlt oder mit einem Kältespray (CRC Industries 200ml) besprüht werden. Dabei schienen sich allerdings auch Risse im Block zu bilden, die die Gewinnung gleichmäßiger Schnitte erschwerten.

Mit Hilfe von Pinseln wurde der Schnitt in kaltes Wasser und von dort durch einen Objektträger (R. Langenbrinck Super Frost Plus OT) in warmes Wasser (55°C) überführt, um den Schnitt zu strecken und Falten zu lösen. Danach wurde der Schnitt auf Objektträger gezogen, in Ständer sortiert und zur besseren Haftung für 20-25 min im Brutschrank bei $60-70^{\circ}\text{C}$ getrocknet. Danach waren die Organschnitte fixiert und konnten für folgende Untersuchungen aufbewahrt werden.

3.3.2 Hämatoxylin-Eosin (H.E.)-Färbung

Die H.E.-Färbung ist eine der weitverbreitetsten Färbemethoden zum Anfärben von feingeweblichen Schnitten. Sie wird in der Histologie genutzt um krankhafte Veränderungen im mikroskopischen Bild betrachten zu können.

Zur Herstellung mussten die im Brutschrank fixierten Paraffinschnitte durch Xylol entparaffiniert werden und durch eine absteigende Alkoholreihe in ein wässriges Milieu überführt werden. Danach wurden die in Küvetten sortierten Schnitte in Hämalaun

gegeben. Dies ist ein aus dem natürlichen Farbstoff Hämatoxylin aufbereitetes Färbemittel. Die Herstellung von Hämalau nach Mayer-wässrig geschieht wie folgt.

| Menge | Substanz |
|--------|-----------------------|
| 6g | Hämatoxylin |
| 1g | Natriumjodat |
| 250g | Aluminiumkaliumsulfat |
| 250g | Chloralhydrat |
| 5g | Citronensäure |
| 5000ml | Aqua dest. |

Tab. 3.1: Hämalau nach Mayer-wässrig. In der Tabelle sind alle Substanzen mit Mengenangaben zur Herstellung von Hämalau nach Mayer-wässrig dargestellt.

Alle Reagenzien wurden der Reihe nach mit Aqua dest. angerührt und mussten mindestens sechs Wochen im Dunkeln unverschlossen reifen. Nach der Färbung mit Hämalau erscheinen die Zellkerne rot-braun, da dieser Farbstoff eine Affinität zu basophilen Strukturen besitzt. Ursächlich dafür ist der amphotere Charakter der Eiweiße. Ist der pH-Wert niedriger als der isoelektrische Punkt, hat die Struktur basische Gruppen und neigt zur Reaktion mit basophilen Strukturen. Auf Grund des niedrigen pH-Wertes färben sich die Kerne rot-braun an. Durch Erhöhen des pH-Wertes durch Spülen mit Leitungswasser werden die Schnitte gebläut, was bedeutet, dass sich sowohl Kerne mit DNA als auch das raue Endoplasmatische Retikulum blau darstellen. Durch Färben der Schnitte mit Eosin wird im folgenden Schritt das Zytoplasma dargestellt. Eosin (1 %) wird durch Mischen von 1g Eosin G-Pulver in 100 ml Aqua dest. hergestellt. Eosin ist ein synthetischer saurer Farbstoff, welcher azidophile Strukturen, also Zellplasmaproteine, in der Zelle rot anfärbt.

Nach diesen beiden Färbungen wurden die Schnitte über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und in das Medium Xylol überführt.

Um das Präparat mikroskopisch sichtbar zu machen und gleichzeitig Struktur und Färbung unbeschadet erhalten zu können, wird es mittels Entellan eingedeckt. Dazu wurden die Objektträger aus dem Xylol genommen, ein Deckgläschen mit Entellan bestrichen und auf dem Objektträger platziert. Entstandene Luftblasen wurden anschließend zusammen mit überquellendem Eindeckmedium entfernt.

| Material | Dauer |
|----------------|-----------|
| Xylol | 20 min |
| Xylol | schwenken |
| Alkohol 100% | schwenken |
| Alkohol 100% | schwenken |
| Alkohol 100% | schwenken |
| Aqua dest. | schwenken |
| Hämalaun | 15 min |
| Leitungswasser | 10 min |
| Aqua dest. | spülen |
| Eosin 1% | 5 min |
| Leitungswasser | spülen |
| Aqua dest. | spülen |
| Alkohol 96% | schwenken |
| Alkohol 96% | 2 min |
| Alkohol 100% | schwenken |
| Alkohol 100% | 2 min |
| Xylol | schwenken |
| Xylol | 10 min |

Tab. 3.2: H.E.- Färbeprotokoll. In dieser Abbildung sind alle Schritte der H.E.-Färbung mit Substanz und Einwirkzeit dargestellt.

3.4 Pathologisch-histologische Untersuchungen am Cryostatschnitt der Leber

3.4.1 Herstellung der Cryostatschnitte

Für die Herstellung der Cryostatschnitte wurde bei -80°C tiefgefrorenes Probenmaterial verwendet. Dieses wurde mit Hilfe eines Cryostats in $5\ \mu\text{m}$ dicke Schichten geschnitten, auf Objektträger gezogen und für ca. 12 h luftgetrocknet. Danach wurden die Schnitte bis zur weiteren Verwendung bei -20°C aufbewahrt.

3.4.2 Naphthol AS-D Chloracetat-Esterase- und α -Naphthylacetat-Esterase-Verfahren zum Anfärben von Granulozyten

Eine ausreichende Menge entionisiertes Wasser wurde auf 37°C vorgewärmt. Danach wurde 1 ml Natriumnitrit-Lösung und 1 ml Fast Blue BB Standardlösung in ein Eppendorf-Cap geben und durch Umdrehen vermischt, wobei eine Bildung von aktiven Gasblasen vermieden werden sollte. Das Gemisch wurde 2 min stehen gelassen und danach 40 ml vorgewärmtes entionisiertes Wasser sowie 5 ml TRIZMAL 7,6 Pufferkonzentrat hinzugefügt. Nach Zugabe von 1 ml α -Naphthyl-Acetat-Lösung wurde

die Lösung gemischt und in eine Coplin-Küvette gegeben. Ein Fixiermittel aus 25 ml Zitratlösung, 65 ml Aceton und 8 ml 37 % Formaldehyd wurde gemischt, auf Raumtemperatur gebracht und die Objektträger für 30 s darin fixiert. Die Objektträger wurden danach unter fließendem Leitungswasser 45-60 s gespült und in die vorbereitete Lösung gegeben. Die Objektträger durften bei diesem Vorgang nicht trocknen. Im Anschluss wurden sie bei 37°C 30 min vor Licht geschützt inkubiert und 5 min gründlich mit entionisiertem Wasser gespült.

Währenddessen wurde eine ausreichende Menge entionisiertes Wasser auf 37°C vorgewärmt. 1 ml Natriumnitrit-Lösung wurde mit 1 ml Fast Red Violet LB Standardlösung gemischt, wobei wieder die Bildung aktiver Gasblasen vermieden wurde. Die Lösung sollte 2 min stehen, um danach mit 40 ml des vorgewärmten entionisierten Wassers und 5 ml TRIZMAL 6,3 Pufferkonzentrats und 1ml Naphthol AS-D Chloracetat-Lösung vermischt zu werden. Nach einer lichtgeschützten Inkubationszeit von 15 min bei 37°C sollten die Objektträger 2 min in entionisiertem Wasser gespült und 1:30 min in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 gegengefärbt werden. Danach wurden sie unter Leitungswasser abgespült und an der Luft getrocknet. Das Eindecken erfolgte mit n-Propylgallat (NPG) und Entellan.

3.5 Materialbezeichnung

| Material | Hersteller | Lot-Nummer |
|--|-------------------|--------------|
| Sprague-Dawley Ratten 330±33g | Harlan-Winkelmann | |
| NaCl 0,9 % | Fresenius Kabi | |
| Sterofundin® Iso | B.Braun Melsungen | |
| Gelafundin® 4 % | B.Braun Melsungen | |
| 6 % HES 130/0,4 Voluven® | Fresenius Kabi | |
| Isofluran 1,5 % | Abbott | |
| Nahtmaterial Prolene 3-0 | Ethicon | |
| Venenverweilkanüle 18 G | B.Braun Melsungen | |
| Fentanyl | Fagron | |
| Midazolam | Ratiopharm | |
| Fluorescein Isothiozyanat-Albumin | Sigma | 89H7613 |
| Fluorescein Sodium | Sigma | |
| Xylol Isomerengemisch | Riedel-de Haën | 72270 |
| Ethanol | J.T.Baker | 721506005 |
| Entellan | Merck | HX761944 |
| Eosin G | Merck | FN1041835733 |
| Kältespray | crcindustries | |
| Objektträger superfrost Plus OT | R.Langenbrink | 8197 |
| Naphthol AS-D Chloracetat Esterase Kit | Sigma-Aldrich | 058K4338 |
| A-Naphthyl Acetat Esterase Kit | Sigma-Aldrich | 098K4343 |
| Nagetierbeatmungsmaschine | Hugo Sachs | |
| Mikroskop Axiovert 200 | Carl Zeiss | |
| Videokamera CV-M 300 | Kanagawa | |
| Luminex Assay Rat Ten-Plex | Invitrogen | 487805 |
| MLT1402 T-type Ultra fast Thermocouple | Adinstruments | |

4 Ergebnisse

4.1 Sterblichkeit der Tiere

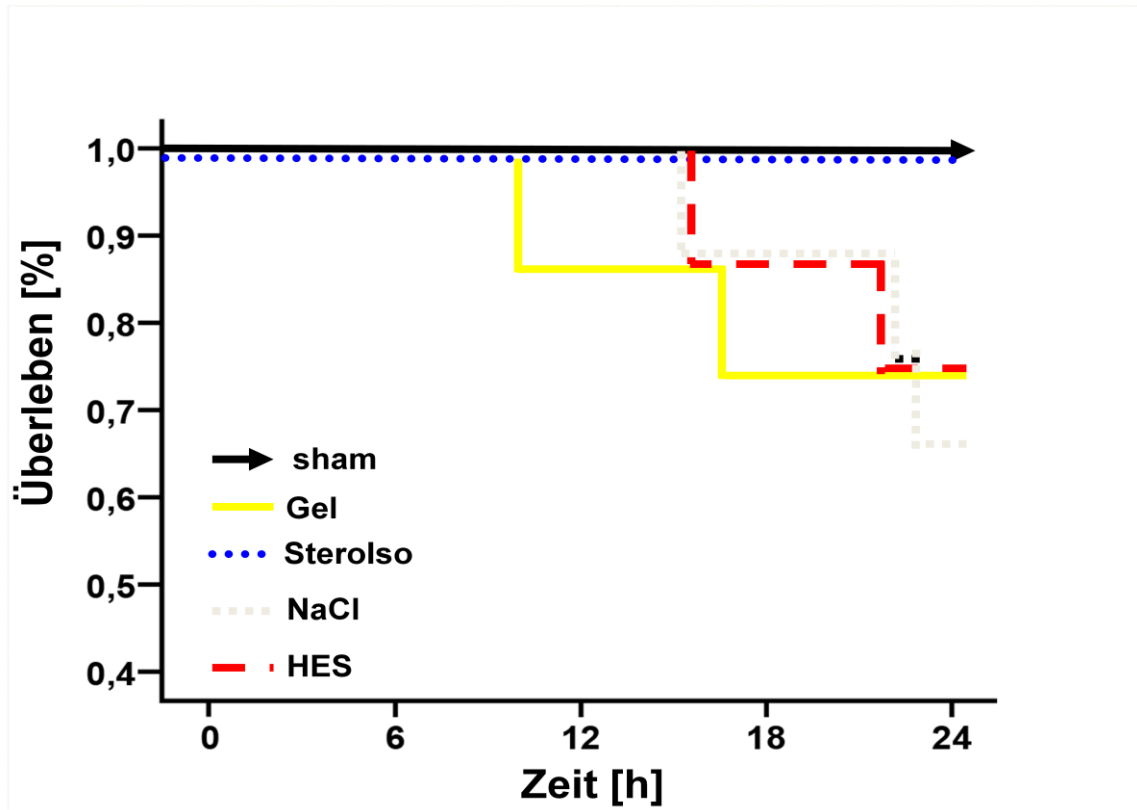


Abb. 4.1: Kaplan-Meier-Plot der Mortalitätsraten. Die Abbildung verdeutlicht die Mortalitäten der verschiedenen Gruppen im Zeitverlauf bis 24 h nach CLP. Bis zum Ende der Studie überlebten Sham- und Sterofundin® Iso-Tiere. Gelafundin® und HES substituierte Tiere zeigten eine Mortalitätsrate von 25 %. NaCl substituierte Tiere wiesen mit 50 % die höchste Sterblichkeit auf.

Anzahl operierter Tiere: Sham: n=6; NaCl n=12; Sterofundin® Iso n=6; Gelafundin® n=8; HES n=8

Um eine Anzahl von 6 Tieren pro Gruppe für die Auswertung zu erhalten, mussten insgesamt 40 Tiere operiert werden: Sham n=6; NaCl n=12; Sterofundin® Iso n=6; Gelafundin® n=8; HES n=8.

Die Gesamtmortalität lag bei 25 %. Während alle Tiere der Kontrollgruppe (Grp 1) überlebten, zeigten septische Tiere (Grp 2-5) eine Mortalität von 29,4 %. Die höchste Mortalitätsrate wies die NaCl-Gruppe mit 50 % auf, wohingegen alle Tiere der Sterofundin® Iso-Gruppe überlebten. Die kolloidalen Gruppen 4 % Gelafundin® und 6 % HES 130/0,4 hatten eine Sterblichkeit von je 25 %.

4.2 Hämatoxylin-Eosin (H.E.)-Schnitte

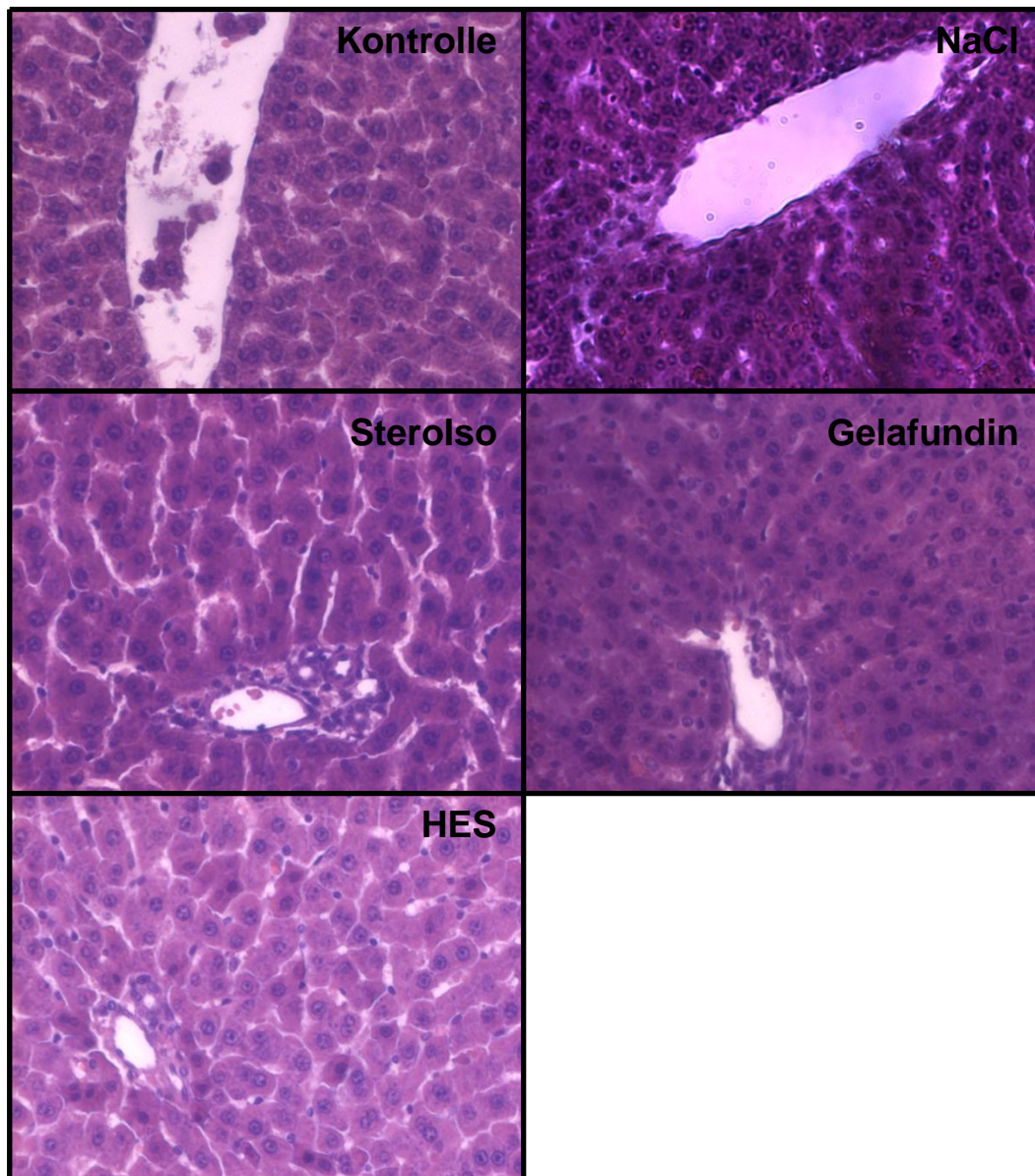


Abb. 4.2: H.E.-Leberschnitte von septischen Ratten. Aufnahmen in 20-facher Vergrößerung. Es sind keine histologischen Unterschiede zwischen den Gruppen erkennbar.

Die mikroskopische Auswertung der histologischen Schnitte ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es ließen sich weder relevante Endothelveränderungen, noch eine signifikante Häufung an Zelldebridement, avitalen Hepatozyten oder roten Blutzellen erkennen.

4.3 Serumblut-Parameter

24 h nach der Laparotomie wurde den Ratten Blut entnommen und die unten dargestellten Parameter ermittelt. Alle im Folgenden dargestellten Ergebnisse beruhen auf einer Anzahl von 6 Tieren pro Gruppe.

Es wurden Mittelwert und Standardabweichung ($M \pm SD$) berechnet und anhand des Programms SPSS 17.0 mittels zweifaktorieller ANOVA Posthoc Duncan statistisch ausgewertet. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgelegt. Eine Signifikanz wird dargestellt durch das Symbol †.

4.3.1 Leberenzymparameter

GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)

Volumensubstituierte Tiere (Gruppe 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Es stellte sich ein signifikanter Unterschied der GOT-Konzentrationen zwischen der Kontrollgruppe Sham ($163,90 \pm 71,468$ U/l) und Gelafundin® ($295,83 \pm 90,30$ U/l) dar.

HES ($204,85 \pm 73,24$ U/l), NaCl ($192,77 \pm 73,11$ U/l) und Sterofundin® Iso ($232,48 \pm 67,06$ U/l) zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle.

