

Pathogenetische Aspekte der Sepsis-induzierten Mikrozirkulationsstörung und des septischen Schocks

Zusammenfassung

Sepsis ist ein hochrelevantes, jedoch in weiten Teilen noch unverstandenes medizinisches Problem. Die Mikrozirkulationsstörung als Folge inflammatorischer Endothelzellveränderungen ist ein wesentlicher pathogenetischer Faktor der Sepsis. Dieser Review hat zum Ziel, zelluläre Mechanismen, die zur Ausbildung der Mikrozirkulationsstörung beitragen, zu beschreiben und so das Verständnis für die Pathophysiologie der Sepsis zu verbessern. Nach einer kurzen Definition von Sepsis und Mikrozirkulation beschäftigt es sich mit den inflammatorischen Mechanismen und Folgen der Endothelschädigung unter Berücksichtigung der Rolle der Glykokalix und des Zytoskeletts für die Zell-Zell-Kommunikation und die endotheliale Barriere. Es beleuchtet die Rolle von Stickstoffmonoxid als Stellgröße des Vasotonus, die mitochondriale Dysfunktion als Ursache einer Störung der intrazellulären Sauerstoffverwertung und beschreibt Ursachen der Kapillararrefizierung durch Obstruktion. Außerdem wird der Einfluss des cholinergen Systems auf die Entzündungsmodulation erläutert. Das Vollbild der Mikrozirkulationsstörung führt durch die Umverteilung des Blutflusses, Verlängerung der Diffusionsstrecke und die Unfähigkeit der Zellen, den angebotenen Sauerstoff zu verwerten, zu den Sepsis-typischen Organschädigungen. Die Protektion bzw. Wiederherstellung der Endothelzellfunktion könnte daher der Schlüssel zu einer erfolgreichen Sepsis-Therapie

Pathogenetic aspects of sepsis-induced microcirculatory disorders and septic shock

C. Philipsenborg · B. H. Siegler · K. Schmidt · S. Hofer · M. A. Weigand · F. Uhle

sein und sollte einen hohen Stellenwert in der aktuellen Sepsis-Forschung einnehmen.

Summary

Sepsis is a highly relevant clinical problem, yet its pathophysiology is poorly understood. A microcirculatory disorder due to inflammatory changes of the endothelial cells is crucial for the development of sepsis. This review aims to improve the understanding of sepsis pathophysiology by describing cellular mechanisms that are prone to cause microcirculatory disorder. After a short definition of sepsis and microcirculation, it deals with the inflammatory mechanisms and consequences of endothelial damage with special respect to the role of the glycocalyx and the cytoskeleton in maintaining the endothelial barrier and facilitating intercellular communication. It explains the role of nitric oxide as an important regulator of the vasotonus and the mitochondrial dysfunction as contributor to hypoxia as well as mechanical causes of capillary obstruction. Moreover, the influence of the cholinergic system on inflammatory modulation is elucidated. A fully developed microcirculatory disorder leads to hypoxic organ damage via a redistribution of blood flow, increase in diffusion distance and an intracellular incapacity of using oxygen. The protection or restoration of endothelial cell functions could be the key to a successful therapy of sepsis and should therefore be of high importance in today's sepsis research.

Klinik für Anästhesiologie
Universitätsklinikum Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. M. A. Weigand)

Schlüsselwörter

Sepsis – Glykokalyx – Endothelbarriere – Mikrozirkulation – Stickstoffmonoxid

Keywords

Sepsis – Glycocalyx – Endothelial Barrier – Microcirculation – Nitric Oxide

Einleitung

Das Krankheitsbild der Sepsis stellt trotz intensiver Forschungsbemühungen und Fortschritten in der medizinischen Versorgung eine Herausforderung für die moderne Intensivmedizin dar und ist mit einer hohen Sterblichkeit behaftet. Aufgrund steigender Fallzahlen und hoher Behandlungskosten wächst zudem die ökonomische Bedeutung einer effizienten und wirkungsvollen Behandlung. Ein profundes Verständnis der hochkomplexen Pathophysiologie der Sepsis ist Voraussetzung für die Entwicklung effektiver Therapiestrategien. Als wichtige Faktoren für die Entwicklung des septischen Krankheitsbildes sind unter anderem inflammatorische Veränderungen der endothelialen Zellfunktionen mit konsekutiver Mikrozirkulationsstörung identifiziert worden. Dieser Review erläutert ausgewählte Mechanismen der Mikrozirkulationsstörung im Zusammenhang mit ihren oftmals klinisch sicht- und messbaren Folgen für den septischen Patienten. Ein besonderer Fokus liegt dabei auf dem Einfluss von Glykokalyx und Stickstoffmonoxid auf die Endothelbarriere, der Rolle der Mitochondrien in der Sauerstoffverwertung sowie dem Effekt und der cholinergen Inflammationsmodulation.

SIRS und Sepsis

Das Konzept des **Systemic Inflammatory Response Syndrome** (SIRS) wurde 1991 entwickelt, um die komplexe pathophysiologische Reaktion des Immunsystems auf Infektionen, Traumata oder sterile Entzündungsprozesse zu beschreiben und einheitliche Einschlusskriterien für klinische Studien zu etablieren. Die in Konsensus-Konferenzen 1991 und 2001 definierten SIRS- und Sepsis-Kriterien umfassen einfach und zeitnah identifizierbare klinische Symptome und Laborparameter, die Indizien für eine generalisierte Immunreaktion darstellen (Tab. 1) [1-3].

Ein SIRS kann durch „sterile“ Noxen wie Trauma, Verbrennung oder große Operationen ausgelöst werden. Körper-eigene Zellen werden hierbei in großem Umfang geschädigt, und es erfolgt die

Tabelle 1

Diagnosekriterien für Sepsis, schwere Sepsis und septischen Schock – nach [3].

I Nachweis der Infektion
Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien
II Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) (mind. 2 Kriterien)
<ul style="list-style-type: none"> • Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) • Tachykardie: Herzfrequenz $\geq 90/\text{min}$ • Tachypnoe (Frequenz $\geq 20/\text{min}$) oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 33 \text{ mmHg}$) • Leukozytose ($\geq 12\,000/\mu\text{l}$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\mu\text{l}$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild
III Akute Organdysfunktion (mind. 1 Kriterium)
<ul style="list-style-type: none"> • Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delir • Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30% innerhalb von 24 h oder Thrombozytenzahl $\leq 100\,000/\mu\text{l}$. Eine Thrombozytopenie durch akute Blutung oder immunologische Ursachen muss ausgeschlossen sein. • Arterielle Hypoxämie: $\text{PaO}_2 \leq 75 \text{ mmHg}$ unter Raumluft oder ein $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$-Verhältnis ≤ 250 unter Sauerstoffapplikation. Eine Manifeste Herz- oder Lungenerkrankung muss als Ursache der Hypoxämie ausgeschlossen sein. • Renale Dysfunktion: Eine Diurese von $\leq 0,5 \text{ ml/kg/h}$ für wenigstens 2 Stunden trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins $\geq 2\text{x}$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereichs. • Metabolische Azidose: Base Excess $\leq -5 \text{ mmol/l}$ oder eine Laktatkonzentration $\geq 1,5\text{x}$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereichs.

Sepsis: Kriterien I und II. **Schwere Sepsis:** Kriterien I, II und III. **Septischer Schock:** Kriterien I und II sowie für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck $\leq 90 \text{ mmHg}$ bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck $\leq 65 \text{ mmHg}$ oder notwendiger Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck $\geq 90 \text{ mmHg}$ oder den arteriellen Mitteldruck $\geq 65 \text{ mmHg}$ zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.

Freisetzung endogener Moleküle mit immunogener Wirkung, sogenannter **Damage-associated molecular pattern** (DAMPs) [4]. Liegt dem SIRS eine „nicht sterile“ Ursache im Sinne einer Infektion mit Bakterien, Viren, Pilzen oder Parasiten zu Grunde, spricht man von einer Sepsis. Die konservierten Strukturen der Mikroorganismen, die das Pendant zu den DAMPs darstellen, sind entsprechend die **Pathogen-associated molecular pattern** (PAMPs) [4]. Je nach Grad der Ausprägung differenziert man die Sepsis in eine schwere Sepsis mit Funktionseinschränkung eines oder mehrerer Organsysteme (MODS) bis hin zum Multiorganversagen (MOV). Ein septischer Schock ist eine fulminante Form des distributiven Herzkreislaufversagens im Rahmen einer Sepsis.

