

**Klinik für Anaesthesiologie
der Technischen Universität München**

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. E. Kochs)

**Histopathologische Veränderungen des Gehirns nach
portalvenöser Bakterieninfusion am chronischen Schweinemodell**

Javier E. del Valle

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. M. Blobner

2. Univ.-Prof. Dr. J. Schlegel

Die Dissertation wurde am 19.01.2006 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin 24.09.2008 angenommen.

meinen Eltern Cristina und Héctor

meiner Frau Petra und meinem Sohn Lucio

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN	V
TABELLENVERZEICHNIS	IX
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	X
1. EINLEITUNG	1
2. ZIELSETZUNG	8
3. MATERIAL UND METHODE	9
3.1 Versuchstiere.....	9
3.2 Vorbereitung des Tiermodells.....	10
3.2.1 Anästhesie zur Instrumentationsoperation.....	10
3.2.2 Instrumentation.....	11
3.3 Intensivtherapie.....	14
3.3.1 Analgosedierung.....	14
3.3.2 Beatmung.....	15
3.3.3 Kreislauftherapie.....	15
3.3.4 Parenterale Ernährung.....	16
3.3.5 Überwachungs- und Pflegemaßnahmen.....	17
3.4 Bakterien und Mikrobiologie.....	18

3.5	Versuchsprotokoll.....	19
3.6	Laboruntersuchungen.....	20
3.7	Gehirnfixierung und Histologie.....	20
3.8	Datenverarbeitung und statistische Auswertung.....	22
3.8.1	Berechnungen.....	22
3.8.2	Statistik.....	23
4.	ERGEBNISSE.....	24
5.	DISKUSSION.....	45
6.	ZUSAMMENFASSUNG.....	51
7.	BIBLIOGRAPHIE.....	52
	DANKSAGUNG.....	63
	LEBENSLAUF.....	64
	ERKLÄRUNG.....	66

ABKÜRZUNGEN

Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
ACCP	American College of Chest Physicians
α	alpha
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
CaO_2	arterieller Sauerstoffgehalt
C(a - ss)O_2	Differenz zwischen arteriellem Sauerstoffgehalt und Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis
cm	Zentimeter
cm^2	Quadratcentimeter
cmH_2O	Zentimeter Wassersäule
CO	Herzzeitvolumen
CO_2	Kohlendioxid
CPP	cerebraler Perfusionsdruck
CRP	C-reaktives Protein
CSF	Liquor cerebrospinalis
$\text{C}_{\text{ss}}\text{O}_2$	Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis
CVP	zentraler Venendruck
dl	Deziliter
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
FiO_2	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
G	Gauge

g	Gramm
€	Euro
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HE	Hämatoxylin-Eosin
H ₂ O	Wasser
I.E.	Internationale Einheiten
IL-6	Interleukin-6
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KHK	koronare Herzkrankheit
l	Liter
L4	vierter Lendenwirbel
L5	fünfter Lendenwirbel
MAP	mittlerer arterieller Druck
mg	Milligramm
min	Minute
μ	Mikro
μg	Mikrogramm
μm	Mikrometer
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ³	Kubikmillimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol

VII

NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
Nr.	Nummer
OP	Operation
O ₂	Sauerstoff
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
paO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
paCO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
§	Paragraph
PARS	Poly-ADP-Ribose-Synthetase
PEEP	positiv endexpiratorischer Druck
pg	Pikogramm
%	Prozent
®	eingetragenes Warenzeichen
RR	Blutdruck
RRsys	systolischer Blutdruck
s	Sekunde
SAE	sepsisassoziierte Enzephalopathie
SaO ₂	arterielle Sauerstoffsättigung
SCCM	Society of Critical Care Medicine
S1	erster Sakralwirbel
SEP	sensorische evozierte Potentiale
SIRS	systemic inflammatory response syndrom
SPF	spezifisch pathogenfrei
SSP	Druck im Sinus sagittalis
SssO ₂ Hb	fraktionelle Sauerstoffsättigung im Sinus sagittalis

VIII

SVR	systemischer Gefäßwiderstand
TIVA	total intravenöse Anästhesie
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
vrgl.	vergleiche
Vol. %	Volumenprozent
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Definition der Sepsis.....	3
Tabelle 2: Schweregrad der septischen Enzephalopathie.....	6
Tabelle 3: Operative Maßnahmen im Überblick.....	12
Tabelle 4: Noradrenalinbedarf.....	25
Tabelle 5: Hämodynamik.....	26
Tabelle 6: Sauerstoffbilanz.....	28
Tabelle 7: Zeitlicher Verlauf von Interleukin 6 im Serum.....	29
Tabelle 8: Zeitlicher Verlauf von Interleukin 6 im Liquor.....	30
Tabelle 9: Zeitlicher Verlauf von TNF- α im Serum.....	31
Tabelle 10: Zeitlicher Verlauf von TNF- α im Liquor.....	32
Tabelle 11: Zytotoxisches Ödem und Zellschäden	42
Tabelle 12: Entzündungszeichen	43
Tabelle 13: Cerebrale Hyperämie und Hämorrhagie.....	44

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Cortex, Pyramidenzellschicht - Kontrolltier.....	34
Abbildung 2: Cortex, Pyramidenzellschicht eines septischen Tieres.....	35
Abbildung 3: Cortex, Pyramidenzellschicht eines septischen Tieres.....	36
Abbildung 4: Cerebraler Cortex eines septischen Tieres.....	37
Abbildung 5: Cerebellärer Cortex, Purkinjzellschicht – Kontrolltier, Übersicht.....	38
Abbildung 6: Cerebellärer Cortex, Purkinjzellschicht – Kontrolltier, Detail.....	39
Abbildung 7: Cerebellärer Cortex, Purkinjzellschicht – septisches Tier.....	40

Einleitung

Die Therapie der Sepsis ist und bleibt eine der größten Herausforderungen, denen sich Intensivmediziner täglich stellen. Trotz immenser Fortschritte im Verständnis der zugrunde liegenden pathophysiologischen Abläufe bis auf zellulärer und subzellulärer Ebene und einer Vielzahl von Therapiekonzepten imponiert eine unverändert hohe Letalität. Die Sepsis stellt ein Krankheitsbild von erheblicher medizinischer und sozioökonomischer Bedeutung dar.

Die Inzidenz der schweren Sepsis beträgt laut Untersuchungen aus den USA 3 Fälle/1000 Einwohner/Jahr mit einer jährlichen Steigerungsrate von 1,5% [2]. Extrapoliert man die US-Daten auf Deutschland, kann die Anzahl der jährlich an schwerer Sepsis erkrankenden Patienten auf 250.000 geschätzt werden. Die Letalität von schwerer Sepsis und septischem Schock ist mit etwa 20 – 45% als sehr hoch einzustufen [48, 70]. Abhängig von Lebensalter, vorbestehenden chronischen Erkrankungen und der im Erkrankungsverlauf auftretenden Organdysfunktionen steigt die Letalität auf 75% an [2]. Am Beispiel der USA bedeutet dies in Zahlen, dass jährlich etwa 900.000 Menschen an einer Sepsis erkranken und 210.000 daran versterben [40]. Die Sepsis ist somit die Haupttodesursache auf nicht-kardiologischen Intensivstationen der westlichen Industrienationen [66].

In Zeiten stetig knapper werdender Mittel rückt die Frage nach den Kosten einer Erkrankung immer mehr in den Vordergrund.

Septische Patienten werden im Mittel 17 Tage auf Intensivstationen behandelt. Die Behandlungsdauer liegt damit weit über der anderer Patientenkollektive [2, 49]. Unterscheidet man die Behandlungsdauer überlebender und versterbender Patienten, ergibt sich in der Gruppe der Überlebenden eine um 4 Tage längere Behandlungsdauer [49]. Die Behandlungskosten verstorbener Patienten betragen trotz kürzerer Behandlungsdauer durchschnittlich 25.400 € im Vergleich zu 22.400 € bei den Überlebenden [49]. Die jährlichen Gesamtkosten für die Behandlung der Sepsis dürften für Deutschland bei mindestens 1 – 2 Milliarden € liegen [41].

Betrachtet man die Inzidenz in Abhängigkeit vom Lebensalter, zeigt sich eine mehr als 100-fache Zunahme im hohen Alter (0,2/1000 bei Kindern, 26.2/1000 bei > 85-jährigen) – bei gleichzeitiger Zunahme der Letalität um das 4-fache [2]. Was dies in Anbetracht der demographischen Entwicklung in Deutschland zur Folge haben wird, ist klar: In Zukunft wird das Patientengut auf Intensivstationen in zunehmendem Maße aus immer älteren Menschen mit Sepsis bestehen, die bei schlechter Prognose unter hohem Ressourcenverbrauch therapiert werden.

Angesichts solcher Erwartungen verwundert die Tatsache, dass diese Erkrankung in das Bewusstsein der Öffentlichkeit bisher wenig Eingang gefunden hat. Selbst von der Fachwelt bleibt sie weitgehend unbeachtet und auf die Frage, was denn nun die Sepsis sei, hat man sehr lange keine einhellige Antwort erhalten. Erst im Jahre 1992 versuchte man im Rahmen einer Konsensuskonferenz durch das American College of Chest Physicians (ACCP) und der Society of Critical Care Medicine (SCCM) einheitliche Definitionen zu finden und sich auf eine allgemein gültige Terminologie zu einigen [1].

Erst ein knappes Jahrzehnt später - am 29.11.2001 - fand in Berlin auf Initiative von Prof. Dr. Reinhart aus Jena die Gründungsversammlung der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) statt. Die Ziele der DSG sind die Aufklärung der Öffentlichkeit über das Krankheitsbild der Sepsis, die Förderung der Forschung und die Verbesserung von Diagnose und Therapie. Das von der DSG etablierte Kompetenznetzwerk Sepsis (SepNet) hat sich zur Aufgabe gemacht, der nicht akzeptablen hohen Sterblichkeit der Sepsis zu begegnen. Dessen Projekte werden vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert. Die Etablierung von überregionalen Netzwerken aus Kliniken und Forschungsinstituten soll durch Bündelung von Ressourcen erlauben Forschungsaktivitäten effizienter einzusetzen.

Die Sepsis wird heute als Kontinuum sich agravierender Krankheitsschwere verstanden, in dem per Definition vier Stadien zu unterscheiden sind: über das *SIRS* („*systemic inflammatory response syndrom*“), zur *Sepsis*, zur *schweren Sepsis* und schließlich zum *septischen Schock* (Tabelle 1).

Tabelle 1: Definition der Sepsis [1]

Stadium	SIRS	Sepsis	Schwere Sepsis	Septischer Schock
Definitionen	<p>Mindestens 2 der folgenden Symptome:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Temperatur $>38\text{ °C}$ oder $< 36\text{ °C}$ • Herzfrequenz $> 90/\text{min}$ • Atemfrequenz $> 20/\text{min}$ oder $\text{paCO}_2 < 32\text{mmHg}$ • $\text{paO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ unter Beatmung • Leukozytenzahl $>12000/\text{mm}^3$ oder $<4000/\text{mm}^3$ oder $> 10\%$ unreife Formen 	<p>Mikrobiologischer oder klinischer Nachweis einer Infektion als Ursache eines SIRS</p>	<p>Sepsis plus Zeichen der Organdysfunktion, Hypotension oder Hypoperfusion.</p> <p>Zeichen der Hypoperfusion:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Laktatazidose • Oligurie $< 30\text{ ml/h}$ • Akute Verwirrtheit oder Bewusstseinsstörung ohne andere Ursachen 	<p>Schwere Sepsis mit Hypotension trotz ausreichender Volumenzufuhr:</p> <ul style="list-style-type: none"> • $\text{RRsys} < 90\text{ mmHg}$ • RR-Abfall von $> 40\text{ mmHg}$ vom Ausgangswert ohne andere Ursachen • Einsatz von Vasopressoren

Innerhalb des dramatischen Szenarios der septischen Multiorgandysfunktion spielt das Gehirn in den therapeutischen Überlegungen meist nur eine Nebenrolle. Dabei ist es genauso wie alle anderen Organe ein natürliches Zielorgan der Sepsis [72]. So hat sich gezeigt, dass 23% der septischen Patienten eine septische Enzephalopathie entwickeln [62].

Trotz dieses häufigen Vorkommens bleibt die septische Enzephalopathie – oder auch sepsisassoziierte Enzephalopathie (SAE), wie die Erkrankung nach neuerer Nomenklatur genannt wird, eine selten gestellte Diagnose. Die Gründe hierfür liegen zum einen darin, dass der Sepsispatient in aller Regel intubiert und analgosediert und somit nur schwer neurologisch zu beurteilen ist. Zum anderen existieren keine Labortests zur Einschätzung der cerebralen Funktion. Um dies an einem Beispiel zu verdeutlichen, bietet sich der Vergleich mit dem septischen Leberversagen an. Hier kann man durch eine simple Blutabnahme auf eine Vielzahl von Laborparametern zugreifen, die dem behandelnden Intensivmediziner eine Einschätzung der hepatischen Funktion erlauben. Als weitere einfache, bettseitig durchzuführende und jederzeit verfügbare Methode zur Untersuchung der Leber steht die Sonographie zur Verfügung. Bei der septischen Enzephalopathie fehlen diese einfachen Möglichkeiten. Das ist umso bedauerlicher, wenn man bedenkt, dass es eine Erkrankung von hoher Inzidenz ist, deren Schweregrad direkt mit der Letalität der Patienten korreliert und die ohnehin schon schlechte Prognose des Septikers zusätzlich verschlechtert wird [6, 22, 62, 73]. Zusätzlich kann die septische Enzephalopathie auch die Lebensqualität von Überlebenden einer Sepsis langfristig verschlechtern. Sie leiden häufig an Langzeitfolgen in Form von neurologischen und neuropsychologischen Defiziten oder auch an einem posttraumatischen Stresssyndrom und haben somit Schwierigkeiten bei der beruflichen Reintegration [6, 10, 17, 34, 50, 57].

Die klinische Diagnose einer septischen Enzephalopathie ist bislang eine Ausschlussdiagnose und kann erst gestellt werden, wenn andere Ursachen für eine neu aufgetretene, neurologische Symptomatik mit Sicherheit nicht in Frage kommen. Akute, zunächst aber subtile Veränderungen des mentalen Status sind meist die ersten Vorboten einer beginnenden Sepsis [38, 56]. Als Leitsymptome stehen Wahrnehmungs- und Konzentrationsstörungen im Vordergrund, die bis zu Bewusstseinsbeeinträchtigung, Stupor und Koma progredieren können [8, 72, 73].

Differenzialdiagnostisch muss immer an Hypoxämie, cerebrovaskuläre Ursachen, andere metabolische Störungen (z.B. Urämie, schwere Leberfunktionsstörung), Intoxikation, Schädel-Hirn-Trauma, direkte Infektionen des ZNS oder psychiatrische Erkrankungen gedacht werden [6, 28].

Es gibt keine Laborparameter, die spezifisch für die septische Enzephalopathie wären. Zumeist zeigen sich die für SIRS und Sepsis typischen Veränderungen, wie zum Beispiel: Leukozytose, Leukopenie, Neutrophilie, Linksverschiebung, CRP-Anstieg oder Prokalzitonin-Erhöhung [1]. Die Liquorpunktion eignet sich lediglich zum Ausschluss einer direkten ZNS-Infektion. Konventionelle, bildgebende Verfahren wie Computer- und Magnetresonanztomographie sind ebenfalls nicht geeignet, charakteristische Veränderungen bei einer septischen Enzephalopathie darzustellen [10]. Das Verfahren der Protonenspektroskopie ermöglicht es zum Teil bereits am Lebenden intrazelluläre Laktatanstiege in einigen Gehirnarealen zu diagnostizieren [21]. Diese Methode ist jedoch nur selten verfügbar und spielt allenfalls eine Rolle im Rahmen von Studien an größeren Zentren.

Das EEG gilt als sensibelster und frühester Parameter zur Diagnostik einer septischen Enzephalopathie [10, 74]. In Abhängigkeit vom Schweregrad der septischen Enzephalopathie (*Tabelle 2*) finden sich unspezifische Allgemeinveränderungen in zunehmender Ausprägung von deutlicher Theta-, über Deltaaktivität und triphasischen Wellen bis hin zu Burst-suppression-Mustern [61, 73, 74]. Vom Charakter der EEG-Veränderungen kann man allerdings keine Rückschlüsse auf die Prognose ziehen [75]. Hingegen gibt es Untersuchungen, die darauf schließen lassen, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß von SEP-Veränderungen, dem Schweregrad der septischen Enzephalopathie und der Prognose des Patienten gibt [60, 76].

Tabelle 2: Schweregrad der septischen Enzephalopathie [8].