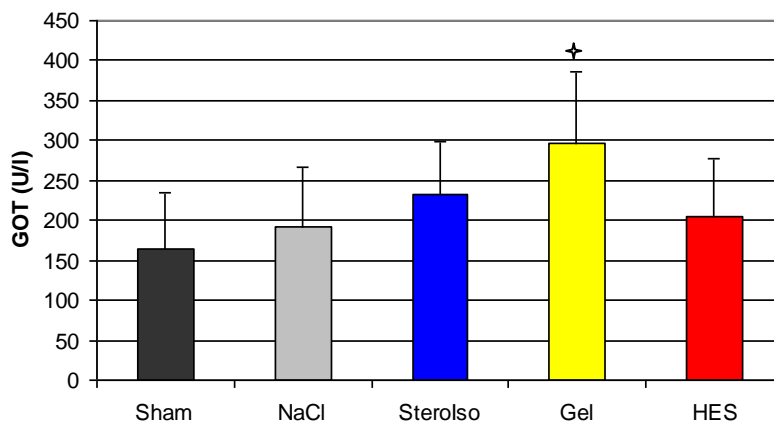


Abb. 4.3: GOT-Werte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Glutamat-Oxalacetat-Transaminasewertes der jeweiligen Gruppe.

GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase)

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede der GPT-Werte zwischen den Gruppen dar.

Sham ($54,96 \pm 11,95$ U/l), NaCl ($73,425 \pm 35,79$ U/l), Sterofundin® Iso ($98,89 \pm 38,05$ U/l), Gelafundin® ($115,00 \pm 62,25$ U/l) und HES ($86,16 \pm 50,12$ U/l).

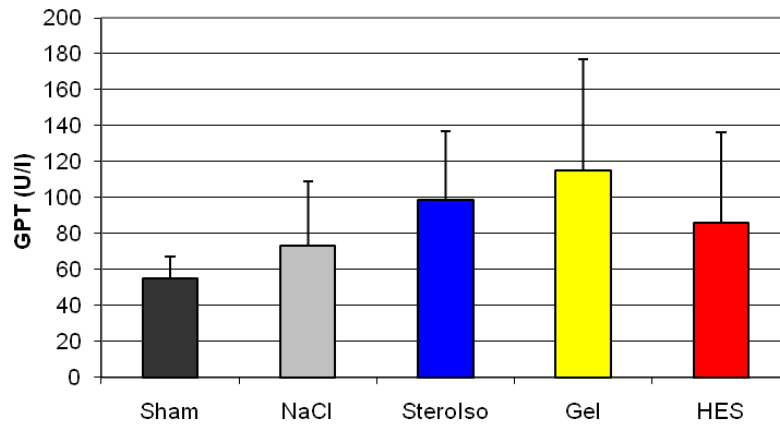


Abb. 4.4: GPT-Werte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Glutamat-Pyruvat-Transaminasewertes der jeweiligen Gruppe.

GGT (Gamma-Glutamyl-Transpeptidase)

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede der GGT-Werte zwischen den Gruppen dar.

Sham ($1,875 \pm 2,30$ U/l), NaCl ($3,61 \pm 2,93$ U/l), Sterofundin®Iso ($5,69 \pm 3,66$ U/l), Gelafundin® ($4,70 \pm 3,33$ U/l) und HES ($6,90 \pm 5,08$ U/l).

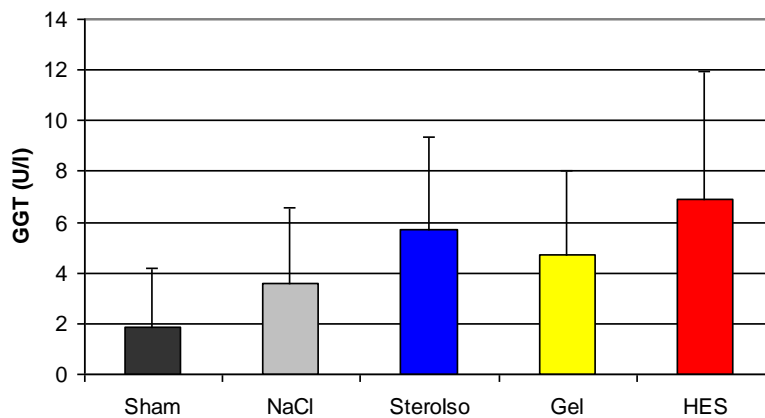


Abb. 4.5: GGT-Werte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des GGT-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Alkalische Phosphatase

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede der Alkalischen-Phosphatase-(AP)-Konzentrationen zwischen den Gruppen dar.

Sham ($136,16 \pm 47,46$ U/l), NaCl ($124,29 \pm 45,85$ U/l), Sterofundin® Iso ($146,22 \pm 60,2594$ U/l), Gelafundin® ($135,67 \pm 38,01$ U/l) und HES ($182,78 \pm 64,44$ U/l).

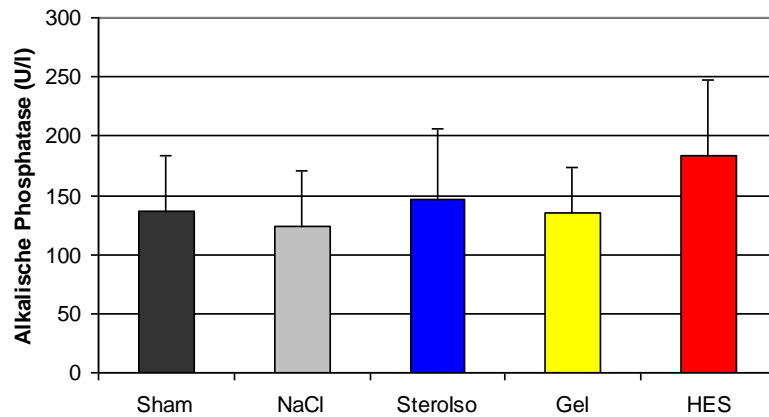


Abb. 4.6: AP-Werte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des AP-Wertes der jeweiligen Gruppe.

4.3.2 Lebersyntheseparameter

Albumin

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Alle volumensubstituierten Tiere NaCl ($1,49 \pm 0,15$ g/dl), Sterofundin® Iso ($1,58 \pm 0,30$ g/dl), Gelafundin® ($0,63 \pm 0,16$ g/dl) und HES ($1,22 \pm 0,17$ g/dl) stellten einen signifikant erniedrigten Albuminspiegel im Vergleich zu Sham ($2,01 \pm 0,24$ g/dl) dar.

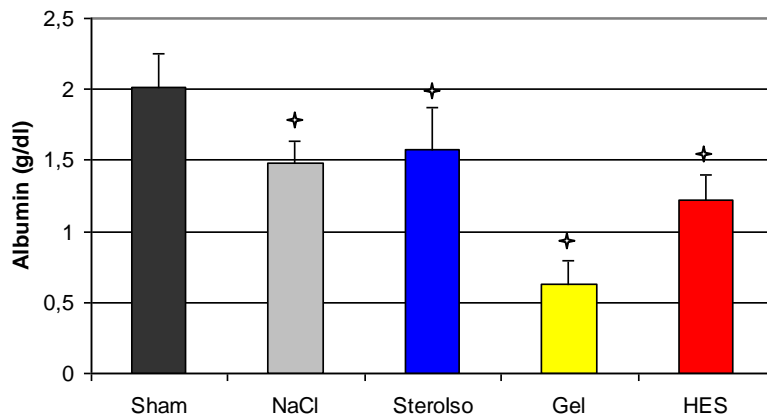


Abb. 4.7: Albuminwerte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Albuminwertes der jeweiligen Gruppe.

Bilirubin

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede der Bilirubinkonzentrationen zwischen den Gruppen dar.

Sham ($0,13 \pm 0,05$ mg/dl), NaCl ($0,17 \pm 0,06$ mg/dl), Sterofundin® Iso ($0,16 \pm 0,09$ mg/dl), Gelafundin® ($0,11 \pm 0,04$ mg/dl), HES ($0,16 \pm 0,12$ mg/dl).

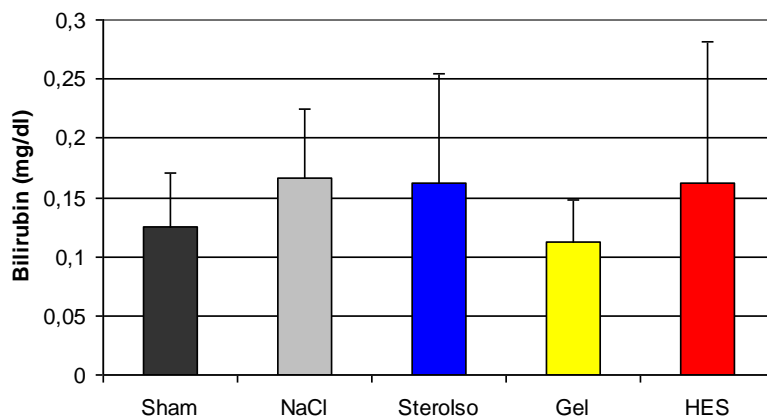


Abb. 4.8: Bilirubinkonzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Bilirubinkonzentration der jeweiligen Gruppe.

Glucose

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Gelafundin®-Tiere ($36,00 \pm 45,05$ mg/dl) stellten einen signifikant niedrigeren Glucosespiegel im Vergleich zur Shamgruppe ($155,88 \pm 42,20$ mg/dl) dar.

NaCl ($129,63 \pm 15,86$ mg/dl), Sterofundin® Iso ($119,67 \pm 34,58$ mg/dl), HES ($123,13 \pm 54,93$ mg/dl) zeigten keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

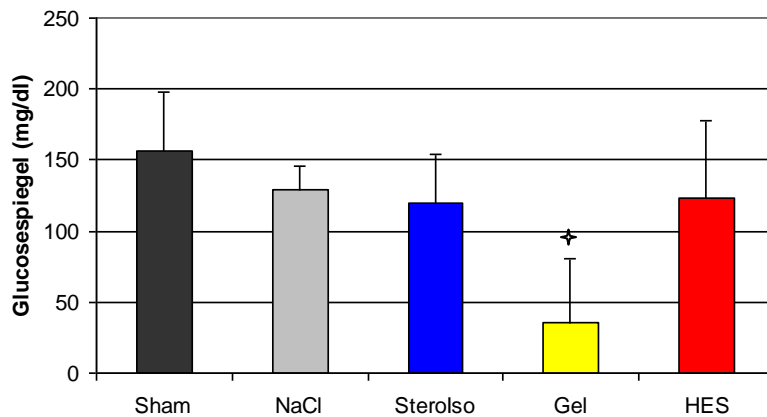


Abb. 4.9: Serumglucosespiegel. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Glucosewertes der jeweiligen Gruppe.

Laktat

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Gelafundin®-Tiere ($10,24 \pm 4,46$ mmol/l) sowie HES-Tiere ($6,17 \pm 3,42$ mmol/l) stellten einen signifikant höheren Laktatspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe ($2,66 \pm 1,05$ mmol/l) dar. NaCl ($3,33 \pm 1,67$ mmol/l) und Sterofundin® Iso ($3,84 \pm 1,35$ mmol/l) zeigten keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

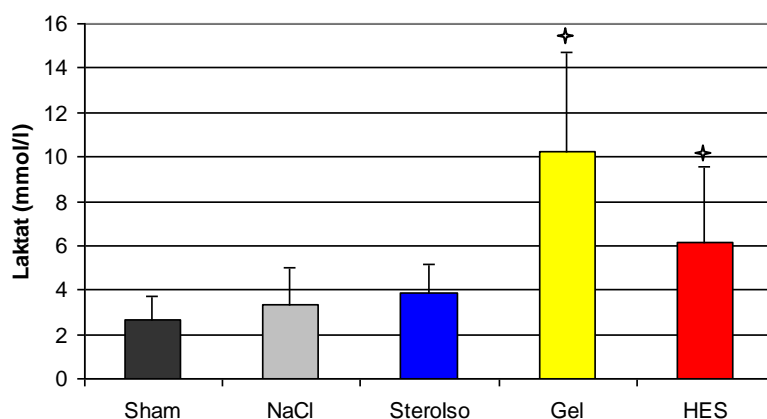


Abb. 4.10: Laktatkonzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Laktatwertes der jeweiligen Gruppe.

Laktatdehydrogenase

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede bezogen auf die LDH-Werte zwischen den Gruppen dar.

Kontrollgruppe ($614,57 \pm 289,07$ U/l), NaCl ($784,71 \pm 611,23$ U/l), Sterofundin® Iso ($803,33 \pm 338,41$ U/l), Gelafundin® ($550,29 \pm 298,19$ U/l) und HES ($883,63 \pm 894,85$ U/l).

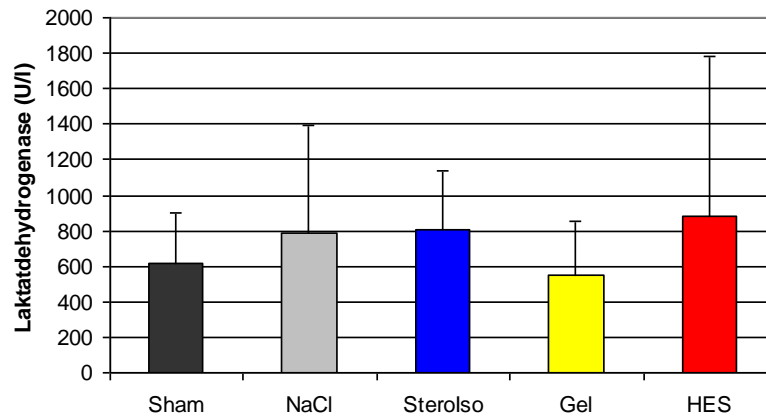


Abb. 4.11: Laktatdehydrogenasewerte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des LDH-Wertes der jeweiligen Gruppe.

4.3.3 Entzündungsparameter

Leukozyten

Verglichen wurden volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham). Tiere der Gruppe 4 (Gelafundin®) ($1,66 \pm 1,30 \cdot 1000/\mu\text{l}$) und Gruppe 5 (HES) ($2,41 \pm 1,46 \cdot 1000/\mu\text{l}$) stellten einen signifikant niedrigeren Leukozytenwert als die Kontrolle ($6,38 \pm 3,09 \cdot 1000/\mu\text{l}$) dar.

NaCl ($5,20 \pm 2,04 \cdot 1000/\mu\text{l}$) und Sterofundin® Iso ($5,30 \pm 3,57 \cdot 1000/\mu\text{l}$) zeigten keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

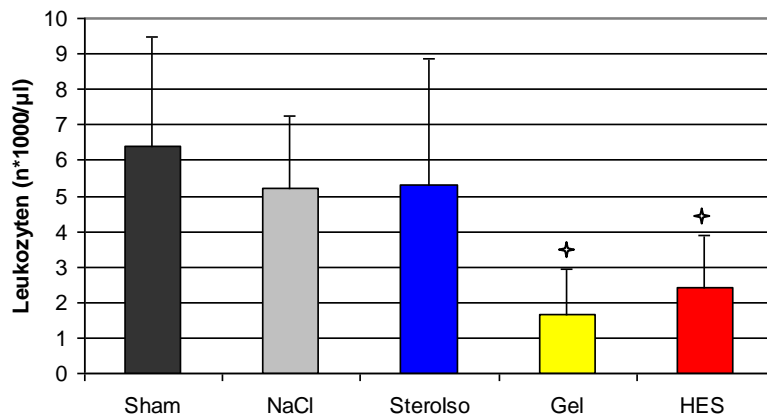


Abb. 4.12: Leukozytenkonzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Leukozytenwertes der jeweiligen Gruppe.

4.3.4 Gerinnungsparameter

Quick

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Gelafundin®-Tiere ($66,00 \pm 26,59$ %) und HES-Tiere ($102,50 \pm 27,41$ %) stellten einen signifikant niedrigeren Quickwert als die Kontrollgruppe Sham ($124,50 \pm 8,64$ %) dar. NaCl ($109,25 \pm 19,29$ %) sowie Sterofundin® Iso ($119,44 \pm 9,15$ %) zeigten keine signifikanten Abweichungen zur Kontrollgruppe.

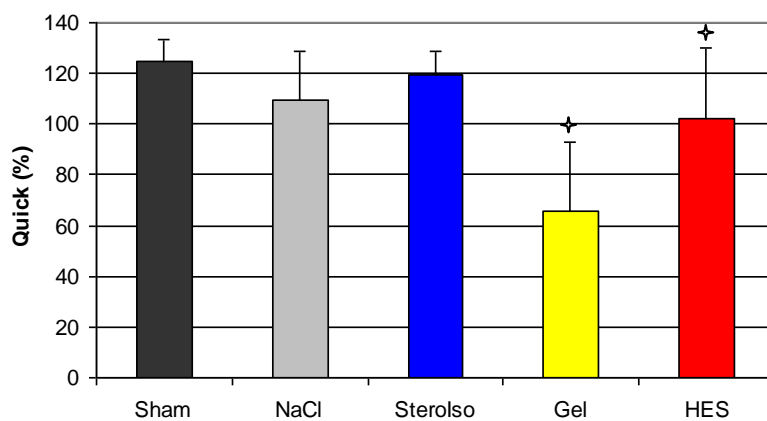


Abb. 4.13: Quickwerte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Quickwertes der jeweiligen Gruppe.

International Normolized-Ratio

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Tiere der Gruppe 4 (Gelafundin®) ($1,47 \pm 0,49$) stellten eine signifikant höhere International-Normolized-Ratio (INR) als die Kontrolle ($0,85 \pm 0,04$) dar.

NaCl ($0,95 \pm 0,13$), Sterofundin® Iso ($0,87 \pm 0,06$) und HES ($1,01 \pm 0,22$) zeigten keine signifikanten Abweichungen von der Kontrollgruppe.

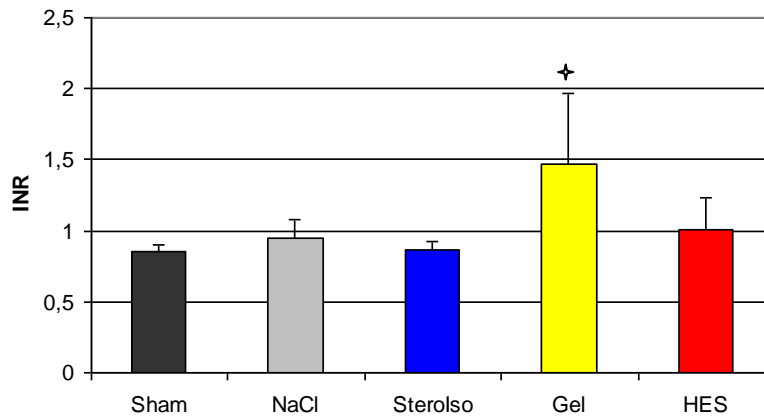


Abb. 4.14: INR-Werte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des INR-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Partielle Thromboplastinzeit (PTT)

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Tiere der Gruppe 4 (Gelafundin®) ($103,4 \pm 38,97$ s) stellten einen signifikant höheren PTT-Wert als Sham ($48,95 \pm 8,6290$ s) dar.

NaCl ($59,68 \pm 18,37$ s), Sterofundin® Iso ($54,34 \pm 6,33$ s) und HES ($66,86 \pm 35,62$ s) zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe.