Epidemiologie

Die Prävalenz der schweren Sepsis und des septischen Schocks auf deutschen Intensivstationen wird in einer Studie des Kompetenznetzwerks Sepsis aus dem Jahr 2007 mit 11% angegeben, bei einer 90-Tage-Mortalität von 54% [5].

Auf Gesamtdeutschland hochgerechnet entspricht dies einer Inzidenz von 110 Fällen pro 100.000 Einwohner pro Jahr, die an einer schweren Sepsis oder einem septischen Schock erkranken. Die Behandlung verzehrt ca. 30% aller intensivmedizinischen Behandlungskosten und verursacht durch den langfristigen Produktivitätsausfall der Patienten einen immensen volkswirtschaftlichen Schaden [5].

“...it is the response ... that makes the disease”

Wie Lewis Thomas bereits 1972 postulierte [6], ist die durch eine Infektion ausgelöste Immunantwort des Wirtes ursächlich für die Ausbildung des klinischen Krankheitsbildes einer Sepsis. Ausgangspunkt für ihre Entwicklung ist die physiologische Immunreaktion des Körpers auf eine infektiologische Noxe. Die Präsenz von **Pathogen-associated molecular pattern** (PAMPs) in eigentlich sterilen Kompartimenten des Körpers wird von Leukozyten über Mustererkennungsrezeptoren (**Pattern recognition receptors** – PRRs) wie zum Beispiel **Toll-**

like-Rezeptoren (TLRs) erkannt. Als Folge werden komplexe und interagierende Entzündungsreaktionskaskaden aktiviert, die über die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine immunkompetente Zellen, das Komplement- sowie das Gerinnungssystem aktivieren und zu einer effektiven und lokalen Infektabwehr mit Erregereradikation und Wundheilung führen.

Die Systemisierung ist Schuld

Die Abwehrreaktion des Körpers bleibt während einer einfachen Infektion durch lokale und zentrale Kontrollmechanismen auf den Ort der Infektion begrenzt. Die simultane Aktivierung von anti-inflammatorischen Entzündungskontrollmechanismen (CARS; **Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome**) verhindert ein Überschießen der proinflammatorischen Immunreaktion und eine damit verbundene Schädigung von nicht primär betroffenen Organsystemen. Bei einer Sepsis geht die lokale Eindämmung verloren. Im Rahmen der Systemisierung der Inflammation verschiebt sich die Balance zwischen SIRS und CARS in proinflammatorische Richtung. Mediatoren, vitale Mikroorganis-

men oder deren Bestandteile werden in den Organismus eingetragen. Es resultiert eine unselektive systemische Entzündungsreaktion, die auch das eigene Gewebe schädigt und fortschreitend bis hin zu Multiorganversagen und Tod führen kann. Der Grund für diese unzuträgliche Systemisierung physiologischer Prozesse ist bislang unbekannt. Bekannt ist hingegen, dass sie in eine systemische Störung der Mikrozirkulation mündet, die für die Ausbildung der klinischen Symptome maßgeblich mitverantwortlich ist.

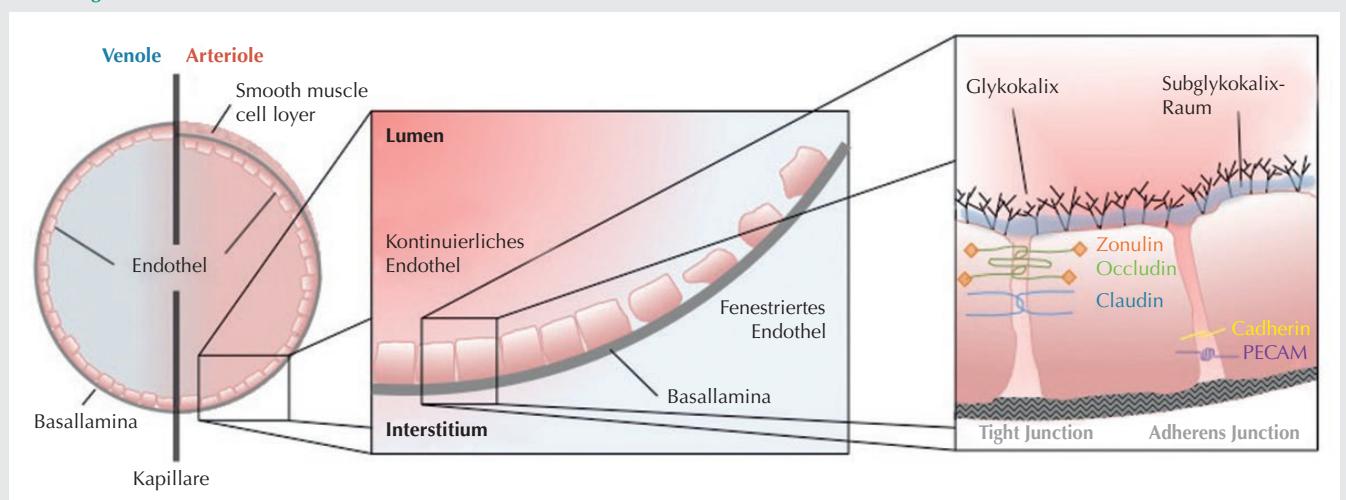
Wo beginnt die Mikrozirkulation?

Die Mikrozirkulation ist funktional der Abschnitt des Herz-Kreislauf-Systems, in dem der Austausch von Gasen und Stoffen zwischen Blut und Zellen stattfindet. Nach Reid et al. ist ab einem Gefäßdurchmesser von 100 µm ein Gasaustausch nachweisbar, sodass diese Marke als Beginn der Mikrozirkulation definiert werden kann [7]. Anatomisch gesehen umfasst das Stromgebiet der Mikrozirkulation daher mit Arteriolen, Kapillaren und Venolen eine sowohl in Bezug auf den Aufbau als auch hinsichtlich der Funktion heterogene Gruppe

von Gefäßen (zu den Merkmalen und Unterschieden des Wandaufbaus siehe Abb. 1). Die Arteriolen agieren mit ihrer ausgeprägten Tunica muscularis als Widerstandsgefäße und nehmen sowohl Einfluss auf den systemischen Blutdruck als auch den Blutfluss in den Mikrozirkulationsgefäßen. Die Kapillaren bilden eine sehr heterogene Gefäßgruppe, deren endotheliale Organisation je nach Organsystem variiert. Dabei reicht die Bandbreite von einem von dichten **Tight Junctions (TJ)** geprägten Endothelverband im Bereich der Bluthirnschanke bis hin zum diskontinuierlichen Endothel der Lebersinusoiden oder dem fenestrierten Endothel endokriner Drüsen. Das Endothel im eigentlichen Sinne gibt es nicht, und allgemeine Aussagen über endotheliale Funktionen müssen in dieser Hinsicht zumindest kritisch betrachtet werden [8]. Zu den allgemein anerkannten Funktionen des Endothels zählen:

- Barrierefunktion,
- Stoffaustausch,
- Zell-Zell-Kommunikation,
- Beeinflussung der Koagulation/Hämostase,
- Regulation der Vasomotorik.

Abbildung 1



Anatomischer Aufbau der Endothelbarriere

links: Aufbau von Arteriole, Venole und Kapillare mit abnehmender Tunica muscularis; **Mitte:** Kontinuierliches und fenestriertes Endothel; **rechts:** Ultrastruktur von Tight Junctions und Adherens Junctions mit typischen Proteinen. Allen drei Gefäßabschnitten ist die Auskleidung der Intimaschicht mit hochfunktionalen Endothelzellverbänden gemein. Während Arteriolen mit Intima, der muskulären Media und Adventitia dreischichtig aufgebaut sind, ist die Media der Venolen nur sehr schwach ausgeprägt. Die dazwischengeschaltete kapillare Endstrombahn weist mit einer direkt der Basalmembran aufsitzenden Intimaschicht die kürzeste Diffusionsstrecke auf.

