

Aus dem Medizinischen Zentrum für Operative Medizin
der Philipps-Universität Marburg
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. P. Griss
Institut für Theoretische Chirurgie
Leiter: Prof. Dr. W. Lorenz

**Stressresponse, Mastzellaktivierung und
perioperativer Verlauf chirurgischer Infektionen:
Einfluss der perioperativen
Antihistaminikaprophylaxe in Klinik
modellierenden randomisierten Tierstudien**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt

von

Dieter Krackrügge
aus Wolfhagen

Marburg/ Lahn 2003

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am: 20.11.2003
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan:	Prof. Dr. Maisch
Referent:	Prof. Dr. Lorenz
Korreferent:	Prof. Dr. Happle

Inhalt

1	<i>Einleitung</i>	6
1. 1.	Stressresponse, Mastzellaktivierung und perioperativer Verlauf chirurgischer Infektionen _____	6
1. 1. 1.	Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) als Beispiel für das erweiterte Verständnis neuroendokriner Immuninteraktionen	6
1. 1. 2.	Die Mastzelle als Schnittstelle zwischen Nerven- und Immunsystem ..	10
1. 1. 3.	Aspekte des perioperativen Infektverlaufs.....	12
1. 1. 4.	Verlauf des Septischen Schocks	14
1. 2.	Histamin als Mediator im inflammatorischen Geschehen: Interaktionen mit dem Neuroendokrinium __	17
1. 2. 1.	Historische Bedeutung von Histamin in Schock und Entzündung.....	17
1. 2. 2.	Histaminquellen und Arten der Freisetzung	18
1. 2. 3.	Histaminrezeptoren.....	19
1. 2. 4.	Histaminwirkungen.....	20
1. 3.	Die Bedeutung adjuvanter Therapieverfahren bei Peritonitis und Sepsis _____	24
1. 3. 1.	Aktuelle klinische Situation.....	24
1. 3. 2.	Bisherige immunmodulatorische Therapieansätze	25
1. 3. 3.	Histaminantagonisten als Immunmodulatoren	28
1. 4.	CMRT (Klinik modellierende randomisierte Studien) als Weiterentwicklung bisheriger Tierversuchskonzepte _	30
1. 4. 1.	Direkter klinischer Bezug	30
1. 4. 2.	Defizite verschiedener Tierversuchskonzepte	31
1. 4. 3.	Klinik modellierende Konzeption des Tiermodells.....	32
2	<i>Fragestellung der Arbeit</i>	34
3	<i>Material und Methoden</i>	35
3. 1.	Studiendesign _____	35
3. 2.	Fallzahlberechnung _____	36
3. 2. 1.	Berechnung der Fallzahlen für Vorversuche	36
3. 2. 2.	Berechnung der Fallzahlen für definitive Versuche	37
3. 3.	Versuchstiere _____	37
3. 4.	Präparation der Stuhlsuspension _____	38
3. 5.	Histaminantagonisten _____	38
3. 6.	Materialien und Reagenzien _____	39

3. 7. Versuchsdurchführung	40
3. 7. 1. Vorbereitung der Medikamente	40
3. 7. 2. Vorbereiten der Stuhlsuspension	42
3. 7. 3. Präoperative Versuchsphase	42
3. 7. 4. Operative Versuchsphase	43
3. 7. 5. Postoperative Versuchsphase	44
3. 8. Statistische Auswertung	47
4 Ergebnisse	48
4. 1. Ergebnisse der Vorversuche	48
4. 1. 1. Erstellung der Dosiswirkungskurve für das fäkale Inokulum	48
4. 1. 2. Dosisfindung für Antihistaminika-Kombination	51
4. 1. 3. Vergleich von Einfach-Prophylaxe und Mehrfachgabe	55
4. 1. 4. Wirksamkeitstest von alleiniger Cimetidin-Prophylaxe	61
4. 2. Ergebnisse der definitiven Versuche	64
4. 2. 1. Verbesserung der Überlebensraten bei aus Vorversuchen geprüfter Dosiskombination der Antihistaminika bei hoher Mortalität	64
4. 2. 2. Verbesserung der Überlebensraten bei aus Vorversuchen geprüfter Dosiskombination der Antihistaminika mit niedriger Grundmortalität	67
4. 2. 3. Überprüfung der Wirksamkeit der Antihistaminikaprophylaxe mit einer anderen klinisch relevanten Antibiotikakombination	70
5 Diskussion	74
5. 1. Etablierung eines Modells zum Wirkungsnachweis von Medikamenten in einer Klinik-modellierenden randomisierten Tierstudie (CMRT)	74
5. 2. Mortalitätssenkende Wirkung von Antihistaminika- Kombinationen bei perioperativen Infektionen	77
5. 2. 1. Dosisfindung für Antihistaminika-Kombination	77
5. 2. 2. Vergleich von Einfach-Prophylaxe und Mehrfachgabe	77
5. 2. 3. Wirksamkeitstest von alleiniger Cimetidin-Prophylaxe	78
5. 2. 4. Diskussion der Ergebnisse der definitiven Versuche	79
5. 3. Bedeutung der Ergebnisse für die klinische Anwendung an Patienten mit perioperativen Infektionen	80
5. 3. 1. Vorteile der prophylaktischen Antihistaminikagabe	80
5. 3. 2. Interaktionen von Antibiotika und Immunsystem	82
5. 3. 3. Stellenwert von immunmodulierenden Therapieverfahren in der Therapie des Septischen Schocks	85
5. 3. 4. Verwendung von männlichen Versuchstieren	86
5. 3. 5. Bedeutung der Ergebnisse in Bezug auf klinische Forschung	87
5. 3. 6. Einfluss von perioperativem Stress auf das Immunsystem, Unterschiede zwischen Laparoskopie und Laparotomie	87
5. 3. 7. Weiterführende Forschungsansätze	88

6	<i>Zusammenfassung</i>	92
7	<i>Literaturverzeichnis</i>	94
8.	<i>Anhang</i>	117
8.1.	Verzeichnis der akademischen Lehrer _____	117
8.2.	Danksagung _____	118

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Wechselwirkungen zwischen Histamin und Zytokinen
- Abbildung 2:** Standardisierter Protokollbogen für jedes einzelne Tier
- Abbildung 3:** Verteilung der Überlebensraten in Abhängigkeit zur Stuhldosis (Stuhldosis- Wirkungskurve) bei konstanter i.v. Antibiotikadosis (AB)
- Abbildung 4:** Darstellung der Mortalitätsraten nach 120h Beobachtungszeitraum in Abhängigkeit der verwendeten Stuhldosis für Stuhl „Mix 2“ (Sigmoidaler Verlauf nach Lorenz et al., 1994)
- Abbildung 5:** Darstellung der Überlebensraten für die getesteten Dosiskombinationen von Dimetinden bei konstanter Cimetidindosis
- Abbildung 6:** Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für verschiedene Dimetindendosen und konstanter Cimetidindosis (5 mg/kg KG) im Vergleich zur Placebogruppe.
- Abbildung 7:** Darstellung der Überlebensraten bei Einfachprophylaxe und Mehrfachgabe einer Antihistaminika-Kombination bei hohem Schaden durch Stuhlinokulum
- Abbildung 8:** Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Einfach- und Mehrfachgabe der Antihistaminikaprophylaxe im Vergleich zur Placebogruppe bei hoher Mortalität
- Abbildung 9:** Vergleich der Überlebensraten bei Einfachprophylaxe und Mehrfachgabe einer Antihistaminika-Kombination bei geringem Schaden durch Stuhlinokulum
- Abbildung 10:** Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Einfach- und Mehrfachgabe der Antihistaminikaprophylaxe im Vergleich zur Placebogruppe bei niedriger Mortalität
- Abbildung 11:** Vergleich der Überlebensraten bei verschiedenen Cimetidindosierungen ohne Dimetinden
- Abbildung 12:** Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für verschiedene Cimetidindosierungen und Placebogruppe.
- Abbildung 13:** Vergleich der Überlebensraten von Antihistaminikaprophylaxe und Placebo bei hoher Mortalität.

Abbildung 14: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei hoher Gesamtmortalität.

Abbildung 15: Vergleich der Überlebensraten von Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei niedriger Gesamtmortalität.

Abbildung 16: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei niedriger Mortalität.

Abbildung 17: Vergleich der Überlebensraten Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei Antibiose mit Levofloxacin und Metronidazol

Abbildung 18: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei Antibiose mit Levofloxacin und Metronidazol

Tabelle

Tabelle 1: Vergleich verschiedener prospektiver, kontrollierter, randomisierter, klinischer Doppelblindstudien

Schema

Schema 1: Darstellung des Versuchsablaufs auf der Zeitachse

1 Einleitung

1.1. Stressresponse, Mastzellaktivierung und perioperativer Verlauf chirurgischer Infektionen

Die allgemein bekannte Beeinflussung des Immunsystems durch Stress, bzw. allgemein der Austausch von Informationen zwischen Immunsystem und Neuroendokrinium erhielt durch die Aufdeckung gemeinsamer Mediatoren erst einen naturwissenschaftlichen Hintergrund. (Dunn, 1988) In den Fokus der chirurgischen Forschung gerieten die Interaktionen zwischen Immunsystem und Neuroendokrinium, weil man erkannte, dass der Crosstalk beider Systeme einen entscheidenden Einfluss auf die Ergebnisse nach chirurgischen Eingriffen ausübt. Man erkannte zum Beispiel, dass operative Eingriffe einen Einfluss auf neuroendokrine Immuninteraktionen haben genauso wie durch Veränderungen in der neuroendokrinen Immuninteraktion die Ergebnisse chirurgischer Eingriffe beeinflusst werden. In der chirurgischen Forschung diskutiert man heute diese Kommunikation der beiden Systeme im Hinblick auf eine Verringerung des perioperativen Risikos.

Das in der vorliegenden Arbeit zugrunde gelegte Modell soll zu dieser Diskussion möglichst klinisch relevant beitragen.

1.1.1. Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) als Beispiel für das erweiterte Verständnis neuroendokriner Immuninteraktionen

Eine wichtige Säule, über die die Stressantwort vermittelt wird, stellt die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (Hypothalamus-Pituitary-Adrenal-Axis: „HPA-Achse“) dar, die als Prototyp für Neuroendokrin-Immunologische Regelkreise gelten kann, und über den Regelkreis CRH-ACTH-Cortisol schon lange als Schnittstelle zwischen Nervensystem und Immunsystem bekannt ist. Neue Bedeutung erhält diese Achse durch den Nachweis der Produktion von

Peptidhormonen und Neurotransmittern wie Wachstumshormon (GH) (Murphy et al., 2000), Kortikotropin-Freisetzungshormon (CRH), Prolaktin (PRL), Luteinisierendes Hormon (LH) (alle Bernton et al., 1991), Schilddrüsen-stimulierendes Hormon (TSH), Vasoaktives intestinales Peptid (VIP) (alle Blalock et al., 1997) und Adrenokortikotrophes Hormon/ Kortikotropin (ACTH) in Immunzellen und die Reaktion von immunologischen Zellen auf neuroendokrine Botenstoffe (Bornstein et al., 1999). So konnte eine Steigerung der Aktivität von Natürlichen-Killer-Zellen durch CRH nachgewiesen werden (Carr et al. 1990), ebenso fand man eine gesteigerte Antikörperproduktion von B-Lymphozyten durch TSH, welches nach TRH-Stimulation von T-Lymphozyten vermehrt gebildet und freigesetzt wird (Kruger et al. 1989). Bei immunologischen Stresssituationen werden durch GH auch bei reifem Abwehrsystem die Lymphatischen und Knochenmarkszellreihen stimuliert. Man beobachtet dabei eine Reaktivierung des Thymusgewebes. (Murphy et al., 2000)

Die gefundenen Wirkungen der verschiedenen Peptidhormone und Neurotransmitter auf Immunzellen scheinen alle einem autokrinen oder parakrinen Wirkmechanismus zu gehorchen, der Nachweis endokriner Wirkungen von Hormonen, die den Immunzellen entstammen, wird kontrovers diskutiert. Der Hauptwirkungsmechanismus scheint jedoch auto- und parakriner Art zu sein. (Hooghe et al., 1993)

Neben der schon erwähnten Produktion von Peptidhormonen und Neurotransmittern durch immunkompetente Zellen und deren Wirkmechanismen in der Peripherie, stellen die Wirkungen von Zytokinen im zentralen Nervensystem eine weitere wichtige Entdeckung dar, die die Verwobenheit von Neuroendokrinium und Immunsystem weiter betont.

So waren Interferone die ersten Zytokine, bei denen Wirkungen auf Nervenzellen und endokrine Zellen, wie Steroidgenese, Jodaufnahme, Erregung von Neuronen oder Bindung an Opiatrezeptoren, nachgewiesen wurden (Blalock, 1984). Darüber hinaus fand man weitergehende Wirkungen auf neuroendokrine Zellen auch bei Interleukinen (IL-1 und IL-6). Beide Zytokine wirken auf hypothalamischer als auch auf hypophysärer Ebene über ihre spezifischen Rezeptoren als Freisetzungsfaktoren (releasing factors). So wurde durch IL-1 die Freisetzung von ACTH, Endorphinen,

Wachstumshormon (GH), Luteinisierendem Hormon (LH) und Thyreotropin (TSH) aus hypophysären Zellen nachgewiesen. (Smith, 1997) Als Antwort auf IL-1 freigesetztes CRH bewirkt in der Hypophyse nicht nur die direkte Freisetzung von ACTH, es sensibilisiert die hypophysären Zellen zugleich für die direkte IL-1 vermittelte ACTH Sekretion (Payne et al., 1994). Dies geschieht über eine CRH-induzierte Hochregulation der IL-1 Rezeptoren auf den hypothalamischen Zellen.

Durch anhaltend alterierte Zytokinspiegel wie in der Akut-Phase-Reaktion kann es darüber hinaus auch zur Ausprägung verschiedener anderer pathophysiologischer Zustände kommen wie zum hypogonadotropen Hypogonadismus, Wachstumsverzögerungen oder einem sekundären Hyperaldosteronismus. (Mandrup-Poulsen et al., 1995)

Neben den oben erwähnten Zytokinen finden sich auch Rezeptoren für eine Reihe weiterer Zytokine, die mitunter über eine erhebliche sekretorische Potenz verfügen. (Besedovsky et al., 1996) IL-2 übertrifft hierbei in seiner sekretorischen Potenz sogar CRH (Karanth et al., 1991).

Neben dem Nachweis der Expression von Interleukin-Rezeptoren gelang es, die endogene Produktion von IL-1 und IL-6 durch hypophysäre Zellen (thyrotrope Zellen) zu beweisen (Smith, 1992). Für einige andere Zytokine gelang ebenso der Nachweis einer intrazerebralen Produktion.