Symptome	
Grad I	Wahrnehmungs- und Konzentrationsstörung, Nachlassen der Gedächtnisleistung, Schreibstörung
Grad II	Bewusstseinstrübung, Verwirrtheit, zeitliche und räumliche Desorientiertheit
Grad III	Stupor oder Muskelrigidität, Krampfanfälle, Blicklähmungen, Hemiparesen
Grad IV	Koma

Die komplexen Zusammenhänge, die zur septischen Enzephalopathie führen, sind bis heute nicht umfassend geklärt [5, 23, 24, 28, 32, 39, 61, 71]. Letztendlich sicher ist nur, dass in einem multifaktoriellen Geschehen verschiedene Noxen zusammenwirken müssen, um schließlich eine Schädigung des Gehirns zu verursachen [72].

Zu den möglichen Pathomechanismen, die hierbei zur Diskussion stehen, gehören:

- Effekte inflammatorischer Mediatoren auf das Gehirn
- Insuffizienz der Blut-Hirn-Schranke
- ungenügender cerebraler Perfusionsdruck
- Störung der cerebralen Mikrozirkulation
- Gerinnungsstörungen
- metabolische Entgleisungen
- Imbalancen von Aminosäurespiegeln und Transmittern

Evidenzbasierte Therapieempfehlungen für die Behandlung der septischen Enzephalopathie fehlen bislang. Supportiv sollte sichergestellt sein, dass ein adäquater cerebraler Perfusionsdruck herrscht und Hypoxie wie Hypokapnie verhindert werden. Daneben gibt es Untersuchungen zu spezielleren Therapieschemata, die allerdings noch keine klinischen Behandlungsempfehlungen hervorgebracht haben, so zum Beispiel: die Infusion verzweigt-kettiger Aminosäuren [28, 29, 45, 63], speziell auf die unterschiedlichen Transmittersysteme abgestimmte Analgosedierungsschemata (z.B. mit Ketamin) [36], Glutamatrezeptorantagonisten [37, 64], Radikalfänger [66], oder NO- bzw. PARS-Inhibitoren [12, 37, 64]. Neue Erkenntnisse werden hoffentlich zu spezifischeren Behandlungsformen führen und so die psychische Befindlichkeit nach überlebter Sepsis verbessern helfen [35, 58].

Die Hauptlimitation experimenteller Sepsismodelle liegt darin, dass es sich meist um Akutmodelle handelt, in denen die Tiere innerhalb kürzester Zeit einen refraktären septischen Schock entwickeln, an dem sie per akut versterben. Die menschliche Sepsis in der intensivmedizinischen Realität hingegen ist ein sich protrahiert entwickelndes Krankheitsbild. Speziell der Teilaspekt der septischen Enzephalopathie ist kein Schockgeschehen und lässt sich somit durch solche Modelle nicht abbilden. [9, 25].

In der folgenden Arbeit sollte ein porcines Modell der septischen Enzephalopathie etabliert werden, das die Untersuchung der histopathologischen Veränderungen des Gehirns während einer protrahiert entstandenen abdominalen Sepsis ermöglicht.

2. ZIELSETZUNG

Am chronisch instrumentierten Schwein sollten wiederholte Infusionen lebender Bakterien in die Portalvene einen intraabdominellen Entzündungsherd und die Entwicklung eines septischen Krankheitsbildes simulieren. Gegenstand der Untersuchung waren der Druck im Sinus sagittalis (SSP), der cerebrale Perfusionsdruck, die cerebrale Sauerstoffversorgung, die Liquorflüssigkeit (CSF), Zytokinspiegel in Serum und Liquor, sowie die histologischen Veränderungen des Gehirns.

Ziel dieser Arbeit ist es zu zeigen, dass es mittels eines chronischen Sepsismodells möglich ist, cerebrale Schädigungen darzustellen, die weder auf Hypotension, noch auf Ischämie oder Hypoglykämie beruhen.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß §8 Abs. 1 des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt (Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 17.02.1993).

Als Versuchstiere dienten 20 weibliche Göttinger Miniaturschweine (Ellegaard Göttinger Minipigs ApS, Dalmoose, Dänemark) im Alter von rund einem Jahr. Das Körpergewicht der Tiere lag zwischen 28 und 38 Kilogramm. Charakteristischerweise werden diese Tiere unter so genannten „spezifisch-pathogenfreien Bedingungen“ (SPF) aufgezogen. Dadurch ist sichergestellt, dass sie bis Versuchsbeginn noch nicht mit dem für die Studie verwendeten Keim in Kontakt gekommen sind. Außerdem bestätigte ein tierärztliches Attest die Gesundheit aller Tiere vor der Lieferung. Sie waren vor Beginn der Studie frei von Parasiten und jeglicher viraler oder bakterieller Entzündung und erhielten im gesamten Verlauf der Untersuchung zu keinem Zeitpunkt eine Antibiose. Die Schweine wurden 24 Stunden präoperativ nüchtern gehalten, hatten aber während dieser Zeit freien Zugang zu Wasser.

3.2 Vorbereitung des Tiermodells

3.2.1 Anästhesie zur Instrumentationsoperation

Zunächst erhielten die Tiere eine intramuskuläre Injektion einer Mischung aus Ketamin (15 mg/kg KG) , Azaperon (2 mg/kg KG) [*Anmerkung: Azaperon ist ein Neuroleptikum, das in der Veterinärmedizin häufig zur Sedierung von Schweinen eingesetzt wird*] und Atropin (0,5 mg), um sie bei erhaltener Spontanatmung zu sedieren und so die Etablierung eines peripheren Zugangs durch Einführen einer Venenverweilkanüle (20 bzw. 18 G) in die Vena auricularis magna am Ohr zu ermöglichen. Über diesen Venenzugang konnte dann die Narkose eingeleitet werden. Als intravenöses Induktionsmedikament kam Propofol (Klimofol 1%®) in einer Dosierung von 2 mg/kg KG zum Einsatz. Zur anschließend notwendigen Sicherung des Atemweges wurden die Schweine unter direkter Laryngoskopie mit Magill Tuben der Größe 6,0 bis 6,5 endotracheal intubiert und mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 30% volumenkontrolliert beatmet. Zur maschinellen Beatmung verwendeten wir einen intensivmedizinischen Respirator aus der Humanmedizin, Modell Elvira® der Firma Engström, Schweden. Die Ventilation ließ sich individuell so anpassen, dass der endexpiratorisch gemessene CO₂ Parialdruck zwischen 32 – 38 mmHg lag. Der PEEP (positiv endexpiratorischer Druck) betrug 4 ± 3 cm H₂O, das Inspirations/Expirationsverhältnis 1:2. Die Temperatur der angewärmten und angefeuchteten Inspirationsluft lag konstant zwischen 35 und 37°C.

Die Narkose wurde als TIVA (total intravenöse Anästhesie) durch kontinuierliche Infusion von Propofol (8 mg/kg/h) und Fentanyl (4 µg/kg/h) aufrechterhalten und je nach klinischen Erfordernissen durch intravenöse Fentanyl-Boli à 0,1 mg supplementiert. Die Muskelrelaxation führten wir bedarfsadaptiert mit Vecuronium als Bolus (4 – 8 mg) durch.

Zur Narkoseführung und intraoperativen Überwachung der Vitalparameter standen dem Anästhesisten EKG, Pulsoxymetrie, Kapnometrie und die klinische Beobachtung zur Verfügung. Nach der Katheterisierung der entsprechenden Strukturen ließen sich auch invasiver Blutdruck, zentralvenöser Druck, Körperkerntemperatur und

Urinausscheidungsrate monitoren. Regelmäßige arterielle Blutgasanalysen (Ciba Corning 865, Chiron Diagnostics, Giessen, Germany) komplettierten die Überwachung durch Information über Oxygenierung, Ventilation, Elektrolyt-/Säure-Basen-Haushalt und Hämoglobinwert.

Zum intraoperativen Infusionsregime ist anzumerken, dass unsere Versuchstiere vor OP-Beginn zwar unter einer 24-stündigen Nahrungskarenz standen, während dieser Zeit aber freien Zugang zu Wasser hatten. Dadurch war der Volumenhaushalt zum Zeitpunkt der Narkoseeinleitung ausgeglichen. Da die intraoperativen Blutverluste regelhaft bei maximal 100 ml lagen, mussten ausschließlich Verluste durch Verdunstung und der Erhaltungsbedarf substituiert werden. Hierfür standen kristalloide Infusionslösungen wie Ringerlösung und physiologische Kochsalzlösung zur Verfügung. Anhand des Verlaufs des zentralvenösen Drucks konnte der Anästhesist die Infusionstherapie individuell anpassen.

Um die Tiere vor perioperativer Auskühlung zu schützen, waren sie auf einer Wärmematte gelagert und erhielten unter Kontrolle der Körperkerntemperatur von Beginn an angewärmte Infusionen.

3.2.2 Instrumentation

Die Gesamtoperation gliederte sich in fünf Phasen mit Eingriffen an unterschiedlichen Körperhöhlen (*Tabelle 3*). Während aller operativen Maßnahmen herrschten die sterilen Kautelen und technischen Voraussetzungen eines voll ausgestatteten OP-Saals.

Die Tiere wurden zunächst an den entsprechenden Stellen rasiert. Nach sorgfältiger Lagerung, sterilem Abwaschen und Abdecken des OP-Feldes begannen wir mit der Präparation der linken Arteria femoralis. Diese wurde mit einem optischen Katheter (Oximatrix 3SO₂/CO Computer, Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany) kanüliert, der gleichzeitig der Messung des arteriellen Mitteldruckes (MAP) und der Sauerstoffsättigung diente. Ebenfalls über diesen arteriellen Katheter gewannen wir die im Laufe des Versuchs notwendigen Blutproben.

Tabelle 3: Operative Maßnahmen im Überblick

Phase I	Gefäßpräparation: Freilegen von Arteria femoralis und Vena jugularis externa; Kanülierung Lagerung: Rücken
Phase II	Laparotomie: Einbringen eines Katheters über die Vena lienalis in die Vena portae; Ausleitung der Harnblase über einen Pufi-Katheter durch die Bauchdecke Lagerung: Rücken
Phase III	Thorakotomie: Eröffnung des Perikards, Freilegen der Arteria pulmonalis, Platzierung einer Ultraschall-Flussonde Lagerung: Rechtsseitenlage
Phase IV	Kraniotomie: Kanülierung des Sinus sagittalis superior Lagerung: Bauchlage
Phase V	Lumbale Punktion: Einbringen eines Spinalkatheters in den Subarachnoidalraum Lagerung: Bauchlage

Anschließend legten wir die rechte Vena jugularis externa frei und führten darüber einen zentralen Venenkatheter (ZVK) ein. Dieser erlaubte es uns den zentralen Venendruck (CVP) und die Körperkerntemperatur zu messen. Mit Hilfe eines Bildwandlers kontrollierten wir die korrekte Positionierung des ZVK in der Vena cava superior. Die beschriebene Vorgehensweise zur Kanülierung der Femoralarterie und Jugularvene mittels Gefäßpräparation ist deshalb notwendig, weil die transkutane Punktion der genannten Gefäße bei Schweinen aufgrund des Verlaufs in der Tiefe und der im Vergleich zum Menschen erheblich festeren Haut kaum gelingt.

In einem nächsten Schritt folgte eine mediane Laparotomie. Wir suchten die Harnblase auf und platzierten einen Urinkatheter, der nach Abschluss der Operation durch die Bauchdecke nach außen zu führen war. So konnte der Anästhesist

während der Operation die Diurese kontrollieren und die Volumentherapie individuell optimieren. Außerdem war die Kontrolle der Ausscheidungsrate über den Blasenkatheter unerlässlicher Bestandteil der späteren intensivmedizinischen Therapie. Anschließend präparierte der Operateur die Vena lienalis, um sie dann zu kanülieren und darüber einen Katheter in die Pfortader vorzuschieben. Die korrekte Lage konnte man zunächst palpatorisch kontrollieren und später radiologisch unter einem Bildwandler nochmals verifizieren. Der Katheter führte über einen subkutanen Tunnel nach außen und war mit Nähten in seiner Position fixiert. Er sollte im Versuchsverlauf seine Funktion als vaskulärer Zugang zur Infusion der Bakterien erfüllen. Nach Abschluss des intraabdominellen Eingriffs verschlossen und adaptierten wir die Bauchdecke wieder schichtgerecht.

Vor der nun folgenden dritten Phase der Instrumentierung mussten die Tiere in Rechtsseitenlage umgelagert werden. Ziel der Thorakotomie war es, eine vorkalibrierte Ultraschall-Flusssonde (Durchmesser 16-20 mm; Transonic Systems, Ithaca, NY) um die Arteria pulmonalis herum zu platzieren. Diese Sonde sollte in der Lage sein, eine herzschnellgenaue Messung des ventrikulären Auswurfvolumens (cardiac output) zu liefern. Hierfür eröffneten wir den Thorax und präparierten das Perikard oberhalb des Ligamentum arteriosum, um so die Pulmonalarterie freizulegen und eine passende Sonde anzubringen. Dabei achtete der Operateur besonders darauf, dass die Sonde die Pulmonalarterie in keiner Weise einengte. Vor dem Rückzug aus dem Brustkorb und dem regelrechten Wiederverschluss der Wunde wurde eine Bülau-Drainage eingelegt und mit einem Sog von 20 cmH₂O versehen.

Ein letztes Mal mussten die Tiere für die jetzt anstehende Kraniotomie umgelagert und in Bauchlage gebracht werden. Wir eröffneten den Schädel über eine etwa 3 cm durchmessende und okzipital der Sutura coronaria gelegene Bohrlochtrepanation. Hierüber gelang es den Sinus sagittalis superior aufzusuchen und mit einem Katheter (4 French) zu kanülieren, der dann 1 cm über die Punktionsstelle hinaus nach okzipital vorgeschoben wurde. Der Katheter ermöglichte die kontinuierliche Messung des intravaskulären Drucks im Sinus sagittalis superior und die Entnahme von Blutproben.

Als letzter Schritt beendete die Einlage eines Spinalkatheters (5 French, Fa. Braun Melsungen, Germany) die Instrumentationsmaßnahmen. Hierzu war es erforderlich,

den Subarachnoidalraum zwischen S1 und L5 bzw. zwischen L5 und L4 mit einer Hohnadel zu punktieren, um darüber den Spinalkatheter einzubringen, der die spätere Gewinnung von Liquorproben ermöglichen sollte. Die Kontrolle der korrekten Katheterlage geschah wiederum röntgenologisch.

Postoperativ wurden alle Messinstrumente kalibriert und damit die Phase der kontinuierlichen Online-Aufzeichnung sämtlicher Messparameter begonnen, die ohne Unterbrechung bis zum Abschluss des Versuchs durchlief. Alle Tiere erhielten nach der Instrumentierung eine mindestens zwölfstündige Erholungs- und Stabilisierungsphase. Das Augenmerk lag nun darauf, die Homöostase zu erhalten und eine ausreichende Analgosedierung sicherzustellen.

3.3 Intensivtherapie

Die Phase der intensivmedizinischen Versorgung begann bereits intraoperativ und erstreckte sich bis zum Versuchsende. Sie folgte denselben Grundzügen und Prinzipien, die auch in der Humanmedizin als allgemeiner Standard gelten. Um dieses Niveau zu erreichen und zu halten, musste eine 24-stündige Betreuung der Tiere gewährleistet sein, die von insgesamt sieben Doktoranden in einem Mehrschichtsystem umgesetzt wurde.

3.3.1 Analgosedierung

Alle Schweine wurden mit Propofol (6 mg/kg/h) und Fentanyl (2 µg/kg/h) analgosediert. Unter diesem Sedierungsregime ließ sich sicherstellen, dass alle Tiere in der Lage waren, bei endotrachealem Absaugen zu husten oder sich auf Schmerzreize hin zu bewegen.

3.3.2 Beatmung

Die intraoperativ begonnene Beatmung wurde postoperativ fortgeführt. Für die Beatmung kam ein intensivmedizinischer Respirator aus der Humanmedizin zum Einsatz (Modell Elvira[®] der Firma Engström, Schweden). Als Beatmungsmodus wählten wir eine volumenkontrollierte Ventilation, die wir so einstellten, dass ein möglichst niedriger Beatmungsdruck erzielt wurde, um so die Traumatisierung der Lunge zu minimieren. Dabei ließ sich die Ventilation individuell so adaptieren, dass der endexpiratorische CO₂-Partialdruck zwischen 32 – 38mmHg und der paO₂ ≥ 100mmHg lag. Somit waren Normokapnie und Normoxämie fortwährend gewährleistet. Die Applikation eines PEEPs (positiv endexpiratorischer Druck) in einer Höhe von 4 ± 3cmH₂O wirkte der Bildung von Atelektasen entgegen. Zusätzlich wurde die Lunge zweimal pro Stunde gebläht und bei Bedarf tracheales Sekret abgesaugt. Das Verhältnis von Inspirations- zu Expirationszeit betrug 1:2. Ein Warmbefeuchter befeuchtete und erwärmte die Inspirationsluft auf eine Temperatur von 35 bis 37°C. Durch regelmäßige arterielle Blutgasanalysen (Ciba Corning 865, Chiron Diagnostics, Giessen, Germany) hatten wir jederzeit die Kontrolle darüber, dass die Tiere ausreichend oxygeniert und ventiliert waren.