Physiologie des Gefäßendothels

Die Schädigung der Endothelzellen gilt als Motor des septischen Krankheitskontinuums. Endothelzellen schirmen unter physiologischen Bedingungen als intakte und dichte Barriere den Intravasalen vom Extravasalraum ab und kommunizieren mit den humoralen und zellulären Blutkomponenten. Sie sind Wächter über die feine Homöostase des intravasalen Kompartiments in Bezug auf Hämostase und Hämodynamik, regulieren den transmuralen Stoffwechsel und spielen durch ihre Interaktionen mit Leukozyten eine wichtige Rolle bei der Immunreaktion. Als funktional wichtige Komponente sitzt ihnen die Glykokalix nach intraluminal auf, eine bis zu mehrere Mikrometer dicke Schicht aus Glykoproteinen, Proteoglykanen und Glycosaminoglykanen (GAG). Durch ihre intraluminale Lage mit struktureller Kopplung an das Zytoskelett der Endothelzellen erfüllt die Glykokalix wichtige Aufgaben in der Kommunikation zwischen dem intravasalen Kompartiment und dem Endothel. Dazu gehören Funktionen als Chemo- und Mechanorezeptor (z.B. für Zytokine) oder als „Sensor“ für die Scherkräfte des Blutstroms, anhand derer die Endothel-

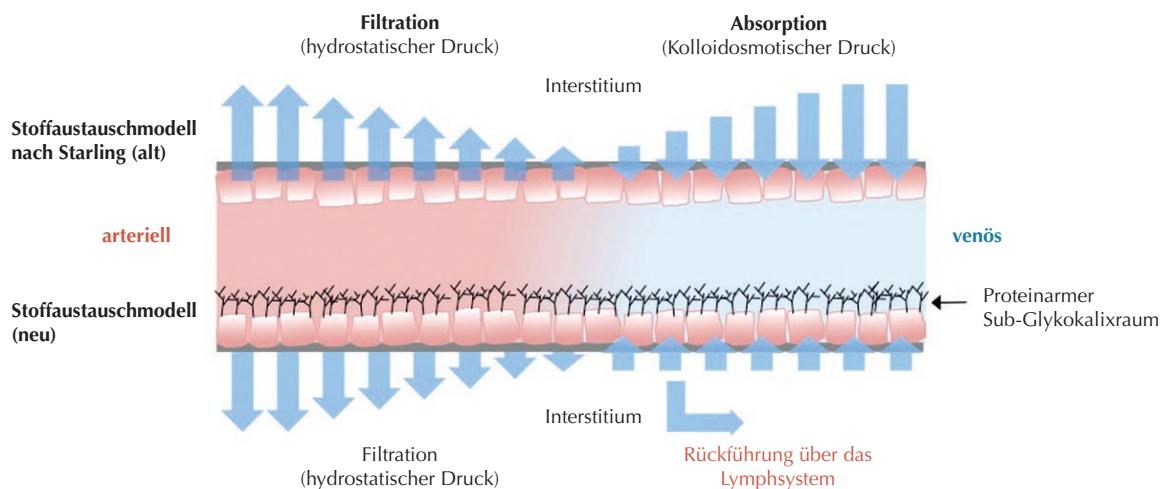
zellen ihre NO-Produktion und so den peripheren Widerstand regulieren können [9-12]. Außerdem regulieren sie – abhängig vom immunologischen Status – die Leukozyten-Endothel-Interaktion durch Abschirmung oder Präsentation chemotaktischer Zytokine und zellulärer Signalproteine [13,14]. Durch ihre als „siebartig“ beschriebene Struktur [15] und ihre elektrochemischen Eigenschaften besitzt die Glykokalix darüber hinaus die Fähigkeit, Proteine zu binden. Bedeutung für das hämostaseologische Gleichgewicht hat sie durch die Bindung antikoagulatorischer Proteine wie Antithrombin, Protein C und Faktor Xa [12,16]. Oxidativen Stress kann sie durch ihren Gehalt an Superoxid-Dismutase reduzieren [17].

Die dysregulierte Immunantwort im Rahmen einer Sepsis führt zu einer inflammatorischen Aktivierung der Endothelzellen, die unter anderem über endothelial exprimierte PRRs wie Toll-like-, NOD-like- oder RIG-I-like-Rezeptoren erfolgt [18-21] und intrazellulär unter Beteiligung von MAP-Kinasen, MyD88 und NF- κ B zu einer verstärkten Expression proinflammatorischer Gene führt [19,21]. Daraufhin sezernierte proinflam-

matorische Mediatoren wie TNF- α , IL-1 und verstärkt gebildete Sauerstoffradikale (Reactive Oxygen Species, ROS) führen über die Aktivierung von Proteasen zum enzymatischen Abbau der Glykokalix („Shedding“) und in Teilen des Endothelzellverbandes via Caspase-8 (Aktivierung durch TNF- α) oder Caspase-9 (ROS-induzierte mitochondriale Dysfunktion) zu Apoptose [22,23].

Schlussendlich mündet die dysregulierte Immunantwort über die inflammatorischen Endothelzellveränderungen in eine Mikrozirkulationsstörung. Durch die Störung der Barriere- und Stoffwechselfunktion kommt es unter anderem durch eine Modifizierung der NO-Synthese zum Funktionsverlust der Widerstandsgefäß mit konsekutiver Komprimierung der Makrohämodynamik. Es kommt außerdem zu einer unkontrollierten Aktivierung von Gerinnungssystem und Leukozyten sowie unkontrollierter Zytokinproduktion („Zytokinsturm“). Darüber hinaus entsteht ein subendothiales Ödem mit Verlängerung der Diffusionsstrecke, das zusammen mit einer mitochondrialen Dysfunktion zu einer Organhypoxie führt.

Abbildung 2



Vergleich der Stoffaustauschmodelle

Altes Modell nach Starling (oben): Der hydrostatische Druck ist die treibende Kraft für die Filtration, der kolloidosmotische Druck für die Rückresorption. Neues Modell (unten): Der hydrostatische Druck ist die treibende Kraft für die Filtration, der Subglykokalixraum verhindert eine Rückresorption jedoch weitgehend. Die Rückführung des Ultrafiltrats in den Kreislauf erfolgt über das Lymphsystem.

Glykokalix und der Subglykokalix-Raum

Van Teeffelen bezeichnete die Glykokalix als den „Schutzschild der Blutgefäße“ [24]. Tatsächlich zeigen verschiedene Studien, dass die Glykokalix im Rahmen systemischer entzündlicher Prozesse Schaden nimmt und ihre Schutzfunktion verliert [25-27]. Da sie aufgrund ihrer chemischen Struktur und Fragilität für histologische Beobachtungen nur schwer zu fixieren ist, beschränkt sich ihre Untersuchung derzeit weitgehend auf den laborchemischen Nachweis zirkulierender Glykokalix-Bestandteile und intravitalmikroskopische Darstellungsmöglichkeiten durch indirekte Färbung. Hier kann man sich die Eigenschaft der Glykokalix zu Nutze machen, dass vor allem große Proteine das dichte, negativ geladene GAG-Netz nicht ungehindert passieren können, kleinere Proteine hingegen durchaus. Injiziert man beispielsweise fluoreszenzmarkierte Dextrane von 40 und 170 kDa in Versuchstiere, können die kleineren Moleküle die Glykokalixschicht bis zur Gefäßwand penetrieren, während die größeren Dextrane an der Glykokalixoberfläche „abprallen“. Dadurch lassen sich im intraluminalen Raum zwei verschiedene Kompartimente visualisieren, die auch funktionell bedeutsam sind: Ein proteinärmer „Subglykokalix-Raum“ zwischen Glykokalix-Oberfläche und intraluminaler Endothelschicht sowie ein „wahres Lumen“, in dem Blutplasma und Zellen frei fließen können. Auf der Basis dieser Kompartimentierung müssen Konzepte zur Volumentherapie bzw. Ödementstehung auch in der Sepsis neu überdacht werden. Das klassische Filtrations-Prinzip nach Starling besagt, dass im kontinuierlichen Kapillarsystem hydrostatische und onkotische Druckdifferenzen eine Filtrierung im arteriellen Kapillaranteil und eine anschließende Rückresorption im venösen Anteil bewirken, wobei ein kleiner Teil Flüssigkeit über das Lymphsystem abgeführt wird. Unter Berücksichtigung des proteinarmen Subglykokalix-Raumes muss eine nennenswerte Rückresorption jedoch in Zweifel gezogen werden, da die onko-

tische Druckdifferenz viel geringer ist als bisher angenommen. Dem Lymphsystem muss damit bei der Rückführung der Flüssigkeit ins Gefäßsystem eine viel größere Rolle zukommen als bisher gedacht. Die treibende Kraft der Ödembildung ist also die hydrostatische Druckdifferenz zwischen Kapillare und Interstitium, während synthetische Kolloide oder Albumin Wasser zwar im Gefäß binden, nicht aber bereits ans Interstitium verlorenes Wasser im Sinne einer Ödemtherapie rückresorbieren können (Abb. 2) [28].