Die Regulation der Expression von verschiedenen Cytokinen durch verschiedene lymphatische Zellen geschieht neben der Cytokinebene (Barrett, 1996) auch über endokrine, parakrine und autokrine Mechanismen, die durch Steroide vermittelt werden und das Gleichgewicht von humoraler und zellulärer Abwehr beeinflussen. (Daynes et al., 1995)

In der Zusammenschau des inflammatorischen Geschehens und der Immunantwort scheint die Aktivierung der HPA-Achse in erheblichem Maße durch IL-1 vermittelt zu sein. Der genaue Wirkmechanismus bleibt dabei bislang im Verborgenen, eine über die IL-1 Rezeptoren der zerebrovaskulären Endothelzellen vermittelte und über IL-1,

Stickstoffmonoxid (NO) oder Prostaglandine an die Nervenzellen weitergeleitete Beeinflussung wird diskutiert (Ericsson et al., 1994). Die Aktivierung der HPA-Achse bei nur lokalen Entzündungsgeschehen könnte aber auch über afferente Neurone erfolgen, die über Mastzellen aktiviert eine Weiterleitung des lokalen Reizes bewirken können. (Turnball et al., 1999)

Auch die Funktion der körpereigenen Steroide zeigt sich nach neueren Erkenntnissen vielschichtiger als bisher angenommen. So zeigen die aus der Nebenniere stammenden Steroide eine immunmodulierende Wirkung und steuern den Fluss der Immunkompetenten Zellen zwischen Blutbahn und Geweben (McEwen B.S. et al., 1997). Die Affinität der körpereigenen Steroide zu den Steroidrezeptoren ist hierbei um ein Vielfaches geringer im Vergleich zu synthetischen Steroiden wie Dexamethason oder Prednisolon. Entsprechend verzerrt stellt sich das Bild der Steroidwirkungen durch synthetische Steroide dar. Die Nebennierensteroide sind darüber hinaus in der Lage, durch Beeinflussung der Zytokinsekretion die humorale Abwehr zu verstärken und die zellulären Abwehrmechanismen zu dämpfen. (Wilckens, 1995; McEwen et al., 1997)

Als Essenz aus den Entdeckungen der letzten beiden Jahrzehnte zeigt sich ein vielschichtiges Bild der Kommunikation zwischen Immunsystem und Neuroendokrinum, sodass die bis dahin weitgehend getrennte Sichtweise von Immun- und Neuroendokrinem System überwunden erscheint: Immunzellen produzieren biologisch aktive Neuropeptide; Immunzellen exprimieren Rezeptoren für eine Vielzahl verschiedener Neuropeptide; durch die Neuropeptide kann das Immunsystem beeinflusst werden; Lymphokine können Neuroendokrines Gewebe beeinflussen. (Weigent et al., 1987, Tomaszewska et al., 1997) Die enge funktionelle Verwobenheit von Immunsystem und Neuroendokrinum wird bei genauerer struktureller Betrachtung der Zytokine und ihrer Rezeptoren noch deutlicher. Es zeigen sich hier innerhalb der verschiedenen Rezeptor- und Zytokinklassen zum Teil weitgehende Homologien in der Molekularstruktur. (Walter, 1997)

1. 1. 2. Die Mastzelle als Schnittstelle zwischen Nerven- und Immunsystem

Die enge Verwobenheit von Immunsystem und Neuroendokriniem zeigt sich nicht nur in der Funktion der HPA-Achse, im Umfeld der Mastzellen zeigen sich gleichermaßen enge Verbindungen zur Neuroimmunologie; aus der Kommunikation zwischen Mastzellen, Lymphozyten, Nervenzellen und Glia konstituiert sich eine neuroimmune Achse, die im Bereich neurodegenerativer Erkrankungen mit entzündlichen oder autoimmunen Komponenten wie Alzheimersche Erkrankung, Migräne oder Multipler Sklerose ebenso von Bedeutung ist (Purcell et al., 1995) wie bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, so zum Beispiel Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. (Theoharides, 1996 ; Marone et al., 1997)

Lange Zeit wurde die Mastzelle hauptsächlich mit der IgE vermittelten Hypersensibilitätsreaktion in Verbindung gebracht und in diesem Kontext beforscht, doch neuere Ergebnisse lassen die Funktionen der Mastzelle wesentlich komplexer erscheinen. (Galli et al., 1996)

Anatomisch-histologisch betrachtet fällt ein hoher Anteil (47-77% im menschlichen Gastro-Intestinal-Trakt) an Mastzellen auf, die eine enge Beziehung zu peptidergen Neuronen aufweisen, was einen indirekten Hinweis auf eine funktionelle Kopplung darstellt (Yonei et al., 1985). Die im Gastro-Intestinal-Trakt von Ratten gefundenen Relationen waren mit 66% vergleichbar (Stead et al., 1987). Auch die Mastzellen in der parietalen Pleura von Ratten zeigen ähnliche anatomische Verhältnisse. (Artico et al., 1998) Funktionelle Untersuchungen an isolierten Darmabschnitten zeigten eine bidirektionale Mastzell-Nervenzell-Interaktion; so kann durch die Mastzelle ein axonaler Reflex als Antwort auf ein gebundenes Antigen erfolgen oder die Immunantwort der Mastzelle über efferente Nerven beeinflusst werden. Auch eine Weiterleitung der Reize in das zentrale Nervensystem ist auf diese Weise möglich.

Die enge Lagebeziehung von Mastzellen zu wichtigen Strukturen des Zentralen Nervensystems zeigt sich auch in der Anhäufung von Mastzellen in den Gefäßwänden im Bereich des Thalamus, Hippocampus, Corpus striatum, Plexus choroideus, sowie der spinalen Nervenwurzeln. Über eine Modulation der Gefäßpermeabilität kommt den

Mastzellen hier eine Schlüsselposition für die Interaktion von Nerven- und Immunsystem zu. (Orr, 1988)

Die Mastzellen kommunizieren aber nicht nur wie oben beschrieben direkt mit Zellen des Nervensystems, durch Gap junctions besteht eine direkte Kommunikationsmöglichkeit mit den benachbarten Fibroblasten. (Vliagoftis et al., 1999)

Auf die Entwicklung und Differenzierung der Mastzelle nehmen eine Reihe verschiedener Zytokine Einfluss. Als Wachstumsfaktoren für die Mastzelle seien hierbei IL-4, IL-9 und Stammzellfaktor (SCF) hervorgehoben. Die Differenzierung zu reifen Mastzellen wird durch IL-6 und TNF- α gefördert, dieser Vorgang wird durch Indomethacin als Prostaglandinsyntheseinhibitor gehemmt, ebenso durch IL-4, einem Wachstumsfaktor der Mastzelle. (Hu et al., 1997) Durch IL-10 werden Reifungs- und Wachstumsvorgänge der Mastzellen über autokrine Regelwege ebenfalls moduliert, eine antiinflammatorische Wirkung scheint hierbei dominant. (Lin et al., 1997)

Die vielfältige Rolle der Mastzelle spiegelt sich in der großen Bandbreite der Mastzell-Mediatoren wieder, denn über die für die Mastzelle bekannten biogenen Amine Histamin und Serotonin hinaus exprimiert die Mastzelle ein breites Spektrum verschiedener anderer Mediatoren wie Zytokine (Interleukin 3(IL-3), IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α), Leukämie inhibierender Faktor (LIF)), Enzyme (saure Hydrolasen, Chymasen, Phospholipasen, Ratten-Mastzell-Protease I (RMCP I), RMCP II, Tryptase), Lipid Metaboliten (Prostaglandine, Leukotriene, Plättchen-aktivierender Faktor (PAF)), Neuropeptide wie Vasoaktives-Intestinales-Peptid (VIP) und auch Stickstoffmonoxid (NO) und Adenosin (McKay/ Bienenstock, 1994, Gordon et al., 1990, Naclerio, 1999, White, 1999, Falus A. et al., 1992).

Neben dieser Vielfalt an Mastzellmediatoren fand man verschiedene Substanzen, welche die Freisetzung von Mediatoren aus der Mastzelle bewirken können. Dazu zählt Nerven-Wachstumsfaktor (NGF), verschiedene Neuropeptide wie Substanz P, Neurotensin oder Neuropeptid Y, aber auch natürliche und künstliche Polyamin-Gemische (Purcell und Atterwill, 1995) sowie Protamin (Patella et al., 1997).

Die Mastzelle leistet also in der Regulation der Entzündungsreaktion als Bindeglied zwischen Immunsystem und Nervensystem weit mehr als nur die Ig-E-vermittelte anaphylaktische Sofortreaktion.

Insbesondere in der Frühphase der Peritonitis ist der Mastzelle eine bedeutende Rolle durch die Freisetzung von TNF zuzuschreiben. Durch die TNF-vermittelte Stimulation von Makrophagen und Granulozyten und Chemotaxis von Fibroblasten trägt die Mastzelle zu einer schnellen Reaktion auf eine Infektion bei. (Malaviya et al., 1996, Echtenacher et al., 1996) Die Mastzelle fördert die Ausschüttung von Fibrin und Gerinnungsfaktoren in der Frühphase eines Infekts. Diese über Histamin vermittelte Reaktion trägt zur Isolierung des Infektgeschehens durch Abszessbildung bei. (Ramos et al., 1992)

Die Mastzelle ist der einzige ortsständige Zelltyp in Bindegewebe oder Transudaten, der auf einen Reiz hin das in zytoplasmatischen Granula gespeicherte TNF freisetzen kann. (Männel et al., 1996, Galli, 1993) Im Tierversuch konnte die frühe Einwanderung von Neutrophilen Granulozyten vermittelt durch die schnelle Freisetzung von TNF aus Mastzellgranula gezeigt werden. (Zhang et al., 1992)

Anhaltspunkte für die Bedeutung der Mastzelle in der Frühphase der Peritonitis zeigen sich auch in einer rein rechnerischen Dominanz: Bei immunhistochemischen Untersuchungen an Darmgewebe erwiesen sich 60% der Zellen mit Nachweis von TNF- α als Mastzellen. (Bischoff et al., 1999)

1. 1. 3. Aspekte des perioperativen Infektverlaufs

Da die Beeinflussung des perioperativen Infektverlaufs ein Ziel der hier dargelegten Arbeit ist, sollen die erwarteten Wirkmechanismen im perioperativen Infektverlauf im weiteren Verlauf dargestellt werden.

Die dem Körper zur Verfügung stehenden Abwehrmechanismen werden in spezifische und unspezifische Bereiche gegliedert, die jeweils zelluläre und humorale Bestandteile

haben. Dieses im Laufe der Evolution zu einem hochkomplexen Netz differenzierte System erlaubt dem Organismus die Unterscheidung einer Vielzahl unterschiedlicher Antigene von körpereigenen Stoffen, sowie die Eliminierung der Antigene unter Erhalt der eigenen Integrität. (Janeway, 1992)

Nachdem die erste mechanische Barriere (Haut, Mukosa) überwunden ist, treten zunächst unspezifische zelluläre Abwehrmechanismen hervor. Hierzu zählen Monozyten/ Makrophagen, Phagozyten (neutrophile und eosinophile Granulozyten) und natürliche Killerzellen. Von ihnen ausgehend erfolgt nach Phagozytose und Antigenpräsentation die Aktivierung der spezifischen zellulären (T-Lymphozyten) und humoralen (Immunglobuline von B-Lymphozyten) Abwehr. Neben der Antigenpräsentation wird durch die phagozytierenden Zellen auch die Entzündungsreaktion durch Freisetzung von LPS, einem Abbauprodukt aus der Bakterienzellwand, und die Sekretion von Zytokinen angeregt. (Heemken et al., 1997) Die Aktivierung des Komplementsystems auf dem klassischen Pfad (Antikörperabhängige Aktivierung) zeigt sich hierbei in ähnlichen CMRT's als effektiv und notwendig für die Immunantwort, während die Antikörper unabhängigen Aktivierungswege (Alternative und Lectin Pfade) nur unterstützende Wirkungen haben. (Celik et al. 2001)

Zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen gehören Interleukin 1 und IL-6 sowie Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α); durch Induktion der Akut-Phase-Proteine in der Leber und Verstärkung der Abwehrreaktion auf zellulärer Ebene tragen sie wesentlich zur Ausprägung einer Entzündungsreaktion im Rahmen einer Infektion bei. Auch ihre pyrogenen Wirkungen und ihre Förderung der Wundheilung sind hier von Bedeutung.

Dagegen bewirken antiinflammatorische Zytokine wie IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1ra), Transformations-Wachstums-Faktor- β (TGF- β) und lösliche Rezeptoren eine Begrenzung und Reduktion des Entzündungsgeschehen. (Hall et al., 1998) Das Zusammenspiel der pro- und antiinflammatorischen Faktoren ist für den Verlauf der Entzündungsreaktion und die Entwicklung einer Sepsis sehr bedeutend und wird zur Einteilung in Stadien genutzt.

Der Verlauf einer Infektion bis hin zur Sepsis wird in drei Stadien eingeteilt, die nur eine vereinfachte, klinische Sicht des komplexen Geschehens im Umfeld der Sepsis sein können.

Im ersten Stadium bleibt die Entzündungsreaktion durch das Gleichgewicht zwischen proinflammatorischen und antiinflammatorischen Faktoren lokal eingegrenzt (Platzer et al., 1995). Der Übergang in einen systemischen Prozess erfolgt im zweiten Stadium, wenn es nicht zu einem Gleichgewicht zwischen den pro- und antiinflammatorischen Faktoren kommt. Dann breitet sich die Entzündungsreaktion systemisch aus, bis es mit Ausprägung eines klinisch manifesten Schocks oder Multiorganversagens zum Übergang in das dritte Stadium kommt (Bone et al., 1996).

Die Ausbreitung der Infektion wird durch die Stressreaktion des Körpers mit Anstieg der Glukokortikoidspiegel erleichtert. Durch die Steroide vermittelt kommt es zur Apoptose der Mukosa-Plasmazellen und ihrer Vorläuferzellen. Der damit verbundene Abfall der IgA- und IgM-Expression führt zu einer leichteren Penetration der Mukosa durch die Bakterien und somit zur Ausbreitung der Infektion. (Coutinho et al., 1997)

Das Sepsisgeschehen wird neben der Vielzahl an verschiedenen Zytokinfreisetzungen auch durch funktionelle Veränderungen der zellulären Immunantwort beeinflusst. Dies berücksichtigt die Einteilung der Sepsis in eine erste, hyperinflammatorische Phase und eine zweite Phase der Immunparalyse, wie sie 1994 von Volk und Döcke vorgeschlagen wurde. Während der Immunparalyse zeigt sich so typischerweise die Zahl der Monozyten-Oberflächenmarker HLA-DR verringert (Barthlen W et al., 1994).

1. 1. 4. Verlauf des Septischen Schocks

Bei der Progredienz des septischen Prozesses bis hin zum Schock gilt es, die Unterschiede in der Pathophysiologie des Septischen Schocks gegenüber anderen Schockformen zu beachten. Im Gegensatz zu den anderen Schockformen, bei denen ein unzureichendes Sauerstoffangebot ursächlich im Mittelpunkt steht, kommt es zur

Ausprägung des septischen Schocksyndroms bei einem gesteigerten Sauerstoffbedarf in der Peripherie.

Durch die Einschwemmung von Lipopolysacchariden und anderen Bakterienbestandteilen in die Blutbahn werden verschiedene pathophysiologische Reaktionen ausgelöst:

- Freisetzung von Botenstoffen aus Zellen des Immunsystems, Endothelzellen, Thrombozyten
- Stimulation der humoralen Immunantwort
- Beeinflussung der Körpertemperatur (pyrogene Reaktion/ Fieber)
- Aktivierung der Blutgerinnung und Fibrinolyse
- Ausschüttung von Endorphinen
- Aktivierung des Komplementsystems

Darüber hinaus kommt es durch Kontraktion der postkapillären Venolen und einer Zunahme der Kapillarpermeabilität zu einer Volumenextravasation, die zu einer Störung der Mikrozirkulation führt. Durch die veränderten Oberflächeneigenschaften des Endothels und der Blutzellen in Verbindung mit dem veränderten Blutfluss in den Kapillaren kommt es zur Mikrothrombosierung im kapillaren Gefäßbett unter Verbrauch von Gerinnungsfaktoren (Sludge-Phänomen), was in der weiteren Folge durch Verlust der Homöostase zwischen Gerinnungs- und Fibrinolytischem System zur disseminierten intravasalen Gerinnung (DIG/ DIC) führt.

