

Aus der Medizinischen Klinik I  
der Universität Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. H. Lehnert

---

**Akute Suppression der  
muskulären sympathischen Nervenaktivität (MSNA) im Menschen  
nach intravenöser Applikation von Endotoxin**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
**- Aus der Medizinischen Fakultät -**

vorgelegt von  
Alexander Vietheer  
aus Hamburg

Lübeck 2008

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. C. Dodt

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. K. Dalhoff

Tag der mündlichen Prüfung:

25.03.2009

Zum Druck genehmigt.

Lübeck, d. 26.03.2009

## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>I</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>IV</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>V</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung und Fragestellung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Einfluss von Endotoxin auf das sympathische Nervensystem (SNS)....	1
1.2 Fragestellung .....	3
1.3 Grundlagen .....	4
1.3.1 Sepsis .....	4
1.3.2 Endotoxin (Lipopolysaccharid) .....	5
1.3.3 Das periphere autonome Nervensystem.....	6
1.3.3.1 Signalübertragung am Effektororgan .....	7
1.3.3.2 Vegetative Effekte auf das kardiovaskuläre System .....	8
1.3.4 Zentralnervöse Steuerung des sympathischen Nervensystems.....	8
1.3.5 Methoden zur Bestimmung der sympathischen Nervenaktivität.....	10
1.3.6 Mikroneurographie .....	11
1.3.7 Regulation sympathischer Nervenaktivität .....	12
1.3.7.1 Regulation durch Barorezeptoren .....	12
1.3.7.2 Regulation durch Chemorezeptoren .....	13
1.3.7.3 Regulation durch Volumenrezeptoren.....	13
1.3.8 Stimulation muskulärer sympathischer Nervenaktivität (MSNA) .....	13
1.3.8.1 Mentaler Stress.....	13
1.3.8.2 Apnoe-Test .....	14
1.3.9 Einflussgrößen auf die basale MSNA.....	14
1.3.10 Interaktionen des Immunsystems mit dem Sympathikus.....	15
1.3.10.1 Einflüsse des SNS auf das Immunsystem .....	15
1.3.10.2 Immunogene Einflüsse auf das SNS.....	16
<b>2 Material und Methoden .....</b>	<b>18</b>
2.1 Verwendete Geräte, Medikamente und Materialien .....	18
2.2 Design der Studie .....	20

2.2.1	Probandenkollektiv .....	20
2.3	Vorbereitung und Aufbau des Experiments .....	21
2.4	Versuchsprotokoll .....	21
2.4.1	Barorezeptorreflex-Test.....	24
2.5	Spezielle Untersuchungen .....	25
2.5.1	Mikroneurographie .....	25
2.5.1.1	Technische Grundlagen .....	25
2.5.1.2	Mikroneurographische Ableitung.....	25
2.5.1.3	Unerwünschte Wirkungen .....	27
2.5.2	Herzratenvariabilität .....	27
2.5.2.1	Grundlagen .....	27
2.5.2.2	Messung der Herzratenvariabilität.....	28
2.5.3	Herzfrequenz, Blutdruck, Atmung und Temperatur .....	28
2.5.4	Signalaufarbeitung .....	29
2.5.5	Laborbestimmungen.....	32
2.5.5.1	Bestimmungsmethoden .....	32
2.5.6	Endotoxin- / Placeboapplikation .....	33
2.6	Statistik .....	33
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>35</b>
3.1	Wirkung der Endotoxinapplikation.....	35
3.1.1	Allgemeinbefinden und Körpertemperatur.....	35
3.1.2	Zytokine Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- $\alpha$ .....	36
3.1.3	Zelluläre Immunantwort.....	38
3.1.4	Hormonelle Immunantwort .....	39
3.1.4.1	Plasmakatecholamine (Adrenalin und Noradrenalin) .....	39
3.1.4.2	Stresshormone: Adrenokortikotropes Hormon und Kortisol .....	41
3.1.5	Kardiovaskuläre Immunantwort.....	43
3.1.5.1	Einfluss von Endotoxin auf die Herzfrequenz.....	43
3.1.5.2	Einfluss von Endotoxin auf die Herzratenvariabilität .....	44
3.1.5.3	Einfluss von Endotoxin auf den Blutdruck .....	45
3.1.5.4	Einfluss von Endotoxin auf die MSNA.....	47
3.1.6	Kardiovaskuläres Profil während des Barorezeptor-Tests.....	49

3.1.6.1	Blutdruck .....	49
3.1.6.2	MSNA.....	49
3.1.6.3	Herzfrequenz .....	52
3.1.6.4	Kardiale und vaskuläre Baroreflex-Sensibilität.....	54
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>57</b>
4.1	Einfluss von Endotoxin auf das sympathische Nervensystem .....	57
4.1.1	Einfluss von Endotoxin auf die Kreislaufregulation.....	58
4.1.1.1	Endotoxin-Einfluss auf die MSNA .....	60
4.1.1.2	Endotoxin-Einfluss auf den vaskulären Barorezeptorreflex.....	61
4.1.1.3	Endotoxin-Einfluss auf den kardialen Baroreflex.....	62
4.1.2	Ursache der Endotoxin-Effekte auf die sympathische Funktion .....	63
4.1.2.1	MSNA-unabhängige Katecholaminerhöhung.....	63
4.1.2.2	Stickstoffmonoxid .....	64
4.1.2.3	Adrenokortikotropes Hormon und Kortisol .....	65
4.1.3	Dysbalance des autonomen Nervensystems .....	66
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>69</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>71</b>
<b>7</b>	<b>Ergänzende Tabellen.....</b>	<b>85</b>
<b>8</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>88</b>
<b>9</b>	<b>Veröffentlichungen und Poster .....</b>	<b>89</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>90</b>

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 Vermittlung kardiovaskulärer Einflüsse von Para- und Sympathikus über spezifische cholinerge und adrenerge Rezeptoren .....	8
Tabelle 2 Serumkonzentrationen Tumornekrosefaktor- $\alpha$ und Interleukin-6 .....	36
Tabelle 3 Veränderungen der weißen Reihe des Blutbildes .....	38
Tabelle 4 Herzratenvariabilität .....	45
Tabelle 5 MSNA während der maximalen Infusionsstufen des Baroreflex-Tests und der Ruhephasen.....	50
Tabelle 6 Herzfrequenzen während der Baroreflex-Tests .....	52
Tabelle 7 Blutdruckdifferenzen während der Baroreflex-Tests .....	55
Tabelle 8 Konzentration der Plasmakatecholamine.....	85
Tabelle 9 Plasmakonzentration der Stresshormone .....	86
Tabelle 10 Charakteristische Punkte im Verlauf der Blutdruckmessungen.....	87

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1 Schematische Darstellung des Lipopolysaccharidmoleküls.....	5
Abbildung 2 Deszendierende Systeme von Hirnstamm und Hypothalamus.....	10
Abbildung 3 Versuchsablauf .....	23
Abbildung 4 Infusionsprotokoll des Barorezeptorreflex-Tests.....	24
Abbildung 5 Digitalisierte Datenaufzeichnung im „Chart window“.....	31
Abbildung 6 Enorale Temperaturmessung .....	35
Abbildung 7 Serum-Konzentration von Tumornekrosefaktor- $\alpha$ .....	37
Abbildung 8 Serum-Konzentration von Interleukin-6 .....	37
Abbildung 9 Veränderungen der weißen Reihe des Blutbildes.....	39
Abbildung 10 und 11 Konzentration der Plasmakatecholamine.....	40
Abbildung 12 und 13 Konzentration der Stresshormone .....	42
Abbildung 14 Herzfrequenz .....	43
Abbildung 15 Herzratenvariabilität.....	44
Abbildung 16 Verlauf des systolischen, mittleren und diastolischen Blutdrucks. ..	46
Abbildung 17 Muskuläre sympathische Nervenaktivität.....	48
Abbildung 18 MSNA während des Barorezeptor-Tests .....	51
Abbildung 19 Herzfrequenz während des Barorezeptor-Tests .....	53
Abbildung 20 Herzfrequenz im Verhältnis zum mittleren Blutdruck .....	54
Abbildung 21 MSNA im Verhältnis zum mittleren Blutdruck .....	56

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACCP	American College of Chest Physicians
Ach	Acetylcholin
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AD	Adrenalin
ANOVA	Analysis of Variance
$\alpha$ -AR	Alpha-Adrenorezeptoren
$\beta$ -AR	Beta-Adrenorezeptoren
BD	Blutdruck
BMI	Body mass index
BRR	Barorezeptorreflex
BRS	Baroreflexsensibilität
CRH	Corticotropin-releasing Hormone
Diast.	Diastolischer Blutdruck
DNX	Nucleus dorsalis nervus vagus
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor
EKG	Elektrokardiogramm
Hb	Hämoglobin
HF	High frequency (Hochfrequenzbereich)
Hf	Herzfrequenz
HHA	Hypothalamo-hypophysär-adrenokortikal
HMV	Herzminutenvolumen
HPLC	High performance liquid chromatography
HRV	Herzratenvariabilität
HS	Herzschläge
icv.	intracerebroventriculär
IL	Interleukin
INF- $\alpha$	Interferon alpha
iv.	intravenös
LF	Low frequency



## Abkürzungen

---

LPS	Lipopolysaccharid
Lsg.	Lösung
LZ	Leukozyten
MAD	Mittlerer arterieller Blutdruck
MSNA	Muskuläre sympathische Nervenaktivität
MW	Mittelwert
N	Nitroprussid
N1	Nitroprussid (Infusionsstufe 1)
N2	Nitroprussid (Infusionsstufe 2)
N3	Nitroprussid (Infusionsstufe 3)
NA <sup>1</sup>	Noradrenalin
NA <sup>2</sup>	Nucleus ambiguus
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NNM	Nebennierenmark
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthetase
NPY	Neuropeptid Y
NTS	Nucleus tractus solitarii
PaO <sub>2</sub>	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PaCO <sub>2</sub>	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
p.o.	peroral
PE	Phenylephrin
PE <sub>1</sub>	Phenylephrin (Infusionsstufe 1)
PE <sub>2</sub>	Phenylephrin (Infusionsstufe 2)
PE <sub>3</sub>	Phenylephrin (Infusionsstufe 3)
PG	Prostaglandin
PVH	Nucleus paraventricularis hypothalami
RP	Ruhephase
RVL	Rostrale ventrolaterale Medulla
SAD	sinuaortale Deafferenzierung
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SEM	Standardfehler der Mittelwerte

## Abkürzungen

---

SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SNS	Sympathisches Nervensystem
SSNA	Skin sympathetic nerve activity
SVRI	Systemischer vaskulärer Widerstands-Index
SYS.	Systolischer Blutdruck
Tab.	Tabelle
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor alpha
THX	Thorax
TP	Total power
vs.	Versus
ZNS	Zentrales Nervensystem
Zp.	Zeitpunkt

## 1 Einleitung und Fragestellung

Eine Sepsis gehört zu den häufigsten Todesursachen. Bei Patienten mit Multiorgandysfunktion liegt die Mortalität zwischen 30% und 70%. Besonders hoch ist sie unter denen, deren Infektion wiederholt zur Hospitalisation geführt hat (*Polderman und Girbes, 2004*). Jedes Jahr sind ca. 75000 Patienten in Deutschland und ca. 750000 Patienten in den USA betroffen. Die langen Liegezeiten und die Therapie führen in Deutschland zu jährlichen Kosten zwischen 3,6 und 7,7 Milliarden Euro. Dies stellt auch ökonomisch eine erhebliche Belastung dar (*Moerer und Burchardi, 2006*).

Ausgehend von einem Infektionsnidus im Organismus kann sich im Verlauf der Erkrankung schließlich eine Bakteriämie entwickeln. Dies zieht eine Kaskade von Ereignissen nach sich, die in einer kardiovaskulären Insuffizienz resultieren und schließlich zum septischen Schock mit einer lebensbedrohlichen, therapieresistenten Hypotension führen. Dabei spielen spezifische bakterielle Bestandteile (Lipopolysaccharide (LPS), Teichonsäuren), die das Körper-immunsystem erkennen kann und eine Abwehrreaktion induzieren (Ausschüttung verschiedener Zytokine, Komplementaktivierung, Leukozyten- (LZ) aktivierung) eine besondere Rolle (*Jupin et al., 1988; Martich et al., 1993*). So konnte zunächst tierexperimentell und später auch am Menschen gezeigt werden, dass die Applikation von Endotoxin, als Zellwandbestandteil gramnegativer Bakterien, immunologisch sowie kardiovaskulär, zu einer sepsisähnlichen Situation führt (*Suffredini et al., 1989*) und als experimentelles Sepsismodell geeignet ist.

### 1.1 Einfluss von Endotoxin auf das sympathische Nervensystem (SNS)

Der bisherige Kenntnisstand über den Einfluss von Endotoxin auf das sympathische Nervensystem (SNS) beläuft sich beim Menschen auf die Erfassung von Endorganantworten. Hierzu gehören unter anderem die Modulation der Herzfrequenzvariabilität, Änderungen der Stresshormonkonzentration und der Plasmakatecholamine oder deren Effekte auf den Blutdruck (BD). Dabei handelt es sich jedoch nur um die Summe der einzelnen Effekte der einzelnen Zweige des

autonomen Nervensystems (*Jennings, 1998*). Die Untersuchung der einzelnen Anteile des Sympathikus während der Endotoxinämie ist bislang am Menschen nicht durchgeführt worden.

Das autonome Nervensystem spielt bekanntlich eine wesentliche Rolle in der Regulation des kardiovaskulären Systems und weist zahlreiche Vernetzungsstellen mit dem körperlichen Immunsystem auf (*Besedovsky und del Rey, 1996; Elenkov et al., 2000*).

Die vorliegende Studie widmet sich speziell der Untersuchung der muskulären sympathische Nervenaktivität (MSNA). Als Teil des sympathischen Nervensystems spielt die MSNA im Zusammenspiel mit den Barorezeptoren eine entscheidende Rolle bei der zentralen BD-Regulation (*Sundlöf und Wallin 1978; Wallin, 1989*). Eine besonders geeignete Untersuchungsmethode ist die Mikroneurographie. Sie kam als etablierte Methode in zahlreichen Humanstudien zu kardiovaskulären Erkrankungen und der BD-Regulation zum Einsatz (*Zusammenfassung von Vallbo et al., 2004*) und wurde von uns nun erstmals im Zusammenhang mit dem experimentellen Sepsismodell verwendet.

Die Messungen von Plasmakatecholaminspiegeln und die Bestimmung der Herzratenvariabilität (HRV) lieferten uns, wenn auch sehr viel unspezifischer, zusätzliche Informationen über den allgemeinen Aktivierungsgrad des autonomen Nervensystems (*Grassi und Esler, 1999*).

## 1.2 Fragestellung

Ziel der Arbeit war, die Reaktion der muskulären sympathischen Nervenaktivität auf eine einmalige Injektion von *E.coli* Endotoxin zu erfassen. Im Einzelnen sollten folgende Fragen beantwortet werden.

- 1) Beeinflusst die intravenöse Endotoxin-Applikation die muskuläre sympathische Nervenaktivität?
- 2) Korrelieren die kardiovaskulären Veränderungen wie Blutdruck und Herzfrequenz (Hf) mit den Veränderungen der muskulären sympathischen Nervenaktivität?
- 3) Führt die Endotoxinapplikation zu Veränderungen des Barorezeptorreflexes (BRR)?
- 4) Liegen Änderungen der Funktion neuroendokriner Achsen der potentiellen Veränderung der muskulären sympathischen Nervenaktivität zu Grunde?

### 1.3 Grundlagen

#### 1.3.1 Sepsis

Die hohe Inzidenz der Sepsis machte es epidemiologisch und auch therapeutisch notwendig, das Krankheitsgeschehen zu definieren und weiter zu klassifizieren. Seit dem 1992 gefundenem Konsens von American College of Chest Physicians (ACCP) und Society of Critical Care Medicine (SCCM) unterscheidet man Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) und Sepsis (*ACCP et SCCM, 1992; Balk, 2000*). Die Definitionen wurden wie folgt festgelegt:

<b>SIRS:</b>	Körpertemperatur	> 38 °C, bzw. < 36 °C
	Herzfrequenz	> 90 /min
	PaCO <sub>2</sub>	< 32 mmHg
	Atemfrequenz	> 20 /min
	Leukozytose / Leukopenie	> 12000 bzw. < 4000 Zellen /mm <sup>3</sup>

**Sepsis:** Durch eine Infektion bedingte, generalisierte Entzündungsreaktion des Organismus in Form eines SIRS. Im weiteren Verlauf des Krankheitsgeschehens kann es zur Entwicklung einer schweren Sepsis kommen, wobei diese definitionsgemäß mit mindestens einer Organdysfunktion einhergeht.

**Septischer Schock:** Eine Sepsis bedingte Hypotonie (systolisch < 90 mmHg bzw. einer Differenz > 40 mmHg zum Ausgangsdruck), die auch nach Volumensubstitution nicht reversibel ist. Da beim septischen Schock neben einer verminderten Herzauswurfleistung (septische Kardiomyopathie) und einem intravaskulären Flüssigkeitsmangel die Verminderung des peripheren Widerstands im Vordergrund steht, wird diese Schockform als distributiver Schock bezeichnet.

### 1.3.2 Endotoxin (Lipopolysaccharid)

Das Endotoxin ist ein Lipopolysaccharid aus der äußeren Membran von Zellwänden gramnegativer Bakterien. Die funktionelle Struktur gliedert sich in drei verschiedene Komponenten.

Die „**O-Polysaccharid-Seitenkette**“ Sie ist verantwortlich für die Serospezifität der Bakterien und aktiviert den alternativen Weg des Komplementsystems.

Im Anschluss befinden sich die „Kernregionen“, die eine geringere Variabilität zwischen den verschiedenen gram-negativen Spezies aufweisen. Hauptursache für die Toxizität des Endotoxin ist das „**Lipid A**“. Es stimuliert unter anderem die Tumor-Nekrose-Faktor-Freisetzung (TNF- $\alpha$ ) und kann auch in der Abwesenheit von Antikörpern direkt den klassischen Weg des Komplementsystems aktivieren (Danner und Parillo, 1989; Bishop, 2005). Siehe Abbildung (Abb.) 1.

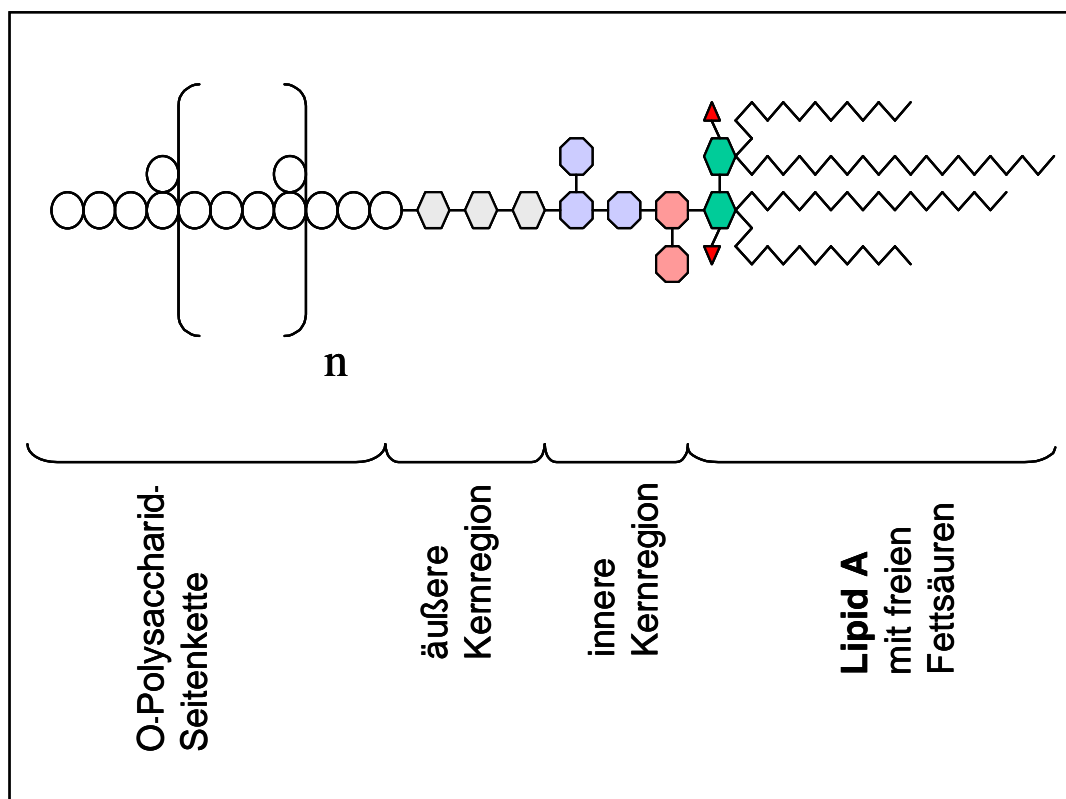


Abb. 1 Schematische Darstellung des Lipopolysaccharidmoleküls

Nach Übertritt in den Blutkreislauf hat Endotoxin verschiedene biologische Effekte, die qualitativ Analogien zur Symptomatik des septischen Schocks aufweisen. Dies

konnte zunächst tierexperimentell und darauf folgend auch am Menschen gezeigt werden (*Danner und Parillo, 1989; Jupin et al., 1988*). Neben einem deutlichen Anstieg der Körpertemperatur (*Elin et al., 1981; Suffredini et al., 1989*), sowie weiteren typischen klinischen Infektionszeichen wie Arthralgien, Myalgien, Kopfschmerzen und Nausea verursacht Endotoxin einen Anstieg der Akut-Phase-Proteine wie zum Beispiel dem C-reaktiven Protein (*Poloyac et al., 1999*). Weiterhin werden sekundär endogene Mediatoren (Zytokine, vasoaktive Amine, Arachidonsäuremetabolite) freigesetzt und Effektorzellen aktiviert (Neutrophile Granulozyten, Monozyten, Makrophagen) (*Dinarelli, 1984*).

Die Endotoxinämie führt schon nach kurzer Zeit zu einem hyperdynamen Status des Herz-Kreislauf-Systems. Der kardiale Index (Herzminutenvolumen (HMV) / Körpervolumen) steigt um durchschnittlich 53 % und die Hf um 36 %, während der systemische vaskuläre Widerstands-Index (SVRI), sowie der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) fallen (SVRI: -46 %; MAD: -18 %). Des Weiteren konnte durch Katheteruntersuchungen auch eine myokardiale Depression der Herzleistung nachgewiesen werden, welche unabhängig von der erhöhten Körpertemperatur auftritt (*Martich et al., 1992*). Derzeitige Erklärungsansätze der Hypotension betrachteten vor allem lokale Faktoren, die Fortschritte beim Verständnis peripherer Regelkreise erlaubten. Hierzu gehören beispielsweise die Einflüsse von Stickstoffmonoxid (NO) (*Vallance und Moncada, 1993*), oder auch die Depression der peripheren vasokonstriktorisches Antwort auf Katecholamine (*Bond, 1983; Macarthur et al., 2000; Pleiner et al., 2002*).

Untersuchungen, die jedoch einen direkten Einblick in zentral gesteuerte Regulationsmechanismen während der Endotoxinämie gewährten, waren bislang rar oder zu invasiv für die Durchführung am Menschen.

### **1.3.3 Das periphere autonome Nervensystem**

Das autonome Nervensystem gliedert sich in das sympathische und parasympathische Nervensystem. Sie sind über das zentralnervöse autonome Netzwerk eng miteinander verflochten. Efferente autonome neurale Impulse werden über prä- und postganglionäre Neurone übertragen.



Die peripheren efferenten Neurone des parasympathischen Nervensystems haben ihren Ursprung in den Kernarealen des III., VII., IX. und X. Hirnnervs und den sakralen Segmenten des Rückenmarks, während die des sympathischen Nervensystems in der intermediolateralen Zone des thoracolumbalen Rückenmarks entspringen.

In beiden Anteilen des Nervensystems erfolgt die Umschaltung auf das postganglionäre Neuron in Ganglien. Diese liegen für die parasympathische Innervation organnah, zum Teil sogar intramural. Im Falle des sympathischen Nervensystems finden sich die Ganglien organfern beidseitig paravertebral als Grenzstrang. Daneben existieren noch die unpaaren prävertebralen Bauchganglien.

### **1.3.3.1 Signalübertragung am Effektororgan**

Die Übertragung von Signalen auf das Erfolgsorgan erfolgt über die Ausschüttung von Neurotransmittern in den synaptischen Spalt. Während im Falle des Parasympathikus Acetylcholin (ACh) Transmittersubstanz ist und vorwiegend auf die verschiedenen muskarinergen Cholinrezeptoren wirkt, handelt es sich beim Sympathikus zumeist um Noradrenalin (NA), bei den Schweißdrüsen jedoch auch um ACh.

Das Nebennierenmark (NNM) stellt eine Ausnahme in diesem System dar, da es quasi als postganglionäres Neuron Adrenalin (AD) in die Blutbahn sezerniert und somit als hormoneller Anteil des sympathischen Nervensystems gelten kann.

Beim sympathischen Nervensystem wird das neuronale Signal über die Bindung des NA an adrenerge Rezeptoren vermittelt. Diese gliedern sich in die beiden Haupttypen  $\alpha$  und  $\beta$ , sowie weitere Untertypen wie  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - und  $\beta_3$ -Rezeptoren. Man spricht von  $\alpha$ -adrenerger bzw.  $\beta$ -adrenerger Wirkung.

### 1.3.3.2 Vegetative Effekte auf das kardiovaskuläre System

Tab. 1 Vermittlung kardiovaskulärer Einflüsse von Para- und Sympathikus über spezifische cholinerge und adrenerge Rezeptoren

Erfolgsorgan	cholinergere Impuls		adrenerger Impuls	
	Rezeptor	Effekt	Rezeptor	Effekt
<b>Herz</b>				
Sinusknoten	M2	↓ Frequenz	$\beta_1$	↑ Frequenz
Vorhöfe	M2	↓ Kontraktilität	$\beta_1$	↑ Kontraktilität
		↓ Leitungsgeschwindigkeit	$\beta_1$	↑ Leitungsgeschwindigkeit
AV-Knoten	M2	↓ Leitungsgeschwindigkeit	$\beta_1$	↑ Leitungsgeschwindigkeit
Ventrikel	-	-	$\beta_1$	↑ Kontraktilität + Automatizität
			$\alpha_1$	↑ Kontraktilität
<b>Blutgefäße</b>	M3	Dilatation (indirekt)	$\alpha_1$	Kontraktion
			$\alpha_2$	Kontraktion
			$\beta_2$	Relaxation
<b>Nebennierenmark</b>	M3	Adrenalinfreisetzung	-	-
<b>Juxtaglomeruläre Zellen</b>	-	-	$\beta_1$	↑ Reninsekretion
			$\alpha_1$	↓ Reninsekretion
<b>Fettgewebe</b>	-	-	$\beta_2$	↑ Lipolyse
			$\beta_3$	↑ Lipolyse
			$\alpha_2$	↓ Lipolyse
<b>Adrenerge und cholinerge Nervenendigung (präsynaptisch)</b>	M1	Hemmung der Transmitterfreisetzung	$\alpha_2$	↓ Transmitterfreisetzung
			$\beta_2$	↑ Transmitterfreisetzung

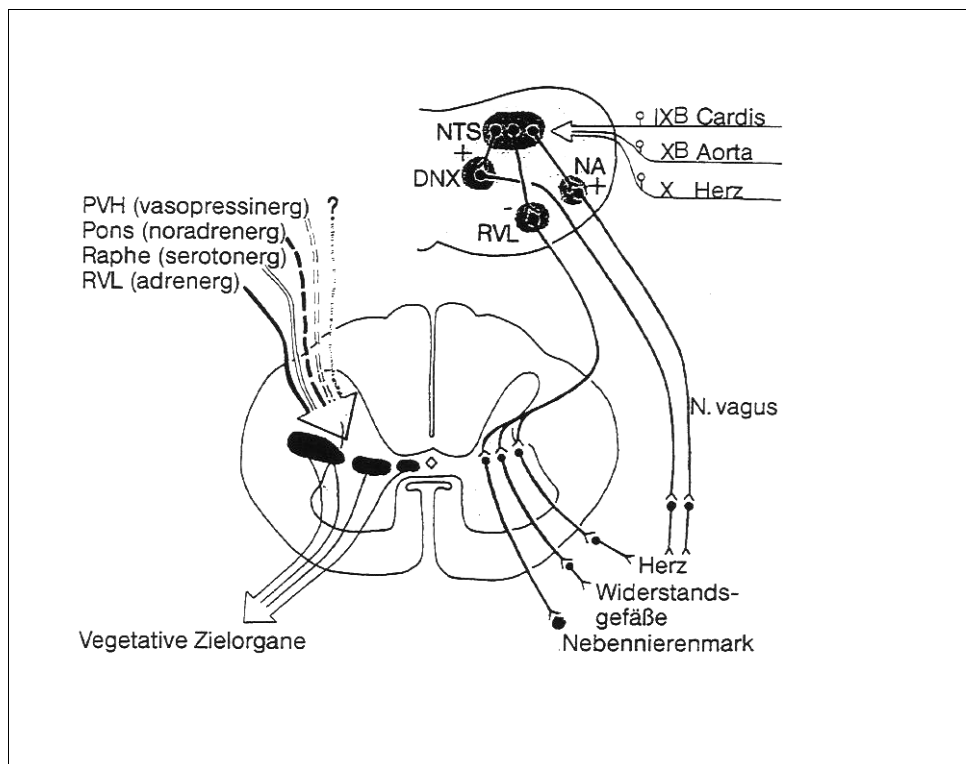
### 1.3.4 Zentralnervöse Steuerung des sympathischen Nervensystems

Die Aktivität der peripheren prä- und postganglionären sympathischen Neurone wird zentralnervös über autonome Zentren insbesondere des Hirnstamms

gesteuert. Hier werden auch die Einflüsse höherer zentralnervöser Zentren integriert.

