

Aus der Abteilung Anaesthesiologie I  
(ehem. Leiter: Prof. Dr. med. B. M. Graf, MSc.)  
im Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Direkte kardiale Effekte positiv inotroper Pharmaka bei  
Sepsis-induzierter kardialer Dysfunktion  
am isoliert perfundierten Rattenherzen**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät  
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Diana Geilfus

aus

Göttingen

Göttingen 2010

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. B.M. Graf, MSc

II. Berichterstatter/in:

III. Berichterstatter/in:

Tag der mündlichen Prüfung:

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Sepsis</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 Grundlagen der Sepsis.....	1
1.1.2 Kardiale Komplikationen – die septische Kardiomyopathie .....	3
<b>1.2 Das isolierte Herz in der Langendorff-Perfusion</b> .....	<b>4</b>
<b>1.3 Pharmakologische Substanzen in der Sepsistherapie</b> .....	<b>5</b>
<b>1.4 Fragestellung der vorliegenden Arbeit</b> .....	<b>8</b>
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Versuchstiere und Material</b> .....	<b>10</b>
2.1.1 Versuchstiere .....	10
2.1.2 Modifiziertes Krebs-Henseleit-Perfusat.....	10
2.1.3 Untersuchte Medikamente .....	11
2.1.3.1 Dobutamin .....	11
2.1.3.2 Dopamin .....	12
2.1.3.3 Epinephrin.....	12
2.1.3.4 Levosimendan .....	13
2.1.4 Weitere verwendete pharmakologische Substanzen .....	13
2.1.5 Software .....	13
<b>2.2 Methoden</b> .....	<b>14</b>
2.2.1 Operation zur Sepsisinduktion .....	14
2.2.2 Explantation und Präparation .....	14
2.2.3 Präparation am isolierten Herzen.....	15
2.2.4 Technische Grundlagen und allgemeiner Versuchsaufbau .....	16
2.2.5 Versuchsablauf.....	18
2.2.6 Messparameter .....	19
2.2.7 Statistische Methoden .....	20

<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Einfluss auf gemessene direkte kardiale Parameter .....</b>	<b>22</b>
3.1.1 Herzfrequenz.....	22
3.1.2 Linksventrikulärer Druck.....	25
3.1.3 Kontraktilität.....	27
3.1.4 Lusitropie .....	30
3.1.5 Gewichtsbezogener Koronarfluss .....	33
<b>3.2 Einfluss auf Rechenparameter des Sauerstoffmetabolismus .....</b>	<b>35</b>
3.2.1 Sauerstoffangebot .....	35
3.2.2 Myokardialer Sauerstoffverbrauch .....	37
3.2.3 Sauerstoffextraktion .....	39
3.2.4 Index der Sauerstoffreserve .....	41
<b>3.3 Einfluss auf die Laktatkonzentration .....</b>	<b>44</b>
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>46</b>
4.1 Diskussion von Material und Methodik.....	46
4.2 Diskussion der Ergebnisse .....	50
4.3 Vergleichende Betrachtung mit den Ergebnissen klinischer Studien ..	60
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>65</b>
<b>6. Anhang.....</b>	<b>67</b>
A) Verzeichnis der verwendeten Abbildungen.....	67
B) Verzeichnis der verwendeten Tabellen .....	67
C) Literaturverzeichnis .....	68

## **Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen**

Aqua dest.	Aqua destillata
°C	Grad Celsius
CLP	Zökumligatur und –punktion
cm	Zentimeter
DO <sub>2</sub>	Sauerstoffangebot
EKG	Elektrokardiogramm
g	Gramm
Gew. KF	Gewichtsbezogener Koronarfluss
HF	Herzfrequenz
IE	Internationale Einheit
KF	Koronarer Fluss (Flow)
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KHL	Krebs-Henseleit-Lösung
LA	Langendorff-Apparat
LVD	Linksventrikulärer Druck
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MVO <sub>2</sub>	Myokardialer Sauerstoffverbrauch
NaCl	Natriumchlorid
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PDE	Phosphodiesterase
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome

## 1. Einleitung

### 1.1 Sepsis

#### 1.1.1 Grundlagen der Sepsis

In Deutschland erkranken jährlich 79.000 Menschen an einer Sepsis und 75.000 an einer schweren Sepsis (Engel et al. 2007), von denen 60.000 versterben. Bei einer Letalitätsrate von 35-70% (Engel et al. 2007, Tsokos 2006) stellt die Sepsis als dritthäufigste Todesursache in Deutschland ein schweres Krankheitsbild mit steigender Inzidenz dar. Dombrovskiy et al. (2007) beschreiben für die USA eine jährliche Zunahme der Mortalitätsrate um 5,6% im Zeitraum von 1993 bis 2003. Mit einem weiteren Anstieg der Inzidenz ist aufgrund der Vielzahl invasiver interventioneller Verfahren sowie der Zunahme resistenter Keime zu rechnen (Bauer M et al. 2006, Tsokos 2006, Brunkhorst 2004). Aufgrund hoher Morbidität und Mortalität, aber auch aus gesundheitsökonomischer Sicht, ist die Sepsis ein Krankheitsbild von erheblicher Relevanz (Moerer und Buchardi 2006, Reinhart et al. 2006, Schmid et al. 2002).

Eine Sepsis liegt vor, wenn mikrobiologisch oder anhand des klinischen Bildes eine Infektion gesichert ist und mindestens zwei Kriterien des sogenannten *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) als Ausdruck einer immunologischen Wirtsantwort vorliegen, wenn also ein SIRS aufgrund einer Infektion entstanden ist. Eine schwere Sepsis umfasst zusätzliche Dysfunktionen von mindestens einem Organsystem. Den septischen Schock kennzeichnen Infektionsnachweis, Zeichen eines SIRS und eine nicht erklärbare Hypotonie trotz adäquater Volumensubstitution oder Applikation von Vasopressoren (Levy MM et al. 2003, Bone RC et al. 1992).

Häufigste Ursachen sind, zu etwa gleichen Anteilen, grampositive und gramnegative Erreger (Audebert et al. 2007, Engel et al. 2007). Im Rahmen einer systemischen Wirtsantwort auf deren Eindringen kommt es über eine Aktivierung des unspezifischen Immunsystems sowie die Freisetzung von Zytokinen und sekundären Mediatoren zu infektionsortfernen Organschäden, Schockzuständen und Multiorganversagen (Adams et al. 2002). Die immunologische Reaktion im Rahmen einer Sepsis umfasst sowohl pro- als auch antiinflammatorische Vorgänge, die alternierend auftreten können. Das Gleichgewicht der beteiligten Mediatoren kann im Rahmen des sich in der Sepsis entwickelnden „host defense failure“ nicht mehr aufrecht erhalten werden (Hörner et al. 2004, Weighardt et al. 2002, Heidecke et al. 2000). Die Letalität ist jeweils durch Hyperinflammation im frühen Stadium oder eine im weiteren Verlauf auftretende Immunparalyse bedingt (Weigand et al. 2003, Seeger et al. 2000).

Die Mikrozirkulation, mit diagnostischer und prognostischer Aussagekraft (Bauer A et al. 2005), wird durch Endotheldysfunktionen und Alterationen der Gerinnungskaskade

(Knöbl 2001) beeinträchtigt. Verschiedene Mechanismen bewirken einen inadäquaten peripheren Blutfluss sowie eine mikrovaskuläre Insuffizienz. Eine auftretende Myokarddepression führt zu inadäquater Auswurfleistung. Eine Vasodilatation bewirkt den Abfall von arteriellem Blutdruck und systemischem Gefäßwiderstand (Rabuel und Mebazaa 2006). Aus regional unterschiedlicher Vasokonstriktion und -dilatation resultiert eine Volumenmaldistribution mit konsekutiver Substratfehlverteilung (Parillo 1989). Gestörte Vasoregulation und Endotheldysfunktion führen zur Um- und Fehlverteilung zirkulierender Volumina sowie zu Verteilungsstörungen in der Mikro- und Makrozirkulation. Daraus resultiert der distributive septische Schock (Marx et al. 2005, Adams et al. 2002). Die immunologische Abwehrreaktion durch Aktivierung des unspezifischen Immunsystems geht demnach mit endothelialer Dysfunktion und konsekutiver Perfusionsstörung sowie Störungen der Hämostase als auch der Mikro- und Makrozirkulation einher. Durch hypoxisch induzierte Nekrosen und apoptotische Prozesse aufgrund von Zytokinwirkung und mitochondrialer Dysfunktion kommt es schließlich zum Organversagen.

Die Therapie der Sepsis umfasst kausale, supportive und adjunktive Strategien. Instrumentarien der kausalen Therapie sind die chirurgische Fokussanierung (Maier et al. 2005), wenngleich nicht alle Herde zu sanieren sind (Marx et al. 2005), sowie die antimikrobielle Behandlung, deren Güte prognostisch relevant ist (Müller 2006).

Die supportiven Maßnahmen dienen der Stabilisierung hämodynamischer Parameter zur adäquaten Sauerstoffversorgung des Gewebes durch frühzeitige Volumen- und Katecholamintherapie. Über den Ausgleich eines sowohl absoluten als auch relativen Flüssigkeitsverlustes trägt die Volumensubstitution zum Aufbau eines adäquaten Herzzeitvolumens bei (Marx et al. 2005), da bei intravaskulärer Volumendepletion und Vasodilatation eine reduzierte Auswurfleistung besteht. Diese führt zum Missverhältnis von Sauerstoffangebot und -bedarf, welches jedoch bei Volumengabe reversibel ist (Rudiger und Singer 2007). Durch Anhebung der zentralvenösen Sauerstoffsättigung auf über 70% in den ersten sechs Stunden sind deutlich erhöhte Überlebensraten möglich (Rivers et al. 2001). Ist eine Steigerung des Herzzeitvolumens durch alleinige Volumensubstitution nicht zu erreichen, kommen Katecholamine zum Einsatz. Einer Hypotension wird durch Vasopressoren wie Noradrenalin (Reinhart et al. 2006) oder Dopamin (Beale et al. 2004) begegnet. Effizientes *Airwaymanagement* und Beatmung sind weitere Eckpfeiler der Therapie. Per definitionem hat die symptomatische Therapie lediglich unterstützenden Charakter (Müller-Werdan 2003).

Die adjunktiven Verfahren wie der Einsatz von antiinflammatorischen Substanzen oder Gerinnungsmodulatoren (Sablitzki et al. 2005, Bloos und Reinhart 2002) sind noch immer Gegenstand kontroverser Diskussionen.

### **1.1.2 Kardiale Komplikationen – die septische Kardiomyopathie**

Als systemische Erkrankung kann die Sepsis unabhängig von der Lokalisation des Infektionsfokus in allen Organsystemen Funktionsstörungen verursachen (Tsokos 2006), wobei die Entwicklung kardiovaskulärer Dysfunktionen mit einer deutlichen Erhöhung der Mortalität einhergeht (Price et al. 1999). Eine gefürchtete Komplikation stellt daher die septische Kardiomyopathie dar. Hierbei handelt es sich um eine potenziell reversible Funktionseinschränkung des Herzens, die beide Ventrikel betrifft (Müller-Werdan et al. 2006, Price et al. 1999, Raper und Fisher 1990) und deren pathogenetischen Mechanismen keine spezifischen morphologischen Korrelate zuzuweisen sind (Tsokos 2006). Tierexperimentell sind systolische und diastolische Veränderungen der linksventrikulären Funktion nachgewiesen, die zur Dilatation bei nahezu konstantem Druck (Parillo 1989) führen. Diese Dilatation kommt durch eine Zunahme der ventrikulären Dehnbarkeit zustande (Müller-Werdan et al. 2006) und kann bei gleichzeitig erhöhter Herzfrequenz die kardiale Dysfunktion in gewissem Maße kompensieren (Parillo 1990).

Neben der biventrikulären Dilatation besteht eine eingeschränkte Ejektionsfraktion in 25-50% der Fälle (Rudiger und Singer 2007, Krishnagopalan et al. 2002). Eine aktuelle Studie zu deren Inzidenz zeigt bei 60% der Patienten im septischen Schock eine globale linksventrikuläre Hypokinesie (Vieillard-Baron et al. 2008). Neben Kontraktilitätsstörungen, dilatierten Herzhöhlen und erhöhter Ventrikelcompliance ist eine Koronardilatation mit konsekutiv erhöhtem Koronarfluss als Zeichen der akuten septischen Kardiomyopathie zu beobachten (Tsokos 2006). Die pathologischen Veränderungen entstehen schnell. Sie sind bei Überlebenden innerhalb von ein bis zwei Wochen reversibel und bei Versterbenden weniger schwer ausgeprägt (Price et al. 1999, Parillo 1989, Parker et al. 1984).

Die eingeschränkte Herzleistung wird oftmals durch einen normalen bis erhöhten Herzindex maskiert (Müller-Werdan et al. 2006, Weigand et al. 2003, Price et al. 1999), da dieser nicht in Bezug zu den veränderten physiologischen Gegebenheiten betrachtet wird. Erst unter Berücksichtigung der massiven Erniedrigung von systemischem Gefäßwiderstand und Nachlast in der Sepsis wird die myokardiale Einschränkung evident. Zur prognostisch bedeutsamen Quantifizierung der Kardiomyopathie sollte daher das in Relation zum systemischen Gefäßwiderstand gesetzte Herzzeitvolumen ermittelt werden (Müller-Werdan et al. 2006).

Die Entwicklung der Kardiomyopathie ist vermutlich durch ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren zu erklären, die kardiodepressive Substanzen (Price et al. 1999, Raper und Fisher 1990, Parillo 1989) und myokardiale Alterationen auf zellulärer Ebene durch erhöhte Katecholaminkonzentrationen umfassen (Müller-Werdan et al.

2006, Raper und Fisher 1990). Auch Veränderungen des Kalziumhaushaltes bzw. der Kalziumsensitivität kardialer Myofilamente (Powers et al. 1998, Rigby et al. 1998, Tavernier et al. 1998) werden als Determinanten der Kontraktionseinschränkung diskutiert. Trotz nachweislicher Beeinträchtigung von Sauerstoffverwertung und Mikrozirkulation ist eine ischämische Ursache eher unwahrscheinlich. Im septischen Schock ist der Koronarfluss, vermutlich durch Störungen der normalen Autoregulation oder Störungen in der Sauerstoffutilisation, erhöht. So gibt es nachweislich assoziierte Störungen des kardialen Metabolismus, welche die Konzentrationen von Laktat, Glukose und freien Fettsäuren betreffen. Für eine globale Myokardischämie und Muskelnekrosen beim septischen Schock gibt es jedoch keine Beweise (Merx und Weber 2007, Rabuel und Mebazaa 2006, Price et al. 1999, Cunnion et al. 1986), eher scheint eine gestörte Sauerstoffverwertung ursächlich zu sein (Werdan 2001).

## **1.2 Das isolierte Herz in der Langendorff-Perfusion**

Die ersten Techniken zur Perfusion isolierter Herzen, 1866 von Ludwig und Cyon sowie 1883 von Martin und schließlich 1895 von Langendorff entwickelt, unterscheiden sich in vielen Aspekten von den Versuchstieren bis hin zum Perfusionsmodus. Langendorff gelingt es durch Weiterentwicklung der bisherigen Verfahren ein über mehrere Stunden stabiles System herzustellen (Zimmer 1998, de Leiris et al. 1984). Dazu werden die Aorta ascendens kanüliert und das Herz retrograd perfundiert. Analog zu den physiologischen Bedingungen in der Diastole verschließt sich die Aortenklappe und das Perfusat gelangt über die Koronararterien in den Koronarsinus und das rechte Atrium. Dieser Modus wird als Langendorff-Perfusion bezeichnet (Döring und Dehnert 1987) und trägt einen wesentlichen Anteil am Erkenntnisgewinn in der Physiologie und Pathophysiologie des Herzens. Im druck- oder flusskonstanten Modus ermöglicht er die Betrachtung von Myokardfunktion, Koronarfluss sowie metabolischen oder bioelektrischen Parametern und erlaubt die Untersuchung kardial wirksamer Medikamente (de Leiris et al. 1984, Döring 1990). Experimentelle Bedingungen wie Oxygenierung, Koronarfluss oder Perfusionsdruck können präzise, der individuellen Fragestellung entsprechend, variiert werden und erlauben somit eine Vielzahl von Untersuchungen an einem einzigen Versuchsmodell. Unabhängig von der systemischen Zirkulation können direkte kardiale Effekte ohne Beeinträchtigung durch andere Organsysteme, neurovegetative Einflüsse oder zirkulierende neurohumorale Faktoren untersucht werden. Dies ist insbesondere bei der Untersuchung kardialer Dysfunktionen im Rahmen einer Sepsis von großem Vorteil, da diese durch die stattfindenden pathophysiologischen Veränderungen maskiert sein können (Müller-Werdan et al. 2006).

### 1.3 Pharmakologische Substanzen in der Sepsistherapie

Trotz intensiver Forschung ist die Behandlung der septischen kardialen Dysfunktion überwiegend rein symptomatisch. Die wichtigsten integralen Bestandteile neben einer umgehenden Volumensubstitution sind Katecholamine, die der Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdruckes oder der inotropen Unterstützung bei kardialer Dysfunktion dienen (Dellinger et al. 2008). Sinkt der arterielle Mitteldruck trotz Flüssigkeitsgabe in den kritischen Bereich von 65 mmHg, in dem die Mechanismen der Gegenregulation versagen und die Gewebepfusion kritischer Organe abnimmt, kommen als Vasopressoren der ersten Wahl Noradrenalin oder Dopamin zum Einsatz (Dellinger et al. 2008). In Deutschland wird aufgrund der möglichen Nebenwirkungen von Dopamin (Brunkhorst et al. 2006) das Noradrenalin favorisiert. Epinephrin findet Anwendung zur Verbesserung der Makrozirkulation, vor allem bei refraktärer Hypotension sowie schwerer Herzinsuffizienz (Dellinger et al. 2008, Weigand et al. 2003). Aufgrund seines Nebenwirkungsprofils soll es jedoch zurückhaltend verwendet werden (Reinhart et al. 2006). Bei manifester kardialer Dysfunktion mit erhöhtem linksventrikulärem Füllungsdruck oder erniedrigter Auswurfleistung wird Dobutamin als positives Inotropikum der ersten Wahl appliziert (Dellinger et al. 2008, Reinhart et al. 2006, Weigand et al. 2003).

Die Katecholamine wirken über eine Erhöhung der Kalziumkonzentration und des cAMPs positiv inotrop (Lehtonen et al. 2004). Erkenntnisse über ihre Wirkungen stammen allerdings überwiegend aus nicht-septischen Studiendesigns. Aufgrund der veränderten Bedingungen im Rahmen einer Sepsis ist hingegen eine andere Wirkung der Katecholamine möglich, denn Toxine und Mediatoren der Sepsis stören die inotropen Signaltransduktionskaskaden im Herzmuskel (Silverman et al. 1993) und mindern damit die Wirkung von  $\beta$ -Agonisten und anderen Inotropika. Durch eine *Downregulation* kardialer  $\beta$ -Rezeptoren kommt es zur weiteren Abschwächung inotroper  $\beta$ -Agonisten, die wiederum Dosissteigerungen erfordert (Werdan 2001). Auch eine Autooxidation durch Superoxide ist neben Störungen des kontraktile Apparates eine weitere mögliche Ursache (Rudiger und Singer 2007) für den Wirkungsverlust der Katecholamine.

Da Levosimendan primär nicht über das  $\beta$ -Adrenozeptor-Adenylatzyklase-System wirkt, liegt hier ein potenzieller Vorteil bezüglich des Einsatzes als Inotropikum in der Sepsis, zumal es im Vergleich mit Dobutamin bei steigender Anwendungsdauer keine Abschwächung der Wirkung zeigt (Nieminen et al. 2000).

Levosimendan gehört zur Gruppe der Kalziumsensitizer (Innes und Wagstaff 2003) und ist für die Behandlung des akuten Herzversagens entwickelt worden (Sorsa et al. 2004). Üblicherweise werden eine Initialdosis (6-24  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  über 10 min) und

anschließend eine Erhaltungsdosis von 0,05-0,2 µg/kg/min über maximal 24 Stunden infundiert (Pinto et al. 2008). Nach Herstellerangaben können Hypokaliämien, Hypotonie, myokardiale Ischämien, ventrikuläre Tachykardien und Extrasystolen auftreten.

Levosimendan wirkt ohne Veränderung der intrazellulären Kalzium-Konzentration oder Vermittlung durch *second-messenger* wie cAMP über eine Kalziumsensibilisierung des kardiospezifischen Troponin C und somit über eine Verlängerung der Aktin-Myosinbindungen positiv inotrop (Rehberg et al. 2007, Braun et al. 2004). Durch Bindung an das NH<sub>2</sub>-terminale Ende des kardialen Troponin C stabilisiert es, ohne wesentliche Strukturveränderung des Troponins (Pollesello et al. 1994), die Konformationsänderung des Troponinkomplexes und erhöht somit die Wirkung der Kalziumbindung. Dabei wird die Bildung von Querbrücken beschleunigt und deren Dissoziationsrate reduziert (Kass und Solaro 2006, Kersten et al. 2000, Hasenfuss et al. 1998, Pollesello et al. 1994). Der Vorgang ist kalziumabhängig und findet, ohne Beeinflussung der diastolischen Ventrikelfunktion, nur während der Systole statt (Kass und Solaro 2006, Jamali et al. 1997). Zudem wird über die Öffnung von Kaliumkanälen (Michaels et al. 2005, Kersten et al. 2000) eine konsekutive Vasodilatation in der glatten Muskulatur bewirkt. Durch die Öffnung von K<sub>ATP</sub>-Kanälen bietet es zugleich kardioprotektive Eigenschaften im Sinne einer ischämischen Präkonditionierung durch *Antistunning-Effekte* (Kersten et al. 2000, Jamali et al. 1997). Erst in höherer Dosis wirkt es als Phosphodiesterase-III-Inhibitor (Jamali et al. 1997, Edes et al. 1995) und verändert so die Kalzium-Konzentration (Braun et al. 2004). Trotz der geringen Halbwertszeit von circa einer Stunde sind Wirkeffekte noch Tage nach Infusionsende zu beobachten (Pinto et al. 2008, Rauch et al. 2006, Delle Karth und Heinz 2004). Diese sind auf aktive Metabolite mit ähnlichen pharmakologischen Eigenschaften (Antila et al. 2004, Kivikko et al. 2003) und einer Halbwertszeit von mehr als 80 Stunden zurückzuführen (Rehberg et al. 2007, Kass und Solaro 2006).

Die Effekte von Levosimendan bezüglich Hämodynamik und Mortalität werden kontrovers diskutiert. Die ersten Studien wie RUSSLAN (Moiseyev et al. 2002), REVIVE-1 (zit. nach Kass und Solaro 2006), LIDO (Follath et al. 2002) und CASINO (Zairis 2004) zeigen gegenüber Placebo bzw. Dobutamin bessere hämodynamische Modifikationen bzw. signifikante Verbesserungen der Gesamtmortalität. Die größeren und aktuelleren Studien wie REVIVE-2 (zit. nach Kass und Solaro 2006) und SURVIVE (Mebazaa et al. 2007) können keine signifikante Reduktion der Gesamtmortalität durch Levosimendan nachweisen.

Trotz bereits erwiesener Wirksamkeit bei herzinsuffizienten Patienten und des dort gezeigten günstigen Wirkprofils ist Levosimendan unter den Bedingungen einer Sepsis bisher kaum untersucht.

Dobutamin fungiert, als Racemat verabreicht, vermeintlich herzselektiv als kardialer  $\beta_1$ -Agonist, da sich die Effekte seiner beiden Isomere aufheben (Kulka und Tryba 1993). Der Dosisbereich liegt bei 2,5 bis 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ . Es wirkt positiv inotrop und reduziert die Füllungsdrücke beider Ventrikel (Regnier et al. 1979). Das Herzzeitvolumen wird ohne eine wesentliche Beeinflussung von peripherem Widerstand, Blutdruck oder Frequenz (Dohet 2003, Regnier et al. 1979, Leier et al. 1977, Andy et al. 1977) über eine Erhöhung des Schlagvolumens gesteigert (Leier et al. 1978). Erst im höheren Dosisbereich von 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  trägt ein Frequenzanstieg deutlich zur Erhöhung der Auswurfleistung bei (Magnani et al. 1977).

Dopamin wird wegen seiner vasopressorischen und positiv inotropen Eigenschaften bei Präshock- und Schockzuständen jeglicher Genese eingesetzt. Der klinische Dosisbereich umfasst drei Stufen von 3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  bis maximal 18  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ . In niedriger Dosis stimuliert es, zumeist ohne kardiale Effekte, renale und mesenteriale Rezeptoren (Holmes 2005). In mittlerer Konzentration wirkt Dopamin positiv inotrop und chronotrop mit einer Erhöhung des Herzminutenvolumens. Im Hochdosisbereich steigert es den arteriellen Mitteldruck ohne Beeinflussung des systemischen Gefäßwiderstandes (Regnier et al. 1979). Dopamin hat ein breites Nebenwirkungsprofil (Dohet 2003, Brause und Grabbensee 2001, Meier-Hellmann 2000) und scheint das Outcome von Patienten im Schock negativ zu beeinflussen (Sakr et al. 2006). Allerdings gibt es dopaminresistente und -sensitive Schockzustände. Dabei ist die Dopaminantwort ein prädiktiver Faktor für Mortalität, weil eine Dopaminresistenz mit signifikant erhöhter Mortalitätsrate verbunden ist (Levy B et al. 2005).

Epinephrin, ein positives Inotropikum und Vasopressor, wird überwiegend bei kardiopulmonaler Reanimation (Dohet 2003) und schweren anaphylaktischen Reaktionen bis hin zum Schock (Kulka und Tryba 1993) verwendet. Für die nicht-primäre Therapie im septischen Schock ist nach Herstellerangaben eine Dosis zwischen 0,014  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  und 0,28  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  empfohlen. Das Herzzeitvolumen wird über  $\beta_1$ -Rezeptoren durch Steigerung von Herzfrequenz und Schlagvolumen erhöht (Kulka und Tryba 1993). Im mittleren Dosierungsbereich kommt es zusätzlich zur Vasokonstriktion. Hohe Dosen wirken kardial stark stimulierend; die über  $\alpha_1$ -Rezeptoren vermittelte Vasokonstriktion führt zur Erhöhung von peripherem Widerstand und arteriellem Mitteldruck (Kulka und Tryba 1993). Zu den unerwünschten Nebenwirkungen zählen tachykarde Rhythmusstörungen, Kammerflimmern,

Asystolien, Myokardischämien sowie ein Anstieg des Serumlaktats (Holmes 2005, Levy B et al. 1997).

Die Effekte auf den regionalen Blutfluss im Rahmen einer Sepsis werden kontrovers bewertet (di Giandomasso et al. 2005, de Backer et al. 2003). Signifikante Unterschiede bezüglich Gesamtmortalität, hämodynamischer Stabilisierung und anderer Parameter zwischen Epinephrin und der Standardtherapie können jedoch nicht gezeigt werden (Annane et al. 2007).

#### **1.4 Fragestellung der vorliegenden Arbeit**

Im Rahmen einer Sepsis können sich vital bedrohliche kardiozirkulatorische Störungen entwickeln, die durch die mit ihr assoziierten pathophysiologischen Veränderungen und eine kardiale Dysfunktion bedingt sind. Trotz intensivmedizinischer Versorgung stellt die Sepsis bei einer Prävalenz von circa 11%, mit mehr als 40.000 Todesfällen pro Jahr, auch in Deutschland eine der häufigsten Todesursachen dar (Brunkhorst et al. 2006).

Therapeutisch bedeutsam ist u.a. die Erhaltung eines ausreichenden arteriellen Mitteldrucks zur adäquaten Sauerstoffversorgung und Organperfusion. Ist dieser nicht durch konsequente Volumensubstitution zu erreichen, werden Katecholamine eingesetzt. Ihre Effekte sind sowohl in nicht-septischen Tiermodellen als auch in humanen Studien untersucht. Doch die Leitlinien bezüglich ihrer Verwendung in der Sepsis sind uneinheitlich und die Präferenzen differieren im internationalen Vergleich (Dellinger et al. 2008, Reinhart et al. 2006). Zudem haben die Empfehlungen vielfach einen geringen Evidenzgrad. Problematisch bei allen Katecholaminen ist die Desensibilisierung adrenerger Rezeptoren im Sinne einer *Downregulation* (Boldt und Lehmann 2007, Cunha-Goncalves et al. 2007), die zur Aggravation einer in der Sepsis bereits verminderten  $\beta$ -Rezeptorsensitivität führen kann und somit eine kontinuierliche Dosissteigerung erfordert. Ihr Einsatz ist zudem im Hinblick auf die Beeinflussung des Sauerstoffmetabolismus limitiert.

Das bereits unter anderen Indikationen erfolgreich eingesetzte Levosimendan ist Gegenstand intensiver Forschungen. Aufgrund des völlig anderen Wirkmechanismus erscheint es, auch in der Sepsis, zwar als vielversprechendes Inotropikum (Archan und Toller 2008, Barraud 2007), jedoch gibt es nur wenige Studien unter den Bedingungen einer Sepsis. Daher existieren keine Empfehlungen zum Einsatz bei der septischen Kardiomyopathie. Ob es auch im Rahmen einer Sepsis positive direkte kardiale Effekte besitzt, soll in der aktuellen Studie untersucht werden. Levosimendan könnte dann eine attraktive Alternative (Morelli et al. 2005) zu den bisher eingesetzten Katecholaminen und ihrer im Verlauf erforderlichen Dosissteigerung sein.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt es keine Studie, die direkte kardiale Effekte dieser drei etablierten Katecholamine am septisch veränderten Herzen vergleichend untersucht und denen des Levosimendan gegenüberstellt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, erstmalig rein kardiale Effekte klassischer Inotropika und die des Levosimendans am isolierten septischen Herzen zu untersuchen. Ohne Beeinflussung durch andere Organe oder das sympathische Nervensystem sollen Daten erhoben werden, die eine vergleichende Betrachtung der direkten kardialen Effekte bei sepsisinduzierter kardialer Dysfunktion erlauben.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere und Material

#### 2.1.1 Versuchstiere

Die Versuche werden an männlichen Wistar-Ratten (Fa. Charles River, Deutschland) mit einem Gewicht von  $216 \pm 17$  g durchgeführt. Die Ernährung erfolgt mit kommerziellem Futter und Wasser ad libitum.

Die genehmigungspflichtigen Tierversuche wurden dem Tierschutzbeauftragten der medizinischen Fakultät vorgelegt und von diesem befürwortet. Die Genehmigung des zuständigen Regierungspräsidiums in Braunschweig liegt vor. Die Sepsisgruppe umfasst 40 Tiere, die unter Einhaltung der Richtlinien gemäß § 8 des Tierschutzgesetzes (TierSchG), nach dem unten beschriebenen Protokoll behandelt werden. Die nicht-septische Kontrollgruppe (Sham) umfasst 24 Tiere.