Durch den Anstieg der Blutspiegel von Entzündungsmediatoren und chemotaktischen Faktoren kommt es zu einem Verlust von Homing-Rezeptoren auf Monozyten und Neutrophilen. Auf diese Weise kommt es zu einer beeinträchtigten Mobilisation der zellulären Abwehr am Entzündungsherd. (Hasslen et al., 1991)

Im Rahmen des Endotoxinschocks von Bedeutung ist Adrenomedullin, ein vasodilatierend wirkendes Peptid, das in den glatten Muskelzellen der Gefäße produziert wird und von dort auf einen LPS-Stimulus hin freigesetzt wird und so zum Blutdruckabfall im Schock beiträgt. Es unterliegt einer positiven Rückkoppelung durch Glukokortikoide. (Hattori et al., 1998)

Der Verlauf des septischen Schocks gliedert sich in eine erste hyperdynamische Phase und eine anschließende hypodynamische Phase. Kennzeichnend für die hyperdynamische Phase -die frühe Phase des septischen Schocks- ist ein erhöhtes Herzminutenvolumen bei erniedrigtem peripheren Gefäßwiderstand, Hypotonie und verminderter arteriell-venöser Sauerstoffdifferenz. Laborchemisch zeigt sich oft eine Thrombopenie, Leukopenie, Hypokapnie und Laktatazidose, klinisch beobachtet man bei den Patienten neben einer Gesichtsrötung eine warme, rosige Haut, häufig Fieber und Schüttelfrost, eine somnolent/ verwirrte Bewusstseinslage und eine Hyperventilation.

Der Übergang in die hypodynamische Phase kann, je nach Verlauf, nach Stunden bis Tagen erfolgen. Ursächlich für die Progredienz sind die zunehmende Extravasation von Plasma in das Interstitium und die so bedingte Hypovolämie. Außerdem kommt es am Myokard zu systolischen Funktionsstörungen mit Reduktion des Schlagvolumens und der Ejektionsfraktion. Es besteht weiter eine Hypotonie bei nun erhöhtem peripherem Widerstand und vermindertem Herzzeitvolumen. Je nach weiterer Progredienz des Schockgeschehens kommt es zu Störungen verschiedener Organsysteme bis hin zu einem Multi-Organ-Versagen (Larsen et Feifel, 1994).

Die Ausprägung eines septischen Schocks als schwerwiegende Komplikation eines Infektgeschehens ist über die Wirkung der Zytokine hinaus mit dem Zusammenwirken einer Vielzahl anderer Mediatoren verbunden. Die Einzelwirkungen der ca. 100 zur Schockprogression beitragenden Substanzen näher zu erläutern, erscheint hier unangemessen.

Vielmehr soll hier der Schwerpunkt auf die Wirkungen von Histamin im Entzündungsgeschehen gelegt werden.

1. 2. Histamin als Mediator im inflammatorischen Geschehen: Interaktionen mit dem Neuroendokrinium

1. 2. 1. Historische Bedeutung von Histamin in Schock und Entzündung

Die Bedeutung von Histamin als Mediator im inflammatorischen Geschehen hat in den letzten Jahren einen Wandel erlebt. Seit 1920, als man die Histamin bedingte Dilatation und Permeabilitätsänderung von Kapillaren entdeckte und feststellte, dass die hochdosierte Gabe von Histamin ein tödliches Schockgeschehen hervorruft, hielt man Histamin für ein Schocktoxin.

Etwa 20 Jahre später postulierte Moon (Moon M.H., 1938) Histamin als alleinige und generelle Ursache für alle Arten von Schock. Die Gruppe um Hinshaw fügte 1960 Histamin in das pathogenetische Konzept zur Entstehung des Septischen Schocks ein, nachdem sie die Parallelen zwischen Histamin und Endotoxin bei der Wirkung auf die Gefäße erforscht hatten. Das auf dem Weltkongress für Physiologie 1962 in Leyden von Schayer vorgestellte Konzept des „Induzierten Histamins“ machte schließlich Histamin zum dominierenden Mediator im septischen Schockgeschehen.

In den darauffolgenden Jahren verblasste der „Ruhm“ von Histamin als Schockmediator ein wenig durch die Entdeckung von Substanzen mit höherem vasoaktivem Potential und anderen bislang unbekanntem Mediatoren wie Zytokinen, Leukotrienen, Plättchen-aktivierendem Faktor oder freien Sauerstoffradikalen, aber auch aufgrund von teilweise nicht schlüssigen Versuchsergebnissen. (Neugebauer, Rixen, Lorenz, 1993)

Erst durch die intensivere Beforschung der Interaktionen zwischen Immunsystem und Neuroendokrinium erlangte Histamin wieder eine gestiegene Aufmerksamkeit als Mastzellmediator mit immunmodulatorischen Wirkungen.

So fand man neben der länger bekannten Histaminfreisetzung im afferenten Schenkel der langen Schleife neuroendokriner Immuninteraktion durch Substanz P (Hargreaves

et al., 1991) auch eine neuroendokrin-immune Kommunikation über Sympatikusgrenzstrang und submandibuläre Speicheldrüsen mit Nerven-Wachstumsfaktor (NGF) und Mastzelldegranulierung als einem zentralen Mechanismus (Mathison et al., 1994).

Darüber hinaus konnte eine Funktion als Neurotransmitter für Histamin gesichert werden, insbesondere im Rahmen der neuroendokrinen Regulation der Prolaktin-Sekretion. Sowohl durch die verschiedenen Histaminrezeptoren als auch abhängig vom Wirkmechanismus (zentral oder systemisch) zeigten sich jeweils gegensätzliche Wirkungen. (Knigge, 1989)

Unabhängig von zugrundeliegenden Pathomechanismen zeigte sich in einer prospektiven kontrollierten klinischen Studie ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Sepsis und erhöhten Plasmahistaminspiegeln. Hier fand man bei Nichtüberlebenden signifikant höhere Plasmahistaminspiegel als in der Vergleichsgruppe Überlebender. (Neugebauer et al., 1996)

1. 2. 2. Histaminquellen und Arten der Freisetzung

Die Synthese von Histamin als biogenes Amin von L-Histidin geschieht durch enzymatische Decarboxylierung aus L-Histidin durch Histidindecaboxylase (HDC). Das neusynthetisierte Histamin wird in präformierten cytoplasmatischen Granula gespeichert, indem es an die anionischen Seitenketten von Proteoglykanen bindet. Neben der Freisetzung aus Mastzellen sind basophile Leukozyten eine weitere bedeutende Quelle für Histamin. Bei Untersuchungen an Zellen die durch Bronchiallavage bei gesunden Testpersonen gewonnen wurden zeigten sich bei etwa der Hälfte der Testpersonen eine Histaminfreisetzung aus Basophilen Zellen auf einen Kontakt mit *Staphylokokkus aureus* hin. (Clements et al., 1991) Aber auch T-Lymphozyten und adhärenzte Peritonealzellen besitzen die Fähigkeit zur Histaminsynthese. Das dort gebildete Histamin ist als Second-Messenger in interzellulären Signalübertragungsprozesse involviert, die durch Cimetidin (H₂-Rezeptorblocker) beeinflusst werden können (Aoi et al., 1989; Douer et al., 1989). Der

größte Teil des Histamins wird aber aus den präformierten Vesikeln der Mastzellen und Basophilen auf einen antigenen Stimulus hin freigesetzt.

Die Elimination erfolgt durch Oxidation an der Aminogruppe mittels Diaminoxidase. Besonders hohe Aktivitäten von Diaminoxidase werden im Dünndarm beobachtet, Das Enzym wird dort von den reifen Epithelzellen synthetisiert und kann von den kapillaren Bindungsstellen aus durch Heparin freigesetzt werden. Ein weiterer Abbauweg des Histamins erfolgt durch Methylierung am Imidazolring (Histaminmethyltransferase). (Nilsson et al., 1997)

1. 2. 3. Histaminrezeptoren

Die biologischen Effekte des Histamins werden durch Histaminrezeptoren an den Zielzellen initiiert. Neben den schon länger bekannten H1 und H2 Rezeptoren werden verschiedene Subtypen des H3 Rezeptors beschrieben, die alle im zentralen oder peripheren Nervensystem lokalisiert sind und dort die Freisetzung von Histamin und anderen Neurotransmittern steuern. (Schneider E et al., 2002) Neu entdeckt wurde ein vierter Histaminrezeptortyp, welcher sich hauptsächlich im Knochenmark und in peripheren hämatopoetischen Stammzellen nachweisen lässt. Die einzelnen Rezeptorsubtypen unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich ihrer Effekte und der Lokalisation, sie zeigen sich auch im Hinblick auf den biochemischen Signalübertragungsweg eigenständig. Der H2-Rezeptor weist in den Transmembrandomänen eine auffallende Homologie zu dopaminergen und β -adrenergen Rezeptoren auf (Falus A et al., 1992). Alle vier bekannten Histaminrezeptoren haben sieben Transmembrandomänen und sind an verschiedene G-Proteine gekoppelt, die intrazellulären Effektoren sind bei den einzelnen Subtypen aber unterschiedlich, genau wie sie sich auch durch die Reaktion auf spezifische Agonisten und Antagonisten unterscheiden lassen (Schneider E et al., 2002). Im H2-Rezeptorsystem findet sich cAMP, Phospholipase C und Kalzium als Second Messenger. Dagegen werden beim H1-Rezeptor biologische Effekte neben Kalzium und Phospholipase C auch durch NOS (Stickstoffmonoxyd-Synthase), cGMP und Phospholipase A2 vermittelt. (Schneider E et al. 2002)

1. 2. 4. Histaminwirkungen

Histamin ist über die Rezeptoren H₁, H₂, H₃ und H₄ in eine Vielzahl physiologischer als auch pathophysiologischer Prozesse involviert, zu denen nicht nur anaphylaktische und anaphylaktoide Reaktionen und vasomotorische Aktivitäten, sondern ebenso die Beeinflussung der Magensäuresekretion, Glukoneogenese und Glykogenolyse, die Funktion als Neurotransmitter, und- im Zusammenhang dieser Arbeit besonders wichtig- die Funktion als Mediator in immunologischen und entzündlichen Prozessen zählen.

Histaminrezeptoren werden auf einer großen Zahl verschiedener Zellen exprimiert, dabei variiert das Verhältnis zwischen den einzelnen Rezeptortypen nicht nur unter den verschiedenen Geweben, auch auf einer Zelle ist das Verhältnis zwischen H₁ und H₂ Rezeptoren dynamisch. Dies ist von großer Bedeutung, werden doch über die einzelnen Rezeptortypen mitunter konträre Wirkungen vermittelt. (Timmerman, 1991)

Die Expression von Histaminrezeptoren auf Zellen des Immunsystems, wie T- und B-Lymphozyten, Monozyten, Neutrophilen Granulozyten, aber auch auf Gliazellen und Nervenzellen lässt auf die breit gefächerten Wirkungen von Histamin als Mediator in immunologischen Prozessen schließen. (Falus A et al., 1992)

So beeinflusst Histamin die Produktion von verschiedenen Zytokinen je nach vermittelndem Rezeptortyp (H₁/H₂) und moduliert so die zytokingesteuerten Effekte. Neben der Regulation der Zytokinexpression durch Histamin unterliegt Histamin seinerseits einer Regulation durch einige Zytokine.

Die Freisetzung von Histamin und TNF- α wird durch Freisetzung von Gewebe-Wachstums-Faktor β_1 (TGF- β_1) auf einem autokrinen Regelweg inhibiert. (Bissonnette et al., 1997) Die IgE-vermittelte Freisetzung von TNF- α und anderen präformierten Mediatoren der Mastzelle wie Histamin und Prostaglandin D₂ lässt sich spezifisch über β -adrenerge Rezeptoren der Mastzelle durch β_2 -Agonisten inhibieren. (Bissonnette et al., 1997) Dies erklärt eine antiinflammatorische Wirkung von β_2 -Agonisten bei allergischem Asthma.

Histamin bewirkt auf Monozyten eine durch H₂-Rezeptoren vermittelte Herabregulierung der IL-1- und TNF- α Expression in der Frühphase einer Infektion, wirkt stimulierend auf die Produktion von IL-2 und IFN- γ , nach T-Zell Aktivierung supprimiert Histamin die Produktion von IL-2 und wirkt negativ auf IFN- γ . Beide Wirkungen werden über H₂-Rezeptoren vermittelt und lassen sich mit dem H₂-Blocker Cimetidin inhibieren. (Arad et al., 1996)

Durch LPS wird die endogene Histaminproduktion über eine HDC-Aktivitätssteigerung stimuliert, der zugrundeliegende Mechanismus führt möglicherweise über IL-1. Der erhöhte Histaminspiegel wiederum trägt zur vermehrten Produktion von IL-6 bei. Über einen negativen Rückkoppelungsmechanismus, der auf TNF- α und IL-1 wirkt, erklärt sich der negative Effekt von Histamin auf die T-Zell Funktion.

Ein weiterer Mechanismus, über den Histamin das Immunsystem beeinflusst, ist die modulatorische Wirkung auf einige Neurotransmitter und Hypophysenhormone wie ACTH, β -Endorphin, Prolaktin und TSH. Histamin wirkt auf alle oben aufgeführten Hormone stimulierend, einzig TSH wird durch Histamin supprimiert (Falus et Merety, 1992) Zur Veranschaulichung der verschiedenen Histamin-Wirkungen auf Zytokinebene siehe auch Abbildung 1.

Über das in der Abbildung illustrierte Zusammenspiel hinaus besteht nach neueren Erkenntnissen ein ausgeprägter inhibitorischer Effekt von Histamin auf die Produktion von IL-12 durch Monozyten. Dieser Effekt wird durch H₂-Rezeptoren vermittelt. (Tineke et al., 1998)

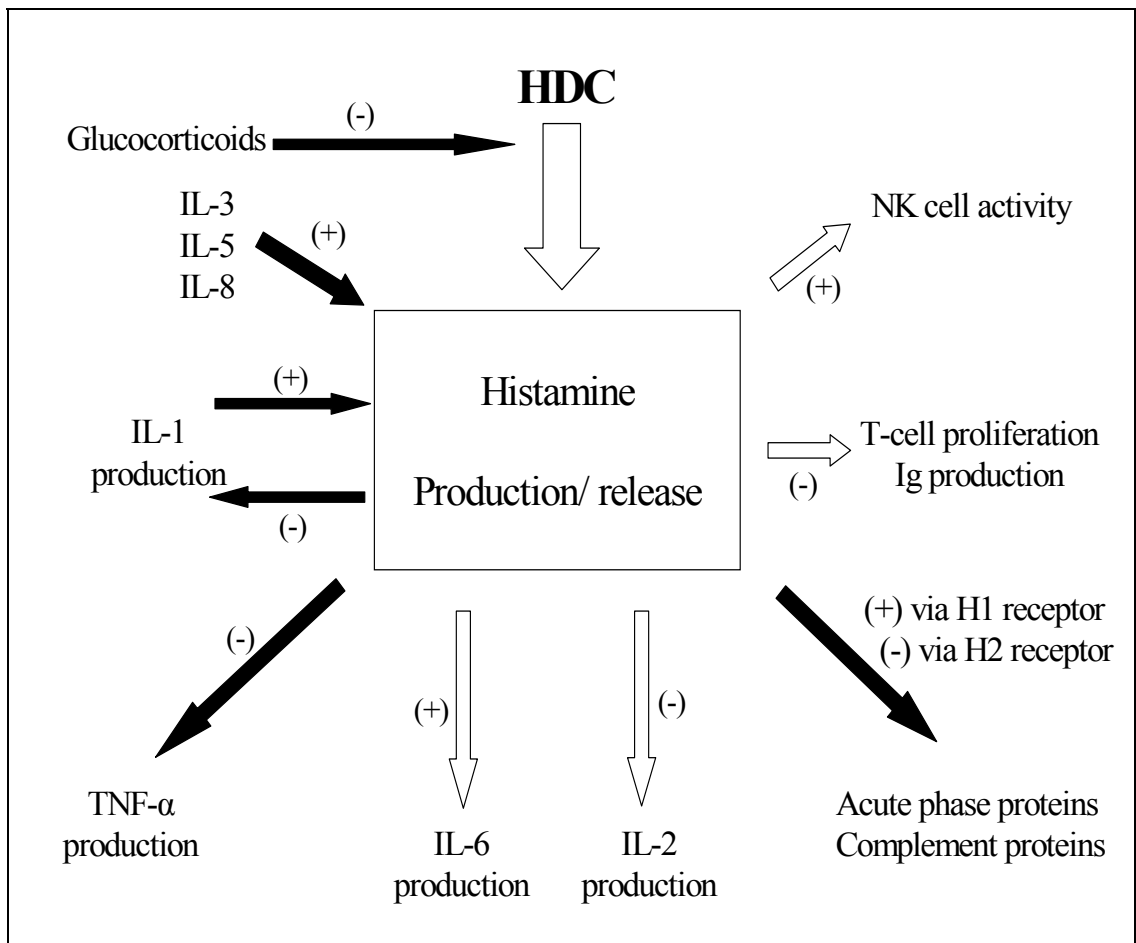


Abbildung 1: Wechselwirkungen zwischen Histamin und Zytokinen
 modifiziert aus Falus et Merety, 1992