3.3.3 Kreislauftherapie

Zur Sicherstellung einer ausreichenden Organperfusion hatte der mittlere arterielle Druck (MAP) gemäß dem Versuchsprotokoll mindestens 70 mmHg zu betragen. Dies erreichten wir entweder durch Volumengabe (Ringerlösung) oder, falls das nicht ausreichte, durch Einsatz von Noradrenalin als Vasopressor. Die Noradrenalingabe wurde dabei mit einer Dosierung von 0,3 µg/kg/min begonnen und bei Bedarf in Schritten von 0,3 µg/kg/min bis auf 3,0 µg/kg/min gesteigert. Kriterien zur Steigerung der Infusionsrate waren eine Abnahme des cardiac output um 20% verglichen mit den Durchschnittswerten am Tag 1 vor der Bakterieninfusion oder der Abfall des MAP unter 70 mmHg.

Wenn sich der MAP unter der Noradrenalin-Dosierung von 3,0 µg/kg/min nicht über 70 mmHg halten ließ, und somit ein therapieresistenter septischer Schock vorlag, terminierten wir das Experiment.

3.3.4 Parenterale Ernährung

Für die komplette parenterale Ernährung eines Intensivpatienten ist man auf die intravenöse Zufuhr von Kohlenhydraten, Aminosäuren und Lipiden angewiesen. Zur Ernährung gehört natürlich auch die ausreichende Zufuhr von Flüssigkeit in Form kristalloiden Infusionslösungen.

In unserem Fall verzichteten wir wegen der Kürze des „Behandlungszeitraumes“ auf die Gabe von Aminosäuren. Den Bedarf an Lipiden und Fettkalorien deckte bereits die kontinuierliche Zufuhr von Propofol zur Sedierung, welches eine Emulsion mit 10% Fettanteil darstellt. Den eigentlichen Energiebedarf sicherte eine Dauerinfusion mit 20% Glucoselösung. Als Obergrenze für den Blutzuckerspiegel setzten wir 150 mg/dl fest. Bei deren Überschreitung wurde die Glucoseinfusion pausiert, da zu keinem Zeitpunkt während der gesamten Studie eines der Tiere Insulin erhielt.

Schließlich war die Überwachung der Qualität der parenteralen Ernährung mit der in der Beatmungsmaschine integrierten metabolischen Monitoringfunktion (ElizaMC, Gambro- Engstrøm) gewährleistet.

Die Infusion von kristalloiden Lösungen in einer Rate von 2 ml/kg/h substituierte den Basisflüssigkeitsbedarf bei allen Schweinen. Unterschritt die Urinausscheidungsrate den Wert von 1,5 ml/kg/h, kompensierte eine zusätzliche Infusion von Ringerlösung den herrschenden Volumenbedarf. Zur Beurteilung der Flüssigkeitsbilanz wurden die Tiere vor Beginn und nach Abschluss des Experiments gewogen.

Um den Elektrolythaushalt im Gleichgewicht zu halten, bekamen die Tiere über 24 Stunden 80 ml 2-molare NaCl Lösung, 40 ml 1-molare KCl-Lösung und 2 g Calcium verabreicht.

3.3.5 Überwachungs- und Pflegemaßnahmen

Zur Überwachung der Vitalparameter standen alle Möglichkeiten der modernen Intensivmedizin zur Verfügung. Folgendes apparatives Monitoring kam zum Einsatz:

- EKG
- Invasive Blutdruckmessung
- Mittlerer arterieller Druck
- Zentralvenöser Druck
- Periphere Sauerstoffsättigung
- Arterielle Sauerstoffsättigung
- Ventrikuläres Schlagvolumen
- Druck im Sinus sagittalis
- Körperkerntemperatur
- Stundendiurese

Wärmematten hielten die Körperkerntemperatur auf einem Minimum von 36,5 °C, Hyperthermie blieb unbehandelt.

Hauptziel der Pflegemaßnahmen war neben dem Komfort der Tiere die Verhinderung von nosokomialen Infektionen. Um einem Wundliegen vorzubeugen, lagerte man die Tiere während des gesamten Zeitraums auf einer Cliniplot[®] Schaumstoffmatratze, wie sie auch in der Humanmedizin eingesetzt wird. Zur Dekubitusprophylaxe wurden die Schweine alle acht Stunden umgelagert und die Matratze frisch bezogen. Jeden Morgen fand ein Verbandswechsel mit Desinfektion der Wunden statt.

Als weitere Basispflegemaßnahmen dienten eine zweimal tägliche Augen- und „Mund“-pflege, bei der wir auch den Nasen–Rachenraum vom angesammelten Sekret befreiten.

Zur Thromboseprophylaxe applizierte wir täglich 10000 I.E. Heparin – Natrium subkutan.

3.4 Bakterien und Mikrobiologie

Den *Escherichia coli* Stamm D 14604 (086a:K61) bezogen wir von der American Type Culture Collection (Rockville, MD) als gefriergetrocknete Kultur. Sie musste zunächst durch Zugabe von 0,4 ml Flüssigmedium rehydriert werden. Anschließend wurden die Bakterien in American Type Culture Collection Culture Medium 3 (Nutrient Dico 0003; Bioscience, Sparks, MD) unter konstanten Bedingungen bei einer Temperatur von 37°C über 24 Stunden inkubiert (Inkubator Innova 4230, New Brunswick, Scientific, NJ) und nach 25-facher Konzentrierung in Portionen zu je 400 µl in 50% Glycerol bei -80 °C eingefroren.

Vor der Infusion der lebenden Bakterien wurde die Wachstumskurve des *E. coli* Stamms bestimmt, um eine Beziehung zwischen der Lichtabsorption einer Suspension und der Konzentration sichtbarer Bakterien herstellen zu können. 400 µl des Konzentrats dienten zur Beimpfung von 200 ml Nährbouillon, die bei 37 °C über 3 Stunden unter ständiger Bewegung und Belüftung kultiviert wurde. Nach mehrfacher Verdünnung (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) wurden mit dieser Suspension Agarplatten (Nutrient Broth Difco 0001) beimpft. Die Platten kamen über Nacht in einen Inkubator und am nächsten Tag wurden die Bakterien durch Auszählung der sichtbaren Kolonien quantifiziert.

Nach mehrfacher Wiederholung dieses Vorgangs konnten wir eine gute Korrelation zwischen der Absorptionsfähigkeit der Resuspension und der sichtbaren Zellzahl herstellen. Einer Absorption von 0,3 entsprachen $1,9 \cdot 10^8$ koloniebildende Einheiten pro Milliliter.

Eine Vorausstudie ergab, dass die täglich notwendige Dosis, um eine Infektion der Tiere (n=5) hervorzurufen, sich bei Verwendung derselben Bereitstellungsform auf 10^7 koloniebildende Einheiten pro Milliliter belief. Dem Gewicht der Tiere entsprechend wurden 1,6 – 2,1 ml der beschriebenen Suspension während 10 Minuten bei 10000 Umdrehungen/min und 4 °C zentrifugiert.

Der so gewonnene Überstand wurde in steriler Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) gewaschen, anschließend in 100 ml steriler Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) resuspendiert und sofort infundiert.

3.5 Versuchsprotokoll

Am ersten postoperativen Morgen, also ungefähr 12 Stunden nach Beendigung der Instrumentation, wurden die Tiere randomisiert entweder der Sepsisgruppe (n=11) oder der Kontrollgruppe (n=10) zugeordnet. Alle Tiere erhielten an jeweils vier Tagen 100 ml einer Infusion über den Pfortaderkatheter in einer Rate von 200 ml/Stunde.

Je nach Gruppenzugehörigkeit handelte es sich hierbei entweder um Kochsalzlösung (Kontrollgruppe) oder um in Kochsalzlösung suspendierte Bakterien (Sepsisgruppe).

Unmittelbar vor den Bakterieninfusionen wurden in beiden Versuchsgruppen täglich aerobe und anaerobe Blutkulturen gewonnen.

Aus dem Sinus sagittalis, der Femoralarterie und dem Spinalkatheter entnahmen wir vor Beginn und zwei, vier und acht Stunden nach den Infusionen zeitgleich Proben. Die Serum- und Liquorproben dienten der späteren Bestimmung von Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α).

Am Abend des vierten postoperativen Tages endete der Versuch planmäßig. Hierzu versetzten wir die Tiere mit Propofol und Fentanyl in ein tiefes Narkosestadium, um dann durch die rasche Injektion von 20 mmol Kaliumchlorid einen Kreislaufstillstand herbeizuführen.

Sämtliche hämodynamischen Parameter wurden kontinuierlich von einem Computersystem aufgezeichnet.

3.6 Laboruntersuchungen

Die fraktionelle Sauerstoffsättigung, der arterielle Sauerstoffpartialdruck und der Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis und der Femoralarterie ließen sich mit Hilfe des Blutgasanalysators (Ciba Corning 865) bestimmen, der ebenfalls Werte zu Elektrolyten und Blutzuckerspiegel lieferte. Die Blutproben zur Bestimmung der Zytokine stammten aus der Femoralarterie. Sie mussten sofort nach der Entnahme über 10 Minuten bei 3500 Umdrehungen/min und einer Temperatur von 37 °C zentrifugiert und anschließend – ebenso wie die Liquorproben – sofort bei -70 °C eingefroren werden, da die Zytokinspiegel unter diesen tiefgefrorenen Lagerungsbedingungen über mehrere Monate stabil bleiben.

Nach dem Wiederauftauen konnten die Zytokinspiegel mit Hilfe eines ELISA Test-Kit (R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt, Germany) quantitativ gemessen werden. Die Nachweisgrenze für TNF- α lag bei 3 pg/ml, diejenige für IL-6 bei 18 pg/ml.

3.7 Gehirnfixierung und histologische Untersuchungen

Das Gehirn wurde unmittelbar nach Eintritt des Todes entnommen und während 96 Stunden in 4% Formalin fixiert.

Die pathologische Untersuchung begann zunächst mit der Inspektion und Beurteilung des Gehirns als Ganzes. Zur histologischen Untersuchung wurde es in Scheiben von 1 cm Dicke geschnitten. Die Schnittführung lag beim Cerebrum in der coronaren Ebene, während sie bei Hirnstamm und Cerebellum horizontal verlief. Aus beiden Hemisphären ließen sich unter Mitnahme sowohl von weißer als auch von grauer Substanz Gewebeproben (1 cm²) aus den Frontallappen entnehmen. Weitere Proben stammten aus dem Mittelhirn in der Nähe des dritten Ventrikels, dem Stammhirn und dem Cerebellum – welche ebenfalls sowohl weiße als auch graue

Substanz enthielten. In den Proben von Gehirn und Kleinhirn waren jeweils auch meningeale Strukturanteile erkennbar.

Für den nächsten Arbeitsschritt war es notwendig, die Schnitte mit Xylol zu dehydrieren und in Paraffin einzubetten (Gewebeeinbettungsautomat 1.411.00, PSI-Grünwald, Laudenbach, Germany). Anschließend wurden die Paraffinblöcke mit einem Mikrotom (Universalmikrotom 1140 Autocut, R. Jung, Heidelberg, Germany) zu Präparaten von je 5 µm Dicke verarbeitet und mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

Die fertigen Präparate wurden dann randomisiert, einem Neuropathologen zur Beurteilung vorgelegt und von diesem einer der vier folgenden Schadenskategorien zugeordnet:

- **perivaskuläres oder interstitielles Ödem**
- **zytotoxischer Zellschaden**
- **Entzündung**
- **Hyperämie oder Hämorrhagie**

Die Schweregradklassifikation pathologischer Befunde der letzten drei Kategorien wurde gemäß eines vierstufigen Scoresystems [77] vorgenommen und in folgende Gruppen eingeteilt:

- | | |
|-------------------------------|-----------------|
| ➤ keine Schädigung | 0 Punkte |
| ➤ leichte Schädigung | 1 Punkt |
| ➤ mittelere Schädigung | 2 Punkte |
| ➤ schwere Schädigung | 3 Punkte |

Die spezifischen histopathologischen Veränderungen in den jeweiligen Gruppen sind in den Legenden zu den *Tabellen 11, 12 und 13* näher erläutert.

Aus den insgesamt sieben untersuchten Regionen entnahmen wir je vier Proben und erstellten daraus Präparate. Die Schweregradklassifikationen der vier Präparate einer Region wurden zu einem Mittelwert zusammengefasst und die Mittelwerte der sieben Regionen addiert, so dass man für jedes Tier einen individuellen Gesamtscore erhielt, der zwischen 0 und 21 Punkten variieren konnte.

3.8 Datenverarbeitung und statistische Auswertung

3.8.1 Berechnungen

Einige der physiologischen Parameter, die zur Auswertung gelangten, waren nicht direkt messbar, ließen sich aber aus gemessenen Daten errechnen. Es folgt eine Übersicht der verwendeten Formeln.

Der **systemische Gefäßwiderstand (SVR)** errechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{SVR} = (\text{MAP} - \text{CVP}) / \text{cardiac output} [\text{dyne} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-5}]$$

Der **cerebrale Perfusionsdruck (CPP)** ergibt sich aus der Differenz von mittlerem arteriellem Druck und Druck im Sinus sagittalis:

$$\text{CPP} = \text{MAP} - \text{SSP} [\text{mmHg}].$$

Den **arteriellen Sauerstoffgehalt (CaO₂)** und den **Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis (CssO₂)** erhält man jeweils durch Berechnung nach folgenden Formeln:

$$\text{CaO}_2 = (\text{Hb} \times 1,39) \times \text{SaO}_2 + (\text{PaO}_2 \times 0,0031) \text{ [ml/dl]}$$

$$\text{CssO}_2 = (\text{Hb} \times 1,39) \times \text{SssO}_2 + (\text{PssO}_2 \times 0,0031) \text{ [ml/dl]}$$

Hieraus ergibt sich **die Differenz zwischen arteriellem Sauerstoffgehalt und Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis:**

$$\text{C(a - ss)O}_2 = \text{CaO}_2 - \text{CssO}_2 \text{ [ml/dl]}$$

3.8.2 Statistik

Die zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten (vor Infusion und jeweils 2, 4 und 8 Stunden nach der portalen Bakterieninfusion) ermittelten Werte wurden mit hierarchisch aufgebauten linearen Modellen schrittweise analysiert, um das Problem der wiederholten Messungen zu berücksichtigen. Wo auf den unterschiedlichen Verlauf beider Gruppen fokussiert wurde, war der entsprechende Wechselwirkungsfaktor der entscheidende erste Schritt der Varianzanalysen. Als Irrtumswahrscheinlichkeit galten maximal 5% als akzeptabel. Da die durchschnittlichen Noradrenalinraten nicht normal verteilt waren, wurden die Gruppen mit Mann-Whitney U Tests ($P < 0,05/5 = 0,01$ für fünf Vergleiche) verglichen. Innerhalb der Gruppen wurde mit dem Friedman Test ($p < 0,05/2 = 0,025$) analysiert. Der Score histopathologischer Veränderungen und die Gewichtszunahme am vierten Tag wurden statistisch mit dem Mann-Whitney U Test untersucht. Sämtliche statistischen Auswertungen wurden mit StatView für Windows 4.55 (Abacus Concepts, Berkley, CA) berechnet.

4. ERGEBNISSE

Bei zwei Schweinen aus der Sepsisgruppe musste der Versuch vor Ablauf des vierten postoperativen Tages beendet werden. Ursächlich waren hämodynamische Veränderungen im Sinne eines Schocks und die Entwicklung eines respiratorischen Versagens mit schwerwiegenden Oxygenierungsproblemen gemeinsam mit einer metabolischen Entgleisung auf dem Boden einer Laktatazidose. Eines dieser beiden Schweine erreichte trotz einer FiO_2 von 1,0 nicht den geforderten paO_2 von 100 mmHg und entwickelte eine schwere Laktatazidose (20 mM). Das zweite Tier benötigte mehr als 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ Noradrenalin um einen MAP von 70 mmHg zu halten.

Aus der Kontrollgruppe verstarb ein Schwein am Ende des ersten postoperativen Tages aufgrund einer intracerebralen Blutung; ein anderes erlag einer kardialen Arrhythmie und ein drittes aus dieser Gruppe entwickelte am zweiten Tag spontan eine Infektion. Die Messergebnisse dieser fünf Tiere wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Zur statistischen Auswertung gelangten die Daten von insgesamt 16 Tieren – neun septischen und sieben Kontrollen.