Was passiert mit der Glykokalix in der Inflammation?

Mit dem Einsetzen einer exzessiven inflammatorischen Reaktion beginnt die Zerstörung der Glykokalix. Dabei lässt sich unterscheiden zwischen enzymatischem Abbau durch sezernierte Proteasen und direkte Schädigung durch die in der inflammatorischen Stoffwechselkette vermehrt gebildeten ROS und RNS (Reactive Nitrogen Species) [29]. Experimentell lässt sich das Glykokalix-Shedding beispielsweise durch die Präsenz des bakteriellen Zellwandtoxins Lipopolysaccharid (LPS) und proinflammatorische Zytokine wie vor allem TNF- α auslösen [30-32]. Diese führen im Rahmen der entzündlichen „Verteidigungsreaktion“ der Endothelzellen und neutrophilen Granulozyten zu einer Sezernierung des verfügbaren Arsenals proteolytischer Enzyme, zu welchem Heparanase, Matrix-Metallo-Proteinasen, Hyaluronidase und Serinproteasen wie u.a. auch Thrombin gehören. Diese greifen die Glykokalix an und bauen sie ab [31,33-35]. Ein Glykokalix-Shedding ist dementsprechend sowohl bei einem SIRS in Folge großer Operationen als auch in der Sepsis nachweisbar und korreliert mit Inflammationsmarkern wie IL-6 [25]. Es führt zum Verlust der Abschirmung der Endothelzellen und ermöglicht ihre direkte Interaktion mit den humoralen und zellulären Blutbestandteilen. Zu den experimentell am besten nachgewiesenen Folgen zählt eine verstärkte Leukozyten-Endothel-Interaktion durch die Freilegung von Oberflächenmarkern

wie ICAM-1 und VCAM-1, die über eine lose zur festen Adhäsion und schließlich zur trans- oder parazellulären Diapedese ins Interstitium führt [31,36]. Ebenfalls lässt sich durch Aufhebung der antikoagulatorischen Eigenschaften der Glykokalix eine Verschiebung des hämostaseologischen Gleichgewichts in die prokoagulatorische Richtung beobachten [8,26].

In seiner lokal begrenzten Form dient dieser Prozess physiologisch sinnvoll der Vereinfachung der Rekrutierung von Leukozyten an die Stelle des inflammatorischen Geschehens; erst die Systemisierung in der Sepsis verkehrt den Effekt ins Negative.

Veränderungen des Zytoskeletts

Die parazelluläre Diapedese der Leukozyten erfolgt bevorzugt an den weniger festen adherens junctions der Endothelbarriere. Sie erfordert im Gegensatz zur transzytotischen transzellulären Migration biochemische Modifikationen an Transmembranrezeptoren wie VE-Cadherin und PECAM-1 sowie Paxillin und der Focal Adhesion Kinase (FAK), um die physikalische Integrität der Endothelbarriere kurzzeitig aufzuheben [37]. Eine unmittelbare relevante Leckage der Endothelbarriere scheint durch diesen Prozess allerdings nicht zu entstehen [38,39], wobei VE-Cadherin eine wichtige Determinante für die Stabilität der Zell-Zell-Adhäsion darstellt und seine Modifikation durchaus Veränderungen des Zytoskeletts auslösen kann [40]. Für die Ausbildung des Sepsis-typischen Capillary Leak mit vermehrter endothelialer Leckage ist eine dauerhaftere Konformationsänderung des Zytoskeletts unter Beteiligung der Tight Junctions verantwortlich. Diese wird unter anderem durch während der Inflammation ausgebildete radiale Stressfasern des Actin-Myosin-Apparates ausgelöst, die durch Kontraktion mechanischen Stress auf die TJ ausüben. Kortikale Actinbündel, die parallel zu den TJ liegen, stabilisieren das Zytoskelett hingegen [41]. Die intrazelluläre Regulation dieser gegenläufigen Mechanismen wird durch kleine GTPasen (Small GTPases) geprägt,

von denen Rho-GTPasen vor allem an einer Destabilisierung beteiligt sind, während das Enzym Ras-related protein 1 (Rap1) stabilisierend wirkt. In vivo lässt sich in der Sepsis eine veränderte Architektur der TJ mit einer Umverteilung von Occludinen und Claudinen erkennen, die mit einer funktionellen Aufhebung der Barrierefunktion einhergehen [42].

Ödembildung führt zu Verlängerung der Diffusionsstrecke und Hypoxie

Der entzündungsbedingte Verlust der Barrierefunktion von Endothel und Glykokalix geht klinisch mit einer massiven Verschiebung intravasalen Volumens in das Interstitium einher. Dies bedeutet nicht nur die Verlagerung von Wasser, sondern auch den Verlust von Proteinen wie Albumin ins Interstitium. In Folge steigt der extravasale onkotische Druck, und die Ödembildung wird weiter begünstigt. Durch das Ödem kommt es zu einer Verlängerung der Sauerstoff-Diffusionsstrecke, was trotz gegebenenfalls guter Oxygenierung des Blutes zu einer Zellhypoxie mit konsekutiver Organschädigung führen kann. Dies ist jedoch nicht die einzige Ursache für eine Gewebehypoxie in der Sepsis.

Dilemma zwischen Eindämmung und Versorgung

Die Strategie der physiologischen Infektabwehr verfolgt zum einen das Ziel, das Pathogen so schnell wie möglich zu eliminieren, zum anderen soll der Herd eingedämmt werden, um eine Systemisierung zu verhindern. Daher versucht der Körper mittels Aktivierung prokoagulatorischer Mechanismen sowie einer Thrombozyten- und Leukozytenaktivierung den Blutfluss am Ort der Entzündung zu reduzieren. Hinzu kommt eine inflammationsbedingt verminderte Verformbarkeit der Erythrozyten, die beim Passieren der Endstrombahn zur Verlegung der Kapillare führt [43], sowie eine „Pseudoagglutination“ genannte, unter anderem durch Fibrin begünstigte, lose Aggregation von Erythrozyten („Geldrollen-Phänomen“). Auch immunogene Faktoren spielen bei der

Kapillarverlegung eine Rolle. So können Thrombozyten über den TLR4-Rezeptor durch LPS aktiviert werden, an neutrophile Granulozyten binden und diese aktivieren. Daraufhin formieren sich in einem NETose genannten Zelltodprozess sogenannte **Neutrophil Extracellular Traps** (NETs). Die Zellen stoßen dazu das Chromatin des Zellkerns aus und sezernieren gleichzeitig antibakterielle Enzyme, die in dem DNA-Geflecht gebunden die physikalische Funktion enzymatisch unterstützen [44]. So sind sie in der Lage, Bakterien im Blut abzufangen und einzuschließen, gleichzeitig beeinträchtigen sie jedoch die Kapillarperfusion [45]. Je nach auslösendem Stimulus kann dieser Prozess mit dem Zelltod der Neutrophilen oder als „vitale NETose“ mit weiterhin erhaltener Zellfunktion einhergehen [46].

Zusammen bewirken diese Mechanismen eine Umverteilung des Blutflusses und Rarefizierung der Kapillaren (**Shunt**). Dies kann zum Teil durch eine größere O₂-Extraktion in minderperfundierte Gewebe kompensiert werden [47], jedoch lassen sich sowohl im septischen Tiermodell als auch beim Patienten verminderte O₂-Extraktionsraten (bzw. eine erhöhte zentralvenöse O₂-Sättigung ScvO₂) feststellen, die nicht allein durch den Shunt erklärbar sind, sondern zusätzlich auf eine Unfähigkeit des Gewebes, den Sauerstoff zu verwenden, hindeuten. Da 90% des O₂-Verbrauchs für die ATP-Produktion in den Mitochondrien aufgewandt wird, ist eine mitochondriale Dysfunktion die wahrscheinlichste Ursache für die mangelhafte zelluläre O₂-Verwertung. Diese Form der Hypoxie durch eine behinderte Zellatmung wird als **zytopathische Hypoxie (Cytopathic Hypoxia)** bezeichnet [48].