Zusammenfassend geht man davon aus, dass Histamin in physiologischen Konzentrationen die immunologischen Funktionen unterstützt, während es in einem pathophysiologischen Umfeld immunsuppressorische Eigenschaften hervorbringt. Die oben skizzierten Regelkreise führen dann zu einer verminderten Lymphozyten-Neubildung, Zytokin- und Antikörperproduktion, reduzierter NK-Zell-Aktivität und Neutrophilen-Chemotaxis. Im Blut von Patienten mit metastasiertem Kolonkarzinom konnte Nielsen an Natürlichen-Killer-Zellen eine signifikante Aktivitätssteigerung durch den H2-Blocker Ranitidin nach IL-2-Stimulation nachweisen. Eine Verbesserung der Immunfunktion durch alleinige Ranitidingabe trat hingegen nicht auf. (Nielsen et al., 1995)

Neben den Wirkungen auf das Immunsystem kommt im Kontext des septischen Schocks den Histaminwirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem eine weitere Bedeutung zu. Die unterschiedlichen Rezeptortypen vermitteln dabei gegensätzliche Wirkungen. So bewirkt Histamin via H1-Rezeptoren an Gefäßen eine Vasokonstriktion, während über H2-Rezeptoren eine Vasodilatation geschieht (Levi et al., 1991). Der positiv inotropen, chronotropen und dromotropen Wirkung des Histamins am Herzmuskel, welche durch H2-Rezeptoren bewirkt wird, stehen genau konträre Wirkungen über H1-Rezeptoren entgegen.

Neuere Untersuchungen zeigten eine Beteiligung von Histamin an der Signalgebung für die Triggerung der zirkadianen Rhythmik. Hier werden über verschiedene Histaminrezeptoren auf unterschiedlichen Ebenen der Signalgebung zum Teil gegensätzliche Wirkungen vermittelt. Eine genauere Klärung der zugrundeliegenden Mechanismen steht noch aus. (Jacobs et al., 2000)

1. 3. Die Bedeutung adjuvanter Therapieverfahren bei Peritonitis und Sepsis

1. 3. 1. Aktuelle klinische Situation

Trotz aller Fortschritte in der Intensivmedizin und dem breiten Spektrum hochwirksamer Antibiotika stellt das Krankheitsbild der perioperativen Peritonitis und Sepsis auch heute noch eine ernste Bedrohung dar. Die Mortalitätsraten liegen heute bei schwerer Sepsis zwischen 30 und 50%, ein sicher nicht zufriedenstellendes Niveau, das zu weiterer Forschung auf diesem Gebiet auffordert.

Der Grund für die relative Stagnation der Mortalitätsraten bei schwerer Peritonitis und Sepsis liegt nicht an der mangelnden Effektivität der verwendeten Antibiotika, vielmehr ist er in der Pathophysiologie des Krankheitsbildes zu suchen.

Die inflammatorische Reaktion, die bei einer Sepsis beobachtet wird, unterscheidet sich klinisch in seinen Kardinalsymptomen nicht von systemischen Entzündungsreaktionen, deren Ursachen nicht infektiös sind. Zu solchen Ursachen zählen neben Pankreatitiden, Ischämien und Schock auch Polytraumata und Autoimmunerkrankungen.

Insbesondere für die von einer Peritonitis ausgehenden Sepsisverläufe sei auf die Sensibilität des Peritoneums auf physikalische Reize durch Gasinsufflation im Rahmen von Laparoskopien hingewiesen, da sich hier trotz der Verfeinerung chirurgischer Technik eine zusätzliche Destabilisierung des Immunsystems und der Hämodynamik zeigt, welche weitgehend unabhängig vom verwendeten Gas ist. (Holthausen et al. 1998)

Die unter den Bedingungen einer Peritonitis gefundenen Daten sind jedoch nicht kongruent zu den von Kehlet et al. 1998 publizierten Daten, die eine Verringerung der Entzündungsparameter (CRP und IL-6) und bessere Lungenfunktion bei laparoskopisch operierten Patienten fanden

1. 3. 2. Bisherige immunmodulatorische Therapieansätze

Die Kontrolle der Entzündungsreaktion stellt einen wichtigen Ansatzpunkt zur Verbesserung der Therapie der Sepsis dar. Durch ein differenziertes Eingreifen in die generalisierte Entzündungsreaktion die Abwehrkräfte zu bündeln, scheint ein möglicher Mechanismus zu sein, um das Outcome bei septischen Patienten zu verbessern. Die Forschung hat in den letzten Jahrzehnten durch ein zunehmendes Verständnis des Immunsystems immer wieder theoretisch aussichtsreiche Therapieansätze hervorgebracht, die in präklinischen Versuchsreihen durchaus erfolgversprechende Ergebnisse zeigten, in der klinischen Realität aber in aller Regel nicht überzeugen konnten. (Marshall, 2000) Eine Ausnahme bildet dabei das aktivierte Protein C. Präklinische Studien und auch eine große klinische Studie konnte einen entsprechenden Einfluss auf die Mortalität zeigen (Vincent et al., 2002)

Für das Scheitern der verschiedenen adjuvanten Therapieansätze lassen sich mehrere Faktoren benennen. Bei der großen Komplexität eines beeinflussten Systems wie der des Immunsystems lassen sich durch die Menge der möglichen Wechselwirkungen nur schwer die Gesamtwirkung eines einzelnen geänderten Parameters vorhersagen. (Horn, 1998) Weiterhin ist in den meisten präklinischen Untersuchungen die therapeutische (verschiedene Prophylaxen z.B. Antibiotika, Heparin, Katecholamine etc.) und chirurgische Intervention (Re-Laparotomie, Lavage etc.) nicht berücksichtigt worden. Dies führte dann in der klinischen Situation zu unvorhergesehenen Wechselwirkungen und Interaktionen.

Die den meisten Experimenten zugrundeliegenden Modelle bilden nur einen vermeintlich relevanten Teil der realen Situation ab. Bei der Komplexität des Immunsystems oder gar des gesamten Organismus und einem vielschichtigen Krankheitsbild wie der Sepsis sollten die Modelle diese Komplexität des Originals aber möglichst weitgehend anstreben. Durch Unzulänglichkeiten in der Modellvorstellung können getestete Substanzen in Modellen wirksam sein und so als neue Hoffnungsträger in die Klinik eingeführt werden, wo sie dann aber den erhofften Benefit nicht erbringen (Deitch EA, 1998).

Beim Einsatz der verschiedensten immunmodulierenden Substanzen in Studien blieb die Dynamik des Entzündungsgeschehens weitgehend unberücksichtigt. Im Verlauf einer generalisierten Entzündungsreaktion tritt eine kompensatorische Herabregulierung der Entzündungsparameter bis hin zur Immunparalyse ein. Um eine gezielte immunmodulierende Therapie durchzuführen, ist also die Kenntnis des aktuellen Zustands des Immunsystems nötig. Erst hiermit scheint eine differenzierte immunmodulierende Therapie möglich. (Kox et al., 2000)

In der Vergangenheit sind so eine größere Zahl an randomisierten klinischen Studien durchgeführt worden, die häufig die aus den Modellversuchen begründete Hoffnung auf Benefit für die Patienten nicht bestätigen konnten. Siehe hierzu Tabelle 1.

			Placebo		Verum	
Autor	Jahr	Substanz	n	Mortalität	n	Mortalität
Bone et al.	1987	Methylprednisolon	190	25%	191	34%
VA Cooperative	1987	Methylprednisolon	111	22%	112	21%
Zeigler et al.	1991	HA-1A (anti-LPS)	281	43%	262	39%
Greenman et al.	1991	E-5 (anti-LPS)	239	41%	247	40%
Dhainaut et al.	1994	PAF-Rezeptor Antagonist	150	51%	132	42%
Fisher et al.	1994	Rekomb. Human IL-1ra	302	34%	591	30%
Bone et al.	1995	E-5 (anti-LPS)	412	26%	418	28%
Abraham et al.	1995	Anti-TNF mAb	326	33%	655	30%
Cohen et al.	1996	Anti-TNF mAb	167	40%	386	37%
Fisher et al.	1996	TNF-R:Fc Fusionsproteine	33	30%	108	44%
Abraham et al.	1997	p55 TNF-R:Fc Fusionsproteine	140	39%	358	35%
Bernard et al.	1997	Ibuprofen	231	40%	224	37%
Bernard et al.	2001	Drotrecogin α : aktiv. Protein C	840	30.8%	850	24,7%

Tabelle 1: Vergleich verschiedener prospektiver, kontrollierter, randomisierter, klinischer Doppelblindstudien (Deitch, 1998, Vincent et al., 2002)

1. 3. 3. Histaminantagonisten als Immunmodulatoren

Neben den oben aufgeführten Studien mit immunmodulierenden Substanzen wurden im Bereich der perioperativen Peritonitis/ Sepsis schon seit etwa 1960 auch mit den verschiedensten Histaminantagonisten und Histaminagonisten Studien und Versuche durchgeführt (Neugebauer E et al., 1993).

Bei einem Teil der Arbeiten war der theoretische Hintergrund jedoch noch nicht auf einen immunmodulatorischen Wirkmechanismus des Histamins ausgelegt, vielmehr standen die hämodynamischen Effekte bei der Beurteilung der Wirksamkeit im Vordergrund. Darüber hinaus sei auf den Einsatz von Antihistaminikaprophylaxen zur Reduktion der Histaminfreisetzung bei der Gabe verschiedener Narkosemittel hingewiesen. Hier konnte durch eine Antihistaminikaprophylaxe (H1+H2-Rezeptor Blocker) die Inzidenz und Ausprägung von anaphylaktoiden Reaktionen erheblich (signifikant) reduziert werden. (Doenicke/ Lorenz, 1982) (Lorenz et al 1994)

Die erhobenen Parameter, die Aussagen über die Wirkungen der getesteten Histaminantagonisten auf den Verlauf eines septischen Schocks erlauben sollten, waren in aller Regel direkte oder indirekte Kreislaufparameter wie Blutdruck, Puls, zentraler Venendruck, pulmonal-arterieller Druck, Hämatokrit, extravasale Lungenflüssigkeit, Harnausscheidung, myokardiale Kontraktilität; aber auch metabolisch/ respiratorische Parameter wie pH, pCO₂, pO₂, Glukose oder Laktat wurden zum Wirkungsnachweis bestimmt.

In anderen Ansätzen wurde als Parameter für die Wirksamkeit der Therapie die verzögerte Hypersensibilitätsreaktion als zelluläre Immunreaktion herangezogen. In Bezug auf die erwartete Beeinflussung des Schockgeschehens muss für alle Parameter die Frage nach ihrer Validität gestellt werden, und so sollte man kritisch hinterfragen, ob die Veränderung in der verzögerten Hypersensibilitätsreaktion valide einen Benefit für den Verlauf des Schocks repräsentiert.

Durch neuere Erkenntnisse aus der Immunologie gelangten die Antihistaminika wieder mehr ins Blickfeld der Sepsisforschung, diesmal jedoch mehr aus Sichtweise der Immunologen. Die neueren Studien mit Antihistaminika im Bereich der Sepsis/Peritonitis beziehen sich so in ihrem theoretischen Hintergrund auf die immunmodulatorischen Wirkungen des Histamins, die weiter oben näher aufgeführt sind.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen kamen als Antihistaminika zwei Wirkstoffe zur Anwendung. Als H1-Antagonist wurde Dimetinden verwandt, für die H2-Antagonisierung fiel die Wahl auf Cimetidin. Ausschlaggebend für die Wahl der Antihistaminika waren die im Rahmen der Mainz-Marburg-Studie unter derselben Antihistaminikakombination gefundenen signifikanten Vorteile für eine H1+H2-Rezeptorblocker-Prophylaxe im Rahmen allgemein-chirurgischer Operationen (Lorenz et al., 1994). Darüber hinaus erwies sich die Kombination von Dimetinden und Cimetidin im Tierversuch als überlegen gegenüber Kombinationen mit anderen H2-Antagonisten wie Ranitidin und Famotidin (Celik et al., 1998).

Die im Rahmen der klinischen Studie verwendete Dosiskombination diente für die jetzt beschriebenen Studien als Maßgabe für die Dosisfindung bei der Ratte.

Beide Histaminrezeptorantagonisten sind nicht Medikamente der neuesten Generation, insbesondere die H1-Rezeptorantagonisten der zweiten Generation weisen eine höhere Selektivität für den H1-Rezeptor auf und scheinen für den Einsatz bei allergischer Rhinitis für den Patienten vorteilhafter zu sein. Insbesondere die geringeren zentralen Nebenwirkungen seien hier herausgestellt. (Day, 1999) Durch die bisherigen Erfahrung im Bereich der adjuvanten Sepsis- und Peritonitistherapie fiel im Rahmen der hier beschriebenen Untersuchungen die Wahl auf Cimetidin und Dimetinden, insbesondere auch aus dem Grund, weil hierfür die meisten präklinischen und klinischen Daten vorliegen.

Als Nebenbemerkung sei für Cimetidin angeführt, dass sich bei *in vitro* Versuchen eine antiretrovirale Wirkung erzielen ließ. Cimetidin war hierbei stärker wirksam als andere

H2-Antagonisten wie Ranitidin und Famotidin. Der genaue Wirkmechanismus bleibt hierbei bislang unbekannt. (Bourinbaiar et al., 1996)

Neben dem Einsatz von Antihistaminika als Immunmodulatoren im Umfeld der Mastzelle gibt es auch andere Ansätze zur Beeinflussung der Mastzelle. So zeigte sich bei einem Patienten mit aggressiver systemischer Mastozytose ein gutes Ansprechen auf eine Therapie mit Cyclosporin und niedrig dosiertem Methyl-Prednisolon. (Kurosawa et al., 1999)

1. 4. CMRT (Klinik modellierende randomisierte Studien) als Weiterentwicklung bisheriger Tierversuchskonzepte

1. 4. 1. Direkter klinischer Bezug

Bei der retrospektiven Analyse bisheriger Tierstudien im Bereich der Sepsis und des Schocks zeigen sich immer wieder Diskrepanzen zwischen den zum Teil vielversprechenden Ergebnissen der Tierstudien und den daraufhin initiierten klinischen Studien. Die Ursachen dafür sind vielfältig, neben den Unterschieden in der Physiologie und Pathophysiologie bei Mensch und Versuchstier ist ein weiterer hervorzuhebender Grund die Abweichung der Versuchsbedingungen von der klinischen Realität.