Zeichen einer systemischen Entzündungsreaktion (*vergleiche Tabelle 1: Definition der Sepsis, S. 3*) traten bei allen Tieren aus der Sepsisgruppe auf. Aus der Kontrollgruppe zeigte keines der Tiere Symptome einer inflammatorischen Reaktion. Im Anschluss an die Bakterieninfusion stieg die Körpertemperatur der Tiere kontinuierlich von $37,1 \pm 0,5$ auf $40,6 \pm 1,2$ °C, die Leukozytenzahl fiel entweder unter $4000/\text{mm}^3$ bzw. stieg auf über $12000/\text{mm}^3$.

Der infundierte *Escherichia coli* Stamm ließ sich in den Blutkulturen bei vier der neun Schweine am zweiten Tag nachweisen. Vor der dritten und vierten Bakterieninfusion waren die Blutkulturen schließlich bei sämtlichen Tieren aus der Sepsisgruppe positiv, während sie in der Kontrollgruppe durchgehend negativ ausfielen.

Der Liquor war mit Ausnahme eines einzigen Tieres aus der Sepsisgruppe bei allen anderen Schweinen stets bakterienfrei.

Bis zu dem Zeitpunkt der ersten Bakterieninfusion benötigte keines der Schweine Noradrenalin um einen MAP über 70 mmHg zu halten. Im Verlauf der Messtage

erhielten die Kontrolltiere Noradrenalin als Dauerinfusion in konstant niedriger Dosierung, um die zirkulatorischen Nebenwirkungen der kontinuierlichen Analgosedierung mit Propofol und Fentanyl aufzuheben. In der Gruppe der septischen Tiere nahm der mittlere Noradrenalinbedarf dagegen über die Tage deutlich zu.

Wie die folgende Übersicht (*Tabelle 4*) zeigt, waren die Noradrenalininfusionsraten nach Bakterieninfusion (Median [25. bzw. 75. Perzentil]) in der Sepsisgruppe an jedem Tag signifikant höher als in der Kontrollgruppe:

Tabelle 4: Noradrenalinbedarf

(Einheit: $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{min}^{-1}$)

	Sepsisgruppe	Kontrollgruppe
Tag 1	0,021 [0,018; 0,033]	0 [0;0,0099]
Tag 2	0,057 [0,031; 0,118]	0 [0; 0,015]
Tag 3	0,182 [0,062; 0,570]	0,013 [0; 0,048]
Tag 4	0,602 [0,149; 1,659]	0,042 [0; 0,062]

Cardiac output, CVP und SSP nahmen bei den septischen Schweinen innerhalb von acht Stunden nach der ersten Bakterieninfusion zu, während der periphere Widerstand (SVR) sich kontinuierlich verringerte. Aufgrund des konstant gehaltenen MAP resultierte aus diesen Veränderungen ein Abfall des zentralen Perfusionsdruckes (*siehe Tabelle 5 und Formel zur Berechnung des CPP auf S. 22*). Eine Zunahme des Körpergewichts (Median [25. bzw. 75. Perzentil]) konnte man ausschließlich bei den septischen Tieren beobachten (2,5 [2,0; 3,3] vs. 0,5 [0,2; 0,8] kg; $P < 0,05$).

Tabelle 5: Hämodynamik

		Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4		Statistik	
Messwert	Gruppe	24 h	32 h	48 h	56 h	72 h	80 h	96 h	104 h	Gruppe x Zeit	Zeit
CO (l/min)	Kontrolle	3.2 ± 0.7	3.1 ± 0.6	3.2 ± 0.6	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.4	3.3 ± 0.7	3.4 ± 0.6	3.5 ± 0.7	NS	NS
	Sepsis	2.9 ± 0.41	3.8 ± 0.7	3.5 ± 0.6	4.1 ± 0.9	3.8 ± 0.7	3.9 ± 0.8	3.9 ± 0.5	3.8 ± 0.62		0.0026
SVR (dyne*s*cm ⁻⁵)	Kontrolle	1,669 ± 429	1,757 ± 336	1,882 ± 443	1,587 ± 189	1,552 ± 239	1,657 ± 623	1,746 ± 653	1,605 ± 494	0.0349	NS
	Sepsis	1,572 ± 342	1,309 ± 306	1,548 ± 318	1,195 ± 335	1,281 ± 385	1,220 ± 342	1,164 ± 224	1,131 ± 216		<0.0001
CVP (mmHg)	Kontrolle	7 ± 3	7 ± 3	5 ± 2	6 ± 2	10 ± 4	10 ± 4	9 ± 3	9 ± 3	0.0479	NS
	Sepsis	7 ± 2	8 ± 2	9 ± 3	11 ± 3	12 ± 3	13 ± 2	17 ± 3	17 ± 3		<0.0001
SSP (mmHg)	Kontrolle	6 ± 2	7 ± 3	7 ± 2	7 ± 2	8 ± 3	7 ± 2	7 ± 2	8 ± 3	<0.0001	0.0473
	Sepsis	6 ± 2	9 ± 2	10 ± 3	11 ± 3	12 ± 2	13 ± 2	14 ± 2	16 ± 2		<0.0001
CPP (mmHg)	Kontrolle	69 ± 9	67 ± 10	71 ± 10	64 ± 6	70 ± 14	66 ± 10	72 ± 10	70 ± 9	0.0297	0.0290
	Sepsis	65 ± 4	60 ± 4	65 ± 5	58 ± 7	59 ± 8	58 ± 8	59 ± 6	55 ± 9		0.0008

Durchschnitt ± Standardabweichung

[7]

CO = Herzzeitvolumen (cardiac output)

SVR = systemischer Gefäßwiderstand (systemic vascular resistance)

CVP = zentraler Venendruck (central venous pressure)

SSP = Druck im Sinus sagittalis (sagittal sinus pressure)

CPP = cerebraler Perfusionsdruck (cerebral perfusion pressure)

Die gesamte Gruppe der septischen Tiere entwickelte eine respiratorische Insuffizienz, die sich anhand des abnehmenden Quotienten aus Sauerstoffpartialdruck und FiO_2 quantifizieren ließ. Dieser sank von 535 ± 39 auf 273 ± 66 und spiegelte so die sich verschlechternde Oxygenierungssituation wider. Durch Veränderung der Beatmungsmuster im Sinne einer höheren Invasivität der Beatmung gelang es dennoch, den Sauerstoffpartialdruck (paO_2) auf Werte über 100 mmHg zu halten. Reichte die Optimierung der Beatmung (Best-PEEP, inverses Ratioventilation) allein nicht aus, um die Oxygenierung zufriedenstellend zu verbessern, erhöhte man die inspiratorische Sauerstoffkonzentration (FiO_2). In der Sepsisgruppe registrierten wir im Verlauf der Tage einen kontinuierlichen Anstieg der Sauerstoffsättigung im Sinus sagittalis, während sich die Differenz zwischen dem arteriellen Sauerstoffgehalt und dem Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis in beiden Gruppen verringerte (*Tabelle 6*).

Nach der ersten Bakterieninfusion stiegen die Interleukin-6-Spiegel an und fielen während des gesamten Versuchs nicht mehr ab (*Tabellen 7 und 8*).

Zwei bis vier Stunden nach der Bakterieninfusion erhöhten sich regelmäßig die TNF- α -Spiegel. Während der Nacht sanken sie aufgrund der kurzen Halbwertszeit wieder in Richtung Normalwerte. Die Veränderungen des TNF- α Niveaus in Serum und Liquor verhielten sich jeweils proportional zueinander (*Tabelle 9 und 10*). Die Kontrollgruppe zeigte keine dieser Veränderungen und die TNF- α und IL-6 Werte blieben sowohl im Serum wie auch im Liquor konstant (*Tabellen 7 bis 10*).

Tabelle 6: Sauerstoffbilanz

		Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4		Statistik	
Messwert	Gruppe	24 h	32 h	48 h	56 h	72 h	80 h	96 h	104 h	Gruppe x Zeit	Zeit
CaO ₂ (ml/dl)	Kontrolle	11.3 ± 1.8	11.4 ± 2.0	11.3 ± 1.5	10.4 ± 1.4	9.9 ± 1.3	8.5 ± 0.9	9.5 ± 1.4	9.3 ± 1.3	NS	<0.0001
	Sepsis	11.7 ± 1.8	12.1 ± 2.2	12.4 ± 2.6	11.7 ± 2.5	11.4 ± 2.8	10.4 ± 2.2	9.7 ± 1.8	8.9 ± 1.9		<0.0001
SssO ₂ Hb (%)	Kontrolle	54 ± 5	57 ± 8	57 ± 5	60 ± 7	57 ± 6	54 ± 7	55 ± 5	53 ± 5	< 0.0001	NS
	Sepsis	60 ± 11	60 ± 8	63 ± 10	67 ± 8	70 ± 3	71 ± 7	70 ± 5	75 ± 9		<0.0001
C(a - ss)O ₂ (ml/dl)	Kontrolle	6.8 ± 0.7	6.4 ± 1.7	6.5 ± 0.9	6.0 ± 1.1	5.7 ± 1.6	5.3 ± 1.3	5.7 ± 1.5	5.9 ± 1.4	0.0014	<0.0001
	Sepsis	6.3 ± 2.2	6.4 ± 1.7	5.8 ± 1.3	5.0 ± 1.6	4.5 ± 1.5	3.9 ± 1.4	3.7 ± 0.9	2.8 ± 1.3		0.0052

Durchschnitt ± Standardabweichung

[7]

CaO₂: arterieller SauerstoffgehaltSssO₂Hb: fraktionale Sauerstoffsättigung im Sinus sagittalisC(a - ss)O₂: Differenz zwischen arteriellem Sauerstoffgehalt und Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis

Tabelle 7: Zeitlicher Verlauf von Interleukin 6 im Serum

		Tag 1				Tag 2			Tag 3			Tag 4		
Serumkonzentration [pg/ml]	Zeit[h]	0	24	28	32	48	52	56	72	76	80	96	100	102
	Sepsis	18	195	1429	1883	2025	2509	2435	2087	2092	2523	1870	2039	2348
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
8	120	1044	1391	1013	1400	1430	1109	862	1443	1122	970	1252		
Kontrolle	18	96	157	96	39	39	126	47	58	65	33	46	115	
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
8	92	117	113	24	34	156	29	50	59	28	32	139		

Mittelwert ± Standardabweichung

- Interleukin-6 Konzentration (IL-6) im Serum während viertägiger Bakterieninfusion
- Im Gegensatz zur Kontrollgruppe stieg bei den septischen Tieren die IL-6-Konzentration sowohl im Serum wie auch im Liquor über die Tage signifikant an (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0006$)
- Innerhalb der Sepsisgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den IL-6-Konzentrationen in Serum und Liquor
- Der IL-6 Anstieg im Serum der septischen Tiere war signifikant ($P < 0.0001$)
- Im Gegensatz zur Sepsisgruppe war bei den Kontrolltieren kein signifikanter Anstieg der IL-6-Konzentration im Serum nachweisbar (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0006$)

Tabelle 8: Zeitlicher Verlauf von Interleukin 6 im Liquor

		Tag 1				Tag 2			Tag 3			Tag 4		
Liquorkonzentration [pg/ml]	Zeit [h]	0	24	28	32	48	52	56	72	76	80	96	100	102
	Sepsis	18	307	890	2409	1084	2231	1702	1752	2472	2343	1886	2951	2655
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Kontrolle	8	103	581	1168	426	1128	919	1153	1164	1201	1013	1111	957	
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
8	156	202	126	113	50	117	49	78	94	46	55	20		
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±		
8	153	221	90	74	26	77	23	37	53	30	35	10		
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±		

Mittelwert ± Standardabweichung

- Interleukin-6 Konzentration (IL-6) im Liquor während viertägiger Bakterieninfusion
- Im Gegensatz zur Kontrollgruppe stieg bei den septischen Tieren die IL-6-Konzentration sowohl im Liquor wie auch im Serum über die Tage signifikant an (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0006$)
- Innerhalb der Sepsisgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den IL-6-Konzentrationen in Liquor und Serum
- Der IL-6 Anstieg im Liquor der septischen Tiere war signifikant ($P < 0.0001$)
- Im Gegensatz zur Sepsisgruppe war bei den Kontrolltieren kein signifikanter Anstieg der IL-6-Konzentration im Liquor nachweisbar (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0006$)

Tabelle 9: Zeitlicher Verlauf von TNF- α im Serum

		Tag 1				Tag 2			Tag 3			Tag 4			
Serumkonzentration [pg/ml]	Zeit [h]	0	24	28	32	48	52	56	72	76	80	96	100	102	
	Sepsis		3,0	12,8	31,1	22,4	20,1	44,6	26,9	15,6	26,0	21,8	13,0	32,5	19,5
			±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
			2,0	8,6	14,2	11,4	13,8	25,2	18,0	14,8	13,9	18,5	8,2	30,7	15,0
Kontrolle		3,0	10,8	9,6	9,3	10,2	9,8	10,2	8,8	10,5	10,5	8,9	13,2	8,1	
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
		2,0	2,7	1,8	1,9	2,9	4,3	4,4	5,0	7,3	2,8	2,7	4,7	3,6	

Mittelwert \pm Standardabweichung

- TNF- α -Konzentration im Serum während viertägiger Bakterieninfusion
- Im Gegensatz zur Kontrollgruppe stieg bei den septischen Tieren die TNF- α -Konzentration sowohl im Serum wie auch im Liquor über die Tage signifikant an (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0007$)
- Innerhalb der Sepsisgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den TNF- α -Konzentrationen in Serum und Liquor
- Der TNF- α -Anstieg im Serum der septischen Tiere war signifikant ($P < 0.0001$)
- Im Gegensatz zur Sepsisgruppe war bei den Kontrolltieren kein signifikanter Anstieg der TNF- α -Konzentration im Serum nachweisbar (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0007$)

Tabelle 10: Zeitlicher Verlauf von TNF- α im Liquor

		Tag 1				Tag 2			Tag 3			Tag 4		
Liquorkonzentration [pg/ml]	Zeit [h]	0	24	28	32	48	52	56	72	76	80	96	100	102
	Sepsis	3,0	13,8	45,2	32,6	20,0	40,2	22,1	26,5	41,2	44,3	24,7	26,3	18,7
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
Kontrolle	2,0	5,6	45,7	18,3	18,4	28,8	9,9	14,1	38,9	18,5	16,0	10,9	6,1	
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	
	3,0	7,7	6,7	9,3	9,2	7,3	6,8	7,3	8,3	7,2	9,2	8,7	8,3	
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	
	2,0	1,6	2,2	5,1	3,2	1,2	2,1	1,8	2,0	2,5	3,2	3,0	1,9	

Mittelwert \pm Standardabweichung

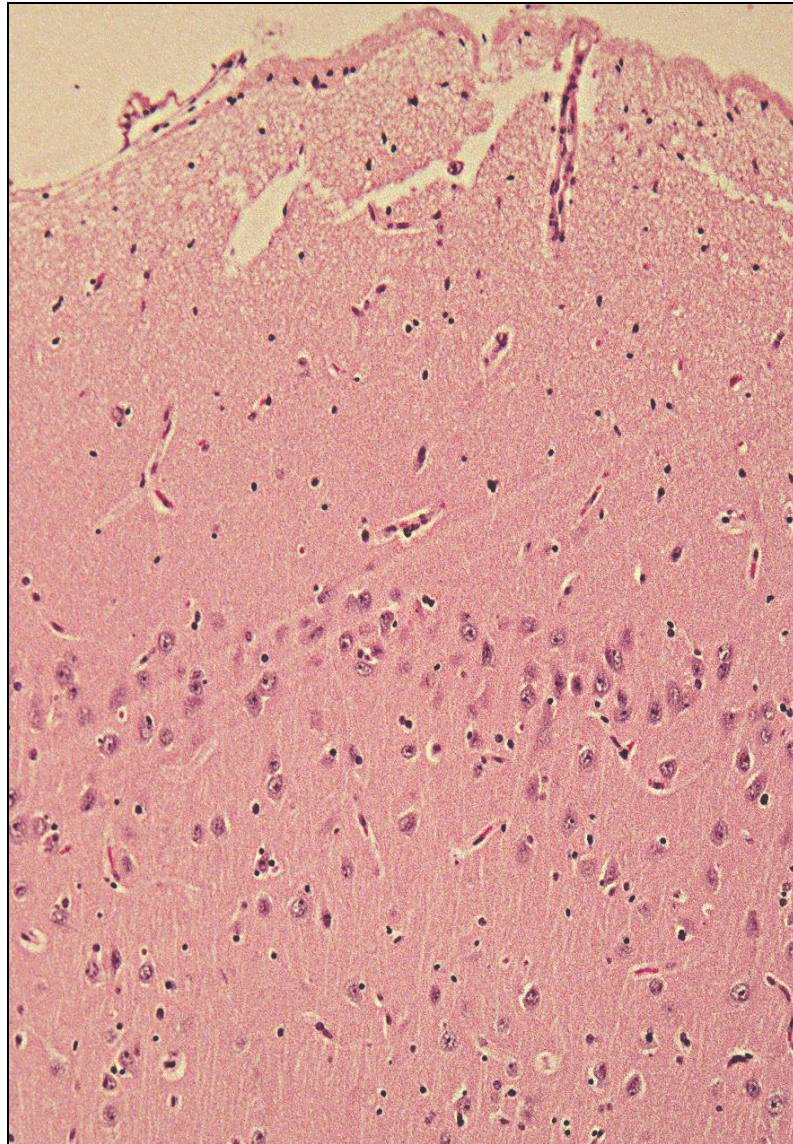
- TNF- α -Konzentration im Liquor während viertägiger Bakterieninfusion
- Im Gegensatz zur Kontrollgruppe stieg bei den septischen Tieren die TNF- α -Konzentration sowohl im Serum wie auch im Liquor über die Tage signifikant an (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0007$)
- Innerhalb der Sepsisgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den TNF- α -Konzentrationen in Liquor und Serum
- Der TNF- α -Anstieg im Liquor der septischen Tiere war signifikant ($P < 0.0001$)
- Im Gegensatz zur Sepsisgruppe war bei den Kontrolltieren kein signifikanter Anstieg der TNF- α -Konzentration im Liquor nachweisbar (Gruppe x Zeit: jeweils $P < 0.0007$)

Makroskopisch zeigten die Gehirne der Kontrolltiere keine pathologischen Veränderungen. Lediglich bei zwei dieser Tiere waren geringe mikroskopische Auffälligkeiten im Gehirngewebe erkennbar, wie zum Beispiel ein beginnendes perivaskuläres Ödem, Hyperämie der meningealen Gefäße oder einzelne Erythrozyten im Bereich des Cortex.