Die Ursachen hierfür sind komplex und vielfältig. Zum einen kommt es in der Sepsis zu einer Inhibition der Pyruvatdehydrogenase, die am Ende der Glykolyse die Reaktion von Pyruvat zu Acetyl-CoA und NADH katalysiert. Dadurch akkumuliert nicht nur das Pyruvat und wird verstärkt zu Laktat abgebaut, es vermindert sich auch die Menge des Reduktionsäquivalents NADH, welches

für die mitochondriale Atmungskette zur Verfügung steht, sodass es zu einer verringerten ATP-Synthese kommt. Zum anderen begünstigt die septische Stoffwechselleage auch die direkte Inhibition an der Atmungskette beteiligter Enzymsysteme. Eine entscheidende Rolle fällt hier Stickstoffmonoxid (NO) zu, dessen Synthese in der Sepsis massiv gesteigert wird und das die mitochondriale Atmungskette komplett, aber reversibel inhibieren kann [49,50]. Da NO mit O₂ um die Bindungsstelle konkurriert, begünstigt der Sepsis-typische niedrige Sauerstoffpartialdruck hier die Inhibition durch NO [49]. Darüber hinaus produzieren Mitochondrien im Sauerstoffmangel in Kombination mit gesteigerter NO-Produktion vermehrt Stickstoffradikale (**Reactive Nitrogen Species, RNS**), welche die Komplexe I und II der Atmungskette sowie das für die finale ATP-Synthese zuständige Enzym, die ATP-Synthase, irreversibel inhibieren [48]. Garrabou et al. konnten zeigen, dass das Plasma septischer Patienten eine mitochondriale Dysfunktion in gesunden Zellkulturrzellen auslösen kann und somit einen auslösenden Mediator enthalten muss, der bislang nicht näher identifiziert werden konnte [51]. Die klinische Relevanz dieser Mechanismen zeigten Koch et al. in einer Untersuchung, die in einem septischen Patientenkollektiv eine deutlich erhöhte Mortalität bei kombiniert erhöhtem Laktat (>2,5 mmol/l) und hoher ScvO₂ (>70%) feststellen konnten [52]. Ebenfalls eine deutlich erhöhte Mortalität zeigten Brealey et al. in einer Untersuchung von Muskelbiopsien septischer Patienten. Sie konnten nachweisen, dass das Gewebe der Patienten, die die Erkrankung überlebten, signifikant höhere ATP-Konzentrationen aufwies als das Gewebe der Patienten, die die Krankheit nicht überlebten. In Übereinstimmung mit den obengenannten Pathomechanismen fanden sie ebenfalls eine inverse Korrelation zwischen Komplex-I-Aktivität und Noradrenalinbedarf sowie der Nitrit/Nitrat-Konzentration als Zeichen einer vermehrten NO-Produktion [53]. Die Korrelation der Komplex-I-Aktivität mit der Schwere der Sepsis konnte von

Garrabou et al. bestätigt werden. Sie betonen außerdem die Relevanz von NO bei der Ausbildung der mitochondrialen Dysfunktion für den oxidativen Stress und den dadurch induzierten apoptotischen Zelluntergang [51].

Neben dem Konzept der **Cytopathic Hypoxia** steht das sehr viel ältere Konzept des **Microcirculatory and Mitochondrial Distress Syndrom** (MMDS), dass die Kausalität der mitochondrialen Dysfunktion in der Hypoxie sieht, verursacht durch eine Umverteilung des Blutflusses (Shunt) durch Kapillarverlegung und veränderte NO-Produktion [54]. Obwohl die aktuelle Tendenz in den Publikationen der Cytopathic Hypoxia einen höheren Stellenwert einräumt, überlappen sich in der Praxis vermutlich beide Mechanismen.

NO – Der Bösewicht der Sepsis?

Welche Rolle spielt also NO in der Ausbildung der Mikrozirkulationsstörung? Ein wichtiges klinisches Merkmal der Sepsis ist eine oft ausgeprägte arterielle Hypotonie. Neben Faktoren wie verringerter Inotropie und relativer Hypovolämie ist die Dysregulation des Vasotonus der Arteriolen, in denen der periphere Widerstand erzeugt und aufrechterhalten wird, eine der zugrundeliegenden Ursachen. Die endotheliale NO-Synthase (eNOS) produziert physiologisch kontinuierlich in geringen Mengen NO, das durch cGMP die Relaxation der glatten Muskelzellen der Tunica media vermittelt und der Regulation des Vasotonus dient. Durch seine vielfältigen Einflussmöglichkeiten ist NO außerdem ein wichtiger Bestandteil der Homöostase, der die Mikrozirkulation und inflammatorische Prozesse moduliert. So wirkt NO hemmend auf die Thrombozytenaggregation, verringert die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und kann die Ausschüttung von Vasokonstriktoren vermindern [55]. Der wichtigste konstitutive Stimulator der eNOS ist die Wandscherrate („Reibung“ des Blutflusses an der Gefäßwand) [56], deren Signale vermutlich über die Glykokalix an die Endothelzelle vermittelt werden [57]. Die Rolle von NO während

der Inflammation ist jedoch ambivalent: Neben der oben beschriebenen anti-inflammatorischen Aktivität scheint die eNOS-bedingte NO-Produktion in einer ersten Phase der Sepsis das kapillare Leck verstärken zu können [58,59]. Zu Beginn der Inflammation wird die eNOS-Expression jedoch herunterreguliert und durch ihr Isoenzym iNOS (**inducible NO-Synthase**) ersetzt, das stärker exprimiert wird und die NO-Produktion um das 1.000-fache steigern kann [60,61]. In der generalisierten Entzündung resultiert daraus eine exzessive iNOS-Produktion. Makrohämodynamische Effekte wie vor allem der im septischen Schock zu beobachtende Blutdruckabfall sind die Folge. Auf molekularer Ebene entstehen vermehrt ROS und RNS. Diese verstärken den oxidativen Stress, der durch aktivierte neutrophile Granulozyten und deren respiratorischen Burst einen wichtigen pathophysiologischen Effektor der Sepsis darstellt. Eine Schlüsselrolle könnte dabei der oxidativ aktivierbaren, cGMP-abhängigen Proteinkinase G Iα der Endothelzellen zukommen. Durch ausgeprägten oxidativen Stress in der Sepsis kann sie durch eine Vasodilatation und einen negativ inotropen Effekt eine arterielle Hypotonie verstärken und zusätzlich durch Vergrößerung des kapillären Lecks zur Ödembildung beitragen. Im CLP (**Caecal-ligation and Puncture**)- und LPS-Mausmodell konnten Rudyk et al. zeigen, dass Knock-In-Tiere mit einer gegen Oxidation resistenten Proteinkinase G Iα gegenüber Wildtyp-Mäusen eine deutlich geringere arterielle Hypotonie, ein höheres Schlagvolumen und einen geringeren LDH-Spiegel als globalen Marker für Zellschaden aufwiesen [62]. Über die Verabreichung von n-Acetylcystein als Antioxidanz zur Antagonisierung des oxidativen Stresses bei Wildtypmäusen ließ sich jedoch kein ähnlicher Effekt erzielen. Eine Cochrane-Meta-Analyse über den Effekt von n-Acetylcystein aus dem Jahr 2012 bestätigt einen fehlenden protektiven Effekt und führt sogar die Möglichkeit einer schädigenden Wirkung auf, eventuell durch eine Maskierung des oxidativen Stresses und damit einer Verhinderung physiologischer Gegenreaktionen [63].

Ein direkter therapeutischer Angriff am NO-Signalweg entweder über eNOS/iNOS-Inhibition oder die Hemmung des **Second Messengers** cGMP über die Guanylatcyclase ist ebenso möglich und scheint ambivalente Ergebnisse hervorzubringen. Methylenblau, ein Inhibitor der Guanylatcyclase, kann im klinischen Gebrauch als Ultima Ratio im therapie-refraktären Schock zu einer raschen makrohämodynamischen Stabilisierung führen [64,65]. Sowohl in Tierversuchen als auch in vitro lassen sich zeit- und dosisabhängig sowohl positive als auch negative Effekte von Methylenblau auf die Mortalität und das Migrationsverhalten von Leukozyten nachweisen [66, 67]. In klinischen Studien konnte bislang noch keine Beeinflussung der Mortalität gezeigt werden. Anders verhält es sich bei einer klinischen Prüfung des NO-Synthase-Inhibitors 546C88 an Patienten mit Sepsis aus dem Jahr 2004 [68]: Diese wurde abgebrochen, da in den Zwischenanalysen eine erhöhte Mortalität innerhalb der ersten 72 h aufgetreten war. Nach 72 h hingegen führte die Behandlung zu keiner weiteren Verschlechterung des Behandlungsergebnisses. In Post-hoc-Analysen ließ sich sogar ein genereller Vorteil für Patienten mit niedrigem Herzzeitvolumen bei relativ geringer Dosis darstellen. Diese heterogene Studienlage trägt mit Sicherheit der Tatsache Rechnung, dass sowohl die Sepsis als auch die NO-Produktion zeitkritische und hochdynamische Geschehen sind, deren Therapie nur entlang entsprechender Biomarker zum Erfolg führen kann.