Gerade bei einem Forschungsgebiet, das direkten Bezug zur Klinik hat, sollte somit die größtmögliche Nähe und damit Vergleichbarkeit zur klinischen Realität angestrebt werden. Dies schließt sowohl praktische Gesichtspunkte bei der Versuchsdurchführung als auch eine Studiendurchführung nach etablierten Standards der klinischen Forschung ein.

Zu den praktischen Gesichtspunkten, die bei der Konzeption des Versuchsaufbaus und der Versuchsdurchführung bedacht werden müssen, zählen neben den direkt auf die Pathophysiologie einflussnehmende Faktoren wie Art, Beschaffenheit und

Applikationsmodus des pathogenen Agens, zeitlicher Ablauf von Medikamentengabe und Initialisierung des Pathomechanismus auch Faktoren im Umfeld, die eine indirekte Beeinflussung des Verlaufs bewirken können. Hierzu zählt die Wahl eines geeigneten Anästhesieverfahrens genauso wie die Berücksichtigung von Volumensubstitution oder die Applikation der Medikamente auf klinisch relevantem Weg.

Neben den oben erwähnten Stichpunkten bei der direkten Versuchsdurchführung gilt es aber auch eine Reihe weiterer Punkte zu beachten, die eine weitestgehende Annäherung an die Klinik auch im Hinblick auf die Standards bei der Durchführung klinischer Studien zum Ziel haben. Zu den Standards, die Beachtung finden sollten, zählen Verblindung, Randomisierung, Einschlusskriterien, Dropoutkriterien, Beachtung der „Intent to treat“-Regel und auch die Fallzahlberechnung. (Lorenz et al., 1988; Lorenz et al., 1994; Bauhofer et al., 1998) Das von uns hier angewandte Konzept der Klinik-modellierenden randomisierten Tierstudie (CMRT= clinic modelling randomised trial) wird als Bindeglied zwischen klassischen Laborexperimenten und klinischen Phase II/III- Studien gesehen, es beinhaltet die oben angeführten Maßgaben, welche auch bei der Durchführung klinischer Studien Beachtung finden sollen. Die hierbei erreichte Komplexität der Versuchsanordnung entspricht so weitgehend dem Szenario im klinischen Bereich (Celik et al., 1998)

1. 4. 2. Defizite verschiedener Tierversuchskonzepte

Deitch (Shock, 98) analysierte die verschiedenen Tiermodelle, die in der Beforschung von Sepsis und Schock bislang Verwendung fanden. Dabei fand er in den meisten Modellen methodisch/ strukturelle Schwächen, die für die Entstehung von Diskrepanzen zwischen präklinischer und klinischer Forschung ursächlich sein können.

So beeinflusst die Art und Applikationsform des pathogenen Agens die Ausprägung der Sepsis oder Peritonitis ganz erheblich. Zu den Unzulänglichkeiten der verwendeten Modelle zählen die Verwendung nicht-infektiöser Agenzien, wie Lipopolysacchariden (LPS), das Fehlen von Therapiemaßnahmen wie Flüssigkeitssubstitution und antibiotischer Behandlung, aber auch Verfahren der Initiierung von Sepsis, die die klinische Infektentstehung und Ausbreitung nur unzureichend widerspiegeln, so die

intravenöse Gabe von Bakteriensuspensionen oder die Gabe einzelner, isolierter Bakterienstämme.

Von den von Deitch ausgewählten Tiermodellen sind nach seiner Meinung lediglich das Modell der zökalen Ligatur und Perforation (Punktion) und das Modell der intraperitonealen Platzierung eines infizierten Fibrinpfropfes klinisch relevant, da hierbei auch die Möglichkeit der Ausprägung einer frühen, hyperdynamen Schockphase besteht.

Die von Deitch geäußerten Kritikpunkte an den bisherigen Tierversuchsmodellen bestätigen das von uns benutzte und im Hinblick auf eine möglichst nahe Klinikadaptation noch weiterentwickelte Tiermodell. In manchen Punkten konnte gegenüber den bisher etablierten Tiermodellen sogar eine noch weitergehende Angleichung an die klinische Realität erreicht werden.

1. 4. 3. Klinik modellierende Konzeption des Tiermodells

Die strengstmögliche Orientierung an klinischen Verhältnissen in Bezug auf das medizinische Procedere zeigt sich in der von uns gewählten Versuchsdurchführung an den hier näher aufgeführten Stichpunkten.

Die Wahl des Narkosemittels und Narkoseverfahrens unter Verwendung von Fentanyl berücksichtigt die immunsuppressorische Wirkung des Fentanyls (Shavit, 1991), während die Kombination von Fentanyl und Droperidol als Neuroleptikum aus praktischen Gesichtspunkten heraus geschieht, da eine Beatmung der Ratten nicht praktikabel ist, und unter der Verwendung der Kombination Fentanyl/ Droperidol ein ausreichender Atemtrieb verbleibt.

Die initiale Gabe von intraperitoneal applizierter Narkoselösung mindert den auf die Tiere einwirkenden Stress, analog zur üblichen Prämedikation in der Anästhesie.

Erst in einem zweiten Schritt wird durch Anlage eines intravenösen Katheters ein Zugangsweg geschaffen, der für die Gabe der weiteren Medikamente genutzt wird und dem üblichen Applikationsweg in der Klinik entspricht.

Die Gabe von Antibiotika, Volumensubstitution und Antihistaminikaprophylaxe erfolgt zweizeitig. Eine Erstdosis wird in der präoperativen Phase verabreicht, entsprechend den heute üblichen Prophylaxen in der Darmchirurgie. Die Zweitdosis wird eine Stunde nach Beginn der Infektion verabreicht, damit wird ebenfalls der klinische Verlauf modelliert, wo es in der Regel nicht möglich ist, den exakten Beginn eines infektiösen Prozesses wie zum Beispiel einer Nahtinsuffizienz abzapassen.

Die verwendeten Dosierungen und Medikamente sind direkt aus dem klinischen Alltag entwickelt, um so eine Vergleichbarkeit zur Klinik zu gewährleisten und nicht durch Verwendung anderer Dosierungen eine Verzerrung zu erzielen.

Die Dosisanpassung gilt auch für die verwendete infektiöse Stuhlsuspension, wobei hierfür in Vorversuchen Dosiswirkungskurven erstellt werden mussten, anhand derer sich die für die entsprechende Fragestellung benötigte Mortalität einstellen ließ.

Durch die Verwendung von humaner, standardisierter, aliquotierter Stuhlsuspension ist eine genaue Reproduzierbarkeit des Schadens gewährleistet, zudem ist die Wirksamkeit des Antibiotikums auf ein humanes Keimspektrum abgestimmt.

Neben dieser strengstmöglichen Orientierung an den medizinischen Eckpunkten der Sepsistherapie kommt der Modellierung von klinischen Studien weitere Bedeutung zu.

Im Gegensatz zu bisherigen Tiermodellen wird beim CMRT-Konzept (Clinic modelling randomised trial) auf die Beachtung von etablierten Standards der Durchführung klinischer Studien besonderer Wert gelegt.

2 Fragestellung der Arbeit

Die vorliegende Dissertation bearbeitet im Umfeld von Stressresponse, Mastzellaktivierung und dem perioperativen Verlauf chirurgischer Infektionen die Frage des Einflusses einer perioperativen Antihistaminikaprophylaxe in Klinik modellierenden randomisierten Tierstudien.

Frage:

Wie beeinflusst eine perioperative Antihistaminikaprophylaxe das Überleben bei postoperativer Kontamination und Infektion in Klinik modellierenden, randomisierten Tierstudien (CMRT) an der Ratte?

3 Material und Methoden

3.1. Studiendesign

Das Studiendesign basiert auf einem etablierten, Klinik modellierenden Tiermodell mit postoperativer, peritonealer, polymikrobieller Kontamination und Infektion bei Ratten, welches hinsichtlich einer weitergehenden Modellierung randomisierter klinischer Studien weiterentwickelt wurde. (Lorenz et al., 1994; Celik et al., 1998; Bauhofer et al., 1998)

Die Studie wurde im Rahmen des Sonderforschungsbereichs (SFB) 297, Projekt A8, am Institut für theoretische Chirurgie der Philipps-Universität Marburg unter Leitung von Prof. Lorenz und Dr. Celik durchgeführt. Die für die Durchführung der Tierversuche notwendige Genehmigung wurde auf Grund des Antrags von Herrn Dr. Celik durch die zuständige Ethikkommission in Gießen erteilt.

Der Studie liegt ein einfacher Parallelversuch (H1/H2-Antihistaminikaprophylaxe gegen physiologische Kochsalzlösung als Placebo) zu Grunde.

Nach Austitrierung einer Dosis-Wirkungs-Kurve für die verwendete Stuhlsuspension wurden zunächst Vorversuchsreihen zur Fallzahlberechnung und Dosisfindung der verwendeten Antihistaminika für eine definitive Studie durchgeführt, nachfolgend schloss sich entsprechend der Fallzahlberechnung und Dosisfindung eine definitive Studie an.

Die entsprechenden Vorversuche und Dosisfindungsexperimente bis hin zum definitiven Hauptversuch sollen im folgenden Abschnitt dargestellt werden.

3. 2. Fallzahlberechnung

3. 2. 1. Berechnung der Fallzahlen für Vorversuche

Zur Berechnung der erforderlichen Gruppengröße wurde die folgende Formel nach Friedmann verwendet (Friedmann, 1985)

$$N = \frac{\left(z_{\alpha} \sqrt{2\bar{p}(1-\bar{p})} + z_{\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right)^2}{(p_2 - p_1)^2}$$

Es wird ein α -Fehler von 0,025 angenommen (Verwerfung der Nullhypothese, obwohl Gleichheit vorliegt). Zur Berechnung der Gruppengröße wird ein β -Fehler von 0,1 (der Test ergibt keine Unterschiede, obwohl solche vorliegen) verwendet, so lassen sich geringfügige Behandlungsunterschiede erfassen und die Sicherheit der Testaussage wird erhöht.

Als weiterer Parameter zur Berechnung der Gruppengröße ist die bedeutsame Differenz für die Studie mit $\delta = 0,5$ angegeben. Dabei bezeichnet p_1 die Erfolgsrate (bzw. Mortalitätsrate) für die Antihistaminikagruppe, p_2 dagegen bezeichnet die Erfolgsrate (Mortalitätsrate) für die Placebogruppe. Des weiteren gilt $\bar{p} = \frac{1}{2} (p_1 + p_2)$, die kritischen Werte der Standardnormalverteilung zum Signifikanzniveau α und zu einer Power des Tests von $1-\beta$ sind z_{α} und z_{β} .

Für das Modell der fäkalen Peritonitis der Ratte wird eine Mortalität von 80% für die unbehandelte Kontrollgruppe angenommen, während für die Verumgruppe eine Mortalität von 30% angenommen wird, dieser Wert entspricht der Mortalitätsrate bei Sepsispatienten mit einer Antibiotikaphylaxe.

Somit werden für die Fallzahlberechnung die Parameter wie folgt festgelegt:

$p_1 = 0,3$; $p_2 = p_1 + d$, also $p_2 = 0,8$; $\alpha = 0,025$; $\beta = 0,1$; $1-\beta = 0,9$

Bei Verwendung dieser Parameter ergibt sich eine Gruppengröße von $n= 18$ Tieren. Um eventuell auftretende Narkosetote aufzufangen, wird die Gruppengröße auf 20 Tiere pro Gruppe festgelegt.

3. 2. 2. Berechnung der Fallzahlen für definitive Versuche

Für die Berechnung der Gruppengröße der definitiven Versuche findet die oben angeführte Formel gleichfalls Verwendung.

Angepasst an die Ergebnisse der Vorversuche, ergibt sich so ein $p_1= 0$ und ein $p_2= 0,25$. Die übrigen Parameter der Formel bleiben unverändert.

Somit errechnet sich für die definitiven Versuche eine Fallzahl von $n= 30$ Tiere pro Gruppe.

3. 3. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von ca. 200-250g benutzt. Es werden keine weiblichen Tiere benutzt, weil durch Schwankungen aufgrund des Zyklus eine Beeinflussung der Ergebnisse zu befürchten ist. Alleinige Bezugsquelle für die Tiere ist die Firma Charles River Wiga in Sulzfeld.

Die Tierhaltung erfolgt in Macrolonkäfigen unter Standardbedingungen mit 27°C Raumtemperatur, 55% relativer Luftfeuchtigkeit und einem künstlichen 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus für mindestens 4 Tage präoperativ. Bis 12 Stunden vor OP erhalten die Tiere eine Diät aus Altromin R1324 (Fa. Altromin GmbH, Lage) und Wasser ad libidum, bis zum OP-Zeitpunkt dann nur Wasser, postoperativ erhalten die Tiere wieder die ursprüngliche Diät.

3. 4. Präparation der Stuhlsuspension

Für alle Versuche wird eine standardisierte Stuhlsuspension verwendet. Es werden Stuhlproben verschiedener gesunder Spender gesammelt und unter standardisierten anaeroben Bedingungen aufgearbeitet.

Unverzüglich nach der Spende wird dem Stuhl im Volumenverhältnis 1:1 reduzierte Thioglycolatboullion zugesetzt, die zehn Gewichtsprozent steriles Bariumsulfat und zehn Volumenprozent Glyzerin enthält. Die Boullion wird bereits am Tag zuvor vorbereitet (14,5g Thioglycolat, 50g Bariumsulfat und 500ml Wasser) und über Nacht mittels Stickstoffbegasung reduziert. Dieser Suspension wird 0,19mg/100ml aus boviner Leber aufgereinigte Katalase zugefügt (entspricht 2000-5000 U/mg). Anschließend wird die Suspension für 10 Minuten im Mixer püriert, bis sie makroskopisch homogen wirkt und dann unter einer anaeroben Werkbank durch chirurgische Gaze filtriert. Die so präparierte Stuhlsuspension wird in sterilen Glasröhrchen als Einzeldosen von 5-10 ml aliquotiert und bei -80°C tiefgefroren gelagert. Unter diesen Bedingungen ist eine gleichbleibende Stuhlqualität für mindestens zwölf Monate gegeben, so dass bei allen Versuchen eine vergleichbare Stuhltoxizität gegeben ist (Lorenz et al. 1994).

3. 5. Histaminantagonisten

In der Studie wurde als H1-Antagonist Dimetinden und als H2-Antagonist Cimetidin verwendet. Die ausgetesteten Dosiskombinationen orientieren sich an der Mainz-Marburg-Studie (Lorenz et al.,1994) und an Tierversuchen, in denen auch andere Antihistaminika in Kombination getestet wurden (Celik et al. 1998). Als Grundlage für die angewandten Dosiskombinationen an der Ratte dienen die Studien von Neugebauer et al. (1987). Hierbei ist zu beachten, dass die Studien an einem Endotoxin-Schock Modell durchgeführt wurden, für die aktuellen Studien hingegen ein fäkales Peritonitis Modell Anwendung findet.

Ausgehend von der auch beim Menschen getesteten Dosiskombination mit 0,1 mg/kg KG Dimetinden (Fenistil[®]) und 5 mg/kg KG Cimetidin (Tagamet[®]) wurden Dosiswirkungsversuche sowohl für die Einzelsubstanzen als auch für die Kombinationsdosen durchgeführt. Die Wirksamkeit der effektivsten Dosiskombination wurde anschließend auf ihre Wirksamkeit bei hohem Schaden (entsprechend hohe Menge an fäkalem Inokulum), das heißt einer hohen Mortalität des Kollektivs, als auch bei niedrigem Schaden, also einer niedrigen Mortalität des Versuchskollektivs, getestet.