Für die Regulation des Kreislaufs sind Areale innerhalb der Medulla oblongata, einem Teil des Hirnstamms, von besonderer Bedeutung. Eine Reizung von Neuronen der rostralen ventrolateralen Medulla (RVL) führt zur Steigerung des BD, der Hf sowie einer Katecholaminausschüttung aus dem NNM. Die Axone ziehen von der RVL direkt über den spinalen Hinterseitenstrang in die intermediäre Zone des Rückenmarks und bilden Synapsen mit den präganglionären Neuronen für die Vasokonstriktion. Die RVL reguliert so die Aktivität der Vasokonstriktorneurone. Gleichzeitig ist sie ein Bestandteil des BRR, der die Anpassung des kardiovaskulären Systems an die wechselnden Erfordernisse steuert. Informationen über den Funktionszustand des kardiovaskulären Systems gelangen über neuronale Afferenzen von den arteriellen Barorezeptoren, den Volumen- und Chemorezeptoren über den *nervus vagus* und *glossopharyngeus* zum *nucleus tractus solitarius* (NTS). Von hier ziehen Sekundärneurone zu den verschiedenen Kerngebieten des Hypothalamus sowie des Hirnstamms und hier wiederum besonders zur RVL. Im Falle der vagalen Kerngebiete wie des *nucleus ambiguus* (NA<sup>2</sup>) und *nucleus dorsalis nervus vagus* (DNX) haben die Efferenzen des NTS einen aktivierenden Einfluss, wohingegen sie im Falle der RVL, die mit sympathischen Nervenbahnen verschaltet ist, einen hemmenden Einfluss ausüben (Abb. 2).

Auch höhere Zentren wie das limbische System und der Hypothalamus haben einen Einfluss auf die autonomen Zentren der Medulla. Insbesondere der Hypothalamus übt über die neuronale Verknüpfung mit dem medialen Kreislaufzentrum eine Kontrolle auf das kardiovaskuläre System aus. Weiterhin existieren direkte Verbindungen zu den präganglionären Neuronen (*Jänig, 1990*). Schließlich beeinflussen hypothalamische Kerne auch über verschiedene Hormone die Aktivität der Endorgane und koordinieren die Funktion des endokrinen Systems und des autonomen Nervensystems.



**Abb. 2 Deszendierende Systeme von Hirnstamm und Hypothalamus** (Chalmers et al., 1984);  $X^B$  (Afferenzen aortaler Barorezeptoren *n. vagus*);  $X$  (Kardiale Afferenzen *n. vagus*);  $IX^B$  (Afferenzen *sinus caroticus n. glossopharyngeus*); **NTS** (*nucleus tractus solitarii*, viszeroafferent, zentrale Verschaltung der Afferenzen, Inhibition bzw. Aktivierung weiterer Kerngebiete); **RVL** (Rostrale ventrolaterale Medulla, viszeroefferent Sympathikus); **DNX** (*nucleus dorsalis n. vagus*, vagal viszeroefferent); **NA<sup>2</sup>** (*nucleus ambiguus*, vagal viszeroefferent); **PVH** (*nucleus paraventricularis hypothalami*), **Pons**, **Raphekerne** und **RVL** haben auch direkte Verbindungen mit den präganglionären Neuronen des Rückenmarks.

### 1.3.5 Methoden zur Bestimmung der sympathischen Nervenaktivität

Das sympathische Nervensystem besteht in seiner Gesamtheit aus vielen teilweise koordinierten, teilweise aber auch unabhängig voneinander regulierten Anteilen. Die Erfassung der einzelnen Anteile des sympathischen Nervensystems gestaltet sich schwierig. Lediglich über den sympathoadrenalen Zweig des SNS lässt sich anhand der Bestimmung des AD, das als hormoneller Botenstoff vom NNM in die Blutbahn sezerniert wird, eine konkrete Aussage treffen.

Die Bestimmung des peripher venös entnommenen NA kann als globales Maß für die sympathische Nervenaktivität gelten. Die verschiedenen Organsysteme (Skelettmuskel, Splanchnikusgebiet, Lunge etc.) tragen dabei in unterschiedlichem Ausmaß zur Bildung eines NA-Blutpools bei. Hinzu kommt, dass die Blutkon-

zentration nicht nur durch die Aktivität sympathischer Neurone, sondern auch durch die Wiederaufnahme des Transmitters in die Nervenendigungen vom Metabolismus sowie der Durchblutung innerhalb der verschiedenen Gewebe bestimmt wird. Diese Faktoren kann man bei der Bestimmung des NA-Spillovers, was die Verwendung radioaktiv markierter Transmitter und die Bestimmung der Durchblutung erfordert, erfassen (Esler, 1995).

Als eine weitere Methode zur Bestimmung sympathischer Nervenaktivität bietet sich die Erfassung der Funktionsänderung autonom innervierter Organe an (z.B. Bestimmung der HRV). Da die Funktion der Effektororgane jedoch auch anderen neuronalen, endokrinen und physikalischen Einflüssen unterliegt und somit eher ein Gesamteffekt dieser Faktoren bestimmt wird, ist ein Rückschluss auf die einzelnen, direkten sympathischen Effekte nur eingeschränkt möglich.

Eine sehr spezifische Aussage lässt hingegen die direkte intraneurale mikroneurographische Ableitung der sympathischen Nervenaktivität zu. Dies ist seit Mitte der 70er-Jahre auch beim Menschen möglich. Mit dieser Methode lässt sich die Aktivität der in peripheren Nerven verlaufenden C-Fasern erfassen, die die Erfolgsorgane der Haut (Schweißdrüsen, Hautblutgefäße und piloerectorische Muskulatur) sowie die Blutgefäße der Skelettmuskulatur versorgen.

### **1.3.6 Mikroneurographie**

Die Mikroneurographie wurde 1965 bis 1966 in Uppsala (Schweden) am Institut für klinische Neurophysiologie des akademischen Krankenhauses entwickelt. Es waren Hagbarth, der Leiter des Institutes, und Vallbo, der sich ihm kurze Zeit später anschloss, die als erste postganglionäre sympathische Nervenaktivität mittels Mikroneurographie am Menschen ableiteten (Hagbarth und Vallbo, 1968). Die Mikroneurographie ermöglicht es, Potentiale einzelner (single units), üblicherweise aber mehrerer sympathischer Neurone (multi units), zu erfassen. Hierzu wird eine Elektrode in einen oberflächlich gelegenen Nerv (*n. peroneus superficialis*, *n. medianus*, *n. radialis*) eingeführt und in die Nähe einer Gruppe sympathischer Neurone gebracht. Die Entladung der Neurone erfolgt synchronisiert in sogenannten „bursts“, deren Amplitude von der Anzahl der aktivierten Neurone

abhängt. Die Burstfrequenz der einzelnen Individuen ist sehr unterschiedlich, jedoch im jeweiligen Individuum reproduzierbar (*Sundlöf und Wallin, 1977*).

In peripheren Nerven ist es möglich, zwei unterschiedliche Arten sympathischer Nervenaktivität abzuleiten. Die MSNA und die sympathische Hautnervenaktivität (SSNA). Während die MSNA den Tonus im muskulären Gefäßbett und damit den peripheren Gefäßwiderstand durch Vasokonstriktion reguliert, handelt es sich bei der SSNA um eine Mischung aus sudomotorischen und vasokonstriktorisches Impulsen, wahrscheinlich aber auch pilomotorischen und vasodilatatorischen (*Wallin und Fagius, 1988; Hagbarth et al., 1993*). Die MSNA wird stark durch die Einflüsse des Barorezeptors, aber auch durch andere, im Folgenden näher beschriebene Mechanismen beeinflusst (*Wallin, 1989*).

### **1.3.7 Regulation sympathischer Nervenaktivität**

#### **1.3.7.1 Regulation durch Barorezeptoren**

Funktionell besonders wichtige Barorezeptoren befinden sich im Aortenbogen und Carotissinus. Die Erregung erfolgt durch Dehnung der Gefäßwände in Abhängigkeit von der Größe des transmuralen Drucks. Ein Druckanstieg bewirkt eine Erhöhung der Impulsrate der Baroaferenzen und führt zu einer Erregung der medial gelegenen Neurone im NTS. Diese Neurone wirken auf einen Teil der Neurone der rostralen ventrolateralen Medulla hemmend. Die Reizung des Barorezeptors führt somit zu einer Hemmung der sympathischen Neurone, welche für die Kontraktion der Widerstandsgefäße, sowie sympathischer Wirkungen am Herzen verantwortlich sind. Mikroneurographisch ist dies in einer Unterdrückung der MSNA zu erfassen (*Sundlöf und Wallin, 1978*). Die Denervierung des Barorezeptors durch eine Blockade des *n. vagus* und *n. glossopharyngeus* führt hingegen zu einer Erhöhung der MSNA (*Wallin, 1989*). Zudem sind die bursts dann nicht mehr an den kardialen Rhythmus gekoppelt (*Wallin, 1989*) und eine Differenzierung von SSNA und MSNA ist nicht mehr einfach möglich. So führen sensorische Exzitationen im Falle der Denervierung neben einer Zunahme der SSNA auch zur Steigerung der MSNA (*Fagius et al., 1985*).

Veränderungen der MSNA werden insbesondere durch den diastolischen BD bestimmt. Der systolische und mittlere BD spielen dabei eine geringere Rolle (Wallin, 1989). Das Verhältnis von MSNA und BD in Ruhe (MSNA / MAD) wird als „setpoint“ des Baroreflexbogens bezeichnet.

### 1.3.7.2 Regulation durch Chemorezeptoren

Die Erregung von Chemorezeptoren im *glomus caroticum* und *glomus aorticum* bei einer Abnahme des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks ( $\text{PaO}_2$ ), bzw. Zunahme des arteriellen Kohlendioxidpartialdrucks ( $\text{PaCO}_2$ ) (Anstieg der  $\text{H}^+$ -Konzentration) führt zu einer Stimulation des Kreislaufzentrums und des Atemzentrums in der *medulla oblongata*. Sowohl Hypoxie (Apnoe) als auch Hyperkapnie erhöhen die MSNA, trotz unveränderten oder sogar zunehmenden BD (Leuenberger et al., 2001; Tamisier et al., 2004).

### 1.3.7.3 Regulation durch Volumenrezeptoren

Volumenrezeptoren befinden sich primär im Herzen und in den großen Gefäßen. Eine Reduktion des intrathorakalen Blutvolumen bewirkt deren Erregung und führt zu einem Anstieg der MSNA (Wallin, 1989).

## 1.3.8 Stimulation muskulärer sympathischer Nervenaktivität (MSNA)

### 1.3.8.1 Mentaler Stress

Es konnte gezeigt werden, dass mentaler Stress, wie z.B. das Lösen von mathematischen Aufgaben unter Zeitdruck, die MSNA des *n. peroneus superficialis* zu steigern vermögen (Freyschuss et al., 1990; Noll et al., 1996, Anderson et al., 1987). Mentaler Stress erhöht nicht nur die MSNA, sondern auch die Hf und den arteriellen BD (Brody et al., 1994). Die BD-Steigerung führt nicht zu einer reflektorische Hemmung der MSNA. Sie steigt wider Erwarten signifikant an. Verschiedene Messungen der Durchblutung lassen vermuten, dass mentaler

Stress einen unterschiedlichen sympathoexzitatorischen Einfluss auf den Blutfluss in Armen und Beinen besitzt (*Anderson et al., 1987*).

### **1.3.8.2 Apnoe-Test**

Der Apnoe-Test setzt sich aus zwei exzitatorisch wirkenden Faktoren zusammen. Dieser Test impliziert zum einen ein Valsalva-Manöver, welches über eine Senkung des venösen Rückfluss zu einem Abfall des BD und damit über den BRR-gesteuert zu einer Erhöhung der MSNA führt (*Delius et al., 1972 b*). Valsalva-Manöver erhöhen immer die MSNA, aber normalerweise nicht die SSNA (*Delius et al., 1972 b*). Ein weiterer Faktor ist die Erregung von Chemorezeptoren, die wie zuvor beschrieben auf die Hypoxie, bzw. Hyperkapnie reagieren und die MSNA steigern. Die einer tiefen Inspiration folgende Apnoe (Apnoe-Test) ist demzufolge ein starker exzitatorischer Reiz für die MSNA.

### **1.3.9 Einflussgrößen auf die basale MSNA**

Die Aktivität des sympathischen Nervensystems variiert zwischen den einzelnen Individuen deutlich und umfasst ein Spektrum von 10 bis 90 bursts / 100 Herzschläge (HS) (*Sundlöf und Wallin, 1977*). Intraindividuell bleibt sie aber relativ konstant, steigt jedoch mit dem Alter an (*Delius et al., 1972 b*). Es bestehen auch Unterschiede der Geschlechter. So haben junge Frauen eine niedrigere Aktivität als junge Männer. Dieser geschlechtsspezifische Unterschied setzt sich bis ins höhere Alter fort. In Zwillingsstudien konnte die genetische Determinierung der Ruhe-MSNA gezeigt werden (*Wallin et al., 1993*). Übergewicht korreliert mit einer gesteigerten MSNA (*Spraul et al., 1993*).

Schließlich fanden noch zahlreiche Untersuchungen über verschiedene hormonellen Einflüsse auf das sympathische Nervensystem statt (*Dodt et al., 1998, Scherrer et al., 1993*). *Dodt et al. (2000)* wiesen beispielsweise eine akute Unterdrückung der MSNA bei der intravenösen (*i.v.*) Applikation von Hydrokortison nach.



### 1.3.10 Interaktionen des Immunsystems mit dem Sympathikus

Das zentrale Nervensystem und das Immunsystem sind adaptive Systeme unseres Organismus, die größte Relevanz für die Steuerung vegetativer, somatischer und kognitiver Funktionen sowie immunologischer Abwehrmechanismen haben. Die extreme Adaptivität ermöglicht die adäquate Reaktion auf externe und interne Einflüsse zur Erhaltung der Homöostase (*Tada, 1997*). Anfänglich wurde das Immunsystem oft als autonomes System betrachtet. Später konnte gezeigt werden, dass beide Systeme miteinander interagieren. Die Interaktion wird über das autonome Nervensystem und humoral durch neuroendokrine Mechanismen über die hypothalamo-hypophysäre-adrenokortikale Achse (HHA-Achse) verwirklicht.

#### 1.3.10.1 Einflüsse des SNS auf das Immunsystem

Das SNS ist in der Lage, durch die Innervation lymphatischer Organe und die lokale Ausschüttung des Neurotransmitters NA und Neuropeptid Y (NPY) Immunantworten zu modulieren (*Felten et al., 1985; Felten et al., 1988; Weihe et al., 1991*). Dies kann durch die Innervation der glatten Gefäßmuskulatur in lymphatischen Organen realisiert werden, indem über den Gefäßtonus die regionale Perfusion und somit der lymphatische Verkehr reguliert wird. Darüber hinaus führt die Stimulation regionaler sympathischer Nerven auch direkt zu einer Steigerung der lymphatischen Pumpmechanismen, was zu einer Erhöhung des lymphatischen „Outputs“ führt (*Ottaway und Husband, 1992*).

Bei der Innervation der lymphatischen Gewebe bestehen regional Unterschiede. Generell sind T-Zell Zonen, makrophagen- und plasmazellreiche Zonen vermehrt innerviert, während die nodulären und folliculären Reifungszonen von B-Zellen eine eher spärliche Innervation aufweisen (*Felten et al., 1985*). Die lokale NA-Freisetzung unterliegt neuronalen Einflüssen, die frequenzabhängig die lokale Speicherung, Aufnahme oder Freisetzung von NA bewirken (*Lundberg et al., 1989; Ehrenstrom und Ungell, 1990; Elenkov et al., 1995*).

*Blennerhasset und Bienestock (1998)* konstatierten, dass vor allem Thymozyten, T-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, Mastzellen, Plasmazellen und entero-

chromaffine Zellen das wesentliche Ziel noradrenerger Innervation sind. Gleichartige Verknüpfungen mit dem SNS existieren auch in anderen somatischen und viszerale Geweben (*Weihe et al., 1991*).

Alle Zellen des Immunsystems mit Ausnahme der (T-H<sub>2</sub>)-Helferzellen (*Sanders et al., 1997*) exprimieren Beta-Adrenorezeptoren ( $\beta$ -AR) in unterschiedlicher Dichte (*Yukawa et al., 1990; Kurz et al., 1997*). Weiterhin konnte man Alpha-Adrenorezeptoren ( $\alpha$ -AR) sowie die unterschiedlichen Dopaminrezeptoren (D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub>) nachweisen (*Takahashi et al., 1992; Nagai et al. 1993; Bondy et al., 1996*). Über verschiedene G-Protein vermittelte Signalkaskaden kann somit adrenorezeptorvermittelt die nukleäre Transkription von Zytokingenen aktiviert bzw. moduliert werden (*Elenkov et al., 1995; Elenkov et al., 1996 ; Elenkov und Chrousos, 1999; Nakamura et al., 1998*).

Außer den lokalen nervalen Verbindungen mit den primären und sekundären lymphatischen Organen besteht auch eine humorale Verbindung durch das aus dem Nebennierenmark freigesetzte AD.

Das SNS nimmt auch Einfluss auf Hämatopoese (*Maestroni und Conti 1994 a, Maestroni und Conti 1994 b*), Chemokinproduktion (*Hasko et al., 1998*) sowie die Produktion von Antikörpern (*Sanders, 1995; Sanders et al., 1997*).

### **1.3.10.2 Immunogene Einflüsse auf das SNS**

In den 70er-Jahren konnten *Besedovsky et al.* erstmalig zeigen, dass das Immunsystem auch dem zentralen Nervensystem (ZNS) Signale zukommen lässt. Die Applikation von Interleukin (IL)-1 verursachte bei Tieren einen Anstieg der Plasmakortisolspiegel und steigerte die Aktivität hypothalamischer noradrenerger Neurone. Weiterhin sorgte es für die Entleerung von NA-Speichern in der Milz (*Besedovsky et al., 1979; Besedovsky et al., 1983; Besedovsky et al., 1986; Del Rey et al., 1982*). Über einen komplexen Corticotropin-releasing Hormone (CRH)-abhängigen Signalweg im ZNS können Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$  die Aktivierung von SNS und HHA-Achse triggern (*Berkenbosch et al., 1987; Sapolsky et al., 1987; Dunn, 1988; Elenkov et al., 1992; Kovacs und Elenkov, 1995*). Die periphere Administration von IL-1 bewirkt so einen Anstieg des Metabolismus von NA im Hypothalamus (*Dunn, 1988; Dunn, 1998; Zhang et al.,*

1998; Dunn et al., 1999), was wiederum zu einem gesteigerten NA-Metabolismus peripher führt (Berkenbosch et al., 1989). Auch die peripheren NA-Konzentrationen nehmen zu. Intrazerebroventrikuläre (icv.) und periphere Injektionen von IFN- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  verursachen einen lang anhaltenden Anstieg der SNA des N. splenicus, wodurch gleichzeitig auch die lokale NA-Freisetzung in der Milz ansteigt (Katafuchi et al., 1991; Shimizu et al., 1994). Der Anstieg der extrazellulären NA-Konzentrationen im Hippocampus und Kortex nach der icv. CRH-Infusion stützt die Hypothese einer bedeutenden Rolle des CRH für die Signalinteraktion (Zhang et al., 1998). Dodt et al. zeigten (1998) und (2000), dass auch die periphere iv.-Injektion von CRH und Hydrokortisol Auswirkungen auf die periphere SNA haben. Wahrscheinlich partizipiert das SNS ähnlich wie die HHA-Achse an einem Feedbackmechanismus zwischen lymphatischen Organen und dem ZNS. Den afferenten Schenkel dieses Mechanismus machen zirkulierende Zytokine aus, die via Vagusafferenzen zentrale Komponenten des Stresssystems aktivieren (Maier et al., 1998). Den efferenten Schenkel stellt das SNS mit seinen Projektionen zu den lymphatischen Organen dar. Ein Feedbackmechanismus liegt nahe, auch in Anbetracht der Tatsache, dass die icv.-Infusion von IL-1 $\beta$  und Interferon (INF)- $\alpha$  abhängig von einer intakten Milzinnervation die periphere und splenische Aktivität der NK-Zellen rapide herabsetzt und auch die mitogene Antwort und Produktion von IL-1 und IL-2 der Lymphozyten reduziert (Sundar et al., 1989, Sundar et al., 1990; Brown et al., 1991). Dagegen resultiert aus der direkten Stimulation des N. splenicus eine reduzierte (Natürliche Killer Zellen) NK-Zellaktivität (Katafuchi et al., 1993). Die sympathischen Efferenzen sind in verschiedene Subdivisionen unterteilt, welche die verschiedenen Endorgane unterschiedlich beeinflussen. U.a. wurde dies gezeigt für die Efferenzen des Sympathikus zur Haut, der Skelettmuskulatur, der glatten Gefäßmuskulatur und zu viszeralen Organen (Delius et al., 1972 b, c; Janig und McLachlan, 1992 a, Janig und McLachlan, 1992 b). Verschiedene Studien legen nahe, dass unterschiedliche immunologische Stimuli einen spezifischen Einfluss auf die Aktivität der einzelnen Zweige des SNS haben (Besedovsky et al., 1979; Nijjima et al., 1991; Terao et al., 1994; Pacak et al., 1998).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Verwendete Geräte, Medikamente und Materialien

#### Geräte

Finapres <sup>®</sup>	Finapres Medical Systems BV, Amsterdam, Niederlande
Welch Allyn Tycos <sup>®</sup>	Welch Allyn Inc., Skaneateles Falls, USA
Pneumotrace <sup>®</sup> II	UFI, Main, USA
ACTHERM <sup>®</sup> (Modell ACT 2000+)	Imp. Scheiber GmbH, Kreuzwertheim, Deutschland
EKG Bio amp <sup>®</sup>	AD Instruments GmbH, Spechbach, Deutschland
Mikroneurographieverstärker Stimulator Grass <sup>®</sup> S48	T. Karlsson, Göteborg, Schweden Astro-Med, Rodgau, Deutschland
PowerLab <sup>®</sup> / 16S	AD Instruments Pty. Ltd., Castle Hill, Australien
Chart <sup>®</sup> , Version 4.2	AD Instruments Pty. Ltd., Castle Hill, Australien
Sigma <sup>®</sup> Kühlzentrifuge	SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Osterode im Harz, Deutschland
HPLC (elektrochem. Detektor) BGA- Gerät	Waters company, Ashbourne, USA Nova Biomedical GmbH, Rödermark, Deutschland

#### Laborkits

Human IL-6 Ultra Sensitive	Fa. Biosource <sup>®</sup> , Camarillo, USA
Human IL-6 CytoSets	Fa. Biosource <sup>®</sup> , Camarillo, USA
Human TNF- $\alpha$ Ultra Sensitive	Fa. Biosource <sup>®</sup> , Camarillo, USA
Human TNF- $\alpha$ CytoSets	Fa. Biosource <sup>®</sup> , Camarillo, USA
Enzym-Test Cortisol <sup>®</sup>	Boehringer Mannheim Immundiagnostica, Deutschland
Lumitest ACTH <sup>®</sup>	Henning GmbH, Berlin, Deutschland

**Medikamente und Material**

US Standard Ref. Endotoxin (LOT-G1)	USP™, Rockville, USA
Phenylephrin	Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, USA
Nitroprussidnatrium, Nipruss®	Schwarz Pharma GmbH, Monheim, Deutschland
NaCl – Lösung 0,9 %-ige	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Glucose- Lsg. 5 %-ige	Delta-Pharma GmbH, Pfullingen, Deutschland
Ringer- Lsg.	Delta-Pharma GmbH, Pfullingen, Deutschland
<i>i.v.</i> Katheter, OPTIVA* 2® 16 G	Johnson & Johnson, New Brunswick, USA
Fixationpflaster, Curapor® <i>i.v.</i>	Lohmann & Rauscher International GmbH & Co. KG, Rengsdorf, Deutschland
Monovetten	Fa. Sarsted, Nümbrecht, Deutschland
Reaktiongefäß 1,5 ml	Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Spritzen 2 ml, BD Discardit™ II	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
EKG- Einmal-Elektroden, ARBO®	Tyco Healthcare Deutschland GmbH, Neustadt (Donau), Deutschland
EKG- Elektroden	ASMUTH, Minden, Deutschland

## 2.2 Design der Studie

Die Studie folgte einem placebokontrollierten, einfach-blinden, randomisierten Design. Ein Teil der Probanden erhielt gewichtsadaptiert aufgereinigtes LPS, der andere Teil physiologische Kochsalzlösung als Bolus appliziert. Allerdings führte die LPS-Wirkung stets zu so ausgeprägten Symptomen, dass alle Probanden die Applikation der Wirksubstanz erkannten. Untersucht wurden gesunde, männliche, nicht rauchende Probanden im Alter zwischen 22 und 45 Jahren, die weder Allergien hatten, noch regelmäßig Medikamente einnahmen. Am Tag der Untersuchung trafen die Probanden nüchtern ein. Vor Versuchsbeginn fand eine Aufklärung der Teilnehmer über eventuelle Risiken und Nebenwirkungen, die diese Studie beinhaltete, statt. Die Probanden willigten schriftlich die Teilnahme an der Studie ein. Die Genehmigung für diese Studie erteilte die Ethik Kommission der Medizinischen Universität zu Lübeck (Aktenzeichen 02-056).

### 2.2.1 Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv, das in die Auswertung einging, bestand aus insgesamt 18 Probanden. 11 Probanden erhielten LPS und 7 Placebo.

Die beiden Gruppen unterschieden sich weder im mittleren Alter noch im Body mass index (BMI) noch Körpergröße signifikant voneinander. In der folgenden Liste werden die zwei Gruppen mit den jeweiligen Mittelwerten der biometrischen Daten sowie der Standardfehler der Mittelwerte (SEM) angegeben.

Placebo-Gruppe:	Altersdurchschnitt in Jahren $\pm$ SEM:	26,3 $\pm$ 5,3
	Mittel Körpergröße in m $\pm$ SEM:	1,87 $\pm$ 0,06
	Mittel BMI in kg/m <sup>2</sup> $\pm$ SEM:	23,3 $\pm$ 1,9
Verum-Gruppe:	Altersdurchschnitt in Jahren $\pm$ SEM:	28,7 $\pm$ 6,6
	Mittel Körpergröße in m $\pm$ SEM:	1,84 $\pm$ 0,08
	Mittel BMI in kg/m <sup>2</sup> $\pm$ SEM:	22,9 $\pm$ 3,0

### 2.3 Vorbereitung und Aufbau des Experiments

Die Probanden erschienen nüchtern um 8.00 Uhr im neurophysiologischen Labor der Medizinischen Klinik I der Universität Lübeck. Sie wurden zunächst einer gründlichen, allgemeinen körperlichen Untersuchung unterzogen. Die Körpertemperatur wurde enoral gemessen und das Körpergewicht bestimmt. Aus der ersten Blutentnahme wurden klinische Routineparameter (Elektrolyte, C-Reaktives-Protein, Gerinnung und ein Differentialblutbild) bestimmt. Im Anschluss an die Untersuchung wurden die Probanden zur Toilette gebeten, um eine Aktivierung von sympathischer Nervenaktivität während des Experiments aufgrund gefüllter Blase zu vermeiden (*Fagius und Karhuvaara, 1989*). Im Untersuchungsraum begaben sich die Probanden in einem Bett in eine möglichst bequeme horizontale Körperlage. Es wurde ein großlumiger Venenverweilkatheter in die linke anterokubitale Vene eingebracht und mit einem 3-Wege-Hahn verbunden. Durch diese Braunüle wurde Blut entnommen und im weiteren Verlauf des Experiments alle Medikamente appliziert. Zur Gewährleistung der Volumenkonstanz und um den Katheter durchgängig zu halten, wurde während des Versuchs eine Gesamtmenge von 250 ml isotoner NaCl-Lösung infundiert. Im nächsten Schritt wurde der Pneumobelt<sup>®</sup>, ein 3-Kanal-EKG, sowie ein Zwölf-Kanal-EKG zur Bestimmung der HRV wie unten genannt installiert.

Der BD wurde volumen-photoplethysmographisch (2300 Finapres<sup>®</sup>) an der Mittelphalanx des linken Mittelfingers bestimmt sowie oszillometrisch am rechten Oberarm (Welch Allyn Tycos<sup>®</sup>).

Abschließend wurde die Mikroneurographie wie unter 2.5.1 beschrieben vorbereitet. Nachdem eine gute Ableitposition gefunden war, wurde mit der kontinuierlichen Aufzeichnung sämtlicher Parameter begonnen.

### 2.4 Versuchsprotokoll

Der Versuchsablauf gliederte sich in zwei Phasen, der baseline-Phase vor Endotoxingabe und der LPS-Phase, bei der 90 min nach Injektion die gleichen Tests der sympathischen Funktion durchgeführt wurden. Die Abb. 5 gibt eine

genaue Übersicht über Zeitpunkte bzw. Art der einzelnen Manöver und Messungen. Die MSNA-, Hf- und HRV wurden zeitlich den unterschiedlichen Manövern entsprechend analysiert.

Das Experiment endete 3 Stunden post LPS-Bolusapplikation. Nachdem der Versuch abgeschlossen war, wurde den Probanden 1 g Paracetamol peroral (p.o.) verabreicht. Sie verblieben noch eine weitere Stunde im Labor zur klinischen Beobachtung und wurden schließlich, wenn es aus medizinischer Sicht keine weiteren Bedenken gab, entlassen. Für den Fall unerwarteter Beschwerden war auch nachfolgend jederzeit ein informierter Arzt telefonisch erreichbar.