#### 2.1.2 Modifiziertes Krebs-Henseleit-Perfusat

Das Perfusat aus Krebs-Henseleit-Lösung (KHL), modifiziert nach Zausig et al. (2006), wird täglich neu angesetzt (vgl. Tab. 1). So sollen Elektrolytveränderungen, Ausfällungen und Mikroembolien durch Kristalle verhindert werden. Der Ansatz dient als Blutersatz zur kontinuierlichen retrograden Perfusion sowie als Trägersubstanz für die zu infundierenden pharmakologischen Substanzen. Die korrekte Zusammensetzung des Perfusates aus *aqua destillata* und den folgenden Substanzen wird mittels einer Blutgasanalyse (BGA) kontrolliert.

**Tabelle 1:** Zusammensetzung der modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung (KHL)

Produkt	Summenformel	Mol. Masse	Menge
Kalziumchlorid-Dihydrat*	$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	$147,02 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	3,35 g
Kaliumchlorid*	KCl	$74,55 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	3,01 g
Magnesiumchlorid-Hexahydrat*	$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	$203,30 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	2,20 g
Natriumchlorid*	NaCl	$85,44 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	58,14 g
Natriumbicarbonat*	$\text{NaHCO}_3$	$84,01 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	19,35 g
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat*	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	$156,02 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	1,28 g
Natriumpyruvat*	$\text{C}_3\text{H}_3\text{NaO}_3$	$110,05 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	1,88 g
D(-)-Mannit*	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$	$182,17 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	26,24 g
D(+)-Glucose-Monohydrat*	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$198,17 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	18,65 g
EDTA*	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$	$292,25 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	0,17 g
Altinsulin (Actrapid®) **			5 IE/l

\* Fa. Merck KGaA, Deutschland. \*\* Fa. Novo Nordisk A/S, Dänemark

### 2.1.3 Untersuchte Medikamente

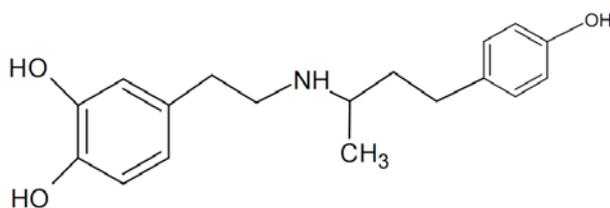
Die Medikamente werden in einer zusammenhängenden Untersuchung, jeweils in maximal sechs unterschiedlichen Konzentrationen, an septischen und nicht-septischen Herzen geprüft (vgl. Tab. 2). In Vorversuchen zu dieser Studie werden Wirkungsbereiche definiert, innerhalb derer die definitiven Untersuchungen stattfinden. In höheren Konzentrationen (ab  $10^{-3}$  M für Dobutamin und Epinephrin sowie  $10^{-5}$  M für Levosimendan) treten oftmals irreversible Asystolien auf. Daher werden diese Konzentrationen nicht weiter untersucht.

Die unterschiedlichen Konzentrationen werden in separaten Messkolben mit Stopfen auf die KHL-Stammlösung pipettiert und darin als Infusionslösung aufbewahrt. Um Vermischungen über den Perfusionsschlauch zu verhindern, wird die Infusionslösung in ein Becherglas umgefüllt, aus welchem heraus dann der Langendorff-Apparat perfundiert wird.

**Tabelle 2:** Konzentrationen der einzelnen Versuchsgruppen

Gruppe	Anzahl pro Gruppe	Untersuchte Konzentrationen (mol/l Perfusat)
Dobutamin	Sepsis:10, Sham: 6	$10^{-9}$ M, $10^{-8}$ M, $10^{-7}$ M, $10^{-6}$ M, $10^{-5}$ M, $10^{-4}$ M
Dopamin	Sepsis:10, Sham: 6	$10^{-8}$ M, $10^{-7}$ M, $10^{-6}$ M, $10^{-5}$ M, $10^{-4}$ M, $10^{-3}$ M
Epinephrin	Sepsis:10, Sham: 6	$10^{-9}$ M, $10^{-8}$ M, $10^{-7}$ M, $10^{-6}$ M, $10^{-5}$ M, $10^{-4}$ M
Levosimendan	Sepsis:10, Sham: 6	$10^{-9}$ M, $10^{-8}$ M, $10^{-7}$ M, $10^{-6}$ M

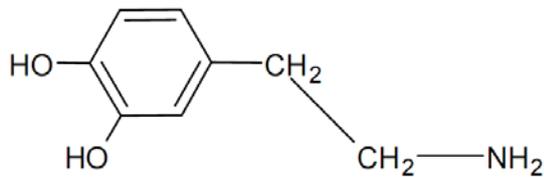
#### 2.1.3.1 Dobutamin



**Abbildung 1:** Strukturformel Dobutamin

Benutzt wird Dobutamin (Dobutamin Liquid Fresenius®, vgl. Abb. 1) der Fa. Fresenius Kabi Deutschland GmbH mit einem Molekulargewicht von 337,84 Mol. Bei Zunahme einer Verfärbung, die laut Herstellerangaben im Rahmen von Oxidationsvorgängen ohne wesentlichen Aktivitätsverlust auftreten kann, wird die Infusionslösung dennoch verworfen. Dobutamin wird in Konzentrationen von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M untersucht.

### 2.1.3.2 Dopamin



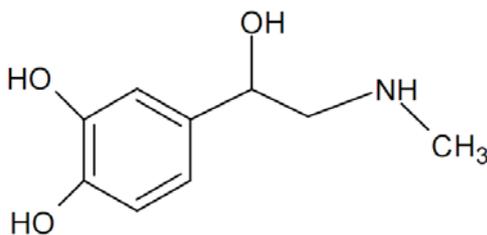
**Abbildung 2:** Strukturformel Dopamin

Verwendet wird Dopamin (Dopamin Fresenius®, vgl. Abb. 2) der Fa. Fresenius Kabi Deutschland GmbH mit einem Molekulargewicht von 189,64 Mol.

Entsprechend der Herstellerangabe wird Dopamin lichtgeschützt und nicht länger als 24 Stunden aufbewahrt. Da bei gleichzeitiger Verwendung von inhalativen Anästhetika in Form halogener Kohlenwasserstoffe Arrhythmien auftreten können, werden in der aktuellen Untersuchung ausschließlich Injektionsnarkotika verwendet.

Die Untersuchungen erfolgen im Konzentrationsbereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-3}$  M.

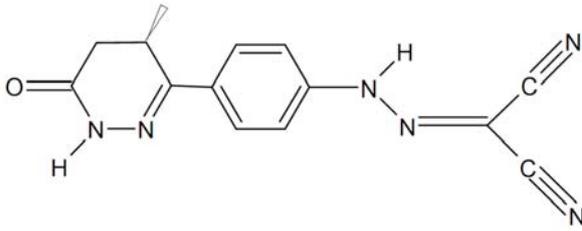
### 2.1.3.3 Epinephrin



**Abbildung 3:** Strukturformel Epinephrin

In allen Versuchen kommt Epinephrin (Suprarenin®, vgl. Abb. 3) der Fa. Sanofi Aventis mit 183,2 Mol zum Einsatz. Die Lagerung erfolgt lichtgeschützt im Kühlschrank entsprechend den Vorgaben des Herstellers. Epinephrin wird in Konzentrationen von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M untersucht.

### 2.1.3.4 Levosimendan



**Abbildung 4:** Strukturformel Levosimendan

Verwendet wird Levosimendan (Simdax®, vgl. Abb. 4) der Fa. Abbott GmbH als Zulassungsinhaber bzw. Orion Corporation als Hersteller mit einem Molekulargewicht von 280,3 Mol.

Untersucht werden Dosen von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-6}$  M. Höhere Konzentrationen führen im Rahmen der Vorversuche zu therapierefraktären Asystolien.

### 2.1.4 Weitere verwendete pharmakologische Substanzen

Zur Sedierung, Analgesie und Narkose dienen  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Xylazinhydrochlorid (Xylazin® 2%, Fa. Riemser Arzneimittel AG, Deutschland). Als Anästhetikum mit analgetischer Wirkung werden  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Esketaminhydrochlorid (Ketanest®, Fa. Pfizer, Deutschland) eingesetzt. Die Thromboseprophylaxe erfolgt mit  $1000 \text{ IE} \cdot \text{kg}^{-1}$  Heparin (Heparin- Rotexmedica®, Fa. Rotexmedica GmbH, Deutschland). Die Medikamente werden jeweils zur Operation und vor der Dekapitation verabreicht. Als Trägersubstanz aller verwendeten Injektionslösungen fungiert eine isotonische NaCl-Lösung (Fa. DeltaSelect GmbH, Deutschland). Zur Prüfung der funktionellen Integrität der Koronararterien und der Koronarreserve dient ein Ansatz aus Adenosin (Adenosine®, Fa. Sigma-Aldrich Chemie, Deutschland) und destilliertem, chemisch reinem Wasser. Dieser enthält  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  Adenosin.

### 2.1.5 Software

Die Messwerte werden mit dem HSE-HA-Isoheart® (Fa. Hugo Sachs Elektronik, Deutschland) aufgezeichnet. Die Messparameter werden visualisiert und als Rohdaten im Abstand von zehn Sekunden in Form einer fortlaufenden Excel-Tabelle gespeichert. Die Auswertung erfolgt mit Microsoft Excel® (Fa. Microsoft Corporation, USA). Die statistische Analyse wird mit SigmaStat® 3.11 (Fa. Jandel Corporation, USA) durchgeführt.

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 Operation zur Sepsisinduktion**

Die operative Sepsisinduktion erfolgt mittels der etablierten Methode der Zökumligatur und -punktion, kurz CLP (Wichterman et al. 1980). Nach gewichtsadaptierter Anästhesie und Analgesie durch intraperitoneale Applikation von Esketaminhydrochlorid und Xylazinhydrochlorid wird das adäquate Narkosestadium durch Prüfung mittels gezielter Schmerzreize festgestellt. Auf einem gewärmten Operationstisch erfolgt die mediane Laparotomie. Nach Aufsuchen des Zökums wird dessen endständiger Anteil durch retrogrades Ausstreichen gefüllt und mit nicht-resorbierbarer Seide (3-0, Fa. Ethicon GmbH, Deutschland) bei 1,4 cm Länge und einem Volumen von 1,5 bis 2 ml ligiert. Nach antimesokolischer Punktion mittels einer 18-G-Kanüle (Sterican®, Fa. Braun, Deutschland) und Auspressen einer geringen Menge Darminhaltes in der Größe eines Stecknadelkopfes wird das Zökum rückverlagert (modifiziert nach Bouchon et al. 2001).

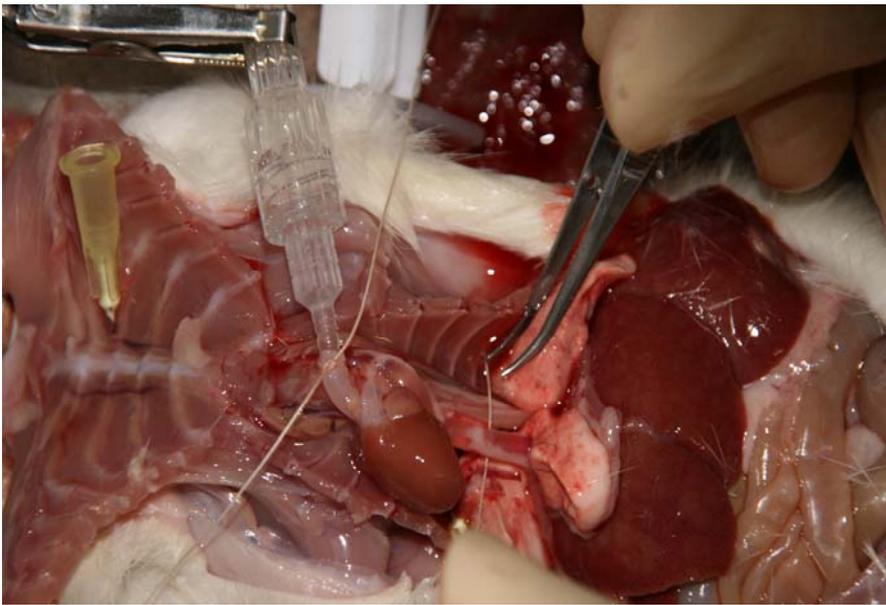
Nach intraperitonealer Einlage von 4 ml isotoner NaCl-Lösung (Fa. DeltaSelect GmbH, Deutschland) erfolgen der Verschluss von Bauchdecke und Peritoneum in fortlaufender Naht (Vicryl 3-0, Fa. Ethicon GmbH, Deutschland) sowie die Hautnaht in Einzelknopfnah-Technik (Vicryl 3-0, Fa. Ethicon GmbH, Deutschland). Zur Flüssigkeitssubstitution werden unmittelbar postoperativ 4 ml isotope Kochsalzlösung subkutan in Form von 2 Boli à 2 ml injiziert. Zum Schutz vor Auskühlung in der Aufwachphase wird das Tier mit einer Wärmefolie umhüllt.

Nach dem gleichen Protokoll wird auch die Kontrollgruppe behandelt. Hier wird das Zökum jedoch ohne Ligatur und Punktion lediglich mobilisiert und rückverlagert.

### **2.2.2 Explantation und Präparation**

Nach Ablauf eines 20-stündigen postoperativen Intervalls erfolgt in beiden Gruppen die Dekapitation. Zuvor werden die Pharmaka zur Antikoagulation, Anästhesie sowie Analgesie intraperitoneal appliziert und eine ausbleibende Reaktion auf Schmerzreize abgewartet. Nach querverlaufendem Bauchschnitt wird der Zugang zum Herzen transdiaphragmal geschaffen. Nach Einspritzen von gekühlter, oxygenierter KHL in das Mediastinum, zur Kardioprotektion durch Herzarrest und Hypothermie, erfolgt die antero-laterale Thorakotomie mit anschließender Verlagerung der Brustwandanteile nach kranial. Die Aorta ascendens und der Aortenbogen kommen zur Darstellung. Der Aortenbogen wird mit einem Vicrylfaden der Stärke 4-0 (Fa. Ethicon GmbH, Deutschland) zunächst angezügelt. Dieser Faden dient der späteren Fixation einer noch einzubringenden Aortenkanüle. Dazu wird die Aorta distal des Abgangs der A.

carotis communis sinistra mit einer Mikroschere inzidiert und die Aorta ascendens herzwärts kanüliert. Unter Schonung der Aortenklappe wird die Kanüle so positioniert, dass sie die Koronarostien nicht verlegt und die Drainage der Koronarien möglich ist. Mit dem vorgelegten Faden erfolgt die Fixation. Über die Aortenkanüle wird das Herz umgehend mit gekühlter, oxygenierter KHL retrograd perfundiert. Nach sofortiger Durchtrennung der Vv. pulmonales zur Volumenentlastung werden die Lungenanteile entfernt. Anschließend erfolgen die Darstellung und die Ligatur von V. cava superior und V. cava inferior mit einem Vicryl 4-0-Faden (vgl. Abb. 5).



**Abbildung 5:** Übersicht auf den Situs

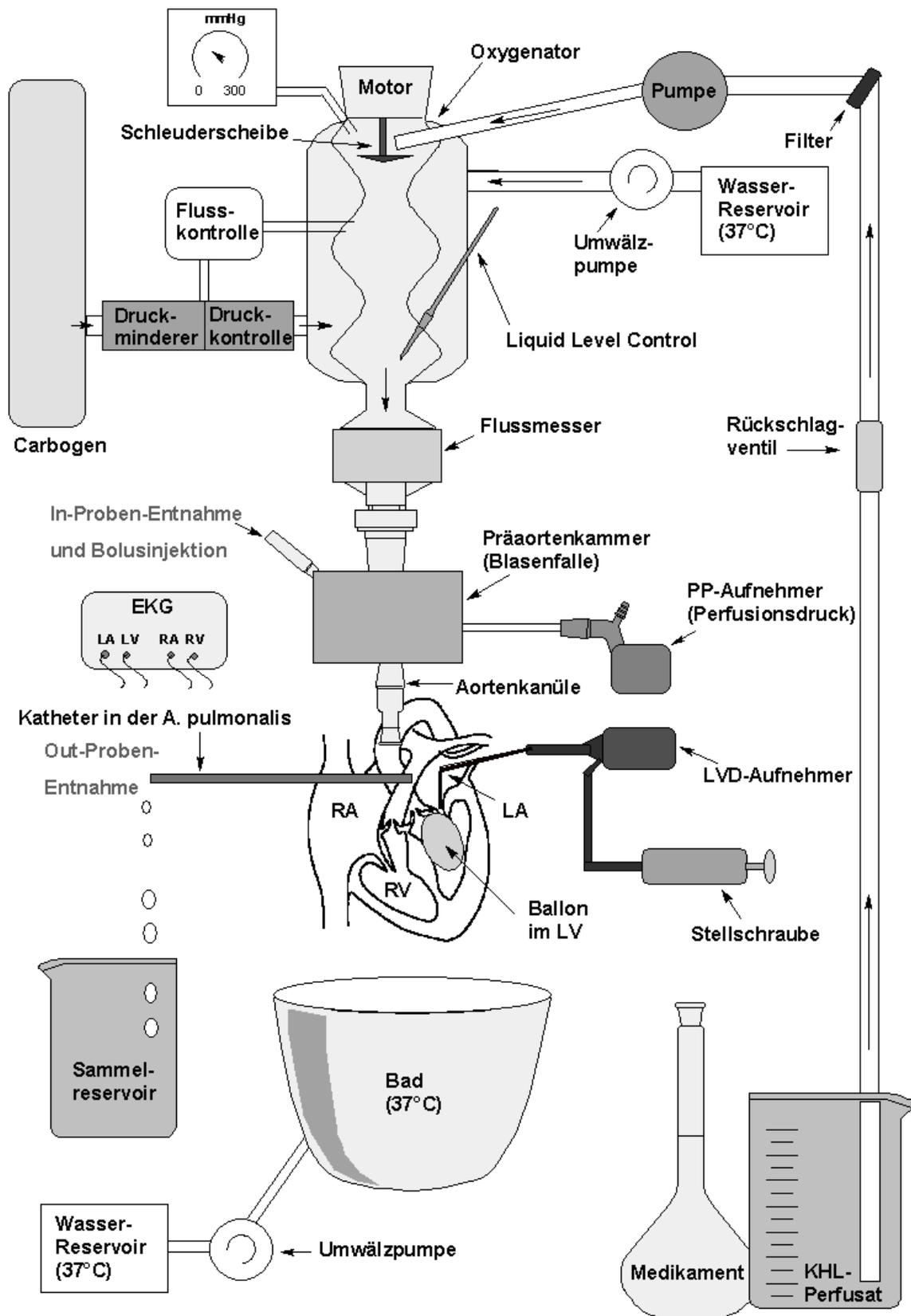
Hier: Ligatur der V. cava inferior. Im linken Bildteil befindet sich die nach kranial verlagerte Brustwand, mittig ist die bereits herzwärts kanülierte Aorta ascendens zu sehen.

### 2.2.3 Präparation am isolierten Herzen

Nach Konnektion von Aortenkanüle und Langendorff-Apparat (LA) werden anhaftende Teile des Mediastinums sowie fett- und bindegewebige Anhänge durch scharfe Präparation mit einer Mikroschere entfernt. Das linke Herzohr wird eröffnet und ein Latexballon (Fa. Hugo Sachs, Deutschland) zur Messung des linksventrikulären Druckes in den Ventrikel eingebracht. Über eine Inzision im Truncus pulmonalis wird ein Katheter in das eröffnete Lumen eingeführt und mittels eines Vicrylfadens der Stärke 4-0 (Fa. Ethicon, Deutschland) fixiert. Zur Messung der elektrischen Herzaktivität werden bilateral teflonbeschichtete Silberdrähte (Fa. Cooner Wire, USA) mit einem Durchmesser von 125 µm subepikardial als Ventrikel- und Vorhofelektroden positioniert.

## 2.2.4 Technische Grundlagen und allgemeiner Versuchsaufbau

Verwendet wird der Langendorff-Apparat (Apparatus isolated heart with bulb oxygenator, Size 3, Type 830, Hugo Sachs Elektronik KG, Deutschland). Vor jedem Versuch wird die mit einem Aqua dest.-Ethanol-Gemisch dekontaminierte Anlage mit Aqua dest. gespült und mit frischem Perfusat befüllt. Der Filter (Minisart 5  $\mu$ M, Fa. Sartorius, Deutschland) zur Prävention von Koronarembolien wird täglich gewechselt. Alle Messwertaufnehmer werden nach einem standardisierten Schema kalibriert. Im LA befördert eine Pumpe die KHL aus dem Becherglas über einen Schlauch mit integrierter Filtereinheit in den Oxygenator (vgl. Abb. 6). In dessen Innenraum wird das Perfusat über eine Schleuderscheibe als Flüssigkeitsfilm an die Innenwände verteilt, mit Carbogengas (95% Sauerstoff mit 5% Kohlendioxid) angereichert und zugleich auf 37° C erwärmt. Die Begasung mit Carbogengas dient der Oxygenierung der KHL und der Aufrechterhaltung des pH-Wertes. Das Perfusat gelangt über eine Blasenfalle, an der die Aortenkanüle befestigt ist, retrograd in den Aortenstumpf und anschließend orthograd in die Koronararterien und via Sinus coronarius in das rechte Herz. Das Wasserschloss der Blasenfalle verhindert Luftembolien und ermöglicht die Entnahme arterieller In-Proben. Über den drainierenden Katheter in der A. pulmonalis mit integrierter Ultraschall-Messsonde (Research Flowmeter T 106, Fa. Transonic System Inc., USA) wird eine venöse Out-Probe entnommen und gleichzeitig der koronare Fluss quantitativ erfasst. Diskontinuierlich erfolgt eine maschinelle Blutgasanalyse der In- und Outproben (Omni 9 modulator System, Roche Diagnostics, Fa. Roche, Deutschland). Der gewünschte Perfusionsdruck von 55 mmHg wird nach Kalibrierung des hydrostatischen Druckes zu jedem Versuchsbeginn durch Einspeisung eines entsprechend aufgebauten Carbogengas-Druckes im Oxygenator generiert. Die Flüssigkeitssäule und somit der hydrostatische Druck, als eine Komponente des Perfusionsdruckes, werden mittels eines Liquid-Level-Controllers (LLC) während des ganzen Versuches konstant gehalten, sodass eine retrograde, druckkonstante Perfusion mit einem Druck von 55 mmHg erfolgen kann. Der Latexballon im linken Ventrikel, als kommunizierendes System mit einem Druckaufnehmer verbunden, erfasst den linksventrikulären Druck. Über eine Stellschraube wird der linksventrikuläre diastolische Druck während der Auswaschphasen und unmittelbar vor Beginn der Medikamenteninfusion auf 0 mmHg reguliert. So können diastolische Wandspannung bzw. Relaxation erfasst und Kontraktilität und Lusitropie berechnet werden. Mittels EKG-Elektroden wird die Herzfrequenz erfasst. Das Herz befindet sich während der Versuche in einem KHL-Bad mit konstanter Temperatur ( $36,9 \pm 0,2^\circ$  C) und einem pH-Wert von  $7,4 \pm 0,04$ . Das Bad soll zusätzlich zur Imitation der physiologischen Körpertemperatur den transkapillären Flüssigkeitsverlust gering halten.

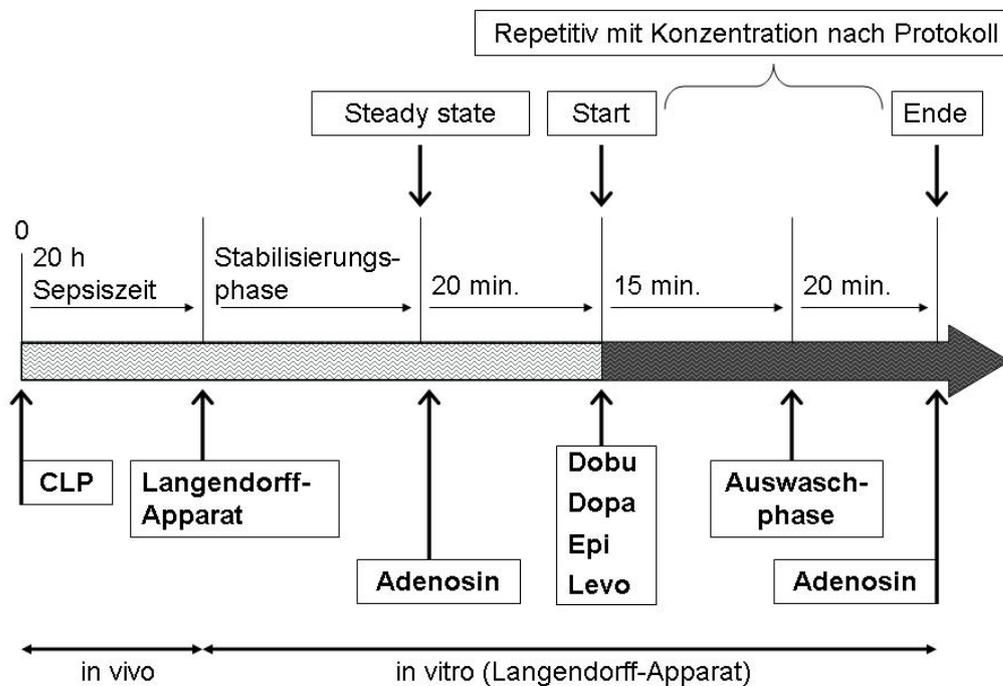


**Abbildung 6:** Schema Versuchsaufbau mit Langendorff-Apparat

**EKG:** Echokardiogramm, **KHL:** Krebs-Henseleit-Lösung, **LA:** linkes Atrium, **LV:** linker Ventrikel, **LVD:** linksventrikulärer Druck, **PP:** Perfusionsdruck, **RA:** rechtes Atrium, **RV:** rechter Ventrikel

### 2.2.5 Versuchsablauf

Nach Einbringen des Herzens in den LA folgt eine kurze Stabilisierungsphase. Vor und nach jedem Versuch wird die funktionelle Integrität der Koronarien geprüft. Hierzu wird Adenosin aus dem oben beschriebenen Ansatz als Bolus über die Blasenfalle in das System eingegeben. Reaktiv kommt es bei intakten Koronarien mit erhaltener Autoregulation zur Vasodilatation mit konsekutiver Erhöhung des Koronarflusses. Nach einer 20-minütigen Stabilisierungsphase (Steady State) werden eine arterielle In- und eine venöse Out-Probe genommen. Die erhobenen Werte dienen als Startwerte eines Versuches. Alternierend erfolgen je eine 15-minütige Phase der Medikamenteninfusion und eine medikamentenfreie Auswaschphase. Pro Versuch und Herz wird nur ein Medikament in unterschiedlichen Konzentrationen untersucht (vgl. Abb. 7).



**Abbildung 7:** Schema Versuchsablauf

**CLP:** Zökumligatur und -punktion, **Dobu:** Dobutamin, **Dopa:** Dopamin, **Epi:** Epinephrin, **Levo:** Levosimendan

Die Inklusionskriterien der Sepsisgruppe sind eine 20-stündige Sepsisdauer (postoperative Phase), das klinische Bild (Behrends und Peters 2003) sowie eine manifeste kardiale Dysfunktion mit linksventrikulären Druckwerten von unter 75 mmHg, die nach dem Transfer in den LA anhand der Messwerte evident wird. Dann erfolgt die Applikation der einzelnen Konzentrationen in zufälliger Reihenfolge. Nach Ablauf der Infusionsdauer werden In- und Out-Proben erneut analysiert. Durch eine anschließende Auswaschphase werden wieder gleiche Ausgangswerte geschaffen.

## 2.2.6 Messparameter

### Physiologische Parameter

- Linksventrikulärer Druck (LVD) in mmHg  
Der Druck auf den Latexballon in der linken Herzkammer ist ein Parameter der systolischen Ventrikelfunktion und wird in mmHg angegeben.
- Kontraktilität ( $+dp \cdot dt^{-1}$ ) und Lusitropie ( $-dp \cdot dt^{-1}$ ) in  $\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$   
Diese Parameter der linksventrikulären Funktion werden mit der Isoheart-Software aus der ersten Ableitung des LVD errechnet. Die Geschwindigkeit des isovolumetrischen Druckanstieges ( $\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$ ) ist ein Maß für die Kontraktilität. Die maximale Druckabfallgeschwindigkeit ( $\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$ ) entspricht der Lusitropie (Erschlaffungsgeschwindigkeit). Eine Kontraktilitätserhöhung mit Verschiebung der isovolumetrischen Maxima zeigt positiv-inotrope Effekte während der Systole auf. Die Ermittlung der Lusitropie als Parameter der diastolischen Relaxation ist wegen ihrer Bedeutung für eine ausreichende diastolische Füllung und effiziente Koronardurchblutung wichtig.
- Koronarfluss (KF) in  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$   
Bei konstantem Perfusionsdruck wird der Perfusatfluss im koronaren Gefäßsystem kontinuierlich über einen Ultraschall-Flussmesser oberhalb des kanülierten Einflusstraktes gemessen.
- Herzfrequenz (HF) in  $\text{Schläge} \cdot \text{min}^{-1}$   
Die Ermittlung erfolgt über ein bilaterales, atrial und ventrikulär abgeleitetes EKG. Die Elektroden werden im Bereich der Herzohren, des pulmonalarteriellen Ausflusstraktes und der linksseitigen Herzspitze positioniert.

### Metabolische Parameter

Die Berechnung erfolgt aus den In- und Out-Proben (Graf et al. 1995, Zausig et al. 2006):

- Gewichtsbezogener Koronarfluss (Gew. KF) in  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$   
Der Quotient von Koronarfluss ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ) als Dividend und Herzgewicht (g) als Divisor ergibt als Wert des Quotienten den auf das spezifische Nassgewicht bezogenen Koronarfluss.
- Myokardiales Sauerstoffangebot ( $\text{DO}_2$ ) in  $\text{mmHg} \cdot \text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$   
Das Produkt von arteriellem Sauerstoffpartialdruck (mmHg) und der Sauerstofflöslichkeit ( $24 \mu\text{l} \cdot \text{ml}^{-1}$  bei 760 mmHg Sauerstoff und  $37^\circ \text{C}$ ) wird mit dem gewichtsbezogenem Koronarfluss ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) multipliziert und ergibt das myokardiale Sauerstoffangebot.