Einfluss cholinriger Modulation auf die inflammatorische Mikrozirkulationsstörung

Vor mehr als 10 Jahren postulierte Kevin Tracey das Konzept des „cholinergen anti-inflammatorischen Reflexes“, eines zentral verschalteten Entzündungsreflexes, der über Fasern des N. vagus anti-inflammatorische Signale in die Peripherie senden und so die Entzündungsreaktion regulieren sollte [69]. Auch wenn an der Anatomie des postulierten Signalwegs mittlerweile Zweifel bestehen, da vagale Aktionspotentiale

die Milz als wichtigste Schnittstelle der Immunmodulation nicht erreichen können, so ist eine cholinerge Entzündungsmodulation mehrfach gezeigt worden [70]. Nahezu alle Zellen, einschließlich Endothelzellen und Leukozyten, können selbst Acetylcholin (ACh) produzieren und verfügen über ACh-Rezeptoren, sodass eine direkte, cholinerge Zell-Zell-Kommunikation möglich ist. Dieses Netzwerk wird als non-neuronales cholinerges System bezeichnet [71]. Der anti-inflammatorische Effekt des ACh wird über nikotinerge Rezeptoren vom α 7-Subtyp erzielt [72], die unter anderem sowohl auf Leukozyten als auch auf Endothelzellen exprimiert werden [71]. Es handelt sich um einen Liganden gebundenen Ionenkanal, dessen anti-inflammatorischer Effekt allerdings unabhängig von Ionen-Flüssen über den JAK/STAT Pathway und NF- κ B-Inhibition vermittelt wird [73,74]. Intravital-mikroskopische Studien im Endotoxinämie-Modell haben gezeigt, dass eine cholinerge Stimulation sowohl vor als

auch nach der Applikation von Endotoxin in der Lage ist, den Efflux von fluoreszenzmarkiertem Albumin ins Interstitium signifikant zu verringern. Diese Protektion der Endothelbarriere ließ sich sowohl über eine die cholinergen Mediatorsubstanzen Physostigmin und CDP-Cholin mit einer postulierten Aktivierung des non-neuronalen cholinergen Systems als auch durch eine zentrale Sympathikolyse (mit postulierter konsekutiver Erhöhung des Vagotonus) mittels Clonidin erzielen. Der zugrundeliegende Mechanismus bleibt unklar [75-77]. Die Behandlung septischer Tiere mit Dexmedetomidin, ebenfalls ein zentrales Sympathikolytikum, erbrachte verringerte Level an proinflammatorischen Zytokinen und ein verbessertes Überleben [78,79].

Diagnostische Möglichkeiten und Fazit

Durch komplexe Mechanismen und multiple Schädigungen formiert sich die Mikrozirkulationsstörung als fundamen-

taler Pathomechanismus des septischen Krankheitsbildes. Das Ziel der Sepsistherapie sollte also neben einer schnellstmöglichen Fokussierung und einer erregergerechten antiinfektiven Therapie der Schutz bzw. die Wiederherstellung einer intakten Mikrozirkulation sein. Rückschlüsse von makrohämodynamischen Parametern auf die Funktion der zirkulatorischen Endstrecke und die Gewebeoxygenierung sind dabei nicht ohne weiteres zulässig [80-82].

Dem Kliniker steht dennoch eine Reihe verschiedener Parameter zur Abschätzung des mikrozirkulatorischen Zustands zur Verfügung, welche stets auf einer initialen klinischen Untersuchung des Patienten basieren sollte. Letztere beinhaltet unter anderem die Detektion marmoriertter Haut der Extremitäten (mottled extremities) als Zeichen einer kutanen Mikrozirkulationsstörung. Das Ausmaß der Marmorierung und ihre Dynamik sind starke Prädiktoren der 14-Tages-Mortalität des septischen Schocks, welche über einen einfachen

Score standardisiert quantifizierbar, kostenlos und nicht invasiv bestimmbar sind [83]. Ebenso einfach gestaltet sich die Erhebung der Rekapillarisierungszeit (**Capillary Refill Time**) unter Beachtung potenzieller Einflussfaktoren, wie dem Einsatz vasoaktiver Substanzen oder der Umgebungstemperatur.

Die zusätzliche Erhebung von laborchemischen Parametern, wie beispielsweise des Laktats als Marker einer eingeschränkten Gewebeperfusion, kann den primären klinischen Eindruck sinnvoll ergänzen. Während eine prospektive Kohortenstudie an Patienten mit vermuteter Infektion eine Assoziation zwischen Laktatwerten >4 mmol/l und einer gesteigerten Krankenhaussterblichkeit aufzeigen konnte [84], wurde ein erhöhter Blut-Laktat-Spiegel bei Patienten mit Sepsis als ein Prognosefaktor unabhängig vom Grad einer präexistenten Organdysfunktion identifiziert [85]. Die Laktat-Clearance, also die Veränderung der Laktatkonzentration pro Zeiteinheit, ermöglicht einerseits ein Abschätzen der Dynamik einer Mikrozirkulationsstörung und scheint andererseits als Zielparameter der häodynamischen Primärtherapie mit der Prognose kritisch kranker Patienten korreliert zu sein. So konnten Jansen et al. in einer multizentrischen RCT zeigen, dass eine laktatgesteuerte Flüssigkeits- und Vasopressortherapie mit dem Ziel einer Laktat-Clearance $>20\%$ innerhalb von zwei Stunden bei Patienten mit initial erhöhten Blutlaktatwerten zu einer gegenüber der nicht-laktatgesteuerten Kontrollgruppe signifikant erniedrigten Krankenhausletalität führte [86]. Im Vergleich zu einer über die zentralvenöse Sauerstoffsättigung (ScvO_2) gesteuerten Behandlung ist die an der Laktat-Clearance orientierte Therapie dabei nicht unterlegen [87]. Eine Analyse von 28.150 Patienten mit Sepsis konnte ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Laktatspiegel und Letalität aufzeigen, wobei sich diese Assoziation am stärksten bei Patienten mit einer Kombination aus erhöhten Laktatwerten (>4 mmol/l), arterieller Hypotonie sowie einer nach den ersten 6 Stunden nach Diagnose fortbestehenden Erhöhung des

Blut-Laktat-Spiegels im Sinne einer nicht ausreichenden Laktat-Clearance manifestierte [88].

Der Einsatz von Sättigungswerten als therapeutische Zielparameter in der Sepsis ist nicht unumstritten, da z.B. auch eine normwertige ScvO_2 eine Beeinträchtigung der Gewebeoxygenierung durch Störungen der Mikrozirkulation im Sinne eines Shunt-Phänomens bzw. einer verminderten Sauerstoffausschöpfung des Blutes (**Cytopathic Hypoxia**) nicht ausschließen kann. Passenderweise konnte in einer Sekundäranalyse von vier prospektiv erhobenen Datenbanken eine Assoziation zwischen einer gesteigerten Letalität und sowohl einer erhöhten (ScvO_2 90-100%) als auch einer erniedrigten ($\text{ScvO}_2 <70\%$) zentralvenösen Sättigung im Gegensatz zu ScvO_2 -Werten von 71-89% bei Patienten mit septischem Schock festgestellt werden [89]. Eine prospektive Observationsstudie von Koch et al., welche u.a. den prädiktiven Wert von ScvO_2 , Laktatspiegel und anderen Parametern im Hinblick auf das Überleben von Intensivpatienten mit Sepsis untersuchte, konnte zudem zeigen, dass insbesondere die Kombination aus erhöhten Blut-Laktat-Spiegeln und ScvO_2 -Werten $>70\%$ mit einem schlechten Outcome verknüpft ist [90]. Die in Reaktion auf die kürzlich erschienenen Studien zur frühen zielgerichteten Therapie der Sepsis (ProMISe, ProCESS und ARISE) im April 2015 aktualisierten Maßnahmenbündel der Surviving Sepsis Campaign empfehlen weiterhin die ggf. wiederholte Messung des Blut-Laktat-Spiegels, beinhalten jedoch im Gegensatz zur 2013 veröffentlichten Leitlinienfassung nicht mehr das Erreichen einer $\text{ScvO}_2 >70\%$ innerhalb der ersten 6 Stunden nach Diagnosestellung [91].