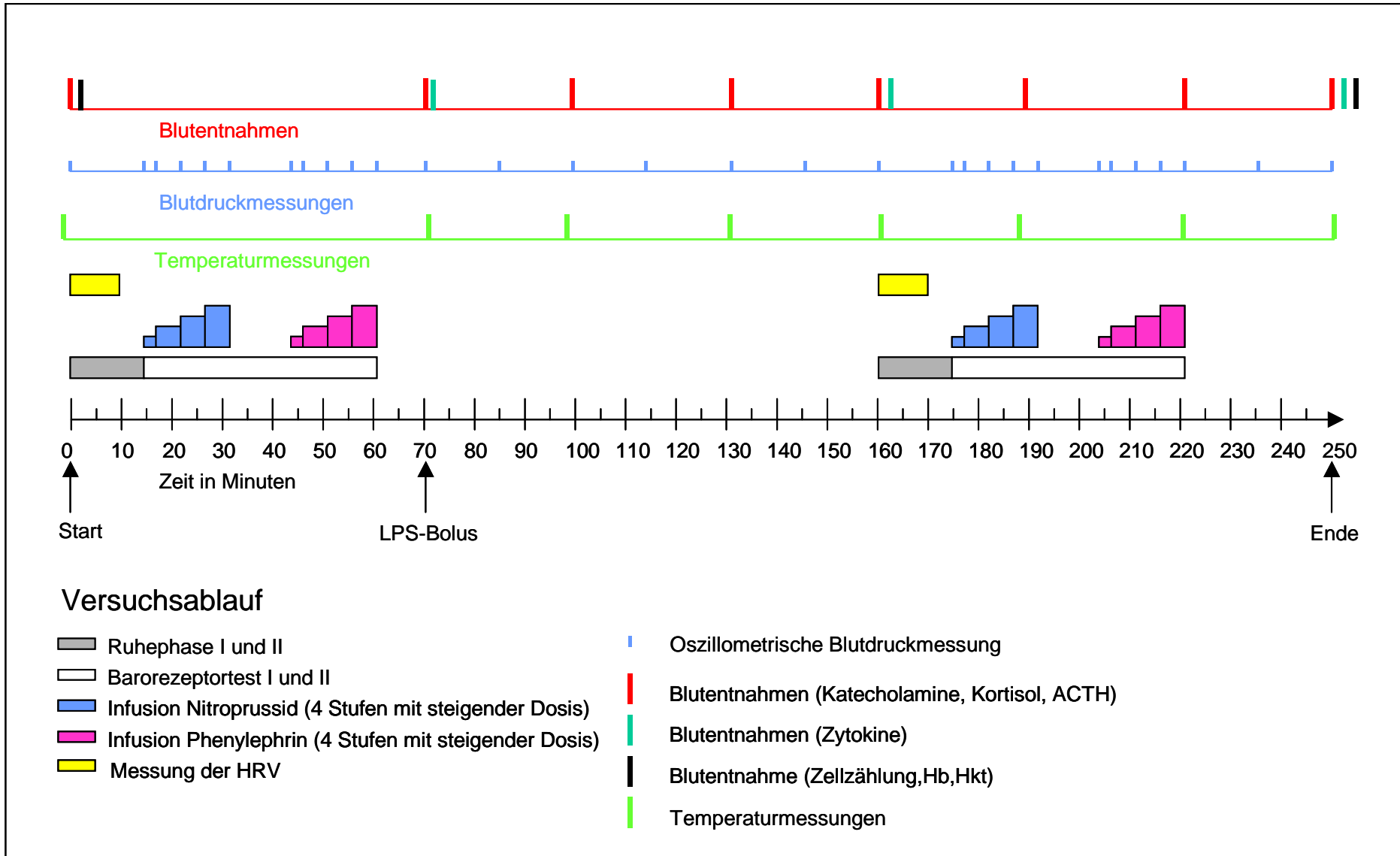


Abb. 3 Versuchsablauf

### 2.4.1 Barorezeptorreflex-Test

Für den Test des BRR wurde zunächst der BD gesenkt. Hierzu wurde eine Lösung mit Nitroprussid (N) intravenös infundiert. Nach einer 10-minütigen Pause, die gewährleisten sollte, dass die Wirkung des ersten Medikaments abgeklungen war (Halbwertszeit [N] = 3 – 4 min), wurde über den selben Zugang Phenylephrin (PE), das über  $\alpha_1$ -Rezeptoren eine Vasokonstriktion und BD-Steigerung bewirkt, verabreicht. Beide Medikamente wurden zunächst in einer körperlgegewichts-unabhängigen, einheitlichen Dosis über 2,5 min (Vorlaufphase) appliziert. Es folgten jeweils drei weitere Infusionsstufen mit einer körperlgegewichtsabhängigen Dosis. Jede der Infusionsstufen wies eine Dosissteigerung zur vorhergehenden auf und hatte eine Dauer von 5 min (Abb. 4). Der BRR-Test fand vor der LPS-Applikation im Anschluss an die erste Ruhephase (RP) sowie zwei Stunden nach LPS-Applikation im Anschluss an die 2. RP statt.

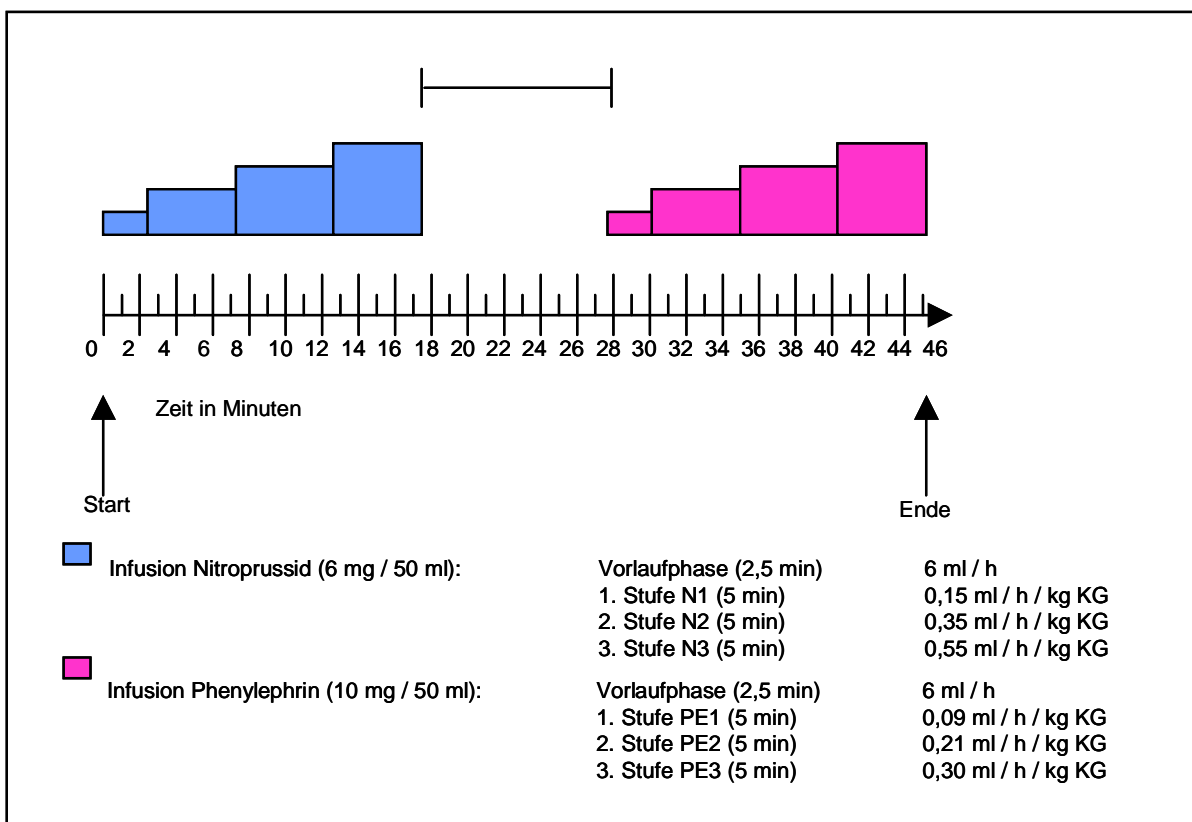


Abb. 4 Infusionsprotokoll des Barorezeptorreflex-Tests (Phenylephrin (PE<sub>1-3</sub>); Nitroprussid(N<sub>1-3</sub>))

## **2.5 Spezielle Untersuchungen**

### **2.5.1 Mikroneurographie**

#### **2.5.1.1 Technische Grundlagen**

Die Ableitung sympathischer Nervenaktivität erfolgte mit sterilisierten, isolierten Wolfram Mikroelektroden, die einen Schaftdurchmesser von 0,2 mm und eine unisolierte Spitze von 1 - 15 µm aufwiesen. Eine Beschichtung mit Epoxidharz (Voltalac 435), die jedoch durch das Eindringen in die Haut zurückgeschoben wird und die Spitze freigibt, wurde zur Isolation verwendet (*Vallbo et al., 1979*). Nach Gebrauch einer Elektrode beträgt die Impedanz 20 - 100 kOhm (*Vallbo et al., 1979*). Als Referenz wurde eine zweite Elektrode mit einer geringeren Impedanz wenige Zentimeter von der Ableitelektrode entfernt in das Subkutangewebe platziert.

Zur Aufbereitung des gewonnenen Signals wurde ein Verstärkersystem, bestehend aus Vorverstärker (preamplifier, 1000-fache Verstärkung) und Hauptverstärker (amplifier, 50-fach) verwendet, der in einem Frequenzbereich von 0,2 – 8 kHz arbeitete. Das so 50000-fach verstärkte Signal wurde mit einer Bandbreite zwischen 0,7 - 2 kHz gefiltert und diskriminiert. Nach der Integration des so aufbereiteten Signals, war das Summenpotential als burst zu erkennen. Ein burst wurde in die Auswertung mit einbezogen, sobald seine Amplitude 3-fach über der mittleren Amplitude des Grundrauschens lag.

#### **2.5.1.2 Mikroneurographische Ableitung**

Der Proband wurde gebeten das rechte Bein in eine Schaumstoffschiene zu platzieren. Dadurch wurde das Bein wenige Zentimeter hochgelagert und in seiner Lage stabilisiert. Nach der durch Palpation ungefähr bestimmten Lage des *n. peroneus* hinter dem Fibulaköpfchen, bzw. des *n. tibialis*, wurde der Nerv transkutan elektrisch stimuliert (*Sundlöf und Wallin, 1977*). Dazu wurden mit einer Spannung zwischen 50 - 70 V, einer Dauer von 0,1 ms pro Reiz und einer Stimulationsfrequenz von 1 Hz die Punkte im Verlauf des Nerven aufgesucht und markiert, die bei Stimulation die deutlichsten unwillkürlichen Muskelkontraktionen

hervorriefen. Anschließend wurde die Ableitelektrode durch die Haut eingeführt und in Richtung des Nerven vorgeschoben. Auch diese Elektrode verursachte Reizströme, die in der Frequenz denen der transkutanen Stimulierung glichen, jedoch mit einem Zehntel der Spannung appliziert wurden (Stimulator-Grass<sup>®</sup> Model S 48). Je näher die Elektrodenspitze einem Faszikel lag, desto weniger Spannung war für die Stimulation nötig. Die Stimulation eines Nervenfaszikel führte entweder zu Parästhesien oder zur Muskelkontraktion, welches die zwei unterschiedlichen Qualitäten gemischter Nervenstränge widerspiegelte. Weiterhin bewirkte das leichte Beklopfen der innervierten Muskulatur eine Stimulation von Dehnungsrezeptoren, die sich in einer entsprechenden Aktivierung afferenter Neurone äußerte. Demgegenüber führten taktile Reize der Haut zu einer Stimulation sensorischer Afferenzen innerhalb von Nerven, die der Haut entstammten (*Vallbo et al., 1979*). Bei zufriedenstellender Positionierung im muskulären Faszikel wurden die Impulse gestoppt und die Elektrode adjustiert, bis die sympathische Nervenaktivität in Form von bursts zu erkennen war, ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis vorlag, Hautsignale hingegen nicht provoziert werden konnten.

Die MSNA-bursts zeigen ein pulssynchrones Auftreten. Sie sind über die Barorezeptoren an die einzelnen Herzzyklen gekoppelt (*Hagbarth und Vallbo., 1968; Delius et al., 1972 b*). Mit einer Latenzzeit von ca. 1,3 s (in Abhängigkeit von der Körperlänge) folgt ein burst einer Herzaktion (*Fagius und Wallin, 1980*). Im Durchschnitt beläuft sich die Anstiegsgeschwindigkeit im Peroneus Nerv auf 1,1 m/s. Dieses Phänomen ist bei der SSNA unter normothermen Bedingungen nicht zu beobachten. Hier zeigt sich die Nervenaktivität in eher unregelmäßigen Burstimpulsen mit einer Anstiegsgeschwindigkeit zwischen 1,3 und 0,8 m/s (*Fagius und Wallin, 1980*).

### 2.5.1.3 Unerwünschte Wirkungen

Durch eine Beschränkung der Suchzeit für eine akzeptable Ableitposition auf unter 45 min konnten mögliche unerwünschte Wirkungen durch die Mikroneurographie vermieden werden (*Eckberg et al., 1989*).

## 2.5.2 Herzratenvariabilität

### 2.5.2.1 Grundlagen

Das Herz weist in seiner Schlagfrequenz zyklische Variationen auf, die stark unter dem Einfluss des autonomen Nervensystems stehen (*Akselrod et al., 1985; Malliani et al., 1991*). Diese Variationen lassen sich mittels einer Spektralanalyse bestimmten Frequenzbändern zuordnen. Die erfassten Frequenzen liegen zwischen 0 und 0,5 Hz. Dieser Bereich wird als „total power“ (TP) bezeichnet und gibt die Gesamtvariabilität in der Frequenzdomäne an. Dabei treten zwei Frequenzbänder besonders deutlich hervor, die unabhängig voneinander die Herzrhythmusvariabilität beeinflussen. Die Schwankungen im Hochfrequenzbereich (HF oder high frequency; ca. 0,3 Hz) sind besonders vom Atemzyklus abhängig und werden in erster Linie durch vagale Einflüsse determiniert. Sie verschwinden zum größten Teil unter der Gabe von Atropin (*Akselrod et al., 1985*). Die Variabilität im sogenannten Niedrigfrequenzbereich (LF oder low frequency; ca. 0,1 Hz) steht zum großen Teil unter dem Einfluss der kardialen sympathischen Nervenfasern, unterliegen jedoch des Weiteren einer vagalen Beeinflussung (*Akselrod et al., 1985*).

Die Erfassung der HRV ist gegenwärtig die einfachste und geeignetste Methode der Erfassung autonomer Einflüsse auf die Hf. Zu beachten ist jedoch, dass die LF-HRV nicht, wie oft beschrieben, direkte Rückschlüsse auf die Aktivität sympathischer Nervenfasern zum Herzen zulässt, sondern vielmehr eine Summe verschiedener autonomer Effektorprozesse auf den kardialen Rhythmus darstellt. *Kingwell et al. (1994)* zeigten bei der gleichzeitigen Bestimmung der NA-Freisetzung am Herzen und der HRV, dass keine verlässlichen Zusammenhänge zwischen diesen beiden Parametern bestehen. Klinische Folgestudien bestätigten

diese Ergebnisse (*Grassi und Esler, 1999*). Änderungen der LF sind besonders dann zu beobachten, wenn Barorezeptormechanismen die sympathische und auch die vagale Aktivität zum Herzen verändern (wie z.B. in einem Orthostasetest). Eine große Zahl anderer Stimuli für das sympathische Nervensystem, bei denen der BRR nicht involviert ist, führen nur selten, oder oft auch gar nicht zu einem korrelierenden Anstieg des LF-Spektralbandes (*Grassi und Esler, 1999*).

### **2.5.2.2 Messung der Herzratenvariabilität**

Für die Messung der HRV wurden gewöhnliche Elektrokardiogramm (EKG)-Elektroden verwendet und standardmäßig mit 12 Kanälen nach Einthoven, Goldberger und Wilson abgeleitet. Die jeweiligen Messungen fanden für jeweils 10 min parallel zu den im Versuchsprotokoll beschriebenen Ruhephasen des Experiments statt. Die analog gemessenen Daten wurden digitalisiert und online aufgezeichnet (Taktfrequenz 1000 Hz), wobei synchron die graphische Darstellung über ein Softwareprogramm erfolgte (Cardioscan, Fa. MPM). Die erfassten Daten wurden mit dem gleichen Programm verwaltet und auf einer Festplatte gespeichert.

### **2.5.3 Herzfrequenz, Blutdruck, Atmung und Temperatur**

Neben dem 12-Kanal-EKG wurde ein gewöhnliches 3-Kanal-EKG kontinuierlich abgeleitet. Die BD-Messung wurden sowohl kontinuierlich nicht-invasiv mittels volumen-photoplethysmografischer Methode (2300 Finapres<sup>®</sup>) an der Mittelphalanx des linken Mittelfingers als auch oszillometrisch am rechten Oberarm (Welch Allyn Tycos<sup>®</sup>) bestimmt. Nach 3-facher Eichmessung erfolgte die oszillometrische BD-Erfassung im viertelstündigen Abstand am rechten Oberarm. Während des BRR-Test wurden weitere Messungen im Anschluss an die medikamentöse Hebung bzw. Senkung des BD durchgeführt, wobei zwischen den einzelnen Infusionsphasen gemessen wurde (Abb. 3, Abb. 4 und Abb.5).

Die kontinuierliche Finapres<sup>®</sup>-Messung hat sich vor allem für die zuverlässige Erfassung der relativen BD-Schwankungen bewährt, während die absoluten BD-Werte von den oszillometrisch gemessenen Werten differieren konnten. So diente diese Methode vor allem als Sicherheit und der Verlaufskontrolle des BD während des Experiments.

Für die nachträgliche Beurteilung des respiratorischen Einflusses auf die MSNA (*Delius et al., 1972 b*) wurde die Atemexkursion durch einen um den Thorax (THX) gelegten Riemen bestimmt, der mit einem Dehnungsrezeptor verbunden war und Aussagen über Umfangsdifferenzen zuließ (Pneumotrace<sup>®</sup>II).

Die Körpertemperatur wurde initial (actherm<sup>®</sup> mod. ACT2000+) und nach der LPS-Applikation in 30-minütigen Abständen oral gemessen.

### **2.5.4 Signalaufarbeitung**

Die Signalaufarbeitung im Falle der HRV erfolgte wie bereits im Abschnitt „Messung der Herzratenvariabilität“ erläutert.

Die kontinuierlichen Ableitungen (Mikroneurographie, Finapres<sup>®</sup>, EKG, Atemexkursion, Mittelwert (MW) der Herzfrequenz) wurden online mit einer Taktfrequenz von 200 Hz digitalisiert (Powerlap<sup>®</sup>) und mit der Software Chart for windows v 4.2<sup>®</sup> auf dem PC aufgezeichnet (Abb. 5). Die Analyse der MSNA erfolgte wie beschrieben durch die manuelle Auszählung von bursts. Gezählt wurden ausschließlich die bursts, die in ihrer Amplitude 3-fach über der Amplitude des Grundrauschens lagen. Eine Schwierigkeit bei der Aufzeichnung der MSNA ist, dass die Ergebnisse bedeutend von der Elektrodenposition zum Nervenfaszikel abhängig sind. Eine Elektrodendislokation kann somit artefiziell zu einer Abnahme der MSNA führen. Bei der Datenanalyse wurde besonderer Wert darauf gelegt, solche artefaktbedingten Veränderungen auszuschließen. Messungen mit abrupten und persistierenden baseline-Veränderungen wurden verworfen. Darüber hinaus führten die Probanden zu Beginn und am Ende des Experiments ein standardisiertes Apnoe-Manöver aus, welches regelmäßig, auch unter sympathosuppressiven Bedingungen zu einer Induktion der MSNA-Aktivierung führt. Der jeweils größte MSNA-burst aus den Apnoe-Manövern zu Beginn und am Ende des Experiments wurden miteinander verglichen und die

MSNA-Daten nur dann für die weitere Analyse verwendet, wenn die Differenz der Burstamplituden weniger als 10 % betrug. Das Experiment endete bei allen Teilnehmern mit einer 10-minütigen Suchphase, während der durch Adjustierung der Elektrodenposition versucht wurde, eine Verbesserung der Aufzeichnungsqualität zu erzielen. Gelingt dies nicht, sicherte dies zusätzlich den Ausschluss von Messungen einer durch Elektrodendislokation verursachten MSNA-Reduktion. Nach Bewertung mit diesen Kriterien konnten insgesamt 7 vollständige Messungen pro Gruppe in die Studie eingeschlossen werden. Alle Messungen wurden von demselben Beobachter analysiert, der hinsichtlich der Gruppenzugehörigkeit der jeweiligen Daten verblindet war. Während der RP von 15 min wurden die bursts in jeweils 5 x 3 min Abschnitten ausgezählt und der Mittelwert gebildet. Für die Auswertung des BRR-Tests wurden die bursts während der einzelnen Infusionsstufen ausgezählt. Die MSNA wurde als Anzahl von bursts pro Minute (Burstfrequenz) oder als Anzahl von bursts pro 100 HS (Burstinzidenz) als arbiträre Einheit angegeben.



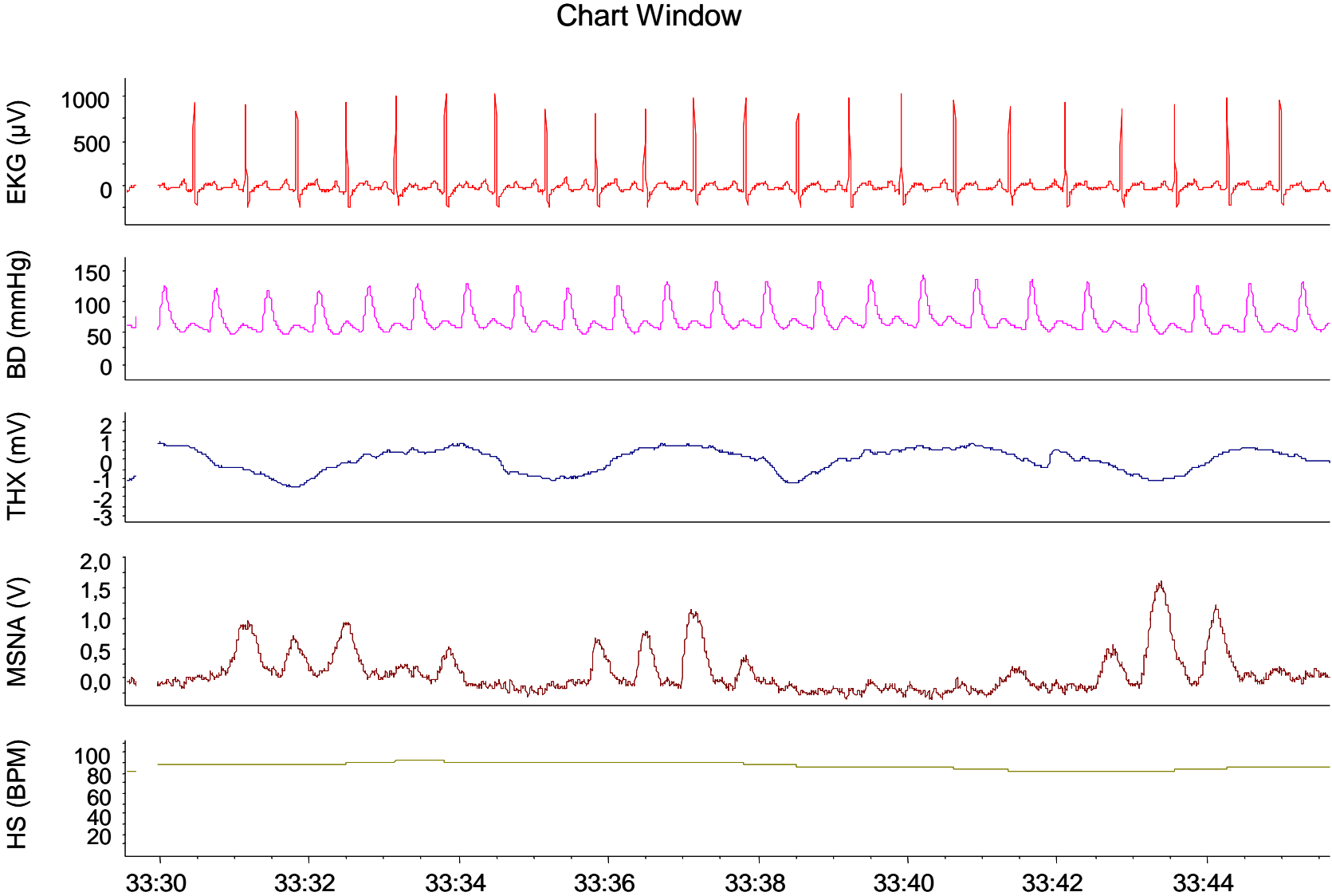


Abb. 5 Digitalisierte Datenaufzeichnung im „Chart window“

### 2.5.5 Laborbestimmungen

Die venösen Blutentnahmen für die Messungen des Kortisols erfolgte mit 9 ml Serum-Monovetten<sup>®</sup> (enthalten Gel / Gerinnungsförderer), die der Katecholamine und des Adrenokortikotropen Hormons (ACTH) mit 2,7 ml bzw. 9 ml EDTA-Monovetten<sup>®</sup> (enthalten Kalium EDTA 1,6 mg/ml Blut). Diese Parameter wurden einmalig zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt (Zp.) 0 min), dann direkt vor dem LPS / Placebo-Bolus (Zp. 70 min) und anschließend halbstündlich bis zum Versuchsende entnommen (Zp. 250 min). Die Proben wurden direkt bei 4 °C mit 4000 U/min für 10 min zentrifugiert (Sigma<sup>®</sup> „Kühlzentrifuge“) und aus den entsprechenden Monovetten<sup>®</sup> entweder 500 µl (Kortisol, ACTH) oder 1,2 ml (Katecholamine) Serum bzw. Plasma in Reaktionsgefäße abpipettiert. Die Proben wurden bis zu ihrer Bestimmung bei - 80 °C gelagert.

Zu den Zeitpunkten (0 min), sowie (160 min) und (250 min) wurden weitere Blutentnahmen durchgeführt. Diese dienten der Bestimmung der Serumkonzentrationen von IL-6 und TNF- $\alpha$  (2,5 ml Vollblut in mit 1 ml Heparin versetzten 5 ml Einwegspritzen) und wurden unmittelbar analysiert.

Zum ersten und letzten Zeitpunkt (0 min und 250 min) wurden auch Proben für die Elektrolyte (9 ml Serum-Monovette), ein großes Blutbild (9 ml EDTA-Monovette) und eine Gerinnungsanalyse (3 ml Citrat-Monovette mit 0,3 ml Tri-Natriumcitrat) entnommen. Die für die Studie insgesamt benötigte Menge Blut betrug somit 240 ml je Proband.

#### 2.5.5.1 Bestimmungsmethoden

Die Bestimmung der Serumelektrolyte und des Differentialblutbildes erfolgte routinemäßig direkt nach der Entnahme im Institut für klinische Chemie, bzw. im Institut für Hämatologie der Universität Lübeck.

Die Hormonbestimmungen (Kortisol, ACTH), sowie die Analyse der Katecholamine erfolgte im Labor der Medizinischen Klinik I mit käuflichen Assays bzw. der high performance liquid chromatography (HPLC).

ACTH: Lumitest ACTH<sup>®</sup>; Kortisol: Enzymun-Cortisol Test; AD und NA: HPLC (Waters<sup>®</sup>) mit anschließender elektrochemischer Detektion nach der von Ericsson und Persson erstmals beschriebenen Methode (*Eriksson und Persson, 1982*).

Die Zytokinbestimmung erfolgte in einem eigens eingerichteten Labor mit ELISA-Kits der Firma Biosource<sup>®</sup>. IL-6: Plasma-Zytokine, Human IL-6 Ultra Sensitive; Überstand-Zytokine, Human IL-6 CytoSets; TNF- $\alpha$ : Plasma-Zytokine, Human TNF- $\alpha$  Ultra Sensitive; Überstand-Zytokine, Human TNF- $\alpha$  CytoSets.

### 2.5.6 Endotoxin- / Placeboapplikation

Bei dem verwendeten Endotoxin handelte es sich um hochaufgereinigtes LPS, das aus *Escherischia coli* O:113 gewonnen wurde (U.S. Standard Reference Endotoxin, Lot G1, Food and Drug Administration, Bethesda, MD). Es wurde in einem Fläschchen (10000-IU vial) als steriles, lyophilisiertes Pulver angeliefert. Dieses wurde mit 5 ml sterilem Wasser für Injektionszwecke versetzt, so dass eine für die *iv.*-Applikation geeignete Flüssigkeit mit einer Konzentration von 2000 IU/ml vorlag. 1 ml entsprach 200 ng LPS. Den Probanden wurde randomisiert entweder eine *iv.*-Bolusinjektion mit LPS (4 ng/kg Körpergewicht) oder ein Placebo in Form von isotonischer NaCl-Lösung verabreicht und anschließend mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung gespült. Dabei wurden die Dosis und das Verfahren aus der Studie von *Suffredini et al. (1999)* übernommen.

## 2.6 Statistik

Nach Zusammenfassung der Daten erfolgte die Statistik mittels „Analysis of Variance“ (ANOVA) für allgemeine lineare Modelle mit dem Messwiederholungsfaktor „Zeit“ und dem Gruppen-Faktor „Behandlung“. Die Analyse wurde einerseits intraindividuell durch den Vergleich der zwei RP vor und nach Substanzgabe und darüber hinaus interindividuell mit den Phasen der Placebogruppe verglichen.