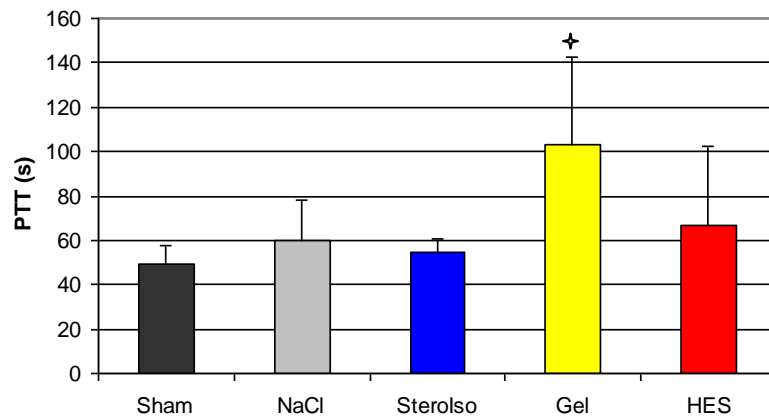


Abb. 4.15: Partielle Thromboplastinzeit. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des PTT-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Thrombozyten

Volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) wurden mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Tiere der Gruppe 4 (Gelafundin®) ($60,38 \pm 50,48 \cdot 1000/\mu\text{l}$) und Gruppe 5 (HES) ($67,88 \pm 60,07 \cdot 1000/\mu\text{l}$) stellten signifikant niedrigere Thrombozyten-Werte als die Kontrollgruppe ($190,63 \pm 125,98 \cdot 1000/\mu\text{l}$) dar. NaCl-Tiere ($175,86 \pm 57,02$) und Sterofundin® Iso-Tiere ($196,5 \pm 114,79$) zeigten keine signifikanten Abweichungen.

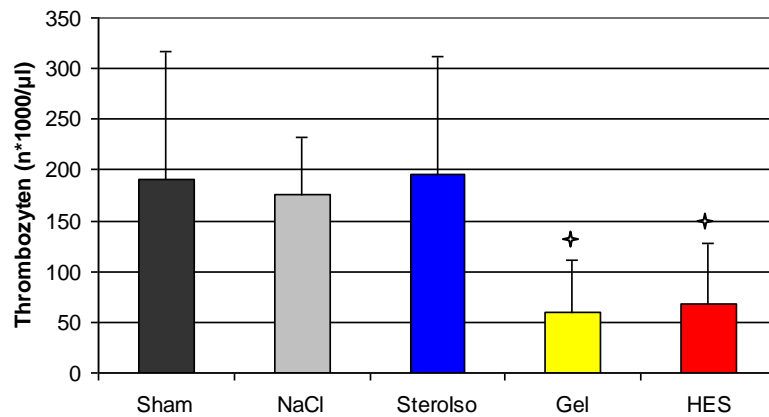


Abb. 4.16: Thrombozytenwerte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Thrombozytenwertes der jeweiligen Gruppe.

4.4 Zytokinspiegel

Mittels Luminex Assay wurden die Zytokine IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12 und Tumor Nekrose Faktor-alpha (TNF- α) quantifiziert. Als Probenmaterial wurde bei -80° Celsius tiefgefrorenes Serum verwendet.

Bei allen Messungen lag eine Probenanzahl von n=6 pro Gruppe vor. Mittelwerte und Standardabweichung (M \pm SD) wurden berechnet und statistisch mit dem Programm SPSS 17.0 nach einfaktorieller ANOVA post-hoc Duncan ausgewertet.

Das Signifikanzniveau wurde mit p<0,05 festgelegt. Signifikanz dargestellt durch das Zeichen: †

Interleukin1- α (IL1- α)

Verglichen wurden Unterschiede zwischen volumensubstituierten Tieren (Gruppe 2-5) gegenüber der Kontrolle (Gruppe 1, Sham).

HES (25,18 \pm 22,70 pg/ml) stellte signifikant höhere Werte von IL-1 α im Vergleich zu Sham (1,06 \pm 0,92 pg/ml) dar.

NaCl (0,31 \pm 0,18 pg/ml), Sterolso (1,23 \pm 1,60 pg/ml) und Gelafundin® (2,35 \pm 2,67 pg/ml) zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe.

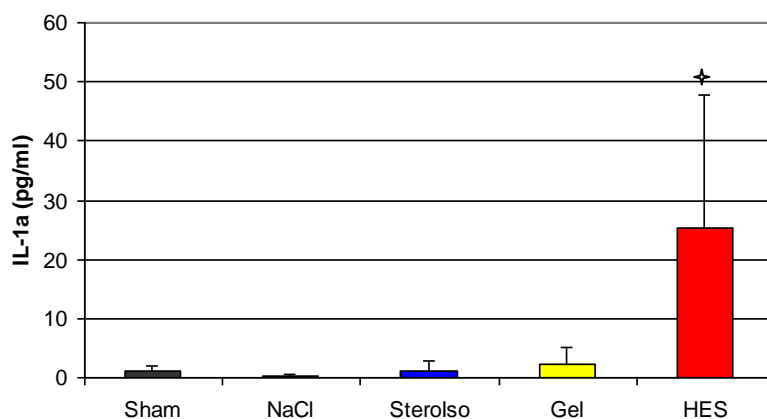


Abb. 4.17: IL-1 α -Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des IL-1 α -Wertes der jeweiligen Gruppe.

Interleukin-1 β (IL-1 β)

Verglichen wurden volumensubstituierte Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham).

HES-Tiere ($146,96 \pm 86,12$ pg/ml) stellten signifikant höhere Werte von IL-1 β als Shamtiere ($69,26 \pm 61,90$ pg/ml) dar.

NaCl ($32,25 \pm 18,30$ pg/ml), Sterofundin® Iso ($58,92 \pm 42,56$ pg/ml) und Gelafundin® ($61,05 \pm 47,50$ pg/ml) zeigten keine signifikanten Veränderungen zur Kontrollgruppe.

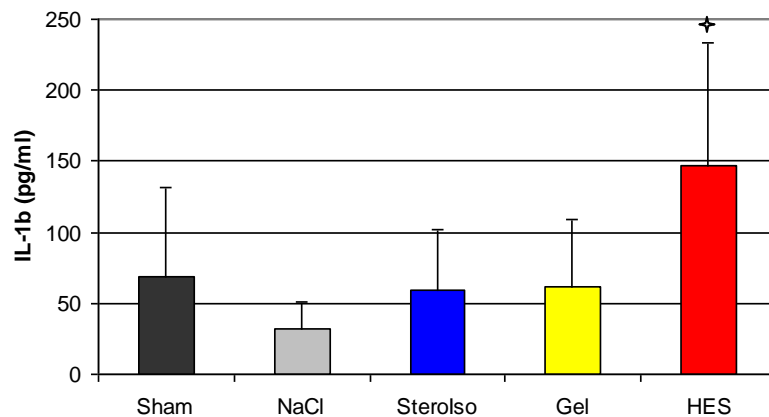


Abb. 4.18: IL-1 β -Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des IL-1 β -Wertes der jeweiligen Gruppe.

Interleukin-2 (IL-2)

Verglichen wurden alle volumensubstituierten Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham). Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf IL-2 dar.

Kontrollgruppe ($69,26 \pm 61,90$ pg/ml), NaCl ($32,25 \pm 18,30$ pg/ml), Sterofundin® Iso ($58,91 \pm 42,56$ pg/ml), Gelafundin® ($61,05 \pm 47,50$ pg/ml) und HES ($146,96 \pm 86,12$ pg/ml).

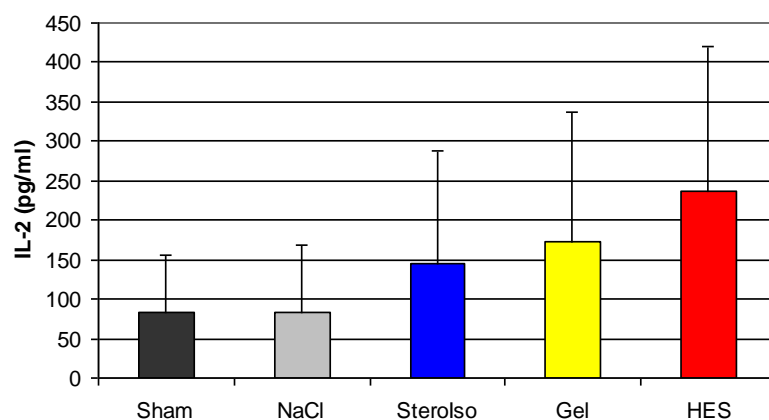


Abb. 4.18: IL-2-Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des IL-2-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Interleukin-6 (IL-6)

Verglichen wurden alle volumensubstituierten Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham).

IL-6 Konzentrationen waren bei Gelafundin® ($3951,53 \pm 4025,49$ pg/ml) und HES ($7279,00 \pm 4664,89$ pg/ml) signifikant erhöht gegenüber Sham ($254,55 \pm 210,41$ pg/ml).

NaCl ($471,33 \pm 288,22$ pg/ml) und Sterofundin® Iso ($2102,77 \pm 2772,12$ pg/ml) zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe.

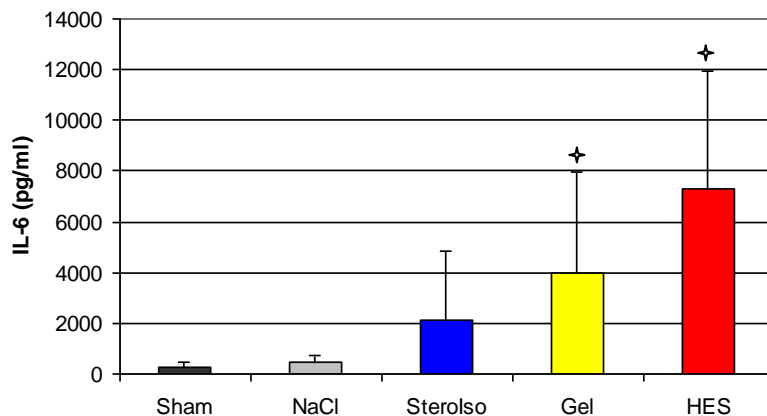


Abb. 4.20: IL-6-Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des IL-6-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Interleukin 10 (IL-10)

Verglichen wurden alle volumensubstituierten Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham).

HES-Tiere ($888,90 \pm 437,28$ pg/ml) zeigten signifikant höhere IL-10 Werte als Shamtiere ($270,91 \pm 239,17$ pg/ml). NaCl ($382,25 \pm 200,87$ pg/ml), Sterofundin® Iso ($516,67 \pm 236,72$ pg/ml) und Gelafundin® ($556,89 \pm 264,99$ pg/ml) zeigten keine signifikanten Abweichungen zur Kontrollgruppe.

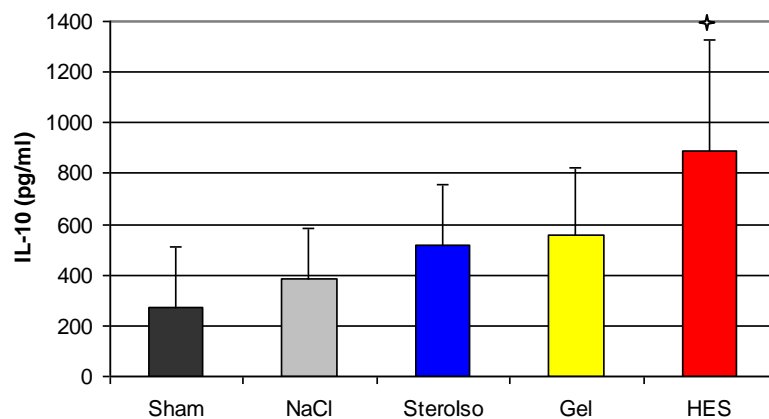


Abb. 4.21: IL-10-Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des IL-10-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Interleukin 12 (IL-12)

Verglichen wurden alle volumensubstituierten Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham). Es traten keine signifikanten Unterschiede in den IL-12 Konzentrationen zwischen den Gruppen auf.

Sham (897,79±370,83 pg/ml), NaCl (507,41±267,98 pg/ml), Sterofundin® Iso (560,93±471,56 pg/ml), Gelafundin® (564,08±339,12 pg/ml) und HES (637,53±353,00 pg/ml).

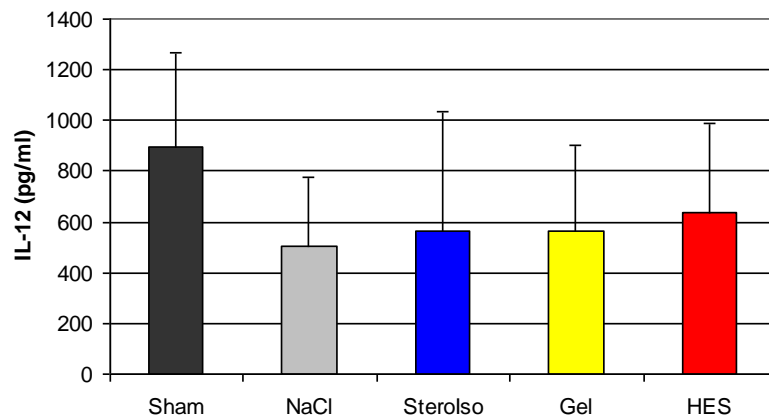


Abb. 4.22: IL-12-Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des IL-12-Wertes der jeweiligen Gruppe.

Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α)

Verglichen wurden alle volumensubstituierten Tiere (Gruppen 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham).

HES-Tiere ($38,79 \pm 27,87$ pg/ml) zeigte signifikant höhere TNF- α -Werte als die Shamgruppe ($16,18 \pm 10,39$ pg/ml). NaCl ($7,26 \pm 4,90$ pg/ml), Sterofundin® Iso ($23,91 \pm 24,34$ pg/ml) und Gelafundin® ($5,72 \pm 3,88$ pg/ml) zeigten keine signifikanten Abweichungen zur Kontrollgruppe.

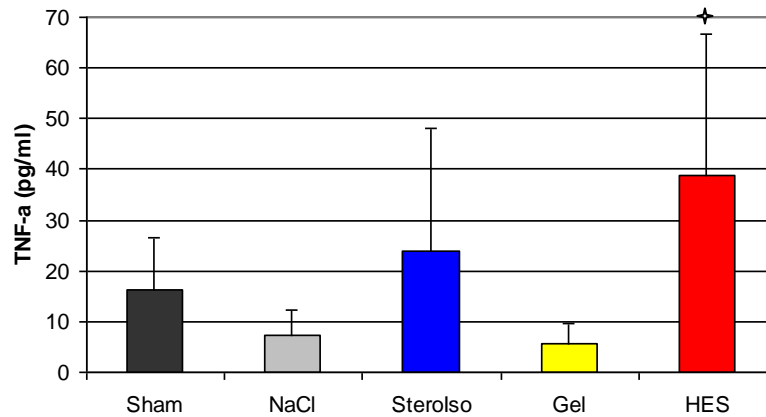


Abb. 4.23: TNF- α -Konzentrationen. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des TNF- α -Wertes der jeweiligen Gruppe.

4.5 Hepatische *In vivo*-Flussmessung und intrahepatische Gefäßdurchmesser

Sowohl die Durchmesser der intrahepatischen Gefäße, als auch die Erythrozyten-Flussgeschwindigkeiten wurden mit Hilfe des Programms MetaMorph Offline ermittelt. Dafür wurden pro Gruppe 5 Tiere untersucht und jeweils 8 Filmsequenzen pro Tier ausgewertet.

Zur Ermittlung des Gefäßdurchmessers wurden pro Filmsequenz 10 Gefäßdurchmesser bestimmt. Mittelwert und Standardabweichung ($M \pm SD$) bestimmt. Alle volumensubstituierten Tiere wie NaCl ($7,45 \pm 1,43$ μm), Sterofundin® Iso ($7,70 \pm 0,82$ μm), Gelafundin® ($7,58 \pm 1,00$ μm) und HES ($7,54 \pm 1,27$ μm) zeigten signifikant verringerte Gefäßdurchmesser im Vergleich zu Sham ($8,26 \pm 1,42$ μm).

Für die Bestimmung der Flussgeschwindigkeit wurden pro Filmsequenz 8 Erythrozyten auf ihre Geschwindigkeit untersucht und die Mittelwerte und Standardabweichungen ($M \pm SD$) gebildet. Auch hier zeigen alle volumensubstituierten Tiere eine Veränderung im Vergleich zu Sham ($0,29 \pm 0,11$ $\mu\text{m/ms}$). NaCl ($0,22 \pm 0,09$ $\mu\text{m/ms}$), Sterofundin® Iso ($0,22 \pm 0,13$ $\mu\text{m/ms}$) und Gelafundin® ($0,23 \pm 0,07$ $\mu\text{m/ms}$) haben zur Vergleichsgruppe

signifikant verringerte Flussgeschwindigkeiten, während HES ($0,34 \pm 0,11 \mu\text{m}/\text{ms}$) signifikant höhere Flussgeschwindigkeiten aufweist.

Zur weiteren Beurteilung wurde aus den bereits ermittelten Werten der volumetrische Fluss mit Hilfe der Formel $VQ = d^2 * 1/4\pi * \text{Erythrozytenflussgeschwindigkeit}/1,6$ berechnet (Gross and Aroesty, 1972). Dies erfolgte pro Gruppe an 5 Tieren mit jeweils 8 untersuchten Filmsequenzen. NaCl ($6,35 \pm 3,74 \mu\text{m}^3/\text{ms}$), Sterofundin® Iso ($7,81 \pm 2,23 \mu\text{m}^3/\text{ms}$) und Gelafundin® ($6,51 \pm 2,45 \mu\text{m}^3/\text{ms}$) zeigten einen signifikant niedrigeren volumetrischen Fluss im Vergleich zu Sham ($9,71 \pm 5,85 \mu\text{m}^3/\text{ms}$), wohingegen HES ($9,58 \pm 3,50 \mu\text{m}^3/\text{ms}$) keine signifikanten Abweichungen aufwies.

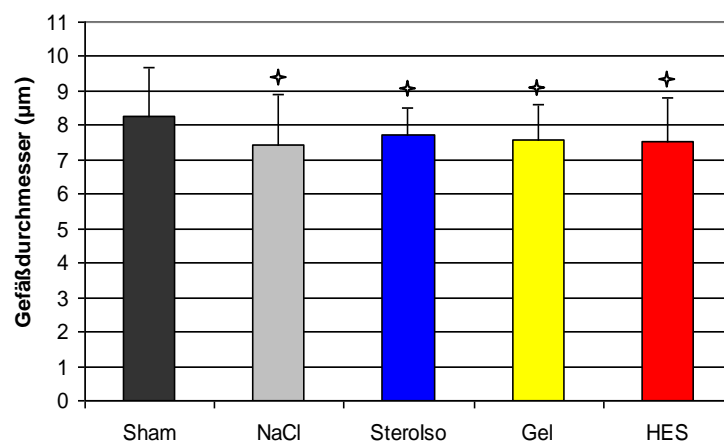


Abb. 4.24: Hepatische Gefäßdurchmesser. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Gefäßdurchmesser der jeweiligen Gruppe.