Keines der anderen Kontrolltiere zeigte bei der histologischen Untersuchung des Gehirns irgendwelche pathologischen Befunde (*Abb. 1*).

Im Gegensatz hierzu ließen sich bei sämtlichen septischen Schweinen neuronale Schädigungen sichtbar machen: Das Zytoplasma der Pyramidenzellen war in der HE-Färbung durch eine deutliche Eosinophilie gekennzeichnet und enthielt fein granulär verteilte Nissl-Schollen. Die Zellkerne zeigten sich geschrumpft, häufig dreieckig verformt und dunkel gefärbt. In einigen Gewebeproben wies das Zytoplasma eine gleichmäßige, strukturlose Eosinophilie auf, während der Zellkern sich im Zustand fortgeschrittener Degeneration mit beginnender Auflösung der Kernmembran befand (*Abb. 2,3 und 4*).

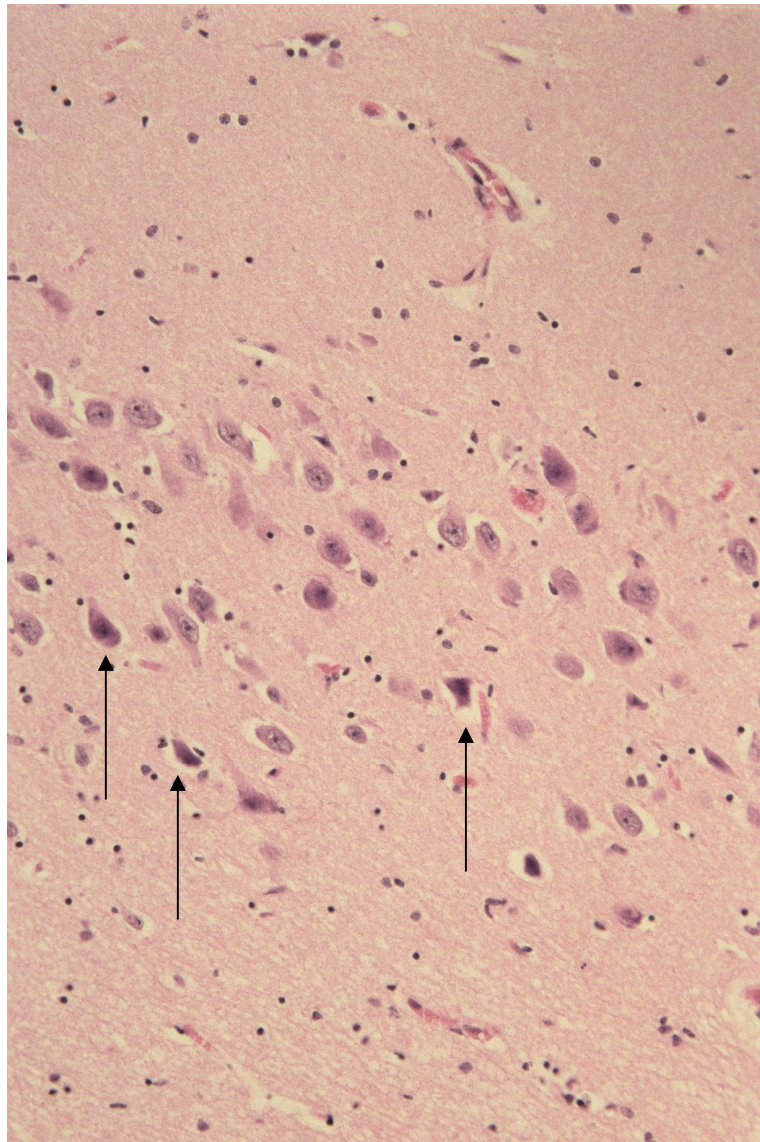
Im Gegensatz hierzu waren im gesamten cerebellären Cortex und insbesondere in der Purkinjezellschicht (Stratum gangliosum) weder bei den Kontrolltieren (*Abb. 5 und 6*) noch in der Sepsisgruppe (*Abb. 7*) irgendwelche histopathologische Veränderungen festzustellen.

Abbildung 1: Cortex, Pyramidenschicht - Kontrolltier

HE-Färbung

20x Objektiv

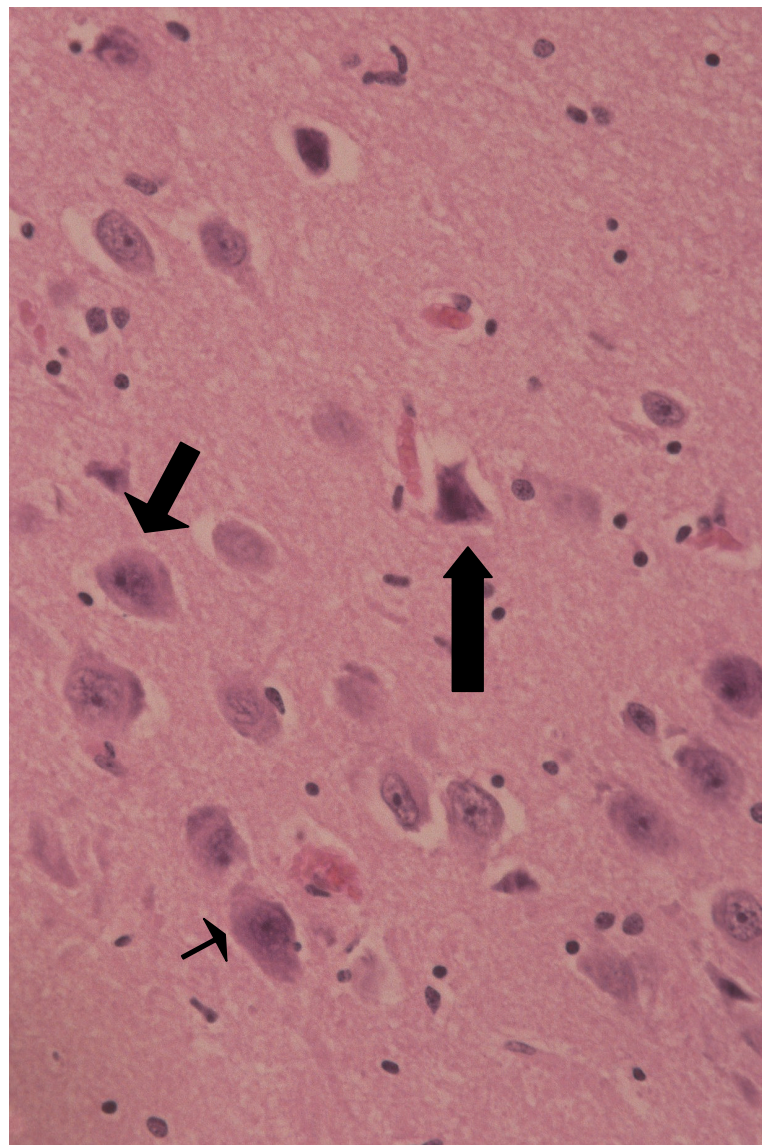
Histologisches Präparat aus der Pyramidenzellschicht des Cortex eines Kontrolltieres (Nr. 8); es finden sich keine Anzeichen pathologischer Veränderungen.

Abbildung 2: Cortex, Pyramidenzellschicht eines septischen Tieres

HE-Färbung

20x Objektiv

Histologisches Präparat aus dem Cortex eines septischen Tieres. Als Hinweis auf eine irreversible Schädigung sieht man in den Pyramidenzellen ein eosinophiles Zytoplasma; die Zellkerne erscheinen geschrumpft, von dunkler Färbung und zum Teil verformt (Pfeile).

Abbildung 3: Cortex, Pyramidenzellschicht eines septischen Tieres

HE-Färbung

20x Objektiv

Erkennbar ist das gleichzeitige Auftreten verschiedener Schädigungsstadien:

gesunde Neurone

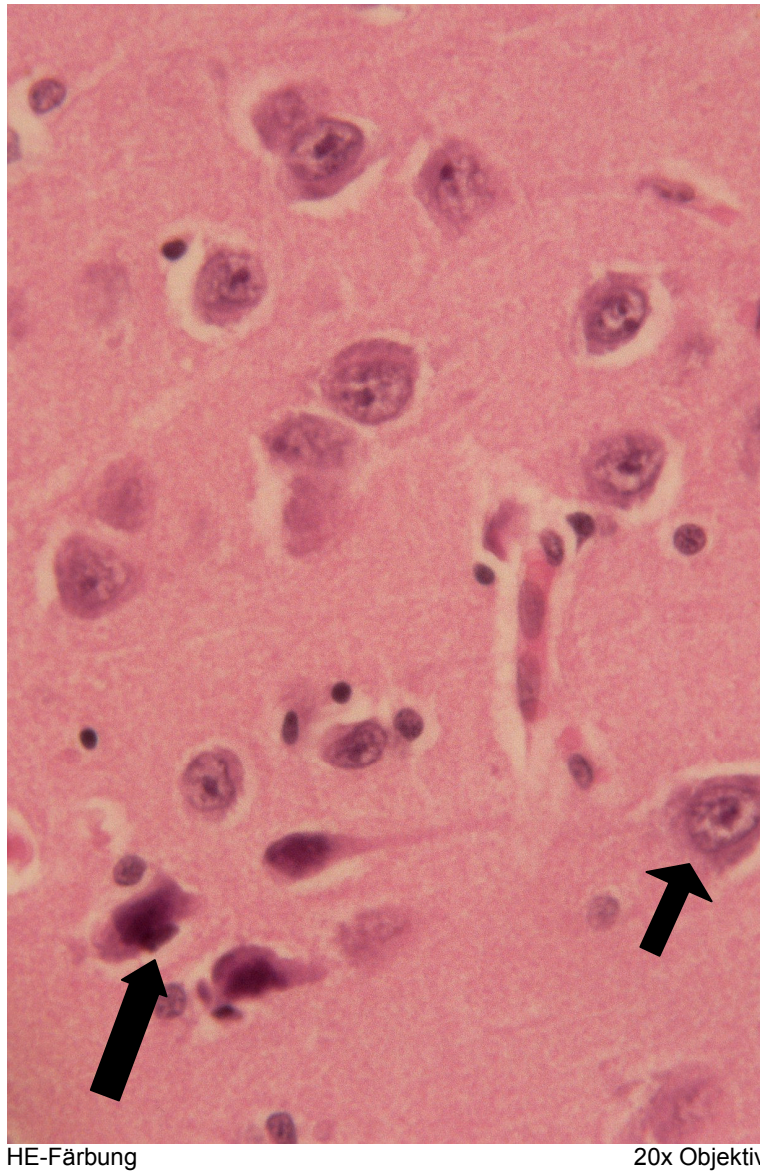
(kleine Pfeile)

reversibel geschädigte Neurone

(mittlere Pfeile)

irreversibel geschädigte Neurone

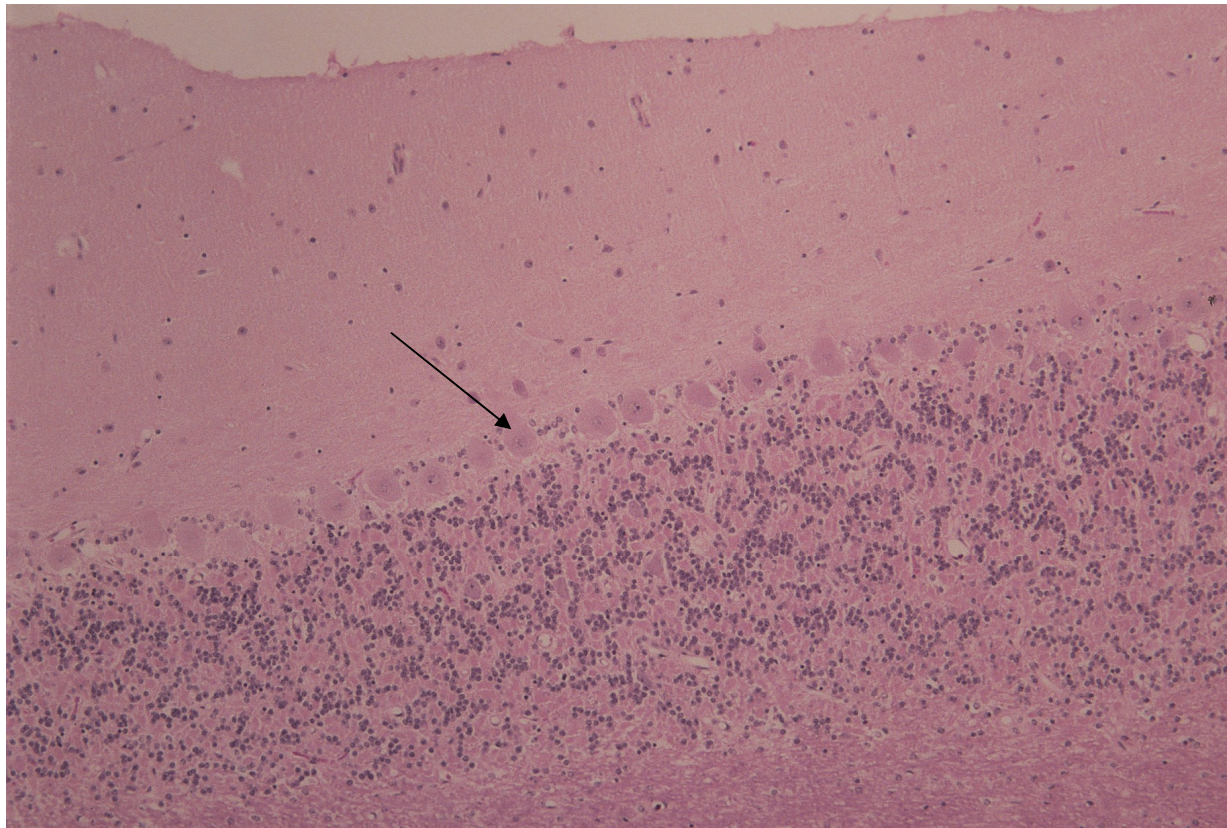
(große Pfeile)

Abbildung 4: Cerebraler Cortex eines septischen Tieres

Erkennbar ist das gleichzeitige Auftreten verschiedener Schädigungsstadien:

reversibel geschädigte Neurone (mittlere Pfeile)
irreversibel geschädigte Neurone (große Pfeile)