➤ Myokardialer Sauerstoffverbrauch ( $MVO_2$ ) in  $\text{mmHg} \cdot \text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$

Die Differenz von arteriellem und venösem Sauerstoffpartialdruck (mmHg) wird mit der Sauerstofflöslichkeit ( $24 \mu\text{l} \cdot \text{ml}^{-1}$  bei 760 mmHg Sauerstoff und  $37^\circ \text{C}$ ) multipliziert. Nach Multiplikation des Produktes mit dem gewichtsbezogenen Koronarfluss ( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ergibt sich der myokardiale Sauerstoffverbrauch.

➤ Index der Sauerstoffreserve als Quotient ohne Einheit

Der Index der Sauerstoffreserve ergibt sich aus dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (mmHg) als Dividend und der Differenz von arteriellem und venösem Sauerstoffpartialdruck (mmHg) als Divisor. Der Wert des Quotienten zeigt den Index der myokardialen Sauerstoffreserve an. Er wird nach der folgenden Formel berechnet:  $pO_{2 \text{ in}} \cdot (pO_{2 \text{ in}} - pO_{2 \text{ out}})^{-1}$

➤ Sauerstoffextraktion ( $O_2\text{-Ext}$ ) in Prozent (%)

Der Quotient aus der Differenz von arteriell-venösem und arteriellem Sauerstoffpartialdruck (mmHg) wird mit 100% multipliziert und zeigt dann die prozentuale Sauerstoffextraktion des Herzens an.

Die Formel lautet:  $O_2\text{-Ex} = ((pO_{2 \text{ in}} - pO_{2 \text{ out}}) \cdot pO_{2 \text{ in}}^{-1}) \cdot 100$

### 2.2.7 Statistische Methoden

Die erhobenen Daten werden durch eine Kruskal-Wallis-Einweg-Analyse der Varianz bei wiederholten Messungen ausgewertet und mit der Student-Neuman-Keul-Methode korrigiert. Zur Bewertung der Unterschiede in den Wirkungskurven werden Wahrscheinlichkeitswerte von  $p \leq 0,05$  als statistisch signifikant betrachtet. Die Auswertung der Daten erfolgt mit Microsoft Excel® und SigmaStat®.

Alle Werte der Tabellen und der auf deren Grundlage erstellten Diagramme sind Mittelwerte (MW). Aus Gründen der Übersichtlichkeit ist im Text des Ergebnisteils und in den Diagrammen der Standardfehler (SF) als Fehlerbalken eingefügt.

Die Mittelwerte der Startwerte werden in den Diagrammen mit „Kontrolle“ bezeichnet.

### 3. Ergebnisse

Die Ausgangswerte aller vier Medikamentengruppen zeigen keine signifikanten Differenzen in der Sepsis- und der Shamgruppe. Nach einer Auswaschperiode mit reiner KHL im Anschluss an die Medikamentenapplikation erreichen die Werte wieder ihr Ausgangsniveau.

Ausführlich beschrieben werden die Ergebnisse der Sepsisgruppe. Ausgewählte Parameter der Kontrollgruppe werden überwiegend graphisch dargestellt.

Levosimendan hat in der Shamgruppe keinen signifikanten Einfluss auf Herzfrequenz, Kontraktilität und Lusitropie sowie den Index der Koronarreserve. Die Katecholamine hingegen zeigen an den nicht-septischen Herzen dosisabhängig positiv chronotrope, inotrope und lusitrope Effekte. Dabei nimmt der Index der Koronarreserve ab.

In äquimolaren Konzentrationen unterscheiden sich die Wirkungen zwischen der Sepsis- und der Shamgruppe im Hinblick auf das Signifikanzniveau. In der Kontrollgruppe werden erst mit höheren Konzentrationen signifikante Effekte erreicht. Im Vergleich zur Sepsisgruppe zeigt sich eine Rechtsverschiebung der, sonst insgesamt ähnlich verlaufenden, Dosis-Wirkungskurven für die Herzfrequenz sowie für die Kontraktilität und Lusitropie.

Die Kontraktilität steigern alle Katecholamine im Vergleich zur Sepsisgruppe erst mit der nächsthöheren Dosis signifikant. Lusitrope signifikante Effekte von Dobutamin zeigen sich ebenfalls erst in der nächsthöheren Konzentration und die von Dopamin sogar erst mit der übernächsten Konzentration.

Epinephrin erzielt in beiden Gruppen signifikante Effekte in äquimolarer Konzentration. Auf den Index der Koronarreserve beider Gruppen haben Dobutamin und Dopamin jeweils in der gleichen Konzentration einen signifikanten Einfluss. Im Vergleich zur Sepsisgruppe treten erste signifikante Effekte mit Epinephrin bereits in geringerer Konzentration auf. Levosimendan, das den Index der Koronarreserve septischer Herzen mit  $10^{-6}$  M signifikant verändert, hat in der Kontrollgruppe keine signifikanten Wirkungen.

### 3.1 Einfluss auf gemessene direkte kardiale Parameter

#### 3.1.1 Herzfrequenz

Den größten positiv chronotropen Effekt auf die septischen Herzen zeigt Epinephrin ( $10^{-5}$  M) mit einem Anstieg der Frequenz um 33% (vgl. Abb. 8). Eine ähnliche maximale Steigerung (um 29%) bewirkt Dopamin in höherer Dosis ( $10^{-4}$  M). Dobutamin erzielt eine maximale Erhöhung um 21%. Signifikante negativ chronotrope Effekte (Abnahme um 25%) zeigt es in hoher Konzentration ( $10^{-4}$  M). Levosimendan beeinflusst die Herzfrequenz nicht signifikant.

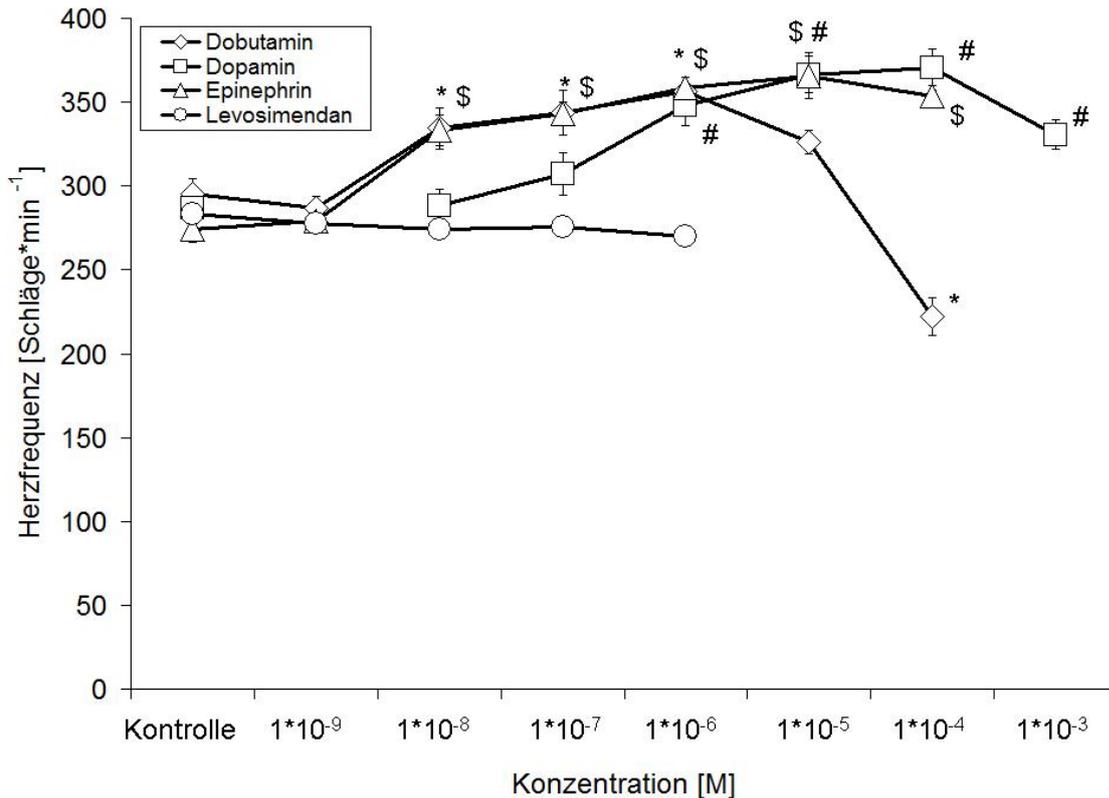
Die positiv chronotropen Effekte von Dobutamin sind im Bereich von  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M signifikant größer als die von Dopamin, weil dessen Wirkungskurve in den niedrigen Konzentrationen flacher ansteigt. Dopamin zeigt trotz des langsamen Anstiegs seiner Wirkungskurve gegenüber Levosimendan zwischen  $10^{-7}$  M und  $10^{-6}$  M signifikant größere Effekte. Im Bereich von  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M sind die positiv chronotropen Wirkungen signifikant gegenüber denen von Dobutamin, das in diesem Bereich keine signifikante Steigerung mehr bzw. sogar eine Abnahme der Herzfrequenz bewirkt. Epinephrin bewirkt mit seinen starken Effekten im Bereich von  $10^{-8}$  M und  $10^{-5}$  M eine signifikante Frequenzsteigerung. In niedrigen Konzentrationen von  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M erhöht es die Frequenz signifikant stärker als Dopamin. Gegenüber den geringen bzw. negativ chronotropen Effekten von Dobutamin in höheren Konzentrationen sind die Wirkungen von Epinephrin signifikant größer.

Dobutamin zeigt, ausgehend von  $295 \pm 10$  Schlägen  $\cdot \text{min}^{-1}$ , mit  $10^{-8}$  M einen signifikanten Anstieg der Herzfrequenz um 13%,  $10^{-7}$  M und  $10^{-6}$  M steigern sie um 17% bzw. 21%. Der durch  $10^{-6}$  M erreichte Zuwachs stellt dabei den Scheitelpunkt der Wirkungskurve dar. Mit  $10^{-5}$  M wird die Herzfrequenz lediglich noch um nicht signifikante 10% erhöht. Bei Zugabe von  $10^{-4}$  M kommt es zum signifikanten Frequenzabfall um 26%.

Dopamin hat bezogen auf den Ausgangswert ( $287 \pm 7$  Schläge  $\cdot \text{min}^{-1}$ ) bei  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M keinen signifikanten Effekt (0,4% bzw. 7%). Erst ab  $10^{-6}$  M wirkt es signifikant positiv chronotrop. Die Frequenz steigt hier um 21%. Eine Zunahme um nahezu ein Drittel (28% bzw. 29%) bewirken Konzentrationen von  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M. Dabei stellt  $10^{-4}$  M den Scheitelpunkt der Dosis-Wirkungskurve dar.  $10^{-3}$  M steigert die Frequenz nur noch um 15%.

Epinephrin erzielt, bezogen auf den Kontrollwert ( $274 \pm 8$  Schläge  $\cdot \text{min}^{-1}$ ), den maximalen Effekt mit einem Anstieg um 33% durch  $10^{-5}$  M. Bereits  $10^{-8}$  M erhöht die Frequenz signifikant um 21%. Eine Zunahme um 25% erzielt  $10^{-7}$  M.  $10^{-6}$  M steigert die

Herzfrequenz um 31%. Der signifikante, positiv chronotrope Einfluss von  $10^{-4}$  M (Erhöhung um 29%) ist geringer als die durch  $10^{-5}$  M zu erzielende Maximalwirkung. Levosimendan zeigt einen leichten Trend zur Senkung der Herzfrequenz, der jeweils mit steigender Konzentration zunimmt. Das statistische Signifikanzniveau erreicht jedoch keiner der Effekte. Mit ansteigender Konzentration fallen zunehmend negativ chronotrope Tendenzen zwischen 2 bis 5% auf.

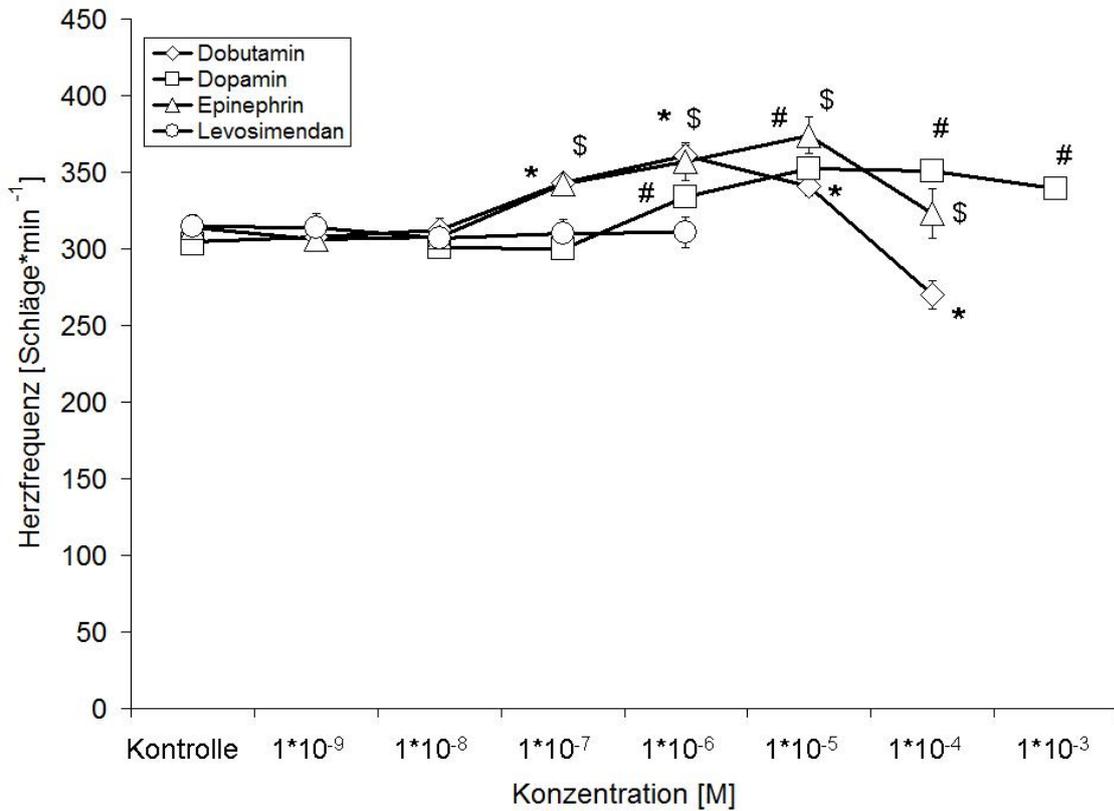


**Abbildung 8:** Direkte Effekte auf die Herzfrequenz an septischen Herzen

Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

- \*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-5}$  M), Levosimendan ( $10^{-7}$  M,  $10^{-4}$  M) und Dopamin ( $10^{-4}$  M)
- #  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M-  $10^{-3}$  M), Levosimendan ( $10^{-7}$  M,  $10^{-6}$  M) und Dobutamin ( $10^{-5}$  M,  $10^{-4}$  M)
- \$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M), Dopamin ( $10^{-8}$  M,  $10^{-7}$  M) und Dobutamin ( $10^{-5}$  M,  $10^{-4}$  M)

Im Vergleich zu den Effekten an septischen Herzen treten signifikante Wirkungen der Katecholamine in der gesunden Kontrollgruppe (Sham) erst mit höheren Konzentrationen auf (vgl. Abb. 9). Levosimendan hingegen zeigt weder in der Sepsis- noch in der Shamgruppe einen signifikanten Einfluss auf die Herzfrequenz.



**Abbildung 9:** Direkte Effekte auf die Herzfrequenz (Shamgruppe)

Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\* P ≤ 0,05 Dobutamin vs. Kontrolle (10<sup>-7</sup> M- 10<sup>-4</sup> M)

# P ≤ 0,05 Dopamin vs. Kontrolle (10<sup>-6</sup> M- 10<sup>-3</sup> M)

\$ P ≤ 0,05 Epinephrin vs. Kontrolle (10<sup>-7</sup> M- 10<sup>-4</sup> M)

### 3.1.2 Linksventrikulärer Druck

Die Katecholamine bewirken am septischen Herzen eine dosisabhängige Steigerung des LVD, die in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen statistische Signifikanz und das Maximum der jeweiligen Dosis-Wirkungskurve erreicht. Levosimendan zeigt mit einer maximalen Erhöhung um lediglich 17% ( $10^{-8}$  M) in keinem Dosisbereich eine signifikante Wirkung (vgl. Abb. 10). Epinephrin erzielt mit einem maximalen Anstieg um 124% ( $10^{-6}$  M) die höchsten LVD-Werte. Eine Steigerung ist mit Dopamin um maximal 121% ( $10^{-3}$  M) und mit Dobutamin um maximal 99% ( $10^{-5}$  M) möglich.

Die Dosis-Wirkungskurve steigt bei Dopamin nur langsam an und zeigt erst ab  $10^{-6}$  M eine signifikante Veränderung gegenüber dem Ausgangswert. Die durch Dobutamin und Epinephrin erzielte Steigerung des LVD ist in einem breiten Konzentrationsbereich ( $10^{-8}$  M bis  $10^{-5}$  M) gegenüber Dopamin und Levosimendan signifikant höher.

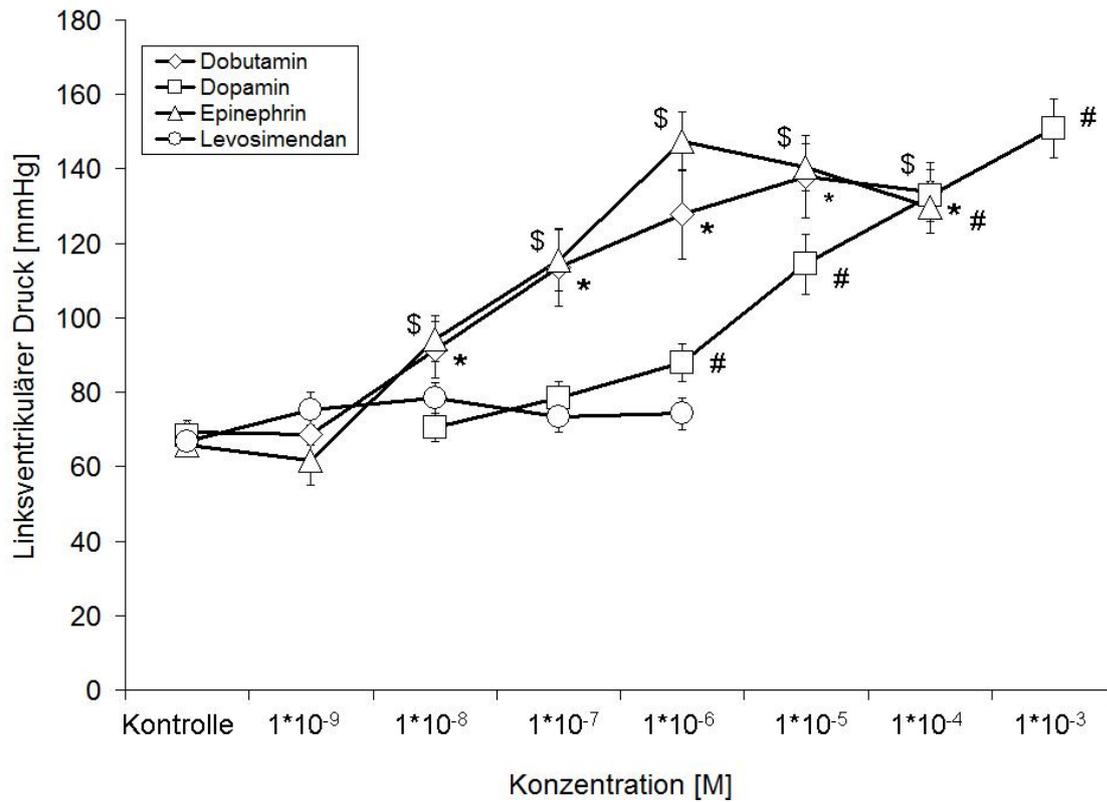
Dobutamin erreicht bereits mit  $10^{-8}$  M Signifikanz. Ausgehend von  $69 \pm 3$  mmHg wird ein signifikanter Anstieg um knapp ein Drittel (32%) erzielt.  $10^{-7}$  M steigert den Druck signifikant um 64%. Eine 84-prozentige Steigerung bewirkt  $10^{-6}$  M.  $10^{-5}$  M verdoppelt die Steigerungsfähigkeit (Erhöhung um 99%) und bildet den Umschlagspunkt der Dosis- Wirkungskurve. Mit  $10^{-4}$  M kann der LVD ebenfalls signifikant erhöht werden, jedoch ist die Steigerungsfähigkeit mit 93% geringer als bei  $10^{-5}$  M.

Dopamin zeigt ab  $10^{-6}$  M statistisch signifikante Wirkungen. Die Veränderungen durch  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M (Erhöhung um 3% bzw. 15%) sind nicht signifikant. Mit  $10^{-6}$  M lässt sich ein signifikanter Anstieg um 29% erzielen. Eine Steigerung um 67% ist mit  $10^{-5}$  M möglich. Bezogen auf initiale  $68 \pm 3$  mmHg steigert  $10^{-4}$  M den LVD um 94%. Die maximale Steigerung erzielt  $10^{-3}$  M (um 121%).

Epinephrin führt bereits ab  $10^{-8}$  M zu einem signifikanten Anstieg des LVD, wobei das Maximum der Wirkungskurve bei  $10^{-6}$  M mit einer Zunahme um 124% erreicht wird.

$10^{-8}$  M bzw.  $10^{-7}$  M erhöhen den LVD um 44% bzw. um 76%. Durch  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M nimmt der LVD ebenfalls signifikant gegenüber dem Kontrollwert zu, doch sind die Erhöhungen um 114% bzw. 97% geringer als bei  $10^{-6}$  M. Mit  $10^{-9}$  M fällt der LVD, ausgehend vom Kontrollwert ( $66 \pm 3$  mmHg), um nicht signifikante 6% ab.

Levosimendan zeigt gegenüber dem Kontrollwert ( $67 \pm 3$  mmHg) im Bereich von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-6}$  M zwar eine Tendenz zur positiv inotropen Wirkung, diese erreicht jedoch mit einer Steigerungsfähigkeit um 10% ( $10^{-7}$  M) bis maximal 17% ( $10^{-8}$  M) keinerlei statistische Signifikanz.



**Abbildung 10:** Direkte Effekte auf den linksventrikulären Druck an septischen Herzen

Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M) und Dopamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M-  $10^{-3}$  M) und Levosimendan ( $10^{-6}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M), Dopamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M) und Dobutamin ( $10^{-6}$  M)

### 3.1.3 Kontraktilität

Die höchsten Maximalwerte an septischen Herzen erreichen Epinephrin ( $10^{-6}$  M) und Dopamin ( $10^{-3}$  M) mit einer prozentualen Zunahme um 205% bzw. 204%. Die Dosis-Wirkungskurven von Dobutamin und Epinephrin verlaufen ähnlich und zeigen lediglich bei  $10^{-6}$  M für Epinephrin signifikant unterschiedliche Werte (vgl. Abb. 11). Dobutamin erreicht seinen Maximaleffekt bei  $10^{-5}$  M mit einer Steigerung um 170 %. Ohne statistische Signifikanz bleiben die Wirkungen von Levosimendan mit einer maximalen Steigerung um 14% ( $10^{-8}$  M). Im Bereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-5}$  M sind die steigernden Effekte von Epinephrin signifikant zu denen von Dopamin und Levosimendan. Die Kontraktilitätszunahme ist mit Dobutamin im Bereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-5}$  M gegenüber Dopamin und Levosimendan signifikant größer.

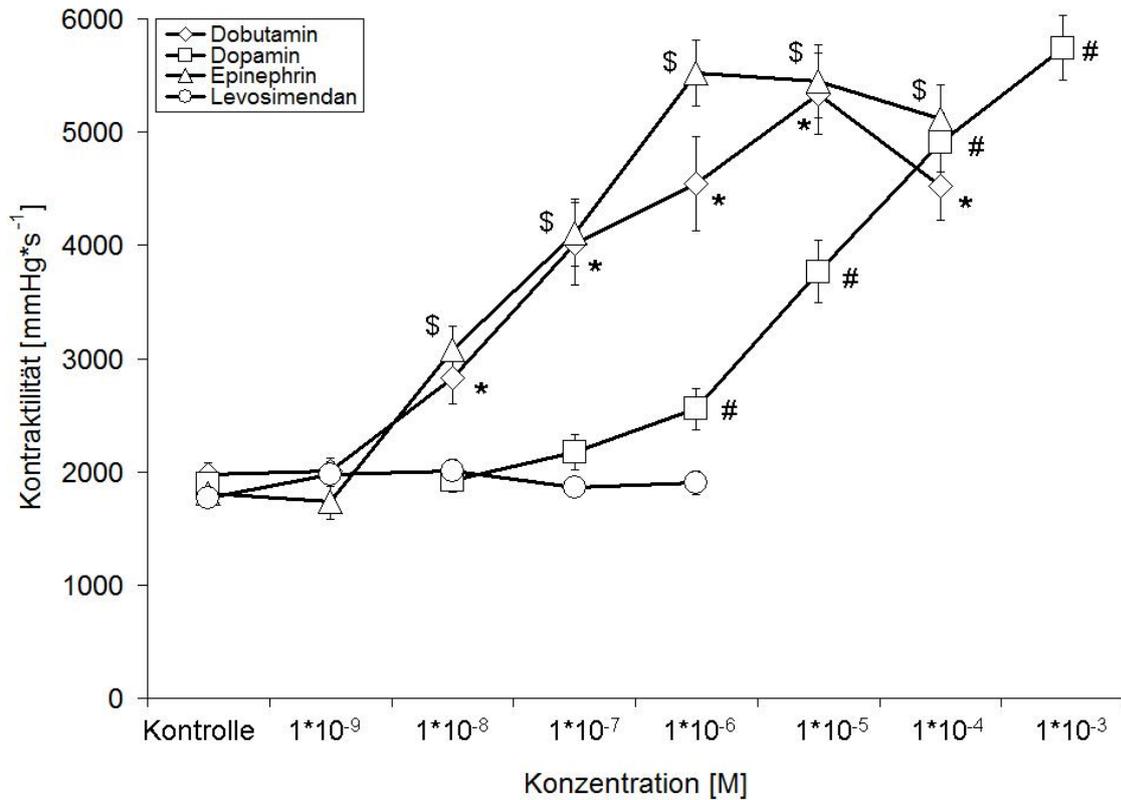
Dobutamin steigert im Konzentrationsbereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-4}$  M die Kontraktilität mit jeder Dosis signifikant und erreicht die maximale Steigerungsfähigkeit bei  $10^{-5}$  M.

Bezogen auf den Kontrollwert ( $1979 \pm 106 \text{ mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$ ) erhöht bereits  $10^{-8}$  M die Druckerhöhungsgeschwindigkeit um 43%. Durch Zugabe von  $10^{-7}$  M findet eine Verdopplung statt (Zunahme um 103%). Die Kontraktilität wird mit  $10^{-6}$  M um 130% erhöht. Mit einer Steigerung um 170% wird bei  $10^{-5}$  M der Umschlagspunkt der Wirkungskurve erreicht.  $10^{-4}$  M zeigt ebenfalls eine signifikante inotrope Wirkung, allerdings bleibt diese mit einem Zuwachs um 129% unterhalb der von  $10^{-5}$  M (170%).

Dopamin erzielt mit  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M lediglich Änderungen um 2% bzw. 15%. Ausgehend von initialen  $1891 \pm 60 \text{ mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$  sind die Effekte ab einer Konzentration von  $10^{-6}$  M signifikant und nehmen mit jeweils steigender Dosis zu.  $10^{-6}$  M erhöht die Kontraktilität um 35% und  $10^{-5}$  M verdoppelt sie (Zunahme um 99%). Einen noch größeren positiv inotropen Effekt hat  $10^{-4}$  M, das eine Steigerung um 159% ermöglicht. Mit  $10^{-3}$  M ist ein noch größerer Anstieg möglich (um maximal 204%). Ein Umschlagen der Dosis-Wirkungskurve wird nicht erreicht.

Epinephrin steigert mit  $10^{-8}$  M die Kontraktilität um 70% gegenüber dem Kontrollwert ( $1808 \pm 84 \text{ mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Bereits um 127% steigert  $10^{-7}$  M die Inotropie. Ebenfalls positiv inotrope Effekte haben  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M mit einem signifikanten Anstieg um 201% bzw. 183%. Die maximale Wirkung erzielt  $10^{-6}$  M. Es steigert die Kontraktilität um das Vierfache (205%).

Levosimendan hat keine signifikanten positiv inotropen Wirkungen. Ausgehend vom Kontrollwert ( $1765 \pm 198 \text{ mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$ ) werden Veränderungen um 5% bis 14% erzielt. Der maximale Effekt wird mit  $10^{-8}$  M und einer nicht signifikanten Zunahme um 14% erreicht.



**Abbildung 11:** Direkte Effekte auf die Kontraktilität an septischen Herzen

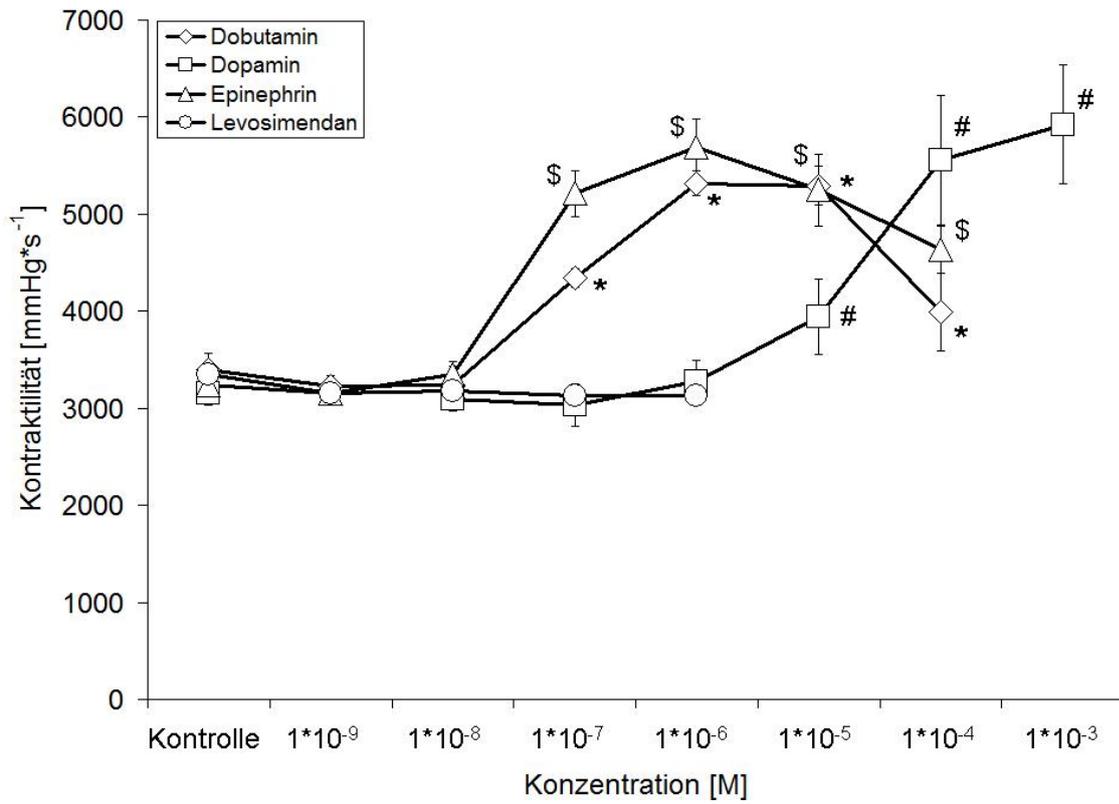
Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M) und Dopamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M-  $10^{-3}$  M) und Levosimendan ( $10^{-6}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M), Dopamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M) und Dobutamin ( $10^{-6}$  M)

Die Katecholamine zeigen am nicht-septischen Herzen erste signifikante Effekte mit höheren Konzentrationen als am septischen Herzen. Levosimendan hat, wie auch in der Sepsisgruppe, keinen signifikanten Einfluss auf die Kontraktilität der gesunden Herzen (vgl. Abb. 12).