3. 6. Materialien und Reagenzien

Auflistung der verwendeten Materialien und Reagenzien:

Ringer- Lösung DAB 7, 500ml Infusionsflaschen, Fa. Braun, Melsungen

Isotone Kochsalzlösung 0,9%, in 250ml Infusionsflaschen, Fa. Braun, Melsungen

Aqua ad injectabile, 100ml Stechampullen, Fa. Braun, Melsungen

Tramundin[®] 100 Injektionslösung, Mundipharma

Augmentan[®] i.v. 2,2g Infusionsflasche, Smithkline Beecham Pharma

Tavanic[®] 500mg /100ml Infusionsflasche, Hoechst AG

Clont[®] 500mg /100ml Infusionsflasche, Bayer AG

Dehydrobenzperidol, 25mg/ 10ml Ampullen, Janssen GmbH, Neuss

Fentanyl, 0,5mg/ 10ml Ampullen, Janssen GmbH, Neuss

Tagamet[®] 1000mg/ 10ml Ampullen, Smithkline Beecham Pharma

Fenistil[®] Injektionslösung 4mg/ 4ml Ampullen Zyma GmbH

Vicryl[®] 3/0 SH Ethicon Nahtmaterial, Norderstedt

Sterican[®] Kanüle Microlance 0,55*25 Nr. 17

Venofix[®] 0,5 *15 mm. ,Braun Melsungen

Braunüle[®] 2,2mm. Orange, Venenverweilkatheter, Braun Melsungen

Histoacryl[®] Gewebekleber, Braun Melsungen

Omnifix[®] 1ml. Einmalspritze ,Braun Melsungen

Einmalartikel:

Latex Handschuhe

Spritzen 2ml, 10ml.

Falcon Tubes 50 ml.

Reaktionsgefäßständer (grau) für Falcon Tubes

Stickstoffdruckgasflasche mit Druckregulation und Gummischlauch

Operationsbesteck:

Schere (klein/ groß)

Pinzette (anatomisch / chirurgisch)

Nadelhalter

Leukosilk®

Alufolie

Styroporplatten

Stuhlsuspension „MIX 2“

3. 7. Versuchsdurchführung

Zur eindeutigen Identifizierung werden die Ratten mit Ohrmarken markiert. Vom Vorabend der OP an bleiben die Ratten nüchtern (Wasser ad libitum), nachdem sie zuvor per Random den vier Versuchsgruppen zugeordnet wurden. Die Gruppengröße liegt je nach Versuch zwischen 10 und 30 Tieren; die Stuhldosis variiert für die verschiedenen Versuche zwischen 0,5 und 1,1 ml/kg KG „Mix 2“ Stammlösung. Die Gruppeneinteilung ist wie folgt: Gruppe A nur Antibiotikum + Placebo, Gruppe B Antibiotikum und versuchsspezifische Antihistaminika-Kombination. Um die zu applizierende Medikamenten- und Stuhlmenge zu bestimmen, werden die Ratten gewogen.

3. 7. 1. Vorbereitung der Medikamente

Die angegebenen Dosierungen der Narkoselösung, der Volumensubstitution, der Schmerzmedikation waren in allen aufgeführten Versuchsreihen gleich, lediglich die

Dosierungen der Antihistaminika, der Antibiotika und des Inokulums wurden versuchsspezifisch variiert.

Am Morgen des Versuchstages werden die benötigten Medikamente in den entsprechenden Konzentrationen vorbereitet:

Augmentan[®] 2,2g Trockensubstanz (2g Amoxicillin; 0,2g Clavulansäure) wird mit 50ml Aqua ad injectabile aufgelöst; man erhält dann eine Konzentration von 40/4 mg/ml. Diese Lösung wird mit Ringer-Lösung im Verhältnis 1:12 weiterverdünnt. Bei der so erhaltenen Verdünnung appliziert man dann 10/1 mg/kg KG bei 3ml/kg KG. Um eine Beeinflussung der Wirksamkeit durch Lichtexposition zu vermeiden, umwickelt man das Röhrchen mit Alufolie.

Tavanic[®] (500mg Levofloxacin in 100ml Lösung) wird im Verhältnis 1:5 mit Ringerlösung verdünnt. Man appliziert von dieser Verdünnung 3mg/kg KG bei 3ml/kg KG. Um eine Beeinflussung der Wirksamkeit durch Lichtexposition zu vermeiden, umwickelt man das Röhrchen mit Alufolie.

Clont[®] (500mg Metronidazol in 100ml Lösung) wird im Verhältnis 1:15 mit Ringerlösung verdünnt. Von dieser Verdünnung appliziert man 1mg/kg KG bei 3ml/kg KG. Um eine Beeinflussung der Wirksamkeit durch Lichtexposition zu vermeiden, umwickelt man das Röhrchen mit Alufolie.

Tagamet[®] (100mg/ml) soll in einer Dosis von 1-10mg/kg KG gegeben werden; um 5 oder 10 mg/kg KG zu applizieren wird die Stammlösung im Verhältnis 1:40 mit NaCl 0,9% verdünnt und somit erhält man eine Endkonzentration von 2,5mg/ml. Man injiziert dann den Tieren von der Verdünnung 2ml/kg KG um 5 mg/kg KG zu dosieren; für die 10 mg/kg KG Dosis erhalten die Tiere 4ml/kg KG der verdünnten Lösung. Für die Dosierung von 1 mg/kg KG verdünnt man die Gebrauchslösung nochmals 1:5 mit Kochsalzlösung; bei der so erhaltenen Endkonzentration von 0,5mg/ml injiziert man 2ml/kg KG, um die gewünschte Dosis von 1mg/kg KG zu verabreichen.

Fenistil[®] soll in einer Dosis von 0,1-1 mg/kg KG verabreicht werden. Aus Gründen der Handhabung verdünnt man die Stammlösung (Fenistil[®] Ampulle, 4mg in 4ml) zur

Gebrauchslösung für die Dosierung 0,5 und 1 mg/kg KG im Verhältnis 1:4 mit NaCl 0,9%; die Endkonzentration beträgt dann 0,25 mg/ml. Von der so erhaltenen Verdünnung appliziert man den Tieren 2 ml/kg KG, um ihnen 0,5 mg/kg KG zu applizieren, Die Tiere, die 1 mg/kg KG bekommen, erhalten 4 ml/kg KG derselben Gebrauchslösung. Zur Herstellung der Gebrauchslösung für die Dosierung von 0,1 mg/kg KG verdünnt man die Stammlösung im Verhältnis 1:20 mit NaCl 0,9%; die Endkonzentration beträgt dann 0,05 mg/ml. Um die gewünschte Dosis von 0,1 mg/kg KG zu applizieren, spritzt man den Tieren 2 ml/kg KG.

Die entsprechende Placebo-Lösung bestand aus 0,9% NaCl.

Zur Herstellung der Narkoselösung mischt man jeweils eine 10 ml Ampulle Fentanyl (0,05 mg/ml) und Dehydrobenzperidol (2,5 mg/ml). Die Endkonzentration der Narkoselösung beträgt dann 0,025 mg Fentanyl / ml und 1,25 mg Droperidol / ml.

Die Herstellung der Gebrauchslösungen von Antibiotikum und Antihistaminika erfolgt zur Vermeidung von Kontaminationen unter der Cleanbench (Sterilbank).

3. 7. 2. Vorbereiten der Stuhlsuspension

Die Stuhlsuspension wird spätestens 20 min. vor der Verwendung aufbereitet, indem man die aufgetaute Suspension mit Ringerlösung im Verhältnis 1:5 verdünnt. Zusätzlich schafft man sich anaerobe Bedingungen durch Einleiten von Stickstoffgas über eine Stahlkanüle, die hierfür durch den Deckel des Falcon Tubes eingeführt wird. Um z.B. eine beabsichtigte Stuhlmenge von 0,7 ml/kg KG der Stammlösung einzubringen, gibt man von der 1:5 verdünnten Gebrauchslösung 3,5 ml/kg KG.

3. 7. 3. Präoperative Versuchsphase

Von der oben beschriebenen Narkoselösung appliziert man 4 ml/kg KG als Narkose intraperitoneal (i.p.); zur i.p.-Injektion werden die o.a. Sterican Microlance[®] Kanülen

und die Omnifix[®] 1ml-Spritzen verwendet, mit deren Hilfe die Dosierung auch kleinerer Volumina sicher gelingt. Der Zeitpunkt der Injektion wird dokumentiert.

Nach Einsetzen der Narkosewirkung schafft man sich durch Punktion einer lateralen Schwanzvene einen Zugang. Den verwendeten Venofix[®] -Katheter fixiert man mit einem Tropfen Histoacryl[®] Gewebekleber an der Punktionsstelle.

Die Versuchsgruppen erhalten eine Stunde vor dem Eingriff die individuell errechnete Menge an Antibiotikum und anschließend 1ml Ringerlösung als Volumengabe.

15 Minuten vor dem Eingriff erhalten alle Tiere die individuell errechnete Menge Tagamet[®], unmittelbar danach appliziert man das entsprechende Volumen an Fenistil[®]; die Kontrollgruppe erhält zum Zeitpunkt -15min jeweils 1ml 0,9% NaCl-Lösung als Placebo

3. 7. 4. Operative Versuchsphase

Unmittelbar vor dem Eingriff erhalten die Ratten eine Narkosenachinjektion von jeweils 0,1ml intravenös. Die dann ausreichend narkotisierte Ratte fixiert man in Rückenlage mit einem Leukosilk[®] -Klebestreifen über den Brustkorb (cave: Einschränkung der Atemexkursion) und jeweils einem über die Hinterbeine auf einer mit Alufolie bezogenen Styroporplatte (zur Wärmeisolation). Vor dem Eingriff zieht man die zu injizierende Stuhlmenge in einer 2ml Spritze auf und hält diese griffbereit.

Das mit einer Pinzette angehobene Fell wird dann mit einer Schere im Sinne eines medianen Bauchschnittes auf einer Länge von ca. 2cm eröffnet. Anschließend präpariert man vorsichtig, möglichst ohne Gefäße zu verletzen, die geraden Bauchmuskeln frei. An der nun sichtbaren medianen Faszie setzt man eine Haltenaht. Nun kann man unter leichtem Zug an der Haltenaht in unmittelbarer Nähe einen paramedianen Schnitt zur Eröffnung des Bauchraumes setzen.

Durch diesen ca. 0,5 - 1 cm langen Schnitt kann man mittels einer oben näher bezeichneten Braunüle[®] das Inokulum sicher i.p. ins kleine Becken einbringen. Nach erfolgter Injektion wird unter kontinuierlichem Zug an der Haltenaht (cave: Vermeide

Reflux von Inokulum!) der Bauchraum zweischichtig wieder verschlossen. Hierbei ist besonders auf eine suffiziente Abdichtung des Bauchraums zu achten.

Zum Abschluss wird mit ausreichend vielen Einzelknopfnähten die Bauchhaut ebenfalls wieder verschlossen.

3. 7. 5. Postoperative Versuchsphase

Eine Stunde nach dem Eingriff erfolgt eine nochmalige i.v.-Gabe des Antibiotikum und anschließende Applikation von einem Milliliter Ringerlösung als Volumensubstitution.

Nach beendetem i.v.-Programm löst man den Katheter von der Schwanzhaut und entfernt ihn. Zur postoperativen Analgesie injiziert man den Ratten 5mg (100µl) Tramundin[®] s.c., indem man die Nackenhaut mit zwei Fingern abhebt und in die sich bildende Hautfalte einsticht. Die durchgeführten Maßnahmen sind jeweils im Protokoll zu dokumentieren.

Während des gesamten Versuchs ist eine optische Kontrolle der Vitalfunktionen indiziert, um gegebenenfalls schnell reagieren zu können.

Nun schließt sich die postoperative Beobachtungsphase an, in der die Tiere zunächst für 12 Stunden stündlich, später in größeren Zeitabständen observiert werden und ggf. der Tod eines Tieres dokumentiert wird. Die Beobachtung endet nach 120 h. An diesem Endpunkt wird die Mortalität in den Versuchsgruppen verglichen.

Der zur Dokumentation des Versuchsablaufs am Einzeltier verwendete Protokollbogen ist in Abbildung 2 dargestellt. Eine zeitliche Übersicht (Ablauf am einzelnen Tier) des Versuchsablaufs ist Schema 1 zu entnehmen.

Datum:

Gruppe (Kürzel):

SFB297 (Ratte)

Gewicht:

Markierung:

Nüchtern seit:

Geschlecht: männlich

Operateur:

Lieferdatum:

	Zeit:	Bemerkungen:	
Narkose			
nachgespritzt (0,1 ml/kg KG <u>i.v.</u>)	Uhrzeit		
1. AB-Gabe (t = -1 h)		1ml Ringer vorab	
Blutentnahme (t= -1h)		1,5ml Blut + 80µl K-EDTA	
H1/H2-Prophyl. (t = -30 min) oder Plazebogabe bei Kontrolle		1. Tagamet (H2): ml 2. Fenistil (H1): ml Kontrolle: ml NaCl 0,9%	
nachgespritzt (0,1/5mg/kg KG H1/H2) oder Placebo 0,9%NaCl	Uhrzeit/ Datum		
Inokulum (t = 0 h)		ml Stuhlsusp.(1:5 verdünnt)	
2. AB-Gabe (t = +1 h)		1ml Ringer vorab	
1. Tramal-Gabe (t = +1 h)		100 µl	
Blutentnahme (t=+1h)		1,5ml Blut +80 µl K-EDTA	
Tod		Datum:	

Medikamente (Applikationsarten):

Narkose: Fentanyl 0,05 mg/ml + Droperidol 2,5 mg/ml, 3 ml/kg KG i.p.

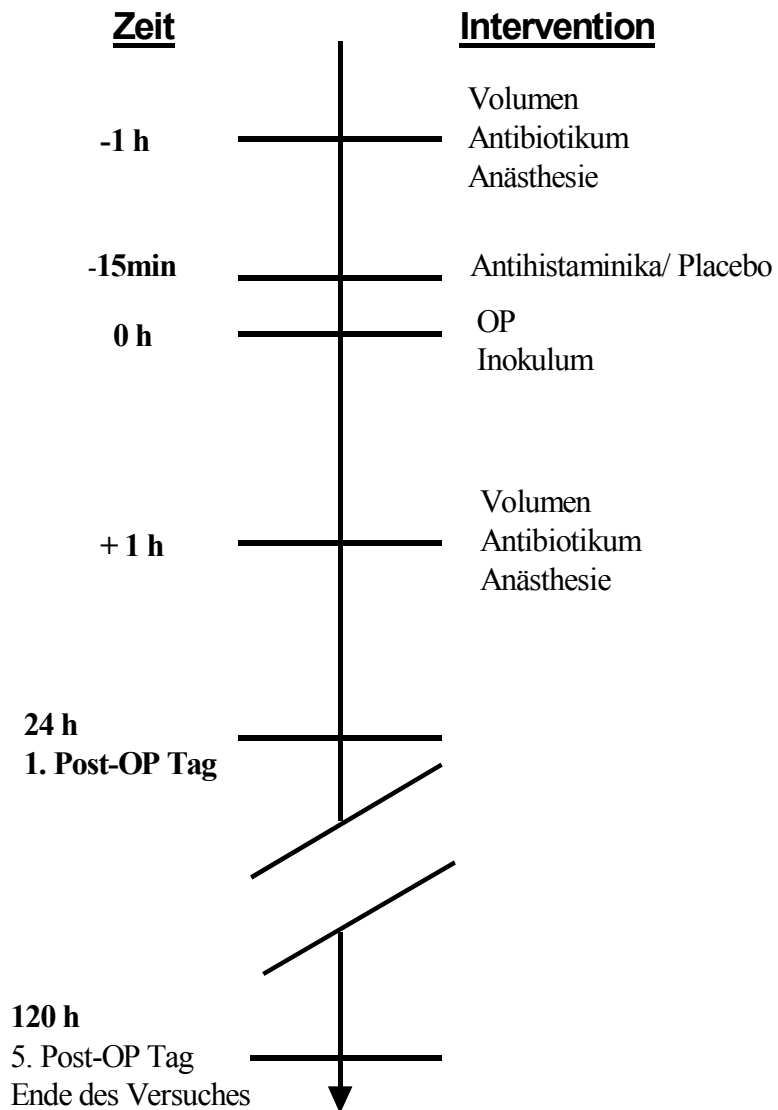
Antibiotika: Augmentan (2,2g) 3ml/kg i.v.

postop. Analgesie: Tramundin® 100 s.c. (50 mg Tramadolhydrochlorid/ml); 100µl

Inokulum: 1,0 ml/kg der Stuhlsuspension „Mix-2“ i.p.