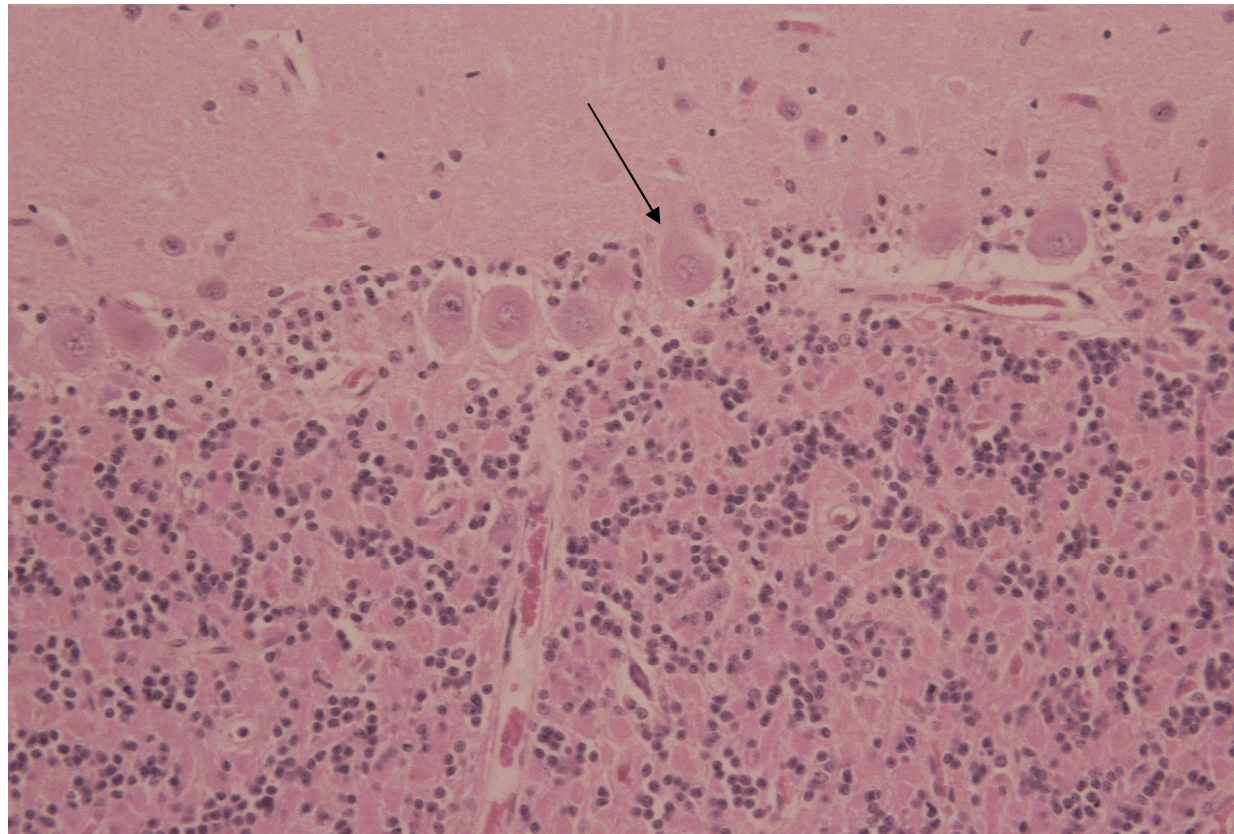
Abbildung 5: Cerebellärer Cortex, Purkinjezellschicht eines Kontrolltieres – Übersicht



HE-Färbung

20x Objektiv

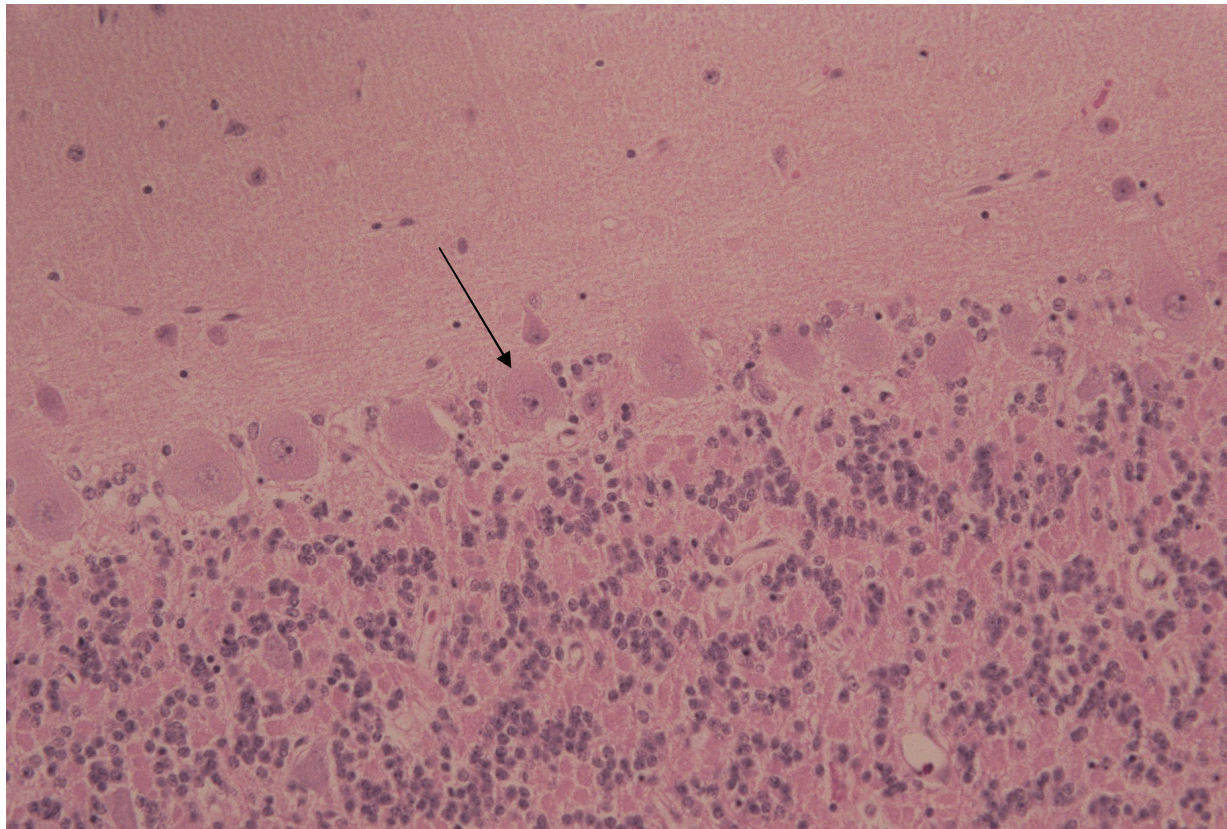
Histologisches Präparat aus dem cerebellären Cortex eines Kontrolltieres (Nr. 8). Zu sehen ist der dreischichtige Aufbau des cerebellären Cortex: das deutlich eosinophile **Stratum moleculare**, das **Stratum ganglioseum** (Purkinjezellschicht) und das **Stratum granulosum** – zu erkennen an den dicht nebeneinander gelagerten Zellen. Histologisch ein Normalbefund: Die großen Purkinjezellen (Pfeil) weisen keine krankhaften Veränderungen auf. Sie haben ein leicht eosinophiles Zytoplasma und einen großen, zentral gelagerten Nucleus mit einem einzelnen, prominenten Nucleolus.

Abbildung 6: Cerebellärer Cortex, Purkinjezellschicht eines Kontrolltieres – Detail

HE-Färbung

20x Objektiv

Histologisches Präparat aus dem cerebellären Cortex eines Kontrolltieres (Nr. 8). Zu sehen ist der dreischichtige Aufbau des cerebellären Cortex: das deutlich eosinophile **Stratum moleculare**, das **Stratum gangliosum** (Purkinjezellschicht) und das **Stratum granulosum** – zu erkennen an den dicht nebeneinander gelagerten Zellen. Histologisch ein Normalbefund: Die großen Purkinjezellen (Pfeil) weisen keine krankhaften Veränderungen auf. Sie haben ein leicht eosinophiles Zytoplasma und einen großen, zentral gelagerten Nucleus mit einem einzelnen, prominenten Nucleolus.

Abbildung 7: Cerebellärer Cortex, Purkinjezellschicht eines septischen Tieres

HE-Färbung

20x Objektiv

Histologisches Präparat aus dem cerebellären Cortex eines septischen Tieres (Nr. 4). Zu sehen ist der dreischichtige Aufbau des cerebellären Cortex: das deutlich eosinophile **Stratum moleculare**, das **Stratum gangliolum** (Purkinjezellschicht) und das **Stratum granulosum** – zu erkennen an den dicht nebeneinander gelagerten Zellen. Histologisch ein Normalbefund: Die großen Purkinjezellen (Pfeil) weisen keine krankhaften Veränderungen auf. Sie haben ein leicht eosinophiles Zytoplasma und einen großen, zentral gelagerten Nucleus mit einem einzelnen, prominenten Nucleolus.

Deutlich zu unterscheiden ist der dreischichtige Aufbau des cerebellären Cortex mit Stratum moleculare, Purkinjzellschicht und Stratum granulosum (*Abb. 5, 6 und 7*). Die großen Purkinjzellen sind in allen Abbildungen frei von pathologischen Veränderungen. Das Zytoplasma ist diskret eosinophil, mit einem großen, zentral angeordneten Zellkern, der einen einzelnen sich deutlich abzeichnenden Nucleolus enthält.

Alle septischen Schweine wiesen vor allem in der weißen Substanz ein leichtes bis schweres perivaskuläres Ödem auf. Außerdem traten zytotoxische Zellödeme auf (*vergleiche Tabelle 11*). Die Myelinscheiden waren häufig geschwollen und vakuolisiert. Sie waren sogar weniger dicht angeordnet, als man es sonst aus Untersuchungen von Gewebeproben von weißer Substanz mit dem Bild spongiformer Degenerationen kennt. Dies war begleitet von einer astrozytären Hyperplasie. Vor allem in den periventrikulären Arealen wurden perivaskulär angeordnete makrophagenartige Zellen gefunden (*Tabelle 12*). Die Oligodendrozyten der betroffenen weißen Substanz ließen lichtmikroskopisch keine Strukturabnormalitäten erkennen.

Zwei Tiere der Sepsisgruppe wiesen eine Abschuppung der Ependymzellen und ein periventrikuläres Ödem auf. In der grauen Substanz ließen sich Schwellungen der Astrozyten beobachten. Die Hirngefäße sowohl in der grauen wie in der weißen Substanz zeigten eine starke Hyperämie. Bei der Mehrzahl der Tiere fand sich eine perikapilläre Enzephalorrhagie bzw. Gehirnpurpura (*Tabelle 13*).

In manchen Gewebeschnitten sah man rund um die Hirngefäße dicht nebeneinander angeordnete polymorphkernige neutrophile Granulozyten. In dem Gehirn eines Tieres fand man Mikroabszesse (*Tabelle 12, Tier Nr. 11*).

Tabelle 11: Zytotoxisches Ödem und Zellschäden

		Versuchstier [Nr.]								
Struktur	Pathologie	2	4	7	9	10	11	16	19	20
Neuronen (grau)	Schwellung	+	++	++	+++	++	+++	++	++	++
	Eosinophilie	-	-	++	+++	-	+++	-	+	+
Astrozyten (grau)	Schwellung	-	++	-	-	+++	-	-	++	+
Axone (weiß)	Schwellung	-	-	+	++	-	++	-	-	+
Ependymzellen	Abschuppung	+++	-	-	-	-	-	-	++	-
Purkinje Zellen	Schwellung	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Eosinophilie	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Score		4	4	5	8	5	8	2	7	5

(-) = keine geschädigten Zellen bei starker Vergrößerung (x440); (+) = weniger als 5 geschädigte Zellen bei starker Vergrößerung (x440); (++) = 5 – 10 geschädigte Zellen bei starker Vergrößerung (x440); (+++) = mehr als 10 geschädigte Zellen bei starker Vergrößerung (x440). In den Gehirnen der Kontrolltiere konnten weder ein zytotoxisches Ödem, noch sonstige Zellschäden nachgewiesen werden.

Der Score (erreichbarer Maximalwert: 21) dieser Befunde (Median [25. Perzentil; 75. Perzentil]) betrug in der Sepsisgruppe 5 [4;7], versus 0[0;0] in der Kontrollgruppe (P < 0.05). [7]

Tabelle 12: Entzündungszeichen

Struktur	Versuchstier [Nr.]								
	2	4	7	9	10	11	16	19	20
Cerebrum, Substantia grisea	+	-	-	++	++	++	-	-	++
Cerebrum, Substantia alba	++	-	-	-	++	+++	-	-	+
Mesencephalon, periventrikulär	-	+	-	++	++	-	-	+	-
Cerebellum, Substantia grisea	+	-	-	++	++	++	-	-	++
Cerebellum, Substantia alba	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Hirnstamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meningeale Strukturen	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Score	5	1	0	6	9	8	0	1	7

Keine Entzündungszeichen (-); Makrophageninfiltration(+); Nachweis polymorphkerniger Zellen oder aktivierte Mikroglia (++); Mikroabszesse (+++).

In den Gehirnen der Kontrolltiere fanden sich keine Entzündungszeichen. Der histopathologische Schadensscore (erreichbarer Maximalwert: 21) (Median [25. Perzentil; 75. Perzentil]) betrug 5 in der Sepsisgruppe [1; 7] versus 0 in der Kontrollgruppe [0; 0] (P < 0,05). [7]

Tabelle 13: Cerebrale Hyperämie und Hämorrhagie

Struktur	Versuchstier [Nr.]								
	2	4	7	9	10	11	16	19	20
Cerebrum, Substantia grisea	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Cerebrum, Substantia alba	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Mesencephalon, periventriculär	-	+++	++	-	-	-	-	-	-
Cerebellum, Substantia grisea	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Cerebellum, Substantia alba	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Hirnstamm	-	+++	+++	+++	-	-	+++	-	+++
Meningeale Strukturen	-	-	+	-	-	-	+	-	++
Score	4	10	10	7	0	0	8	0	5

Keine Pathologie (-); Hyperämie cerebraler Gefäße (+); diapedetische Blutungen (++); fokale Hämorrhagie (+++).

In den Gehirnen der Kontrolltiere fanden sich keine Entzündungszeichen. Der histopathologische Schadensscore (möglicher Maximalwert: 21) (Median [25. Perzentil; 75. Perzentil]) betrug 5 in der Sepsisgruppe [0; 9] versus 0 in der Kontrollgruppe [0; 2] (P < 0,05). [7]

5. DISKUSSION

Die Mehrzahl der tierexperimentellen Sepsisstudien werden als Akutmodelle an jungen, völlig gesunden Tieren durchgeführt. Die klinische Population hingegen besteht zu einem hohen Prozentanteil aus alten Menschen mit einer Vielzahl an Vorerkrankungen, die den Verlauf der Sepsis erschweren (z.B. Diabetes mellitus, KHK, Arteriosklerose, Niereninsuffizienz, Immunsuppression, Malignome).

Eine gängige Methode der Akutmodelle ist die Bolusinfusion von Endotoxin oder Bakterien – hierbei entwickeln die Tiere innerhalb kurzer Zeit eine hypodynamische Kreislaufreaktion und versterben dann im refraktären Schock, noch ehe sich die für die Sepsis typischen Organschäden voll ausbilden können [19, 25]. Für diese Modelle findet sich im klinischen Alltag kaum ein relevantes Korrelat. In der intensivmedizinischen Realität entwickelt sich die Sepsis meist protrahiert, in einem durch Trauma, Vorerkrankungen oder schwere operative Eingriffe bereits deutlich kompromittierten Organismus, der typischerweise mit hyperdynamischer Kreislaufreaktion antwortet [19].

Ziel unserer Studie war die Etablierung eines tierexperimentellen Modells am Schwein zur Untersuchung des sepsisinduzierten Gehirnschadens.

Die septische Enzephalopathie stellt ein Krankheitsbild dar, das durch Akutmodelle nicht erfassbar ist. Wir waren somit darauf angewiesen, die Erkrankung protrahiert zu entwickeln und sie über einen ausreichend langen Zeitraum zu beobachten.

Unter den verschiedenen Methoden der Sepsisinduktion ist die Ligatur und anschließende Punktion des Zökums eine der geläufigsten Vorgehensweisen. Meiner Ansicht nach impliziert diese Methode gerade bei kleinen Fallzahlen ein hohes Maß an Variabilität bezüglich des zeitlichen Verlaufs, des Schweregrades der hervorgerufenen Erkrankung und nicht zuletzt auch der infektiologisch zugrundeliegenden Mikroorganismen, denn es kommt zwangsläufig zu einer Mischinfektion mit einer unbekanntem Zahl individuell unterschiedlicher Keime. Viele der deletären Auswirkungen bakterieller Infektionen, die schließlich zu Organversagen führen, sind nicht auf eine Monokausalität reduzierbar, sondern nur aus dem Zusammenspiel verschiedener Toxine und Zytokine erklärbar. Um Studien

mit aussagekräftigen Ergebnissen zu erreichen, ist man darauf angewiesen die Variabilität der äußeren Bedingungen möglichst gering zu halten.

Aus diesen Überlegungen heraus entschlossen wir uns für die Infusion genetisch genau definierter, lebender Bakterien in die Portalvene, um auf diese Weise die Auswirkungen einer abdominellen Sepsis zu simulieren und möglichst reproduzierbare Bedingungen zu schaffen.