**Abbildung 12:** Direkte Effekte auf die Kontraktilität (Shamgruppe)

Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-5}$  M-  $10^{-3}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M)

### 3.1.4 Lusitropie

Die Dosis-Wirkungskurven verhalten sich bei den septischen Herzen im Hinblick auf die Lusitropie spiegelbildlich zu denen der Kontraktilität. Auch hier erzielen Epinephrin und Dopamin die höchsten Werte. Den größten Maximaleffekt hat Epinephrin ( $10^{-6}$  M) mit einer Änderung um 244%, die signifikant höher ist als bei den anderen Medikamenten. Die Kurven von Epinephrin und Dobutamin verlaufen relativ ähnlich, unterscheiden sich jedoch signifikant bei  $10^{-6}$  M und  $10^{-4}$  M, wo Epinephrin größere Effekte zeigt. Trotz eines zunächst flachen Anstiegs der Dosis-Wirkungskurve erzielt Dopamin in der höchsten Konzentration ( $10^{-3}$  M) mit einer Änderung um 232% die zweitgrößte maximale Zunahme aller Medikamente, wobei der Umschlagspunkt der Dosis-Wirkungskurve bei Dopamin nicht erreicht wird.

Die Maximalwirkung von Dobutamin (Zunahme um 195% mit  $10^{-5}$  M) ist geringer als die von Dopamin und Epinephrin. Signifikante Effekte setzten bei Dobutamin jedoch bereits bei wesentlich niedrigerer Dosis ein (vgl. Abb. 13). Levosimendan hat, bei einer maximalen Steigerung um 18%, keine signifikante Wirkung und ist sowohl gegen Dobutamin als auch Epinephrin signifikant unterschiedlich im Bereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-5}$  M. Gegenüber Dopamin ist es in höheren Konzentrationen signifikant schwächer wirksam.

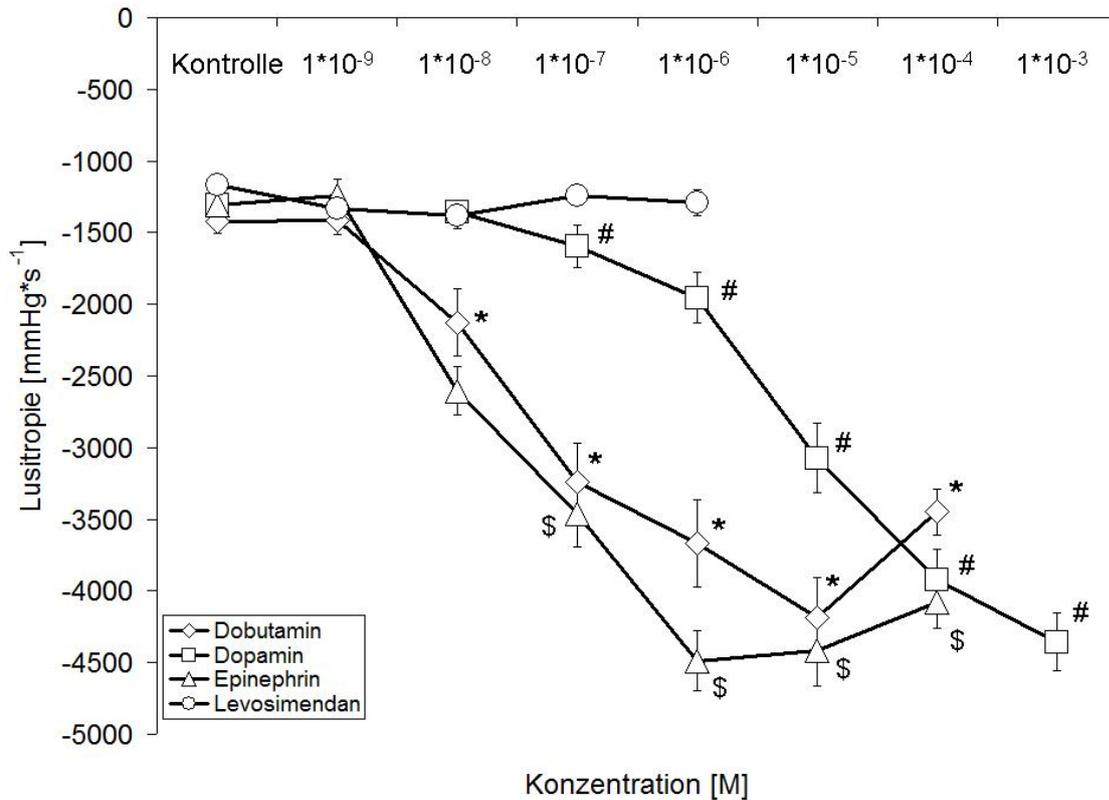
Das Wirkmaximum von Dobutamin wird bei  $10^{-5}$  M erreicht. Bezogen auf den Ausgangswert ( $-1421 \pm 86$  mmHg  $\bullet$  s $^{-1}$ ) entspricht das einer signifikanten Zunahme um 195%.  $10^{-8}$  M bewirkt einen Anstieg um 50% und  $10^{-7}$  M steigert die Relaxation um 128%. Auch mit  $10^{-6}$  M und  $10^{-4}$  M treten signifikante positiv lusitrope Effekte auf. Diese entsprechen einem Anstieg um 158% und 143%.

Dopamin hat ab  $10^{-7}$  M einen signifikanten Einfluss auf die kardiale Relaxation. Ausgehend vom initialen Wert ( $-1311 \pm 51$  mmHg  $\bullet$  s $^{-1}$ ) wird mit  $10^{-7}$  M und  $10^{-6}$  M die Druckabnahmegeschwindigkeit signifikant um 22% bzw. 49% erhöht.  $10^{-5}$  M steigert die Relaxation um knapp 134%. Eine weitere Zunahme bewirken  $10^{-4}$  M und  $10^{-3}$  M. Sie erzielen, ohne den Umschlagspunkt der Dosis-Wirkungskurve zu erreichen, eine Steigerung um 199% und 232%.

Epinephrin hat, bezogen auf den Kontrollwert ( $-1304 \pm 67$  mmHg  $\bullet$  s $^{-1}$ ), signifikante Wirkungen auf die Lusitropie erst ab einer Konzentration von  $10^{-7}$  M. Hier nimmt die Lusitropie signifikant um 165% zu. Die Effekte von  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M sind ebenfalls signifikant. Die Druckabfallgeschwindigkeit steigt hier um 239% bzw. 213%. Den maximalen Effekt erzielt  $10^{-6}$  M mit einer Erhöhung um 244%.

Die Effekte von Levosimendan bleiben ohne jegliche Signifikanz. Bezogen auf den Kontrollwert ( $-1167 \pm 61$  mmHg  $\bullet$  s $^{-1}$ ) ist die Wirkung von  $10^{-8}$  M mit einer Zunahme um

18% am größten, jedoch wird das Signifikanzniveau nicht erreicht. Die folgenden höheren Konzentrationen ( $10^{-7}$  M und  $10^{-6}$  M) erzielen lediglich Modifikationen um 6% und 11%.



**Abbildung 13:** Direkte Effekte auf die Lusitropie an septischen Herzen

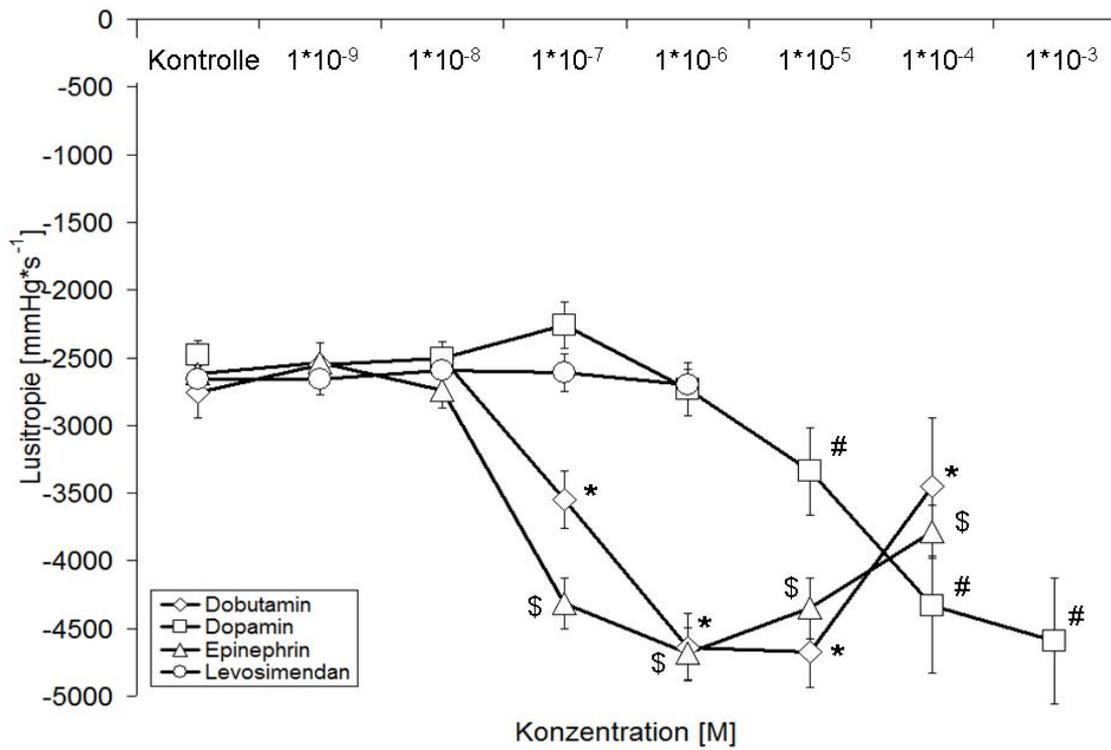
Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Epinephrin ( $10^{-6}$  M,  $10^{-4}$  M) und Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-3}$  M), Epinephrin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M), Levosimendan ( $10^{-6}$  M) und Dobutamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M), Dobutamin ( $10^{-6}$  M,  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M) und Dopamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M)

In der Shamgruppe sind bei Dobutamin und Dopamin am gesunden Herzen höhere Konzentrationen für signifikante Wirkungen nötig. Epinephrin zeigt keine Linksverschiebung der Wirkungskurve. Wie in der Sepsisgruppe kommt es mit  $10^{-7}$  M zu ersten signifikanten Effekten. Auf die Lusitropie hat lediglich Levosimendan in beiden Gruppen keinen signifikanten Einfluss (vgl. Abb. 14).



**Abbildung 14:** Direkte Effekte auf die Lusitropie (Shamgruppe)

Darstellung der Werte als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-5}$  M-  $10^{-3}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M)

### 3.1.5 Gewichtsbezogener Koronarfluss

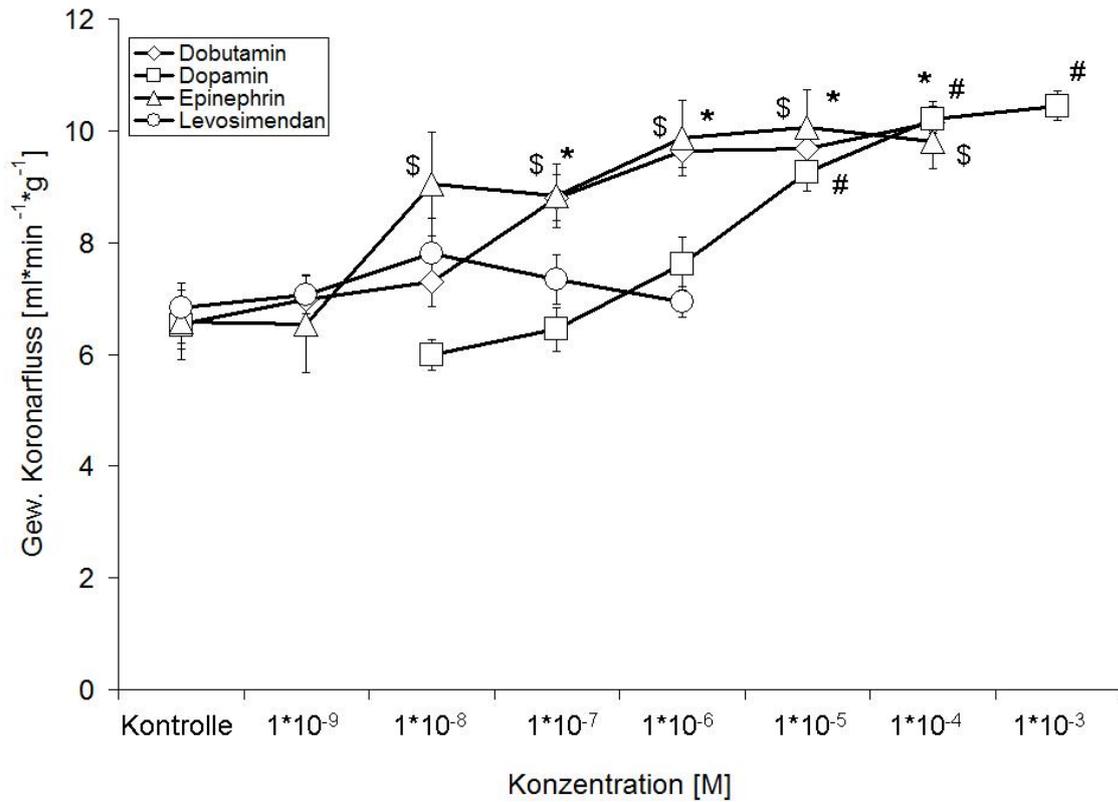
Die Katecholamine erhöhen den Koronarfluss der septischen Herzen jeweils um mehr als 50%. Die höchste Zunahme bewirkt Dopamin mit einer maximalen Steigerung um 60% ( $10^{-3}$  M). Dobutamin steigert den Koronarfluss um 55% ( $10^{-4}$  M) und Epinephrin um 53% ( $10^{-5}$  M). Levosimendan zeigt in niedriger Dosierung eine Tendenz zur Steigerung des Koronarflusses, jedoch bleibt dieser Effekt mit maximal 14% ( $10^{-8}$  M) ohne statistische Signifikanz (vgl. Abb. 15).

Erste signifikante Änderungen gegenüber dem Kontrollwert zeigen sich bei Epinephrin bereits ab  $10^{-8}$  M, bei Dobutamin ab  $10^{-7}$  M und bei Dopamin aufgrund der flach ansteigenden Dosis-Wirkungskurve erst mit  $10^{-5}$  M. Ein Umschlag der Dosis-Wirkungskurve tritt bei Epinephrin bereits mit  $10^{-5}$  M ein. Die Effekte von Dobutamin sind gegenüber denen von Dopamin bei  $10^{-7}$  M und  $10^{-6}$  M signifikant größer. Dobutamin erzielt mit  $10^{-4}$  M seine maximale Wirkung mit einer Steigerung des Koronarflusses um 55%. Die erste signifikante Zunahme wird mit  $10^{-7}$  M erreicht. Hier erhöht sich der Koronarfluss um 35%. Um die Hälfte des Kontrollwertes (48%) steigern  $10^{-5}$  M und  $10^{-6}$  M den koronaren Fluss. Die beiden geringsten Konzentrationen zeigen steigende Tendenzen um 12% ( $10^{-8}$  M) bzw. 7% ( $10^{-9}$  M), jedoch sind diese nicht signifikant.

In Bezug zum Kontrollwert ( $7 \pm 0,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) zeigt Dopamin erst ab  $10^{-5}$  M signifikante Effekte auf den Fluss und erhöht ihn um 42%. Eine Steigerung um 57% bewirkt  $10^{-4}$  M. Den Maximaleffekt erzielt es mit  $10^{-3}$  M (Zunahme um 60%). Im Bereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-6}$  M bestehen gegenüber Epinephrin sowie im Bereich von  $10^{-7}$  M und  $10^{-6}$  M gegenüber Dobutamin signifikant niedrigere Effekte.

Epinephrin erreicht das Maximum seiner Dosis-Wirkungskurve mit  $10^{-5}$  M. Es steigert den Koronarfluss um 53%.  $10^{-8}$  M erhöht ihn bereits um 38% und  $10^{-7}$  M um gut ein Drittel. Mit  $10^{-6}$  M bzw.  $10^{-4}$  M lässt sich eine Zunahme um 50% bzw. um 49% erreichen.

Levosimendan zeigt im Gegensatz zu den Katecholaminen keine signifikante Wirkung auf den Koronarfluss. Es bestehen minimale steigende Tendenzen, die ihr Maximum bei  $10^{-8}$  M mit einer Erhöhung um 14% gegenüber dem Kontrollwert erreichen. Die durch die anderen Konzentrationen erzielten Modifikationen um 2 bis 7% bleiben, wie alle Änderungen gegenüber dem Ausgangswert, ohne statistische Signifikanz.



**Abbildung 15:** Direkte Effekte auf den gew. Koronarfluss an septischen Herzen

Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M), Dopamin ( $10^{-7}$  M,  $10^{-6}$  M) und Levosimendan ( $10^{-6}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-5}$  M-  $10^{-3}$  M), Epinephrin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M) und Levosimendan ( $10^{-8}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M) und Levosimendan ( $10^{-7}$  M,  $10^{-6}$  M)

## 3.2 Einfluss auf Rechenparameter des Sauerstoffmetabolismus

### 3.2.1 Sauerstoffangebot

Die Katecholamine erhöhen das Sauerstoffangebot am septischen Herzen jeweils in ähnlichem Ausmaß. Dopamin steigert das  $\text{DO}_2$  um maximale 65% ( $10^{-3}$  M), Epinephrin um 60% ( $10^{-5}$  M) und Dobutamin um 59% ( $10^{-4}$  M). Ihre Wirkung unterscheidet sich in äquimolaren Konzentrationen im Bereich von  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M nicht signifikant voneinander. Der Maximaleffekt der Dosis-Wirkungskurve von Levosimendan liegt mit einer signifikanten Zunahme um 14% bei  $10^{-8}$  M am niedrigsten (vgl. Abb. 16).

Epinephrin zeigt bereits in einer geringeren Dosis als Dobutamin erste signifikante Effekte ( $10^{-8}$  M versus  $10^{-7}$  M) und beide erzielen im Vergleich zu Dopamin eine signifikant höhere Steigerung des  $\text{DO}_2$  zwischen  $10^{-8}$  M und  $10^{-6}$  M. Dessen Dosis-Wirkungskurve nimmt einen flachen Anstieg und erreicht erst ab einer Konzentration von  $10^{-5}$  M das Signifikanzniveau. Levosimendan steigert lediglich mit  $10^{-8}$  M das Sauerstoffangebot signifikant. Dieser Zuwachs ist gegenüber Dopamin, nicht jedoch gegenüber den anderen Katecholaminen, signifikant.

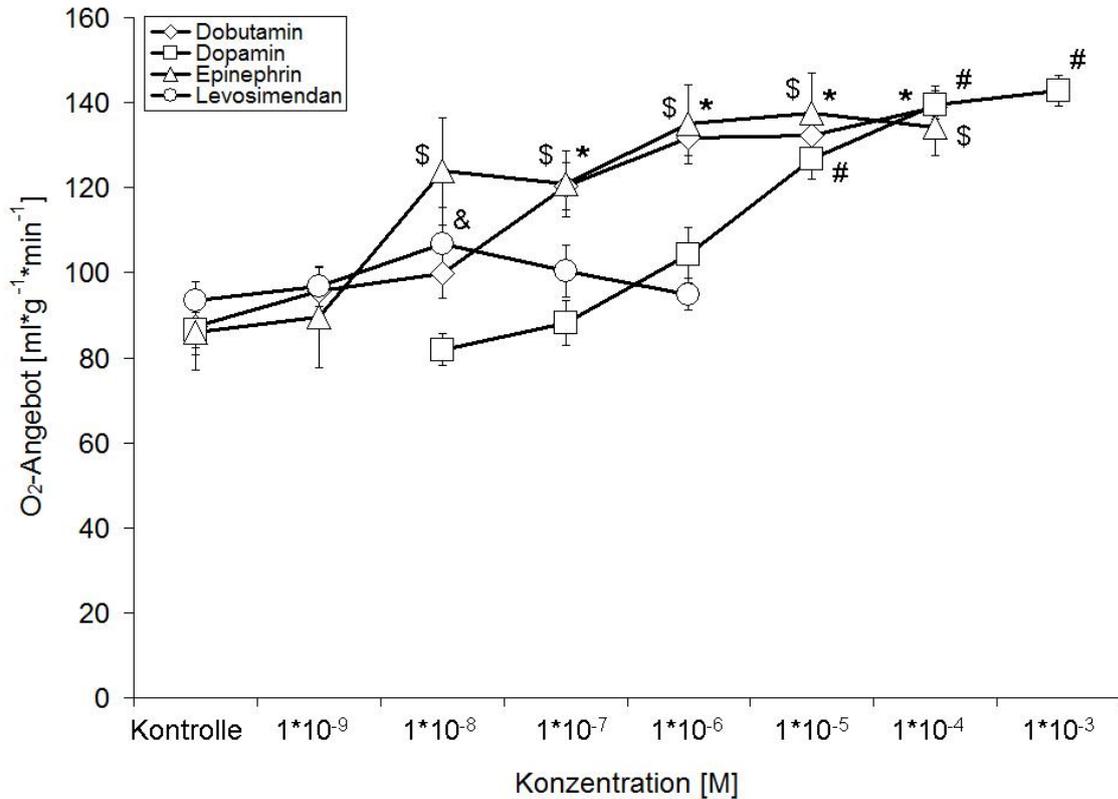
Bezogen auf den Ausgangswert ( $87 \pm 7 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) zeigt Dobutamin mit  $10^{-7}$  M eine erste signifikante Anhebung des Sauerstoffangebotes um 38%. Eine weitere Steigerung um 51% bzw. 52% bewirken  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M. Die Applikation von  $10^{-4}$  M führt nochmals zu einer Erhöhung des Angebotes. Sie ist mit einer Steigerungsfähigkeit um 59% am größten.

Dopamin zeigt signifikante Effekte gegenüber dem Kontrollwert ( $87 \pm 4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) erst ab einer Konzentration von  $10^{-5}$  M. Die Modifikationen durch  $10^{-8}$  M (5,3%),  $10^{-7}$  M (2%) und  $10^{-6}$  M (21%) sind nicht signifikant. Alle weiteren Konzentrationen haben signifikante Effekte.  $10^{-5}$  M erhöht das Angebot um 47%. Mit  $10^{-4}$  M kommt es zu einer Steigerung um 61%.  $10^{-3}$  M erzielt die maximale Wirkung sowohl im Rahmen der eigenen Dosis-Wirkungskurve als auch im Vergleich zu den Wirkungen der anderen Katecholamine. Hier wird das  $\text{DO}_2$  um maximale 65% angehoben.

Epinephrin zeigt signifikante Erhöhungen des Sauerstoffangebotes ab Konzentrationen von  $10^{-8}$  M. Die Steigerung entspricht hier einer Änderung um 44% gegenüber dem Kontrollwert ( $86 \pm 9 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ). Mit  $10^{-7}$  M steigt das Angebot um 41%. Ebenfalls signifikant ist der Anstieg um 57% mit  $10^{-6}$  M. Durch die höchste untersuchte Konzentration von  $10^{-4}$  M sind signifikante Änderungen um 56% möglich. Das Maximum der Dosis-Wirkungskurve erzielt  $10^{-5}$  M mit einer Steigerung um 60%.

Levosimendan hat steigernde Tendenzen, die jedoch ausschließlich bei  $10^{-8}$  M mit einer Zunahme um 14% statistisch signifikant werden. Im Vergleich zum Kontrollwert

( $94 \pm 4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) führen die übrigen Konzentrationen lediglich zu nicht signifikanten Modifikationen um 2% bis 7% ( $10^{-9} \text{ M}$ : 3%,  $10^{-7} \text{ M}$ : 7%,  $10^{-6} \text{ M}$ : 2%).



**Abbildung 16:** Direkte Effekte auf das myokardiale O<sub>2</sub>- Angebot an septischen Herzen

Darstellung der Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-7} \text{ M}$ -  $10^{-4} \text{ M}$ ), Levosimendan ( $10^{-7} \text{ M}$ ,  $10^{-6} \text{ M}$ ) und Dopamin ( $10^{-8} \text{ M}$ -  $10^{-6} \text{ M}$ )

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-5} \text{ M}$ -  $10^{-3} \text{ M}$ ) und Levosimendan ( $10^{-8} \text{ M}$ )

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8} \text{ M}$ -  $10^{-4} \text{ M}$ ), Dopamin ( $10^{-8} \text{ M}$ -  $10^{-6} \text{ M}$ ) und Levosimendan ( $10^{-6} \text{ M}$ )

&  $P \leq 0,05$  Levosimendan vs. Kontrolle ( $10^{-8} \text{ M}$ ) und Dopamin ( $10^{-8} \text{ M}$ )

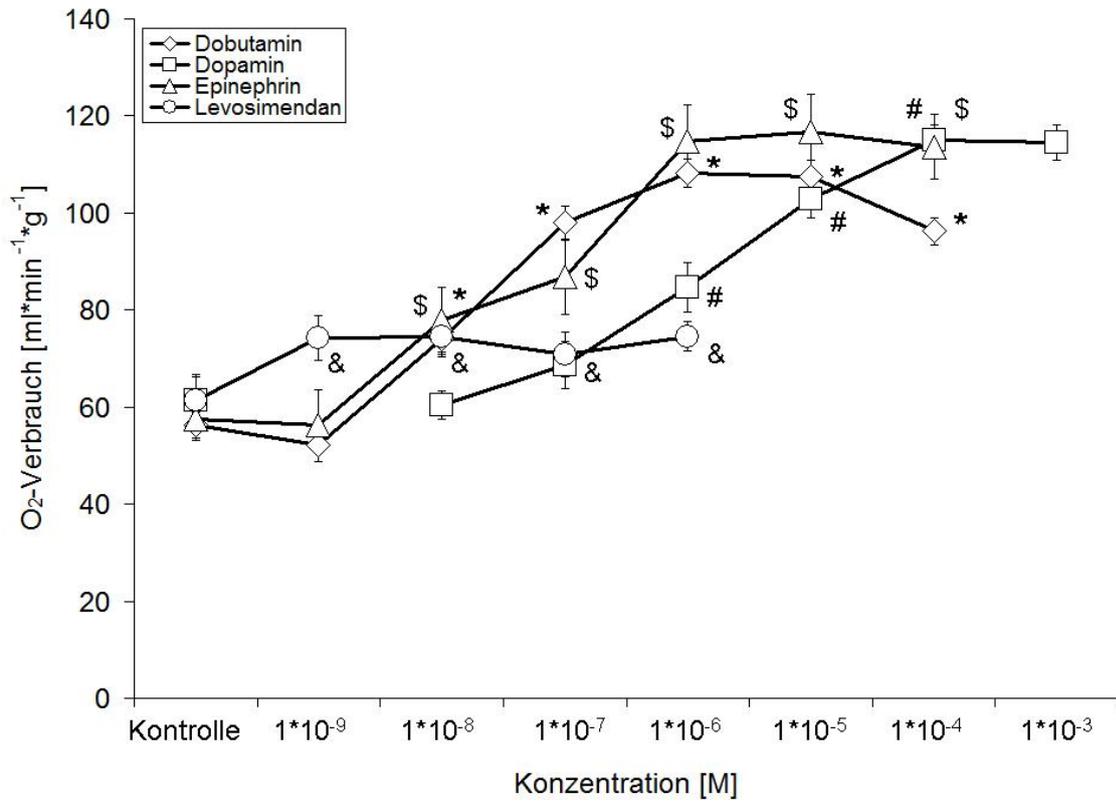
### 3.2.2 Myokardialer Sauerstoffverbrauch

Bereits in niedriger Dosis führen alle untersuchten Pharmaka zu einer signifikanten Erhöhung des myokardialen Sauerstoffverbrauches. Lediglich Dopamin steigert das  $MVO_2$  erst ab einem mittleren Dosisbereich ( $10^{-6}$  M) signifikant. Nach Applikation von Epinephrin ( $10^{-5}$  M) wird der Verbrauch maximal gesteigert (um 103%). Dobutamin erreicht bei  $10^{-6}$  M seinen Maximalwert (Steigerung um 92%) und Dopamin mit  $10^{-4}$  M (Erhöhung um 87%). Levosimendan führt in jeder Dosierung zu einer signifikanten Anhebung des Sauerstoffverbrauches und erreicht eine maximale Zunahme um 21% bei  $10^{-8}$  M und  $10^{-6}$  M (vgl. Abb. 17).

Dobutamin erhöht, außer mit  $10^{-9}$  M (Änderung um 8%), in allen Konzentrationen signifikant den Sauerstoffverbrauch. Der maximale Anstieg (um 92%) erfolgt nach Zugabe von  $10^{-6}$  M. Bezogen auf den Ausgangswert ( $56 \pm 3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) erhöht bereits  $10^{-8}$  M den Verbrauch signifikant um 32%. Mit  $10^{-7}$  M wird der  $O_2$ -Verbrauch um 74% gesteigert. Bei  $10^{-5}$  M ist er um 91% erhöht.  $10^{-4}$  M bewirkt einen Anstieg um 71%. Dopamin steigert den myokardialen Sauerstoffverbrauch bezogen auf den initialen Kontrollwert ( $61 \pm 5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) erst ab einer Konzentration von  $10^{-6}$  M signifikant. Der  $O_2$ -Verbrauch wird durch  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M um 38% bzw. 68% signifikant erhöht.  $10^{-4}$  M erzielt das Maximum der Dosis-Wirkungskurve mit einer Erhöhung des  $MVO_2$  um 87%. Die höchste Konzentration von  $10^{-3}$  M führt zu einer vergleichbaren Steigerung (um 86%).