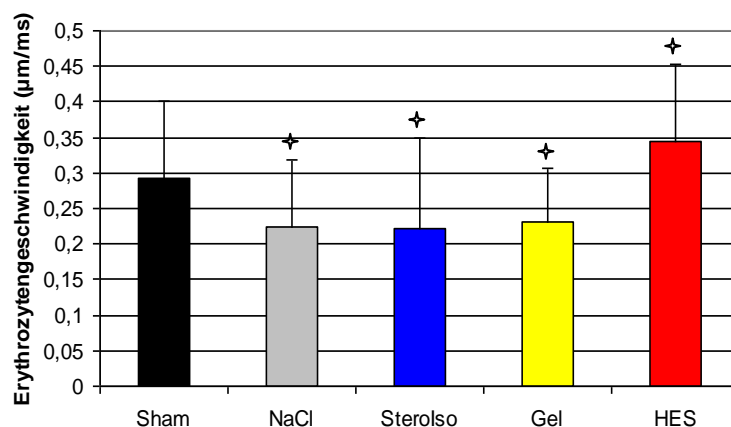


Abb. 4.25: Hepatische Flussgeschwindigkeit. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Erythrozytenflussgeschwindigkeit der jeweiligen Gruppe.

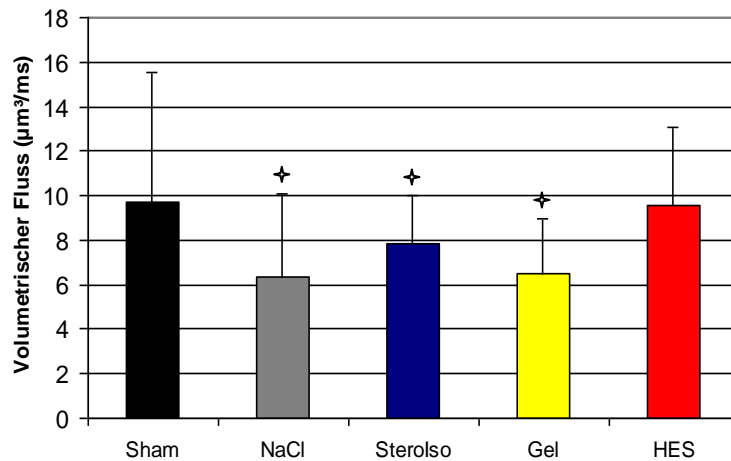


Abb. 4.26: Volumetrischer Fluss in der Leber. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der volumetrischen Flüsse der jeweiligen Gruppe.

4.6 Granulozytenfärbung

Die mit Naphthol AS-D Chlorazetatesterase und α -Naphthylazetatesterase gefärbten Gewebeschnitte wurden unter dem Mikroskop ausgewertet. Für alle Gruppen wurde eine Probenanzahl von $n=6$ berücksichtigt.

Zur Granulozytenquantifizierung wurden alle angefärbten Granulozyten in den Periportalfeldern und den Zentralvenen unter dem Mikroskop gezählt und anschließend Mittelwert und Standardabweichung ($M \pm SD$) bestimmt. Die statistische Auswertung folgte mittels SPSS einfaktorielle ANOVA, posthoc-Duncan. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgelegt.

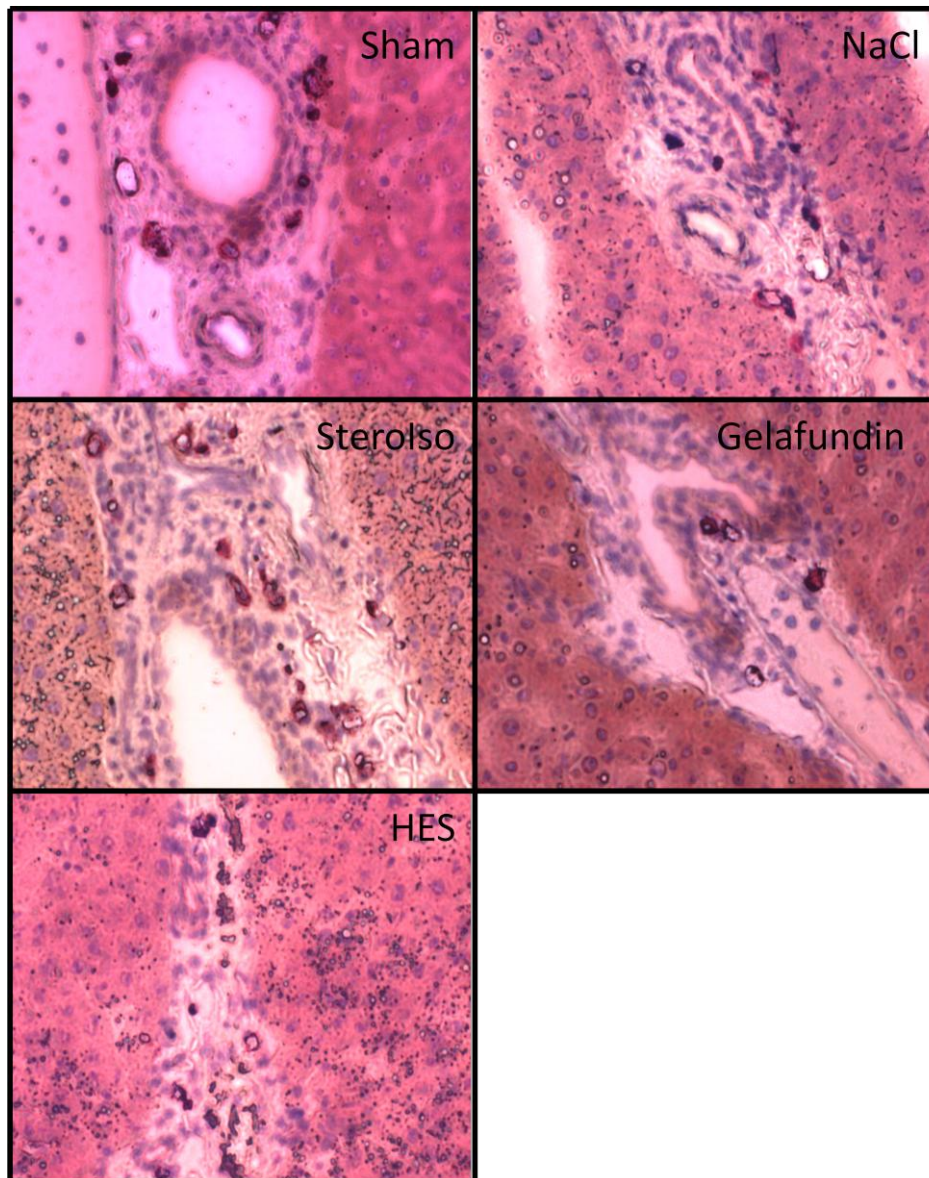


Abb. 4.27: Naphthol AS-D Chloracetatesterase und α -Naphthylacetatesterase-Färbung. Die Abbildung veranschaulicht die angefärbten Granulozyten im Bereich des Periportalfeldes der Leber. Die Aufnahmen sind in 20-facher Vergrößerung. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Periportale Granulozytenzahl

Verglichen wurde die Anzahl an Granulozyten im Periportalfeld der volumensubstituierten Tiere (Gruppe 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Shamgruppe ($24,50 \pm 17,57$), NaCl ($19,47 \pm 10,14$), Sterofundin® Iso ($16,00 \pm 9,15$), Gelafundin® ($13,31 \pm 7,22$) und HES ($13,29 \pm 10,85$).

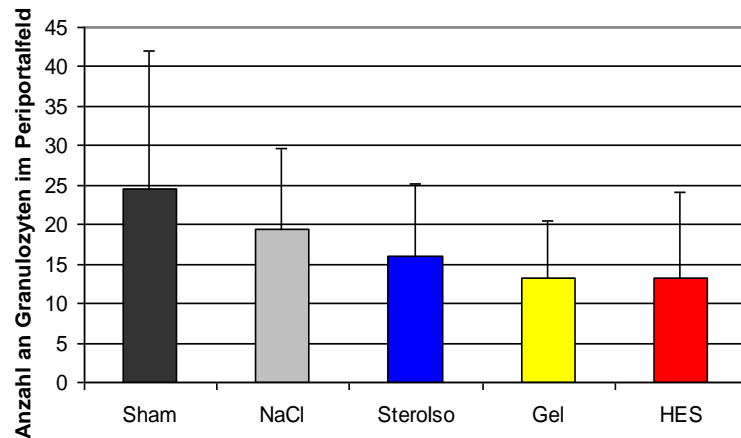


Abb. 4.28: periportale Granulozytenanzahl. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Granulozytenanzahl im Periportalfeld der jeweiligen Gruppe.

Zentralvenöse Granulozytenzahl

Verglichen wurde die Anzahl an Granulozyten in der Zentralvene von volumensubstituierten Tieren (Gruppe 2-5) mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham).

Alle volumensubstituierten Tiere wie NaCl ($4,00 \pm 2,19$), Sterofundin® Iso ($2,71 \pm 1,98$), Gelafundin® ($2,10 \pm 1,60$) und HES ($1,73 \pm 1,01$) weisen signifikant weniger Granulozyten in der Zentralvene im Vergleich zu Sham ($6,71 \pm 3,07$) auf.

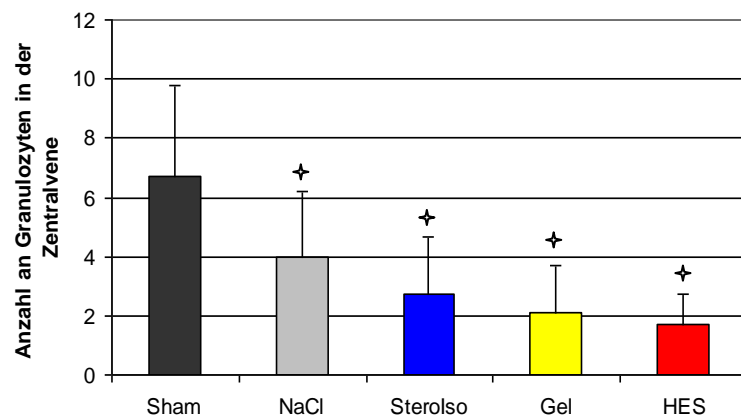


Abb. 4.29: zentralvenöse Granulozytenanzahl. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Granulozytenanzahl in der Zentralvene der jeweiligen Gruppe.

4.7 Hämodynamische Parameter

Herzindex (CI)

Alle volumensubstituierten Tiere (Gruppe 2-5) wurden mit der Kontrollgruppe (Gruppe 1, Sham) verglichen. HES-Tiere (541 ± 60 ml/min/kg) und Gelafundin®-Tiere (468 ± 124 ml/min/kg) zeigten einen signifikant gesteigerten CI im Vergleich zu Sham (353 ± 67 ml/min/kg). Alle anderen Tiere zeigten keine signifikante Änderung der CI-Werte. NaCl (317 ± 94 ml/min/kg) Sterofundin® Iso (375 ± 150 ml/min/kg).

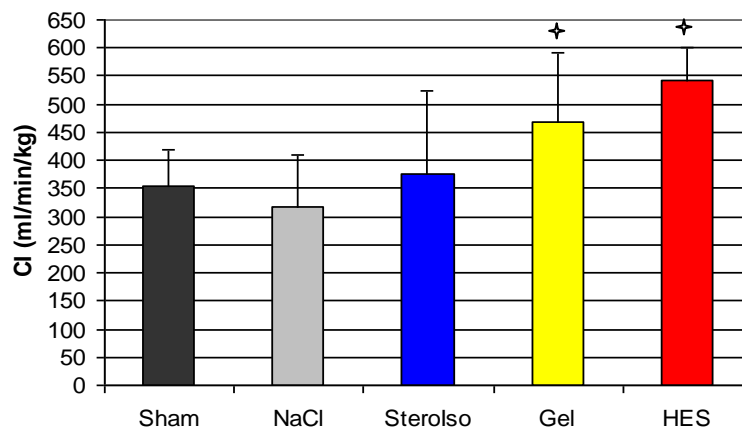


Abb. 4.30: Herzindex. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des Herzindex der jeweiligen Gruppe.

Hämoglobin (Hb)

Der Hämoglobinwert wurde im Rahmen einer Blutgasanalyse ermittelt. Alle septischen Tiere (Gruppe 2-5) wurden mit der Kontrollgruppe (Gruppe 1, Sham) verglichen. Gelafundin®-Tiere ($8,6 \pm 1,5$ g/dl) zeigten eine signifikante Abnahme der Hämoglobinwerte im Vergleich zur Sham-Gruppe ($13,6 \pm 0,7$ g/dl). Tiere aller anderen Gruppen NaCl ($11,6 \pm 1,7$ g/dl), Sterofundin® Iso ($12,7 \pm 2,3$ g/dl) und HES ($11,2 \pm 1,2$ g/dl) zeigten keine signifikanten Parameter.

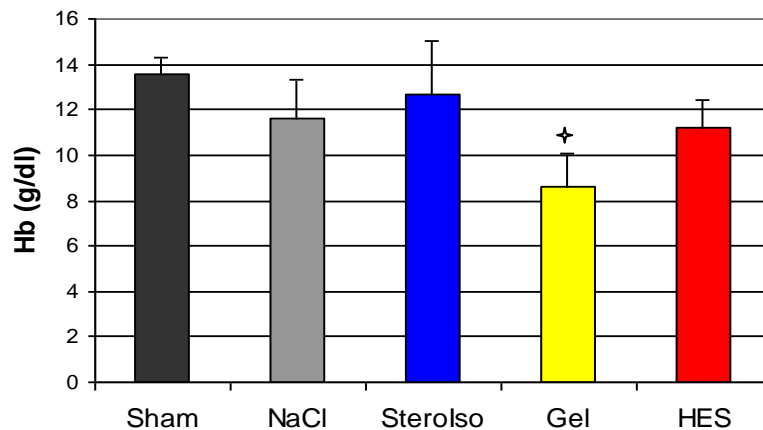


Abb. 4.31: Hb-Werte. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Hämoglobinwerte der jeweiligen Gruppe.

Arterielle Sauerstoffsättigung (SaO₂)

Die arterielle Sauerstoffsättigung wurde mittels Blutgasanalyse ermittelt. Die Sham-Tiere (Gruppe 1) wurden mit allen septischen Tieren (Gruppe 2-5) verglichen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Sham (96,4±1,2 %), NaCl (94,5±3 %), Sterofundin® Iso (89±10 %), Gelafundin® (89,9±10 %) und HES (95,5±1,9 %)

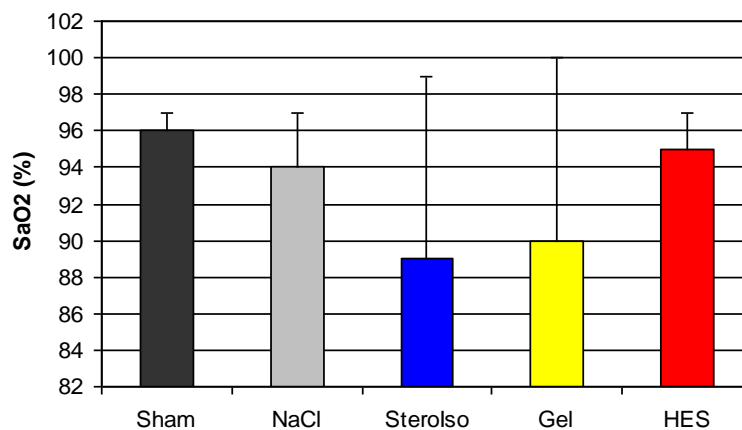


Abb. 4.32: Arterielle Sauerstoffsättigung. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der arteriellen Sauerstoffsättigung der jeweiligen Gruppe.

Globales Sauerstoffangebot (DO-2I)

Verglichen wurde das globale Sauerstoffangebot von HES-Tieren (Gruppe 5) mit allen anderen septischen Tieren (Gruppe 2-4).

Das globale Sauerstoffangebot in der HES-Gruppe (80 ± 14 ml/min/kg) war im Vergleich zu allen anderen septischen Tieren [NaCl (49 ± 20 ml/min/kg), Sterofundin® Iso ($50 \pm 12,5$ ml/min/kg) und Gelafundin® (49 ± 14 ml/min/kg)] signifikant gesteigert.

= Signifikanz gegenüber den septischen Gruppen NaCl, Sterofundin® Iso und Gelafundin®.

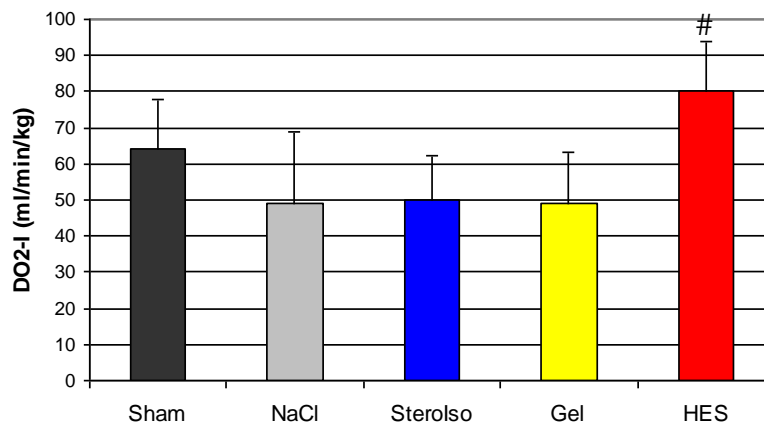


Abb. 4.33: DO₂-I (globales O₂-Angebot). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des globalen Sauerstoffangebotes der jeweiligen Gruppe.

Stroke-Volume-Index

Der Stroke-Volume-Index (SVI) aller septischen Tiere (Gruppe 2-5) wurde mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen. Der SVI in der HES-Gruppe ($1,27 \pm 0,16$ ml/Schlag/min) zeigte signifikant höhere Werte im Vergleich zu Sham ($0,87 \pm 0,15$ ml/Schlag/min). Alle anderen septischen Tiere [NaCl ($0,81 \pm 0,23$ ml/Schlag/min), Sterofundin®Iso ($0,85 \pm 0,33$ ml/Schlag/min), Gelafundin® ($1,09 \pm 0,25$ ml/Schlag/min)] zeigten keine signifikanten Abweichungen zu Sham.

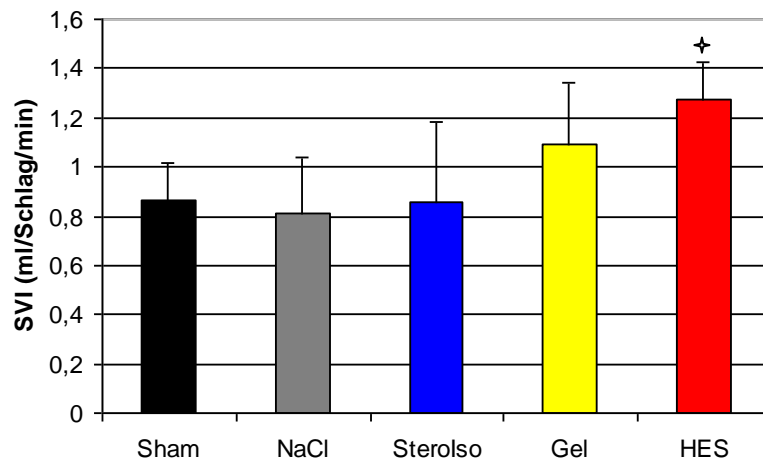


Abb. 4.35: SVI (stroke volume Index). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung des SVI der jeweiligen Gruppe.