Abschließend befinden sich in Hinblick auf die bettseitige Evaluation der Mikrozirkulation neben den genannten Parametern diverse technische Hilfsmittel in unterschiedlichen Stadien der Erprobung, die bislang jedoch noch nicht Einzug in die breite klinische Routine halten konnten. Dabei wird zwischen indirekten Verfahren wie der Nahinfra-

rotspektroskopie (NIRS) zur Messung von Oxy- und Desoxyhämoglobin im Gewebe sowie direkten Methoden wie dem Laser-Dopplerultraschall und verschiedenen Mikroskopie-Techniken (z.B. Sidestream Darkfield-Mikroskopie) unterschieden. Der veno-arterielle CO_2 -Gradient stellt eine weitere vielversprechende Methode zur Beurteilung der Mikrozirkulation dar. Diese Verfahren werden hinsichtlich Aussagekraft, technischer Umsetzbarkeit und Limitationen ausführlich von de Backer diskutiert [92].

Solange jedoch klare therapeutische Ansätze und definierte Endpunkte zur Verbesserung der Mikrozirkulation fehlen, ist auch die Entwicklung praxistauglicher Überwachungsverfahren kein Heilsbringer, sondern bestenfalls eine Orientierungshilfe. Auf der Basis eines profunden Grundlagenverständnisses für die Pathogenese der septischen Mikrozirkulationsstörung sollte daher die Entwicklung neuer Therapieansätze zum Erhalt und der Wiederherstellung der Mikrozirkulation einen hohen Stellenwert in der aktuellen Sepsisforschung einnehmen.

Literatur

1. 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 1992;20:864-74
2. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, et al: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med 2003;31:1250-6
3. Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Bardutzky J, Dempfle CE, et al: [Prevention, diagnosis, treatment, and follow-up care of sepsis. First revision of the S2k Guidelines of the German Sepsis Society (DSG) and the German Interdisciplinary Association for Intensive and Emergency Care Medicine (DIVI).] Der Anaesthetist 2010;59:347-70
4. Bianchi ME: DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. J Leukoc Biol 2007;81:1-5
5. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, et al:

- Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 2007;33:606-18
6. Thomas L: Germs. *The New England journal of medicine* 1972;287:553-5
 7. Reid L, Meyrick B: Microcirculation: definition and organization at tissue level. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1982;384:3-20
 8. Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, Guidet B, Offenstadt G: The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. *Intensive Care Medicine* 2010;36:1286-98
 9. Thi MM, Tarbell JM, Weinbaum S, Spray DC: The role of the glycocalyx in reorganization of the actin cytoskeleton under fluid shear stress: a „bumper-car“ model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004;101:16483-8
 10. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, van Zandvoort MA, oude Egbrink MG: The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Archiv: Eur J Physiol* 2007;454:345-59
 11. Dull RO, Mecham I, McJames S: Heparan sulfates mediate pressure-induced increase in lung endothelial hydraulic conductivity via nitric oxide/reactive oxygen species. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 2007;292:L1452-8
 12. Henrich M, Gruss M, Weigand MA: Sepsis-induced degradation of endothelial glycocalix. *The Scientific World Journal* 2010;10:917-23
 13. Alon R, Shulman Z: Chemokine triggered integrin activation and actin remodeling events guiding lymphocyte migration across vascular barriers. *Exp Cell Res* 2011;317:632-41
 14. Rot A, von Andrian UH: Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokine grammar for immune cells. *Annual review of immunology* 2004;22:891-928
 15. Weinbaum S, Zhang X, Han Y, Vink H, Cowin SC: Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003;100:7988-95
 16. Burke-Gaffney A, Evans TW: Lest we forget the endothelial glycocalyx in sepsis. *Crit Care* 2012;16:121
 17. Li Q, Bolli R, Qiu Y, Tang XL, Guo Y, French BA: Gene therapy with extracellular superoxide dismutase protects conscious rabbits against myocardial infarction. *Circulation* 2001;103:1893-8
 18. Faure E, Thomas L, Xu H, Medvedev A, Equils O, Arditi M: Bacterial lipopolysaccharide and IFN-gamma induce Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 expression in human endothelial cells: role of NF-kappa B activation. *J Immunol* 2001;166:2018-24
 19. Khakpour S, Wilhelmsen K, Hellman J: Vascular endothelial cell Toll-like receptor pathways in sepsis. *Innate Immun* 2015;21:827-46
 20. Wang W, Deng M, Liu X, Ai W, Tang Q, Hu J: TLR4 activation induces nontolerant inflammatory response in endothelial cells. *Inflammation* 2011;34:509-18
 21. Opitz B, Eitel J, Meixenberger K, Suttorp N: Role of Toll-like receptors, NOD-like receptors and RIG-I-like receptors in endothelial cells and systemic infections. *Thromb Haemost* 2009;102:1103-9
 22. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Karl IE: Endothelial cell apoptosis in sepsis. *Crit Care Med* 2002;30:S225-8
 23. Aird WC: The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* 2003;101:3765-77
 24. Van Teeffelen JW, Brands J, Stroes ES, Vink H: Endothelial glycocalyx: sweet shield of blood vessels. *Trends in cardiovascular medicine* 2007;17:101-5
 25. Steppan J, Hofer S, Funke B, Brenner T, Henrich M, et al: Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalix. *J Surg Res* 2011;165:136-41
 26. Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, De Gaudio AR, Adembri C: Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Crit Care* 2015;19:26
 27. Wiesinger A, Peters W, Chappell D, Kentrup D, Reuter S, et al: Nanomechanics of the endothelial glycocalyx in experimental sepsis. *PLoS one* 2013;8:e80905
 28. Woodcock TE, Woodcock TM: Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br J Anaesth* 2012;108:384-94
 29. van Golen RF, van Gulik TM, Heger M: Mechanistic overview of reactive species-induced degradation of the endothelial glycocalyx during hepatic ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med* 2012;52:1382-402
 30. Chappell D, Westphal M, Jacob M: The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. *Curr Opin Anaesth* 2009;22:155-62
 31. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, Gandjeva A, Perez MJ, et al: The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med* 2012;18:1217-23
 32. Marechal X, Favery R, Joulain O, Montaigne D, Hassoun S, et al: Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress. *Shock* 2008;29:572-6
 33. Becker BF, Jacob M, Leipert S, Salmon AH, Chappell D: Degradation of the endothelial glycocalyx in clinical settings: searching for the sheddases. *Br J Clin Pharmacol* 2015;80:389-402
 34. Fitzgerald ML, Wang Z, Park PW, Murphy G, Bernfield M: Shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains is regulated by multiple signaling pathways and mediated by a TIMP-3-sensitive metalloproteinase. *J Cell Biol* 2001;148:811-24
 35. Fux L, Ilan N, Sanderson RD, Vladavsky I: Heparanase: busy at the cell surface. *Trends Biochem Sci* 2009;34:511-9
 36. Mitchell MJ, King MR: Physical biology in cancer. 3. The role of cell glycocalyx in vascular transport of circulating tumor cells. *American journal of physiology. Cell physiology* 2014;306:C89-97
 37. Parsons SA, Sharma R, Roccamatisi DL, Zhang H, Petri B, et al: Endothelial paxillin and focal adhesion kinase (FAK) play a critical role in neutrophil transmigration. *Eur J Immunol* 2012;42:436-46
 38. He P: Leucocyte/endothelium interactions and microvessel permeability: coupled or uncoupled? *Cardiovasc Res* 2010;87:281-90
 39. Yuan SY, Shen Q, Rigor RR, Wu MH: Neutrophil transmigration, focal adhesion kinase and endothelial barrier function. *Microvasc Res* 2012;83:82-8
 40. Oldenburg J, de Rooij J: Mechanical control of the endothelial barrier. *Cell Tissue Res* 2014;355:545-55
 41. Garcia-Ponce A, Citalan-Madrid AF, Velazquez-Avila M, Vargas-Robles H, Schnoor M: The role of actin-binding proteins in the control of endothelial barrier integrity. *Thrombosis and Haemostasis* 2015;113:20-36
 42. Li Q, Zhang Q, Wang C, Liu X, Li N, Li J: Disruption of tight junctions during