Bei Epinephrin findet ein signifikanter Anstieg des Sauerstoffverbrauches im Bereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-4}$  M statt. Gegenüber dem Kontrollwert ( $57 \pm 4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) erhöhen  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M den Sauerstoffverbrauch um 36% bzw. 51%. Den maximalen Anstieg um mehr als das Doppelte (103%) erzielt  $10^{-5}$  M. Ebenfalls signifikant steigern  $10^{-6}$  M (Anstieg um 100%) und  $10^{-4}$  M (Anstieg um 98%) den Sauerstoffverbrauch.

Levosimendan hat, bezogen auf den Kontrollwert ( $61 \pm 5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ), in allen Konzentrationen einen signifikanten Einfluss. Vergleichbare Werte erzielen  $10^{-9}$  M und  $10^{-8}$  M (jeweils 21%) sowie  $10^{-6}$  M (22%). Der Zuwachs ist bei  $10^{-7}$  M am geringsten ausgeprägt (Steigerung um 15%).



**Abbildung 17:** Direkte Effekte auf den Sauerstoffverbrauch an septischen Herzen

Darstellung der Werte als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-7}$  M-  $10^{-5}$  M) und Dopamin ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M,  $10^{-4}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-8}$  M), Epinephrin ( $10^{-8}$  M,  $10^{-6}$  M) und Dobutamin ( $10^{-4}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-4}$  M), Dopamin ( $10^{-8}$  M,  $10^{-6}$  M), Levosimendan ( $10^{-6}$  M) und Dobutamin ( $10^{-4}$  M)

&  $P \leq 0,05$  Levosimendan vs. Kontrolle ( $10^{-9}$  M-  $10^{-6}$  M)

### 3.2.3 Sauerstoffextraktion

Die Sauerstoffextraktion nimmt bei allen Medikamenten in fast allen Konzentrationen signifikant zu. Die prozentuale Steigerung an den septischen Herzen ist mit  $10^{-6}$  M bei Dobutamin (58%) und Epinephrin (56%) am größten. Levosimendan ( $10^{-6}$  M) erhöht die Extraktion um maximale 46%. Die geringste maximale Anhebung (38%) findet bei Dopamin mit  $10^{-4}$  M statt (vgl. Abb. 18).

Dobutamin erhöht die Extraktion signifikant bei  $10^{-6}$  M gegenüber Levosimendan, bei  $10^{-7}$  M gegenüber Epinephrin sowie bei  $10^{-4}$  M gegenüber Dopamin und Epinephrin. Dopamin erzielt mit  $10^{-7}$  M signifikante Veränderungen der Extraktion gegenüber Epinephrin und Levosimendan. Bei  $10^{-6}$  M sind die Ergebnisse signifikant unterschiedlich zu denen von Levosimendan und Dopamin.

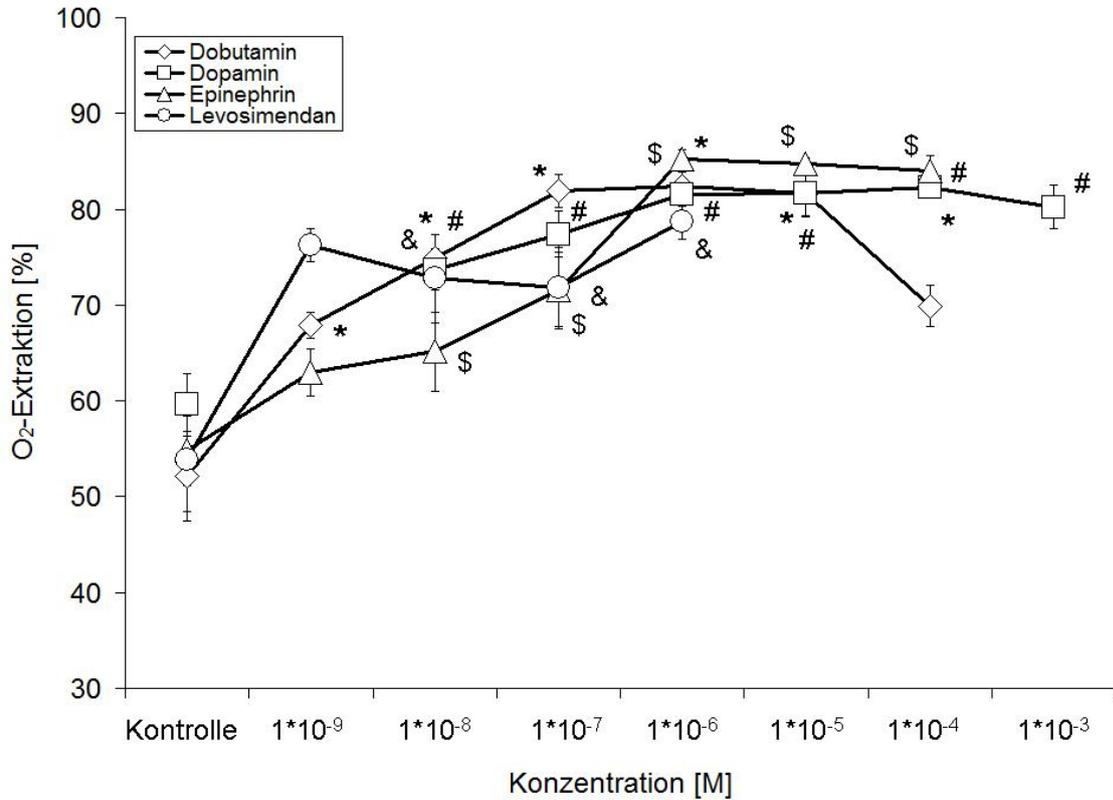
Dobutamin steigert die Sauerstoffausschöpfung bereits in der geringsten Konzentration signifikant. Ausgehend von initialen  $52 \pm 5\%$  wird sie mit  $10^{-9}$  M um ein Drittel erhöht (30%).  $10^{-8}$  M bewirkt einen Anstieg um 44%. Ein Wirkplateau wird über den Bereich von  $10^{-7}$  M bis  $10^{-5}$  M erreicht, wobei der größte Effekt mit einer signifikanten Steigerung um 58% unter Zugabe von  $10^{-6}$  M auftritt.  $10^{-7}$  M und  $10^{-5}$  M steigern ebenfalls die Extraktion gegenüber dem initialen Wert und erzielen eine Zunahme um 57%. Bei Applikation von  $10^{-4}$  M nimmt die Sauerstoffausschöpfung signifikant um ein Drittel (34%) zu.

Dopamin steigert in allen Konzentrationen signifikant die Sauerstoffextraktion. Bezogen auf den Kontrollwert ( $60 \pm 3\%$ ) wird sie mit  $10^{-8}$  M um 24% erhöht.  $10^{-7}$  M vergrößert die Ausschöpfung um 30%. Ähnliche Werte werden jeweils mit  $10^{-5}$  M und  $10^{-6}$  M erzielt. Beide bewirken einen Anstieg um 37%. Die Extraktionsrate ist mit einer Zunahme um 38% bei  $10^{-4}$  M am größten. Hier liegt das Maximum der Dosis-Wirkungskurve, denn mit  $10^{-3}$  M werden nur noch 35% mehr Sauerstoff extrahiert.

Epinephrin steigert in allen Konzentrationen die Sauerstoffextraktion, wobei  $10^{-9}$  M lediglich eine nicht signifikante Tendenz zeigt (Erhöhung um 15%). Die Effekte aller anderen Dosierungen erreichen, bezogen auf den Kontrollwert ( $55 \pm 4\%$ ), statistische Signifikanz. Mit  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M steigt die Extraktionsrate signifikant um 19% bzw. 31% an. Auch  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M verbessern signifikant die Extraktion (um 55% bzw. um 53%). Ihre Effekte sind jedoch niedriger als die von  $10^{-6}$  M, die mit einer Erhöhung um 56% das Maximum der Dosis-Wirkungskurve bilden.

Levosimendan zeigt in allen Konzentrationen eine signifikante Anhebung der Sauerstoffextraktion im Vergleich zum Kontrollwert ( $54 \pm 5\%$ ). Bereits in der niedrigsten Konzentration von  $10^{-9}$  M findet eine deutliche Steigerung der Extraktionsrate um 42% statt. Etwas geringer, aber ebenfalls signifikant, sind die Effekte von  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M. Sie erhöhen die Sauerstoffausschöpfung um 35% bzw. 33%.

Der größte Anstieg wird mit  $10^{-6}$  M erreicht. Hier steigt die Extraktionsrate um signifikante 46%.



**Abbildung 18:** Direkte Effekte auf die Sauerstoffextraktion an septischen Herzen

Darstellung der Werte als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-9}$  M-  $10^{-4}$  M), Levosimendan ( $10^{-9}$  M), Epinephrin ( $10^{-7}$  M,  $10^{-4}$  M) und Dopamin ( $10^{-4}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-3}$  M), Epinephrin ( $10^{-7}$  M) und Levosimendan ( $10^{-7}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M- $10^{-4}$  M), Dopamin ( $10^{-6}$  M) und Levosimendan ( $10^{-6}$  M)

&  $P \leq 0,05$  Levosimendan vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-6}$  M)

### 3.2.4 Index der Sauerstoffreserve

Den stärksten Abfall der koronaren Sauerstoffreserve am septischen Herzen bewirkt Epinephrin ( $10^{-6}$  M), der Index fällt um 26%. Bei Dobutamin nimmt der Index um maximal 24% und bei Levosimendan um maximal 22% ab (beide  $10^{-6}$  M). Zum geringsten Abfall des Angebots-Bedarfs-Quotienten (um 19% bei  $10^{-4}$  M) kommt es bei Dopamin (vgl. Abb. 19). Im Bereich von  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M unterscheiden sich die Werte aller vier untersuchten Pharmaka nicht signifikant voneinander. Zu einer leichten Zunahme der Koronarreserve kommt es bei Epinephrin ( $10^{-9}$  M und  $10^{-8}$  M). Diese Erhöhung ist nicht signifikant gegenüber dem Startwert, jedoch sind die Werte signifikant höher als die der anderen Katecholamine ( $10^{-8}$  M) bzw. als die von Levosimendan ( $10^{-9}$  M). In den geringeren Konzentrationen zeigt sich bei Epinephrin eine stabilere Tendenz als bei den anderen Medikamenten, zur signifikanten Senkung kommt es erst ab  $10^{-6}$  M.

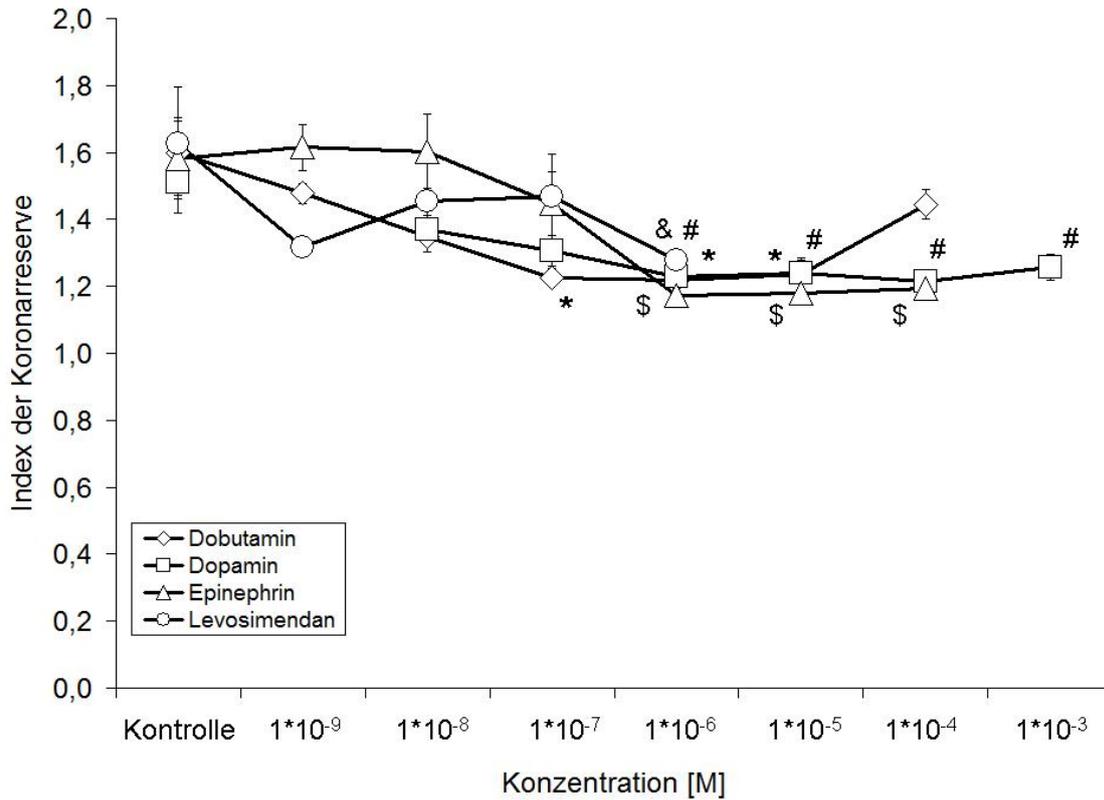
Dobutamin reduziert in allen Konzentrationen ausgehend vom Kontrollwert ( $1,6 \pm 0,1$ ) die Koronarreserve. Nicht signifikant sind die Effekte von  $10^{-9}$  M und  $10^{-8}$  M mit einer Abnahme um 7,5% bzw. 15,5%. Die nach Applikation von  $10^{-4}$  M ermittelte Koronarreserve ist um nicht signifikante 9,6% reduziert. Ein Plateau mit jeweils signifikant veränderten Werten wird im Bereich von  $10^{-7}$  M bis  $10^{-5}$  M erreicht.  $10^{-7}$  M reduziert den Quotienten um 23,3%. Konzentrationen von  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M führen zu einer signifikanten Senkung der Koronarreserve um 23,8% bzw. 22,7%.

Dopamin reduziert ebenfalls in allen Dosierungen die Koronarreserve, wobei mit  $10^{-4}$  M das Maximum der Dosis-Wirkungskurve erreicht wird. Bezogen auf den initialen Kontrollwert ( $1,5 \pm 0,1$ ) sind die Effekte bei  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M am geringsten und nicht signifikant. Die Reserve nimmt um 9,3% bzw. um 13,5% ab. Im Bereich von  $10^{-6}$  M bis  $10^{-3}$  M sind die Effekte signifikant.  $10^{-6}$  M führt zu einem Abfall um 18,6%. Um 17,9% sinkt der Index bei  $10^{-5}$  M.  $10^{-4}$  M senkt den Quotienten maximal um 19,4% und bildet den Umschlagpunkt der Dosis-Wirkungskurve. Mit  $10^{-3}$  M wird der Index lediglich noch um signifikante 17% reduziert.

Epinephrin ändert mit  $10^{-9}$  M und  $10^{-8}$  M die Koronarreserve nicht signifikant (um 2,0% bzw. 1,3%). Auch  $10^{-7}$  M bewirkt gegenüber dem Kontrollwert von  $1,6 \pm 0,1$  lediglich eine nicht signifikante abnehmende Tendenz (um 8,6%). Erst in höheren Konzentrationen ( $10^{-6}$  M bis  $10^{-4}$  M) verändert sich der Quotient signifikant und erreicht ein Wirkplateau.  $10^{-6}$  M senkt die Koronarreserve um 25,8%.  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M erzielen mit einem Abfall um 25,4% bzw. 24,5% ähnliche Effekte.

Levosimendan senkt im höheren Dosisbereich von  $10^{-6}$  M die Koronarreserve signifikant um 21,5%, während die übrigen Konzentrationen lediglich einen nicht signifikanten Trend zur Abnahme bewirken. Die Effekte von  $10^{-9}$  M verfehlen das

Signifikanzniveau, wenngleich sie mit einer Abnahme um 19,1% nur leicht unter der von  $10^{-6}$  M liegen. Noch geringer ausgeprägt ist die Reduktion der Koronarreserve nach Applikation von  $10^{-8}$  M und  $10^{-7}$  M. Sie bewirken eine ebenfalls nicht signifikante Verringerung des Quotienten um 10,7% bzw. 9,7%.



**Abbildung 19:** Direkte Effekte auf den Index der Koronarreserve an septischen Herzen

Darstellung der Werte als Mittelwerte (MW)  $\pm$  Standardfehler (SF)

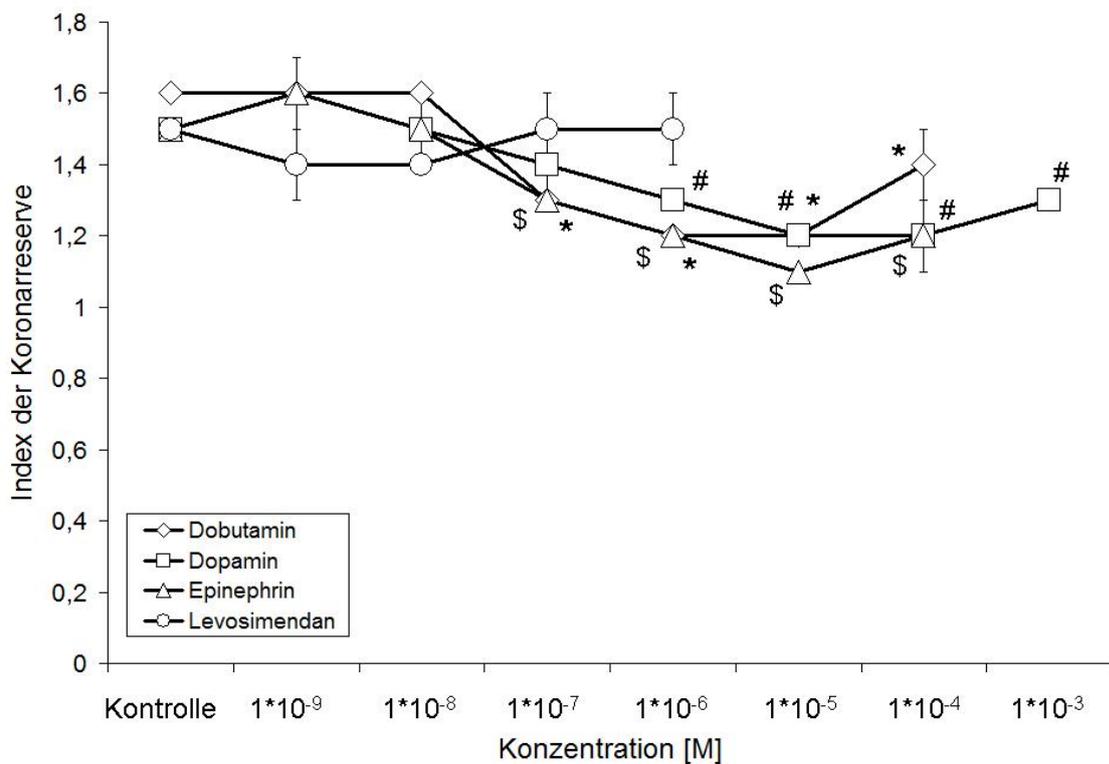
\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle

&  $P \leq 0,05$  Levosimendan vs. Kontrolle

Die Linksverschiebung der Dosis-Wirkungskurven an septischen Herzen, wie sie bei den anderen bereits beschriebenen Parametern auffällt, zeigt sich nicht beim Index der Koronarreserve. Erste signifikante Wirkungen in beiden Versuchsgruppen haben Dobutamin und Dopamin mit jeweils gleicher Dosis (vgl. Abb. 19 und Abb. 20). Mit Epinephrin steigt bei gesunden Herzen der Index der Koronarreserve bereits in einer niedrigeren Konzentration signifikant an, als dies in der Sepsisgruppe der Fall ist. In der Shamgruppe bewirkt Levosimendan keine signifikante Veränderung, wohingegen es zumindest in hoher Konzentration ( $10^{-6}$  M) an septischen Herzen einen signifikanten Effekt zeigt.



**Abbildung 20:** Direkte Effekte auf den Index der Koronarreserve (Shamgruppe)

Darstellung der Werte als Mittelwerte (MW)  $\pm$  Standardfehler (SF) mit Signifikanzen

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M-  $10^{-3}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-7}$  M-  $10^{-4}$  M)

### 3.3 Einfluss auf die Laktatkonzentration

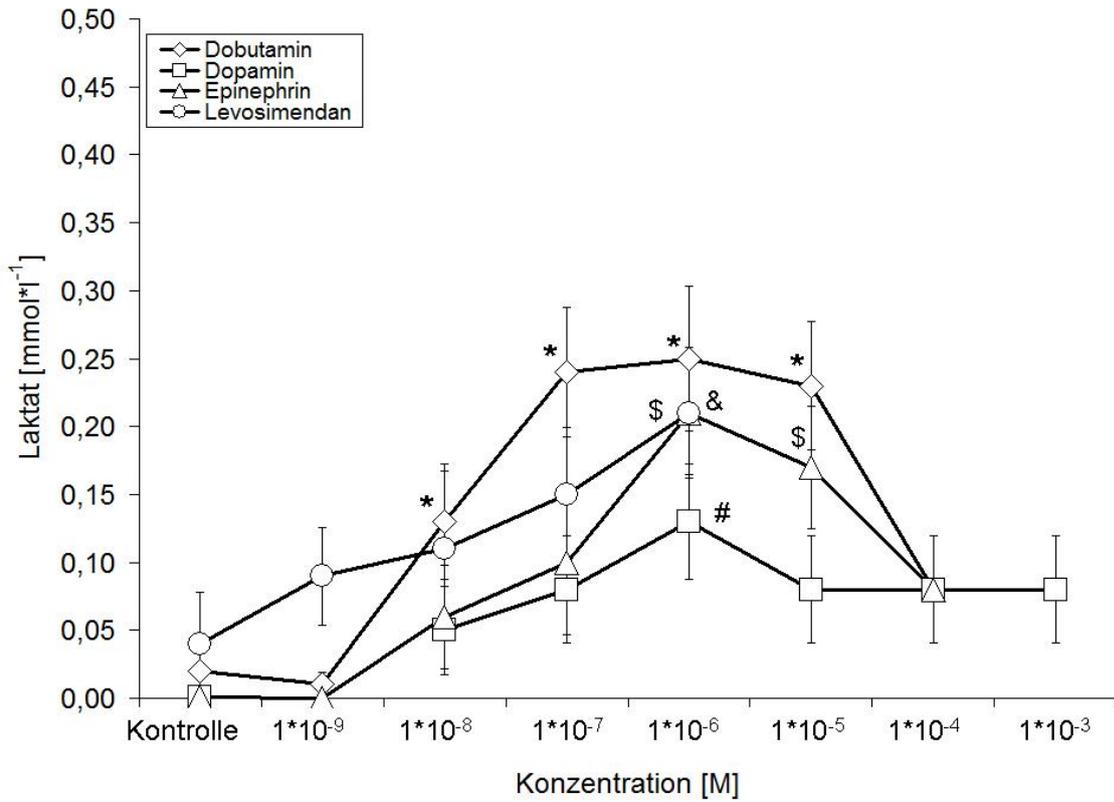
Die größte prozentuale Zunahme der Laktatkonzentration erfolgt nach Applikation von Epinephrin ( $10^{-6}$  M) mit einem maximalen Anstieg auf 21.000%. Ebenfalls bei  $10^{-6}$  M wird auch bei den anderen untersuchten Pharmaka die Konzentration maximal erhöht. Dopamin führt zu einer maximalen prozentualen Steigerung auf 13.000%. Dobutamin erhöht die Konzentration nur noch auf 1.250% und Levosimendan auf 525% (vgl. Abb. 21).

Dobutamin führt im Konzentrationsbereich von  $10^{-8}$  M bis  $10^{-5}$  M zu einem signifikanten Anstieg der Laktatkonzentration. Ausgehend vom Kontrollwert ( $0,02 \pm 0,02$  mmol  $\cdot$  l $^{-1}$ ) erhöht bereits  $10^{-8}$  M die Laktatkonzentration mit einer Steigerung auf 650%. Der Maximalwert der Versuchsreihe liegt bei  $10^{-6}$  M, einer signifikanten Erhöhung auf 1.250% entsprechend. Ähnliche Werte werden bei  $10^{-7}$  M und  $10^{-5}$  M erreicht (Steigerung auf 1.200% bzw. 1.150%). Eine Tendenz zur Erhöhung (400%) zeigt sich in der höchsten Konzentration von  $10^{-4}$  M, jedoch erreicht diese keine statistische Signifikanz.

Dopamin bewirkt zwar in allen Konzentrationen eine Zunahme der Laktatkonzentration, allerdings ist diese nur mit  $10^{-6}$  M signifikant. Die Konzentration steigt um den Faktor 129 (auf 13.000%). Bezogen auf den Kontrollwert ( $0 \pm 0$  mmol  $\cdot$  l $^{-1}$ ) erzielt  $10^{-8}$  M den geringsten Anstieg (Zunahme auf 5.000%). Die Laktatkonzentration wird mit  $10^{-7}$  M sowie  $10^{-5}$  M bis  $10^{-3}$  M um das 79-fache (auf 8.000%) gesteigert.

Epinephrin zeigt, außer bei  $10^{-9}$  M, in allen Konzentrationen einen Trend zur Laktaterhöhung. Dieser erreicht jedoch nur bei  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M Signifikanz. Das Maximum ist bei  $10^{-6}$  M mit einer signifikanten Erhöhung auf 21.000% erreicht. Ebenfalls signifikant ist der Anstieg bei  $10^{-5}$  M mit einer Zunahme um das 170-fache (auf 17.000%) gegenüber dem Kontrollwert ( $0 \pm 0$  mmol  $\cdot$  l $^{-1}$ ). Zu einer Erhöhung auf 6.000% bzw. 10.000% gegenüber dem Kontrollwert führen  $10^{-8}$  M bzw.  $10^{-7}$  M. Diese Änderung ist ebenso wenig signifikant wie der Effekt von  $10^{-4}$  M, der eine Zunahme auf 8.000% bewirkt.

Levosimendan führt dosisabhängig zu einer Erhöhung der Laktatkonzentration. Ausgehend von  $0,04 \pm 0,04$  mmol  $\cdot$  l $^{-1}$  wird sie mit steigender Konzentration erhöht, wobei erst der Anstieg mit  $10^{-6}$  M um 425% signifikant ist. Nach Applikation von  $10^{-7}$  M und  $10^{-8}$  M zeigt sich eine nicht signifikante Erhöhung. Um 275% bzw. 175% wird hier das Laktat erhöht. Die Zunahme ist bei  $10^{-9}$  M mit einer Steigerung um 125% am geringsten ausgeprägt.



**Abbildung 21:** Direkte Effekte auf die Laktatkonzentration an septischen Herzen

Darstellung der Werte als Mittelwerte (MW) ± Standardfehler (SF)

\*  $P \leq 0,05$  Dobutamin vs. Kontrolle ( $10^{-8}$  M-  $10^{-5}$  M) und Dopamin ( $10^{-7}$  M,  $10^{-5}$  M)

#  $P \leq 0,05$  Dopamin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M)

\$  $P \leq 0,05$  Epinephrin vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M-  $10^{-5}$  M))

&  $P \leq 0,05$  Levosimendan vs. Kontrolle ( $10^{-6}$  M)

## 4. Diskussion

Im Rahmen der aktuellen Studie werden erstmalig rein kardiale Effekte verschiedener Katecholamine und eines Kalziumsensitizers auf isolierte Herzen mit sepsisbedingter Dysfunktion direkt verglichen. Ihnen werden lediglich ausgewählte Parameter der Shamgruppe gegenüber gestellt, da die Wirkungen von Katecholaminen und Levosimendan am gesunden Herzen bereits in der Literatur beschrieben sind und somit nicht im Fokus der aktuellen Studie stehen. Sehr interessant im Vergleich mit der Shamgruppe ist jedoch eine auffallende Linksverschiebung der Dosis-Wirkungskurven der Sepsisgruppe. Hier ist überwiegend mit geringeren Konzentrationen als in der Kontrollgruppe eine signifikante Wirkung zu verzeichnen. Abgesehen vom früheren Eintritt der Wirkungen bei den septischen Herzen verlaufen die Dosis-Wirkungskurven in beiden Gruppen relativ ähnlich.

Am septischen Herzen zeigen die Katecholamine signifikante, dosisabhängige Wirkungen auf Herzfrequenz, linksventrikulären Druck, Kontraktilität und Lusitropie sowie den Koronarfluss. Gefolgt von Dopamin und schließlich Dobutamin steigert Epinephrin diese Parameter, die für eine ausreichende Perfusion und ein adäquates Sauerstoffangebot an die Gewebe wichtig sind, am stärksten im Vergleich zu den anderen Medikamenten. Auch das Sauerstoffangebot und die Extraktion werden in hohem Maße gesteigert. Mit der Erhöhung von Herzfrequenz und Kontraktilität gehen ein Anstieg des Sauerstoffverbrauches und der konsekutive Abfall des Indexes der Koronarreserve einher. Dieser unterscheidet sich in äquimolaren Konzentrationen nicht signifikant von dem der anderen Medikamente und somit bietet Epinephrin im vorliegenden Modell das günstigste Wirkprofil.

Im Gegensatz zu den Katecholaminen zeigt Levosimendan in beiden Gruppen keine signifikanten Effekte auf die mechanischen Parameter. In der Sepsisgruppe steigen dennoch sowohl der Sauerstoffverbrauch als auch die Sauerstoffextraktion ohne eine wesentliche Steigerung des Angebotes signifikant an. Dabei sinkt der Index der Koronarreserve in höheren Konzentrationen signifikant ab und zeigt beginnende Alterationen im Sauerstoffmetabolismus an, die eine mögliche Erklärung für die in hohen Dosen auftretenden Asystolien bieten.

### 4.1 Diskussion von Material und Methodik

Viele Fragestellungen können aus ethischen oder technischen Gründen ausschließlich im Rahmen tierexperimenteller Versuche bearbeitet werden. Studien mit einer derart spezifischen Fragestellung wie der Medikamentenwirkung auf ein isoliertes Organ sind nicht am Menschen durchführbar. Besonders im Hinblick auf die beträchtliche

Morbidität und Mortalität einer Sepsis verbieten sich Untersuchungen mit einem hohen experimentellen Anteil am Patienten. Zudem können Variablen, die in klinischen Studien auftreten und die Vergleichbarkeit erschweren, im Rahmen tierexperimenteller Studien bereits im Vorfeld eliminiert werden (Fink und Heard 1990). So werden hier beispielweise durch eine ähnliche Alters- und Gewichtsklasse Schwankungen der Herzgröße vermieden, aufgrund derer sich die Herzen sonst in diversen Parametern unterscheiden würden (Neely et al. 1967). Aus diesem Grund sind tierexperimentelle Modelle, wie das vorliegende, trotz einiger Limitationen, unverzichtbar für die medizinisch-pharmakologische Forschung und die Entwicklung neuer Therapieregime (Poli-de-Figueiredo et al. 2008).