Totaler peripherer Resistenz Index

Der totale periphere Resistenz Index (TPRI) aller septischen Tiere (Gruppe 2-5) wurde mit der Kontrolle (Gruppe 1, Sham) verglichen.

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Sham ($0,30 \pm 0,08$ mmHg/ml/min/kg), NaCl ($0,29 \pm 0,09$ mmHg/ml/min/kg), Sterofundin® Iso ($0,30 \pm 0,01$ mmHg/ml/min/kg), Gelafundin® ($0,197 \pm 0,08$ mmHg/ml/min/kg), HES ($0,18 \pm 0,05$ mmHg/ml/min/kg)].

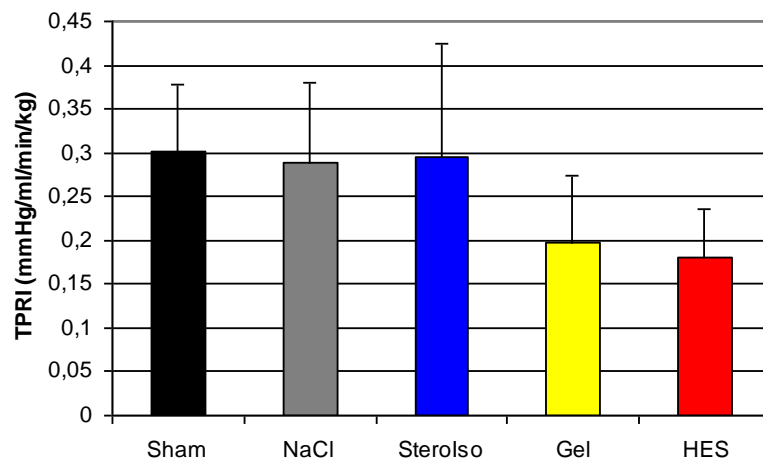


Abb. 4.35: TPRI (totaler peripherer Resistenz Index). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichungen des TPRI der jeweiligen Gruppe.

5 Diskussion

Die Sepsis stellt auf Grund ihrer Häufigkeit und der mit ihr assoziierten Mortalität ein wichtiges Krankheitsbild in der Intensivmedizin dar. Neben einer frühen, adäquaten antibiotischen Therapie ist die Volumentherapie ein zentraler Behandlungsaspekt. Allerdings wird die Wahl des eingesetzten Volumenersatzmittels, ob Kristalloid oder Kolloid, weiterhin kontrovers diskutiert.

Während sich Hinweise für den negativen Einfluss von HES auf die Nierenfunktion häufen, stellt sich die Frage inwieweit Volumenersatzstoffe Einfluss nehmen auf ein in der Sepsis wichtiges Organ, die Leber.

5.1 Diskussion der Methodik

Coecumlignations- und Punktions-Verfahren (CLP)

Um die Auswirkungen kristalloider und kolloider Lösungen auf den Wirtsorganismus während der Sepsis vergleichend beurteilen zu können, sollte ein Ratten-Tiermodell gewählt werden, das dem humanen septischen Krankheitsverlauf möglichst ähnelt. Die Ergebnisse können dadurch besser auf den menschlichen Krankheitsverlauf übertragen werden (Tracey und Abraham, 1999). Da abdominelle Infektionen durch bauchchirurgische Eingriffe oder intestinale Ischämien einen häufigen Fokus für eine Sepsis darstellen (Levy *et al.*; Brunkhorst *et al.*, 2008b), hat das Coecum Ligations- und Punktions-Verfahren (CLP) eine hohe klinische Relevanz. Bei diesem etablierten und weit verbreiteten Kleintiermodell führt eine bakterielle Invasion über den intraperitonealen Raum, ähnlich wie beim Menschen, zu einer Infektion mit systemischer inflammatorischer Wirtsantwort (Zantl *et al.*, 1998).

Einen Nachteil stellt die hohe Variabilität bezüglich der Mortalität dar. Diese schwankt trotz gleicher Technik zwischen 20 % und 50 % in verschiedenen Laboren und Experimenten, wodurch man zu ganz unterschiedlichen Ergebnissen kommen kann. Experimentell beeinflussbare Faktoren wie Nadelgröße, Anzahl der Punktionsen und Länge des ligierten Abschnittes führen ebenfalls zur Beeinflussung der Reproduzierbarkeit. Singleton *et al.* zeigten, dass Mortalität und Zytokinlevel positiv mit der Länge des ligierten Coecums korrelieren. Dies liegt in der Menge, der mit den Faeces ausgetretenen Darmbakterien begründet. Je größer der ligierte Abschnitt ist,

desto mehr Faeces gelangen daraus in den abdominellen Raum und die enthaltenen Darmbakterien provozieren eine verstärkte Wirtsantwort (Singleton und Wischmeyer, 2003). Die Letalität bei 25-prozentiger Coecumligation beläuft sich nach 24 h auf 44 %, wohingegen nach 48 h ca. 75 % der Tiere versterben (Singleton and Wischmeyer, 2003). Rittirsch et. al. zeigten, dass bei 75-prozentiger Coecumligation beinahe alle Tiere innerhalb von 4 Tagen versterben (Rittirsch *et al.*, 2009). Auf Grund dieser Datenlage führten wir eine 25-prozentige Coecumligation und zweifache Punktion mittels einer 18-gauge Nadel durch und beendeten den Versuch nach 24 h.

Eine weitere Möglichkeit der Sepsisinduktion im Kleintiermodell ist die Injektion bakterieller Endotoxine, wie zum Beispiel Lipopolysaccharide (LPS). Dieses Verfahren wurde jedoch nicht von uns gewählt, da es die Komplexität des humanen Sepsisverlaufs nicht adäquat widerspiegelt. Während CLP und Endotoxininjektion einen vergleichbaren Einfluss auf Morbidität, Mortalität und die Hämatologie haben, zeigen sich große Unterschiede bezüglich der Zytokinantwort (Remick und Ward, 2005). Endotoxininfusionen führen zu einem schnellen Anstieg von TNF- α mit einem Peak innerhalb von 90 Minuten, sowie einer Normalisierung innerhalb von 4 Stunden (Bagby *et al.*, 1991). Zudem waren die Zytokinlevel typischerweise viel höher als in humanen Sepsispatienten. Im Vergleich dazu, stieg TNF- α in Studien mit CLP langsamer und erreichte niedrigere Level. Diese Erkenntnisse geben Hinweise darauf, dass die Wirtsreaktion auf Endotoxininjektion nicht alle pathophysiologischen Aspekte des septischen Geschehens umfasst. Bei diesem Verfahren bildet sich kein septischer Fokus und es besitzt damit weniger klinische Relevanz als das von uns gewählte Verfahren der CLP (Maier *et al.*, 2004).

Auch Alter und Geschlecht der Ratten nehmen Einfluss auf den Verlauf der Sepsis. Bei weiblichen Ratten beispielsweise kommt es durch den Zyklus zu einer hormonellen Varianz (Pedersen *et al.*, 1989). Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit ausschließlich männliche Ratten mit einem mittleren Gewicht von 330 g eingeschlossen.

Zur hämodynamischen Stabilisierung erhalten septische Patienten häufig große Mengen an Volumensubstitutionsmitteln, wobei die Frage nach der optimalen Dosierung noch nicht abschließend geklärt werden konnte. In vorausgehenden Untersuchungen zeigte sich, dass die Infusion von 1,5 ml Kristalloiden/100g KG/h mit zusätzlicher Gabe von

0,5 NaCl/100g KG/h bei septischen Tieren die Ausbildung genereller Ödeme verursachte. Zudem führte die höhere Dosis an Volumensubstitution im Vergleich mit septischen Tieren denen 1,0 ml Kristalloid/100g KG/h infundiert wurde, zu keiner signifikanten Verbesserung der hämodynamischen Parameter (CI, MAP, SVI). Aus diesem Grund erhielten alle Tiere dieser Studie die basale Rate von 0,5 ml NaCl/100g KG/h und zusätzlich 1,0 ml der jeweiligen Infusionslösung/100g KG/h.

Für die erfolgreiche Sepsisinduktion spricht eine Gesamtletalität von 29,4 % über alle septischen Gruppen (n=34), während in der Kontrollgruppe (n=6) alle Tiere überlebten. Die mit NaCl behandelten Tiere (n=12) wiesen mit 50 % die höchste Letalitätsrate vor. Außerdem wurde ein positiver mikrobieller Abstrich aus dem Peritonealraum der septischen Tiere angefertigt. Die Leberbeeinträchtigung durch die Sepsis zeigte sich an verringerten Sinusoidalweiten, sowie verminderten Albuminwerten bei volumensubstituierten, septischen Tieren. Leukozyten, die im klinischen Kontext als Diagnosekriterium für die Sepsis herangezogen werden, sind bei Gelafundin®- sowie HES-Tieren signifikant verringert. Des Weiteren zeigten sich alle Tiere in einem schlechten klinischen Zustand. Sie wiesen Tachypnoe, Hypothermie, Anasarka sowie Erektopilie auf. Dies sind weitere Hinweise auf eine stattgehabte Sepsis und damit den Erfolg der Coecumligation und -punktion.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Einfluss der Volumensubstitutionsmittel auf die Zytokinlevel

In der Entwicklung der Sepsis stellen pro- und antiinflammatorische Zytokine wichtige Mediatoren dar, die einen Hinweis auf die Schwere der Sepsis geben. Erhöhte Plasmazytokinspiegel zeigen sowohl in tierexperimentellen, als auch in klinischen Untersuchungen eine positive Korrelation mit Organschädigungen und Mortalität (Simon *et al.*; Cavaillon *et al.*, 2003).

Im Immunoassay stellten HES-substituierte Tiere eine signifikante Erhöhung fast aller pro- und antiinflammatorischer Parameter im Vergleich zur Negativkontrolle dar. Gelafundin®-substituierte Tiere wiesen im Vergleich zur Negativkontrolle signifikant erhöhte IL-6-Werte auf, während sich in den kristalloiden Gruppen keine signifikanten Abweichungen der Zytokine von der Negativkontrolle zeigten.

Offensichtlich präsentierten HES-Tiere höhere Zytokinlevel als Tiere aus kristalloiden Gruppen. Wenn man die Mortalitätsraten für HES mit 25 % und Sterofundin® Iso mit 0 % vergleicht, scheinen die erhöhten Zytokinwerte der HES-Gruppe mit einem progredienten Krankheitsverlauf und erhöhter Mortalität verknüpft zu sein. In der Literatur gibt es weiteren Anhalt für einen Zusammenhang zwischen HES-Substitution und einer verstärkten Immunantwort mit Organschädigung. So zeigten Simon et. al in einem Tiermodell, dass 10% HES 200 12 h nach Sepsisinduktion signifikant höhere Werte an TNF- α , IL-6 und IL-10 aufweist als 6% HES 130 oder Ringer-Laktat und zudem eine signifikante Schädigung der Nieren auftrat (Simon *et al.*).

In der hier vorliegenden Arbeit zeigen Tiere der NaCl-Gruppe bei kaum gesteigerten Zytokinleveln die höchste Mortalität aller septischen Gruppen. Die Ursache hierfür bleibt letztlich ungeklärt. Naheliegend ist, dass in dieser Gruppe die am stärksten beeinträchtigten Tiere vor Abschluss der Versuche starben, und somit nur Tiere in die Wertung kamen, deren Immunsystem die Sepsis effektiver bekämpfte.

Für die signifikante Erhöhung pro- und antiinflammatorischer Parameter in der HES-Gruppe gibt es mehrere Erklärungsansätze.

Den ersten Erklärungsansatz stellt die bereits erwähnte Varianz des CLP-Verfahrens dar. Durch einen größeren Ligationsabschnitt des Darms als in den anderen Gruppen, kann ein vermehrter Austritt von Darmbakterien in den Peritonealraum einen fulminanteren Ablauf der Sepsis mit erhöhten proinflammatorischen Zytokinlevel in der HES-Gruppe provozieren (Singleton und Wischmeyer, 2003). Dagegen spricht allerdings das von uns standardisiert und damit in allen Gruppen einheitlich durchgeführte Verfahren.

Eine weitere potentielle Ursache für die Varianz von Zytokinwerten ist eine methodische Problematik bei der Datenerhebung. Durch kurze Induktions- und Halbwertszeiten (z.B. IL-6 1-2 h) variieren die Werte stark, und eine Vergleichbarkeit der Gruppen ist eingeschränkt. Um diese Problematik zu umgehen, wurden alle Tiere gleichermaßen 24 Stunden nach CLP analysiert. Somit bietet auch dieser Ansatz keine hinreichende Begründung für die hauptsächlich in der HES-Gruppe erhöhten Zytokinwerte.

Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den Gruppen ist eine unterschiedliche Latenzzeit von der Darmpunktion bis zum Anstieg der

Zytokine. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass die Maxima der Zytokine IL-6, IL-10 und TNF- α circa 2 h nach chirurgischen Eingriffen erreicht werden. 24 h nach Induktion der Sepsis sind IL-10 und TNF- α wieder nahezu an ihrem Ausgangspunkt, während IL-6 noch erhöhte Werte präsentiert (Meisner, 1999).

Eine Voraussetzung für eine diesbezügliche Interpretation der Ergebnisse dieser Arbeit, ist ein äquivalenter zeitlicher Ablauf der Zytokinlevel bei Mensch und Ratte. Die hohen Werte von TNF- α , IL-6 und IL-10 in der HES-Gruppe könnten darauf hinweisen, dass HES die Ausbildung der körpereigenen Abwehrmechanismen verzögert. Die Tiere befinden sich in einer frühen Phase der Sepsis, in der sowohl pro- als auch antiinflammatorische Parameter signifikant erhöht sind. Dagegen zeigen Gelafundin®-substituierte Tiere niedrige TNF- α und IL-10 Level, während IL-6 noch erhöht ist. Möglicherweise sind die Tiere dieser Gruppe im septischen Geschehen soweit fortgeschritten, dass die Serumspiegel von TNF- α und IL-10 bereits ihr Maximum erreicht haben und sinken, während die IL-6-Werte weiterhin erhöht sind. Die Tiere mit NaCl- und Sterofundin®-Substitution weisen keine signifikanten Erhöhungen der Zytokinlevel im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Sie müssten dann entweder am weitesten im Krankheitsgeschehen fortgeschritten sein, von vornherein weniger durch die CLP beeinträchtigt gewesen sein oder die Tiere mit fulminantem Sepsisverlauf starben vorzeitig, wie in der NaCl-Gruppe.

Einen wichtigen Aspekt stellen die signifikant hohen Werte sowohl der pro- als auch der antiinflammatorischen Zytokine in der HES-Gruppe dar. Bezüglich des zeitlichen Verlaufs von SIRS und CARS (compensatory antiinflammatory response syndrom) werden in der Literatur zwei Modelle diskutiert. Die „Sepsis Serial Theory“ beschreibt ein sequentielles Sepsismodell, indem SIRS und CARS zeitlich nacheinander auftreten. Diesem Modell zufolge führt die beginnende proinflammatorische Phase zu einer Entzündungsreaktion des Körpers, um Fremdorganismen zu bekämpfen und die weitere Ausbreitung zu verhindern. Anschließend folgt die antiinflammatorische Reaktion mit einer endogenen Immunsuppression (Cavaillon *et al.*, 2001).

Im Gegensatz dazu besagt die „Sepsis Parallel Theory“, dass SIRS und CARS parallel ablaufen. Cavaillon *et al.* zeigten, dass ein SIRS vor allem im entzündeten Gewebe abläuft und die Leukozyten anderer Gewebe in deaktiviertem Zustand der Aktivierung von Endothelzellen und Expression von Adhäsionsmolekülen entgegenwirken.

Unter Beachtung der unterschiedlichen zeitlichen Veränderungen der Zytokinspiegel und der „Sepsis Parallel Theory“ können signifikant hohe Werte von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen der HES-Gruppe begründet werden.

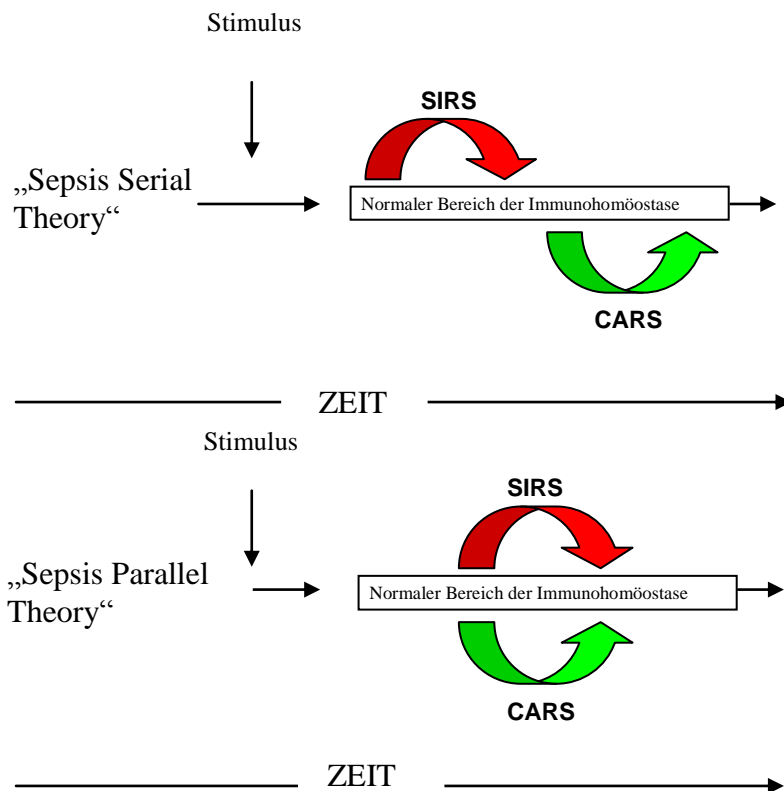


Abb 5.1: Theorien zum zeitlichen Verlauf von SIRS und CARS im Rahmen der Sepsis. Die Abbildung zeigt die zwei Theorien zum Ablauf von pro- und antiinflammatorischer Phase während der Sepsis. Abbildung verändert nach (Ronco *et al.*, 2003)

5.2.2 Einfluss der Volumenssubstitutionsmittel auf die Funktion der Leber

Die Schädigung der Leber stellt in der Sepsis eine häufige Komplikation dar, in deren Folge es zu Leberinsuffizienz mit Beeinträchtigung der Überlebenschancen der intensivmedizinischen Patienten kommt. Aus diesem Grund sollen mithilfe von wesentlichen Blutparametern die Auswirkungen der CLP-induzierten Sepsis unter dem Einfluss der verschiedenen Volumina genauer betrachtet werden.