Zeigte die übergreifende ANOVA für die jeweiligen analysierten Faktoren signifikante Ergebnisse, wurde eine post-hoc Analyse für die einzelnen Zeitpunkte durchgeführt. Ein Greenhouse-Geisser korrigierter p-Wert < 0,05 wurde als

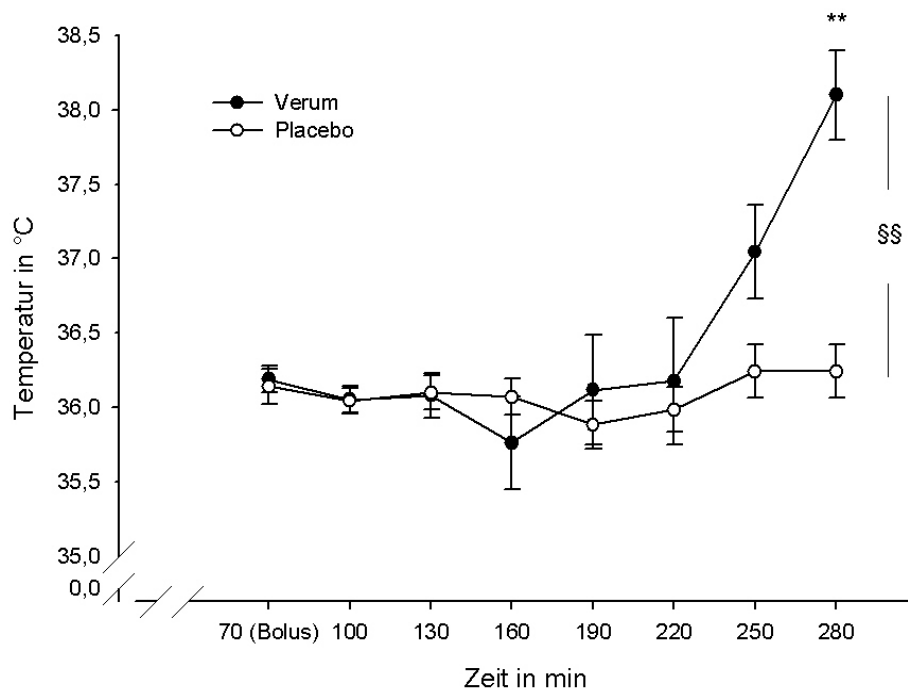
signifikant definiert. Bei Paar-Vergleichen wurde ein Student T-Test als Signifikanz-Test durchgeführt. Auch hier wurde ein p-Wert  $< 0,05$  als Signifikanzniveau definiert. Angegeben werden Mittelwerte  $\pm$  SEM.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Wirkung der Endotoxinapplikation

##### 3.1.1 Allgemeinbefinden und Körpertemperatur

Nach der Applikation des Endotoxins entwickelte sich nach einem symptomfreien Intervall von ca. 45 bis 60 min eine grippeähnliche Symptomatik. Die Probanden der Verum-Gruppe beschrieben ein starkes Krankheitsgefühl mit Kopf- und Gliederschmerzen sowie Myalgien. Damit einhergehend, war eine deutliche Reizbarkeit der Probanden zu beobachten. Neben weiteren Symptomen wie Nausea und peripherer Blässe, zeigten sich bei allen Probanden auch Anfälle von Schüttelfrost. Die Körpertemperatur war in der LPS-Gruppe zum Versuchsende signifikant erhöht. Bezogen auf den Ausgangswert stieg die Temperatur um 5,2 % auf einen Maximalwert von  $38,1 \pm 0,3$  °C. Unter Placebo-Bedingungen war hingegen keine signifikante Temperaturerhöhung zu beobachten (Abb. 6).



**Abb. 6** Enorale Temperaturmessung von Endotoxin- (n = 10) und Placebo-Gruppe (n = 7)

Die Messungen fanden halbstündlich ab dem Zeitpunkt der Bolusinjektion statt. §§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“; \*\* P < 0,01 für Zeitpunkt 250 min vs. 70 min.

### 3.1.2 Zytokine Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- $\alpha$

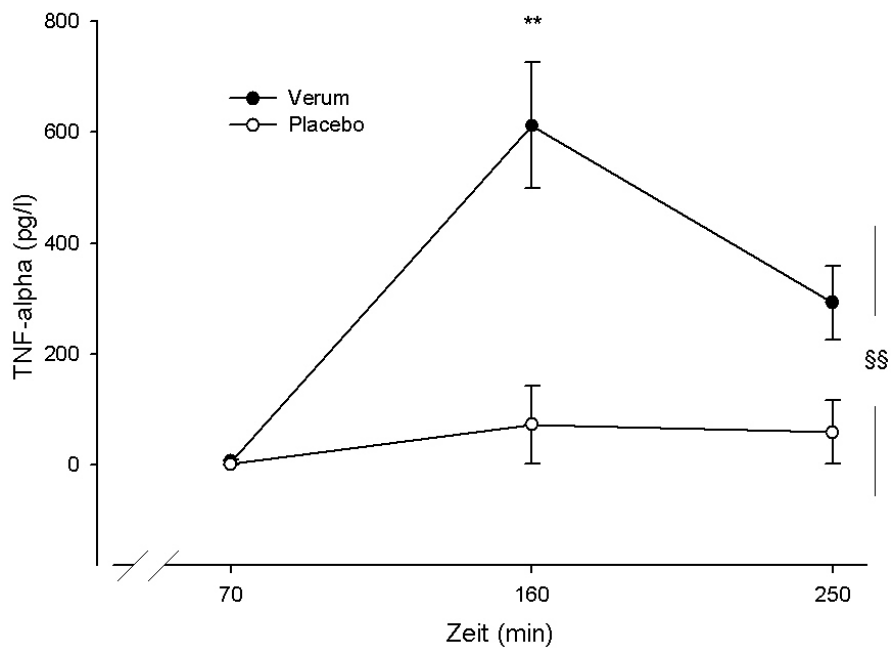
Die Zytokinkonzentrationen wurden für alle 11 Probanden der Verum-Gruppe und für 4 Probanden der Placebo-Gruppe bestimmt. Wie erwartet stiegen die Zytokine IL-6 und TNF- $\alpha$  nach der LPS-Gabe als Ausdruck des aktivierten Immunsystems signifikant an. Der maximale Messwert für TNF- $\alpha$  zeigte sich 90 min nach dem LPS-Bolus, wobei die Ausgangskonzentration von TNF- $\alpha$  nicht mehr als 1 % hiervon betrug.

Die maximale Serum-Konzentration von IL-6 wurde erst nach 180 min gemessen. Die Ausgangskonzentration betrug in diesem Fall 2 % des Maximalwertes. Zu den entsprechenden Zeitpunkten zeigten die Serum-Konzentrationen der beiden Zytokine in der Placebo-Gruppe keine signifikanten Unterschiede. (Tab. 2; Abb. 7 und Abb. 8).

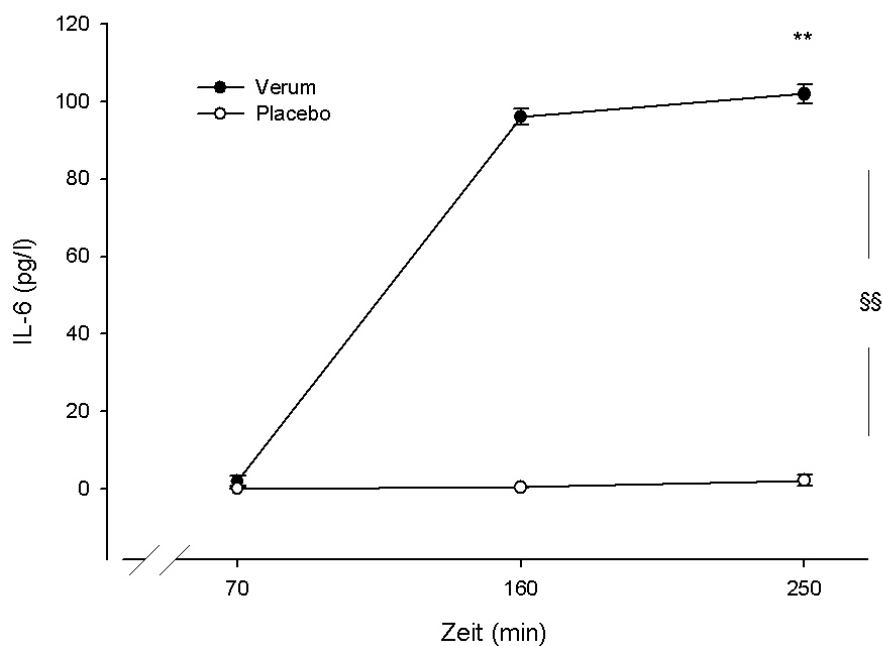
**Tab. 2 Serumkonzentrationen TNF- $\alpha$  und IL-6**

			70 min	160 min	250 min		
TNF- $\alpha$ (pg/l)	LPS	n = 11	6,3 $\pm$ 3,7	611,6 $\pm$ 113,6	292,6 $\pm$ 66,5	§§	**
	Placebo	n = 3	2,2 $\pm$ 0,7	2,6 $\pm$ 1,1	2,3 $\pm$ 0,8		
IL-6 (pg/l)	LPS	n = 11	2,1 $\pm$ 1,2	96,0 $\pm$ 2,0	101,9 $\pm$ 2,4	§§	**
	Placebo	n = 4	0,2 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,3	2,3 $\pm$ 1,5		

\*\* P < 0,01 (für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“); §§ P < 0,01 (für den Faktor „Behandlung“)



**Abb. 7 Serum-Konzentration von TNF- $\alpha$  von Verum- (n = 11) und Placebo-Gruppe (n = 4)**  
 Ausgangsmessung zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation (70 min) und im Anschluss 2  
 weitere Messungen im Abstand von 90 min. §§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“;  
 \*\* P < 0,01 für Zeitpunkt 160 min vs. 70 min.



**Abb. 8 Serum-Konzentration von IL-6 von Verum- (n = 11) und Placebo-Gruppe (n = 4)**  
 Messzeitpunkte zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation (70 min) sowie 2 weitere  
 Messungen im Abstand von 90 min. §§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“; \*\* P < 0,01  
 für Zeitpunkt 250 min vs. 70 min.

### 3.1.3 Zelluläre Immunantwort

Diese Parameter wurden bei allen Probanden der beiden Gruppen (Placebo: n = 7; Verum: n = 11) bestimmt. Sie dienten neben der klinischen Untersuchung, dem Ausschluss einer vorbestehenden manifesten Infektion. Darüber hinaus diente insbesondere die Leukozytendifferenzierung der Verifizierung einer durch die Endotoxinämie bedingten Immunreaktion. Die Blutentnahmen fanden zu Versuchsbeginn (Zp. 0 min) und 180 min nach LPS-Bolus (Zp. 250 min) statt.

180 min nach der LPS-Applikation war mit Ausnahme zweier Probanden bei allen Probanden eine signifikante Leukozytose vorzufinden. In einem Fall lag eine deutliche Leukopenie vor (< 1,6 Zellen /nl). Die Leukozytose beruhte vor allem auf einer signifikanten Zunahme der neutrophilen Granulozyten, während die Zahl der Lymphozyten und Monozyten sank. In der Placebo-Gruppe zeigten sich nur ein geringer jedoch signifikanter Anstieg der Leukozytenzahl. Dieser beruhte im Gegensatz zur Verum-Gruppe auf einer signifikanten Steigerung der Zahl der Lymphozyten und auch die Monozyten waren erhöht (Tab. 3 und Abb. 9).

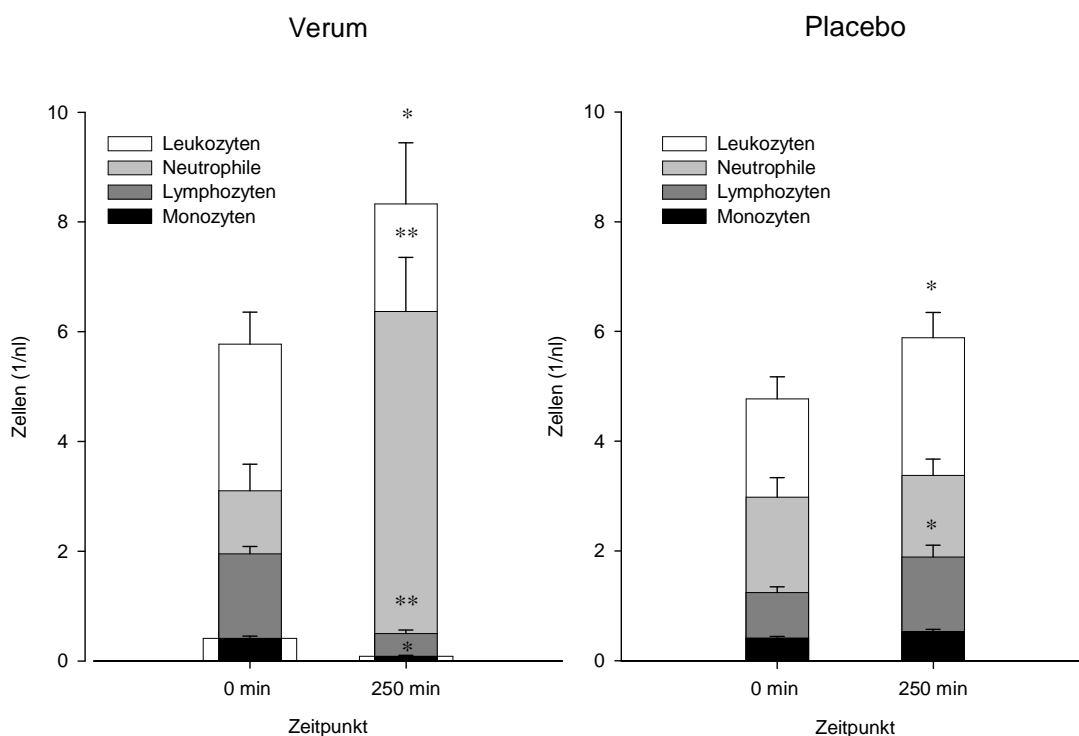
**Tab. 3 Veränderungen der weißen Reihe des Blutbildes**

LZ-Zahl (MW +/- SEM)	Verum (n = 11)			Placebo (n = 7)			P	
	0 min	250 min	P	0 min	250 min	P	0 min	250 min
Gesamt LZ /nl	5,8 ± 0,6	8,3 ± 1,1	*	4,8 ± 0,4	5,89 ± 0,5	*		
Neutrophile /nl	3,1 ± 0,5	6,5 ± 1,0	**	3,0 ± 0,35	3,4 ± 0,3			§
Lymphozyten /nl	2,0 ± 0,1	0,5 ± 0,06	**	1,2 ± 0,11	1,9 ± 0,2	*	§§	§§
Monozyten /nl	0,4 ± 0,04	0,1 ± 0,02	*	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,04			§§
Neutrophile (%)	52,6 ± 3,0	77,4 ± 4,7		62,0 ± 3,5	57,6 ± 2,4			
Lymphozyten (%)	35,7 ± 2,2	7,3 ± 1,3		26,7 ± 2,7	31,8 ± 2,2			
Monozyten (%)	8,0 ± 0,9	0,4 ± 0,2		8,8 ± 0,7	9,0 ± 0,6			

\* P < 0,05  
§ P < 0,05

\*\* P < 0,01 (für den Messwiederholungsfaktor "Zeit")  
§§ P < 0,01 (für den Faktor "Behandlung")





**Abb. 9 Veränderungen der weißen Reihe des Blutbildes.** Die Zahl der Leukozyten zu Versuchsbeginn (Zp. 0 min) sowie am Ende der Untersuchung (Zp. 250 min). Erläuterungen zur Grafik im Textabschnitt zuvor. Tabellarische Übersicht in Tab. 3. \* P < 0,05 (für den Faktor „Zeit“) \*\* P < 0,01 (für den Faktor „Zeit“).

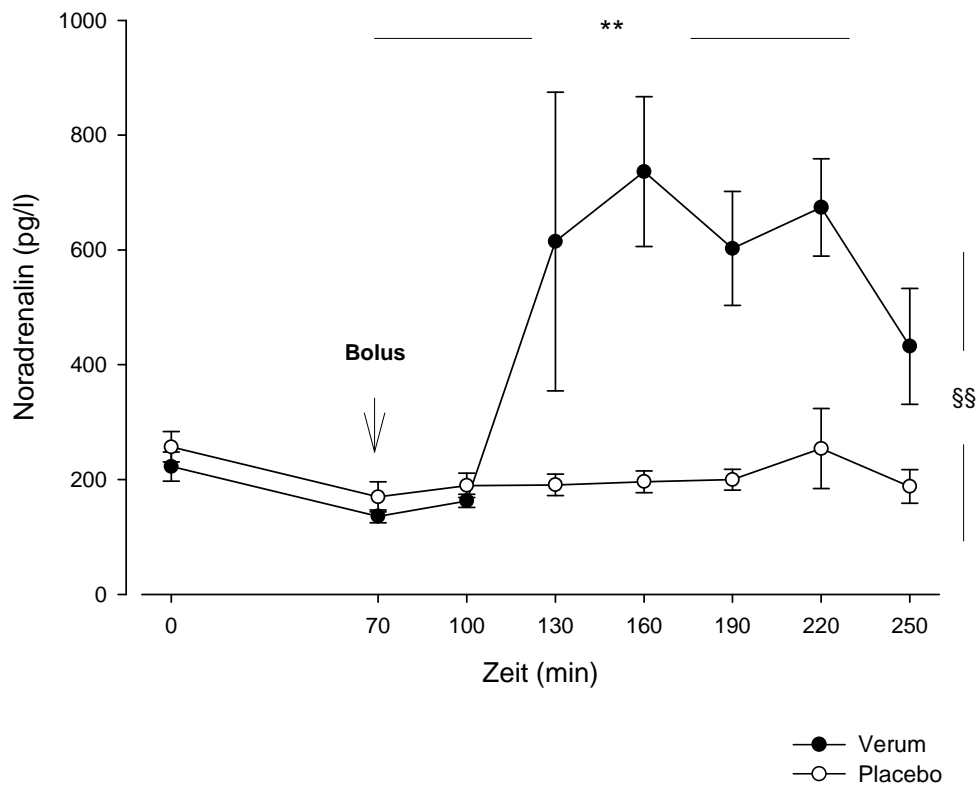
## 3.1.4 Hormonelle Immunantwort

### 3.1.4.1 Plasmakatecholamine (Adrenalin und Noradrenalin)

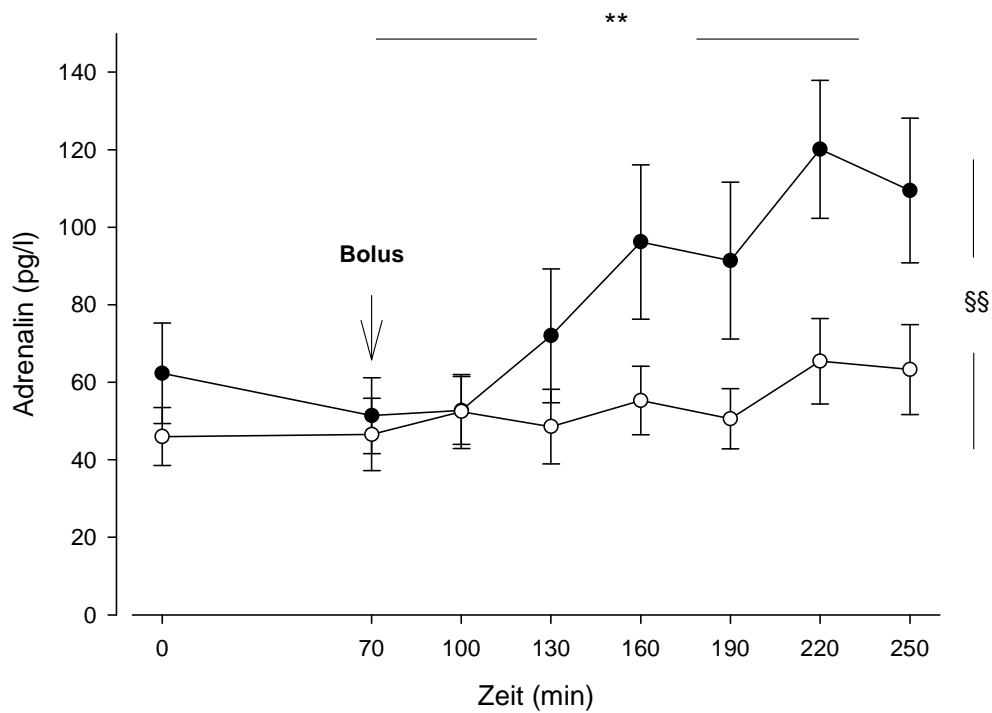
Die Plasma-Konzentration von AD, sowie NA wurde für 10 Probanden der Verum-Gruppe und 7 Probanden der Placebo-Gruppe bestimmt. Sowohl die Plasmakonzentration von AD als auch die von NA veränderten sich bis 30 min nach der Bolus-Injektion nicht signifikant. 60 min nach der Injektion von LPS zeigte sich für beide Katecholamine ein signifikanter Anstieg (Abb 10 und Abb. 11), der im Falle des NA den Maximalwert 90 min nach der LPS-Gabe (Anstieg von 230,8 %) und im Falle des AD 150 min nach der LPS-Gabe (Anstieg von 92,8 %) erreichte. Die Placebo-Injektion führte zu keinem signifikanten Anstieg der Katecholamine. Eine Übersicht der Messwerte befindet sich im Anhang (Tab. 8).

# Ergebnisse

**Abb. 10**



**Abb. 11**



**Abb. 10 und Abb. 11 Noradrenalin- bzw. Adrenalin-Konzentration von Verum-Gruppe (n = 10) und Kontrollgruppe (n = 7).**

\*\* P < 0,01 für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“; §§ P < 0,05 für den Faktor „Behandlung“.

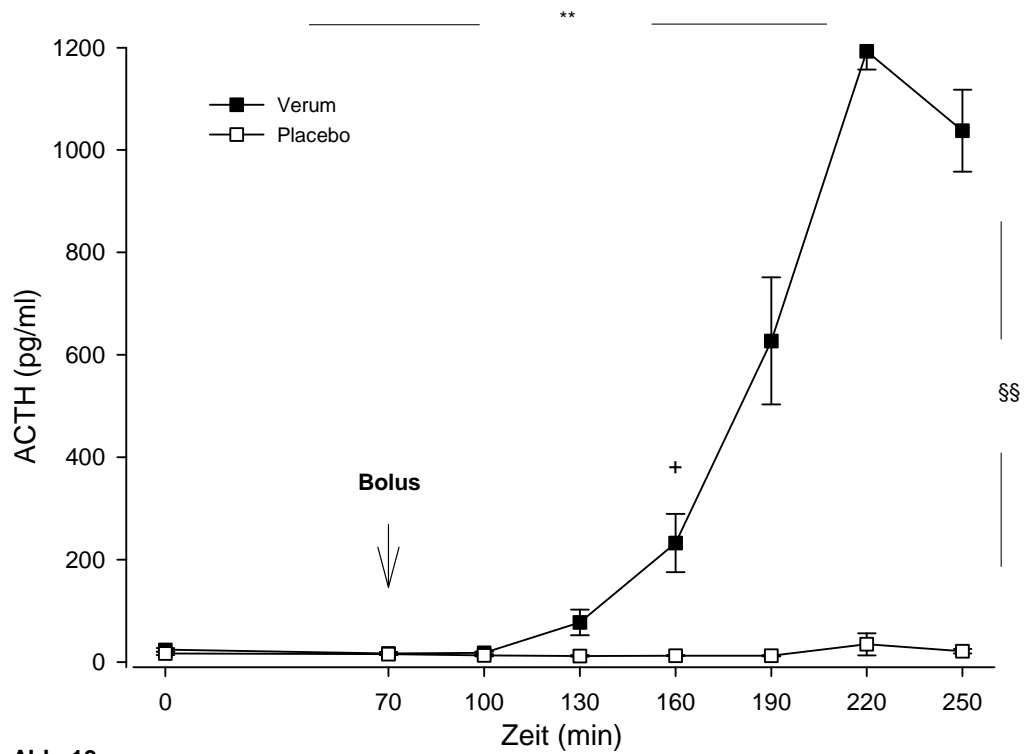
#### **3.1.4.2 Stresshormone: Adrenokortikotropes Hormon und Kortisol**

Die Hormone wurden für alle Probanden der Placebo-Gruppe (7) und der Verum-Gruppe (11) bestimmt. Sowohl für die ACTH-Konzentration als auch für die Kortisolkonzentration ergaben sich im Falle der Placebo-Gruppe während des gesamten Verlaufes bis zum Ende nach 250 min keine signifikanten Unterschiede. Bei der Verum-Gruppe stiegen jedoch die Plasmakonzentrationen des ACTH und auch die des Kortisols bezogen auf den Ausgangswert signifikant an. Die maximale ACTH-Konzentration war bereits 150 min nach LPS-Bolus erreicht (Anstieg um 4821,6 %). Das Kortisol erreichte seine maximale Konzentration erst in der letzten Messung und somit 30 min nach maximalem ACTH-Wert (Anstieg um 114,9 %).

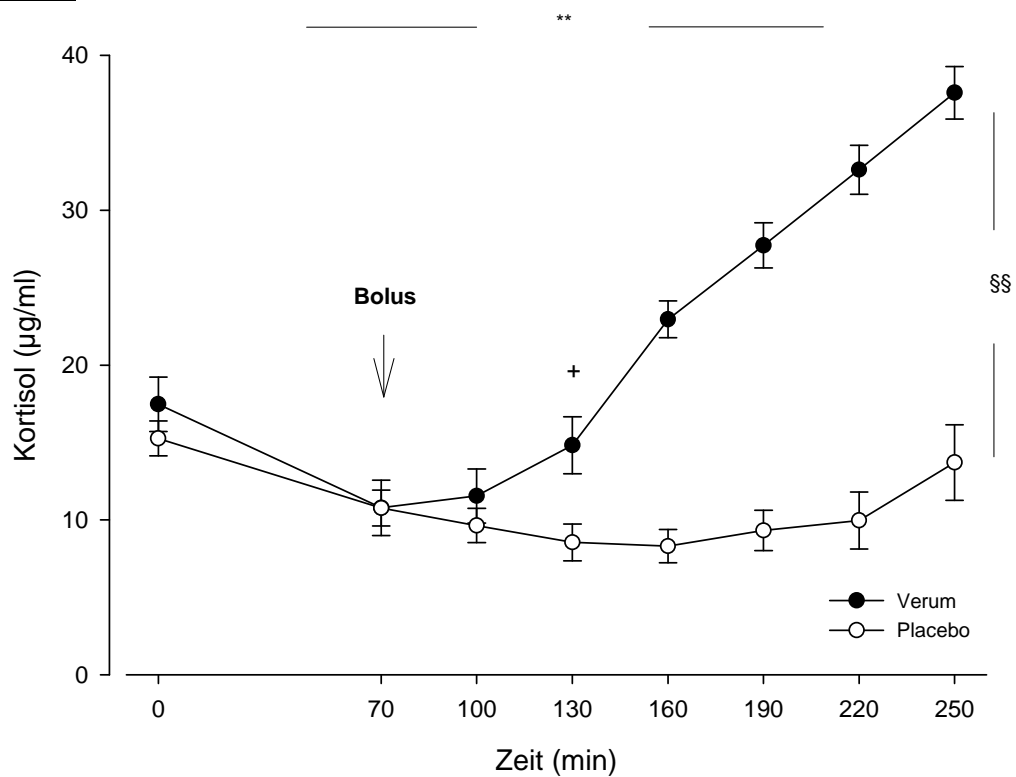
Es ist zu bemerken, dass die LPS-Applikation bereits 30 min bevor ein signifikanter Anstieg der ACTH-Konzentration verzeichnet werden konnte, zu einem signifikanten Anstieg der Kortisolkonzentration gegenüber der Kontrollgruppe führte (Abb. 12 und Abb. 13). Eine tabellarische Übersicht befindet sich im Anhang (Tab. 9).

# Ergebnisse

**Abb. 12**



**Abb. 13**



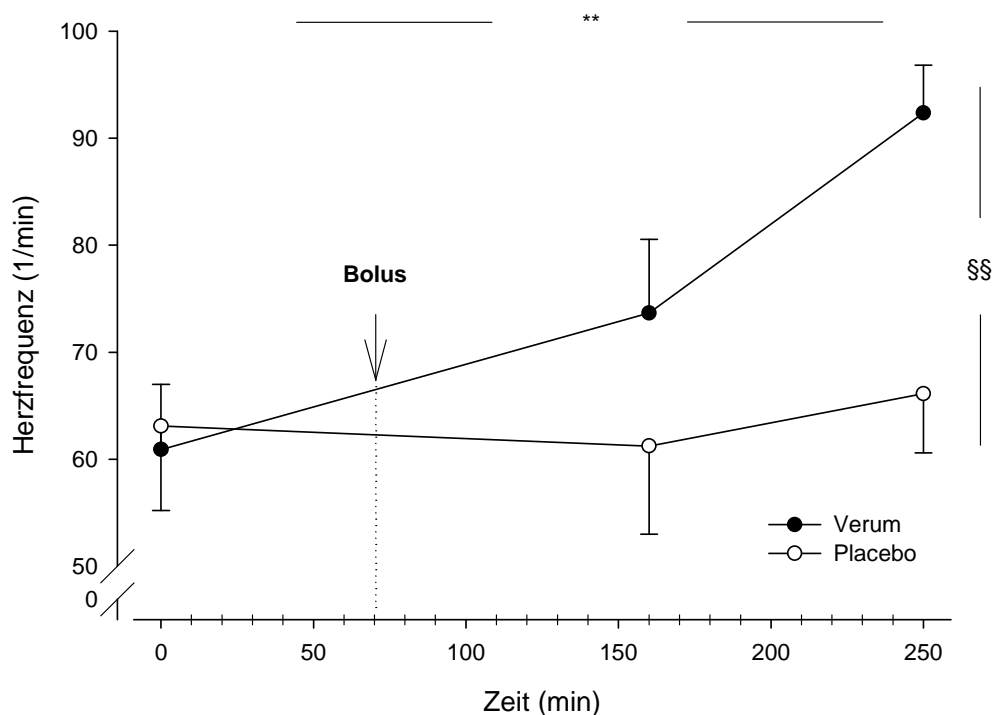
**Abb. 12 und Abb 13 ACTH- bzw. Kortisolkonzentration im Plasma von Verum- (n = 10) und Placebo-Gruppe (n = 7)**

\*\* P < 0.01 für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“; §§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“. Der Anstieg der Kortisolkonzentration ist bereits 30 min vor der ACTH-Konzentration signifikant gegenüber der Kontrollgruppe zu diesem Zp. (+ P < 0,05).