Das vorliegende Studiendesign aus operativer Sepsisinduktion mittels CLP und Perfusion des isolierten Herzens im Langendorff-Apparat vereint etablierte und bereits erfolgreich eingesetzte Forschungsmodelle (Zink et al. 2008, Zausig et al. 2006, Graf et al. 1997), die gut geeignet sind, die aktuelle Fragestellung zu bearbeiten.

In zahlreichen tierexperimentellen Studien sind pathophysiologische Veränderungen infolge einer CLP nachgewiesen, die denen der humanen Sepsis vergleichbar sind (Freise et al. 2001, Wichterman et al. 1980). Verhaltensänderungen und Anzeichen von Krankheit sind in diversen in-vivo-Modellen bereits ab zwölf Stunden nach operativer Sepsisinduktion beschrieben. Ab einem postoperativen Intervall von 16 Stunden kann zu großen Teilen von einer klinisch relevanten Erkrankung ausgegangen werden. Diese geht mit Verhaltensänderungen, positiven Blutkulturen sowie pathologischen Veränderungen von Temperatur und kardialen Funktionsparametern einher (Hubbard et al. 2005, di Giantomaso et al. 2005, Wichterman et al. 1980). Bei einer mittleren Inkubationszeit von 20 Stunden kann im vorliegenden Modell somit bereits aufgrund des zeitlichen Intervalls von einer Sepsis bis schweren Sepsis ausgegangen werden. Zudem liegen die mittleren linksventrikulären Drücke der, im Rahmen der vorliegenden Studie, untersuchten septischen Herzen von  $70 \pm 4$  mmHg deutlich unter den in der Literatur beschriebenen Werten septischer Ratten (Wichterman et al. 1980). Zusammen mit den beobachteten klinischen Anzeichen einer Sepsis (Behrends und Peters 2003) stellen sie eine septisch bedingte und deutlich ausgeprägte kardiale Dysfunktion der inkludierten Tiere sicher.

Wie bereits in anderen CLP-Modellen beschrieben, zeigen die Tiere in der aktuellen Studie klinische Zeichen einer Sepsis wie Diarrhoe, Tachypnoe, Piloerektion und Lethargie. Sie sind schwach, anorektisch sowie fiebrig mit glasigen und verkrusteten Augen (Wichterman et al. 1980). Die Letalitätsrate im verwendeten Modell liegt, wie bereits für Endotoxin-Modelle gezeigt (Behrends und Peters 2003), mit 30% im normal-hohen Bereich.

In der Literatur ist ein systolischer Aortendruck von circa 135 mmHg für narkotisierte Ratten und isolierte Rattenherzen beschrieben (Opie 1984). Sepsisinduzierte Einschränkungen der Myokardkontraktilität sind tierexperimentell sowohl in vivo (Barraud et al. 2007) als auch für in-vitro-Präparationen (Behrends und Peters 2003) und Herzgewebe (Rigby et al. 1998) gezeigt. In der vorliegenden Studie besteht eine deutliche systolische und diastolische Funktionsstörung. Die hier erhobenen linksventrikulären Drücke von  $70 \pm 4$  mmHg sind durch die Sepsis stark eingeschränkt und mit dem klinischen Bild einer septischen Kardiomyopathie vergleichbar.

### **Langendorff-Apparat und Krebs-Henseleit-Lösung**

Um direkte kardiale Effekte der Medikamente untersuchen zu können, wird die vielfach angewandte und etablierte Methode (Zausig et al. 2006, Graf et al. 1997) der isolierten Organperfusion im Langendorff-Apparat gewählt. Diese kann unter konstanten Druck- oder Flussverhältnissen erfolgen. Der hier gewählte druckkonstante Perfusionsmodus entspricht jedoch eher physiologischen Bedingungen. Er umgeht den Nachteil flusskonstanter Modelle, in denen die Mechanismen der koronaren Autoregulation außer Kraft gesetzt sind, die sonst im Bereich zwischen 60 und 150 mmHg unabhängig vom Perfusionsdruck eine konstante Durchblutung sicherstellen. Mit einem Perfusionsdruck von 60 mmHg, ähnlich dem in der vorliegenden Studie, bleiben Herzfrequenz und Perfusionsdruck über 4 Stunden stabil und bieten ein adäquates Sauerstoffangebot an das Gewebe (Neely et al. 1967). Aus diesem Grund, aber auch um eine Ischämie infolge einer Verminderung des Perfusionsdruckes (de Leiris et al. 1984) und die Gefahr interstitieller Ödembildung durch fehlenden kolloid-osmotischen Druck zu minimieren, wird der Perfusionsdruck bei 55 mmHg konstant gehalten.

Stets diskutiert wird die Frage nach einer adäquaten Sauerstoffversorgung im unblutigen Perfusionsmodus mit der Krebs-Henseleit-Lösung (KHL), die weder Erythrozyten noch Protein enthält. Hier ist die Sauerstofflöslichkeit niedriger als im Blut, da mit den Erythrozyten auch Sauerstoffträger fehlen. Durch Begasung mit Carbongas ist ein  $pO_2$  von circa 600 mmHg zu erreichen und zusammen mit einem erhöhten Fluss, der bei salinen Perfusaten herrscht, ist von einem adäquaten Sauerstoffangebot auszugehen (de Leiris et al. 1984). Unterschiede in der Sauerstoffaufnahme zwischen Herzen, die mit Blut bzw. KHL perfundiert werden, bestehen offenbar nicht (Opie 1984). Da der Sauerstoffbedarf der hier verwendeten denervierten und mit einer physiologischen Frequenz spontan schlagenden Herzen niedriger ist als in vivo (de Leiris et al. 1984), kann von einer ausreichenden Sauerstoffversorgung der Herzen im LA ausgegangen werden.

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass saline Perfusate eine geringere Viskosität besitzen und somit der Koronarfluss, unabhängig vom Perfusionsdruck, höher als bei in-situ-Präparationen ist. Zudem sind die Herzfrequenz erhöht und Herzarbeit, koronarer Gefäßwiderstand sowie myokardialer Sauerstoffverbrauch verringert (Schmitz-Spanke et al. 2002). Unter Umständen kommt es daher durch bereits initial veränderte Ausgangswerte zu Alterationen medikamenteninduzierter Effekte. Die von Schmitz-Spanke et al. (2002) beschriebene „nahezu ausgeschöpfte Koronarreserve“ durch maximale Vasodilatation bei erythrozytenfreien Perfusaten, kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Die Intaktheit der Koronarien und die Koronarreserve werden vor Versuchsbeginn mittels Applikation von Adenosin geprüft (Zausig et al. 2006), wodurch sich die maximale Dilatation imitieren lässt, zu der es bei einer steigenden Belastung des Herzens in den Koronargefäßen kommt. Die Koronarien reagieren sowohl vor als auch nach einer Versuchsreihe stets adäquat.

Saline Perfusate bergen die Gefahr von Embolien nach Präzipitatbildung. Durch täglich frisch angesetztes Perfusat sowie Verwendung einer Filtereinheit und Wahl eines nicht-rezirkulierenden Perfusionsmodells wird diese minimiert. Zudem werden die Tiere zur Prävention von Mikroembolien in den Koronarien vor der Dekapitation heparinisiert.

Durch den LVD-Ballon im linken Ventrikel, der isovolumetrische Kontraktion erlaubt, sind Einschränkungen der Ventrikelfunktion denkbar. Diese scheinen jedoch nicht besonders ausgeprägt (Schmitz-Spanke et al. 2002). Des Weiteren sind präparations- oder ischämiebedingte Schädigungen trotz kurzer Explantationszeiten möglich.

Einige unphysiologische Bedingungen, wie die retrograde unblutige Perfusion des Herzens, der fehlende systemische Kreislauf, der leerschlagende linke Ventrikel, der keine externe Arbeit verrichtet (de Leiris et al. 1984) sowie Speziesunterschiede der Kardiomyozyten von Menschen und Ratten (Lüllmann-Rauch 2003) mindern die direkte Übertragbarkeit. Dennoch bietet die isolierte Betrachtung kardialer Effekte besonders bei der Sepsis aufgrund der umfassenden systemischen Alterationen zahlreiche Vorteile.

Ein großer Vorteil der isolierten Perfusion gegenüber in-vivo-Modellen liegt in der Abwesenheit modulierender neuronaler, humoraler, metabolischer und kardiovaskulärer Parameter, sodass eine Betrachtung rein kardialer Effekte möglich ist. Zudem entfällt die Beeinflussung der Herzfunktion durch Narkotika und Anästhetika, die bei in-vivo-Modellen erforderlich sind. Für die Fragestellung der hier vorgelegten Studie ist die isolierte Perfusion im LA die Methode der ersten Wahl, da nur so die spezifische Reaktion eines durch die Sepsis geschädigten Herzens untersucht werden kann. Die typischerweise im Rahmen einer Sepsis auftretenden Dysfunktionen wie

Vasodilatation und intravasale Volumendepletion, sowie die systemische Wirkung inflammatorischer Mediatoren (Weigand et al. 2003) und zirkulierender kardiodepressiver Faktoren als gemeinsame Determinanten der kardiozirkulatorischen Dysfunktion, lassen sich in diesem Modell eliminieren. Auch physiologische Reaktionen wie etwa Reflextachykardien bei inadäquater Volumensubstitution stellen im LA keine Störfaktoren dar. Vielmehr lässt sich sogar ein ausgeglichener Flüssigkeitshaushalt durch manuelle Modifikation des linksventrikulären diastolischen Druckes über den Ballon im linken Ventrikel simulieren.

### **Operative Sepsisinduktion**

Die im Rahmen dieser Studie angewandte Methode der Zökumligatur und -punktion gehört zu den bekanntesten Peritonitismodellen, die erfolgreich an verschiedenen Tierspezies zur Anwendung kommen (Deitch 1998). Die operative Sepsisinduktion in der vorliegenden Studie orientiert sich an den Arbeiten von Wichterman et al. (1980) und wurde von Bouchon et al. (2001) übernommen. Diese, durch Generierung eines infektiösen Fokus induzierte Sepsis, imitiert die in vivo stattfindenden immunologischen und pathophysiologischen Vorgänge und ist dabei sogar anderen Modellen überlegen (Freise et al. 2001, Deitch 1998), denn im Vergleich zu Modellen ohne infektiösen Fokus, die nicht der Definition und Pathogenese einer Sepsis entsprechen (Freise et al. 2001), bietet die CLP den eindeutigen Vorteil der realitätsnahen Generierung einer Sepsis z.B. durch ein perforiertes Hohlorgan (Fink und Heard 1990). Hier können, im Gegensatz zu anderen Modellen, die pro- und antiinflammatorischen Vorgänge ablaufen, wie sie sich auch in vivo zeigen.

Des Weiteren zeigt diese Methode eine relative Stabilität hämodynamischer und immunologischer Zeichen bei Veränderungen des Settings, im Vergleich zu Modellen mit Endotoxin- oder Bakterienapplikation (Freise et al. 2001).

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **Wirkungen auf die Herzfrequenz**

Die Katecholamine wirken in fast allen Dosierungen positiv chronotrop. Dopamin zeigt dabei seine Effekte auf die Herzfrequenz erwartungsgemäß erst mit zunehmender Konzentration aufgrund der dann einsetzenden  $\beta$ -adrenergen Stimulation.

Sørensen und Nielsen-Kudsk (1986) beschreiben für Dopamin und Dobutamin zwei- bzw. dreifach höhere maximale positiv chronotrope Effekte als in der aktuellen Untersuchung (Erhöhung um 63% bzw. 62% vs. Steigerung um 29% bzw. 21% in der Sepsisgruppe). Das unterschiedliche Studiendesign (gesunde Kaninchenherzen vs. septische Rattenherzen) trägt zu diesen Unterschieden vermutlich nicht bei, da in der

aktuellen Studie auch in den nicht-septischen Herzen die Zunahme gering ist (18% bzw. 16%). Differenzen bezüglich Medikamentenapplikation, Tierspezies und -gewicht könnten daher ursächlich sein. Die von Sørensen und Nielsen-Kudsk verwendeten Tiere sind fast 10-mal schwerer als die hier verwendeten Ratten. Somit ist dort eine niedrigere Herzfrequenz mit eventuell besserer Steigerungsfähigkeit anzunehmen.

Epinephrin, das an  $\alpha_1$ - und  $\beta_1$ -Rezeptoren agiert (Dohet 2003, Meier-Hellmann 2000), zeigt in der Sepsisgruppe der aktuellen Studie bereits ab  $10^{-8}$  M eine signifikante Wirkung. Mit steigender Konzentration wird der Unterschied der Effekte untereinander kleiner. Bei  $10^{-5}$  M (10  $\mu$ mol) ist mit einer Zunahme um 33% das Wirkmaximum erreicht.  $10^{-8}$  M (0,01  $\mu$ mol) und  $10^{-7}$  M (0,1  $\mu$ mol) erhöhen die Herzfrequenz um 22% bzw. 25%. An isolierten Kaninchenherzen nach induzierter Ischämie zeigen Meyer et al. (2008) mit einer Dosis von 0,03  $\mu$ mol eine 19%-ige Steigerung der Herzfrequenz. Die Ursachen dieser Differenz liegen möglicherweise im unterschiedlichen Studiendesign (rassetypische Unterschiede, Art des Perfusates). Konträr zur aktuellen Studie werden die Herzen dort blutig perfundiert, wodurch sich die Effekte per se u.a. in der Herzfrequenz unterscheiden (Schmitz-Spanke et al. 2002). Auch die Ischämie ist eine denkbare Erklärung für die geringere Steigerung (Meyer et al. 2008).

Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen mit vergleichbaren Konzentrationen an nicht-septischen Herzen (Boknik et al. 1997), zeigt Levosimendan keine signifikanten Effekte auf die Herzfrequenz der Sepsis- und der Shamgruppe. Übereinstimmend mit diesem Ergebnis kann auch nach LAD-Verschluss für Levosimendan in Dosen von 1,5 sowie 3,6 und 12  $\mu$ g/min kein Effekt auf die Herzfrequenz gezeigt werden (Jamali et al. 1997).

Bei Boknik et al. (1997) haben hohe Konzentrationen (100  $\mu$ M) keine signifikante chronotrope Wirkung. In völligem Kontrast dazu führt diese Dosis in Vorversuchen der aktuellen Studie überwiegend zu irreversiblen Asystolien. Übereinstimmend dazu sind letale Myokardischämien durch Alterationen des Sauerstoffmetabolismus nach Applikation von Levosimendan auch bei endotoxämischen in-vivo-Modellen beschrieben (Cunha-Goncalves et al. 2007).

Eine weitere mögliche Ursache für den ausbleibenden Frequenzanstieg im vorliegenden Modell könnte sein, dass Levosimendan im Ganztiermodell zu einer systemischen Vasodilatation führt (Dubin et al. 2006, Oldner et al. 2001), die es auch in hoher Dosis durch seine Eigenschaft als PDE-Hemmer (Jamali et al. 1997, Edes et al. 1995) bewirkt. Über den Barorezeptorreflex kommt es dann in vivo zu einem Anstieg der Herzfrequenz. Da Vor- und Nachlast im Langendorff-Apparat nicht variiert werden, bleibt eventuell daher ein Frequenzanstieg durch Levosimendan aus. Zudem könnten die ausbleibenden Effekte darauf zurückgeführt werden, dass Levosimendan im

Gegensatz zu den Katecholaminen nicht mit Rezeptoren der Zelloberfläche interagiert und sich Effekte deshalb erst nach längerer Wirkdauer einstellen. Mit der Verfälschung der Ergebnisse, aufgrund einer, im Rahmen der Sepsis oftmals eingeschränkten Herzfrequenzvariabilität (Heinroth et al. 1999), ist nicht zu rechnen, da die isolierten Herzen im vorliegenden Studiendesign denerviert sind.

### **Wirkungen auf die linksventrikuläre Funktion (LVD, $+dp \cdot dt^{-1}$ und $-dp \cdot dt^{-1}$ )**

In der Literatur ist der Einsatz von Levosimendan in der Sepsis, auch gegenüber etablierten Katecholaminen, als günstig beschrieben (Barraud et al. 2007, Faivre et al. 2005). Am isolierten septischen Herzen zeigt es in der aktuellen Studie jedoch, im Gegensatz zu den Katecholaminen, keine signifikanten positiv inotropen Effekte in der Kurzzeit-Anwendung. Selbst in hohen Dosierungen, in denen es zusätzlich die Eigenschaften eines PDE-III-Inhibitors hat (Kaheinen et al. 2004, Hasenfuss et al. 1998), bleibt eine Steigerung der Kontraktilität aus. Auch in der Shamgruppe kommt es zu keinen signifikanten Wirkungen. Diese Ergebnisse sind äußerst erstaunlich und in dem Maße nicht erwartet. Hierfür sind mehrere Ursachen denkbar.

Abgesehen davon, dass der klinische Wirkungsbereich in der Sepsis eventuell zwischen den hier untersuchten Dosierungen liegt, wären zeitliche Faktoren denkbar. Zum einen könnten das 15-minütige Infusionsintervall oder der Beobachtungszeitraum zu klein gewählt sein. Jedoch zeigen sich in einer anderen Untersuchung (Kaheinen et al. 2004) an gesunden Meerschweinchenherzen nach jeweils 15-minütiger Applikation im Bereich von 0,01  $\mu\text{M}$  bis 1  $\mu\text{M}$  positiv inotrope Wirkungen. Der Vermutung einer besseren Wirksamkeit an nicht-septischen Herzen widersprechen Studien, die sowohl in gesunden als auch in endotoxämischen Tieren günstige Effekte auf die linksventrikuläre Funktion zeigen (Faivre et al. 2005, Behrends und Peters 2003). Auch die Ergebnisse der Shamgruppe der vorliegenden Studie, in denen Levosimendan keine signifikante Wirkung zeigt, sprechen gegen diese Hypothese.

Möglicherweise bestehen Wirkungsunterschiede aufgrund der verwendeten Sepsis-Modelle (Endotoxingabe vs. operative Sepsisinduktion). So könnte Levosimendan bei kardialer Dysfunktion eines septischen Tieres geringere Wirkungen haben als im Endotoxin-Modell.

Denkbar ist auch, dass Levosimendan keine direkten kardialen Effekte am septischen Herzen hat, sondern die in der Literatur beschriebenen positiven Wirkungen in vivo (Barraud et al. 2007, Faivre et al. 2005) über eine Senkung von Vor- und Nachlast (Braun et al. 2004) vermittelt oder dass andere systemische Einflüsse von entscheidender Bedeutung für die Wirksamkeit von Levosimendan sind. So könnte z.B.

die Abwesenheit aktiver Metabolite, deren Bildung hier nicht möglich ist, Anteil an den ausbleibenden Effekten haben.

Eine Verringerung positiv inotroper Effekte von Levosimendan und dessen aktivem Metaboliten durch ein azidotisches Milieu ist beschrieben (Pinto et al. 2008). Aufgrund des hier verwendeten nicht-rezirkulierenden Perfusionsprinzips hat die KHL jedoch einen konstanten physiologischen pH-Wert, sodass die ausbleibende inotrope Wirkung nicht auf metabolische Veränderungen zurückgeführt werden kann.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, sind in einem porcinen Sepsismodell (Cunha-Goncalves et al. 2007) letale Myokardischämien ohne vorherige Verbesserung kardialer Parameter beschrieben. Levosimendan wirkt in höherer Dosis als PDE-Inhibitor (Kaheinen et al. 2004), zu dessen Nebenwirkungsprofil supraventrikuläre und ventrikuläre Rhythmusstörungen gehören. Da allerdings keine anderen Wirkungen eines PDE-Hemmers auftreten, ist dieser Mechanismus keine Erklärung für die in den Vorversuchen auftretenden irreversiblen Asystolien in hoher Konzentration. Möglicherweise hat Levosimendan also am septischen Herzen ein hohes arrhythmogenes Potenzial oder direkte kardiotoxische Wirkungen.

Die Katecholamine wirken in der Sepsis- und der Shamgruppe signifikant positiv inotrop, wobei Epinephrin ( $10^{-6}$  M) und Dopamin ( $10^{-3}$  M) maximale Effekte auf die linksventrikuläre Funktion haben. Dabei verlaufen die Dosis-Wirkungskurven von Dobutamin und Epinephrin sehr ähnlich und zeigen im Bereich niedriger äquimolarer Konzentrationen signifikant höhere Werte als Dopamin. Epinephrin erzielt am septischen Herzen mit  $10^{-6}$  M (1  $\mu$ mol) den größten Effekt. Es kommt zur maximalen Steigerung von LVD (um 124%) und Kontraktilität (um 205%). Bereits mit Dosen von  $10^{-8}$  M (0,01  $\mu$ mol) und  $10^{-7}$  M (0,1  $\mu$ mol) steigt der LVD signifikant um 44% bzw. 76%. In Übereinstimmung zu diesen Werten weisen Meyer et al. (2008) in einem Modell ischämisch bedingter kardialer Dysfunktion mit einem ähnlichen Konzentrationsbereich (0,03  $\mu$ mol) eine vergleichbare signifikante Steigerung des LVD (um 58%) nach. Wesentlich stärker als in der aktuellen Studie wird jedoch die Kontraktilität gesteigert. Die Steigerung um 70% bzw. 127% in dieser Arbeit liegt deutlich unterhalb der Werte von Meyer et al. mit einer Erhöhung um 140% (Meyer et al. 2008). Möglicherweise ist dies durch eine unterschiedliche Genese der Funktionseinschränkung in beiden Studien oder durch eine verminderte Katecholaminsensitivität in der Sepsis bedingt.

Die dosisabhängige Zunahme positiv inotroper Effekte bei Dobutamin ist sowohl in anderen tierexperimentellen Modellen (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986, Vatner et al. 1974 b) als auch an Patienten (Berg et al. 1993, Leier et al. 1977, Magnani et al. 1977) belegt.

Die in der aktuellen Studie mit Dobutamin erzielten Effekte (Steigerung des LVD um 99% und der Kontraktilität um 170%) sind wesentlich höher als in einem ähnlichen Versuchsaufbau (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986), in dem die Kontraktilität lediglich um maximal 99% gesteigert wird. Diese Differenz ist vermutlich im Studiendesign begründet. Es unterscheidet sich in Rasse und Gewicht der Tiere (250 g vs. 2.000 g) sowie durch die Tatsache, dass im Gegensatz zur aktuellen Studie gesunde Kaninchenherzen isoliert perfundiert werden. Neben der Konzentration differiert auch die Applikationsweise, denn die infundierte Dosis wird nach jeweils 8 Minuten sukzessiv erhöht. Nicht angegeben sind die Ausgangswerte bei Sørensen und Nielsen-Kudsk. Möglicherweise differieren diese in den beiden Modellen und werden so in unterschiedlichem Ausmaß gesteigert.

Dopamin zeigt in der vorliegenden Studie erst im mittleren bis hohen Konzentrationsbereich signifikante Wirkungen, was durch die dann einsetzende additive Stimulation kardialer  $\beta_1$ -Rezeptoren zu erklären ist (Holmes 2005, Brause und Grabbensee 2001). Ab  $10^{-6}$  M wird der LVD kontinuierlich signifikant erhöht (um maximal 121 % bei  $10^{-3}$  M). Ebenfalls wird die Kontraktilität dosisabhängig um maximal 204% gesteigert und der Ausgangswert verdreifacht. Deutlich niedrigere Werte beschreiben Sørensen und Nielsen-Kudsk (1986) mit einer Erhöhung des LVD um lediglich 24% und der Kontraktilität um 81%. Die möglichen Ursachen dafür sind bereits im Zusammenhang mit den Ergebnissen des Dobutamins diskutiert (Rasse, Gewicht, Form der Medikamentengabe und deren Dosis).

### **Wirkungen auf den Koronarfluss**

Auf den Koronarfluss haben die drei Katecholamine ähnliche Maximaleffekte. Sie alle führen dosisabhängig zu einer Steigerung um mehr als die Hälfte (Epinephrin um 53%, Dobutamin 55% und Dopamin 60%).

Eine Erhöhung des koronaren Flusses durch Dobutamin ist in vivo an gesunden Herzen bereits im Tierexperiment gezeigt (Vatner et al. 1974a). Auch am isolierten Herzen lassen sich diese Effekte nachweisen. Dobutamin steigert im vorliegenden Modell den Koronarfluss in der Sepsisgruppe um maximal 55%. Damit liegt die prozentuale Steigerungsfähigkeit höher als in einem ähnlichen Modell mit gesunden isolierten Herzen, deren Koronarfluss um maximal 34% ansteigt (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986). Wenngleich die Regulation des Koronarflusses bei Änderungen hämodynamischer oder metabolischer Variablen in der Sepsis nicht beeinträchtigt ist (Raper et al. 1993), so sind jedoch die Koronargefäße dilatiert und der Flow, auf den Blutdruck bezogen, erhöht (Werdan 2001). Dennoch ist bereits der Kontroll-Flow in der Studie von Sørensen und Nielsen-Kudsk deutlich höher als in der aktuellen

Untersuchung (28 ml/min vs. 6,5 ml/min), sodass rassotypische Unterschiede eine mögliche Erklärung der Differenz darstellen.

Dopamin steigert den Koronarfluss in der aktuellen Studie erst im mittleren Konzentrationsbereich signifikant. In der höchsten untersuchten Dosis wird eine Zunahme um 60% erreicht. Ähnliche Effekte sind in einem vergleichbaren Modell an gesunden Herzen mit einem maximalen Anstieg um 56% beschrieben (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986).

Eine Studie zu hämodynamischen und metabolischen Effekten von Epinephrin in der Sepsis (di Giandomasso et al. 2005) weist im in-vivo-Modell, trotz signifikanter lokaler Vasokonstriktion, keine Auswirkungen auf den Koronarfluss nach. Konträr dazu erhöht Epinephrin in der aktuellen Arbeit den Flow zwar in geringerem Maße als die anderen Katecholamine, jedoch ist eine maximale Zunahme um 53% möglich. Die Steigerung des koronaren Perfusionsdruckes und des koronaren Flusses durch Epinephrin sind auch während kardiopulmonaler Reanimation in porcinen und caninen in-vivo-Modellen nachgewiesen (Lindberg et al. 2000, Ditchey und Lindenfeld 1988).

Levosimendan zeigt in der aktuellen Studie keine signifikanten Effekte auf den Koronarfluss septischer Herzen. Die bisherigen Resultate anderer Forschungsgruppen sind kontrovers und erschweren die Interpretation der hier erhobenen Ergebnisse, denn bei septischem und nicht-septischem Setting sind sowohl Responder als auch Non-Responder beschrieben.

An nicht-septischen isolierten Meerschweinchenherzen mit vergleichbar hohem Koronarfluss, ist in äquimolaren Konzentrationen (0,01µM und 1µM) eine Steigerung des Flow um 29% nachgewiesen (Kaheinen et al. 2004). In Übereinstimmung mit den aktuellen Ergebnissen bleibt der myokardiale Blutfluss trotz hoher Dosis (50 µg/kg/h) auch in einem porcinen Endotoxin-Modell (Cunha-Goncalves et al. 2007) unverändert. Dabei sinken Koronargefäßwiderstand und Perfusionsdruck. Ob diese Parameter für eine ausbleibende Wirkung verantwortlich sind, kann hier nicht sicher beantwortet werden, da sie in der vorliegenden Studie nicht ermittelt, sondern vorgegeben werden.

Wie auch für andere kardiale Parameter zeigt eine Studie von Behrends und Peters (2003) eine umgekehrt proportionale Beziehung zwischen den positiven Effekten von Levosimendan und der Sepsisdauer. Nach Endotoxininfusion nimmt die steigernde Wirkung auf den Koronarfluss mit zunehmender Sepsisdauer ab. Somit sind die ausbleibenden Wirkungen von Levosimendan in der aktuellen Arbeit möglicherweise auf Rassenunterschiede, die Genese der Sepsis (Endotoxin-Infusion vs. CLP) oder unterschiedliche Inkubationszeiten und Schweregrade der Sepsis zurückzuführen.

### **Wirkungen auf den Sauerstoffmetabolismus**

Dem Sauerstoffmetabolismus kommt eine wesentliche Rolle zu, da eine Verwertungsstörung des angebotenen Sauerstoffs die Hauptdeterminante der septischen Kardiomyopathie zu sein scheint (Werdan 2001). In der Regel ist der Sauerstoffverbrauch bis zum Erreichen der kritischen Angebotsgrenze unabhängig vom Angebot. Dann sinkt er mit dem Angebot (Bone HG et al. 1999). Bei steigendem Verbrauch werden kompensatorisch der Koronarfluss oder die Extraktionsrate gesteigert. Aufgrund der bereits hohen Extraktionsrate geschieht dies am Herzen vorwiegend über einen proportional zum Verbrauch erhöhten Koronarfluss. Um den Flow und somit das Sauerstoffangebot adäquat steigern zu können, kommt es zur maximalen Vasodilatation der Koronarien. Diese kann durch Applikation von Adenosin (Zausig et al. 2006), eines metabolischen und endothelialen Faktors zur Regulation des Koronarflusses, initiiert und als Indikator einer intakten koronaren Autoregulation eingesetzt werden. Im vorliegenden Modell kommt es nach Adenosingabe zu einer deutlicheren Vasodilatation als während der Medikamentengabe. Koronarfluss und somit auch Sauerstoffangebot stellen demnach in der aktuellen Studie keine limitierenden Faktoren für die potenzielle Medikamentenwirkung dar.

Erwartungsgemäß führen die Katecholamine in fast allen Dosierungen aufgrund ihrer positiv inotropen und chronotropen Wirkungen, zu einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauches. Diese führt, ungeachtet der gesteigerten Versorgung durch eine Zunahme von Angebot und Extraktionsrate, zur Reduktion der Koronarreserve. Interessanterweise steigert auch Levosimendan, trotz ausbleibender sonstiger signifikanter kardialer Effekte, den Sauerstoffverbrauch signifikant. Das Angebot wird dabei nicht wesentlich erhöht. Allerdings kann die Extraktionsrate signifikant gesteigert werden, sodass es trotz fehlender Effekte auf den Koronarfluss nicht zu einer signifikanten Beeinträchtigung der Koronarreserve kommt.

Das Angebot wird durch alle Katecholamine in ähnlichem Ausmaß gesteigert. Dopamin erhöht es maximal um 65% ( $10^{-3}$  M), Epinephrin um 60% ( $10^{-5}$  M) und Dobutamin um 59% ( $10^{-4}$  M). Der Sauerstoffverbrauch steigt, parallel zu den Effekten auf die linksventrikuläre Funktion, mit Epinephrin am stärksten an (um 103% mit  $10^{-5}$  M). Dobutamin erhöht den Verbrauch um 92% ( $10^{-6}$  M) und Dopamin um 87% ( $10^{-4}$  M). Ohne signifikante Beeinflussung der linksventrikulären Funktion erhöht Levosimendan in allen Konzentrationen den Verbrauch mit einem Maximum bei  $10^{-6}$  M signifikant (Zunahme um 21%).