Die Parameter GOT, GPT und γ -GT geben Hinweise auf Integrität und Funktion der Hepatozyten. Bei leichten Leberschäden kommt es zum Anstieg der membrangebundenen γ -GT, bei schweren Schäden ist der Wert der zytoplasmatisch liegenden GPT erhöht. Die zu 80 % mitochondrial gebundene GOT steigt zuletzt und

somit bei sehr schweren Leberschädigungen. Da es sich bei der GOT, im Gegensatz zu den anderen Enzymen, nicht um einen leberspezifischen Parameter handelt, können auch andere Ursachen wie Herzinfarkt oder Muskeltraumata für eine Erhöhung verantwortlich sein. Der de-Ritis-Quotient GOT/GPT wird häufig als Prognoseparameter benutzt und zeigt ab einer Höhe von >1 eine schwere Leberzellschädigung an.

Obwohl alle volumensubstituierten Tiere tendenziell höhere Leberwerte zeigen als die Kontrollgruppe, lässt sich keine eindeutige Aussage über den Einfluss der Volumenersatzmittel auf die Leberstruktur machen. Gelafundin®-Tiere zeigen signifikant hohe GOT-Level im Vergleich zur Negativkontrolle und einen Trend hin zu erhöhten GPT-Werten. Diese Ergebnisse könnten Hinweise auf eine beginnende Einschränkung der Leberfunktion geben.

In der HES-Gruppe ist die strukturelle Integrität der Leber, trotz der hohen Letalitäten und der nachweislich erhöhten Zytokinlevel noch nicht signifikant nachweisbar beeinträchtigt. Dieser Befund deckt sich mit der Untersuchung der histologischen Leberschnitte, in denen keine die Hepatozyten betreffenden Veränderungen zu detektieren waren.

Mittels *in vivo*-Untersuchungen der Lebergefäße konnten jedoch verringerte Sinusoidalweiten nachgewiesen werden. Alle septischen Tiere zeigten dabei signifikant verringerte Gefäßdurchmesser im Vergleich zur Kontrollgruppe. In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Histologie der Leber in der Sepsis. In einer Studie von Brooks et al. zeigte das Lebergewebe von CLP-operierten Ratten morphologische Unterschiede zu dem nicht operierter Tiere. Die sinusoidalen Räume waren überfüllt mit roten Blutzellen, Zelldébridement und Plasmaprotein. Zudem war das den Sinusoiden anliegende Endothel geschwollen und nicht klar abgrenzbar (Brooks *et al.*, 2007). Derartige Veränderungen wurden von uns in keiner der volumensubstituierten Gruppen nachgewiesen. In anderen Tiermodellen einer Sepsis konnten ebenfalls keine immunhistochemischen Veränderungen in der Leber festgestellt werden (Ayala *et al.*, 1995; Hotchkiss *et al.*, 1997; Oberholzer *et al.*, 2001). Bei immunhistochemischen Untersuchungen im Rahmen von Autopsien septischer Patienten waren vor allem schnell teilende Zellen beeinträchtigt. Dazu gehören gastrointestinale Zellen und Lymphozyten (Hotchkiss und Karl, 2003). Möglicherweise war der

Durchführungszeitraum dieser Studie nicht lange genug, um strukturelle Schäden der Leber zu verursachen. Jedoch kam es zur Beeinträchtigung der hepatischen Syntheseleistung.

Der Spiegel des vorwiegend in der Leber gebildeten Albumins war bei allen volumensubstituierten Tieren im Vergleich zur Negativkontrolle signifikant vermindert. Albumin ist das wichtigste Eiweiß im Blut und ist für die Konstanthaltung des kolloidosmotischen Drucks und damit der Flüssigkeitsverteilung im Körper zuständig. Ein verminderter Albuminspiegel, wie er in der Sepsis vorkommt, führt zum Austritt von Flüssigkeit in das umliegende Gewebe und kann die (Schock-) Symptomatik während der Sepsis verstärken. An dieser Stelle setzt die Therapie durch Volumensubstitution an, indem die intravasale Flüssigkeitsmenge kontrolliert und gegebenenfalls bereits ins Interstitium ausgetretene Flüssigkeit mobilisiert wird. Bei nahezu allen septischen Patienten liegt eine Hypoalbuminämie vor. Früher wurde zu ihrer Behandlung Humanalbumin genutzt, das mittlerweile auf Grund seiner Kosten und dem hohen Nebenwirkungsprofil kaum noch zur Anwendung kommt. In der 2004 veröffentlichten Saline versus Albumin Evaluation (SAFE) Studie zeigte sich kein Vorteil für die Gabe von 4 % Albumin bei intensivmedizinischen Patienten. Die beiden Gruppen unterschieden sich weder in der Dauer von Krankenhausaufenthalt, mechanischer Ventilation und Nierenersatztherapie, noch in der 28-Tage-Überlebensrate. Dennoch verzeichnete man bei Patienten im septischen Schock nach Albumingabe verringerte Mortalitäten, während Traumapatienten, besonders solche mit traumatischen Kopfverletzungen, erhöhte Mortalitäten zeigten. Bezüglich höherer Konzentrationen wie Humanalbumin 25 % lassen sich bisher keine Aussagen treffen (Finfer *et al.*, 2004).

In dieser Studie präsentieren alle volumensubstituierten Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe verringerte Albuminspiegel, was einen Hinweis für den Ablauf eines septischen Geschehens gibt. Tendenziell zeigen Tiere mit NaCl- und Sterofundin®-Substitution höhere Albuminwerte als HES- und Gelafundin®-substituierte Tiere. Plausibel wäre, dass es in den kolloidalen Gruppen, durch die Mobilisation von Flüssigkeit aus dem Gewebe zu einem Dilutionseffekt gekommen ist. Dadurch sinkt der relative Wert von Albumin sowohl in der Gelafundin®, als auch der HES-Gruppe.

Andererseits ist ein wichtiger Parameter, nämlich Bilirubin, der eine Aussage über die Schwere des Organversagens macht (Pirovino *et al.*, 1989), bei keiner der volumensubstituierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht.

Laborchemisch erhöhte Bilirubinwerte können aus gesteigerter Hämolyse, hepatozellulärer Schädigung oder einer Cholestase resultieren. Das klinische Zeichen erhöhter Bilirubinwerte ist der Ikterus, eine Gelbfärbung der Skleren, der ab einem Plasmawert von ca. 2 mg/dl auftritt. Die Serumbilirubinkonzentration wird häufig zur Diagnose der Leberinsuffizienz genutzt, wobei zwei Scores zur Einschätzung vorliegen. Der Goris-Score unterscheidet in Leberdysfunktion und Leberversagen. Die Leberdysfunktion ist mit einer Plasmabilirubinkonzentration von >2 mg/dl und einer Erhöhung der Leberenzymplasmakonzentrationen definiert. Von einem Leberversagen spricht man dagegen bei einer Bilirubinkonzentration von >5 mg/dl und starker Erhöhung der Leberenzymparameter. Der SOFA-Score hingegen teilt das Leberversagen in 5 Schweregrade, ausschließlich in Hinblick auf die Höhe der Bilirubinkonzentrationen, ein.

Alle im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Tiere wiesen Bilirubinwerte unter 0,2 mg/dl auf. Unter der Voraussetzung der Vergleichbarkeit der Werte bei Ratte und Mensch geben sie damit weder im Goris-, noch im SOFA-Score Hinweis auf eine Leberinsuffizienz. Damit zeigt sich, dass weder vermehrte Hämolyse, noch hepatozelluläre Störungen vorliegen. Vielmehr sprechen diese Ergebnisse dafür, dass die Leber weiterhin indirektes Bilirubin durch UDP-Glucoronyltransferase an Glucuronsäure gekoppelt hat und es in dieser wasserlöslichen direkten Form über die Galle ausgeschieden wurde (Kredel *et al.*, 2008).

Als Parameter zur Beurteilung einer Cholestase dienen neben Bilirubin auch die Alkalische Phosphatase (AP) und die γ -Glutamyltransferase (γ -GT). Da keiner dieser Parameter in einer Volumenssubstitutionsgruppe signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht ist, lässt sich auch eine Cholestase ausschließen.

Bei Patienten kommt es im septischen Verlauf unabhängig von diabetischen Vorerkrankungen häufig zu initialen Hyperglykämien, gefolgt von Hypoglykämien mit konkomitanten Hyperlaktatazidämien (Maitra *et al.*, 1999). Äquivalent dazu spricht Maitra *et al.* auch von zwei Phasen der glykämischen Antwort im CLP-Modell.

Weniger als 20 h nach CLP steht eine Hyperglykämie im Vordergrund, während 20 h nach CLP eine Hypoglykämie auftritt (Maitra *et al.*, 2000).

Die anfänglich hohen Glucosekonzentrationen entstehen durch proinflammatorische Zytokine, exzessive Dextrosebereitstellung sowie hepatische Insulinresistenz und erhöhte Gluconeogenese. Es zeigte sich nämlich, dass aus Hyperglykämien sowohl *in vitro* als auch in Glucoseintoleranten Patienten höhere Level an TNF- α und IL-6 resultierten, wobei die ursächlichen Mechanismen noch unklar sind. Im Tiermodell sind sie überdies mit erhöhten Morbiditäts- sowie Mortalitätsraten assoziiert (Heuer *et al.*, 2006).

Die anschließende hypoglykämische Phase ist die Ursache einer verringerten hepatischen Glucoseproduktion, in deren Folge es zu einem Anstieg der Serumlaktatkonzentration kommt. Grund für die enge Verknüpfung von Glucose- und Laktatmetabolismus ist die Verstoffwechslung von Laktat zu Glucose. 60 % des Laktates wird so in der Leber verstoffwechselt, während 30 % durch die Niere metabolisiert und in 10 % über den Urin ausgeschieden werden (Dan L. Longo, 2012).

Laktat gilt zudem als einer der wichtigsten und frühesten Parameter für die Mortalität durch Sepsis. Erhöhte Laktatspiegel können im klinischen Alltag Hinweise auf das Überleben 12 h nach Einweisung in eine Intensivstation geben (Duke *et al.*, 1997). Bei einem Serumlaktat von über 3 mmol/l liegt der prädiktive Vorhersagewert für den Tod 12 h nach Einweisung bei 56 %, während bei Serumlaktatwerten von unter 3 mmol/l ein prädiktiver Vorhersagewert für das Überleben 12 Stunden nach Einweisung von 84 % vorliegt.

In der vorliegenden Arbeit zeigte Gelafundin® signifikante Veränderungen von Glucose- und Laktatkonzentrationen im Vergleich zur Kontrolle, während HES und Kristalloide keinen signifikanten Effekt vorwiesen.

Die signifikant erniedrigte Glucose- sowie erhöhten Laktatkonzentrationen lassen sich durch eine Einschränkung der hepatischen Metabolisation erklären. Diese Tiere haben sich demnach in einer späten Phase der glykämischen Antwort befunden, was mit den Erkenntnissen aus der Zytokinevaluation übereinstimmt. Die Laktatkonzentration von über 10 mmol/l in der Gelafundin®-Gruppe signalisiert zusätzlich einen hohen prädiktiven Vorhersagewert, der durch eine Letalität von 25 % gestützt wird.

Trotz des Zusammenhangs von proinflammatorischen Zytokinen und Hyperglykämie und einem vermuteten verzögerten Krankheitsverlauf zeigten HES-Tiere mit signifikant erhöhten TNF- α und IL-6 Werten keine Hyperglykämien.

Allerdings weisen HES-Tiere Laktatkonzentrationen von über 6 mmol/l auf und haben damit ebenso wie Gelafundin®-Tiere eine erhöhte Letalitätswahrscheinlichkeit, die sich mit der Mortalitätsrate von 25 % bestätigt. Eine Ursache für erhöhte Laktatkonzentrationen kann neben der Leberfunktionseinschränkung auch die Beeinträchtigung der Niere durch kolloidale Lösungen, also eine renale Insuffizienz sein. Bereits seit längerem wird HES als Risikofaktor für die Entwicklung von akutem Nierenversagen diskutiert (Schortgen *et al.*, 2001), während Gelatine als nephrologisch unbedenklich und diuresefördernd galt (Marx *et al.*, 2002). In histologischen Studien zeigten sich nach HES-Gabe Schwellungen der renalen Tubuluszellen, welche eine tubuläre Obstruktion und medulläre Ischämie verursachen können. Spätestens seit Veröffentlichung der VISEP-Studie wurde HES als first-line Volumenssubstitutionsmittel durch Gelafundin® ersetzt. Die prospektive multizentrische Studie zum Vergleich von konventioneller und intensivierter Insulintherapie im intensivmedizinischen Patienten wies erhöhte Raten von akutem Nierenversagen ebenso wie eine erhöhte 90-Tage-Mortalität in der HES-Gruppe nach. Doch neben HES scheint auch Gelafundin® 4 % mit einem erhöhten Risiko für ein Nierenversagen assoziiert zu sein (Schabinski *et al.*, 2009). In einem CLP-Modell von Schick *et al.* ließen sich unter Gelafundin® 4 %-Gabe sogar stärkere Beeinträchtigungen der Nierenfunktion, als unter HES 6 %-Gabe verzeichnen. Im Gegensatz zu HES-substituierten Tieren zeigten Gelafundin® substituierte Tiere signifikante Veränderungen der Nierenfunktionsparameter Kreatinin, Harnstoff und „Neutrophil gelatinase-associated lipocalin“ (NGAL), ein früher Marker für die akute Nierenschädigung. Des Weiteren konnten erstmals nicht nur bei HES-substituierte Tieren, sondern auch in Gelafundin®-Tieren vesikuläre Einschlüsse in proximalen Tubuluszellen nachgewiesen werden (Schick *et al.*, 2009).

Zusätzlich zu den renalen Nebenwirkungen steht auch der Einfluss von Volumenersatzlösungen auf den Gerinnungsstatus im Fokus häufiger Diskussionen. In einem systematischen Review wurden 7 *in vivo* und 17 *in vitro* Studien verglichen, die

die Hämostase von kolloidalen und kristalloiden Volumenlösungen untersuchten. In 19 der 24 Studien wies HES 130/0,4 eine signifikante Hypokoagulation auf (Hartog *et al.*). Laut Literatur soll besonders HES durch eine Blockade von Glykoprotein IIb- und IIIa-Fibrinogenrezeptoren eine verminderte Aktivität des von Willebrand-Faktors und von FVIII bewirken. Die dadurch geschädigte Thrombozytenadhäsion führt zu einer verlängerten PTT (Huraux *et al.*, 2001). Dieser negative Gerinnungseffekt korreliert mit der Plasma-HWZ, da HES-Präparate mit hohem MG und damit längerer Plasmaverweildauer stärkere Einflüsse auf die Gerinnung aufweisen (de Jonge und Levi, 2001; Thyes *et al.*, 2006). Während das Substitutionsmuster kein Faktor für Gerinnungsveränderungen darstellt, überwiegt der Effekt des Substitutionsgrades. So zeigte Roten *et al.*, dass höhere Substitutionsgrade stärkere Gerinnungseffekte aufweisen als niedrige Substitutionsgrade (von Roten *et al.*, 2006). Vor diesem Hintergrund lässt sich der durch 6% HES 130/0,4 nur gering beeinflusste Gerinnungsstatus in dieser Studie erklären. Da ein HES-Präparat mit niedriger Verweildauer im Plasma sowie niedrigem Substitutionsgrad verwendet wurde, verschlechterte sich die Gerinnung im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant. Neu entwickelte balancierte HES-Präparate sollen außerdem durch einen speziellen, dem menschlichen Plasma ähnlichen, Elektrolytzusatz noch weniger negative Effekte bezüglich der Gerinnung aufweisen (Roche *et al.*, 2002; Roche *et al.*, 2006). Allerdings zeigte eine Studie von Lindroos *et al.* keine signifikanten Unterschied von Kombination aus balancierten vs. unbalancierten kolloidalen und kristalloiden Lösungen auf die Hämostase in einem *in vitro* Modell (Lindroos *et al.*).

Im Gegensatz zu HES-substituierten Tieren zeigten Gelafundin®-Tiere signifikante Veränderungen aller gemessenen koagulatorischen Parameter. Neben einem erniedrigten Quick, einer erhöhten INR und einer verlängerten PTT, waren auch signifikant verminderte Thrombozytenwerte zu verzeichnen. Lange Zeit ging man davon aus, dass Gelatine-Präparate die Gerinnung nicht oder nur wenig beeinflussen würden (Lundsgaard-Hansen und Tschirren, 1980). Mittlerweile konnte allerdings sowohl *in vitro* als auch *in vivo* eine Beeinträchtigung der Gerinnung nachgewiesen werden. Dabei fanden sich unter Gelatinegabe Blutgerinnsel mit verringertem Gewicht und Stärke sowie ein Verlust des normalen Fibrinnetzwerkes (Mardel *et al.*, 1998). Des Weiteren beschreibt De Jonge nach Infusion von 1 l Gelatine-Präparat die Ausbildung

eines von-Willebrand-Syndroms mit verringerten vWF-Werten im Plasma und verlängerter Blutungszeit (de Jonge *et al.*, 1998).

Auch die Auswirkungen kristalloider Lösungen auf die Gerinnung werden kontrovers diskutiert. In einer Studie von Innerhofer *et al.* zeigten kristalloide Lösungen die geringsten Effekte auf die Gerinnung (Innerhofer *et al.*, 2002), während in anderen Studien nach *in vivo* Infusion kristalloider Lösungen signifikante Beeinträchtigungen der Gerinnung nachgewiesen wurden (Ruttmann *et al.*, 2001; Ng *et al.*, 2002; Ruttmann *et al.*, 2002). In der vorliegenden Studie präsentierten kristalloide Lösungen allerdings keine signifikanten Funktionsstörungen bezüglich der Gerinnung.

5.2.3 Beeinträchtigung von makro-, mikrozirkulatorischen und inflammatorischen Parametern

Im Rahmen der Sepsis kommt es auf Grund einer Störung des kardiovaskulären Systems zu einer Kreislaufinstabilität, welche u.a. durch ein hohes HZV, eine arterielle Hypotension und eine verminderte Sauerstoffextraktion charakterisiert werden kann. Dies wiederum führt zu einer verschlechterten Mikrozirkulation (K. Reinhart, 2006a). Die Untersuchung der Vitalparameter spielt somit eine große Rolle in der Diagnose und Therapie der Sepsis.