Abbildung 2: Standardisierter Protokollbogen für jedes einzelne Tier

Schematische Darstellung des Versuchsablaufs bei Perioperativer Antihistaminikaprophylaxe



Schema 1: Darstellung des Versuchsablaufs auf der Zeitachse

3. 8. Statistische Auswertung

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche werden als Mortalitätsraten angegeben. Es werden Mittelwerte der einzelnen Versuchsgruppen mit Standardfehler und 95%-Konfidenzintervall angegeben. Für die Bewertung der Mortalitätsraten oder Survival-Raten nach 120 h Beobachtungszeit wurde der χ^2 -Test angewandt, dabei wurde als Signifikanzniveau ein $p < 0,05$ für die Bestätigung der Hypothese angenommen.

Für die Beurteilung der mittleren Überlebenszeit zwischen zwei Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Der Log-Rank-Test diente der Beurteilung des Verlaufs der Überlebenskurven (Kaplan-Meier-Analyse). Auch hier wurde ein $p < 0,05$ als signifikant gewertet.

4 Ergebnisse

4.1. Ergebnisse der Vorversuche

4.1.1. Erstellung der Dosiswirkungskurve für das fäkale Inokulum

Um für die weiteren Versuche die gewünschte Mortalität anhand des applizierten Inokulums einstellen zu können, wurde zunächst eine Stuhl-Dosis-Wirkungskurve erstellt. Hierzu wurde den Tieren unter Gabe der klinisch relevanten Dosis von 10/1 mg/kg KG Amoxicillin/Clavulansäure eine definierte Inokulumgabe intraperitoneal verabreicht. Die einzelnen Gruppen erhielten 0,5; 0,6; 0,7; 0,9 und 1,1 ml/kg KG der Stammlösung „Mix 2“. Die verwendete Gruppengröße lag hier bei 10 Tieren je Gruppe.

Die ermittelten Überlebensraten unter Gabe von 10 mg/kg KG Co-Amoxiclav lagen bei den getesteten Stuhldosen zwischen 100% und 10%. Im einzelnen zeigte sich bei 0,5 ml/kg KG ein Überleben von 100% (10/10 Tiere), bei 0,6 ml/kg KG eine Überlebensrate von 60% (6/ 10), bei 0,7 ml/kg KG lag die Überlebensrate bei 40% (4/ 10), bei 0,9 ml/kg KG waren es 30% (3/ 10), und bei 1,1 ml/kg KG überlebten nur 10% (1/10) der Gruppe den Beobachtungszeitraum, siehe hierzu Abbildung 3.

Anhand der so erstellten Stuhl-Dosis-Wirkungskurve ist ersichtlich, dass die Erhöhung der Stuhldosis mit der Zunahme der 120h- Mortalitätsraten korreliert. Abbildung 4 verdeutlicht dies anhand des sigmoidalen Kurvenverlaufs. Die Stuhlsuspension, die nach dem entsprechenden Protokoll hergestellt wurde, ist dadurch auf ihre Aktivität geprüft worden und konnte dann bei -80°C für die gesamte Anzahl der Tiere in dieser Untersuchung verwendet werden. Dieses Vorgehen sichert identische Versuchsbedingungen für alle Tiere. Die Haltbarkeit der aliquotierten Stuhlsuspension beträgt mindestens 1 Jahr.

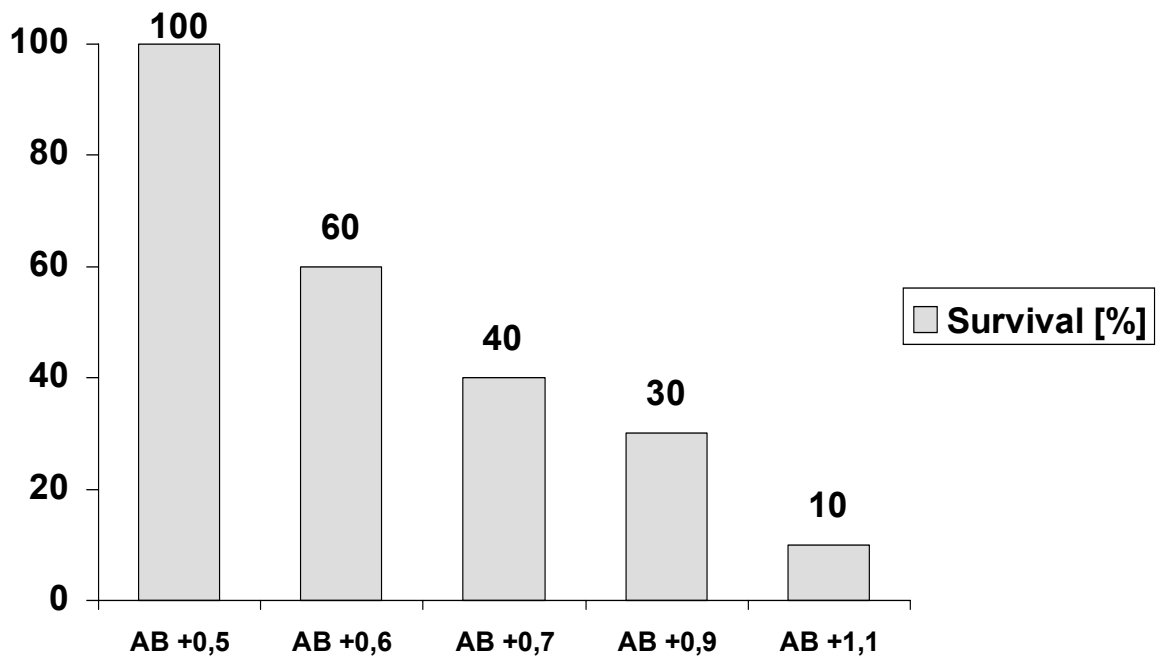


Abbildung 3: Verteilung der Überlebensraten in Abhängigkeit zur Stuhldosis (Stuhldosis- Wirkungskurve) bei konstanter i.v. Antibiotikadosis (AB)

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhlsuspension (Mix 2)= 0,5; 0,6; 0,7; 0,9; 1,1 ml/kg KG (1:5 Verd.)

n=10 Tiere pro Gruppe

Stuhl-Dosis-Wirkungskurve

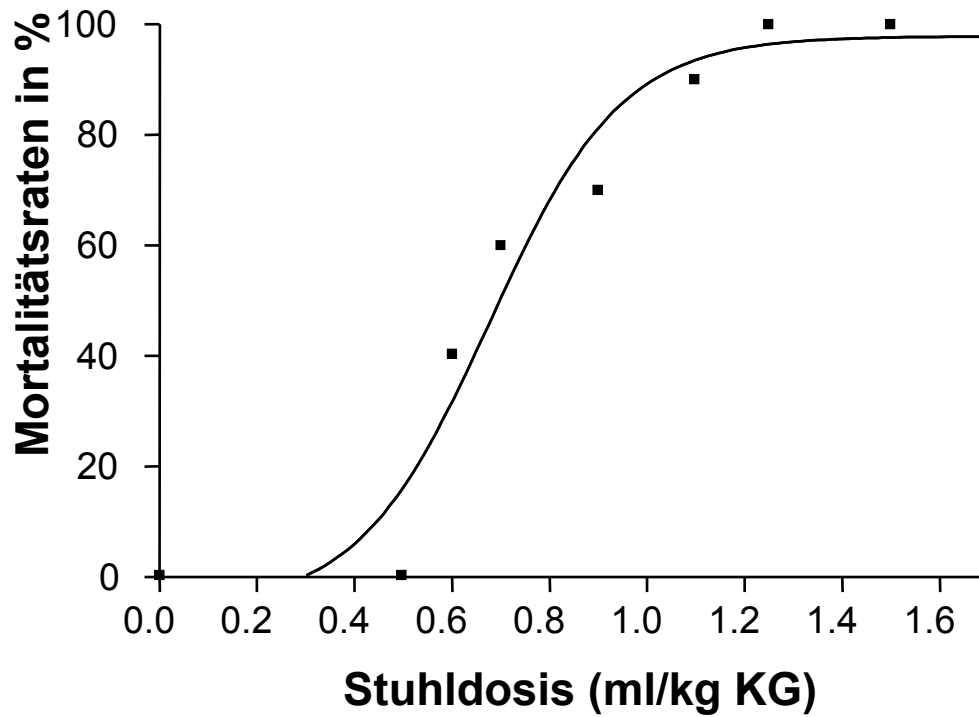


Abbildung 4: Darstellung der Mortalitätsraten nach 120h Beobachtungszeitraum in Abhängigkeit der verwendeten Stuhldosis für Stuhl „Mix 2“ (Sigmoidaler Verlauf nach Lorenz et al., 1994)

4. 1. 2. Dosisfindung für Antihistaminika-Kombination

Nach Erstellung der Stuhl-Dosis-Wirkungskurve wurde die Dosiskombination ermittelt, bei der die verwendeten Antihistaminika die größte Reduktion der Mortalität über den Versuchszeitraum zeigten.

Ausgehend von einer Kombination von 0,5 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin wurde die Dosis von Dimetinden mit 0,1 mg/kg KG und 1 mg/kg KG variiert, die Cimetidindosis blieb dabei gleichbleibend 5 mg/kg KG.

Dabei erwies sich die Dosiskombination von 0,1 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin als beste getestete Kombination hinsichtlich der Reduktion der Mortalität über den Beobachtungszeitraum. Die so ermittelte Dosiskombination wurde bei der definitiven Studie ausgetestet.

Die gefundenen Überlebensraten lagen für die Kombination von 0,5 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin bei 90% (18/ 20) nach 120 Stunden Beobachtungszeit. Die mittlere Überlebenszeit betrug hierbei 114h, das 95% Konfidenzintervall lag zwischen 106 und 122h, der Standardfehler betrug 4. Die Steigerung der Dimetindendosis auf 1 mg/kg KG bei gleicher Cimetidindosis ergab ein Überleben von 85% (17/ 20) der Tiere. Hierbei betrug die mittlere Überlebenszeit 112h, das 95% Konfidenzintervall lag zwischen 101 und 124h, der Standardfehler war 6. Bei der Kombination von 0,1 mg/kg KG Dimetinden mit der Ausgangsdosis Cimetidin überlebten 100% (20 /20) der Tiere den Versuchszeitraum, entsprechend entfällt das 95% Konfidenzintervall und der Standardfehler. Die parallel nur mit Antibiotikum behandelte Kontrollgruppe zeigte ein Überleben von 75% (15/ 20) mit einem 95% Konfidenzintervall zwischen 102 und 119h bei einer mittleren Überlebenszeit von 110h. Der Standardfehler lag hier bei 4. Veranschaulicht werden die gefundenen Ergebnisse in Abbildung 5 und 6.

Bei drei Freiheitsgraden ergab der χ^2 -Test $p = 0,114$. Der Log-Rank Test ergab ebenfalls bei drei Freiheitsgraden ein $p = 0,13$.

Lediglich der Vergleich der Placebogruppe mit der Gruppe, welche die in der definitiven Studie eingesetzte Dosiskombination erhalten hat (0,1 mg/kg KG

Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin), zeigte signifikante Unterschiede im χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad , der weiter unten beschrieben ist.

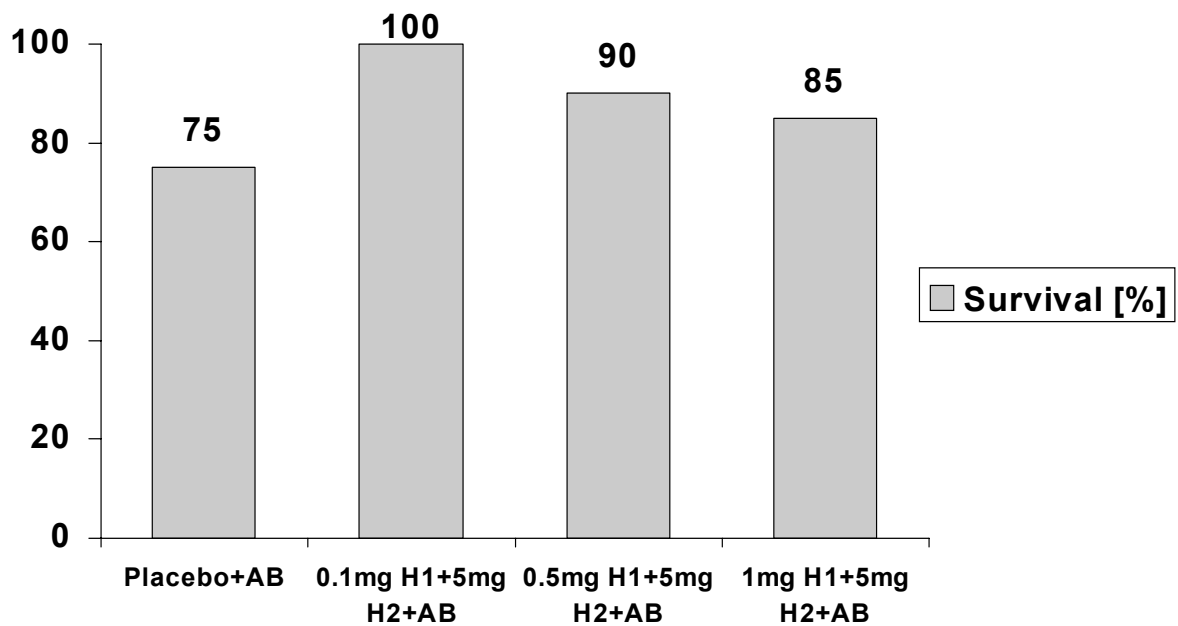


Abbildung 5: Darstellung der Überlebensraten für die getesteten Dosiskombinationen von Dimetinden bei konstanter Cimetidindosis

H1-Antag.= Dimetinden= 0,1-1mg/ kg KG ; H2-Antag.= Cimetidin=5 mg/ kg KG;

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2) = 0,7 ml/kg KG (1:5 Verd.)