Alle Tiere der Sepsisgruppe entwickelten als Folge der Bakterieninfusionen Symptome, die in Übereinstimmung mit der Konsensus Konferenz des American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine [1] die Definition einer schweren Sepsis erfüllten. So stieg die Körpertemperatur auf über 38°C, die Schweine entwickelten Tachykardien, die deutlich über 90 Schläge/min lagen und die Leukozytenanzahl veränderte sich entweder durch Anstieg auf Werte über 12000/mm³ oder durch Abfall unter 4000/mm³.

Der cardiac output stieg an, während der periphere Gefäßwiderstand abnahm, woraufhin alle septischen Schweine Noradrenalin benötigten, um den MAP auf 70 mmHg zu halten.

Das bei gram-negativer Sepsis häufig auftretende respiratorische Versagen [14] ließ sich ausnahmslos bei allen Tieren aus der Sepsisgruppe beobachten. Außerdem kündigte sich der deletäre septische Verlauf durch einen kontinuierlichen Anstieg von IL-6 an – einem zuverlässigen Marker für die Aktivierung der Zytokinkaskade [5, 15, 16, 30, 43].

Eine tragende Rolle in der Vermittlung der septischen Organschäden spielen proinflammatorische Zytokine [5]. Nach initialer Aktivierung des unspezifischen Immunsystems zum Beispiel durch Endotoxine oder Lipopolysaccharide gram-negativer Bakterien kommt es zu einer exzessiven Expression von Zytokinen. Zu den typischen Vertretern proinflammatorischer Zytokine zählen TNF- α und IL-6. Das Nettoüberwiegen proinflammatorischer Mediatoren kann direkt zur Auslösung des apoptotischen Zelltods oder mittelbar über die Entwicklung einer endothelialen Dysfunktion zur Entstehung von Mikrozirkulationsstörungen und Gewebeschäden führen [3, 5, 18]. Für TNF- α ließ sich beispielsweise nachweisen, dass es über ein

Transportsystem aktiv in das ZNS aufgenommen wird, um dort seine Wirkung zu entfalten [50].

Die Gehirne der septischen Schweine boten in der Histologie ein gemischtes Bild pathologischer Veränderungen: Man sah vollkommen intakte Neurone in unmittelbarer Nachbarschaft zu Neuronen, die Zeichen des Zelltodes oder unterschiedlichste Stadien der Zellschädigung aufwiesen. Dieses Nebeneinander unterschiedlichster Schädigungsstadien und gesunder Zellen ist ein Hinweis auf einen dynamisch fortschreitenden Prozess der Nervenzellläsion. Aus post mortem Untersuchungen an Patienten mit septischer Enzephalopathie kennt man dieses Bild histologischer Veränderungen vor allem als Folge einer gram-negativen Sepsis [31, 34, 77].

Der Anteil an irreversibel geschädigten Neuronen mit Karyolyse, Pyknosis, zytoplasmatischer Eosinophilie, Strukturverlust und Fragmentation bestätigt das Vorliegen einer schweren cerebralen Schädigung.

Für die zelluläre Gehirnschädigung in der Sepsis können verschiedene Ursachen verantwortlich gemacht werden: Ischämie oder Hypoxie [12, 71], aber auch äußere Stimuli wie Hyperthermie [44], toxische Faktoren wie TNF- α [4, 67], oder eine direkte Infektion des Gehirns [34, 52].

Systemische Hypoxie ist in unserem Modell ausschließbar, da der arterielle Sauerstoffpartialdruck (paO_2) während des gesamten Experiments über 100 mmHg lag. Obwohl der arterielle Sauerstoffgehalt (CaO_2) im Verlauf der Untersuchung aufgrund einer Abnahme des Hämoglobin-Wertes durch die wiederholten Blutabnahmen sank, gab es zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied.

Untersuchungen weisen darauf hin, dass die cerebrovaskuläre Reaktivität auf CO_2 in der Sepsis erhalten bleibt [57]. Die Tiere waren für die Dauer des gesamten Versuchszeitraumes normoventiliert, so dass eine Veränderung des cerebralen Blutflusses aufgrund von Schwankungen des arteriellen pCO_2 ausgeschlossen ist.

Ischämie als Ausdruck einer Abnahme der cerebralen Gesamtperfusion ist ebenso unwahrscheinlich. Bei den septischen Tieren zeigte sich eine Abnahme des cerebralen Perfusionsdruckes in Folge einer Zunahme des SSP bei konstantem MAP. Eine Abnahme des cerebralen Gesamtblutflusses müsste parallel zu einer Abnahme des Anteils an oxygeniertem Hämoglobin im Sinus sagittalis führen. Unter

der Annahme eines konstanten cerebralen Metabolismus wäre in einer solchen Situation die Sauerstoffextraktionsrate kompensatorisch gesteigert, was sich an einer Zunahme der Differenz zwischen arteriellem Sauerstoffgehalt und dem Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis ablesen ließe. Nichts dergleichen konnten wir feststellen. In der Sepsisgruppe nahm der Anteil an oxygeniertem Hämoglobin im Sinus sagittalis, bei gleichzeitiger Abnahme der Differenz zwischen arteriellem Sauerstoffgehalt und dem Sauerstoffgehalt im Sinus sagittalis zu, woraus man auf eine adäquate Perfusion schließen kann.

Um den MAP auf 70 mmHg zu halten, kam als Vasopressor der Wahl der α_1 -Agonist Noradrenalin zum Einsatz, da er im Endotoxinschock keinen Einfluss auf den cerebralen Blutfluss hat [13]. Selbst nach Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke ist unter Noradrenalinzufuhr über die Zunahme des cerebralen Blutflusses berichtet worden – dabei mögen Regionen mit unzureichender Sauerstoffversorgung vorhanden gewesen sein [42].

Einige Untersuchungen lassen darauf schließen, dass die IL-6 Konzentration während ischämischer Gehirnschädigung zunimmt und es außerdem neuroprotektive Eigenschaften zu haben scheint – Ursprung und Wirkungsweise bleiben jedoch weiterhin unklar [41, 53].

Die konstant erhöhten IL-6 Spiegel im Liquor unserer septischen Tiere könnten Ausdruck eines schweren zellulären Schadens durch lokale Ischämie sein. Die Purkinjzellschicht des Kleinhirns beim Schwein ist erwiesenermaßen diejenige Struktur, welche bei dieser Spezies auf Sauerstoffmangel am empfindlichsten reagiert und durch Ischämie am meisten in Mitleidenschaft gezogen wird [26].

Da sich die Purkinjzellen bei unserer Untersuchung als intakt erwiesen, schließen wir daraus, dass die bei unseren septischen Schweinen aufgetretene Schädigung des Gehirns weder aus Ischämie noch aus Hypoxie resultierte.

Ein Anstieg der Gehirntemperatur über 44°C kann bekanntermaßen Zellnekrosen induzieren [44]. Wir haben während des gesamten Untersuchungszeitraumes zu keinem Zeitpunkt irgendwelche fiebersenkende Maßnahmen ergriffen. Lediglich ein einziges Tier entwickelte Körpertemperaturen von 42°C. Obwohl eine milde Hypothermie allgemein als neuroprotektiv angesehen wird [46], gibt es zu der Frage, ob eine milde Hyperthermie unter 44°C eine additive Noxe darstellt, keine Daten. Es

ist unserer Auffassung nach mehr als unwahrscheinlich, dass die aufgetretenen zellulären Schäden des Gehirns allein durch eine Hyperthermie (<42°C) verursacht worden sein könnten.

TNF- α spielt bei Infektionskrankheiten als einer der wichtigsten proinflammatorischen Mediatoren eine herausragende Rolle. An Mäusen ließ sich nachweisen, dass intrazerebral vorkommendes TNF- α entscheidend an der Entstehung der septischen Enzephalopathie beteiligt ist und innerhalb weniger Tage zum Tod führt [67]. Im ZNS ist für TNF- α sowohl ein aktives Transportsystem [50] wie auch die passive Diffusion [33] nachgewiesen worden. Des Weiteren lässt sich durch Bakteriämie die TNF- α Produktion durch Astrozyten und Mikroglia induzieren [49, 54].

Unabhängig vom Ursprung waren in unserer Studie im Liquor der septischen Tiere hohe TNF- α Spiegel messbar. Obwohl wir noch nicht in der Lage sind, den Pathomechanismus der TNF- α induzierten Zellschädigung komplett zu erklären, gibt es doch Untersuchungen, die einige seiner Wirkungsweisen aufzeigen konnten. So führt TNF- α zu einer Abnahme der cerebralen Sauerstoffaufnahme, sowie zu einer Erhöhung des intracraniellen Druckes [69], außerdem zu einer diffusen intravaskulären Koagulopathie und zu einer Zunahme der kapillären Permeabilität, was schließlich in ein Hirnödem mündet [20, 55, 68].

Unter „Hirnödem“ ist per Definition eine Zunahme des Gehirnvolumens aufgrund einer Zunahme des Wassergehaltes im Gewebe [27] zu verstehen. In dieser Definition wird nicht zwischen intra- oder extrazellulärer Lokalisation der Flüssigkeit differenziert. Die im klinischen Alltag am häufigsten angetroffene Form des Hirnödems ist meist vasogen. Dabei führt eine insuffiziente Blut-Hirn-Schranke zur Extravasation von ödematöser Flüssigkeit in den extrazellulären Raum, die in ihrer Zusammensetzung dem Plasma ähnlich ist. Das Ödem findet sich dabei vor allem in der weißen Substanz. In der gesamten Population der septischen Schweine unseres Modells fand sich in den histologischen Gewebeproben ein interstitielles Ödem mit beginnender spongiformer Degeneration der weißen Substanz.

Zusätzlich ließ sich in den Hirnpräparaten der septischen Tiere ein zytotoxisches Ödem beobachten. Als morphologisches Korrelat sah man eine hydrophische Schwellung des Zytoplasmas von Astrozyten und Neuronen. Im vorliegenden Modell entwickelten die septischen Tiere ohne Ausnahme ein zytotoxisches Ödem und

wiesen gleichzeitig erhöhte Liquorspiegel des hochwirksamen, neurotoxischen Agens TNF- α [11, 59] auf.

In elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Gehirnen verstorbener Sepsispatienten lassen sich perivaskuläre Ödeme und neuronale Schäden erkennen, so dass davon ausgegangen werden muss, dass im Falle des Überlebens eine Defektheilung mit bleibenden Schäden droht. [72].

Eine weitere Möglichkeit der cerebralen Schädigung des Gehirns in der Sepsis ist schließlich die direkte Infektion des ZNS. Dies kann im vorliegenden Modell bis auf eine Ausnahme ausgeschlossen werden. Lediglich im Gehirn eines Tieres wurden Mikroabszesse gefunden, welche zwingend auf eine direkte Infektion des Gehirns verweisen, damit aber nicht mit der allgemein gebräuchlichen Definition der septischen Enzephalopathie übereinstimmen [47]. An verstorbenen Patienten mit septischer Enzephalopathie sind Mikroabszesse des Gehirns dennoch ein gelegentlich vorkommender Autopsiebefund [34, 51].

Die Instrumentation und die anschließende Intensivtherapie können allein für sich schon zu einer Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes führen, eventuell auch zu einer Reaktion im Sinne eines SIRS (*Tabelle 1*). Trotzdem konnten in der Kontrollgruppe weder eine Störung der Vitalparameter noch Entzündungszeichen und auch keine pathologischen Veränderungen in den histologischen Präparaten nachgewiesen werden. In Übereinstimmung mit dem Versuchsprotokoll wurden der MAP und der Blutzuckerspiegel konstant gehalten. Somit lässt sich mit größter Sicherheit ausschließen, dass sich die aufgetretenen pathologischen Veränderungen des Gehirns als Folge von Dehydratation, Hypoglykämie oder Hypotension interpretieren lassen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Sepsis ist eine kostenintensive Erkrankung von zunehmender Inzidenz und schlechter Prognose. Ungefähr ein Viertel der Patienten entwickelt eine septische Enzephalopathie, deren Schweregrad mit der Letalität korreliert. Überlebende können langfristige neuropsychologische Defizite davontragen, die ihre Reintegration in den Alltag und Arbeitsprozess erschweren. Möglichkeiten zur spezifischen Therapie der septischen Enzephalopathie fehlen bislang.

Anhand eines chronischen Schweinemodells sollte die Entwicklung von zerebralen Veränderungen, wie man sie typischerweise bei der septischen Enzephalopathie vorfindet, dargestellt werden. Durch wiederholte Infusion eines genetisch definierten *Escherichia coli* Stamms in die Pfortader wurde die protrahierte Entwicklung einer vom Abdomen ausgehenden Sepsis simuliert. Die Perfusionsverhältnisse des Gehirns und der Blutzuckerspiegel wurden konstant gehalten um sicherzustellen, dass die pathologischen Veränderungen nicht als Folge von Dehydratation, Hypoglykämie oder Hypotension auftraten.

Zur statistischen Auswertung gelangten die Daten von neun septischen Tieren und sieben Kontrolltieren. Alle Schweine der Sepsisgruppe entwickelten in Übereinstimmung mit international gültigen Kriterien eine Sepsis. Parallel zum Anstieg von Interleukin-6 und TNF- α im Serum stiegen die Spiegel dieser Mediatoren im Liquor auf vergleichbare Niveaus an. In den histopathologischen Untersuchungen wiesen die Gehirne aller Sepsistiere neuronale Schädigungen in den corticalen Gewebeproben des Großhirns auf. Im cerebellären Cortex – insbesondere in der Purkinjzellschicht – konnten wir keine krankhaften Veränderungen nachweisen. Die Purkinjzellen des Kleinhirns am Schwein reagieren besonders empfindlich auf Hypoxie. Da diese intakt blieben, schlossen wir Ischämie und systemische Hypoxie als schädigendes Agens aus.

Schlussfolgernd stelle ich fest, dass die histopathologischen Veränderungen in den Gehirnen der Versuchstiere bei gleichzeitig erhöhten Zytokinspiegel das morphologische Substrat einer septischen Enzephalopathie darstellen. Die vorliegende Versuchsanordnung kann als Modell zu weiteren Untersuchungen über die Entstehung der septischen Enzephalopathie und der Evaluation von in der Zukunft noch zu entwickelnden Therapieoptionen dienen.

7. Bibliographie

1. Members of the American College of chest Phycicans / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: American College of chest Phycicans / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 20 (1992): 864-874
2. Angus D.C., Linde-Zwirbel W.T., Lidicker J., Clermont G., Carcillo J., Pinsky M.R.
Epidemiology of severe Sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 29 (2001): 1303-10
3. Bauer M.
Pathophysiologie der Sepsis. Anaesthesist 45 (1996): 312-322
4. Beutler B., Grau G.E.
Tumor necrosis factor in the pathogenesis of infectious diseases.
Crit Care Med 21 (1993): S 423-35
5. Blackwell T.S., Christman J.W.
Sepsis and cytokines: current status. Br J Anesth 77 (1996): 110-117
6. Bleck T.P., Smith M.C., Pierre Louis S.J., Jares J.J., Murray J., Hansen C.A.
Neurologic complications of critical medical illness.
Crit Care Med 21 (1993): 98-103
7. Bogdanski R., Blobner M., Becker I., Hänel F., Fink H., Kochs E.
Cerebral histopathology following portal venous infusion of bacteria in a chronic porcine model. Anesthesiology 93 (2000): 793-804

8. Bolanos J.P., Almeida A., Stewart V., Peuchen S., Land J.M., Clark J.B., Heales S.J.
Nitric oxide mediated mitochondrial damage in the brain: mechanisms and implications of neurodegenerative diseases. *J Neurochem* 68 (1997): 2227-40
9. Bolton C.F.
Neuromuscular complications of sepsis. *Intensive Care Med* 19 (1993): S58-63
10. Bolton C.F., Young G.B., Zochodne D.W.
The neurological complications of sepsis. *Ann Neurol* 33 (1993): 94-100
11. Botchkina G.I., Geimonen E., Bilof M.L., Villareal O., Tracey K.J.
Loss of NF-kappaB activity during cerebral ischemia and TNF cytotoxicity. *Mol Med* 5 (1999): 372-81
12. Bowton D.L., Bertels N.H., Prough D.S., Stump D.A.
Cerebral blood flow is reduced in patients with sepsis syndrome. *Crit Care Med* 17 (1989): 399-403
13. Breslow M.J., Miller C.F., Parker S.D., Walman A.T., Traystmann R.J.
Effect of vasopressor on organ blood flow during endotoxin shock in pigs. *Am J Physiol* 252 (1987): H 291-300
14. Brigham K.L., Meyrick B.
Endotoxin and lung injury. *Am Rev Respir Dis* 133 (1986): 913-27
15. Damas P., Ledoux D., Nys M., Vrindts Y., de Groote D., Frachimont P., Lamy M.
Cytokine serum level during severe sepsis in human, IL-6 as a marker of severity. *Ann Surg* 215 (1992): 356-62