In dieser Arbeit wurden verschiedene hämodynamische Parameter bestimmt. Der „Cardiac Index“ (CI) macht eine Aussage über die Auswurfleistung des Herzens in Bezug auf die Körperoberfläche bzw. das Körpergewicht des Organismus, und wies bei beiden kolloidalen Gruppen Gelafundin® und HES einen signifikant hohen Wert auf. Zudem präsentierten HES-Tiere auch einen signifikant höheren „Stroke Volume Index“ (SVI) im Vergleich zu Sham. Bei diesem Parameter handelt sich dabei um die Menge an Blut, die pro Ventrikelkontraktion aus dem Herzen gepumpt wird. Gelafundin®-Tiere zeigten dagegen nur einen Trend hin zu erhöhten SVI-Werten. Dieser Effekt auf die Kontraktilität des Herzens durch hypertone Substanzen wurde bereits sowohl tierexperimentell als auch klinisch beobachtet. So zeigte sich in einer Studie von v. Haren *et al.*, dass die Infusion von hypertoner im Vergleich zu isotoner Flüssigkeit eine Steigerung des SVI zur Folge hat, ohne dass dies durch unterschiedliche Füllungsdrücke oder variables „Preloading“ zu begründen wären (van Haren *et al.*). Äquivalent zu der Argumentation v. Harens kann zudem auch ein Einfluss durch unterschiedliches

„Afterloading“ auf Grund von nicht signifikant abweichenden MAP-Leveln ausgeschlossen werden. Die Gruppe der mit HES substituierten Tiere zeigte außerdem einen positiven Einfluss im Bereich der hepatischen Mikrozirkulation. Zur Beurteilung dieser wurden die Erythrozytenflussgeschwindigkeiten und der volumetrische Fluss in den Gefäßen der Leber ermittelt. Dabei zeigten HES-substituierte Tiere signifikant hohe Erythrozytenflussgeschwindigkeiten verglichen mit Sham und im Gegensatz zu allen anderen Gruppen keinen signifikant niedrigen volumetrischen Fluss. Möglicherweise wurde die Kreislaufsituation durch den großen Volumeneffekt und im Rahmen eines gesteigerten CI durch HES positiv beeinflusst, was sich in einer gut erhaltenen hepatischen Mikrozirkulation widerspiegelt. Gleichzeitig zeigte sich nämlich auch ein signifikant hohes globales Sauerstoffangebot (DO_2-I) bei normaler arterieller Sauerstoffsättigung (SaO_2) in der HES-Gruppe im Vergleich zu allen anderen septischen Gruppen. Des Weiteren präsentierten die Tiere der HES-Gruppe einen Trend hin zu einem verminderten totalen peripheren Resistenz Index (TPRI), möglicherweise begründet durch eine Erweiterung peripherer Gefäße. Allerdings wiesen HES-substituierte Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe auch signifikant hohe Laktatwerte vor. Fraglich ist, ob die Durchblutung nur noch partiell und in der Leber durch Zentralisation aufrechterhalten wurde und die Durchblutung peripherer Bereiche so schlecht war, dass vermehrt Laktat anfiel, oder der Laktatabbau durch eine Einschränkung der Nierenfunktion vermindert wurde. Gelafundin®-Tiere zeigten bei signifikant hohem Herzindex keine signifikante Steigerung des globalen Sauerstoffangebotes (DO_2-I) bei einem Trend hin zu verringerten SaO_2 -Werten. Dies könnte auch durch den signifikant niedrigen Hämoglobinwert (Hb) zu begründen sein. Weiterhin ist nicht auszuschließen, dass dieser niedrige Hb-Wert durch Hämodilution zu Stande kam. Allerdings zeigten die Tiere sowohl laborchemisch als auch klinisch in Form von Hämatothorax und blutigem Aszites einen schlechten Gerinnungsstatus.

Einen wichtigen Parameter zur Beurteilung der Inflammation im Rahmen der Sepsis stellt die Anzahl an Leukozyten im Blut dar. Per definitionem kann die Sepsis sowohl mit einer Leukozytose als auch mit einer Leukopenie einhergehen. In dieser Arbeit wiesen die kolloidalen Lösungen Gelafundin® und HES 0/0,4 signifikant niedrigere Leukozytenwerte verglichen mit der Kontrollgruppe auf. In einer Studie von Brooks et al. führte die CLP-induzierte Sepsis zur signifikanten ca. 50-prozentigen

Leukozytenabnahme im Vergleich zu Sham-operierten Tieren (Brooks *et al.*, 2007). Die sepsisinduzierte Leukopenie ist dabei auch häufig mit schlechtem klinischen Outcome assoziiert (Hotchkiss *et al.*, 1999; Funke *et al.*, 2000). Verschiedene Ursachen kommen für die Leukopenie in Frage. Zum Einen kann eine Erschöpfung der Progenitorzellen im Knochenmark, zum anderen Reifungsstörungen von granulozytären Zellreihen oder eine Imbalance zwischen Extravasation und Produktion zur Abnahme der Leukozyten führen (Quezado *et al.*, 2001). Im Rahmen der Sepsis kann es beispielsweise zu einer vermehrten Abwanderung von Leukozyten in geschädigtes Lebergewebe kommen. In Untersuchungen mittels intravitaler Fluoreszenzmikroskopie zeigte sich im geschädigten Lebergewebe eine Ansammlung sequestrierter Leukozyten im Sinusoidalraum. Als bedeutsamer Pathomechanismus wird die Diskrepanz zwischen dem leukozytären Durchmesser von 10-12 μm und dem sinusoidalen Raum mit 5-12 μm gesehen. Die Fortbewegung der Leukozyten führt auf Grund dieses Missverhältnisses während der Diapedese zur Kompression der endothelialen Zellen und dem darunterliegenden Disse-Raum. Dies führt letztlich zu endothelialer Zellschwellung und interstitiellen Ödemen (Gores *et al.*, 1990; Vollmar und Menger, 2009). Weiterhin ließ sich bei aktivierten Leukozyten eine Zunahme von Rigidität und Viskosität feststellen, welche die Passage durch die Leber zusätzlich erschwert (Frank, 1990).

Immunhistochemische Analysen zeigten, dass die Mehrzahl septischer Patienten vor allem zwei apoptotische Zelltypen aufweisen, nämlich Lymphozyten und gastrointestinale Epithelzellen. Dies unterstützt die Aussagen diverser tierexperimenteller und klinischer Studien, in denen eine differenzierte Analyse der weißen Blutkörperchen bei Leukopenie in der Sepsis eine Neutrophilie bei gleichzeitiger Lymphopenie ergab (Wyllie *et al.*, 2004; Brooks *et al.*, 2007). In der vorliegenden Arbeit konnte bei der histologischen Begutachtung des Lebergewebes jedoch keine pathologische Ansammlung sequestrierter Leukozyten, weder Lympho- noch Granulozyten festgestellt werden. Der Einfluss von kolloidalen Lösungen auf die Leukozytenkonzentrationen im Serum bleibt damit Gegenstand weiterer Untersuchungen, ebenso wie die Verteilung der Granulozyten in der Leber der septischen Ratte.

Auf Grund der Ergebnisse dieser Studie sollte die Wahl des Volumenersatzmittels kritisch betrachtet werden und die Auswirkungen der unterschiedlichen Infusionslösungen auf Niere und Leber weiterhin untersucht werden. Als Gegenstand weiterer Studien bietet sich die Untersuchung der neu entwickelten balancierten HES-Präparate an. Diese könnten den Überlebensvorteil der Sterofundin®-infundierten Tiere möglicherweise relativieren. Wie in der Neuerung der S2k-Leitlinie der Deutschen Sepsis Gesellschaft (DSG) und der Deutschen interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI) (K. Reinhart* (1) *et al.*, 2010) erwähnt, existieren noch immer keine vergleichenden klinischen Untersuchungen von Gelatinepräparaten und kristalloiden Lösungen. Des Weiteren fehlen sichere Daten zu niedermolekularen HES-Lösungen und Gelatinepräparaten bei der schweren Sepsis (Reinhart *et al.*). Die in dieser Arbeit erstmals beschriebene Hypoglykämie nach Substitution von 4 % Gelafundin® sollte sowohl experimentell, als auch im klinischen Kontext untersucht werden.

6 Zusammenfassung

Die Sepsis stellt ein häufiges intensivmedizinisches Krankheitsbild dar, über deren Volumensubstitutionstherapie noch immer kontrovers diskutiert wird.

Deshalb war das Ziel dieser Studie die Auswirkungen kristalloider und kolloidaler Lösungen auf die Leber in einem Sepsismodell der Ratte zu untersuchen. Dazu wurden 40 männliche Sprague-Dawley-Ratten anästhesiert und in 5 Gruppen (n=6) unterteilt. Sham-Tiere (Grp 1) erhielten eine mediane Laparotomie mit Coecummobilisation, wohingegen das Coecum aller anderen Tiere (Grp 2-5) zur Sepsisinduktion zusätzlich ligiert und perforiert wurde. Alle Tiere erhielten 0,9 % NaCl zur Deckung des Flüssigkeitsgrundbedarfs und die septischen Tiere entsprechend ihrer Gruppe zusätzlich 0,9 % NaCl (Grp 2), die balanciert-kristalloide Lösung Sterofundin® Iso (Grp 3), 4 % Gelafundin® (Grp 4) oder 6 % HES 130/0,4 (Grp 5).

Alle vier Sepsisgruppen zeigten 24 h nach CLP eine Gesamtletalität von 29,4 % im Vergleich zu einer Letalität von 0 % in der Kontrollgruppe. Die höchste Mortalität war in der NaCl-Gruppe mit 50 % zu verzeichnen, während in den kolloidalen Gruppen HES und Gelafundin® 25 % der Tiere starben. Alle Tiere mit Sterofundin®-Infusion überlebten. Die volumensubstituierten Tiere präsentierten im Rahmen der Sepsis signifikant niedrige Serumalbuminwerte und eine Verringerung der sinusoidalen Durchmesser als Zeichen einer hepatischen Mikrozirkulationsstörung. Weiterhin ließ sich in den kolloidalen Gruppen durch die Beeinträchtigung der Nierenfunktion eine Einschränkung des Laktatmetabolismus mit signifikant hohen Serumspiegeln nachweisen. Den stärksten negativen Effekt auf die Gerinnung zeigte Gelafundin® mit einer Verschlechterung aller relevanten Parameter im Blut, während HES die Gerinnung nur geringfügig beeinträchtigte. Kristalloide zeigten keinen Einfluss auf die Gerinnung. Gelafundin®-Tiere wiesen signifikant niedrige Glucosespiegel auf.

Trotz der ausschließlich in der HES-Gruppe signifikant hohen pro- und antiinflammatorischen Zytokine und einer Beeinträchtigung der Nierenfunktion zeigten diese Tiere möglicherweise durch einen hohen Volumeneffekt mit signifikant hohem globalem Sauerstoffangebot und einer gesteigerten mikrozirkulären Flussgeschwindigkeit kaum relevante Beeinträchtigungen aller anderen Parameter.

NaCl-substituierte Tiere wiesen eine hohe Letalitätsrate auf, obwohl weder signifikante Zytokinwerte noch eine starke Beeinträchtigung von Leberstruktur oder -synthese zu

verzeichnen war. Die Ursache hierfür bleibt unklar und gibt Anlass zu weiteren Untersuchungen. Zwischen den Gruppen zeigten sich keine signifikanten Veränderungen von Blutdruck, Herzfrequenz, Sauerstoffpartialdruck und -sättigung. Eine eindeutige Empfehlung für eines der Produkte lässt sich auf Grund der Ergebnisse dieser Studie nicht aussprechen. Jedoch bieten sowohl die Hypoglykämie nach Gabe von 4 % Gelafundin® als auch die Auswirkungen neu entwickelter balancierter HES-Präparate Ansätze für weitere Untersuchungen.

7 Literaturverzeichnis

- Adams, H. A., Piepenbrock, S., and Hempelmann, G. (1998). [Volume replacement solutions--pharmacology and clinical use]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **33**, 2-17.
- Andersson, U., Wang, H., Palmblad, K., Aveberger, A. C., Bloom, O., Erlandsson-Harris, H., Janson, A., Kokkola, R., Zhang, M., Yang, H., and Tracey, K. J. (2000). High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med* **192**, 565-570.
- Annane, D., Bellissant, E., and Cavaillon, J. M. (2005). Septic shock. *Lancet* **365**, 63-78.
- Arbour, N. C., Lorenz, E., Schutte, B. C., Zabner, J., Kline, J. N., Jones, M., Frees, K., Watt, J. L., and Schwartz, D. A. (2000). TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* **25**, 187-191.
- Ayala, A., Herdon, C. D., Lehman, D. L., DeMaso, C. M., Ayala, C. A., and Chaudry, I. H. (1995). The induction of accelerated thymic programmed cell death during polymicrobial sepsis: control by corticosteroids but not tumor necrosis factor. *Shock* **3**, 259-267.
- Bagby, G. J., Plessala, K. J., Wilson, L. A., Thompson, J. J., and Nelson, S. (1991). Divergent efficacy of antibody to tumor necrosis factor-alpha in intravascular and peritonitis models of sepsis. *J Infect Dis* **163**, 83-88.
- Bakker, J., Grover, R., McLuckie, A., Holzapfel, L., Andersson, J., Lodato, R., Watson, D., Grossman, S., Donaldson, J., and Takala, J. (2004). Administration of the nitric oxide synthase inhibitor NG-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88) by intravenous infusion for up to 72 hours can promote the resolution of shock in patients with severe sepsis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002). *Crit Care Med* **32**, 1-12.
- Bauer, M., Brunkhorst, F., Welte, T., Gerlach, H., and Reinhart, K. (2006). [Sepsis. Update on pathophysiology, diagnostics and therapy]. *Anaesthesist* **55**, 835-845.
- Bone, R. C. (1996). Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* **24**, 1125-1128.
- Bone, R. C., Sibbald, W. J., and Sprung, C. L. (1992). The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest* **101**, 1481-1483.
- Brooks, H. F., Osabutey, C. K., Moss, R. F., Andrews, P. L., and Davies, D. C. (2007). Caecal ligation and puncture in the rat mimics the pathophysiological changes in human sepsis and causes multi-organ dysfunction. *Metab Brain Dis* **22**, 353-373.
- Brunkhorst, F. M., Engel, C., Bloos, F., Meier-Hellmann, A., Ragaller, M., Weiler, N., Moerer, O., Gruendling, M., Oppert, M., Grond, S., Olthoff, D., Jaschinski, U., John, S., Rossaint, R., Welte, T., Schaefer, M., Kern, P., Kuhnt, E., Kiehntopf, M., Hartog, C., Natanson, C., Loeffler, M., and Reinhart, K. (2008a). Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med* **358**, 125-139.
- Brunkhorst, F. M., Engel, C., Ragaller, M., Welte, T., Rossaint, R., Gerlach, H., Mayer, K., John, S., Stuber, F., Weiler, N., Oppert, M., Moerer, O., Bogatsch, H., Reinhart, K., Loeffler, M., and Hartog, C. (2008b). Practice and perception--a nationwide survey of therapy habits in sepsis. *Crit Care Med* **36**, 2719-2725.

- Cavaillon, J. M., Adib-Conquy, M., Cloez-Tayarani, I., and Fitting, C. (2001). Immunodepression in sepsis and SIRS assessed by ex vivo cytokine production is not a generalized phenomenon: a review. *J Endotoxin Res* **7**, 85-93.
- Cavaillon, J. M., Adib-Conquy, M., Fitting, C., Adrie, C., and Payen, D. (2003). Cytokine cascade in sepsis. *Scand J Infect Dis* **35**, 535-544.
- Croner, R. S., Hoerer, E., Kulu, Y., Hackert, T., Gebhard, M. M., Herfarth, C., and Klar, E. (2006). Hepatic platelet and leukocyte adherence during endotoxemia. *Crit Care* **10**, R15.
- Dan L. Longo, A. S. F., Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo, Eds. (Ed.) (2012). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Dan L. Longo, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo, Eds.
- de Jonge, E., and Levi, M. (2001). Effects of different plasma substitutes on blood coagulation: a comparative review. *Crit Care Med* **29**, 1261-1267.
- de Jonge, E., Levi, M., Berends, F., van der Ende, A. E., ten Cate, J. W., and Stoutenbeek, C. P. (1998). Impaired haemostasis by intravenous administration of a gelatin-based plasma expander in human subjects. *Thromb Haemost* **79**, 286-290.
- Dieterich, H. J., and Unertl, K. (1998). [Volume substitution with colloids]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **33**, 250.
- Dombrovskiy, V. Y., Martin, A. A., Sunderram, J., and Paz, H. L. (2007). Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* **35**, 1244-1250.
- Duke, T. D., Butt, W., and South, M. (1997). Predictors of mortality and multiple organ failure in children with sepsis. *Intensive Care Med* **23**, 684-692.
- Dziarski, R., Ulmer, A. J., and Gupta, D. (2000). Interactions of CD14 with components of gram-positive bacteria. *Chem Immunol* **74**, 83-107.
- E. Hüttemann, K. R. (2004). Pathogenese, Pathophysiologie der Sepsis als Grundlage der Therapie. In *Intensivmedizin* (H. Eckart, Burchardi, Ed.).
- Echtenacher, B., Weigl, K., Lehn, N., and Mannel, D. N. (2001). Tumor necrosis factor-dependent adhesions as a major protective mechanism early in septic peritonitis in mice. *Infect Immun* **69**, 3550-3555.
- Engel, C., Brunkhorst, F. M., Bone, H. G., Brunkhorst, R., Gerlach, H., Grond, S., Gruendling, M., Huhle, G., Jaschinski, U., John, S., Mayer, K., Oppert, M., Olthoff, D., Quintel, M., Ragaller, M., Rossaint, R., Stuber, F., Weiler, N., Welte, T., Bogatsch, H., Hartog, C., Loeffler, M., and Reinhart, K. (2007). Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* **33**, 606-618.
- Eskandari, M. K., Bolgos, G., Miller, C., Nguyen, D. T., DeForge, L. E., and Remick, D. G. (1992). Anti-tumor necrosis factor antibody therapy fails to prevent lethality after cecal ligation and puncture or endotoxemia. *J Immunol* **148**, 2724-2730.
- Finfer, S., Bellomo, R., Boyce, N., French, J., Myburgh, J., and Norton, R. (2004). A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med* **350**, 2247-2256.
- Fisher, C. J., Jr., Agosti, J. M., Opal, S. M., Lowry, S. F., Balk, R. A., Sadoff, J. C., Abraham, E., Schein, R. M., and Benjamin, E. (1996). Treatment of septic shock

- with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med* **334**, 1697-1702.
- Frank, R. S. (1990). Time-dependent alterations in the deformability of human neutrophils in response to chemotactic activation. *Blood* **76**, 2606-2612.
- Funke, A., Berner, R., Traichel, B., Schmeisser, D., Leititis, J. U., and Niemeyer, C. M. (2000). Frequency, natural course, and outcome of neonatal neutropenia. *Pediatrics* **106**, 45-51.
- Gores, G. J., Herman, B., and Lemasters, J. J. (1990). Plasma membrane bleb formation and rupture: a common feature of hepatocellular injury. *Hepatology* **11**, 690-698.
- Gottlieb, M. E., Stratton, H. H., Newell, J. C., and Shah, D. M. (1984). Indocyanine green. Its use as an early indicator of hepatic dysfunction following injury in man. *Arch Surg* **119**, 264-268.
- Grocott, M. P., Mythen, M. G., and Gan, T. J. (2005). Perioperative fluid management and clinical outcomes in adults. *Anesth Analg* **100**, 1093-1106.
- Hachenberg, T. (2008). [Between increasing incidence and decreasing lethality]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **43**, 46-47.
- Hagemann, P. (Ed.) (1989). *Histotechnik*. Hirzel Verlag Stuttgart.
- Hartog, C. S., Reuter, D., Loesche, W., Hofmann, M., and Reinhart, K. Influence of hydroxyethyl starch (HES) 130/0.4 on hemostasis as measured by viscoelastic device analysis: a systematic review. *Intensive Care Med* **37**, 1725-1737.
- Heuer, J. G., Sharma, G. R., Zhang, T., Ding, C., Bailey, D. L., Stephens, E. J., Holmes, K. C., Grubbs, R. L., Fynboe, K. A., Chen, Y. F., and Jakubowski, J. A. (2006). Effects of hyperglycemia and insulin therapy on outcome in a hyperglycemic septic model of critical illness. *J Trauma* **60**, 865-872.
- Hotchkiss, R. S., and Karl, I. E. (2003). The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* **348**, 138-150.
- Hotchkiss, R. S., Swanson, P. E., Cobb, J. P., Jacobson, A., Buchman, T. G., and Karl, I. E. (1997). Apoptosis in lymphoid and parenchymal cells during sepsis: findings in normal and T- and B-cell-deficient mice. *Crit Care Med* **25**, 1298-1307.
- Hotchkiss, R. S., Tinsley, K. W., Swanson, P. E., Chang, K. C., Cobb, J. P., Buchman, T. G., Korsmeyer, S. J., and Karl, I. E. (1999). Prevention of lymphocyte cell death in sepsis improves survival in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 14541-14546.
- Huraux, C., Ankri, A. A., Eyraud, D., Sevin, O., Menegaux, F., Coriat, P., and Samama, C. M. (2001). Hemostatic changes in patients receiving hydroxyethyl starch: the influence of ABO blood group. *Anesth Analg* **92**, 1396-1401.
- Innerhofer, P., Fries, D., Margreiter, J., Klingler, A., Kuhbacher, G., Wachter, B., Oswald, E., Salner, E., Frischhut, B., and Schobersberger, W. (2002). The effects of perioperatively administered colloids and crystalloids on primary platelet-mediated hemostasis and clot formation. *Anesth Analg* **95**, 858-865, table of contents.
- Jaeschke, H., Smith, C. W., Clemens, M. G., Ganey, P. E., and Roth, R. A. (1996). Mechanisms of inflammatory liver injury: adhesion molecules and cytotoxicity of neutrophils. *Toxicol Appl Pharmacol* **139**, 213-226.
- Janssens, U., and Graf, J. (2008). [Cardiovascular dysfunction in sepsis]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **43**, 56-63; quiz 64.