Eine signifikante Steigerung der Sauerstoffextraktion bewirken alle vier Medikamente. Dabei erreicht Dobutamin einen maximalen Zuwachs um 58% ( $10^{-6}$  M), Epinephrin um 56% ( $10^{-6}$  M), Levosimendan um 46% ( $10^{-6}$  M) und Dopamin um 38% ( $10^{-4}$  M).

Entgegen einer Studie an gesunden Kaninchen (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986), wird der Sauerstoffverbrauch in der Sepsisgruppe der aktuellen Untersuchung mit Dobutamin stärker erhöht als mit Dopamin. Dies zeigt sich auch in der Shamgruppe an einer größeren prozentualen Abnahme der Koronarreserve mit Dobutamin. Bezüglich der Maximalwerte gibt es ebenfalls große Differenzen zwischen beiden Studien. Eine Zunahme mit Dobutamin um 92% bzw. mit Dopamin um 87% in der aktuellen Studie steht einer Zunahme um 77% bzw. 102% bei Sørensen und Nielsen-Kudsk (1986) gegenüber. Neben methodischen Differenzen (ungleicher Perfusionsdruck, schrittweise Anhebung der Konzentration vs. Dosis in aufsteigender Reihe, rassetypische Unterschiede, gesunde vs. septische Tiere) gibt es weitere mögliche Ursachen. Zum einen sind die Konzentrationen beider Studien nicht äquimolar und zum anderen erhöhen beide Medikamente die Kontraktilität in der aktuellen Untersuchung in weitaus höherem Maße und mit deutlich geringeren positiv chronotropen Effekten. Eine ähnlich geringe dosisabhängige Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 38% in niedriger Dosis (2,5 µg/kg KG) und um 61% in hoher Dosis (10 µg/kg KG) weisen auch Stephens et al. (1979) für Dobutamin nach, jedoch ohne eine Erhöhung der Sauerstoffextraktion. Die Autoren führen dies auf einen fehlenden direkten Effekt von Dobutamin auf die Koronarien sowie eine reaktive Erhöhung des Koronarflusses bei erhöhtem Sauerstoffangebot zurück. Allerdings beziehen sich die Ergebnisse auf in-vivo-Studien am Menschen und sind somit nur sehr eingeschränkt mit den Beobachtungen der aktuellen Studie vergleichbar.

Entsprechend der sich erst in höheren Konzentrationen einstellenden positiv inotropen und chronotropen Effekte als Determinanten eines erhöhten Sauerstoffverbrauchs wird dieser bei Dopamin erst in höheren Konzentrationen signifikant gesteigert (um maximal 87%). Bei einer Verabreichung von Dopamin in kontinuierlich ansteigender Konzentration zwischen 4-8 µg/kg/min, also im Bereich  $\beta$ -adrenerger Stimulation liegend, wird er in einer anderen Studie sogar um 102% angehoben (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986). Im Vergleich zur vorliegenden Untersuchung sind die Werte vermutlich deshalb höher, weil sich die Effekte aufgrund einer ansteigenden Konzentrationsreihe potenzieren. Zudem wird die Herzfrequenz im Vergleich zur aktuellen Studie wesentlich stärker angehoben (um 62% vs. 29%).

Seinem Wirkprofil entsprechend steigert auch Epinephrin den Sauerstoffverbrauch. Bei gleichzeitiger signifikanter Erhöhung von Sauerstoffangebot und -extraktion sowie gesteigertem Koronarfluss kommt es zwar zu einer Reduktion der Koronarreserve, jedoch unterscheidet sich diese nicht signifikant von den Effekten der anderen Medikamente. Somit hat Epinephrin nicht nur die stärksten Auswirkungen auf die linksventrikuläre Funktion, den Koronarfluss und die Herzfrequenz, sondern es hat

dabei auch noch äußerst günstige Effekte auf den Sauerstoffmetabolismus. Diese Ergebnisse widersprechen denen einer Studie an nicht-septischen Hunden unter Reanimationsbedingungen (Ditchey und Lindenfeld 1988), die für hohe Epinephrin-Dosen trotz deutlich erhöhtem Koronarfluss ein Ungleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und –verbrauch zeigt.

Levosimendan bewirkt in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M einen signifikanten Abfall des Index der Koronarreserve. In höheren Konzentrationen kommt es zu irreversiblen Asystolien, die möglicherweise Ausdruck einer gestörten Sauerstoffversorgung sind. Dies lassen ähnliche Ergebnisse anderer Studien ebenfalls vermuten. So kommt es bei endotoxämischen Schweinen zu überwiegend letalen Myokardhypoxien unter Levosimendan, welche vermutlich auf ein Missverhältnis von Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch zurückzuführen sind (Cunha-Goncalves et al. 2007). Unter Umständen ist der Zeitpunkt der Applikation entscheidend für die durch andere Arbeitsgruppen beschriebenen günstigen Effekte von Levosimendan. Im Tierversuch verhindert Levosimendan, prophylaktisch vor einer E. coli-Infusion verabreicht, den Abfall von systemischem und intestinalem Sauerstofftransport (Dubin et al. 2007). Im porcinen Modell eines Endotoxinämie-Schocks ist ebenfalls eine protektive Wirkung durch Vorbehandlung mit Levosimendan beschrieben, welche die Reduktion von Herzindex und Sauerstoffangebot verhindern soll (Oldner et al. 2001). Allerdings gelten die Ergebnisse für einen hypodynamen Schock, der im vorliegenden Modell nicht besteht und der bei Menschen wegen aggressiver Volumensubstitution im Rahmen der Sepsistherapie kaum vorkommt. Zudem handelt es sich um in-vivo-Modelle mit anderen Spezies.

Eventuell sind systemische Interaktionen für die Wirkung von Levosimendan erforderlich, die im vorliegenden Versuchsaufbau nicht möglich sind. Möglicherweise ist die Wirkung von Levosimendan auch an eine weniger beeinträchtigte kardiale Funktion gebunden, als dies innerhalb der aktuellen Studie der Fall ist. Wie Behrends und Peters (2003) zeigen, besteht ein umgekehrt-proportionaler Zusammenhang zwischen der Wirkung von Levosimendan und der Schwere der Sepsis.

### **Wirkungen auf die Laktatkonzentration**

Der Vorteil des in dieser Studie verwendeten Modells liegt darin, dass metabolische und enzymatische Prozesse keine Störgrößen darstellen und dass Leber sowie Muskelgewebe im Langendorff-Apparat fehlen. Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist jedoch zu beachten, dass somit die für eine langfristige Regulation des Säure-Basen-Haushaltes erforderlichen Organe und Puffersysteme fehlen und eine mögliche

Laktatazidose nicht kompensiert werden kann. Im hier verwendeten Versuchsaufbau ist lediglich das Herz in der Lage, anfallendes Laktat zu metabolisieren.

Nicht sicher ist, ob bei hohen Laktatwerten die direkte Entwicklung einer myokardialen Hypoxie angenommen werden kann. Ein Laktatanstieg bei gleichzeitig signifikant reduzierter Koronarreserve ist ein mögliches Zeichen einer Hypoxie, wenngleich er nicht zwangsläufig einen Indikator für mangelhafte Sauerstoffversorgung darstellt (de Leiris et al. 1984, Opie 1984). Auch sepsisbedingte pathophysiologische Faktoren wie verminderte Enzymaktivitäten und eine gestörte Laktatutilisation stehen scheinbar in einem kausalen Zusammenhang mit einer Laktaterhöhung (Bone HG et al. 1999).

In der vorgelegten Studie steigt die Laktatkonzentration mit Dobutamin in einem breiten Konzentrationsbereich ( $10^{-8}$  M bis  $10^{-5}$  M) signifikant gegenüber dem Ausgangswert an. Die Erhöhung durch Epinephrin ist lediglich mit  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M signifikant gegenüber dem Ausgangswert und Dopamin steigert nur mit  $10^{-6}$  M signifikant die Konzentration. Der durch Epinephrin erreichte Maximalwert unterscheidet sich dabei in äquimolarer Konzentration nicht von dem der anderen Medikamente. Die prozentuale Zunahme ist mit Epinephrin am größten (auf 21.000%), gefolgt von Dopamin (13.000%), Dobutamin (1.250%) und Levosimendan (525%).

Levosimendan zeigt in der aktuellen Studie einen dosisabhängigen Trend zur Zunahme der Laktatkonzentration, der ab  $10^{-6}$  M signifikant wird. Er wird im Rahmen der Vorversuche massiv bei Konzentrationen ab  $10^{-5}$  M gesteigert, die dort zu irreversiblen Asystolien führen. Übereinstimmend dazu treten auch in einem endotoxämischen in-vivo-Modell hoch-signifikante negative Laktatgradienten mit begleitender Myokardhypoxie auf (Cunha-Goncalves et al. 2007).

Hyperlaktatämien sind auch in anderen septischen Tiermodellen beschrieben (di Giantomasso et al. 2005, Levy B et al. 2003). Zu beachten ist, dass diese durch direkte Effekte auf den Carbohydratstoffwechsel und nicht durch eine Hypoxie bedingt sein können (Levy B et al. 2003) oder eventuell auf eine Hemmung der Pyruvat-Dehydrogenase und allgemeine unerwünschte metabolische Effekte des Pharmakons zurückzuführen sind (di Giantomasso et al. 2005).

### 4.3 Vergleichende Betrachtung mit den Ergebnissen klinischer Studien

Die Wirkungen der untersuchten Katecholamine sind *in vivo* (Sakka et al. 2007, Leier et al. 1977 und 1978, Andy et al. 1977, Magnani et al. 1977), teilweise auch im Rahmen einer Sepsis (de Backer et al. 2003, Regnier et al. 1979), am Menschen beschrieben. Katecholamine haben einen hohen Stellenwert in der Behandlung kardialer Funktionseinschränkungen, ohne dass ihre rein kardialen Effekte in humanen Studien gezeigt werden können.

Wie bereits am Menschen demonstriert (Magnani et al. 1977), steigert Dobutamin auch in der aktuellen Untersuchung die Kontraktilität signifikant über einen breiten Dosisbereich. Zudem wird der Koronarfluss hier signifikant um 55% erhöht. Eine dosisabhängige Steigerung um 29% bzw. 51% im Bereich zwischen 2,5 und 10 µg/kg/min ist *in vivo* am Menschen gezeigt (Stephens et al. 1979). Für Dopamin (mit 4 bis 8 µg/kg/min) sind Steigerungen um 16% bis 34% *in vivo* beschrieben (Stephens et al. 1979). In der aktuellen Studie hingegen lässt sich der Koronarfluss um maximal 60% steigern. Allerdings ist die von Stephens et al. (1979) verwendete Dosis recht gering und liegt am unteren Rand des klinischen Wirkungsbereichs mit zunächst nur  $\beta$ -agonistischen Effekten. Das unterschiedliche Studiendesign (Speziesunterschiede, koronare Herzkrankheit vs. Sepsis, *in-vivo*-Modell vs. isolierte Perfusion) beider Studien ist eine mögliche Erklärung dieser unterschiedlichen Ergebnisse.

Frequenzsteigerungen bleiben bei Dobutamin in humanen, nicht-septischen Studien aus (Leier et al. 1977 und 1978) oder zeigen sich erst in höherer Dosierung (Magnani et al. 1977). Dies steht im Kontrast zu den Ergebnissen während isolierter Perfusion im Rahmen der aktuellen und anderer Studien (Sørensen und Nielsen-Kudsk 1986). Möglicherweise spielen, neben dem unterschiedlichen Studiendesign, hierfür auch Dosisunterschiede eine Rolle. Mit der von Leier et al. (1977) verwendeten Infusionsrate von 10-15 µg/kg/min wären chronotrope Effekte zu erwarten (Magnani et al. 1977). Allerdings zeigen andere Studien für Dobutamin einen dosisabhängigen Anstieg der Herzfrequenz, der unterhalb einer Konzentration von 15 µg/kg/min jedoch nicht signifikant ist (Andy et al. 1977).

Wenngleich die Wirksamkeit von Dopamin am Menschen nachgewiesen ist (Regnier et al. 1979) und es ähnliche Effekte wie Noradrenalin zeigt (de Backer 2003), wird nach deutschen Leitlinien dennoch Noradrenalin als Vasopressor bevorzugt. Diese Tatsache ist auf mögliche ungünstige Nebenwirkungen zurückzuführen, die kontrovers diskutiert werden (Holmes 2005, Dohet 2003, de Backer 2003, Brause und Grabbensee 2001). Eine große multizentrische Studie zeigt jedoch einen negativen Einfluss von Dopamin auf das Outcome von Patienten mit Schockzuständen unterschiedlicher Genese (Sakr et al. 2006).

Eine Steigerung von Sauerstoffverbrauch und Extraktionsrate, wie sie sich in der vorliegenden Studie zeigt, ist für Dopamin am Menschen nachgewiesen (Stephens et al. 1979). Auch die Steigerung von Sauerstoffangebot und -verbrauch durch Epinephrin zeigen humane Studien (Sakka et al. 2007). Im Vergleich zu Dopamin sind, bei höherem Herzindex, beide Parameter nach Applikation von Epinephrin höher (de Backer et al. 2003). Zu diesen Ergebnissen kommt auch die aktuelle Studie.

Zeichen für einen anaeroben Metabolismus unter Epinephrin in vivo sind beschrieben (Levy B et al. 1997). Die Laktatkonzentration ist nach Epinephringabe beim Menschen erhöht (Annane et al. 2007), z.B. stärker als nach der Anwendung von Dopamin (de Backer et al. 2003). Die Ergebnisse stimmen mit denen der aktuellen Studie überein, jedoch erreicht hier die Differenz der Laktatwerte in jeweils äquimolarer Konzentration der beiden keine statistische Signifikanz. Wie in der aktuellen Studie sind signifikante positiv chronotrope Effekte von Epinephrin im niedrig-mittleren Konzentrationsbereich (0,02 bis 0,08 µg/kg/min) auch in Patientenstudien nach herzchirurgischen Eingriffen gezeigt (Sakka et al. 2007). Die Effektivität von Epinephrin, auch im septischen Schock (Bollaert et al. 1990), ist unbestritten. In der vorliegenden Studie zeigt es ebenfalls ein überaus günstiges kardiales Wirkprofil. Doch kontrovers diskutiert werden seine möglichen unerwünschten Wirkungen (Sakka et al. 2007, Sequin et al. 2002, Levy B et al. 1997), wegen derer es von den Leitlinien nicht als Mittel der ersten Wahl für den Einsatz bei septischen Patienten favorisiert wird. Die beschriebenen negativen Effekte (Levy B et al. 1997) werden nicht von allen Autoren bestätigt (di Giantomasso et al. 2005, Sequin 2002) und scheinen zudem vom Stadium des Schocks abhängig zu sein (de Backer et al. 2003). Außerdem fanden Annane et al. (2007) keinen statistisch signifikanten Unterschied bezüglich Mortalitätsrate, Sicherheit und Efficacy zwischen der Therapie mit Epinephrin bzw. einer Dobutamin-Norepinephrin-Kombination. Auch in der aktuellen Studie zeigen Epinephrin und Dobutamin ein ähnliches Wirkprofil. Das Verhältnis von Effekten auf die linksventrikuläre Funktion und auf Parameter des Sauerstoffmetabolismus ist jedoch bei Epinephrin am günstigsten. Weitere klinische Studien hierzu sind unbedingt notwendig. Möglicherweise ist eine Reevaluation bezüglich der aktuellen Empfehlungen zum Einsatz von Epinephrin in der Sepsis erforderlich.

Die Ergebnisse der aktuellen Studie zur direkten kardialen Wirkung von Levosimendan stellen sich vollkommen konträr zu den bisher publizierten Ergebnissen am Menschen dar, die positive kardiale Effekte und eine äußerst günstige Sauerstoffbilanz zeigen (Michaels et al. 2005, Avgeropoulou et al. 2005, Lilleberg et al. 1998). In humanen Studien sind günstige Effekte bei Herzinsuffizienz (Russ et al. 2007, Lilleberg et al. 2007, Michaels et al. 2005, Nieminen et al. 2000) und herzchirurgischen Eingriffen

(Lilleberg et al. 1998) beschrieben. Zum Einsatz in der Sepsistherapie hingegen gibt es nur wenige Publikationen (vgl. Morelli et al. 2006 und 2005, Noto et al. 2005) und keinerlei evidenzbasierte Empfehlungen bezüglich des Einsatzes von Levosimendan in der Sepsis. Eine Zunahme des Koronarflusses mit gleichzeitiger Abnahme von Koronargefäßwiderstand und -perfusionsdruck durch Levosimendan ist bei Patienten mit guter linksventrikulärer Funktion im Anschluss an Koronarbypass-Operationen nachgewiesen (Lilleberg et al. 1998). In der Sepsis ist die Bedeutung der durch Levosimendan induzierten Vasodilatation unklar, da sie zur Aggravation der bestehenden und mitunter ausgeprägten peripheren Vasodilatation führen könnte.

In der Literatur werden signifikante Steigerungen der Herzfrequenz mit Levosimendan (8 und 24 µg/kg) gegenüber Placebo (Lilleberg et al. 1998) bzw. erst ab 36 µg/kg (Nieminen et al. 2000) beschrieben. Im Gegensatz dazu zeigt Levosimendan in der aktuellen Studie keine signifikante Wirkung. Möglicherweise ist dies durch zeitliche Effekte bedingt (Antila et al. 2004). Denkbar wäre auch eine Abhängigkeit der Effekte von der individuellen enzymatischen Ausstattung eines Organismus. Für Langsam- und Schnellacetylierer sind bereits Unterschiede in der Konzentration der aktiven Metabolite des Levosimendans nachgewiesen (Antila et al. 2004). Da im vorliegenden Modell, in Ermangelung der entsprechenden Organe, keine aktiven Metabolite gebildet werden und Levosimendan unter vollkommen identischen Bedingungen auf das Herz einwirkt, ist dies jedoch keine akzeptable Erklärung. Vermutlich sind demnach modellimmanente Faktoren wie fehlende Vor- und Nachlast die wahrscheinlichste Erklärung. Möglicherweise sind systemische Interaktionen für die Wirkung von Levosimendan erforderlich, was auch die fehlenden signifikanten Effekte in der nicht-septischen Kontrollgruppe erklären könnte. Da Levosimendan durch koronare und systemische Vasodilatation den Koronarfluss steigern sowie Vor- und Nachlast reduzieren soll (Michaels et al. 2005), lässt sich über diese Reduktion möglicherweise die für Levosimendan beschriebene positive Chronotropie bzw. Tachykardie erklären. Da der Perfusionsdruck im vorliegenden Modell konstant gehalten wird, bleibt eine reflektorische Tachykardie hier jedoch aus.

Denkbar ist auch, dass eine reduzierte Kalziumsensitivität nicht die Ursache der sepsisinduzierten Kardiomyopathie ist (Rigby et al. 1998) oder dass Levosimendan nicht spezifisch die sepsisinduzierte Einschränkung aufzuheben vermag (Behrends und Peters 2003). Seine Wirkung als Kalziumsensitizer ist somit unter Umständen in der Sepsis nicht relevant.

Im Vergleich zu Dobutamin treten unter Levosimendan in der höchsten Dosierung gehäuft ventrikuläre Arrhythmien auf (Nieminen et al. 2000). Auch im Vorfeld der

vorgelegten Studie kommt es in hoher Dosierung zu ventrikulären Arrhythmien und irreversiblen Asystolien.

Bei Patienten mit guter linksventrikulärer Funktion nach Koronarbypass-Operation kann die sogenannte *Cardiac Performance* ohne einen Anstieg des myokardialen Sauerstoffverbrauchs gesteigert werden (Lilleberg et al. 1998). Im Gegensatz dazu erhöht Levosimendan in der aktuellen Studie, ohne signifikante positiv inotrope oder chronotrope Wirkungen, sowohl den myokardialen Sauerstoffverbrauch als auch die Extraktion in allen Konzentrationen signifikant. Die unterschiedlichen Ergebnisse sind vermutlich darin begründet, dass in der Studie von Lilleberg et al. (1998) der Koronarfluss zu- und der Perfusionsdruck in den Koronarien abnimmt. Zudem können in vivo über eine Vasodilatation sowohl die rechtsventrikuläre Performance bei septischem ARDS (Morelli et al. 2006) als auch Vor- und Nachlast (Rehberg et al. 2007, Michaels et al. 2005) mit positiven Effekten auf den Sauerstoffmetabolismus gesenkt werden. Dies ist aufgrund des druckkonstanten Perfusionsmodus im vorliegenden Modell nicht möglich. Für die extrem unterschiedlichen Ergebnisse sind, neben dem sehr unterschiedlichen Studiendesign (humane in-vivo-Studien vs. isoliertes Rattenherz), auch Zeit- und Dosisvariablen als Ursache denkbar. Die höchste Plasmakonzentration (Delle Karth and Heinz 2004), der Steady-state sowie die höchste Konzentration der Metabolite (Antila et al. 2004) stellen sich in humanen Studien später ein, als dies der Untersuchungszeitraum der aktuellen Studie zulässt. In einem Fallbericht zum Einsatz von Levosimendan bei therapierefraktärem septischen Schock werden eine klinische Verbesserung nach zweistündiger Infusionsdauer und ein Peak der hämodynamischen Effekte nach 6-18 Stunden beschrieben (Noto et al. 2005), sodass der mögliche Wirkungseintritt eventuell außerhalb des hier gewählten Beobachtungszeitraums liegt. Auch sind die innerhalb des Observationsintervalls erzielten Konzentrationen unter Umständen zu gering, als dass sie Wirkungen vermitteln könnten.

Nach Zusammenschau der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der beiden aktuellsten Studien zur Anwendung von Levosimendan REVIVE-2 (zit. nach Kass und Solaro 2006) und SURVIVE (Mebazaa et al. 2007), scheint der Benefit einer Therapie mit Levosimendan, im Hinblick auf die Effekte einer Kurzzeitanwendung, fraglich. Diese beiden großen Studien konnten keinen signifikanten Unterschied in der Mortalität zwischen Placebo- bzw. Dobutamin- und Levosimendan-Therapie sowie keine wesentlichen Unterschiede bezüglich etwaiger Therapiekomplicationen zeigen.

Zudem inkludieren die großen klinischen Studien zum Einsatz von Levosimendan (Mebazaa et al. 2007, REVIVE-2 zit. nach Kass und Solaro 2006, Zairis 2004, Moiseyev et al. 2002, Follath et al. 2002) überwiegend Patienten mit akut

dekompensierter Herzinsuffizienz. Die Ergebnisse sind daher nur eingeschränkt auf die Sepsis übertragbar. Zum einen sind die pathophysiologischen Grundlagen unterschiedlich und zum anderen differieren die Therapieregime deutlich. Die bei der akut dekompensierten Herzinsuffizienz beschriebenen Wirkungen von Levosimendan sind daher möglicherweise andere als in der Sepsis.

Wenngleich bei herzkranken Patienten keine Hinweise bezüglich einer Aggravation kardialer Ischämien vorliegen (Nieminen et al. 2000), so stehen dem jedoch die Ergebnisse der aktuellen Sepsis-Studie entgegen, wo es in höheren Konzentrationen zu einer signifikanten Abnahme des Koronarreserve-Indexes als Ischämieindikator kommt und überwiegend irreversible Asystolien auftreten. Auch in anderen tierexperimentellen Sepsismodellen (Cunha-Goncalves et al. 2007) bestehen Bedenken bezüglich des Einsatzes von Levosimendan in der Sepsis. Weitere Studien unter den Bedingungen einer Sepsis sind daher unbedingt erforderlich.

## 5. Zusammenfassung

Im Rahmen einer Sepsis kommt es durch systemische pathophysiologische Veränderungen und septische Kardiomyopathie zu zirkulatorischen Alterationen sowie Myokarddepression, die den Einsatz positiver Inotropika erfordern. Die Wirkungen der einzelnen Katecholamine sind in tierexperimentellen und humanen Studien gut untersucht, dennoch sind die Empfehlungen bezüglich ihrer Verwendung in der Sepsistherapie uneinheitlich und basieren überwiegend auf Expertenmeinungen. Über Levosimendan, das bereits erfolgreich in der Behandlung einer akut dekompensierten Herzinsuffizienz eingesetzt wird, gibt es nur wenige Untersuchungen unter den Bedingungen einer Sepsis. Bezüglich seines Einsatzes unter dieser Indikation gibt es somit aktuell keine Empfehlung. Auch gibt es zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine Studie, die direkte kardiale Effekte etablierter Katecholamine und des Levosimendans am septischen Herzen vergleichend untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, die jeweiligen dosisabhängigen Wirkungen auf die linksventrikuläre Funktion und den Sauerstoffmetabolismus am isolierten septischen Herzen zu evaluieren. Unabhängig von neurohumoralen und metabolischen Parametern sowie anderen potentiellen Störgrößen wie Vasodilatation oder Flüssigkeitsdefiziten, zeigen sich hier die direkten kardialen Medikamenteneffekte.

Im Anschluss an ein 20-stündiges postoperatives Intervall werden die Herzen einer Sepsis-Gruppe nach Zökumligatur und –punktion (n=40) und einer nicht-septischen Kontrollgruppe (n=24) isoliert und im Langendorff-Apparat perfundiert. Dobutamin, Dopamin, Epinephrin und Levosimendan werden in einer zusammenhängenden Untersuchung in Konzentrationen von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-3}$  M in zufälliger Reihenfolge appliziert. Elektrophysiologische, mechanische sowie metabolische Parameter werden gemessen und die Effekte auf den Sauerstoffmetabolismus berechnet.

Erwartungsgemäß haben die Katecholamine konzentrationsabhängig signifikante positiv chronotrope, inotrope und lusitrope Wirkungen. Am septischen Herzen steigern Dobutamin, Dopamin und Epinephrin die Kontraktilität (um 170%, 204% und 205%) und Lusitropie (195%, 232% und 244%). Sie erhöhen die Herzfrequenz (21%, 29% und 33%) und steigern den Koronarfluss (55%, 60% und 53%). Der Sauerstoffverbrauch nimmt zu (92%, 87% und 103%), das Sauerstoffangebot wird erhöht (59%, 65% und 60%) und die Extraktionsrate gesteigert (58%, 38% und 56%). Der Index der Koronarreserve, als Indikator der Sauerstoffbilanz, nimmt ab (um 24%, 19% und 26%). Dabei gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Maximalwerten in äquimolaren Konzentrationen. Auch in der Kontrollgruppe zeigen die Katecholamine signifikante dosisabhängige kardiale Effekte. Im Vergleich zu den septischen Herzen

fällt eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungskurve auf. Signifikante Effekte werden hier erst in einer höheren Konzentration erreicht als in der Sepsis-Gruppe.

Überraschend sind die Ergebnisse von Levosimendan. In der aktuellen Studie hat es keine signifikante Wirkung auf die linksventrikuläre Funktion, die Herzfrequenz und den Koronarfluss. Sauerstoffextraktion und -verbrauch steigen signifikant (um 46% und 21%) bei nahezu unverändertem Sauerstoffangebot. Der Index der Koronarreserve sinkt signifikant um 21%. Dabei besteht in äquimolarer Konzentration kein signifikanter Unterschied zu den Index-Werten der Katecholamine.

Am isolierten septischen Herzen zeigt Epinephrin insgesamt das günstigste Wirkprofil. Es hat auf nahezu alle kardialen Parameter die stärksten Effekte. Bei maximaler Verbesserung der linksventrikulären Funktion bestehen zwar signifikante negative Auswirkungen auf den Sauerstoffmetabolismus, doch ist der begleitende Abfall der Koronarreserve gegenüber den Werten der anderen Medikamente nicht signifikant. Daher sind weitere Studien zur Verwendung von Epinephrin in der Sepsistherapie unbedingt erforderlich. Möglicherweise muss dann sein bisher verhaltener Einsatz bei septischer Kardiomyopathie reevaluiert werden. Dobutamin, favorisiertes Inotropikum gemäß deutschen Leitlinien, zeigt in der aktuellen Studie signifikante Effekte auf die Herzfunktion und den Sauerstoffmetabolismus. Diese bleiben, wie auch die Werte von Dopamin, quantitativ jedoch unter denen von Epinephrin. Bei beiden ist das Verhältnis von Steigerung des LVD und der Herzfrequenz im Verhältnis zum Sauerstoffverbrauch als ausgeglichen zu bewerten, wohingegen es bei Epinephrin als wesentlich günstiger erscheint. Levosimendan zeigt keine signifikanten Effekte auf die linksventrikuläre Funktion in der Kurzzeitanwendung am isolierten septischen Herzen. Signifikante Effekte beschränken sich auf Alterationen des Sauerstoffmetabolismus und des Säure-Basen-Haushaltes. Weitere Untersuchungen zum Einsatz von Levosimendan in der Sepsistherapie sind daher unbedingt erforderlich.