### 3.1.5 Kardiovaskuläre Immunantwort

#### 3.1.5.1 Einfluss von Endotoxin auf die Herzfrequenz

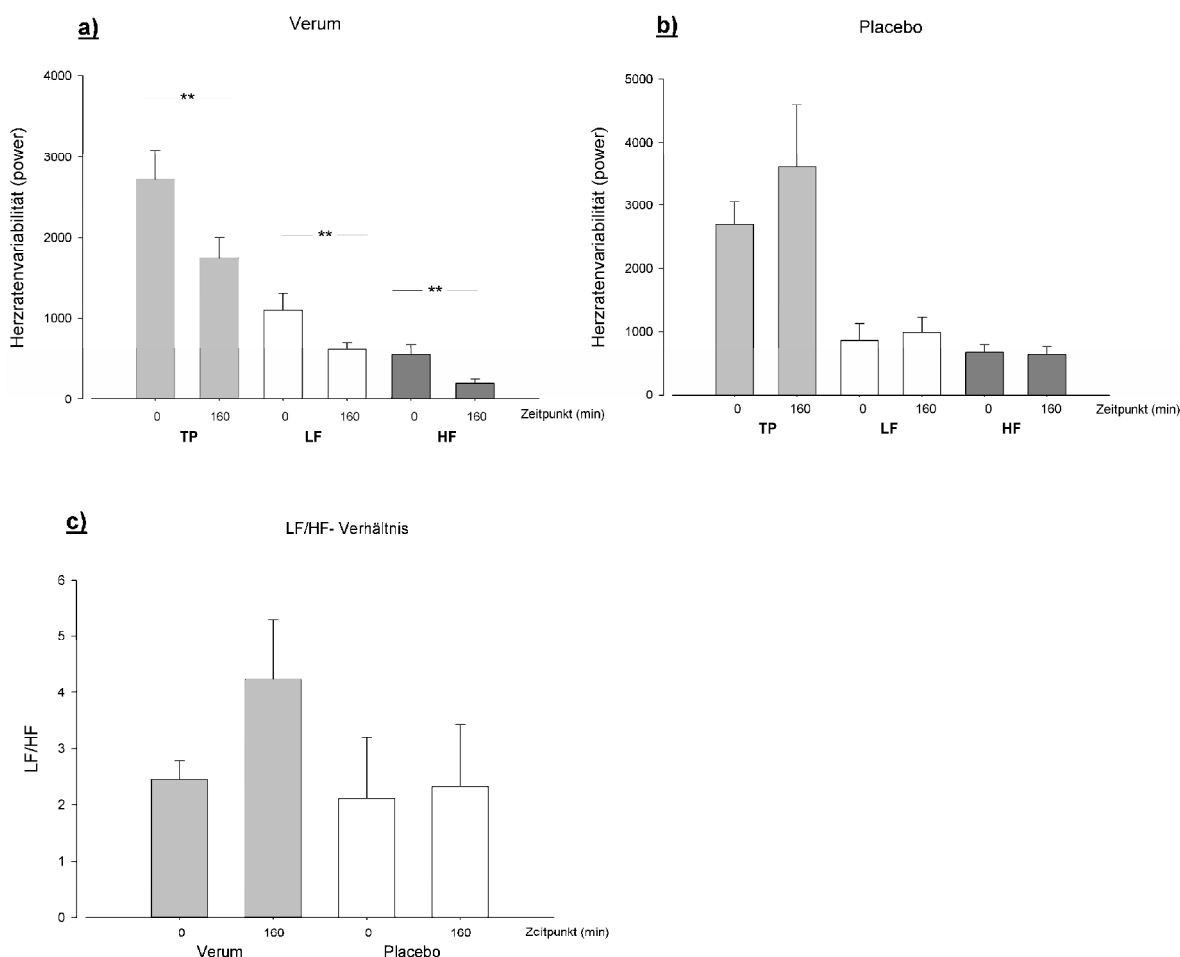
Die Hf wurde bei allen 11 Probanden der LPS-Gruppe und den 7 Probanden der Placebo-Gruppe bestimmt. Nach der Placebo-Gabe war keine signifikante Änderung der Hf zu beobachten. Die LPS-Gabe bewirkte, bezogen auf den Ruhewert zum Zp. 0, eine Steigerung der Hf von 51,7 % zum Ende des Experiments (Abb. 14).



**Abb. 14** Herzfrequenzen von 11 Probanden der Verum-Gruppe und 7 der Placebo-Gruppe. Signifikanter Anstieg der Hf für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“ (\*\* P < 0,01) und für den Faktor „Behandlung“ (§§ P < 0,01).

### 3.1.5.2 Einfluss von Endotoxin auf die Herzratenvariabilität

Die HRV-Messung wurde bei 9 Probanden der Verum-Gruppe und 4 Probanden der Kontrollgruppe durchgeführt. Der Vergleich der 10-minütigen RP vor LPS-Applikation (Zp. 0 min) mit der folgenden RP (Zp. 160 min) zeigte in allen Power-Spektren (TP, LF, HF) eine deutliche Reduktion der Frequenzvariabilität. Der Unterschied war für alle 3 Power-Spektren signifikant (TP:  $P < 0,01$ ; LF:  $P < 0,05$ ; HF:  $P < 0,05$ ). Für den Faktor „Behandlung“ ergab sich nur im HF-Spektrum ein signifikanter Unterschied ( $P < 0,05$ ). Die Placebo-Gabe führte zu keinen signifikanten Unterschieden (Abb. 15 a-c und Tab. 4).



**Abb. 15 Herzratenvariabilität der Endotoxin-Gruppe (n = 9) und der Placebo-Gruppe (n = 4).** **Abb. 15 a) und Abb. 15 b)** stellen die Werte (total power (TP) in hell-grau; low frequency (LF) in weiss; high frequency (HF) in dunkel-grau) während der zwei RP (Zp.0 u. Zp.160) in der LPS- bzw. Placebo-Gruppe dar. **Abb. 15 c)** zeigt den Vergleich des LF/HF-Verhältnisses von Verum- (grau) und Placebo-Gruppe (weiss). \*  $P < 0,05$  (Zp. 0 min vs. 160 min) ; \*\*  $P < 0,01$  (Zp. 0 min vs. 160 min)

## Ergebnisse

**Tab. 4 Herzratenvariabilität**

HRV	Endotoxin (n = 9)			Placebo (n = 4)				
	0 min	160 min	P	0 min	160 min	P	0 min	160 min
TP	2718,6 ± 364,6	1746,3 ± 256,8	**	2508,0 ± 395,9	2661,3 ± 326,1			
LF	1096,8 ± 219,9	608,2 ± 93,8	*	911,5 ± 339,9	886,3 ± 281,9			
HF	544,1 ± 134,7	197,4 ± 49,7	*	579,5 ± 127,3	604,3 ± 176,5			§
HF/LF	2,3 ± 0,3	3,9 ± 0,7		2,1 ± 1,1	2,3 ± 1,1			

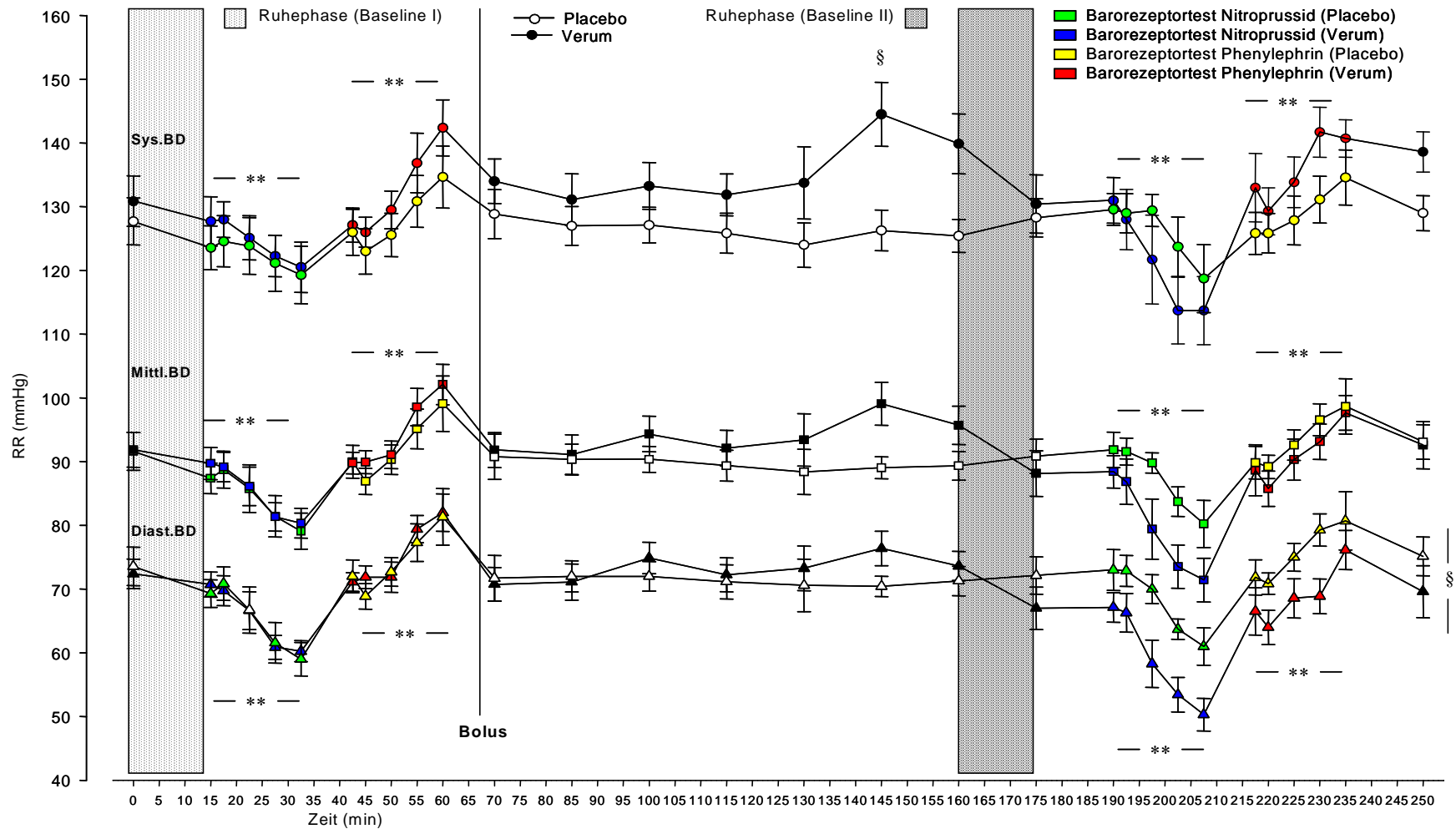
- \* P < 0,05 (Zp. 0 min vs. 160 min)  
 \*\* P < 0,01 (Zp. 0 min vs. 160 min)  
 § P < 0,05 (für den Faktor „Behandlung“)

### 3.1.5.3 Einfluss von Endotoxin auf den Blutdruck

Ausgewertet wurden die Messergebnisse der 7 Probanden der Placebo-Gruppe und von 8 der 11 Probanden der LPS-Gruppe. Es wurden ausschließlich die Probanden ausgewählt, bei denen auch die MSNA ausgewertet werden konnte. Beim Vergleich der 2 RP während der auch die MSNA erfasst wurde, zeigten sich weder in der LPS-Gruppe noch in der Kontrollgruppe signifikante Veränderungen des MAD. Auch für den Faktor „Behandlung“ gab es keine signifikanten Unterschiede während dieser Phasen.

Die Applikation von LPS führte nach 75 min zu einem leichten Anstieg des systolischen BD um 11,7 %. Zu dem Zp. 145 min war der Unterschied für den Faktor „Behandlung“ signifikant. Bereits in der folgenden Messung unterschieden sich die Werte nicht mehr signifikant von denen der Kontrollgruppe (Abb. 16). Für den Vergleich des BD der RP, sowie der BD-Messwerte des BRR-Tests siehe (Tab. 10) im Anhang.

# Ergebnisse



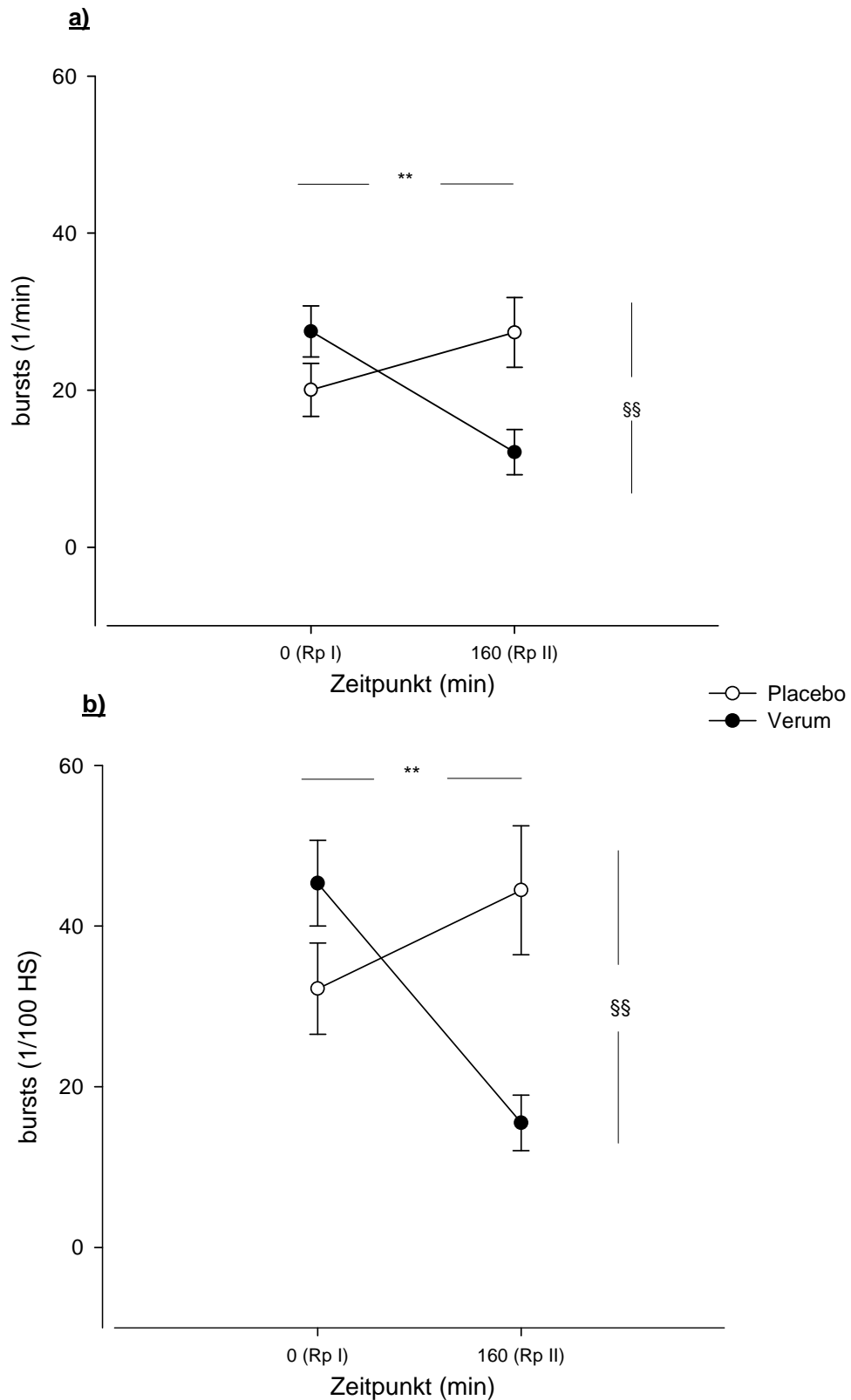
**Abb. 16** Verlauf des systolischen (Sys.), mittleren (Mittl.) und diastolischen (Diast.) Blutdrucks (oszillometrische Messung) während des gesamten Experiments. Dargestellt sind die BD-Werte von Beginn bis 180 min nach Applikation des LPS-Bolus. Die BRR-Tests folgen direkt den 2 markierten RP. Signifikanter Anstieg des sys. BD für den Faktor „Behandlung“ zum Zp. 145 min (§ P < 0,05). Die Wirkung der Medikamente Nitroprussid sowie PE während der BRR-Tests führte zu signifikanten Veränderungen des BD (\*\* P < 0,01 für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“). S. Tab. 7 u. 10 für die einzelnen Messwerte des BRR-Tests.



### 3.1.5.4 Einfluss von Endotoxin auf die MSNA

Bei den meisten Probanden ( $n = 9$ ), die LPS injiziert bekamen, trat nach 45 – 60 min Schüttelfrost auf, der zwischen 15 – 20 min andauerte. Dieses Zittern führte in der Mikroneurographie zu artefiziellen Signalen und bei einem Teil der Probanden zu einem Verlust der initialen Ableitposition (siehe auch Kapitel 2.5.4), so dass ein Teil der Messungen von der Datenanalyse ausgeschlossen werden musste. Die Daten von 8 der 11 Probanden, die LPS erhalten hatten, konnten vollständig in die Auswertung aufgenommen werden. Bei einem weiteren Probanden war die Ableitung bis zu der 2. baseline-Phase möglich, dann wurde jedoch die ursprüngliche Ableitposition verloren, so dass der BRR-Test nicht ausgewertet werden konnte. Am Ende der Versuchsreihe lag die einwandfreie Ableitung in den Ruhephasen für alle Probanden der Placebo-Gruppe ( $n = 7$ ) und die für 8 der 11 Probanden der Verum-Gruppe vor. Für die Auswertung des BRR waren es allerdings aufgrund der im Anfang dieses Kapitels benannten Gründe nur ( $n = 7$ ). Die Applikation von Endotoxin führte zum Zeitpunkt der 2. RP (Zp. 160 min) zu einer bis zum Versuchende fortwährenden, signifikanten Reduktion der MSNA. Der Mittelwert der ersten RP (Zp. 0 min) sank um 56,0 % ( $P < 0,01$ ). In der Kontrollgruppe war hingegen sogar ein signifikanter Anstieg der MSNA von 36,5 % zu beobachten ( $P < 0,01$ ) (Abb. 17 a).

Noch deutlicher wurden die Differenzen in Bezug auf die Burstinzidenz (Abb. 17 b). Durch die Zunahme der Hf nach der LPS-Applikation ist die Anzahl der bursts pro 100 HS in der zweiten RP relativ gesehen noch stärker reduziert. So ergab sich für die Verum-Gruppe eine signifikante Reduktion der Anzahl von bursts pro 100 HS von 65,9 % ( $P < 0,01$ ). Die Anzahl der bursts pro 100 HS war in der Placebo-Gruppe um 38,2 % gestiegen ( $P < 0,05$ ). Die Unterschiede waren in beiden Fällen (bursts/min und bursts/100 HS) auch für den Faktor „Behandlung“ signifikant ( $P < 0,01$ ). Eine Übersicht der Mittelwerte befindet sich in (Tab. 5) im Kapitel 3.1.6.2.



**Abb. 17 MSNA vor und 90 min nach der Gabe von LPS (n = 8) und Placebo (n = 7)**  
**a)** Burstfrequenz (bursts/min) **b)** Burstinzidenz (bursts/100 HS) in den 2 Ruhephasen (RPI und RPII). §§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“; \*\* P < 0,01 (Verum: Zp. 0 vs. Zp. 160 min). Mittelwerte in (Tab. 5).

### **3.1.6 Kardiovaskuläres Profil während des Barorezeptor-Tests**

In die Auswertung des BRR-Tests gingen die Daten von 7 Probanden der Placebo-Gruppe und aufgrund der Ableitqualität die Daten von 7 der 11 Verum-Probanden ein. Der Test wurde vor und nach der LPS-Injektion im Anschluss an die Ruhephasen zu den Zeitpunkten 15 min und 175 min durchgeführt.

#### **3.1.6.1 Blutdruck**

Die Infusion von Nitroprussid führte in beiden Behandlungsgruppen vor und nach der Applikation von Endotoxin zu einem Abfall des MAD, während die PE-Infusion eine Steigerung des BD bewirkte. Abfall sowie der Anstieg des MAD waren vor und nach LPS-Injektion signifikant für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“ ( $P < 0,01$ ). Obwohl in beiden Gruppen die Wirkung der Medikamente sehr ähnlich war, zeigte sich vor allem diastolisch ein deutlicher BD-Abfall nach der LPS-Injektion. Die diastolischen Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe waren nach Nitroprussidinfusion signifikant niedriger ( $P < 0,05$  für den Faktor „Behandlung“) (Abb. 16 und Tab.10).

#### **3.1.6.2 MSNA**

Die MSNA zeigte während des BRR-Tests in der Placebo-Gruppe vor und nach Placebo-Applikation sowie in der Verum-Gruppe vor der LPS-Injektion die typischen gegenregulatorischen Veränderungen. Bei niedrigerem BD während Nitroprussid-Infusion stieg die MSNA, wohingegen die Aktivität im Bezug auf die „baseline“ bei der PE-Infusion abnahm. ( $P < 0,01$  für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“).

Nach der Injektion von LPS war die gegenregulatorische Funktion der MSNA deutlich beeinträchtigt. Während Nitroprussid in maximaler Dosis infundiert wurde (Stufe N<sub>3</sub> post LPS; Zp. 187,5 min) und der diastolische BD nicht nur niedriger im Verhältnis zum Ausgangswert, sondern auch signifikant niedriger als der diastolische BD der Placebo-Gruppe zu diesem Zeitpunkt war, zeigte die MSNA keinen signifikanten Anstieg. Bei einem Vergleich der MSNA zum Zp. der

## Ergebnisse

maximalen Nitroprussid-Dosis vor dem LPS-Bolus (Stufe N<sub>3</sub> prä LPS; Zp. 27,5 min) mit der MSNA zum entsprechenden Zp. während des 2. BRR-Tests (Stufe N<sub>3</sub> post LPS; Zp. 187,5 min), lag die MSNA im 2. Test signifikant niedriger (P < 0,01). Die Infusion von PE nach dem LPS Bolus bewirkte, dass die MSNA fast vollständig supprimiert wurde (1,8 ± 1,1 bursts/min) (Tab. 5 und Abb. 18 a und Abb.18 b).

**Tab. 5 MSNA während der maximalen Infusionsstufen (N3 und P3) des Baroreflextests und der Ruhephasen (RP I und RP II)**

BRR-Test		LPS (n = 8); ( <sup>1</sup> n = 7)			Placebo (n = 7)			P	
		vor LPS (I)	nach LPS (II)	P	vor Bolus (I)	Nach Bolus (II)	P	I	II
MSNA (burst/min)	N <sub>3</sub> <sup>1</sup>	49,6 ± 5,4	25,0 ± 5,4	**	43,4 ± 3,4	50,4 ± 4,1			§§
	ΔN <sub>3</sub> <sup>1</sup>	25,3 ± 3,1	16,6 ± 6,8		23,4 ± 4,0	23,1 ± 3,9			
	P <sub>3</sub> <sup>1</sup>	6,2 ± 3,6	1,8 ± 1,1		10,3 ± 3,7	10,8 ± 3,2			§
	ΔP <sub>3</sub> <sup>1</sup>	-19,9 ± 3,5	-9,0 ± 5,5	*	-11,3 ± 1,4	-19,3 ± 3,2		§	
<b>Ruhephasen vor BRR-Test</b>		<b>RP I</b>	<b>RP II</b>		<b>RP I</b>	<b>RP II</b>			
MSNA (burst/min)		27,5 ± 3,3	12,1 ± 2,9	**	20,0 ± 3,4	27,3 ± 4,5	**		§§
MSNA (burst/100HS)		45,4 ± 5,3	15,5 ± 3,5	**	32,2 ± 5,7	44,5 ± 8,0	*		§§

\* P < 0,05

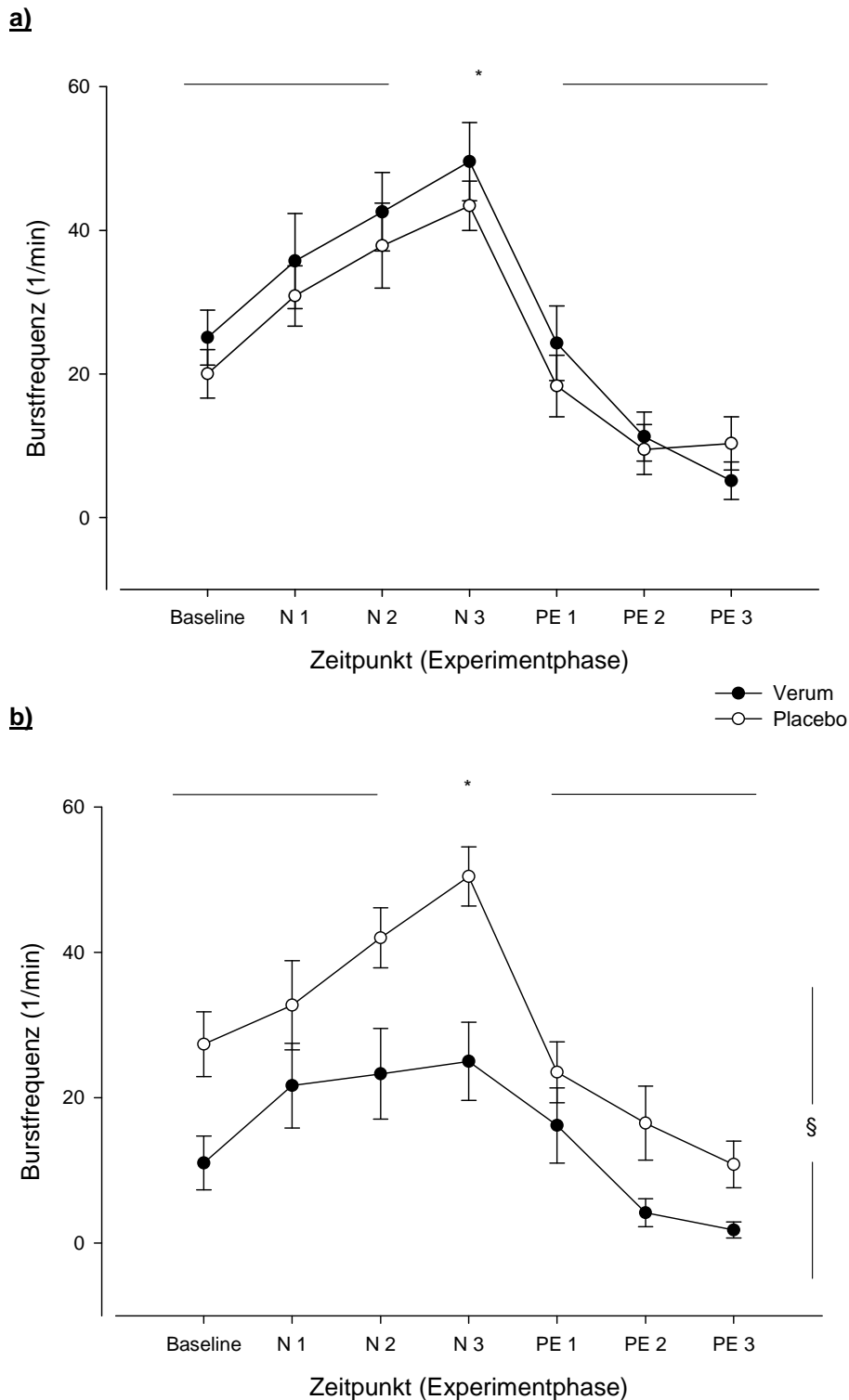
\*\* P < 0,01

vor LPS(I) vs. nach LPS(II)

vor LPS(I) vs. nach LPS(II)

§ P < 0,05 für den Faktor „Behandlung“

§§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“



**Abb 18 MSNA während des BRR-Tests.** MSNA während der RP (baseline) und der einzelnen Infusionsstufen (N<sub>1-3</sub> = Nipruss; PE<sub>1-3</sub> = Phenylephrin) des BRR-Tests (Verum n = 7, Placebo n = 7). Die Infusion von N und PE führte in allen Gruppen zu signifikanten Unterschieden der MSNA. \* P < 0,05 für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“ (getestet wurden die entsprechenden Infusionsstufen N<sub>1-3</sub> und PE<sub>1-3</sub> gegen die dem Manöver vorgeschaltete Ruhephase (baseline)). **a)** MSNA Verum vs. Placebo vor LPS. Es liegen keine signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen vor. **b)** MSNA Verum vs. Placebo nach Endotoxinapplikation. Der Unterschied war signifikant für den Faktor „Behandlung“ § P < 0,05.

### 3.1.6.3 Herzfrequenz

Die Hf nahm während der Infusion von Nitroprussid in beiden Gruppen zu und erreichte im ersten Test vor Endotoxingabe in der Verum-Gruppe ein Maximum von  $71,8 \pm 4,1$  /min ( $P < 0,01$  für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“). Die 3. Infusionsstufe von PE führte in dieser Phase reflektorisch zur Abnahme der Hf auf ein Minimum von  $51,5 \pm 2,4$  /min ( $P < 0,01$  für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“). Die zwei Behandlungsgruppen zeigten vor dem Endotoxin-Bolus keine signifikanten Unterschiede.