- K. Reinhart, F. B., A. Meier-Hellmann, F. M. Brunkhorst, G. Marx, M. Bauer, U. Settmacher, H.-J. Gramm (2006a). Sepsis und septischer Schock. In *Intensivmedizin* (K. R. Hugo v. Aken, M. Zimpfer, T. Welte, Ed.), pp. 825-854.
- K. Reinhart, F. B., A. Meier-Hellmann, F. M. Brunkhorst, G. Marx, M. Bauer, U. Settmacher, H.-J. Gramm (2006b). *Sepsis und septischer Schock*. K. R. Hugo v. Aken, M. Zimpfer, T. Welte, Ed.
- K. Reinhart* (1), F. M. B., H.-G. Bone (2), J. Bardutzky (3), C.-E. Dempfle, Mannheim (4), H., Forst (5), P. G., H. Gerlach (7), M. Gründling (8), S. John (9), W. Kern (10), G. Kreymann (11), W., Krüger (12), P. K., G. Marggraf (14), J. Martin (15), K. Mayer (16), A. Meier-Hellmann (17), M., Oppert (18), C. P., M. Quintel (20), M. Ragaller (21), R. Rossaint (22), H. Seifert (23), C. Spies (24), and F. Stüber (25), N. W., A. Weimann (27), K. Werdan (28) und T. Welte (29) (2010). Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis. (**D. S.-G. und, and D. I. V. f. I.-u. Notfallmedizin**, Eds.).
- Kimura, S., Yoshioka, T., Shibuya, M., Sakano, T., Tanaka, R., and Matsuyama, S. (2001). Indocyanine green elimination rate detects hepatocellular dysfunction early in septic shock and correlates with survival. *Crit Care Med* **29**, 1159-1163.
- Kotchen, T. A., Luke, R. G., Ott, C. E., Galla, J. H., and Whitescarver, S. (1983). Effect of chloride on renin and blood pressure responses to sodium chloride. *Ann Intern Med* **98**, 817-822.
- Kredel, M., Brederlau, J., Roewer, N., and Wunder, C. (2008). [Cholestasis and liver dysfunction in critical care patients]. *Anaesthesist* **57**, 1172-1182.
- Kumar, A., Roberts, D., Wood, K. E., Light, B., Parrillo, J. E., Sharma, S., Suppes, R., Feinstein, D., Zanotti, S., Taiberg, L., Gurka, D., and Cheang, M. (2006). Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* **34**, 1589-1596.
- Lang, W., and Zander, R. (2005). Prediction of dilutional acidosis based on the revised classical dilution concept for bicarbonate. *J Appl Physiol* **98**, 62-71.
- Laubenthal, H. (1997). [BSE and heparin and gelatin preparations]. *Anaesthesist* **46**, 253-254.
- Lazrove, S., Waxman, K., Shippy, C., and Shoemaker, W. C. (1980). Hemodynamic, blood volume, and oxygen transport responses to albumin and hydroxyethyl starch infusions in critically ill postoperative patients. *Crit Care Med* **8**, 302-306.
- Lenz, K., Kleinberger, G., Druml, W., and Laggner, A. (1982). [Shock liver]. *Leber Magen Darm* **12**, 198-202.
- Levy, M. M., Dellinger, R. P., Townsend, S. R., Linde-Zwirble, W. T., Marshall, J. C., Bion, J., Schorr, C., Artigas, A., Ramsay, G., Beale, R., Parker, M. M., Gerlach, H., Reinhart, K., Silva, E., Harvey, M., Regan, S., and Angus, D. C. The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. *Intensive Care Med* **36**, 222-231.
- Lindroos, A. C., Schramko, A. A., Niiya, T., Suojaranta-Ylinen, R. T., and Niemi, T. T. Effects of combined balanced colloid and crystalloid on rotational thromboelastometry in vitro. *Perfusion* **26**, 422-427.
- Lüllmann-Rauch (2003a). *Histologie:Verstehen, Lernen, Nachschlagen*.
- Lüllmann-Rauch (2003b). *Histologie:Verstehen, Lernen, Nachschlagen*. Thieme.

- Lundsgaard-Hansen, P., and Tschirren, B. (1980). Clinical experience with 120,000 units of modified fluid gelatin. *Dev Biol Stand* **48**, 251-256.
- Maier, S., Traeger, T., Entleutner, M., Westerholt, A., Kleist, B., Huser, N., Holzmann, B., Stier, A., Pfeffer, K., and Heidecke, C. D. (2004). Cecal ligation and puncture versus colon ascendens stent peritonitis: two distinct animal models for polymicrobial sepsis. *Shock* **21**, 505-511.
- Maitra, S. R., Homan, C. S., Beuhler, M. C., Thode, H. C., Jr., and Henry, M. (1999). Alterations in hepatic gluconeogenesis, prostanoid, and intracellular calcium during sepsis. *Acad Emerg Med* **6**, 588-595.
- Maitra, S. R., Wojnar, M. M., and Lang, C. H. (2000). Alterations in tissue glucose uptake during the hyperglycemic and hypoglycemic phases of sepsis. *Shock* **13**, 379-385.
- Mardel, S. N., Saunders, F. M., Allen, H., Menezes, G., Edwards, C. M., Ollerenshaw, L., Baddeley, D., Kennedy, A., and Ibbotson, R. M. (1998). Reduced quality of clot formation with gelatin-based plasma substitutes. *Br J Anaesth* **80**, 204-207.
- Marx, G., Cobas Meyer, M., Schuerholz, T., Vangerow, B., Gratz, K. F., Hecker, H., Sumpelmann, R., Rueckoldt, H., and Leuwer, M. (2002). Hydroxyethyl starch and modified fluid gelatin maintain plasma volume in a porcine model of septic shock with capillary leakage. *Intensive Care Med* **28**, 629-635.
- Max, M. (2003). [Activated protein C. Inevitable in sepsis?]. *Anaesthetist* **52 Suppl 1**, S32-39.
- Meisner, M. (1999). Procalcitonin: Erfahrungen mit einer neuen Messgröße für bakterielle Infektionen und systemische Inflammation. *J Lab Clin Med* **23**, 263-272.
- Ng, K. F., Lam, C. C., and Chan, L. C. (2002). In vivo effect of haemodilution with saline on coagulation: a randomized controlled trial. *Br J Anaesth* **88**, 475-480.
- Oberholzer, A., Oberholzer, C., and Moldawer, L. L. (2001). Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity. *Shock* **16**, 83-96.
- Ognibene, F. P., Parker, M. M., Natanson, C., Shelhamer, J. H., and Parrillo, J. E. (1988). Depressed left ventricular performance. Response to volume infusion in patients with sepsis and septic shock. *Chest* **93**, 903-910.
- Pedersen, P. V., Warner, B. W., Bjornson, H. S., Hiyama, D. T., Li, S., Rigel, D. F., Hasselgren, P. O., and Fischer, J. E. (1989). Hemodynamic and metabolic alterations during experimental sepsis in young and adult rats. *Surg Gynecol Obstet* **168**, 148-156.
- Pirovino, M., Meister, F., Rubli, E., and Karlaganis, G. (1989). Preserved cytosolic and synthetic liver function in jaundice of severe extrahepatic infection. *Gastroenterology* **96**, 1589-1595.
- Quezado, Z., Parent, C., Karzai, W., Depietro, M., Natanson, C., Hammond, W., Danner, R. L., Cui, X., Fitz, Y., Banks, S. M., Gerstenberger, E., and Eichacker, P. Q. (2001). Acute G-CSF therapy is not protective during lethal E. coli sepsis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **281**, R1177-1185.
- Rackow, E. C., Falk, J. L., Fein, I. A., Siegel, J. S., Packman, M. I., Haupt, M. T., Kaufman, B. S., and Putnam, D. (1983). Fluid resuscitation in circulatory shock: a comparison of the cardiorespiratory effects of albumin, hetastarch, and saline solutions in patients with hypovolemic and septic shock. *Crit Care Med* **11**, 839-850.

- Ragaller, M. (2008). [Microcirculation in sepsis and septic shock - therapeutic options?]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **43**, 48-53; quiz 54.
- Reinhart, K. (Ed.) (2006). *Sepsis und septischer Schock*. Hugo v. Aken, Reinhart, Zimpfer, Welte.
- Reinhart, K., Brunkhorst, F., Bone, H., Gerlach, H., Grundling, M., Kreymann, G., Kujath, P., Marggraf, G., Mayer, K., Meier-Hellmann, A., Peckelsen, C., Putensen, C., Quintel, M., Ragaller, M., Rossaint, R., Stuber, F., Weiler, N., Welte, T., and Werdan, K. (2006). [Diagnosis and therapy of sepsis. Guidelines of the German Sepsis Society Inc. and the German Interdisciplinary Society for Intensive and Emergency Medicine]. *Internist (Berl)* **47**, 356, 358-360, 362-358, passim.
- Reinhart, K., Brunkhorst, F. M., Bone, H. G., Bardutzky, J., Dempfle, C. E., Forst, H., Gastmeier, P., Gerlach, H., Grundling, M., John, S., Kern, W., Kreymann, G., Kruger, W., Kujath, P., Marggraf, G., Martin, J., Mayer, K., Meier-Hellmann, A., Oppert, M., Putensen, C., Quintel, M., Ragaller, M., Rossaint, R., Seifert, H., Spies, C., Stuber, F., Weiler, N., Weimann, A., Werdan, K., and Welte, T. [Prevention, diagnosis, treatment, and follow-up care of sepsis. First revision of the S2k Guidelines of the German Sepsis Society (DSG) and the German Interdisciplinary Association for Intensive and Emergency Care Medicine (DIVI)]. *Anaesthesist* **59**, 347-370.
- Remick, D. G., and Ward, P. A. (2005). Evaluation of endotoxin models for the study of sepsis. *Shock* **24 Suppl 1**, 7-11.
- Riedemann, N. C., Guo, R. F., and Ward, P. A. (2003). Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med* **9**, 517-524.
- Rittirsch, D., Huber-Lang, M. S., Flierl, M. A., and Ward, P. A. (2009). Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc* **4**, 31-36.
- Roche, A. M., James, M. F., Bennett-Guerrero, E., and Mythen, M. G. (2006). A head-to-head comparison of the in vitro coagulation effects of saline-based and balanced electrolyte crystalloid and colloid intravenous fluids. *Anesth Analg* **102**, 1274-1279.
- Roche, A. M., James, M. F., Grocott, M. P., and Mythen, M. G. (2002). Coagulation effects of in vitro serial haemodilution with a balanced electrolyte hetastarch solution compared with a saline-based hetastarch solution and lactated Ringer's solution. *Anaesthesia* **57**, 950-955.
- Ronco, C., Bellomo, R., and Lonneman, G. (2003). Sepsis--theory and therapies. *N Engl J Med* **348**, 1600-1602; author reply 1600-1602.
- Ruttman, T. G., James, M. F., and Finlayson, J. (2002). Effects on coagulation of intravenous crystalloid or colloid in patients undergoing peripheral vascular surgery. *Br J Anaesth* **89**, 226-230.
- Ruttman, T. G., Jamest, M. F., and Lombard, E. H. (2001). Haemodilution-induced enhancement of coagulation is attenuated in vitro by restoring antithrombin III to pre-dilution concentrations. *Anaesth Intensive Care* **29**, 489-493.
- Schabinski, F., Oishi, J., Tuche, F., Luy, A., Sakr, Y., Bredle, D., Hartog, C., and Reinhart, K. (2009). Effects of a predominantly hydroxyethyl starch (HES)-based and a predominantly non HES-based fluid therapy on renal function in surgical ICU patients. *Intensive Care Med* **35**, 1539-1547.

- Schick, M. A., Isbary, T. J., Schlegel, N., Brugger, J., Waschke, J., Muellenbach, R., Roewer, N., and Wunder, C. (2009). The impact of crystalloid and colloid infusion on the kidney in rodent sepsis. *Intensive Care Med*.
- Schortgen, F., Lacherade, J. C., Bruneel, F., Cattaneo, I., Hemery, F., Lemaire, F., and Brochard, L. (2001). Effects of hydroxyethylstarch and gelatin on renal function in severe sepsis: a multicentre randomised study. *Lancet* **357**, 911-916.
- Simon, T. P., Schuerholz, T., Huter, L., Sasse, M., Heyder, F., Pfister, W., and Marx, G. Impairment of renal function using hyperoncotic colloids in a two hit model of shock: a prospective randomized study. *Crit Care* **16**, R16.
- Singer, G., Houghton, J., Rivera, C. A., Anthoni, C., and Granger, D. N. (2007). Role of LPS in the hepatic microvascular dysfunction elicited by cecal ligation and puncture in mice. *J Hepatol* **47**, 799-806.
- Singleton, K. D., and Wischmeyer, P. E. (2003). Distance of cecum ligated influences mortality, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression following cecal ligation and puncture in the rat. *Eur Surg Res* **35**, 486-491.
- Suttner, S. Plasma substitutes. *Minerva Anesthesiol.* 2005 Dec;71(12):741-58.
- Taylor, B. S., and Geller, D. A. (2000). Molecular regulation of the human inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene. *Shock* **13**, 413-424.
- Thomas Karow, R. L.-R. (2011). *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*.
- Thyges, C., Madjdpour, C., Frascarolo, P., Buclin, T., Burki, M., Fisch, A., Burmeister, M. A., Asmis, L., and Spahn, D. R. (2006). Effect of high- and low-molecular-weight low-substituted hydroxyethyl starch on blood coagulation during acute normovolemic hemodilution in pigs. *Anesthesiology* **105**, 1228-1237.
- Tracey, K. J., and Abraham, E. (1999). From mouse to man: or what have we learned about cytokine-based anti-inflammatory therapies? *Shock* **11**, 224-225.
- van Haren, F. M., Sleigh, J., Boerma, E. C., La Pine, M., Bahr, M., Pickkers, P., and van der Hoeven, J. G. Hypertonic Fluid Administration in Patients With Septic Shock: A Prospective Randomized Controlled Pilot Study. *Shock*.
- Vincent, J. L., Opal, S., Torres, A., Bonten, M., Cohen, J., and Wunderink, R. (2003). The PIRO concept: I is for infection. *Crit Care* **7**, 252-255.
- Vollmar, B., and Menger, M. D. (2009). The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol Rev* **89**, 1269-1339.
- von Roten, I., Madjdpour, C., Frascarolo, P., Burmeister, M. A., Fisch, A., Schramm, S., Bombeli, T., and Spahn, D. R. (2006). Molar substitution and C2/C6 ratio of hydroxyethyl starch: influence on blood coagulation. *Br J Anaesth* **96**, 455-463.
- Wang, H., Bloom, O., Zhang, M., Vishnubhakat, J. M., Ombrellino, M., Che, J., Frazier, A., Yang, H., Ivanova, S., Borovikova, L., Manogue, K. R., Faist, E., Abraham, E., Andersson, J., Andersson, U., Molina, P. E., Abumrad, N. N., Sama, A., and Tracey, K. J. (1999). HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* **285**, 248-251.
- Wichterman, K. A., Baue, A. E., and Chaudry, I. H. (1980). Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* **29**, 189-201.
- Wilcox, C. S. (1983). Regulation of renal blood flow by plasma chloride. *J Clin Invest* **71**, 726-735.
- Wright, T. A. (1990). The Ways of Coping instrument: reliability and temporal stability for a sample of employees. *Psychol Rep* **67**, 155-162.

- Wyllie, D. H., Bowler, I. C., and Peto, T. E. (2004). Relation between lymphopenia and bacteraemia in UK adults with medical emergencies. *J Clin Pathol* **57**, 950-955.
- Zander, R. (2002). [Base excess and lactate concentration in infusion solutions and blood products]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* **37**, 359-363.
- Zantl, N., Uebe, A., Neumann, B., Wagner, H., Siewert, J. R., Holzmann, B., Heidecke, C. D., and Pfeffer, K. (1998). Essential role of gamma interferon in survival of colon ascendens stent peritonitis, a novel murine model of abdominal sepsis. *Infect Immun* **66**, 2300-2309.

Danksagung

Ich danke allen, die zur Erstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Allen voran möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Christian Wunder, Klinik für Anästhesiologie der Universität Würzburg, für die Überlassung des Themas danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Martin Schick für die intensive Begleitung sowie die unkomplizierte und konstruktive Zusammenarbeit. Ebenfalls danke ich Herrn Tobias Isbary für die wertvolle Vor- und Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt auch den Mitarbeitern des anästhesiologischen, chirurgischen und pathologischen Forschungslabors, ohne deren Hilfe eine Umsetzung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Ein großer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. med. Jens Waschke und Priv.-Doz. Dr. med. Nicolas Schlegel, sowie den Mitarbeitern des Forschungslabors des Anatomischen Institutes der Universität Würzburg für die gute Kooperation.

Zuletzt danke ich meiner Familie für ihre große Unterstützung und konstruktive Kritik.