16. Damas P., Canivet J.L., de Groote D., Vrindts Y., Albert A., Franchimont P., Lamy M.
Sepsis and serum cytokine concentrations. *Crit Care Med* 25 (1997): 405-12
17. Davies D.C.
Blood-brain barrier breakdown in septic encephalopathy: and brain tumors.
J Anat 200 (2002): 639-46
18. Dawson T.M., Dawson V.L.
ADP-ribosylation as a mechanism for the action of nitric oxide in the nervous system. *New Horizons* 3 (1995): 85-92
19. Deitch E.A.
Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned.
Shock 9 (1998): 1-11
20. Duchini A., Govindarajan S., Santucci M., Zampi G., Hofman F.M.
Effects of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 on fluid-phase permeability and ammonia diffusion in CNS-derived endothelial cells.
J Investig Med 44 (1996): 474-82
21. Eggers V., Schilling A., Kox W.J., Spies C.
Septische Enzephalopathie. *Anaesthesist* 52 (2003): 294-303
22. Eidelmann L.A., Puttermann D., Puttermann C., Sprung C.L.
The spectrum of septic encephalopathy. Definitions, Etiologies, and mortalities. *JAMA* 275 (1996): 470-473
23. Ekstrom-Jodal B., Haggendal E., Larsson L.E.
Cerebral blood flow and oxygen uptake in endotoxic shock: An experimental study in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 26 (1982): 163-70

24. Ekstrom-Jodal B., Elfverson J., Larsson L.E.
Early effects of E. coli endotoxin on superior sagittal sinus blood flow. An experimental study in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 26 (1982): 171-4
25. Esmon C.T.
Why do animal models (sometimes) fail to mimic human sepsis?
Crit Care Med 32 (2004): S219-22
26. Fessatidis I.T., Thomas V.L., Shore D.F., Thomas V.L., Shore D.F, Sedgwick M.E. Hunt R.H., Weller R.O.
Brain damage after profoundly hypothermic circulatory arrest: Correlations between neurophysiologic and neuropathologic findings. An experimental study in vertebrates. *J Thorac Cardiovasc Surg* 106 (1993): 32-41
27. Fishman R.A.
Brain edema. *N Engl J Med* 293 (1975):706-11
28. Freund H.R., Muggia Sullam M., Peiser J., Melamed E.
Brain neurotransmitter profile is deranged during sepsis and septic encephalopathy in the rat. *J Surg Res* 38 (1985): 267-71
29. Freund H.R., Muggia-Sullam M., LaFrance R., Holroyde J., Fischer J.E.
Regional brain amino acid and neurotransmitter derangements during abdominal sepsis and septic encephalopathy in the rat.
Arch Surg 121 (1986): 209-216
30. Fossum C., Wattrang E., Fuxler L., Jensen K.T., Wallgren P.
Evaluation of various cytokines (IL-6, IFN-alpha, IFN-gamma, TNF-alpha) as markers for acute bacterial infection in swine – a possible role for serum interleukin-6. *Vet Immunol Immunopathol* 64 (1998): 161-72

31. Graham D.I., Behan P.O., More I.A.R.
Brain damage complicating septic shock: acute haemorrhagic leucencephalitis as a complication of the generalized Shwartzman reaction.
J Neurol Neurosurg Psychiatry 42 (1979): 19-28
32. Green R., Scott L.K., Minagar A., Conrad S.
Sepsis associated encephalopathy (SAE): a review.
Front Biosci. 1 (2004): 1637-41
33. Gutierrez E.G., Banks W.A., Kastin A.J.
Murin tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse. J Neuroimmunol 47 (1993): 169-76
34. Jackson A.C., Gilbert J.J., Young G.B., Bolton C.F.
The encephalopathy of sepsis. Can J Neurol Sci 12 (1985): 303-7
35. Kapfhammer H.P., Rothenhausler H.B., Krauseneck T., Stoll C., Schelling G.
Posttraumatic stress disorder and health-related quality of life in long-term survivors of acute respiratory distress syndrome.
Am J Psychiatry. 161 (2004): 45-52
36. Keilhoff G., Stastny F., Schmidt W.
Quinolate neurotoxicity and glutamatergic structures.
Neuroscience 34 (1990): 235-242
37. Keilhoff G., Wolf G.
Memantine prevents quinolinic acid-induced hippocampal damage.
Eur J Pharmacol 219 (1992): 451-454
38. Krueger J.M., Walter J., Dinarello C.A., Wolff S.M., Chedid L.
Sleep-promoting effects of endogenous pyrogen (Interleukin-1).
Am J Physiol 246 (1984): R994-9

39. Kunze K.
Metabolic encephalopathies. *J Neurol* 249 (2002): 1150-9
40. Larsen R., Bauer M.
Sepsistherapie – Fakten und Mythen
Anaesthesist 52 (2003), Supplement 1: 3
41. Loddick S.A., Turnbull A.V.; Rothwell N.J.
Cerebral Interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 18 (1998): 176-9
42. MacKenzie E.T., McCulloch J., O’Kean M., Pickard J.D., Harper A.M.
Cerebral circulation and norepinephrine: Relevance of blood-brain barrier.
Am J Physiol 231 (1976): 483-8
43. Martin C., Boisson C., Haccoun M., Thomachot L., Mege J.L.
Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma.
Crit Care Med 25 (1997): 1813-9
44. Matsumi N., Matsumoto K., Mishima N., Moriyama E., Furuta T., Nishimoto A., Taguchi K.
Thermal damage threshold of brain tissue – histological study of heated normal monkey brains. *Neurol Med Chir* 34 (1994): 209-15
45. Von Meyenfeldt M.F., Soeters P.B., Vente J.P.
Effect of branched chain amino acid enrichment of total parenteral nutrition on nitrogen sparing and clinical outcome in sepsis and trauma: a prospective randomized double blind trial. *Br J Surg* 77 (1990): 924-929
46. Milde L.N.
Clinical use of mild hypothermia for brain protection: A dream revisited.
J Neurosurg Anesthesiol 4 (1992): 211-5

47. Mizock B.A., Sabelli H.C. Dubin A., Javaid J.I., Poulos A., Rackow E.C.
Septic encephalopathy. Evidence for altered phenylalanine metabolism and comparison with hepatic encephalopathy. Arch Intern Med 150 (1990): 443-9
48. Moerer O., Schmid A., Hofmann M., Herklotz A., Reinhart K., Werdan K., Schneider H., Burchardi H.
Direct costs of severe Sepsis in three German intensive care units based on retrospective electronic patient record analysis of resource use. Intensive Care Med 28 (2002): 1440-6
49. Müller N.
Rolle des Zytokinnetzwerks im ZNS und psychische Störungen. Nervenarzt 68 (1997): 11-20
50. Pan W., Banks W.A., Kastin A.J.
Permeability of the blood-brain and blood-spinal cord barriers to interferons. J Neuroimmunol 76 (1997): 105-11
51. Papadopoulos M.C., Davies M.C., Moss R.F., Tighe D., Bennett E.D.
Pathophysiology of septic encephalopathy. Crit Care Med 28 (2000): 3019-24
52. Pendlebury W.W., Perl D.P., Munoz D.G.
Multiple microabscesses in the central nervous system: a clinopathologic study. J Neuropathol Exp Neurol 48 (1989): 290-300
53. Penkowa M., Moos T., Carrasco J., Hadberg H., Molinero A., Bluthman H., Hidalgo J.
Strongly compromised inflammatory response to brain injury in interleukin-6-deficient mice. Glia 25 (1999): 343-57

54. Pitossi F., del Rey A., Kabiersch A., Besedovsky H.
Induction of cytokine transcription in the central nervous system and pituitary following peripheral administration of endotoxin to mice.
J Neurosci Res 48 (1997): 287-98
55. Rabinovici R., Yue T.L., Vernick J., Feuerstein G.
PAF and TNF alpha interactions in the pathophysiology of septic shock.
Adv Exp Med Biol 314 (1991): 193-203
56. Sakka S.G., Hüttemann E.
Generalisierter Krampfanfall als mögliches Zeichen einer septischen Enzephalopathie nach transrektaler Prostatabiopsie. Anaesthesist 52 (2003): 707-10
57. Sari A., Yamashita S., Ohosita S., Ogasahara H., Yamada K., Yonei A., Yokota K.
Cerebrovascular reactivity to CO₂ in patients with hepatic or septic encephalopathy. Resuscitation 19 (1990): 125-134
58. Schelling G., Briegel J., Roozendaal B., Stoll C., Rothenhausler H.B., Kapfhammer H.P.
The Effect of stress doses of hydrocortisone during septic shock on posttraumatic stress disorder in survivors. Biol Psychiatry 50 (2001): 978-85
59. Schubert P., Ogata T., Miyazaki H., Marchini C., Ferroni S., Rudolphi K.
Pathological immuno-reactions of glial cells in Alzheimer's disease and possible sites of interference. J Neural Transm Suppl 54(1998): 167-74
60. Schwarz S., Schwab S., Keller E., Bertram M., Hacke W.
Neurogenic disorders of heart and lung function in acute cerebral lesions.
Nervenarzt 68 (1997): 956-962

61. Soejima Y., Fujii Y., Ishikawa T., Takeshita H., Maekawa T.
Local cerebral glucose utilization in septic rats. *Crit Care Med* 18 (1990): 423-7
62. Sprung C.L., Peduzzi P.N., Shatney C.H., Schein R.M., Wilson M.F.,
Sheagren J.N., Hinshaw L.B.
Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome: The Veterans
Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *Crit Care Med* 18
(1990): 801-6
63. Sprung C.L., Cerra F.B., Freund H.R., Schein R.M., Konstantinides F.N.,
Marcial E.H., Pena M.
Amino acid alterations and encephalopathy in the sepsis syndrome. *Crit Care
Med* 19 (1991): 753-757
64. Stone T.W.
Neuropharmacology of quinilic and kynurenic acids. *Pharmacol Rev* 45 (1993):
309-79
65. Stone R.
Search for Sepsis drugs goes on despite past failures. *Science* 264 (1994):
365-7
66. Thiernemann C., McDonald M.C., Cuzzocrea S.
The stable nitroxide, tempol, attenuates the effect of peroxynitrite and oxygen-
derived free radicals. *Crit Care Med* 29 (2001): 223-224
67. Tracey K.J., Morgello S., Koblin B., Fahey T.J.D, Fox J., Aledo A., Manogue
K.R., Cerami A.
Metabolic effects of cachectin/ tumor necrosis factor are modified by site of
production: Cachectin/ tumor necrosis factor-secreting tumor in skeletal
muscle induces chronic cachexia, while implantation in brain induces
predominantly acute anorexia. *J Clin Invest* 86 (1990): 2014-24

68. Tracey K.J., Cerami A.

Tumor necrosis factor and regulation of metabolism in infection: role of systemic versus tissue levels. *Proc Soc Exp Biol Med* 200 (1992): 233-9

69. Tureen J.

Effect of recombinant human tumor necrosis factor-alpha on cerebral oxygen uptake, cerebrospinal fluid lactate, and cerebral blood flow in the rabbit: Role of nitric oxide. *J Clin Invest* 95 (1995): 1086-91

70. Wenzel R.P.

Treating sepsis. *N Engl J Med* 347 (2002): 966-7

71. Wijdicks E.F., Stevens M.

The role of hypotension in septic encephalopathy following surgical procedures. *Arch Neurol* 49 (1992): 653-6

72. Wilson J.X., Young G.B.

Progress in clinical neuroscience: sepsis-associated encephalopathy: evolving concepts. *Can. J. Neurol. Sci* 30 (2003): 98-105

73. Young G.B., Bolton C.F., Austin T.W., Archibald Y.M., Gonder J., Wells G.A.

The encephalopathy associated with septic illness. *Clin Invest Med*; 13 (1990): 297-304

74. Young G.B., Kreeft J.H., McLachlan R.S., Demelo J.

EEG and clinical associations with mortality in comatose patients in a general intensive care unit. *J Clin Neurophysiol* 16 (1999): 354-60

75. Young G.B., Bolton C.F., Archibald Y.M., Austin T.W., Wells G.A.

The electroencephalogram in sepsis-associated encephalopathy. *J Clin Neurophysiol* 9 (1992):145-52

76. Zauner C., Gendo A., Kramer L., Kranz A., Grimm G., Madl C.

Metabolic encephalopathy in critically ill patients suffering from septic and non-septic multiple organ failure. Crit Care Med 28 (2000): 1310-15

77. Zarkovic K., Zarkovic N., Schlag G., Redl H., Waeg G.

Histological aspects of sepsis induced brain changes in a baboon model, Shock Sepsis and Organ Failure. Edited by Schlag G, Redl H, Traber D. Springer-Verlag, Berlin, (1996), 146-64

DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich Herrn Univ. Prof. Dr. med. Eberhard Kochs, dem Direktor der Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München am Klinikum Rechts der Isar danken, an dessen Klinik ich die Möglichkeit erhielt diese Promotionsarbeit zu erstellen.

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Manfred Blobner danke ich für die Möglichkeit der Teilnahme an diesem Projekt und für die Überlassung des Themas.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. med. Ralph Bogdanski, ohne dessen geduldige Unterstützung und Hilfsbereitschaft diese Arbeit niemals möglich gewesen wäre.

Ein spezieller Dank geht an Frau PD Dr. med. Ingrid Becker vom Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung und Beurteilung der histologischen Präparate.

Meinen Mitdoktoranden Herrn Andreas Böger, Herrn Christian Eichhorn, Frau Susanne Matburger, Frau Alexandra Perleth, Frau Claudia Siebel und Herrn Thorsten Slatosch danke ich für die gute und kollegiale Zusammenarbeit bei unseren Versuchen.

LEBENS LAUF

Angaben zur Person

Name: Javier del Valle
Wohnort: Menterstr. 60
81247 München
mobil (176) 96600911
e-mail: javier.delvalle@gmx.de
Geburt: 13.02.1970 in München
Familienstand: verheiratet, 1 Kind
Nationalität: deutsch
Fremdsprachen: Spanisch (zweite Muttersprache), Englisch, Französisch

Schulbildung

09/1976 – 07/1980 Grundschule in München
09/1980 – 06/1989 Gisela-Gymnasium, München
24.06.1989 Abitur

Freiwilliges Soziales Jahr

10/1992 – 05/1993 Privatklinik Josephinum, München

Studium

11/1989 – 11/1991 Studium der Kommunikationswissenschaft
Nebenfächer: Psychologie und Romanische
Philologie/ Französisch

04/1993 – 03/1995 Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians Universität in
München

03/1995 Physikum

03/1995 – 05/2000 Studium der Medizin an der Technischen Universität in
München

04/1996 1. Staatsexamen

09/1998 2. Staatsexamen

05/2000 3. Staatsexamen

Berufstätigkeit:

07/2000 – 12/2001: Arzt im Praktikum an der Abteilung für Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin des Städtischen Krankenhauses
München Bogenhausen

01/2002 – 8/2005: Assistenzarzt an der Abteilung für Anästhesiologie und operative
Intensivmedizin des Städtischen Krankenhauses München
Bogenhausen

Seit 9/2005: Assistenzarzt an der Abteilung für Anästhesiologie und operative
Intensivmedizin des Städtischen Krankenhauses München
Schwabing

03/2007 Facharzt für Anästhesiologie

05/2007 D.E.S.A.
Europäisches Diplom für Anästhesiologie und Intensivmedizin

09/2007 Zusatzbezeichnung Notfallmedizin

Promotion:

„Histopathologische Veränderungen des Gehirns nach portalvenöser
Bakterieninfusion am chronischen Schweinemodell“ unter Leitung von Prof. Dr. med.
M. Blobner, Klinik für Anaesthesiologie am Klinikum Rechts der Isar der Technischen
Universität München

München, den 09. April 2008

Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel:

„Histopathologische Veränderungen des Gehirns nach portalvenöser Bakterieninfusion am chronischen Schweinemodell“

in der Klinik für Anästhesiologie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München unter der Anleitung und Betreuung durch Prof. Dr. med. M. Blobner und Dr. med. R. Bogdanski ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Abs. 5 angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe die Dissertation in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung vorgelegt.

Die vollständige Dissertation wurde in _____ veröffentlicht. Die Fakultät für Medizin hat der Veröffentlichung zugestimmt.

Ich habe den angestrebten Doktorgrad noch nicht erworben und bin nicht in einem früheren Promotionsverfahren für den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.

Ich habe bereits am _____ bei der Fakultät für _____ der Hochschule _____ unter Vorlage einer Dissertation mit dem Thema _____ die Zulassung zur Promotion beantragt mit dem Ergebnis:

Die Promotionsordnung der Technischen Universität München ist mir bekannt.

München, den 09. April 2008