Im Verlauf des BRR-Tests nach LPS-Applikation ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Die Hf war in der LPS-Gruppe während des gesamten Tests deutlich höher als die Frequenz in der Placebo-Gruppe ( $P < 0,01$  für den Faktor „Behandlung“) (Tab 6; Abb. 19 a und Abb. 19 b).

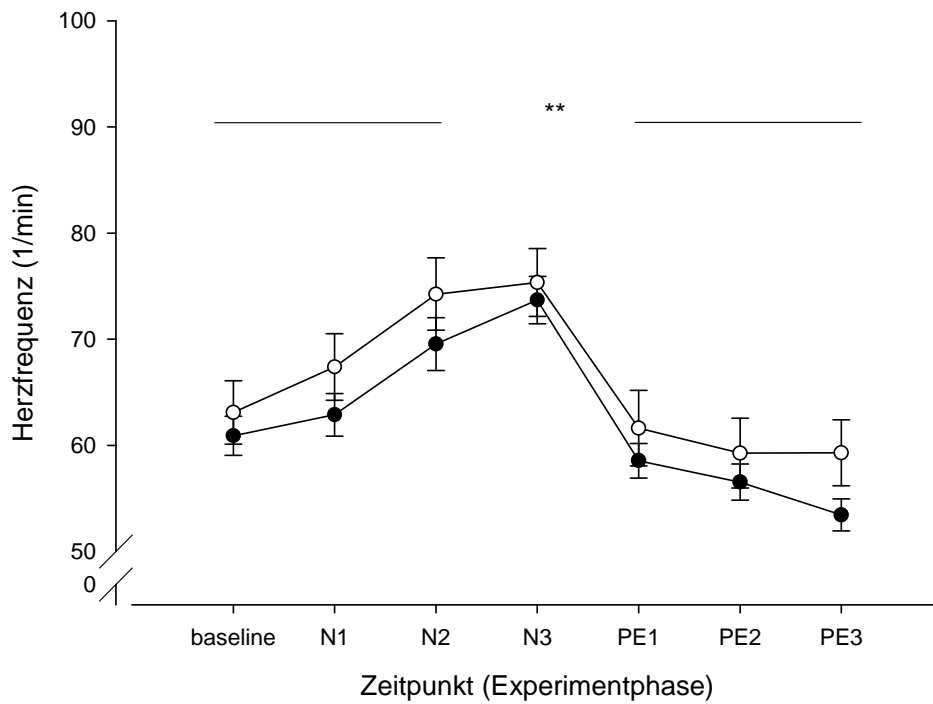
**Tab. 6 Herzfrequenzen während der Baroreflex-Tests**

		Endotoxin (n = 8); ( <sup>1</sup> n = 7)			placebo (n = 7)			P	
		I	II	P	I	II	P	I	II
Hf	RP	60.6 ± 2.0	78.4 ± 3.1	**	63.0 ± 3.3	63.3 ± 2.9			§§
Hf	N <sub>3</sub> <sup>1</sup>	72.9 ± 4.7	87.2 ± 4.8	*	76.1 ± 3.4	77.4 ± 4.7			
Hf	PE <sub>3</sub> <sup>1</sup>	52.1 ± 2.7	85.5 ± 2.8	**	54.1 ± 4.3	52.5 ± 3.0			§§

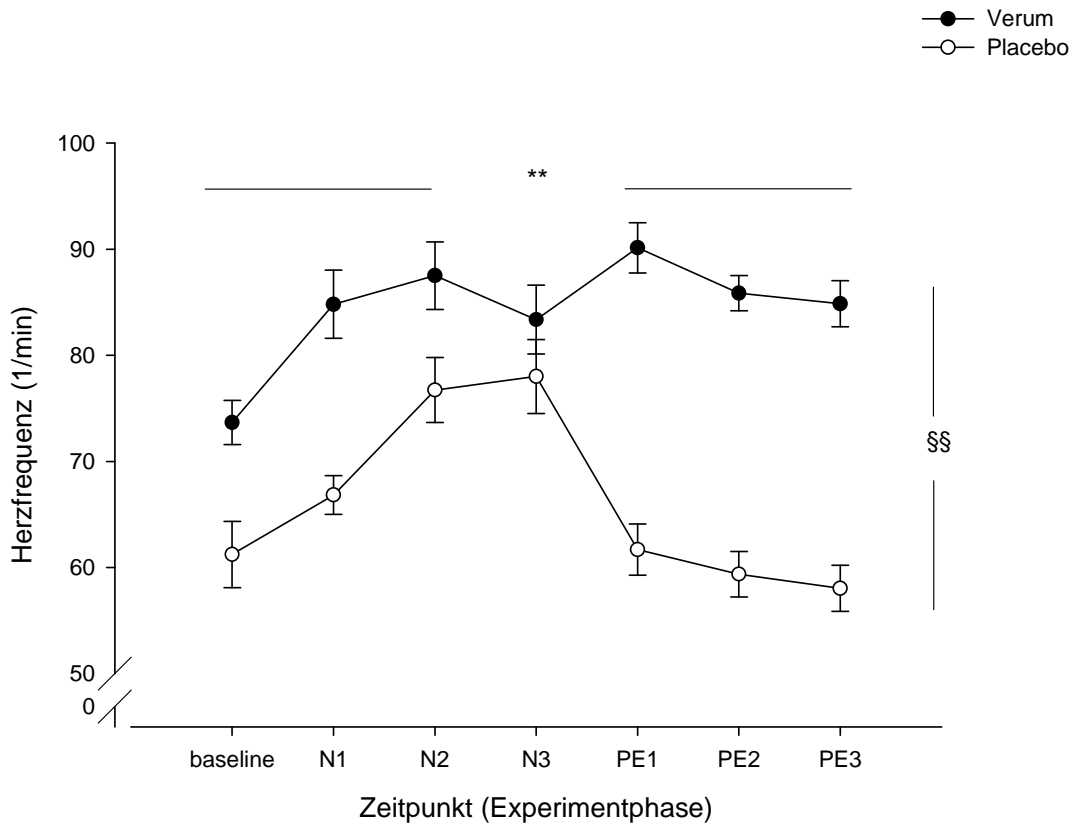
Darstellung der Ruhephasen vor und nach Bolus (I u. II) sowie der Hf, die während der Infusion von PE und N in Maximaldosis (PE<sub>3</sub>, N<sub>3</sub>) erreicht wurde. Zusätzlich gibt das Delta ( $\Delta N_3$ ,  $\Delta PE_3$ ) jeweils die Differenz der HF zur Ruhephase an. \*\*  $P < 0,01$  für 1. BRR-Test(I) vs. 2. BRR-Test(II); \*  $P < 0,05$  für 1. BRR- Test(I) vs. 2. BRR-Test(II); §§  $P < 0,01$  für den Faktor „Behandlung“.

# Ergebnisse

**a)**



**b)**

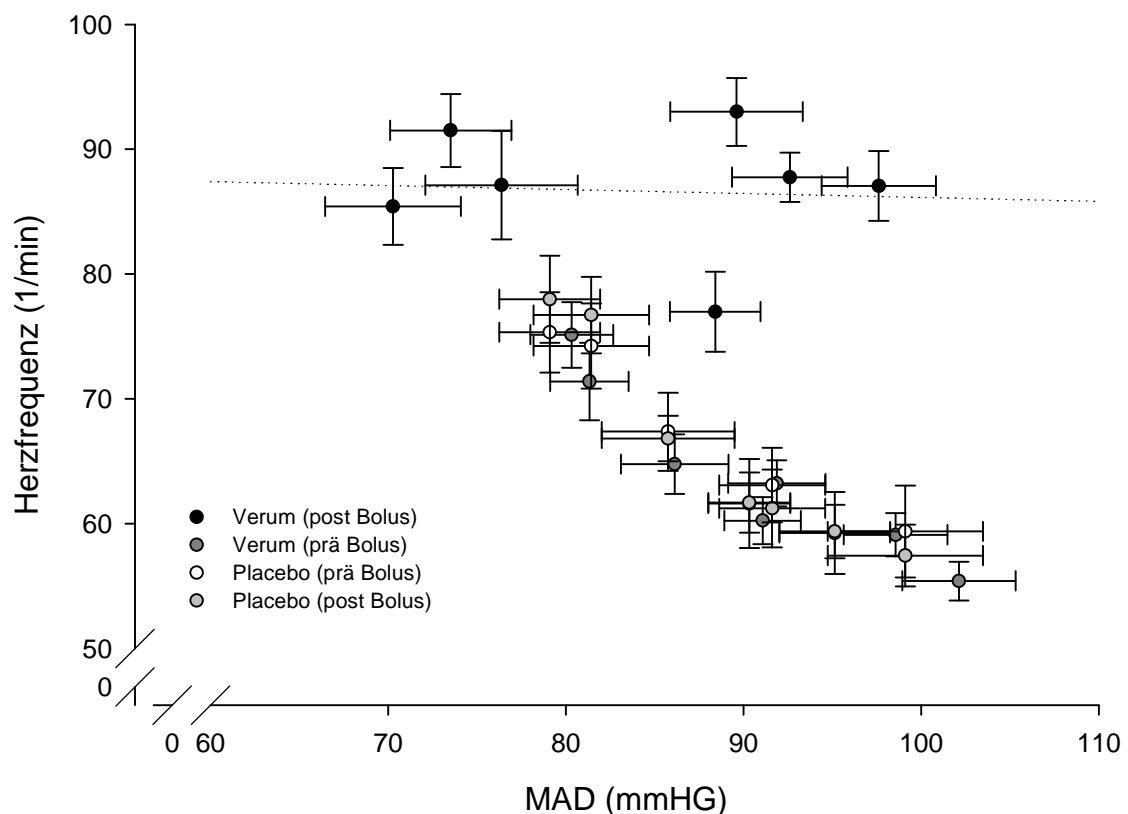


**Abb.19 Herzfrequenz während der Ruhephasen (baseline) und der einzelnen Infusionsstufen (N<sub>1-3</sub> = Nitroprussid; PE<sub>1-3</sub> = Phenylephrin) des BRR-Tests (Verum n = 7, Placebo n = 7). a) Messung vor Substanz-Gabe b) Messung nach Substanz-Gabe \*\* P < 0,01 für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“; §§ P < 0,01 für den Faktor „Behandlung“.**

### 3.1.6.4 Kardiale und vaskuläre Baroreflex-Sensibilität

Um den BRR weiter zu charakterisieren und Aussagen über den „set-point“ und die Baroreflexsensibilität (BRS) machen zu können, wurde der BD zusätzlich während der Ruhephasen und während der Baroreflex-Stimulation mit der aktuellen Hf sowie der aktuellen MSNA korreliert.

Wie aus Abb. 20 hervorgeht, sind die baroreflexbedingten Veränderungen der Hf eingeschränkt. Die Applikation der vasoaktiven Medikamente und die damit verbundene Hebung bzw. Senkung des BD hat nach der LPS-Injektion nur noch einen stark eingeschränkten Einfluss auf die Hf.



**Abb.20 Herzfrequenz im Verhältnis zum MAD.** Weiß (Placebo BRR-Test I); hell-grau (Placebo BRR-Test II); dunkel-grau (LPS-Gruppe BRR-Test I); schwarz (LPS-Gruppe BRR-Test II).



## Ergebnisse

---

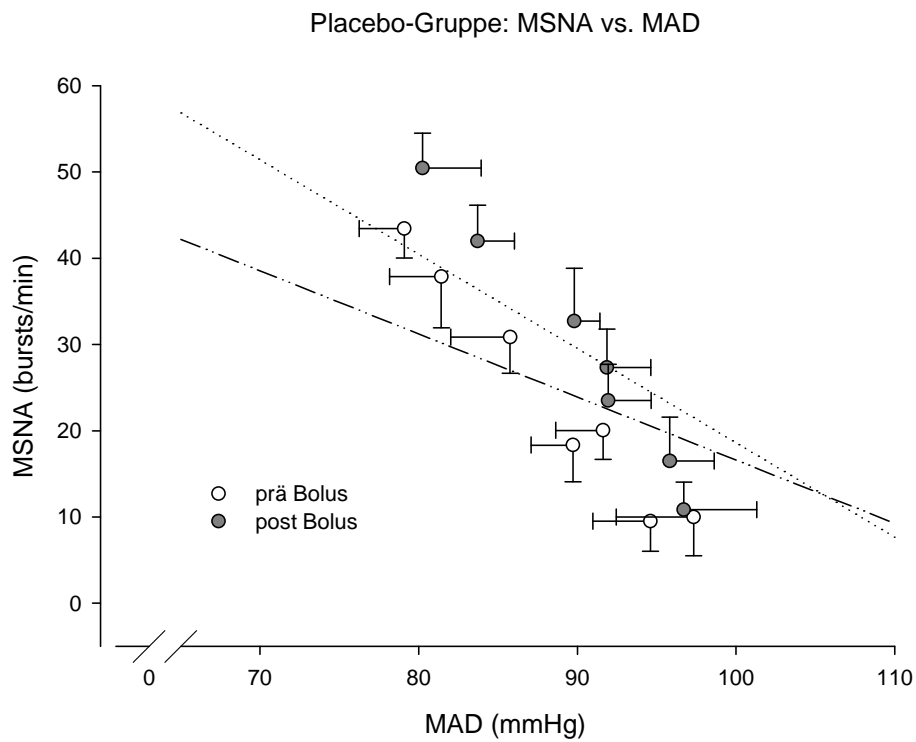
Ähnlich verhielt es sich mit der MSNA. Nach der Applikation von Endotoxin führten die jeweiligen medikamentinduzierten BD-Veränderungen zu signifikant kleineren Differenzen der MSNA ( $P < 0,05$  für den Faktor „Behandlung“) (Siehe Abb. 21 a und Abb 21 b). Tab. 7 zeigt die Mittelwerte der BD-Differenz während der Infusion von PE und N in ihrer maximalen Dosis sowie die Mittelwerte der Differenz der MSNA zu diesem Zeitpunkt.

**Tab. 7 Blutdruckdifferenzen während der Baroreflex-Tests**

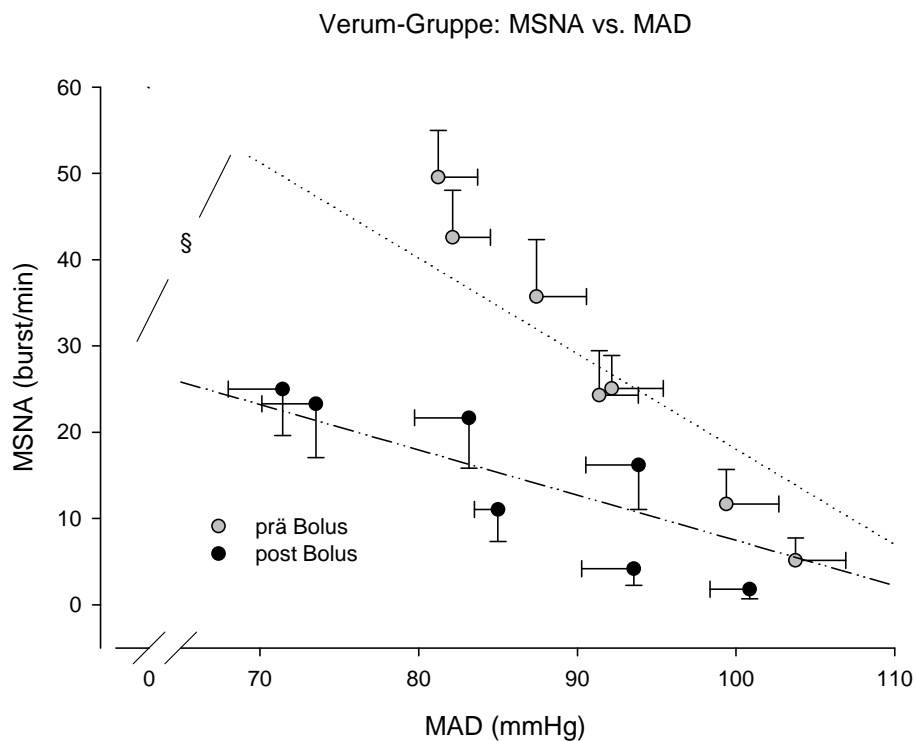
	Delta BD <sub>(Diast.)</sub> in mmHg			Delta MSNA in bursts/min		
Placebo post Bolus (N <sub>3</sub> )	-12,0	±	2,8	23,1	±	3,9
Verum post Bolus (N <sub>3</sub> )	-15,4	±	2,8	16,6	±	6,8
Placebo post Bolus (PE <sub>3</sub> )	8,7	±	4,0	-19,3	±	3,2
Verum post Bolus (PE <sub>3</sub> )	6,5	±	3,3	-9,0	±	5,5

Differenz des BD in mmHg und der MSNA in bursts/min während des BRR-Tests. Die Differenzen jeweils zu den Zeitpunkten der höchsten Infusionsstufe (Stufe 3) von PE und N.

a)



b)



**Abb. 21 MSNA vs. MAD.** Die Abbildungen zeigen die Unterschiede von (a) Placebo-Gruppe und (b) LPS-Gruppe vor und nach Wirkstoff-Applikation. Die flachere Regressionsgrade in der Verum-Gruppe post Bolus verdeutlicht die geringere Reagibilität der MSNA auf BD-Veränderungen. §  $P < 0,05$  für den Behandlungsfaktor „Gruppe“.

## 4 Diskussion

Nachdem in zahlreichen Studien die verschiedenen systemischen Reaktionen des Körpers im Verlauf der Endotoxinämie untersucht wurden (*Hotchkiss und Karl, 2003; Martich et al., 1993; Parillo et al., 1990*), sollte diese Studie klären, wie die MSNA, als Teil des SNS, in der Anfangsphase einer septischen Reaktion reguliert wird. Hierzu wurde den Probanden LPS injiziert.

Die Endotoxinämie führte wie in den benannten Studien auch in diesem Versuch nach ca. 60 min zu den charakteristischen klinischen Symptomen mit Schüttelfrost, Zephalgien, Myalgien und einer Dysphorie. Die durch das LPS induzierte Aktivierung von Leukozyten und Ausschüttung von weiteren endogenen Mediatoren wie Zytokinen, die in der Folge die zentrale Freisetzung von Prostaglandinen (PG) bewirkten, führten zu einem Anstieg der Körpertemperatur (siehe Abb. 6), der Hf (siehe Abb. 14) und den typischen Veränderungen im Blutbild. Die Leukozytenzahl stieg. Den Hauptanteil der weissen Zellreihe machten hierbei die neutrophilen Granulozyten aus. Die Zahl der Mono- und Lymphozyten fiel hingegen (siehe Abb. 9). Wie erwartet stiegen auch die Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-6 durch die LPS-Gabe stark an. Ähnliche Veränderungen sind bereits beschrieben worden und zeigen, dass die LPS-Gabe in diesem Experiment die erwünschte immunstimulatorische Wirkung entfaltete (*Moser et al., 1963; Elin et al., 1981; Suffredini et al., 1999*).

### 4.1 Einfluss von Endotoxin auf das sympathische Nervensystem

Die hormonelle und katecholaminerge Reaktion auf einen Sepsisstimulus sind ebenso wie die Veränderungen der HRV in Tier und Humanstudien untersucht worden. Bisher war es allerdings nur im Tierexperiment möglich, die SNS direkt in afferenten und efferenten Fasern zu verschiedenen Organen zu bestimmen wie zum Beispiel in denen des Herzens oder der Milz (*Halinen et. al, 1977*). *Mills (1990)* gelang es, im Tierversuch mit Ratten die präganglionäre Aktivität des Sympathikus zu bestimmen.

#### 4.1.1 Einfluss von Endotoxin auf die Kreislaufregulation

Generell zeigte sich bei Beobachtungszeiträumen bis zu 10 h nach LPS-Gabe, dass die frühe septische Reaktion einen starken aktivierenden Stimulus für die körpereigenen Stresssysteme darstellten. Insbesondere wurde eine Aktivierung von Teilen des SNS und der adrenokortikalen Achse beschrieben (*Chrousos und Gold, 1992*). Ähnlich wie bei unseren Probanden stieg die Hf signifikant um ca. 34 % und die Plasmakatecholaminspiegel sowie auch die Konzentrationen der Stresshormone ACTH und Kortisol sind erhöht (*Michie et al., 1988 a, Michie et al., 1988 b*).

In einer Studie von *Suffredini et al. (1989)* an ebenfalls gesunden Probanden, die eine identische LPS-Dosis erhalten hatten, zeigte sich in der Frühphase der kardiozirkulatorischen Sepsisreaktion eine Zunahme des HMV, die sowohl auf einer Herzfrequenzbeschleunigung wie auch auf einer Erhöhung der Ejektionsfraktion beruhten.

Die Ursachen für die Veränderungen der Kreislaufparameter sind vielgestaltig. Eine zentrale Rolle spielt hierbei das Stickstoffmonoxid (NO)-System. NO, auch als Endothelium Derived Relaxing Factor (EDRF) bezeichnet, wird während der Endotoxinämie in erhöhten Konzentrationen im Plasma nachgewiesen (*Moncada et al., 1991*). NO ist ein wichtiger Faktor in der Regulation des vaskulären Tonus. Erhöhte Konzentrationen bewirken über endotheliale und direkt am Gefäßmuskel ansetzende Mechanismen eine Vasodilatation und eine Senkung des systemischen Widerstands (*Moncada et al., 1991; Rongen et al., 1994; Szabo, 1995*). In der Sepsis kann eine Induktion der Calcium<sup>2+</sup>-unabhängigen NO-Synthetase in glatten Muskelzellen und Makrophagen beobachtet werden, die die erhöhten NO-Plasmakonzentrationen erklären können (*Moncada et al., 1991*). Eine periphere NO-induzierte Vasodilatation ist wahrscheinlich mitbeteiligt an der Aktivierung des katecholaminergen Systems.

*Halinen et al. (1977)* konnten eine rasche reflektorische Barorezeptor-Antwort nach LPS beobachten. Sie zeigten an Katzen, dass die Entladungsrate sinuortaler Barorezeptoren nach intravenös appliziertem Endotoxin sank, was zu einer Aktivierung sympathischer Efferenzen zum Herzen und der Milz führte.

Später zeigte man jedoch, dass auch barorezeptorunabhängige Mechanismen eine wichtige Rolle bei der Aktivierung des SNS spielen. So stieg die SNA auch nach der sinuortalen Deafferenzierung (SAD) von Ratten nach der Applikation von Endotoxin (*Mills, 1990; Zhou et al., 1991, Zhou et al., 1992*). Diese Reflexantwort mit einer Steigerung sympathischer Aktivität ist jedoch nicht immer ausreichend, um eine BD-Senkung zu verhindern. *Bond (1983)* vermutete in seiner Studie, dass die adrenerge, kompensatorische Antwort in Form einer Vasokonstriktion, bei einer durch das Endotoxin induzierten Hypotension inhibiert ist. Die Ursache hierin wird unter anderem in einer Inhibition der Neurotransmitter Freisetzung gesehen (*Person, 1981*).

Eine andere Erklärung für die unzureichende BD-Stabilisierung in der septischen Reaktion könnte neben einer gestörten Katecholaminfreisetzung eine nicht ausreichende, fehlende oder sogar supprimierte Aktivität kreislaufregulierender Anteile des SNS sein. Eine differenzierte Betrachtung der unterschiedlichen Anteile des SNS während der Endotoxinämie ist beim Menschen bislang noch nicht erfolgt. Die Katecholaminmessung im Blut erlaubt nur eine sehr globale Aussage über die Funktion des sympathischen Anteils des vegetativen Nervensystems. Allerdings ist das sympathische System regional differenziert aufgebaut und reguliert. Es ist durchaus vorstellbar, dass andere Innervationsgebiete wie das Splanchnikusgebiet, das Herz und das pulmonale Stromgebiet in der Sepsis vollständig andere sympathische Aktivitäten aufweisen als das Muskelgefäßbett. Untersuchungen, die die regionale Differenzierung des SNS erfassen, wie die Bestimmung des regionalen „Katecholamin-overspills“ (*Esler, 1995*) oder die hochspezifische mikroneurgraphische Ableitung der MSNA sind beim Menschen in der Sepsisreaktion bisher nicht erfolgt. In der aktuellen Studie, die erstmals die Mikroneurographie zur Erfassung der MSNA in der Endotoxinämie verwandte, konnte nachgewiesen werden, dass der Ast des Sympathikus, der das Muskelgefäßbett versorgt, in seiner Aktivität stark erniedrigt ist und somit wahrscheinlich nicht zu den erhöhten Katecholaminkonzentrationen beiträgt.

#### 4.1.1.1 Endotoxin-Einfluss auf die MSNA

In Anlehnung an bisher publizierte Daten wurde auch in dieser Studie zunächst von einer gesteigerten MSNA nach LPS-Gabe ausgegangen. Unerwartet zeigte sich bei der Mehrheit der Probanden ein signifikanter Abfall der MSNA bereits 90 min nach der Applikation des *E. coli* Endotoxins, während die Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt wie erwartet einen geringen signifikanten Anstieg aufwies (siehe Abb. 17 a und Abb. 17 b). Die Steigerung der MSNA in der Kontrollgruppe beruht wahrscheinlich auf einer Zunahme der Blasenfüllung (*Fagius und Karhuvaara, 1989*) und der Muskelanspannung durch das lange Liegen (*Mark et al., 1985*).

Die niedrigere MSNA in der LPS-Gruppe kann nicht durch einen erhöhten BD und eine baroreflexive Suppression erklärt werden. Es konnte zwar eine signifikante Erhöhung des systolische BD in der Periode 75 – 90 min nach LPS festgestellt werden, anschließend war der BD aber nicht mehr erhöht. 105 min nach der LPS-Gabe war im Gegenteil der diastolische BD sogar erniedrigt, was unter normalen Umständen die Aktivierung der MSNA hervorruft. Diese Veränderungen des BD stimmen mit den Beobachtungen von *Suffredini et al. (1989)* überein, die bei der Applikation der gleichen Dosis von Endotoxin nach ca. 1 h eine leichte BD-Erhöpfung, 3 h post Bolus jedoch einen Abfall des MAD beobachteten und ein Minimum mit signifikant niedrigerem Druck nach weiteren 2 h beschrieben. *Moser et al. (1963)* wiesen bereits in einer sogenannten „Flush-Phase“ ebenfalls 3 h nach *i.v.* LPS- Applikation eine Abnahme des MAD sowie die signifikante Abnahme des berechneten totalen systemischen Widerstandes um 30 % unter die Werte der Kontrollgruppe nach. Angesichts solcher Beobachtungen drängt sich die Frage auf, ob nicht der BD-Abfall selbst nach Endotoxinapplikation durch die Suppression der MSNA bedingt sein kann. Dafür könnte die zeitliche Korrelation von BD-Abfall und MSNA-Suppression sprechen.

Die Ergebnisse der MSNA im Verhältnis zum Verlauf des BD lassen sich am besten durch eine Verschiebung des Baroreflexsetpoints in der frühen Sepsisantwort nach LPS-Gabe erklären. Das bedeutet, dass bei gleichen BD-Werten eine niedrigere Aktivität der MSNA besteht.

Zusammenfassend betrachtet, führte der Endotoxin-Bolus also zu einer Zytokin-erhöhung und bewirkte daneben eine deutliche Katecholaminerhöhung sowie

einen initialen BD-Anstieg. 90 min nach dem Bolus, zum Zeitpunkt der zweiten MSNA-Ableitung war dieser passagere BD-Anstieg beendet, und der BD war auf das Niveau vor LPS-Gabe zurückgegangen. Die MSNA war zu diesem Zeitpunkt deutlich erniedrigt, was sich am Besten durch eine Veränderung des Setpoints des Baroreflexbogens erklären lässt.

Ob auch eine Änderung der BRS durch die LPS-Gabe induziert wird, wurde durch die Gabe vasoaktiver Substanzen untersucht.

### **4.1.1.2 Endotoxin-Einfluss auf den vaskulären Barorezeptorreflex**

Über den BRR ist die MSNA stets sehr eng mit dem aktuell vorherrschenden BD verknüpft. Dabei ist die MSNA das Stellglied zur Erhaltung des BD auf einen zentralnervös vorherbestimmten Wert, dem Sollwert bzw. Setpoint. Das bedeutet, dass BD-Anstiege mit einer Suppression der MSNA, BD-Abfälle mit einem MSNA-Anstieg beantwortet und ausgeglichen werden.

Die Testung des BRR ist ein etabliertes Verfahren, um die Funktion des muskulär sympathischen Systems zu untersuchen.

Mit dem BRR-Test ließen sich die Ergebnisse bezüglich der sympathischen Regulation im Sepsismodell sehr gut ergänzen. Zum einen konnte gezeigt werden, dass die vaskuläre Reaktivität auf PE erhalten ist. Das bedeutet, dass die Erhöhung der Katecholamine, die beobachtet werden konnte, nicht zu einer Desensibilisierung der  $\alpha$ -AR geführt hat. Demgegenüber ist die Nitroprussidwirkung 120 min nach der LPS Gabe erhöht und führt zu signifikant niedrigeren BD-Werten in der höchsten Nitroprussid-Dosisstufe. Dies Ergebnis bestätigt die Beobachtung, dass das NO-System eine wichtige Rolle in der frühen Sepsis spielt (siehe Kapitel 4.1.1). Offensichtlich demaskiert die Gabe des NO-Donators Nitroprussid die Veränderungen des NO-Systems bei ansonsten normotonen Probanden. Interessanterweise führte die stärkere BD-Senkung durch Nitroprussid nicht zu einer adäquaten Aktivierung der MSNA, wie vor der LPS-Gabe zu beobachten war (Abb. 21). Das bedeutet, dass die LPS induzierte Immunantwort nicht nur das Verhältnis BD / MSNA in Ruhe, also den Setpoint verändert, sondern auch die Sensitivität des Baroreflexbogens. Diese Veränderungen sind besonders bei BD-Senkung zu beobachten. Der BD-Anstieg führte zu einer adäquaten MSNA-

Suppression. Diese Ergebnisse sind möglicherweise auch von klinischer Relevanz. Sie sprechen für einen gestörten baroreflexiven Kompensationsmechanismus insbesondere bei niedrigen BD-Werten.