## 6. Anhang

### A) Verzeichnis der verwendeten Abbildungen

<b>Abbildung 1:</b> Strukturformel Dobutamin .....	11
<b>Abbildung 2:</b> Strukturformel Dopamin .....	12
<b>Abbildung 3:</b> Strukturformel Epinephrin .....	12
<b>Abbildung 4:</b> Strukturformel Levosimendan .....	13
<b>Abbildung 5:</b> Übersicht auf den Situs.....	15
<b>Abbildung 6:</b> Schema Versuchsaufbau mit Langendorff-Apparat .....	17
<b>Abbildung 7:</b> Schema Versuchsaufbau .....	18
<b>Abbildung 8:</b> Direkte Effekte auf die Herzfrequenz an septischen Herzen.....	23
<b>Abbildung 9:</b> Direkte Effekte auf die Herzfrequenz (Shamgruppe) .....	24
<b>Abbildung 10:</b> Direkte Effekte auf den linksventrikulären Druck an septischen Herzen....	26
<b>Abbildung 11:</b> Direkte Effekte auf die Kontraktilität an septischen Herzen .....	28
<b>Abbildung 12:</b> Direkte Effekte auf die Kontraktilität (Shamgruppe) .....	29
<b>Abbildung 13:</b> Direkte Effekte auf die Lusitropie an septischen Herzen .....	31
<b>Abbildung 14:</b> Direkte Effekte auf die Lusitropie (Shamgruppe) .....	32
<b>Abbildung 15:</b> Direkte Effekte auf den gew. Koronarfluss an septischen Herzen .....	34
<b>Abbildung 16:</b> Direkte Effekte auf das myokardiale O <sub>2</sub> - Angebot an septischen Herzen ..	36
<b>Abbildung 17:</b> Direkte Effekte auf den Sauerstoffverbrauch an septischen Herzen.....	38
<b>Abbildung 18:</b> Direkte Effekte auf die Sauerstoffextraktion an septischen Herzen .....	40
<b>Abbildung 19:</b> Direkte Effekte auf den Index der Koronarreserve an septischen Herzen .	42
<b>Abbildung 20:</b> Direkte Effekte auf den Index der Koronarreserve (Shamgruppe).....	43
<b>Abbildung 21:</b> Direkte Effekte auf die Laktatkonzentration an septischen Herzen.....	45

### B) Verzeichnis der verwendeten Tabellen

<b>Tabelle 1:</b> Zusammensetzung der modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung (KHL).....	10
<b>Tabelle 2:</b> Konzentrationen der einzelnen Versuchsgruppen .....	11

## C) Literaturverzeichnis

- [1] **Adams HA, Baumann G, Gänsslen A, Janssens U, Knoefel W, Koch T, Marx G, Müller-Werdan U, Pape HC, Prange W** (2002): Die Definition der Schockformen. *Anästh Intensivmed* 43,190-201.
- [2] **Andy JJ, Curry CL, Ali, Mehrotra PP** (1977): Cardiovascular effects of dobutamine in severe congestive heart failure. *Am Heart J* 94,175-182.
- [3] **Annane D, Vignon P, Renault A, Bollaert PE, Charpentier C, Martin C, Troché G, Ricard JD, Nitenberg G, Papazian L** (2007): Norepinephrine plus dobutamine versus epinephrine alone for management of septic shock: a randomised trial. *Lancet* 370, 676-684.
- [4] **Antila S, Pesonen U, Lehtonen L, Tapanainen P, Nikkanen H, Vaahtera K, Scheinin H** (2004): Pharmacokinetics of levosimendan and its active metabolite OR-1896 in rapid and slow acetylators. *Eur J Pharm Sci* 23, 213-222.
- [5] **Archan S, Toller W** (2008): Levosimendan: current status and future prospects. *Curr Opin Anesthesiol* 21, 78-84.
- [6] **Audebert FX, Hanses F, Schneidewind A, Ehrenstein B, Blaas S, Salzberger B, Schölmerich J, Fröhlich D, Straub RH, Glück T** (2007): Epidemiologie der schweren Sepsis an einem deutschen Universitätsklinikum. *Med Klin* 102,195-202.
- [7] **Avgeropoulou C, Andreadou I, Markantonis-Kyroudis S, Demepoulou M, Missovoulos P, Androulakis A, Kallikazaros I** (2005): The Ca<sup>2+</sup>-sensitizer levosimendan improves oxidative damage, BNP and proinflammatory cytokine levels in patients with advanced decompensated heart failure in comparison to dobutamine. *Eur J Heart Fail* 7, 882-887.
- [8] **Barraud D, Faivre V, Damy, T, Welschbillig S, Gayat E, Heymes C, Payen D, Shah AM, Mebazaa A** (2007): Levosimendan restores both systolic and diastolic cardiac performance in lipopolysaccharide-treated animals: Comparison with dobutamine and milrinone. *Crit Care Med* 35, 1376-1382.
- [9] **Bauer A, Bruegger D, Christ F** (2005): Mikrozirkulatorisches Monitoring der Sepsis. *Anaesthesist* 54, 1163-1175.
- [10] **Bauer M, Brunkhorst F, Welte T, Gerlach H, Reinhart K** (2006): Sepsis – Aktuelle Aspekte zu Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. *Anaesthesist* 55, 835-845.
- [11] **Beale RJ, Hollenberg SM, Vincent JL, Parillo JE** (2004): Vasopressor and inotropic support in septic shock: An evidence-based review. *Crit Care Med* 32, S455-465.
- [12] **Behrends M, Peters J** (2003): The calcium sensitizer levosimendan attenuates endotoxin-evoked myocardial dysfunction in isolated guinea pig hearts. *Intensive Care Med* 29, 1802-1807.

- 
- [13] **Berg RA, Padbury JF, Donnersetin RL, Klewer SE, Hutter JJ** (1993): Dobutamine Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Normal Children and Adolescents. *J Pharmacol Exp Ther* 265, 1232-1238.
- [14] **Bloos F, Reinhart K** (2002): Antiinflammatorische Therapie in der Sepsis – Wann und für wen? *Chirurg* 73, 1087-1092.
- [15] **Boknik P, Neumann J, Kaspereit G, Schmitz W, Scholz H, Vahlensieck U, Zimmermann N** (1997): Mechanisms of the Contractile Effects of Levosimendan in the Mammalian Heart. *J Pharmacol Exp Ther* 280, 277-283.
- [16] **Boldt J, Lehmann A** (2007): Pharmakotherapie der akuten schweren Herzinsuffizienz Katecholamine, Katecholamine, Katecholamine - hat sich nichts geändert? *Intensivmedizin* 44, 11-19.
- [17] **Bollaert PE, Bauer P, Audibert G, Lambert H, Larcan A** (1990): Effects of epinephrine on hemodynamics and oxygen metabolism in dopamine-resistant septic shock. *Chest* 98, 949-953.
- [18] **Bone HG, Sielenkämper A, Booke M** (1999): Sauerstoffangebot in der Sepsis – Seit 10 Jahren mehr Fragen als Antworten. *Anaesthesist* 48, 63-79.
- [19] **Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RMH, Sibbald WJ** (1992): Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 101, 1644-1655.
- [20] **Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M** (2001): TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 410, 1103-1107.
- [21] **Braun JP, Döpfmer U, Kastrup M, Roots I, Borges A, Schneider M, Dohmen P, Kox W, Spies C** (2004): Levosimendan, klinische Indikationen einer neuen vasoaktiven Substanz. *Anaesthesist* 53, 163-176.
- [22] **Brause M, Grabbensee B** (2001): Dopamin in „Nierendosis“ beim akuten Nierenversagen – Wirksamkeit eindeutig widerlegt. *Intensivmedizin* 38, 451-453.
- [23] **Brunkhorst FM** (2004): Definition und Diagnose der Sepsis nach aktuellen Kriterien. *Kliniker* 33, 167-172.
- [24] **Brunkhorst FM, Meier-Hellmann A, Reinhart K** (2006): Schwere Sepsis und septischer Schock – Leitliniengerechte Kreislauftherapie. *Notfall Rettungsmed* 9, 535-541.
- [25] **Cunha-Goncalves D, Perez-de-Sa V, Dahm P, Grins E, Thörne J, Blomquist S** (2007): Cardiovascular effects of Levosimendan in the early stages of endotoxemia. *Shock* 28, 71-77.
- [26] **Cunha RE, Schaer GL, Parker MM, Natanson C, Parillo JE** (1986): The coronary circulation in human septic shock. *Circulation* 73, 637-644.
- [27] **De Backer D, Creteur J, Silva E, Vincent JL** (2003): Effects of dopamine, norepinephrine, and epinephrine on the splanchnic circulation in septic shock: which is best? *Crit Care Med* 31, 1659-1667.

- [28] **De Leiris J, Harding DP, Pestre S** (1984): The isolated perfused rat heart: a model for studying myocardial hypoxia or ischaemia. *Basic Res Cardiol* 79, 313-21.
- [29] **Deitch EA** (1998): Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 9, 1-11.
- [30] **Delaney A, Bradford C, McCaffrey J, Bagshaw SM, Lee R** (2007): Is there a place for levosimendan in the intensive care unit? *Crit Care Resusc* 9, 290-292.
- [31] **Delle Karth G, Heinz G** (2004): Levosimendan in Kardiologie und Intensivmedizin. *Wien Klin Wochenschr* 116, 6-14.
- [32] **Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R** (2008): Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 34, 17-60.
- [33] **Di Giantomasso D, Bellomo R, May CN** (2005): The haemodynamic and metabolic effects of epinephrine in experimental hyperdynamic septic shock. *Intensive Care Med* 31, 454-462.
- [34] **Ditchey RV, Lindenfeld J** (1988): Failure of epinephrine to improve the balance between myocardial oxygen supply and demand during closed-chest resuscitation in dogs. *Circulation* 78, 382-389.
- [35] **Döring HJ** (1990): The isolated perfused heart according to Langendorff technique – function – application. *Physiol Bohemoslov* 39, 481-504.
- [36] **Döring HJ, Dehnert H**: The isolated perfused heart according to Langendorff. Preprint of the 1st English Edition; Biomesstechnik-Verlag March GmbH, March 1987.
- [37] **Dohet C** (2003): Medikamentöse Therapie des akuten Herzversagens. *Intensivmed* 40, 241-246.
- [38] **Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL** (2007): Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: A trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 35, 1244-1250.
- [39] **Dubin A, Maskin B, Murias G, Pozo MO, Sottile JP, Barán M, Edul VS, Canales HS, Estenssoro E** (2006): Effects of levosimendan in normodynamic endotoxaemia: a controlled experimental study. *Resuscitation* 69, 277-286.
- [40] **Dubin A, Murias G, Sottile JP, Pozo MO, Barán P, Edul VS, Canales HS, Etcheverry G, Maskin B, Estenssoro E** (2007): Effects of levosimendan and dobutamine in experimental acute endotoxemia: a preliminary controlled study. *Intensive Care Med* 33, 485-494.
- [41] **Edes I, Kiss E, Kitada Y, Powers FM, Papp JG, Kranias E, Solaro RJ** (1995): Effects of Levosimendan, a Cardiotonic Agent Targeted to Troponin C, on Cardiac Function and on Phosphorylation and  $Ca^{2+}$  Sensitivity of Cardiac Myofibrils and Sarcoplasmic Reticulum in Guinea Pig Heart. *Circ Res* 77, 107-113.

- 
- [42] **Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski, John S** (2007): Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 33, 606–618.
- [43] **Faivre V, Kaskos H, Callebort J, Losser MR, Milliez P, Bonnin P, Payen D, Mebazaa A** (2005): Cardiac and Renal Effects of Levosimendan, Arginine, Vasopressin, and Norepinephrine in Lipopolysaccharide-treated Rabbits. *Anesthesiology* 103, 514–521.
- [44] **Fink MP, Heard SO** (1990): Laboratory Models of Sepsis and Septic Shock. *J Surg Res* 49, 186-196.
- [45] **Follath F, Cleland JGF, Just H, Papp JGY, Scholz H, Peuhkurinen K, Harjola VP, Mitrovic V, Abdalla M, Sandell EP** (2002): Efficacy and safety of intravenous levosimendan compared with dobutamine in severe low-output heart failure (the LIDO-study): an randomised double-blind trial. *Lancet* 360, 196-202.
- [46] **Freise H, Brückner UB, Spiegel HU** (2001): Animal Models of Sepsis. *J Invest Surg* 14, 195-212.
- [47] **Graf BM, Vicenzi MN, Martin E, Bosnjak ZJ, Stowe DF** (1995): Ketamine has stereospecific effects in the isolated perfused guinea pig heart. *Anesthesiology* 82, 1426-1437.
- [48] **Graf BM, Fischer B, Stowe DF, Bosnjak ZJ, Martin EO** (1997): Synthetic 8-ornithine-vasopressin, a clinically used vasoconstrictor, causes cardiac effects mainly via changes in coronary flow. *Acta Anaesthesiol Scand* 41, 414-21.
- [49] **Hasenfuss G, Pieske B, Castell M, Kretschmann B, Maier LS, Just H** (1998): Influence of the Novel Inotropic Agent Levosimendan on Isometric Tension and Calcium Cycling in Failing Human Myocardium. *Circulation* 98, 2141-2147.
- [50] **Heidecke CD, Weighardt H, Hensler T, Bartels H und Holzmann B** (2000): Immunparalyse von T-Lymphocyten und Monocyten in der postoperativen abdominalen Sepsis – Korrelation von Immunfunktion mit Überleben. *Chirurg* 71, 159-165.
- [51] **Heinroth KM, Kuhn C, Stache N, Witthaut R, Müller-Werdan U, Werdan K, Prondzinsky R** (1999): Eingeschränkte Herzfrequenzvariabilität bei Patienten mit septischem und nicht-septischem Multiorgan-Dysfunktions-Syndrom. *Intensivmedizin* 36, 436-445.
- [52] **Hörner C, Bouchon A, Bierhaus A, Nawroth PP, Martin E, Bardenheuer HJ, Weigand MA** (2004): Bedeutung der angeborenen Immunantwort in der Sepsis. *Anaesthesist* 53, 10-28.
- [53] **Holmes, CL** (2005): Vasoactive drugs in the intensive care unit. *Curr Opin Crit Care* 11, 413-417.

- 
- [54] **Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG, Kerby JD, Rue III LW, Bland KI, Chaudry IH** (2005): Cecal Ligation and Puncture. *Shock* 24, Suppl.1, 52-57.
- [55] **Innes CA, Wagstaff AJ** (2003): Levosimendan. A Review of its Use in the Management of Acute Decompensated Heart Failure. *Drugs* 63, 2651-2671.
- [56] **Jamali IN, Kersten JR, Pagel PS, Douglas A, Hettrick A, Warltier DC** (1997): Intracoronary Levosimendan Enhances Contractile Function of Stunned Myocardium. *Anaesth Analg* 85, 23-29.
- [57] **Kaheinen P, Pollesello P, Levijoki J, Haikala H** (2004): Effects of Levosimendan and Milrinone on Oxygen Consumption in Isolated Guinea-Pig Heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 43, 555-561.
- [58] **Kass DA, Solaro RJ** (2006): Mechanisms and Use of Calcium-Sensitizing Agents in the Failing Heart. *Circulation* 113, 305-315.
- [59] **Kersten JR, Montgomery MW, Pagel PS, Warltier DC** (2000): Levosimendan, a New Positive Inotropic Drug Decreases Myocardial Infarct Size via Activation of  $K_{ATP}$  Channels. *Anaesth Analg* 90, 5-11.
- [60] **Kivikko M, Lehtonen L, Colucci WS** (2003): Sustained Hemodynamic Effects of Intravenous Levosimendan. *Circulation* 107, 81-86.
- [61] **Knöbl P** (2001): Hämostasestörung bei Multiorgandysfunktion und Sepsis. *Intensivmed* 38, Suppl. 1, I/9-I/15.
- [62] **Krishnagopalan S, Kumar A, Parillo JE, Kumar A** (2002): Myocardial dysfunction in the patient with sepsis. *Curr Opin Crit Care* 8, 376-388.
- [63] **Kulka PJ, Tryba M** (1993): Inotropic Support of the Critically Ill Patient – A Review of the Agents. *Drugs* 45, 654-667.
- [64] **Lehtonen L, Antila S, Pentikäinen PJ** (2004): Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intravenous Inotropic Agents. *Clin Pharmacokinet* 43, 187-203.
- [65] **Leier CV, Webel J, Bush CA** (1977): The cardiovascular effects on the continuous infusion of dobutamine in patients with severe cardiac failure. *Circulation* 56, 468-472.
- [66] **Leier CV, Heban P, Huss P, Bush CA, Lewis RP** (1978): Comparative Systemic and Regional Hemodynamic Effects of Dopamine and Dobutamine in Patients with Cardiomyopathic Heart Failure. *Circulation* 58, 466-475.
- [67] **Levy B, Bollaert PE, Charpentier C, Nace L, Audibert G, Bauer Ph, Nabet P, Larcen A** (1997): Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: a prospective, randomized study. *Intensive Care Med* 23, 282-287.
- [68] **Levy B, Mansart A, Bollaert PE, Franck P, Mallie JP** (2003): Effects of epinephrine and norepinephrine on hemodynamics, oxidative metabolism, and organ energetics in endotoxemic rats. *Intensive Care Med* 29, 292-300.

- [69] **Levy B, Dusang B, Annane D, Gibot S, Bollaert PE** (2005): Cardiovascular response to dopamine and early prediction of outcome in septic shock: A prospective multiple-center study. *Crit Care Med* 33, 2172-2177.
- [70] **Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G** (2003): 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definition Conference. *Crit Care Med* 31, 1250-1256.
- [71] **Lilleberg J, Nieminen MS, Akkila J, Heikkilä L, Kuitunen A, Lehtonen L, Verkkala K, Mattila S, Salmenperä M** (1998): Effects of a new calcium sensitizer, levosimendan, on haemodynamics, coronary blood flow and myocardial substrate utilization early after coronary artery bypass grafting. *Eur Heart J* 19, 660-668.
- [72] **Lilleberg J, Laine M, Palkama T, Kivikko M, Pohjanjousi P, Kupari M** (2007): Duration of the haemodynamic action of a 24h-infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. *Eur J of Heart Fail* 9, 75-82.
- [73] **Lindberg L, Liao Q, Stehen S** (2000): The effects of epinephrine/norepinephrine on end tidal carbon dioxide concentration, coronary perfusion pressure and pulmonary arterial blood flow during cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation* 43, 129-140.
- [74] **Lüllmann-Rauch R**: Histologie: Verstehen – Lernen – Nachschlagen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2003, 197.
- [75] **Magnani B, Ambrosioni E, Branzi A, Picchio F, Capitanucci P** (1977): Haemodynamic effects of dobutamine on patients with coronary artery disease. *J Int Med Res* 5, 10-17.
- [76] **Maier S, Traeger T, Westerholt A, Heidecke CD** (2005): Besonderheiten der abdominalen Sepsis. *Chirurg* 76, 829-836.
- [77] **Marx G, Schuerholz T, Reinhart K** (2005): Intensivmedizinische Aspekte bei Sepsis Gibt es neue therapeutische Ansätze? *Chirurg* 76, 845-855.
- [78] **Mebazaa A, Nieminen MS, Packer M, Cohen-Solal A, Kleber FX, Pocock SJ, Thakkar R, Padley RJ, Poder P, Kivikko M** (2007): Levosimendan vs. Dobutamine for Patients With Acute Decompensated Heart Failure – The SURVIVE Randomized Trial. *JAMA* 297, 1883-1891.
- [79] **Meier-Hellmann A** (2000): Katecholamintherapie in der Sepsis. *Anaesthesist* 49, 1069-1076.
- [80] **Merx MW, Weber C** (2007): Sepsis and the Heart. *Circulation* 116, 793-802.
- [81] **Meyer K, Klocke RC, Schipke JD, Gams E, Korbmacher B** (2008): „Ca<sup>2+</sup>-Sensitizer superior to catecholamine during myocardial stunning? *Eur J Cardiothorac Surg* 34, 326-331.
- [82] **Michaels AD, Mc Keown B, Kostal M, Vakharia KT, Jordan VM, Gerber IL, Foster E, Chatterjee K** (2005): Effects of Intravenous Levosimendan on Human Coronary Vasomotor Regulation, Left Ventricular Wall Stress, and Myocardial Oxygen Uptake. *Circulation* 111, 1504-1509.

- [83] **Moerer O, Buchardi H** (2006): Kosten der Sepsis. *Anaesthesist* 55, Suppl.1, 36-42.
- [84] **Moiseyev VS, Pöder P, Andrejevs N, Ruda MY, Golikov AP, Lezebnik LB, Kobalava ZD, Lehtonen LA, Laine T, Nieminen MS** (2002): Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction – A randomized, placebo-controlled, double-blind study (RUSSLAN). *Eur Heart J* 23, 1422-1432.
- [85] **Morelli A, De Castro S, Teboul JL, Singer M, Rocco M, Conti G, de Luca L, di Angelantonio E, Orecchioni, Pandian NG** (2005): Effects of Levosimendan on systemic and regional hemodynamics in septic myocardial depression. *Intensive Care Med* 31, 638-644.
- [86] **Morelli A, Teboul JL, Maggiore SM, Vieillard-Baron A, Rocco M, Conti G, De Gaetano A, Picchini U, Orecchioni A, Carbone I** (2006): Effects of levosimendan on right ventricular afterload in patients with acute respiratory distress syndrome: a pilot study. *Crit Care Med* 34, 2287-2293.
- [87] **Müller E** (2006): Antibiotika bei Sepsis und Multiorganversagen. *Intensivmed* 43, 94-102.
- [88] **Müller-Werdan U** (2003): Septischer Schock und systemisches Entzündungsreaktions-Syndrom – Therapie. *Dtsch Med Wochenschr* 128, 2372-2376.
- [89] **Müller-Werdan U, Buerke M, Christoph A, Flieger RR, Heinroth K, Herklotz A, Ruß M, Schlitt A, Schmidt H, Söffker G** (2006): Septische Kardiomyopathie. *Intensivmed* 43, 486-497.
- [90] **Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ, Morgan E** (1967): Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am J Physiol* 212, 804-814.
- [91] **Nieminen MS, Akkila J, Hasenfuss G, Kleber FX, Lehtonen LA, Mitrovic V, Nyquist O, Remme WJ** (2000): Hemodynamic and Neurohumoral Effects of Continuous Infusion of Levosimendan in Patients With Congestive Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 36, 1903-1912.
- [92] **Noto A, Giacomini M, Palandi A, Stabile L, Reali-Forster C, Iapichino G** (2005): Levosimendan in septic cardiac failure. *Intensive Care Med* 31, 164-165.
- [93] **Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A, Rossi P, Wanecek M** (2001): Effects of Levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 29, 2185-2193.
- [94] **Opie LH** (1984): Adequacy of oxygenation of isolated perfused rat heart. *Basic Res Cardiol* 79, 300-306.
- [95] **Parillo JE** (1989): The cardiovascular pathophysiology of sepsis. *Annu Rev Med* 40, 469-485.

- [96] **Parillo JE** (1990): Myocardial depression during septic shock in humans. *Crit Care Med* 18, 1183-1184.
- [97] **Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, Damske BA, Parillo JE** (1984): Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* 100, 483-490.
- [98] **Pinto BP, Rehberg S, Ertmer C, Westphal M** (2008): Role of Levosimendan in sepsis and septic shock. *Curr Opin Anesthesiol* 21, 168-177.
- [99] **Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P** (2008): Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock* 30, Suppl.1, 53-59.
- [100] **Pollesello P, Ovaska M, Kaivola J, Tilgmann C, Lundström K, Kalkkinen N, Ulmanen I, Nissinen E, Taskinen J** (1994): Binding of an New Ca<sup>2+</sup> Sensitizer, Levosimendan, to Recombinant Human Cardiac Troponin C. *J Biol Chem* 269, 28584-28590.
- [101] **Powers FM, Farias S, Minami H, Martin AF, Solaro RJ, Law WR** (1998): Cardiac Myofilament Protein Function is Altered During Sepsis. *J Mol Cell Cardiol* 30, 967-978.
- [102] **Price S, Anning PB, Mitchell JA, Evans TW** (1999): Myocardial dysfunction in sepsis: mechanisms and therapeutic implications. *Eur Heart J* 20, 715-724.
- [103] **Rabuel C, Mebazaa A** (2006): Septic shock: a heart story since the 1960s. *Intensive Care Med* 32, 799-807.
- [104] **Raper RF, Fisher M McD** (1990): The heart and circulation in sepsis. *Baillière Clin Anaes* 4, 333-355.
- [105] **Raper RF, Sibbald WJ, Hobson J, Neal A, Cheung H** (1993): Changes in myocardial blood flow rates during hyperdynamic sepsis with induced changes in arterial perfusing pressures and metabolic need. *Crit Care Med* 21, 1192-1199.
- [106] **Rauch H, Motsch J, Böttiger BW** (2006): Newer approaches to the pharmacological management of heart failure. *Curr Opin Anaesthesiol* 19, 75-81.
- [107] **Regnier B, Safran D, Carlet J, Teisseire B** (1979): Comparative Haemodynamic Effects of Dopamine and Dobutamine in Septic Shock. *Intensive Care Med* 5, 115-120.
- [108] **Rehberg S, Ertmer C, van Aken H, Lange M, Bröking K, Morelli A, Westphal M** (2007): Rolle von Levosimendan in der intensivmedizinischen Behandlung des myokardialen Pumpversagens. *Anaesthesist* 56, 30-43.
- [109] **Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Gerlach H, Gründling M, Kreymann G, Kujath P, Marggraf G, Mayer K, Meier-Hellmann A** (2006): Diagnose und Therapie der Sepsis – S2-Leitlinien der DSG und der DIVI. *Intensivmed* 43, 369-384.
- [110] **Rigby SL, Hofmann PA, Zhong J, Adams HR, Rubin LJ** (1998): Endotoxemia-induced myocardial dysfunction is not associated with changes in myofilament Ca<sup>2+</sup> responsiveness. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 274, 580-590.

- [111] **Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M** (2001): Early goal directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 345, 1368-1377.
- [112] **Rudiger A, Singer M** (2007): Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. *Crit Care Med* 35, 1599-1608.
- [113] **Russ MA, Prondzinsky R, Christoph A, Schlitt A, Buerke U, Söffker G, Lemm H, Swyter M, Wegener N, Winkler M** (2007): Haemodynamic improvement following levosimendan treatment in patients with acute myocardial infarction and cardiogenic shock. *Crit Care Med* 35, 2732-2739.
- [114] **Sablotzki A, Nestler F und Czeslick E** (2005): Adjunktive Sepsistherapie – Gerinnungsinhibitoren und anti-inflammatorische Effekte. *Intensivmed* 42, 146-155.
- [115] **Sakka SG, Hofmann D, Thuemer O, Schelenz C, van Hout N** (2007): Increasing cardiac output by epinephrine after cardiac surgery: effects in indocyanine green plasma disappearance rate and splanchnic microcirculation. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 21, 351-356.
- [116] **Sakr Y, Reinhart K, Vincent JL, Sprung CL, Moreno R, Ranieri M, De Backer D, Payen D** (2006): Does Dopamine administration in shock influence outcome? Results of the Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients (SOAP) Study. *Crit Care Med* 34, 589-597.
- [117] **Schmid A, Buchardi H, Clouth J, Schneider H** (2002): Burden of illness imposed by severe sepsis in Germany. *Eur J Health Econ* 3, 77-82.
- [118] **Schmitz-Spanke S, Seyfried E, Schwanke U, Korbmacher B, Sunderdiek U, Winter J, Pomblum SG, Pomblum V, Gams E, Schipke JD** (2002): Das isolierte Kaninchenherz: ein Vergleich zwischen fünf Varianten. *Herz* 27, 803-813.
- [119] **Seeger W, Walmrath D, Grimminger F**: Schock; in: *Die Innere Medizin*, hrsg. v. Gerok W, Huber Chr, Meinertz Th, Zeidler H; 10. Auflage, Schattauer-Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2000, 1441-1451.
- [120] **Sequin P, Bellissant E, le Tulzo Y, Laviolle B, Lessard Y, Thomas R, Mallédant Y** (2002): Effects of epinephrine compared with the combination of dobutamine and norepinephrine on gastric perfusion in septic shock. *Clin Pharmacol Ther* 71, 381-388.
- [121] **Silverman HJ, Penaranda R, Orens JB, Lee NH** (1993): Impaired  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation of cyclic adenosine monophosphate in human septic shock: Association with myocardial hyporesponsiveness to catecholamines. *Crit Care Med* 21, 31-39.
- [122] **Sørensen EV, Nielsen-Kudsk F** (1986): Myocardial pharmacodynamics of Dopamine, Dobutamine, Amrinone and Isoprenaline compared in the isolated rabbit heart. *Eur J Pharmacol* 124, 51-57.

- [123] **Sorsa T, Pollesello P, Solaro RJ** (2004): The contractile apparatus as a target for drugs against heart failure: Interaction of levosimendan, a calcium sensitizer, with cardiac troponin C. *Mol Cell Biochem* 266, 87-107.
- [124] **Stephens J, Ead H, Spurrell R** (1979): Haemodynamic effects of dobutamine with special reference to myocardial blood flow. *Br Heart J* 42, 43-50.
- [125] **Tavernier B, Garrigue D, Boule C, Vallet B, Adnet P** (1998): Myofilament calcium sensitivity is decreased in skinned cardiac fibres of endotoxin-treated rabbits. *Cardiovasc Res* 38, 472-479.
- [126] **Tsokos M** (2006): Postmortale Sepsisdiagnostik. *Rechtsmedizin* 16, 231-246.
- [127] **Vatner SF, McRitchie RJ, Braunwald E** (1974a): Effects of Dobutamine on Left Ventricular Performance, Coronary Dynamics, and Distribution of Cardiac Output in Conscious Dogs. *J Clin Invest* 53, 1265-1273.
- [128] **Vatner SF, Mc Ritchie RJ, Maroko PR, Patrick TA, Braunwald E** (1974b): Effects of Catecholamines, Exercise, and Nitroglycerin on the Normal and Ischemic Myocardium in Conscious Dogs. *J Clin Invest* 54, 563-575.
- [129] **Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C, Belliard G, Page B, Jardin F** (2008): Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock. *Crit Care Med* 36, 1701-1706.
- [130] **Weigand MA, Bardenheuer HJ, Böttiger BW** (2003): Klinisches Management bei Patienten mit Sepsis. *Anaesthesist* 52, 3-22.
- [131] **Weighardt H, Heidecke CD, Westerholt A, Emmanuilidis K, Maier S, Veit M, Gerauer K, Matevossian E, Ulm K, Siewert JR** (2002): Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis. *Ann Surg* 235, 560-567.
- [132] **Werdan K** (2001): Einsatz hämodynamisch aktiver Substanzen bei septischer Kardiomyopathie. *Intensivmed* 38, 138-143.
- [133] **Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH** (1980): Sepsis and Septic Shock – A Review of Laboratory Models and a Proposal. *J Surg Res* 29, 189-201.
- [134] **Zairis M** (2004): The effect of a calcium sensitizer or an inotrope or none in chronic low output decompensated heart failure: Calcium Sensitizer or Inotrope or None in low-output heart failure (CASINO) study. *J Am Coll Cardiol* 43, 206A.
- [135] **Zausig YA, Stowe DF, Zink W, Grube C, Martin E, Graf BM** (2006): A comparison of three phosphodiesterase type III inhibitors on mechanical and metabolic function in Guinea Pig isolated hearts. *Anesth Analg* 102, 1646-1652.
- [136] **Zimmer HG** (1998): The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. *News Physiol Sci* 13, 203-210.
- [137] **Zink W, Kaess M, Hofer S, Plachky J, Zausig YA, Sinner B, Weigand MA, Fink RHA, Graf BM** (2008): Alterations in intracellular  $Ca^{2+}$ -homeostasis of skeletal muscle fibers during sepsis. *Crit Care Med* 36, 1559-1563.

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. B. M. Graf, ehem. ärztlicher Direktor der Klinik Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin der Universitätsklinik Göttingen, danke ich sehr für die Überlassung des überaus interessanten Themas.

Herrn Dr. med. Y. A. Zausig, ehem. ärztlicher Mitarbeiter der Klinik Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin der Universitätsklinik Göttingen, danke ich sehr für die engagierte Einarbeitung in den laborexperimentellen Teil sowie für die stets konstruktive und humorvolle Betreuung der Forschungsarbeit.

Der Klinik für Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin am Universitätsklinikum Göttingen bin ich für die Überlassung der Laborräume sowie die Bereitstellung der Materialien und Versuchstiere zu großem Dank verpflichtet.