- polymicrobial sepsis in vivo. *J Pathol* 2009;218:210-21
43. Condon MR, Kim JE, Deitch EA, Machiedo GW, Spolarics Z: Appearance of an erythrocyte population with decreased deformability and hemoglobin content following sepsis. *Am J Physiol. Heart and Circulatory Physiology* 2003;284:H2177-84
44. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, et al: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303:1532-5
45. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, McDonald B, Goodarzi Z, et al: Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nature medicine* 2007;13:463-9
46. Yipp BG, Kubes P: NETosis: how vital is it? *Blood* 2013;122:2784-94
47. Ellis CG, Bateman RM, Sharpe MD, Sibbald WJ, Gill R: Effect of a maldistribution of microvascular blood flow on capillary O₂ extraction in sepsis. *Am J Physiol. Heart and Circulatory Physiology* 2002;282:H156-64
48. Fink MP: Bench-to-bedside review: Cytopathic hypoxia. *Crit Care* 2002;6:491-9
49. Borutaite V, Brown GC: Rapid reduction of nitric oxide by mitochondria, and reversible inhibition of mitochondrial respiration by nitric oxide. *Biochem J* 1996;315(Pt 1):295-9
50. Cassina A, Radi R: Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Archives of biochemistry and biophysics* 1996;328:309-16
51. Garrabou G, Moren C, Lopez S, Tobias E, Cardellach F, et al: The effects of sepsis on mitochondria. *J Infect Dis* 2012; 205:392-400
52. Koch C, Rohrig R, Monz T, Hecker A, Uhle F, et al: Prospective evaluation of regional oxygen saturation to estimate central venous saturation in sepsis. *J Clin Monit Comput* 2015;29:443-53
53. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, et al: Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet* 2002;360:219-23
54. van Boxel G, Doherty WL, Parmar M: Cellular oxygen utilization in health and sepsis. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain* 2012;12(4):207-12
55. Michel T, Vanhoutte PM: Cellular signaling and NO production. *Pflugers Archiv: Eur J Physiol* 2010;459:807-16
56. Michel T, Vanhoutte PM: Cellular signaling and NO production. *Pflugers Archiv: Eur J Physiol* 2010;459:807-16
- and NO production. *Pflugers Archiv: Eur J Physiol* 2010;459:807-16
57. Tarbell JM, Pahakis MY: Mechanotransduction and the glycocalyx. *J Intern Med* 2006;259:339-50
58. Bucci M, Roviezzo F, Posadas I, Yu J, Parente L, et al: Endothelial nitric oxide synthase activation is critical for vascular leakage during acute inflammation in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005;102:904-8
59. Cirino G, Fiorucci S, Sessa WC: Endothelial nitric oxide synthase: the Cinderella of inflammation? *Trends in pharmacological sciences* 2003;24:91-5
60. Andrew PJ, Mayer B: Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovas Res* 1999;43:521-31
61. Aktan F: iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences* 2004;75:639-53
62. Rudyk O, Phinikaridou A, Prysyazhna O, Burgoyne JR, Botnar RM, Eaton P: Protein kinase G oxidation is a major cause of injury during sepsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2013;110:9909-13
63. Szakmany T, Hauser B, Radermacher P: N-acetylcysteine for sepsis and systemic inflammatory response in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;9:CD006616
64. Jang DH, Nelson LS, Hoffman RS: Methylene blue for distributive shock: a potential new use of an old antidote. *J Med Toxicol* 2013;9:242-9
65. Lo JC, Darracq MA, Clark RF: A review of methylene blue treatment for cardiovascular collapse. *J Emerg Med* 2014;46:670-9
66. Fernandes D, Sordi R, Pacheco LK, Nardi GM, Heckert BT, et al: Late, but not early, inhibition of soluble guanylate cyclase decreases mortality in a rat sepsis model. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2009; 328:991-9
67. Werner I, Guo F, Bogert NV, Stock UA, Meybohm P, et al: Methylene blue modulates transendothelial migration of peripheral blood cells. *PloS one* 2013; 8:e82214
68. Watson D, Grover R, Anzueto A, Lorente J, Smithies M, et al: Cardiovascular effects of the nitric oxide synthase inhibitor NG-methyl-L-arginine hydrochloride (546C88) in patients with septic shock: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study (study no. 144-002). *Crit Care Med* 2004;32:13-20
69. Tracey KJ: The inflammatory reflex. *Nature* 2002;420:853-9
70. Martelli D, McKinley MJ, McAllen RM: The cholinergic anti-inflammatory pathway: a critical review. *Auton Neurosci* 2014;182:65-9
71. Wessler I, Kirkpatrick CJ: Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans. *British journal of pharmacology* 2008;154:1558-71
72. Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, et al: Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003;421:384-8
73. Baez-Pagan CA, Delgado-Velez M, Lasalde-Dominicci JA: Activation of the Macrophage alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor and Control of Inflammation. *J Neuroimmune Pharmacol* 2015;10:468-76.
74. de Jonge WJ, Ulloa L: The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation. *British journal of pharmacology* 2007; 151:915-29
75. Peter C, Schmidt K, Hofer S, Stephan M, Martin E, et al: Effects of physostigmine on microcirculatory alterations during experimental endotoxemia. *Shock* 2010;33:405-11
76. Schmidt K, Hernekamp JF, Philipsburg C, Zivkovic AR, Brenner T, Hofer S: Time-dependent effect of clonidine on microvascular permeability during endotoxemia. *Microvasc Res* 2015;101:111-7
77. Schmidt K, Hernekamp JF, Doerr M, Zivkovic AR, Brenner T, et al: Cytidine-5-diphosphocholine reduces microvascular permeability during experimental endotoxemia. *BMC Anesthesiol* 2015;15:114
78. Hofer S, Steppan J, Wagner T, Funke B, Lichtenstern C, et al: Central sympatholytics prolong survival in experimental sepsis. *Crit Care* 2009;13:R11
79. Xiang H, Hu B, Li Z, Li J: Dexmedetomidine controls systemic cytokine levels through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Inflammation* 2014;37:1763-70
80. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, et al: Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Annals of emergency medicine* 2007; 49:88-98, e1-2

81. Edul VS, Enrico C, Laviolle B, Vazquez AR, Ince C, Dubin A: Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2012;40:1443-8
82. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL: Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:98-104
83. Ait-Oufella H, Lemoinne S, Boelle PY, Galbouis A, Baudel JL, et al: Mottling score predicts survival in septic shock. *Intensive Care Med* 2011;37:801-7
84. Shapiro NI, Howell MD, Talmor D, Nathanson LA, Lisbon A, et al: Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection. *Annals of emergency medicine* 2005;45:524-8
85. Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gajeski DF, Goyal M, Fuchs BD, et al: Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Crit Care Med* 2009;37:1670-7
86. Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ, Sleeswijk Visser SJ, van der Klooster JM, et al: Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:752-61
87. Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S, Arnold RC, Claremont HA, et al: Lactate clearance vs central venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: a randomized clinical trial. *JAMA* 2010;303:739-46
88. Casserly B, Phillips GS, Schorr C, Dellinger RP, Townsend SR, et al: Lactate measurements in sepsis-induced tissue hypoperfusion: results from the Surviving Sepsis Campaign database. *Crit Care Med* 2015;43:567-73
89. Pope JV, Jones AE, Gajeski DF, Arnold RC, Trzeciak S, et al: Multicenter study of central venous oxygen saturation (ScvO₂) as a predictor of mortality in patients with sepsis. *Annals of emergency medicine* 2010;55:40-6 e1
90. Koch C, Rohrig R, Monz T, Hecker A, Uhle F, et al: Prospective evaluation of regional oxygen saturation to estimate central venous saturation in sepsis. *J Clin Monit Comput* 2015;29:443-53
91. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, et al: Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013;39:165-228
92. De Backer D, Durand A: Monitoring the microcirculation in critically ill patients. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2014;28:441-51.

Korrespondenzadresse

Dr. biol. hom. Florian Uhle



Klinik für Anästhesiologie
Universitätsklinikum Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg, Deutschland
Tel.: 06221 56-35140
Fax: 06221 56-33726
E-Mail: florian.uhle@med.uni-heidelberg.de