### 4.1.1.3 Endotoxin-Einfluss auf den kardialen Baroreflex

Auch das Verhältnis von Hf und BD war durch die LPS-Gabe deutlich verändert. Wie erwartet führte die LPS-induzierte Immunantwort zu einer deutlichen Herzfrequenzbeschleunigung (*Martich et al., 1993; Suffredini et al., 1989*). Damit ist das kardiale sympathische System, im Gegensatz zum muskulär-vaskulären, durch das LPS aktiviert und die vagale Komponente hingegen reduziert. Die Analyse der HRV lässt bezüglich des kardialen autonomen Systems ebenfalls den Schluss zu, dass auch hier das LPS einen profunden Einfluss ausübt. Die Messungen zeigten während der Endotoxämie zum Zeitpunkt der 2. RP in allen 3 power-Spektren (TP, LF, HF) eine signifikante Abnahme der HRV (siehe Abb. 15 a und Abb. 15 b). Dies ist charakteristisch für die Einschränkung des regulatorischen Einflusses des autonomen Nervensystems auf die Hf (*Godin et al., 1996*). Derartige Veränderungen werden des Weiteren nur beobachtet, wenn sich die kardiale BRS verändert (*Grassi und Esler, 1999; Moak et al., 2007*).

Die deutlichen LPS-Effekte auf die Hf in Ruhe mit einer Beschleunigung und Abnahme der Variabilität wurden noch um die Beobachtung ergänzt, dass Herzfrequenzanpassungen an BD-Veränderungen im Rahmen der Baroreflex-testung fast nicht mehr stattfanden. Insbesondere die deutliche BD-Senkung hatte keine adäquate Frequenzbeschleunigung mehr zur Folge. In Tierversuchen wurde der Einfluss von Endotoxin auf die kardiale BRS bereits gezeigt. Die *i.v.*-Applikation von Endotoxin bewirkte bei Schweinen einen Abfall der BRS (*Voss et al., 2004*). Dem scheinbar widersprechend veröffentlichten (*Rogausch et al., 2000*) eine Studie über die Zunahme der BRS von Ratten nach der intravenösen Endotoxinapplikation. Hier ist allerdings anzumerken, dass die Messungen der BRS auf der Berechnung des Quotienten von Pulsintervalldauer dividiert durch den MAD beruhten. Dies ist als Maß für die Sensibilität jedoch nur eingeschränkt anwendbar, da sich wie in diesem Kapitel beschrieben eine Entkopplung von BD-Regulation und der Hf nach der Applikation von Endotoxin ereignet. Die kardiale BRS ist in



seiner ist seine Reagibilität auf BD-Veränderungen, ebenso wie beim vaskulären BRR zu beobachten, deutlich eingeschränkt.

#### **4.1.2 Ursache der Endotoxin-Effekte auf die sympathische Funktion**

Die Untersuchungen waren nicht darauf angelegt, die Ursache der beobachteten Veränderungen darzulegen, so dass Erklärungsversuche an dieser Stelle nur rein hypothetischer Natur sein können. Als Ursache für eine Suppression der MSNA kommen humorale (Hormone, Zytokine, Prostaglandine, etc.), chemische oder direkte Einflüsse auf ZNS-Ebene in Frage. Zentrale thermoregulatorische Einflüsse scheiden als Ursache einer MSNA-Suppression sehr wahrscheinlich aus, da *Niimi et al. (1997)* zeigen konnten, dass die Erhöhung der Körperkerntemperatur zu deren Aktivierung führt.

##### **4.1.2.1 MSNA-unabhängige Katecholaminerhöhung**

Ein wichtiges Ergebnis dieser Studie ist, dass trotz der hochsignifikanten MSNA-Erniedrigung, ein deutlicher Anstieg der Katecholaminspiegel zu beobachten war. Dieser Befund lässt sich dahingehend deuten, dass bei den Probanden eine Umverteilung der sympathischen Aktivität erfolgte. Für eine Umverteilung sympathischer Nervenaktivität während der Sepsis sprechen auch die Beobachtungen von *Moser et al. (1963)*, die einen erhöhten pulmonalen Gefäßwiderstand bei erniedrigtem systemischen Widerstand feststellten. Verschiedene immunologische Stimuli können zu lokal unterschiedlicher Aktivität sympathischer Efferenzen führen (*Besedovsky et al., 1979; Niijima et al., 1991; Terao et al., 1994; Pacak et al., 1998*).

Die Erhöhung der Katecholamine aus anderen Organsystemen sorgt wahrscheinlich für eine Stabilisierung des BD auf physiologische Werte. Insofern war die Erniedrigung der MSNA möglicherweise Folge der Regulation des peripheren Widerstands, durch Katecholamine aus anderen Quellen als der MSNA. Dies allein ist allerdings keine hinreichende Erklärung für den Befund, dass die Infusion von Nitroprussid während der Endotoxinämie zu einem

vergleichsweise stärkeren BD-Abfall führte und gleichzeitig eine geringere, bezogen auf den BD-Abfall, inadäquat niedrige MSNA-Erhöhung zu messen war. Dies ist nur durch einen direkten hemmenden Einfluss der septischen Reaktion auf die MSNA-abhängige BD-Regulation zu erklären.

Ob Zytokine wie TNF- $\alpha$  oder IL-6 für die MSNA-Suppression verantwortlich sind, ist unklar. Sie führten in Tierexperimenten zu einer Aktivierung des Sympathikus, wobei in diesen Studien die MSNA nicht spezifisch untersucht wurde (*Besedovsky und del Rey, 1996; Zhang et al., 2003*).

Auch für die veränderte Verteilung der Katecholaminsekretion könnte die Zytokinsekretion mitverantwortlich sein. Eine IL-1 $\beta$ -Erhöhung während der Endotoxinämie führte im Tierexperiment zu einer erhöhten sympathischen Aktivität in den Nervenfasern der Milz und des NNM, jedoch zur Suppression der renalen Sympathikusaktivität (*Koenig et al., 1990*). Dies deutet auf eine zentrale Modulation sympathischer Distribution hin (*Niijima et al., 1991*).

Die Bewertung eines Zytokineinflusses in der aktuellen Studie ist nur bedingt möglich, da die Messungen nur an 3 Zeitpunkten durchgeführt wurden. Bei der Studienplanung waren diese Daten vor allem zur Dokumentation des systemischen, inflammatorischen Geschehens während der Mikroneurographie vorgesehen (*Wilson et al., 2001*). Der beobachtete Anstieg von TNF- $\alpha$  oder IL-6 zum Zp 90 min post Bolus kann sich daher auch schon sehr viel früher ereignet haben als die beobachtete Suppression der MSNA. Andere Studien mit frühzeitigeren und häufigeren Messwiederholungen zeigen bereits deutliche Anstiege von TNF- $\alpha$  und IL-6 nach 30 bis 45 min (*van Deventer et al., 1990*).

### **4.1.2.2 Stickstoffmonoxid**

Bestimmte NO-Level sind überlebenswichtig während der experimentellen Endotoxinämie. Die komplette Inhibition der Stickstoffmonoxidsynthetase (NOS) führte bei Tieren zu einem 100 %ig letalen Ausgang der Experimente (*Nava et al., 1991*). *Wang et al. (2000)* zeigten, dass NO für eine Depletion peripherer Katecholaminspeicher sorgen kann, wobei dies unabhängig von dem Aktivierungsgrad des Sympathikus geschieht. Dies ist eine weitere Möglichkeit für

das Phänomen steigender Plasmakatecholamin-Konzentrationen bei einer niedrigeren MSNA.

Des Weiteren besteht während der Sepsis eine Stimulation der NOS im ZNS (*Wong et al., 1996*), was zu einer erhöhten NO-Freisetzung im ZNS führt (*Liu et al., 1997*) und sich auch auf das SNS auswirkt. Die intrathekale Injektion eines NOS-Inhibitors bewirkte bei Tieren eine Steigerung der renalen Sympathikusaktivität (*Togashi et al., 1992*). Dahingegen führte die zentrale Injektion von NO selbst zu einer tonischen Inhibition von renaler sympathischer Nervenaktivität (*Harada et al., 1993*). Ein weiterer Hinweis auf eine ZNS-generierte Sympathikuswirkung des NO geht aus einer Studie von *Tseng et al. (1996)* hervor. Sie zeigten, dass die Injektion von L-Arginin, das Substrat der NOS, in den NTS oder die RVL eine verstärkte, dosisabhängige Suppression der sympathischen Nervenaktivität bewirkte. Dieses Phänomen wurde zudem zeitabhängig durch die intravenöse LPS-Applikation potenziert. Post mortem Analysen von Patienten, die an einem septischen Schock verstorben waren, zeigten die Apoptose von Nerven- und Gliazellen in autonomen Zentren des ZNS. Diese waren eng mit der NOS-Expression assoziiert (*Sharshar et al., 2003*). Spekulationen eines direkten zentralen Einflusses von NO auf die MSNA sind mit der aktuellen Studie weder zu beweisen noch zu widerlegen, sollten jedoch als ein weiterer möglicher Faktor für die Ursache einer Sympathikussuppression nicht übersehen werden.

### **4.1.2.3 Adrenokortikotropes Hormon und Kortisol**

Die Beobachtung der Aktivierung der HHA-Achse nach der intravenösen Applikation von LPS wurde bereits in Studien belegt (*Beishuizen und Thijs, 2003*). Dieser Effekt ist dosisabhängig (*Vedder et al., 1999*) und abhängig vom diurnalen Rhythmus (*Pollmacher et al., 1996*). Als Ursache der Aktivierung kommen eine Reihe von Faktoren in Frage, wobei deren Zusammenspiel nicht vollständig verstanden ist.

In diesem Versuch erreichte die Kortisol-Konzentration bereits vor der ACTH-Konzentration das Signifikanzniveau (siehe Abb. 12). Dies kann auch während der chronischen Phase einer Sepsis beobachtet werden (*Vermes et al., 1995*). Ein

Grund für die schnellere Kortisolfreisetzung könnte eine ACTH unabhängige Stimulation der Kortisolsekretion gewesen sein, so wie sie am Menschen bereits für IL-6 gezeigt wurde (*Bethin et al., 2000*). *Vakharia et al. (2002)* zeigten allerdings bei *in vitro* Versuchen auch eine direkte Stimulation adrenokortikaler Zellen durch das LPS.

Die Konzentration des Kortisols im Plasma spielt möglicherweise auch eine Rolle bei der Suppression der MSNA. *Dodt et al. (2000)* zeigten, dass die *i.v.* Injektion von Hydrokortison im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer Suppression der MSNA führte. Dies geschah unabhängig von Baroreflexmechanismen. Angenommen wurde damals ein direkter Einfluss auf das ZNS, wobei Kortisol aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften die Blut-Hirn-Schranke gut passieren kann. Für eine solche Wirkung spricht, dass die intrathekale Glukokortikoid-Applikation bei Ratten zu einem Abfall des BD führte (*Tonolo et al., 1993; van den Berg et al., 1990*). Die Sympathikussuppression durch das Kortisol könnte durch eine Hemmung sympathoexzitatorischer ACTH- oder CRH-Effekte verursacht sein (*Dodt et al., 1998; Brown et al., 1982*), aber auch ein direkter inhibitorischer Einfluss des Kortisols auf das ZNS ist möglich. Bei Ratten wurden Glukokortikoidrezeptoren im NTS gefunden, die eine solche Reaktion vermitteln könnten (*Reul und de Kloet, 1985*).

### **4.1.3 Dysbalance des autonomen Nervensystems**

In Anbetracht der Ergebnisse wird deutlich, dass die Endotoxinämie zu einer allgemeinen autonomen Dysbalance führt. Sowohl die supprimierte MSNA (siehe Abb. 18 a und Abb. 18 b) als auch die HRV, die deutlich eingeschränkt ist (siehe Abb. 15 a und Abb. 15 b), belegen dies. Die reduzierte HRV ist vor allem Zeichen der Einschränkung der kardialen BRR-Kontrolle (*Annane et al., 1999; Moak et al., 2007*). Die kardiale BRR-Kontrolle ist individuell unterschiedlich. Studien an septischen Patienten zeigten, dass die vagalen und sympathischen Einflüsse, gemessen als HF- und LF-Spektrum der HRV, erheblich variieren können. Einige Individuen weisen eher eine höhere LF-Restaktivität auf, während bei anderen eine höhere HF-power zu beobachten ist. Beide power-Spektren sind eng mit der

BRS verbunden (Moak et al., 2007). Das Verhältnis von HF-power und LF-power hat eine Bedeutung für das „outcome“ von Sepsis-Patienten. So zeigten *Winchell und Hoyt (1996) oder Korach et al. (2001)*, dass ein erniedrigtes LF/HF Verhältnis bei diesen Patienten mit einer erhöhten Letalitätsrate assoziiert war. Die LPS-Applikation bewirkte in der aktuellen Studie in der 2. RP eher einen Trend der Steigerung dieses Verhältnisses. Die Veränderung des LF/HF Verhältnisses kann entweder Resultat der Veränderung der LF-power oder der HF-power sein. Das durchschnittlich jüngere Alter der Probanden in dieser Studie verglichen mit dem Probandenkollektiv aus den Sepsis-Studien, könnte die Studiendiskrepanz bezüglich des LF/HF-Verhältnisses während der frühen septischen Reaktion erklären. Mit dem jüngeren Alter ist normalerweise auch eine bessere Immunkompetenz verbunden. Darüber hinaus ist die Prämorbidität der Sepsis-Patienten zumeist höher, so dass diese in ihrer immunologischen Abwehrfähigkeit bereits kompromittiert sind.

Auffallend war, dass in einem Fall die LPS-Applikation ein deutlich geringeres LF/HF- Verhältnis bewirkte. In diesem Fall konnte zudem eine Hypothermie und Leukopenie beobachtet werden, welches ebenfalls negative prädiktive Faktoren für die Sepsisüberlebensrate sind (*Peres et al., 2004; Malone et al., 2001*).

Das LF/HF Verhältnis bzw. die erhöhten vagalen Efferenzen in sich als pathogenetischer Faktor zu betrachten, ist wie folgende Studien zeigten nicht korrekt. Bei Ratten bewirkte nämlich die Vagusstimulation nach einer letalen Dosis von Endotoxin, dass Zytokine wie TNF- $\alpha$  in geringerem Ausmaß freigesetzt wurden. Dies verhinderte die Entwicklung einer Schocksymptomatik (*Borovikova et al., 2000*). *Pavlov et al. (2003) oder Czura und Tracey (2005)* zeigten, dass Zytokine einen Einfluss auf die vagale Nervenaktivität haben. Darüber hinaus existieren Studien, die zeigen, dass ACh *vice versa* die Freisetzung inflammatorischer Zytokine (TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18) in LPS-stimulierten humanen Makrophagenkulturen bewirkte. Dieser Effekt wurde über nikotinerge Rezeptoren vermittelt (*Borovikova et al., 2000*). Ein interessanter Studienansatz wäre, den Einfluss vagusmodulierender Substanzen auf die MSNA unter Endotoxinämie-Bedingungen zu untersuchen.

## Diskussion

---

Generell wird deutlich, dass die Balance des autonomen Nervensystems eine wichtige Rolle während der Sepsis spielt. Unklar ist bislang jedoch, ob es möglich ist, durch die gezielte Beeinflussung von Anteilen des Vagus bzw. Sympathikus einen therapeutischen Nutzen zu erlangen.

## 5 Zusammenfassung

Die Frühphase der Sepsis ist durch eine Erniedrigung des vaskulären Widerstands gekennzeichnet. In dieser einfach-blind angelegten Studie wurde die muskuläre sympathische Nervenaktivität (MSNA), ein wesentlicher Faktor der Barorezeptorvermittelten Blutdruckregulation, während der Endotoxinämie untersucht.

18 gesunde männliche Probanden wurden randomisiert. 11 von ihnen erhielten das Verum (*E. coli* Endotoxin: 4 ng/kg Körpergewicht) und 7 ein Placebo (physiologische NaCl-Lsg.). Die MSNA wurde vor und 90 min nach der Applikation des Endotoxin-Bolus mikroneurographisch erfasst. Zeitgleich erfolgte die Messung des Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Herzratenvariabilität. Der Barorezeptorreflex (BRR) wurde ebenfalls vor und ein zweites mal 120 min nach dem Endotoxin-Bolus mittels der Injektion vasoaktiver Medikamente (Nitroprussid und Phenylephrin) getestet. Weiterhin erfolgte in regelmäßigen Abständen die Messung der Plasmakatecholamine, der Körpertemperatur, der Leukozyten und Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-6 sowie der Stresshormone.

Die Injektion von Endotoxin führte zu einer typischen Grippesymptomatik mit Körpertemperaturerhöhung und einem Herzfrequenzanstieg. Die Serumkonzentration der Leukozyten und Zytokine stieg an. Ohne dass zeitgleich signifikante Blutdruckunterschiede beobachtet werden konnten, war die MSNA 90 min nach der Endotoxin-Injektion deutlich supprimiert, während die Plasmakatecholamine stiegen und auch die Stresshormonkonzentration erhöht war. In der Kontrollgruppe zeigte sich demgegenüber sogar ein leichter Anstieg der MSNA.

Die Blutdruckregulation via vaskulärer und kardialer Barorezeptor-Mechanismen war 2 h nach der Endotoxin-Injektion deutlich eingeschränkt, was sich vor allem während der Infusion von Nitroprussid in einer Abnahme sowohl der vaskulären als auch der kardialen Barorezeptorsensibilität sowie einer Entkopplung der Herzfrequenz von Barorezeptorreflex-Mechanismen zeigte.

Ursache für die supprimierte MSNA ist wahrscheinlich eine barorezeptorvermittelte Verschiebung des Soll-Wertes des Verhältnisses von Blutdruck zur MSNA (Barorezeptor-Setpoint). Die zeitgleich erhöhten Plasmakatecholamine widersprechen der supprimierten MSNA nicht, sondern sind eher Ausdruck einer

veränderten Distribution sympathischer Nervenaktivität, die mit einer Umverteilung der Katecholaminsekretion einhergeht.

Die aktuelle Studie zeigt also erstmalig die Veränderungen der MSNA während der Endotoxinämie. Die MSNA ist unabhängig vom Blutdruck deutlich supprimiert und die Barorezeptorsensibilität reduziert. Eine definitive Aussage in Bezug auf die zugrundeliegenden Mechanismen zu treffen, ist aufgrund des Studiendesigns jedoch nicht möglich. Es ist zu vermuten, dass übergeordnete zentralnervöse Einflüsse, möglicherweise durch den Einfluss von Stickstoffmonoxid oder auch immunogenen sowie hormonell bedingten Regulationsphänomenen, eine wichtige Rolle in der initialen Sympathosuppression in der Frühphase der Sepsisreaktion spielen.



## 6 Literaturverzeichnis

American College of Chest Physicians/ Society of critical care medicine. Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit. Care Med. 20, 864-874 (1992)

Anderson EA, Wallin BG, Mark AL: Dissociation on sympathetic nerve activity in arm and leg muscle during stress. Hypertension 9 (Suppl.III), 114-119 (1987)

Annane D, Trabold F, Sharshar T, Jarrin I, Blanc AS, Raphael JC, Gajdos P: Inappropriate sympathetic activation at onset of septic shock: a spectral analysis approach. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 160, 458-465 (1999)

Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ: Hemodynamic regulation: investigation and spectral analysis. Am. J. Physiol. 246, H867-H875 (1985)

Balk RA: Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. Crit. Care Clin. 16, 179-192 (2000)

Beishuizen A, Thijs LG: Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. J. Endotox. Res. 9, 3-24 (2003)

Berkenbosch F, de Goeij DE, Rey AD, Besedovsky HO: Neuroendocrine, sympathetic and metabolic responses induced by interleukin-1. Neuroendocrinology 50, 570-576 (1989)

Berkenbosch F, van Oers J, del Rey A, Tilders F, Besedovsky H: Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. Science 238, 524-526 (1987)

Besedovsky HO, del Rey A: Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. Endocr.Rev. 17, 64-102 (1996)

Besedovsky H, del Rey A, Sorkin E, Da Prada M, Burri R, Honegger C: The immune response evokes changes in brain noradrenergic neurons. Science 221, 564-566 (1983)

Besedovsky HO, del Rey A, Sorkin E, Da Prada M, Keller HH: Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. Cell Immunol. 48, 346-355 (1979)

## Literatur

---

Besedovsky H, del Rey A, Sorkin E, Dinarello CA: Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science* 233, 652-654 (1986)

Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ: Interleukin-6 is an essential, corticotropin-releasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 9317-9322 (2000)

Bishop RE: Fundamentals of endotoxin structure and function. *Contrib. Microbiol.* 12, 1-27 (2005)

Blennerhassett MG, Bienenstock J: Sympathetic nerve contact causes maturation of mast cells in vitro. *J. Neurobiol.* 35, 173-182 (1998)

Bond RF: Peripheral vascular adrenergic depression during hypotension induced by *E. coli* Endotoxin. *Adv. Shock res.* 9, 157-169 (1983)

Bondy B, de Jonge S, Pander S, Primbs J, Ackenheil M: Identification of dopamine D4 receptor mRNA in circulating human lymphocytes using nested polymerase chain reaction. *J. Neuroimmunol.* 71, 139-144 (1996)

Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ: Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 405, 458-462 (2000)

Brody S, Maier C, Montoya P, Rau H: Speaking from the heart: cardiovascular components of stress rating changes and the relative reactivity of physiological and psychological variables. *Eur. J. Appl. Physiol. occup. physiol.* 69 (4), 277-80 (1994)

Brown MR, Fisher LA, Spiess J, Rivier C, Rivier J, Vale W: Corticotropin-releasing factor: Actions on the sympathetic nervous system and metabolism. *Endocrinology* 111, 928-931 (1982)

Brown R, Li Z, Vriend CY, Nirula R, Janz L, Falk J, Nance DM, Dyck DG, Greenberg AH: Suppression of splenic macrophage interleukin-1 secretion following intracerebroventricular injection of interleukin-1 beta: evidence for pituitary-adrenal and sympathetic control. *Cell Immunol.* 132, 84-93 (1991)

Chalmers JP, Minson J, Denoroy L, Stead B, Howe PR: Brainstem PNMT neurons and experimental hypertension in the rat. *Clin. Exp. Hypertens. A.* 6, 243-258 (1984)

## Literatur

---

Chrousos GP, Gold PW: The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 267, 1244-1252 (1992)

Czura CJ, Tracey KJ: Autonomic neural regulation of immunity. *J. Intern. Med.* 257, 156-166 (2005)

Danner RL, Parrillo JE: The role of endotoxin in human septic shock: therapeutic potential of lipid A analogs. *Prog. Clin. Biol. Res.* 286, 183-200 (1989)

Delius W, Hagbarth KE, Hongell A, Wallin BG: General characteristics of sympathetic activity in human muscle nerves. *Acta Physiol. Scand.* 84, 65-81 (1972 a)

Delius W, Hagbarth KE, Hongell A, Wallin BG: Manoeuvres affecting sympathetic outflow in human muscle nerves. *Acta Physiol. Scand.* 84, 82-94 (1972 b)

Delius W, Hagbarth KE, Hongell A, Wallin BG: Manoeuvres affecting sympathetic outflow in human skin nerves. *Acta Physiol. Scand.* 84, 177-186 (1972 c)

del Rey A, Besedovsky HO, Sorkin E, Da Prada M, Bondiolotti GP: Sympathetic immunoregulation: difference between high- and low-responder animals. *Am. J. Physiol* 242, R30-R33 (1982)

Dinarello CA: Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response. *N. Engl. J. Med.* 311, 1413-1418 (1984)

Dotz C, Wallin BG, Fehm HL, Elam M: The stress hormone adrenocorticotropin enhances sympathetic outflow to the muscle vascular bed in humans. *J. Hypertens.* 16, 195-201 (1998)

Dotz C, Keyser B, Mölle M, Fehm HL, Elam M: Acute suppression of muscle sympathetic nerve activity by hydrocortisone in humans. *Hypertension* 35, 758-763 (2000)

Dunn AJ: Systemic interleukin-1 administration stimulates hypothalamic norepinephrine metabolism paralleling the increased plasma corticosterone. *Life Sci.* 43, 429-435 (1988)

Dunn AJ: Brain catecholaminergic and tryptophan responses to restraint are attenuated by nitric oxide synthase inhibition. *Neurochem. Int.* 33, 551-557 (1998)

Dunn AJ, Wang J, Ando T: Effects of cytokines on cerebral neurotransmission. Comparison with the effects of stress. *Adv. Exp. Med. Biol.* 461, 117-127 (1999)

## Literatur

---

Eckberg DL, Wallin BG, Fagius J, Lundberg L, Torebjörk HE: Prospective study of symptoms after human microneurography. *Acta Physiol. Scand.* 137, 567-569 (1989)

Ehrenstrom F, Ungell AL: Nerve impulse-induced release of endogenous noradrenaline and adrenaline from the perfused cod spleen. *J. Comp Physiol [B]* 160, 401-406 (1990)

Elenkov IJ, Chrousos GP: Stress Hormones, Th1/Th2 patterns, Pro/Anti-inflammatory Cytokines and Susceptibility to Disease. *Trends Endocrinol. Metab* 10, 359-368 (1999)

Elenkov IJ, Hasko G, Kovacs KJ, Vizi ES: Modulation of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha production by selective alpha- and beta-adrenergic drugs in mice. *J. Neuroimmunol.* 61, 123-131 (1995)

Elenkov IJ, Kovacs K, Kiss J, Bertok L, Vizi ES: Lipopolysaccharide is able to bypass corticotrophin-releasing factor in affecting plasma ACTH and corticosterone levels: evidence from rats with lesions of the paraventricular nucleus. *J. Endocrinol.* 133, 231-236 (1992)

Elenkov IJ, Papanicolaou DA, Wilder RL, Chrousos GP: Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications. *Proc. Assoc. Am. Physicians* 108, 374-381 (1996)

Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES: The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol. Rev.* 52, 595-638 (2000)

Elin RJ, Wolff SM, Mc Adam KP, Chedid L, Audibert F, Bernard C, Oberling F: Properties of reference *Escherichia coli* endotoxin and its phthalylatet derivative in humans. *J. Infect. Dis.* 144, 329-336 (1981)

Eriksson BM, Persson BA: Determination of catecholamines in rat heart tissue and plasma samples by liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Chromatography* 228, 143-154 (1982)

Esler M: The sympathetic nervous system and catecholamine release and plasma clearance in normal blood pressure control, in aging, and in hypertension. In: Laragh JH, Brenner BM, Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management, Second Edition, Raven Press, Ltd., New York, 755-773 (1995)

## Literatur

---

Fagius J, Karhuvaara S: Sympathetic activity and blood pressure increases with bladder distension in humans. *Hypertension* 14, 511-517 (1989)

Fagius J, Wallin BG: Sympathetic reflex latencies and conduction velocities in normal man. *J. Neurol. Sci.* 47, 433-438 (1980)

Fagius J, Wallin BG, Sundlöf G, Nerhed C, Englesson S: Sympathetic outflow in man after anaesthesia of glossopharyngeal and vagus nerves. *Brain* 108, 423-438 (1985)

Felten DL, Felten SY, Carlson SL, Olschowka JA, Livnat S: Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *J. Immunol.* 135, 755s-765s (1985)

Felten SY, Felten DL, Bellinger DL, Carlson SL, Ackerman KD, Madden KS, Olschowka JA, Livnat S: Noradrenergic sympathetic innervation of lymphoid organs. *Prog. Allergy* 43, 14-36 (1988)

Freyschuss U, Fagius J, Wallin BG, Bohlin G, Perski A, Hjemdahl P: Cardiovascular and sympathoadrenal responses to mental stress: a study of sensory intake and rejection reactions. *Acta Physiol. Scand.* 139, 173-183 (1990)

Godin PJ, Fleisher LA, Eidsath A, Vandivier RW, Preas HL, Banks SM, Buchman TG, Suffredini AF: Experimental human endotoxemia increases cardiac regularity: results from a prospective, randomized, crossover trial. *Crit. Care Med.* 24, 1117-1124 (1996)

Grassi G, Esler M: How to assess sympathetic activity in humans. *J. Hypertens.* 17, 719-734 (1999)

Hagbarth KE, Vallbo AB: Pulse and respiratory grouping of sympathetic impulses in human muscle nerves. *Acta Physiol. Scand.* 74, 96-108 (1968)

Hagbarth KE, Torebjörk HE, Wallin BG: Microelectrode explorations of human peripheral nerve. In: Dyck PJ, Thomas PK: *Peripheral neuropathy*, 3rd ed, Saunders WB Co, Philadelphia, Vol. 1, 658-671 (1993)

Halinen MO, Hakumäki MOK, Sarajas HSS: Circulatory reflex response during the initial stage of feline endotoxic shock. *Acta physiol. scand.* 101, 264-269 (1977)

## Literatur

---

Hasko G, Shanley TP, Egnaczyk G, Nemeth ZH, Salzman AL, Vizi ES, Szabo C: Exogenous and endogenous catecholamines inhibit the production of macrophage inflammatory protein (MIP) 1 alpha via a beta adrenoceptor mediated mechanism. *Br. J. Pharmacol.* 125, 1297-1303 (1998)

Harada S, Tokunaga S, Momohara M, Masaki H, Tagawa T, Imaizumi T, Takeshita A: Inhibition of nitric oxide formation in the nucleus tractus solitarius increases renal sympathetic nerve activity in rabbits. *Circ.Res.* 72, 511-516 (1993)

Hotchkiss RS, Karl IE: The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Engl. J. Med.* 348, 138-150 (2003)

Jänig W: Vegetatives Nervensystem. In: Schmidt RF, Thews G: *Physiologie des Menschen* 24. Auflage, Springer, Berlin Heidelberg New York, 350-389 (1990)

Janig W, McLachlan EM: Characteristics of function-specific pathways in the sympathetic nervous system. *Trends Neurosci.* 15, 475-481 (1992a)

Janig W, McLachlan EM: Specialized functional pathways are the building blocks of the autonomic nervous system. *J. Auton. Nerv. Syst.* 41, 3-13 (1992b)

Jennings GL: Noradrenaline spillover and microneurography measurements in patients with primary hypertension. *J. Hypertens. Suppl* 16, S35-S38 (1998)

Jupin C, Anderson S, Damals C, Alouf JE, Parant M: Toxic shock syndrome toxin 1 as an inducer of human tumor necrosis factors and gamma interferon. *J. Exp. Med.* 167, 752-761 (1988)

Katafuchi T, Hori T, Take S: Central administration of interferon-alpha enhances rat sympathetic nerve activity to the spleen. *Neurosci. Lett.* 125, 37-40 (1991)

Katafuchi T, Take S, Hori T: Roles of sympathetic nervous system in the suppression of cytotoxicity of splenic natural killer cells in the rat. *J. Physiol* 465, 343-357 (1993)

Kingwell BA, Thompson JM, Kaye DM, Mc Pherson GA, Jennings GL, Esler M: Heart rate spectral analysis, cardiac norepinephrine spillover, and muscle sympathetic nerve activity during human sympathetic activation and failure. *Circulation* 90, 234-240 (1994)

Koenig JI, Snow K, Clark BD, Toni R, Cannon JG, Shaw AR, Dinarello CA, Reichlin S, Lee SL, Lechan RM: Intrinsic pituitary interleukin-1 beta is induced by bacterial lipopolysaccharid. *Endocrinology* 126, 3053-3058 (1990)

## Literatur

---

Korach M, Sharshar T, Jarrin I, Fouillot JP, Raphael JC, Gajdos P, Annane D: Cardiac variability in critically ill adults: influence of sepsis. *Crit. Care Med.* 29, 1380-1385 (2001)

Kovacs KJ, Elenkov IJ: Differential dependence of ACTH secretion induced by various cytokines on the integrity of the paraventricular nucleus. *J. Neuroendocrinol.* 7, 15-23 (1995)

Kurz B, Feindt J, von Gaudecker B, Kranz A, Loppnow H, Mentlein R: Beta-adrenoceptor-mediated effects in rat cultured thymic epithelial cells. *Br .J. Pharmacol.* 120, 1401-1408 (1997)

Leuenberger UA, Hardy JC, Herr MD, Gray KS, Sinoway LI: Hypoxia augments apnea-induced peripheral vasoconstriction in humans. *J. Appl. Physiol* 90, 1516-1522 (2001)

Liu SF, Barnes PJ, Evans TW: Time course and cellular localization of lipopolysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase messenger RNA expression in the rat in vivo. *Crit. Care Med.* 25, 512-518 (1997)

Lundberg JM, Rudehill A, Sollevi A, Fried G, Wallin G: Co-release of neuropeptide Y and noradrenaline from pig spleen in vivo: importance of subcellular storage, nerve impulse frequency and pattern, feedback regulation and resupply by axonal transport. *Neuroscience* 28, 475-486 (1989)

Macarthur H, Westfall TC, Riley DP, Misko TP, Salvemini D: Inactivation of catecholamines by superoxid gives new insights on the pathogenesis of septic shock. *PNAS* 97, 9753-9758 (2000)

Maestroni GJ, Conti A: Modulation of hematopoiesis via alpha 1-adrenergic receptors on bone marrow cells. *Exp. Hematol.* 22, 313-320 (1994 a)

Maestroni GJ and Conti A: Noradrenergic modulation of lymphohematopoiesis. *Int. J. Immunopharmacol.* 16, 117-122 (1994 b)

Maier SF, Goehler LE, Fleshner M, Watkins LR: The role of the vagus nerve in cytokine-to-brain communication. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 840, 289-300 (1998)

Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S: Cardiovascular and neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84, 482-492 (1991)

## Literatur

---

Malone DL, Kuhls D, Napolitano LM, McCarter R, Scalea T: Back to basics: validation of the admission systemic inflammatory response syndrome score in predicting outcome in trauma. *J. Trauma.* 51, 458-63 (2001)

Mark AL, Victor RG, Nerhed C, Wallin BG: Microneurographic studies on the mechanisms of sympathetic nerve response to static exercise in humans. *Circ. Res.* 57, 461-469 (1985)

Martich GD, Boujoukos AJ, Suffredini AF: Response of man to endotoxin. *Immunobiol.* 187, 403-416 (1993)

Martich GD, Parker MM, Cunnion RE, Suffredini AF: Effects of ibuprofen and pentoxifylline on the cardiovascular response of normal humans to endotoxin. *J. Appl. Physiol* 73, 925-931 (1992)

Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR, Revhaug A, O'Dwyer ST, Dinarello CA, Cerami A, Wolff SM, Wilmore DW: Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N. Engl. J. Med.* 318, 1481-1486 (1988 a)

Michie HR, Spriggs DR, Manogue KR, Sherman ML, Revhaug A, O'Dwyer ST, Arthur K, Dinarello CA, Cerami A, Wolff SM, Kufe DW, Wilmore DW: Tumor necrosis factor and endotoxin induce same metabolic responses in humans. *Surgery* 104, 280-286 (1988 b)

Mills, E: Development of the sympathetic nervous system response to endotoxemia in the rat: importance of non-baroreflex mechanisms in preweanlings and adults. *J. Dev. Physiol.* 13, 99-103 (1990)

Moak JP, Goldstein DS, Eldodah BA, Saleem A, Holmes C, Pechnik S, Sharabi Y: Supine low frequency power of heart rate variability reflects baroreflex function, not cardiac sympathetic innervation. *Heart Rhythm.* 4, 1523-1529 (2007)

Moerer O, Burchardi H: The cost of sepsis. *Anaesthesist* 55, 36-42 (2006)

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43, 109-142 (1991)

Moser KM, Perry RB, Luchsinger PC: Cardiopulmonary consequences of pyrogen-induced hyperpyrexia in man. *J. Clin. Invest.* 42, 626-634 (1963)

Nagai Y, Ueno S, Saeki Y, Soga F, Yanagihara T: Expression of the D3 dopamine receptor gene and a novel variant transcript generated by alternative splicing in human peripheral blood lymphocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 194, 368-374 (1993)



## Literatur

---

Nakamura A, Johns EJ, Imaizumi A, Abe T, Kohsaka T: Regulation of tumour necrosis factor and interleukin-6 gene transcription by beta2-adrenoceptor in the rat astrocytes. *J. Neuroimmunol.* 88, 144-153 (1998)

Nava E, Palmer RM, Moncada S: Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? *Lancet* 338, 1555-1557 (1991)

Niiijima A, Hori T, Aou S, Oomura Y: The effects of interleukin-1 beta on the activity of adrenal, splenic and renal sympathetic nerves in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.* 36, 183-192 (1991)

Niimi Y, Matsukawa T, Sugiyama Y, Shamsuzzaman AS, Ito H, Sobue G, Mano T: Effect of heat stress on muscle sympathetic nerve activity in humans. *J. Auton. Nerv. Syst.* 63, 61-67 (1997)

Noll G, Wenzel RR, Schneider M, Oesch V, Binggeli C, Shaw S, Weidmann P, Lüscher TF: Increased activation on sympathetic nervous system and endothelin by mental stress in normotensive offspring of hypertensive parents. *Circulation* 93, 866-869 (1996)

Ottaway CA and Husband AJ: Central nervous system influences on lymphocyte migration. *Brain Behav. Immun.* 6, 97-116 (1992)

Pacak K, Palkovits M, Yadid G, Kvetnansky R, Kopin IJ, Goldstein DS: Heterogeneous neurochemical responses to different stressors: a test of Selye's doctrine of nonspecificity. *Am. J. Physiol* 275, R1247-R1255 (1998)

Parillo JE, Parker MM, Natanson C, Suffredini AF, Danner RL, Cunnion RE, Ognibene FP: Septic Shock in humans: advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapie. *Ann. Intern. Med.* 113, 227-242 (1990)

Pavlov VA, Wang H, Czura CJ, Friedman SG, Tracey KJ: The cholinergic anti-inflammatory pathway: a missing link in neuroimmunomodulation. *Mol. Med.* 9, 125-34 (2003)

Peres BD, Lopes FF, Melot C, Vincent JL: Body temperature alterations in the critically ill. *Intens. Care Med.* 30, 811-816 (2004)

Person RJ: Actions of endotoxins on excitation-secretion coupling at the neural membrane. *Prog. Clin. Biol. Res.* 62, 65-79 (1981)

## Literatur

---

Pleiner J, Heere-Ress E, Langenberger H, Siedler AE, Bayerle-Eder M, Mittermayer F, Fuchsjäger-Mayrl G, Böhm J, Jansen B, Wolzt M: Adrenoreceptor hyporeactivity is responsible for *Escherichia coli* endotoxin-induced acute vascular dysfunction in humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22, 95-100 (2002)

Polderman KH, Girbes ARJ: Drug intervention trials in sepsis: divergent results. *Lancet* 363, 1721-1723 (2004)

Pollmacher T, Mullington J, Korth C, Schreiber W, Hermann D, Orth A, Galanos C, Holsboer F: Diurnal variations in the human host response to endotoxin. *J. Infect. Dis.* 174, 1040-1045 (1996)

Poloyac SM, Tosheva RT, Gardner BM, Shedlofsky SI, Blouin RA: The effect of endotoxin administration on the pharmacokinetics of chlorzoxazone in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 66, 554-562 (1999)

Reul JM, de Kloet ER: Two receptor systems for corticosterone in the brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117, 2505 (1985)

Rogausch H, Vo NT, Del Rey A, Besedovsky HO: Increased sensitivity of the baroreceptor reflex after bacterial endotoxin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 917, 165-168 (2000)

Rongen GA, Smits P, Thien T: Endothelium and the regulation of vascular tone with emphasis on the role of nitric oxide. *Physiology, pathophysiology and clinical implications. Neth. J. Med.* 44, 26-35 (1994)

Sanders VM: The role of adrenoceptor-mediated signals in the modulation of lymphocyte function. *Adv. Neuroimmunol.* 5, 283-298 (1995)

Sanders VM, Baker RA, Ramer-Quinn DS, Kasprovicz DJ, Fuchs BA, Street NE: Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *J. Immunol.* 158, 4200-4210 (1997)

Sapolsky R, Rivier C, Yamamoto G, Plotsky P, Vale W: Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science* 238, 522-524 (1987)

Scherrer U, Vollenweider P, Randin D, Jequier E, Nicod P, Tappy L: Suppression of insulin-induced sympathetic activation and vasodilatation by dexamethasone in human. *Circulation* 88, 388-394 (1993)

## Literatur

---

Sharshar T, Gray F, de la Grandmaison G, Hopkinson N, Ross E, Dorandeu A, Orlikowski D, Raphael J, Gajdos P, Annane D: Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. *Lancet* 362, 1799-1805 (2003).

Shimizu N, Hori T, Nakane H: An interleukin-1 beta-induced noradrenaline release in the spleen is mediated by brain corticotropin-releasing factor: an *in vivo* microdialysis study in conscious rats. *Brain Behav. Immun.* 8, 14-23 (1994)

Spraul M, Ravussin E, Fontvieille AM, Rising R, Larson DE, Anderson EA: Reduced sympathetic nervous activity: a potential mechanism predisposing to body weight gain. *J. Clin. Invest.* 92, 1730-1735 (1993)

Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovacs JA, Wesley RA, Parillo JE: The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N. Engl. J. Med.* 321, 280-287 (1989)

Suffredini AF, Hochstein HD, McMahon FG: Dose-related inflammatory effects of intravenous endotoxin in humans: Evaluation of a new clinical lot of *Escherichia coli* O:113 Endotoxin. *J. infect. dis.* 179, 1278-1282 (1999)

Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA, Carpenter MD, Rankin LA, Fleener SL, Ritchie JC, Simson PE, Weiss JM: Intracerebroventricular infusion of interleukin 1 rapidly decreases peripheral cellular immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 86, 6398-6402 (1989)

Sundar SK, Cierpial MA, Kilts C, Ritchie JC, Weiss JM: Brain IL-1-induced immunosuppression occurs through activation of both pituitary-adrenal axis and sympathetic nervous system by corticotropin-releasing factor. *J. Neurosci.* 10, 3701-3706 (1990)

Sundlöf G, Wallin BG: The variability of muscle sympathetic nerve activity in resting recumbent man. *J. Physiol. (London)* 272, 383-397 (1977)

Sundlöf G, Wallin BG: Human muscle sympathetic nerve activity at rest. Relationship to blood pressure and age. *J. Physiol.* 274, 621-637 (1978)

Szabo C: Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock. *New Horiz.* 3, 2-32 (1995)

Tada T: The immune system as a supersystem. *Annu. Rev. Immunol.* 15, 1-13 (1997)

## Literatur

---

Takahashi N, Nagai Y, Ueno S, Saeki Y, Yanagihara T: Human peripheral blood lymphocytes express D5 dopamine receptor gene and transcribe the two pseudogenes. *FEBS Lett.* 314, 23-25 (1992)

Tamisier R, Nieto L, Anand A, Cunningham D, Weiss JW: Sustained muscle sympathetic activity after hypercapnic but not hypocapnic hypoxia in normal humans. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 141, 145-155 (2004)

Terao A, Oikawa M, Saito M: Tissue-specific increase in norepinephrine turnover by central interleukin-1, but not by interleukin-6, in rats. *Am. J. Physiol* 266, R400-R404 (1994)

Togashi H, Sakuma I, Yoshioka M, Kobayashi T, Yasuda H, Kitabatake A, Saito H, Gross SS, Levi R: A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262, 343-347 (1992)

Tonolo G, Soro A, Madeddu P, Troffa C, Melis MG, Patteri G, Pinna P, Sabino G, Maioli M, Glorioso N: Effect of chronic intracerebroventricular dexamethasone on blood pressure in normotensive rats. *Am. J. Physiol.* 264, E843-E847 (1993)

Tseng CJ, Liu HY, Lin HC, Ger LP, Tung CS, Yen MH: Cardiovascular effects of nitric oxide in the brain stem nuclei of rats. *Hypertension* 27, 36-42 (1996)

Vakharia K, Renshaw D, Hinson JP: Bacterial lipopolysaccharide directly stimulates cortisol secretion in human adrenal cells. *Endocr. Res.* 28, 357-361 (2002)

Vallbo AB, Hagbarth KE, Torebjörk HE, Wallin BG: Somatosensory, proprioceptive and sympathetic activity in human peripheral nerves. *Rev. Physiol.* 59, 919-921 (1979)

Vallbo AB, Hagbarth KE, Wallin BG: Microneurography: How the technique developed and its role in the investigation of the sympathetic nervous system. *J. Appl. Physiol.* 96, 1262-1269 (2004)

Vallance P, Monaca S: Role of endogenous nitric oxide in septic shock. *New Horiz.* 1, 77-86 (1993)

Van den Berg DTWM, de Kloet ER, van Dijken HH, de Jong W: Differential central effects of mineralcorticoid and glucocorticoid agonists and antagonists on blood pressure. *Endocrinology* 126, 118-124 (1990)

## Literatur

---

van Deventer SJ, Buller HR, ten Cate JW, Aarden LA, Hack CE, Sturk A: Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways. *Blood* 76, 2520-2526 (1990)

Vedder H, Schreiber W, Yassuridis A, Gudewill S, Galanos C, Pollmacher T: Dose-dependence of bacterial lipopolysaccharide (LPS) effects on peak response and time course of the immune-endocrine host response in humans. *Inflamm. Res.* 48, 67-74 (1999)

Vermes I, Beishuizen A, Hampsink RM, Haanen C: Dissociation of plasma adrenocorticotropin and cortisol levels in critically ill patients: possible role of endothelin and atrial natriuretic hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80, 1238-1242 (1995)

Voss LJ, Bolton DP, Galland BC, Taylor BJ: Endotoxin effects on markers of autonomic nervous system function in the piglet: implications for SIDS. *Biol. Neonate* 86, 39-47 (2004)

Wallin BG, Fagius J: Peripheral sympathetic neural activity in conscious humans. *Ann. Rev. Physiol.* 50, 565-566 (1988)

Wallin BG: Intraneural recording of normal and abnormal sympathetic activity in man. In: Sir Bannister R: *Autonomic Failure*, 2 Aufl., Oxford Medical Publications, 177-184 (1989)

Wallin BG, Kunimoto MM, Sellgren J: Possible genetic influence on the strength of human muscle sympathetic nerve activity at rest. *Hypertension* 22, 282-284 (1993)

Wang Y, Steinsland OS, Nelson SH: A role for nitric oxide in endotoxin-induced depletion of the peripheral catecholamine stores. *Shock* 13, 145-151 (2000)

Weihe E, Nohr D, Michel S, Muller S, Zentel HJ, Fink T, Krekel J: Molecular anatomy of the neuro-immune connection. *Int. J. Neurosci.* 59, 1-23 (1991)

Wilson M, Blum R, Dandona P, Mousa S: Effects in humans of intravenously administered endotoxin on soluble cell-adhesion molecule and inflammatory markers: a model of human diseases. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 28, 376-380 (2001)

Winchell RJ, Hoyt DB: Spectral analysis of heart rate variability in the ICU: a measure of autonomic function. *J. Surg. Res.* 63, 11-16 (1996)

## Literatur

---

Wong ML, Rettori V, al Shekhlee A, Bongiorno PB, Canteros G, McCann SM, Gold PW, Licinio J: Inducible nitric oxide synthase gene expression in the brain during systemic inflammation. *Nat. Med.* 2, 581-584 (1996)

Yukawa T, Ukena D, Kroegel C, Chanez P, Dent G, Chung KF, Barnes PJ: Beta 2-adrenergic receptors on eosinophils. Binding and functional studies. *Am. Rev. Respir. Dis.* 141, 1446-1452 (1990)

Zhang JJ, Swiergiel AH, Palamarchouk VS, Dunn AJ: Intracerebroventricular infusion of CRF increases extracellular concentrations of norepinephrine in the hippocampus and cortex as determined by in vivo voltammetry. *Brain Res. Bull.* 47, 277-284 (1998)

Zhang ZH, Wei SG, Francis J, Felder RB: Cardiovascular and renal sympathetic activation by blood-borne TNF-alpha in rat: the role of central prostaglandins. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R916-R927 (2003)

Zhou ZZ, Wurster RD, Jones SB: Arterial baroreflexes are not essential in mediating sympathoadrenal activation in conscious endotoxic rats. *J. Auton. Nerv. Syst.* 39, 1-12 (1992)

Zhou ZZ, Wurster RD, Qi M, Jones SB: Sympathoadrenal activation in sinoaortic-denervated rats following endotoxin. *Am. J. Physiol.* 260, R739-R746 (1991)

## 7 Ergänzende Tabellen

**Tab. 8 Konzentration der Plasmakatecholamine**

		0 min	70 min	100 min	130 min
	P				
NA	LPS (n = 10)	222,6 ± 25,3	135,8 ± 11,2	162,7 ± 11,2	614,7 ± 260,3
pg/ml	Placebo (n = 7)	256,9 ± 26,6	169,7 ± 26,1	189,6 ± 21,1	190,6 ± 18,6
	P				
AD	LPS (n = 10)	62,3 ± 12,9	51,4 ± 9,9	52,8 ± 8,8	72,0 ± 17,2
pg/ml	Placebo (n = 7)	46,0 ± 7,5	46,6 ± 9,3	52,4 ± 9,6	48,6 ± 9,6

		160 min	190 min	220 min	250 min		
	P	++					
NA	LPS (n = 10)	<b>736,3 ± 130,6</b>	602,5 ± 99,1	674,1 ± 84,6	432,0 ± 101,1	**	§§
pg/ml	Placebo (n = 7)	196,0 ± 18,9	199,6 ± 18,1	253,9 ± 69,8	187,9 ± 29,6		
	P			+			
AD	LPS (n = 10)	96,2 ± 19,9	91,4 ± 20,2	<b>120,1 ± 17,8</b>	109,4 ± 18,7	*	§§
pg/ml	Placebo (n = 7)	55,3 ± 8,9	50,6 ± 7,8	65,4 ± 11,0	63,3 ± 11,6		

\*\* P < 0,01 (Messwiederholungsfaktor „Zeit“)

\* P < 0,01 (Messwiederholungsfaktor „Zeit“)

§§ P < 0,01 (für den Faktor „Behandlung“)

+ P < 0,05 (Placebo vs. Verum)

++ P < 0,01 (Placebo vs. Verum)

## Anhang

**Tab. 9 Plasmakonzentration der Stresshormone**

		0 min	70 min	100 min	130 min
					+
Kortisol µg/ml	Endotoxin (n = 11)	17,5 ± 1,8	10,8 ± 1,8	11,5 ± 1,7	14,8 ± 1,8
	Placebo (n = 7)	15,3 ± 1,1	10,8 ± 1,2	9,6 ± 1,1	8,5 ± 1,2
ATCH pg/ml	Endotoxin (n = 11)	24,2 ± 3,7	17,0 ± 2,6	18,3 ± 2,5	77,6 ± 24,9
	Placebo (n = 7)	16,9 ± 3,0	15,6 ± 1,4	13,0 ± 1,6	12,1 ± 1,4

		160 min	190 min	220 min	250 min	P	
		++	++	++	++		
Kortisol µg/ml	Endotoxin (n = 11)	22,9 ± 1,2	27,7 ± 1,5	32,6 ± 1,6	37,6 ± 1,7	**	§§
	Placebo (n = 7)	8,3 ± 1,1	9,3 ± 1,3	10,0 ± 1,9	13,7 ± 2,5		
		+	++	++	++		
ATCH pg/ml	Endotoxin (n = 11)	232,5 ± 57,2	627,3 ± 124,2	1193,0 ± 35,4	1037,9 ± 80,1	**	§§
	Placebo (n = 7)	12,7 ± 0,9	12,4 ± 1,5	34,9 ± 21,4	21,5 ± 4,3		

\*\* P < 0,01 ( für den Messwiederholungsfaktor „Zeit“)

§§ P < 0,01 (für den Faktor „Behandlung“)

+ P < 0,05 (Placebo vs. Verum)

++ P < 0,01 (Placebo vs. Verum)



Anhang

Tab. 10 Charakteristische Punkte im Verlauf der Blutdruckmessungen

		endotoxin (n = 8)			placebo (n = 7)			P	
		I	II	P	I	II	P	I	II
SYS. (mmHg)	RP	129,4 ± 3,7	135,7 ± 4,3		125,6 ± 3,2	126,9 ± 2,7			
	N <sub>3</sub>	120,5 ± 4,0	113,7 ± 5,0	*	119,3 ± 4,5	118,7 ± 5,3			
	ΔN <sub>3</sub>	-9,0 ± 1,8	-17,0 ± 4,6		-4,3 ± 2,7	-10,9 ± 4,0			
	PE <sub>3</sub>	142,4 ± 4,4	140,7 ± 2,7		134,7 ± 4,5	134,6 ± 4,3			
	ΔPE <sub>3</sub>	15,3 ± 3,2	9,2 ± 4,8		9,7 ± 3,0	7,7 ± 3,5			
Diast. (mmHg)	RP	71,0 ± 1,9	66,1 ± 4,9		71,4 ± 2,3	71,7 ± 2,6			
	N <sub>3</sub>	60,3 ± 1,6	50,3 ± 2,4	**	59,0 ± 2,6	61,0 ± 3,0			§
	ΔN <sub>3</sub>	-11,0 ± 1,0	-15,4 ± 2,8		-10,3 ± 1,3	-12,0 ± 2,8			
	PE <sub>3</sub>	82,0 ± 2,9	76,1 ± 2,9	*	81,3 ± 4,1	80,7 ± 4,6			
	ΔPE <sub>3</sub>	10,9 ± 2,5	8,7 ± 4,0		10,2 ± 2,4	6,5 ± 3,3			
MAD (mmHg)	RP	91,3 ± 2,5	92,3 ± 3,0		89,5 ± 2,4	90,1 ± 2,4			
	N <sub>3</sub>	80,3 ± 2,3	71,4 ± 3,4	**	79,1 ± 2,8	80,2 ± 3,7			
	ΔN <sub>3</sub>	-10,3 ± 1,1	-16,0 ± 3,3		-8,3 ± 1,4	-11,6 ± 3,0			
	PE <sub>3</sub>	102,1 ± 3,2	97,7 ± 2,7	*	99,1 ± 4,4	98,7 ± 4,3			
	ΔPE <sub>3</sub>	12,3 ± 2,3	8,8 ± 3,7		10,0 ± 2,5	6,9 ± 3,2			

\* P < 0,05 (Zp. I vs. Zp. II)

\*\* P < 0,01 (Zp. I vs. Zp. II)

§ P < 0,05 (für den Faktor „Behandlung“)

## 8 Lebenslauf

### Persönliche Angaben

Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Geburtsdatum: 08.09.1978  
Geburtsort: Hamburg  
Eltern: Norbert Vietheer, Zahnarzt  
Sabine geb. Templin, Zahnarzthelferin

### Ausbildung

1998 Kreisdienst im Kreisgymnasium Bargteheide, Abschluss mit Abitur  
1998 – 1999 Zivildienst im OP der Parkklinik Mannhagen, Goßhansdorf

### Studium

1999 – 2001 Universität Lübeck  
2001 Ärztliche Vorprüfung  
2002 1. Staatsexamen  
2003 – 2004 Stipendium an der Universität Bergen, Norwegen  
2005 2. Staatsexamen  
2006 3. Staatsexamen

### Praktisches Jahr 2005- 2006

04.05 - 06.05 Gynäkologie und Geburtshilfe im Lehrkrankenhaus Eutin  
06.05 - 08.05 Gynäkologie und Geburtshilfe im KCMC; Moshi, Tansania  
08.05 - 12.05 Chirurgie im Haukeland Sykehus; Bergen, Norwegen  
12.05 - 02.06 Innere Medizin im Haraldsplass Sykehus; Bergen, Norwegen  
02.06 – 04.06 Innere Medizin im Universitätsklinikum SH, Campus Lübeck

### Tätigkeit als Arzt seit 2006

08.06 – 08.07 Turnusarzt im Sykehuset-Innlandet Hamar-Elverum, Norwegen  
08.07 – 02.08 Turnusarzt in der Allgemeinmedizin, Gemeinde Løten, Norwegen  
03.08 - Gynäkologie und Geburtshilfe im Sykehuset-Innlandet Lillehammer, Norwegen

## 9 Veröffentlichungen und Poster

### Präsentationen, Abstracts und Poster Sessions

European society of intensive care medicine, 17<sup>th</sup> annual congress / Berlin 2004

Sayk F, Vietheer A, Wellhöner JP, Schaaf B, Dodt C: Signifikant suppression of MSNA during experimental endotoxemia in normal humans. Intensive care medicine 30, Suppl. 1, A 551 (2004)

Wellhoener P, Sayk F, Vietheer A, Weitz G, Dodt C: Severe metabolic alterations in adipose tissue during early endotoxemia in humans. Intensive care medicine 30, Suppl. 1, A 555 (2004)

38. Gemeinsame Jahrestagung 14. – 17. Juni 2006 Saarbrücken der Deutschen Gesellschaft für Internistische Intensivmedizin und Notfallmedizin (DGIIN) und Österreichische Gesellschaft für Internistische und Allgemeine Intensivmedizin (ÖGIAIM). Schirmherrschaft: Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM) in Zusammenarbeit mit der European Respiratory Society (ERS) und der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.v..

Sayk F, Vietheer A, Wellhöner JP, Dodt C: Suppression des vaskulären und Desintegration des kardialen Baroreflexes während experimenteller Endotoxinämie.

### Veröffentlichungen

Sayk F, Vietheer A, Schaaf B, Wellhoener P, Weitz G, Lehnert H, Dodt C: Endotoxemia causes central downregulation of sympathetic vasomotor tone in healthy. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. (Jul. 16, 2008) Epub. ahead of print.

## **10 Danksagung**

Für die Überlassung des Themas der Dissertation möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Prof. Dr. med. C. Dodt bedanken. Darüber hinaus möchte ich ihm auch für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die sehr persönliche Betreuung sowie die wissenschaftliche Unterstützung danken. Die Zusammenarbeit war inspirierend und hat mir immer sehr viel Freude bereitet. Ohne die freundliche und umfassende Betreuung sowohl bei den experimentellen Planungen als auch bei der Ausarbeitung und Gestaltung dieses Manuskriptes, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Ebenso bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Dr. med. Sayk und Herrn Dr. med. Wellhöner für die konstruktiven Ratschläge und wissenschaftlichen Anregungen sowie der Hilfe bei der Durchführung des Experiments.

Bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Medizinischen Klinik I möchte ich mich für ihre kollegiale Zusammenarbeit bedanken. Vor allem bedanke ich mich hier bei Frau Christiane Otten.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Lebensgefährtin Nina Breyholtz und meiner übrigen Familie, die mich stets liebevoll unterstützten und förderten und mir besonders in der Endphase Freiräume für die Arbeit schufen.

Zu guter Letzt ein grosses Dankeschön auch an meine lieben Freunde, insbesondere Herrn Dr. rer. nat. Larsen Schütte und Herrn Dr. med. Frank Schütte für ihr Interesse, Anregungen sowie ihre Ermutigung während dieser Arbeit.