n=20 Tiere pro Gruppe

χ^2 -Test: p= 0,114

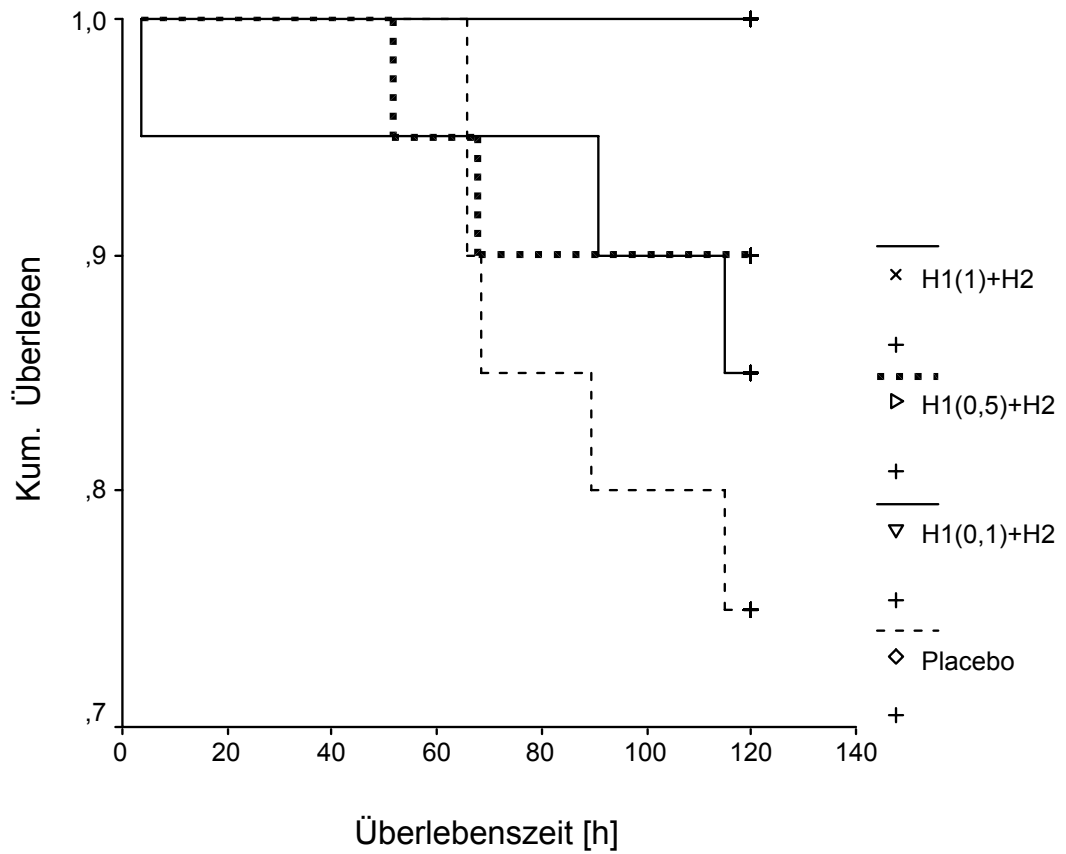


Abbildung 6: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für verschiedene Dimetindendosen und konstanter Cimetidindosis (5 mg/kg KG) im Vergleich zur Placebogruppe.

4. 1. 3. Vergleich von Einfach-Prophylaxe und Mehrfachgabe

Um die Frage nach der Wirksamkeit einer über mehrere Tage fortgeführten Antihistaminika-Therapie im Hinblick auf eine Beeinflussung des Überlebens beantworten zu können, wurden Versuche gemacht, in denen die Tiere entweder einmalig perioperativ oder jeweils auch an den postoperativen Tagen (insgesamt viermalig) die Antihistaminika-Kombination erhielten. Eine Kontrollgruppe ohne Antihistaminika wurde mitgeführt. Es wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt: eine Versuchsreihe, welche die Wirksamkeit der Prophylaxe bei einem hohen Schaden (hohe Mortalitätsrate) durch das eingebrachte Inokulum zeigen sollte, und eine zweite Versuchsreihe mit derselben Zielsetzung bei geringem Schaden (niedrige Mortalitätsrate). Die dabei applizierte Dosiskombination der Antihistaminikaprophylaxe bestand aus 0,5 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin.

Am Ende des Beobachtungszeitraums wiesen die Tiere in der stärker geschädigten Versuchsreihe folgende Überlebensraten auf:

Bei einer Überlebensrate von 45% (9/ 20) in der Kontrollgruppe zeigten die Tiere nach Einmalgabe der Antihistaminikaprophylaxe 70% (14/20) Überleben, die Tiere nach Mehrfachgabe zeigten 65% (13/ 20) Überleben.

Die mittlere Überlebenszeit betrug in der Placebogruppe 82h (Mittelwert), das 95%-Konfidenzintervall lag dabei zwischen 65 und 99 h, der Standardfehler war 9. In der Gruppe mit Einfachprophylaxe lag die mittlere Überlebenszeit bei 98h, das Konfidenzintervall lag zwischen 83 und 114 h, der Standardfehler in dieser Gruppe war 8. Die Gruppe der mehrfach behandelten Tiere zeigte eine mittlere Überlebenszeit von 101h, dabei lag das Konfidenzintervall zwischen 84 und 117h, der Standardfehler war 8. Der für zwei Freiheitsgrade berechnete χ^2 -Test erbrachte einen p-Wert = 0,23. Der Log-Rank Test für zwei Freiheitsgrade war p = 0,19. Die gefundene Mortalitätsdifferenzen zwischen den Gruppen sind somit nicht signifikant unterschiedlich. Abbildung 7 und 8 veranschaulichen die ermittelten Ergebnisse.

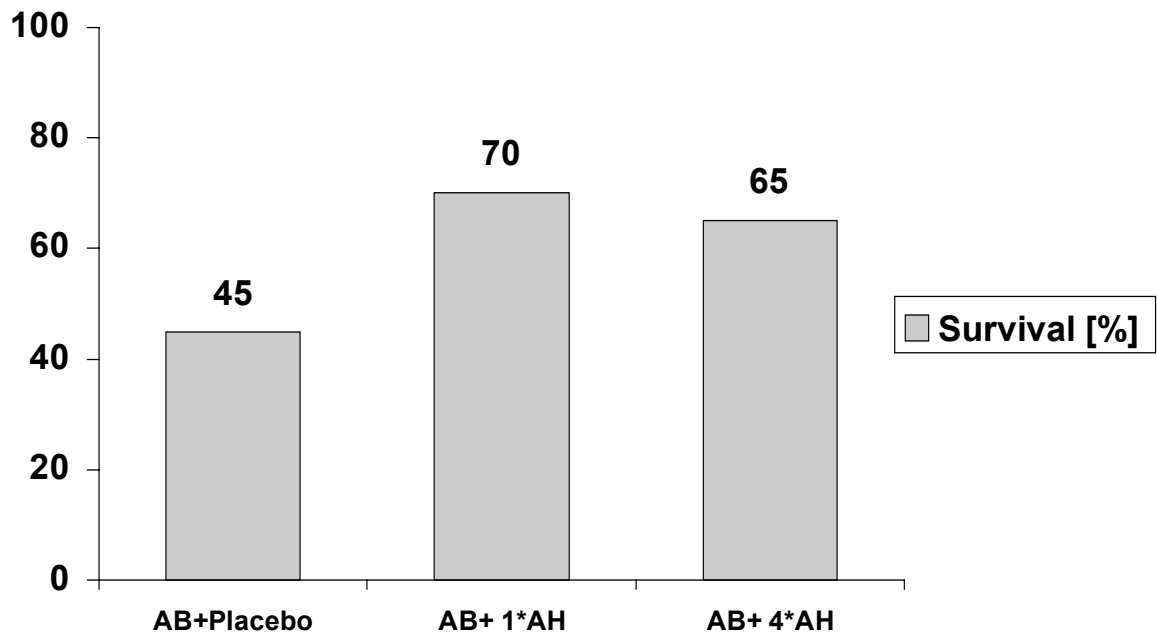


Abbildung 7: Darstellung der Überlebensraten bei Einfachprophylaxe und Mehrfachgabe einer Antihistaminika-Kombination bei hohem Schaden durch Stuhlinokulum

AH:

H1-Antag. Dimetinden= 0,5 mg/ kg KG; H2-Antag. Cimetidin= 5 mg/ kg KG;

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2) = 0,7 ml/kg (1:5 Verd.)

n=20 Tiere pro Gruppe

χ^2 -Test: p= 0,23

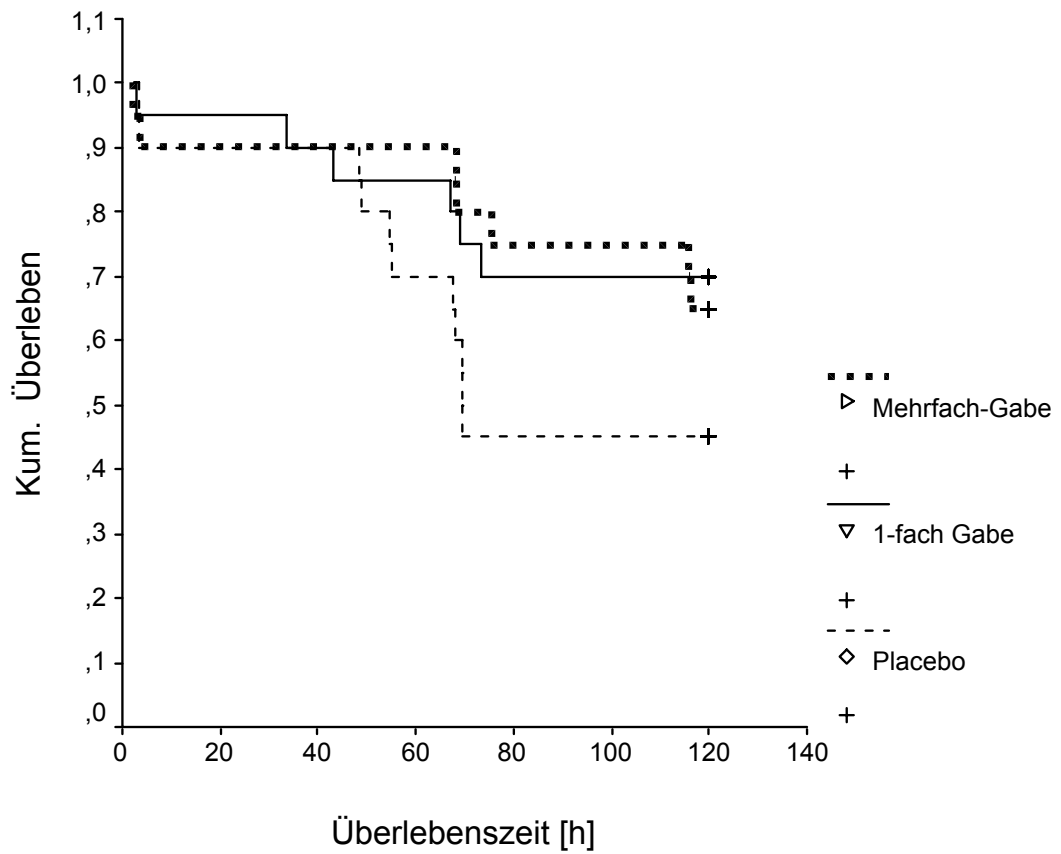


Abbildung 8: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Einfach- und Mehrfachgabe der Antihistaminikaprophylaxe im Vergleich zur Placebogruppe bei hoher Mortalität.

In der Versuchsreihe mit geringerem Schaden betrug die Überlebensrate der Kontrollgruppe 75% (15/ 20), die Tiere nach Einmalgabe überlebten den Versuchszeitraum zu 85% (17/ 20), in der Gruppe der mehrfachbehandelten Tiere überlebten 75% (15/ 20).

Die mittlere Überlebenszeit betrug in der Placebogruppe 109h (Mittelwert), das 95%-Konfidenzintervall lag dabei zwischen 100 und 118h, der Standardfehler war 5. In der Gruppe mit Einfachprophylaxe lag die mittlere Überlebenszeit bei 115h, das Konfidenzintervall lag zwischen 109 und 121h, der Standardfehler in dieser Gruppe war 3. Die Gruppe der mehrfach behandelten Tiere zeigte eine mittlere Überlebenszeit von 108h, dabei lag das Konfidenzintervall zwischen 96 und 120h, der Standardfehler war 6. Der für zwei Freiheitsgrade berechnete χ^2 -Test erbrachte einen p-Wert von $p = 0,68$. Der Log-Rank Test für zwei Freiheitsgrade erbrachte einen p-Wert von $p = 0,66$. Die gefundene Mortalitätsdifferenzen zwischen den Gruppen sind somit nicht signifikant unterschiedlich. Siehe auch Abbildungen 9 und 10.

Der Benefit durch die Antihistaminikaprophylaxe war für die Tiere in der schwerer geschädigten Gruppe größer als für die Tiere in der geringer geschädigten Gruppe, die sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe unterschied. Die Mehrfachgabe der Antihistaminika führte zu keiner Zunahme in der Überlebensrate. Ein schädigender Einfluss der Mehrfachgabe zeigte sich nicht.

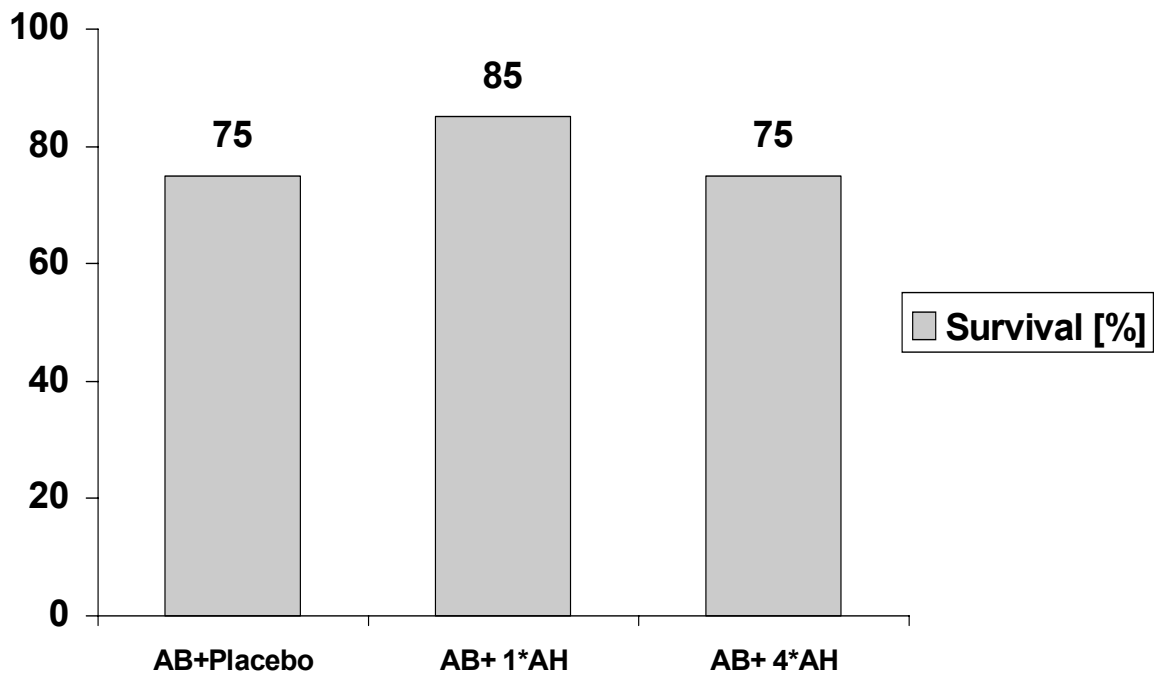


Abbildung 9: Vergleich der Überlebensraten bei Einfachprophylaxe und Mehrfachgabe einer Antihistaminika-Kombination bei geringem Schaden durch Stuhlinokulum.

AH:

H1-Antag. Dimetinden= 0,5 mg/ kg KG ; H2-Antag. Cimetidin= 5 mg/ kg KG;

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2)= 0,6 ml/kg KG (1:5 Verd.)

n=20 Tiere pro Gruppe

χ^2 -Test: p= 0,68

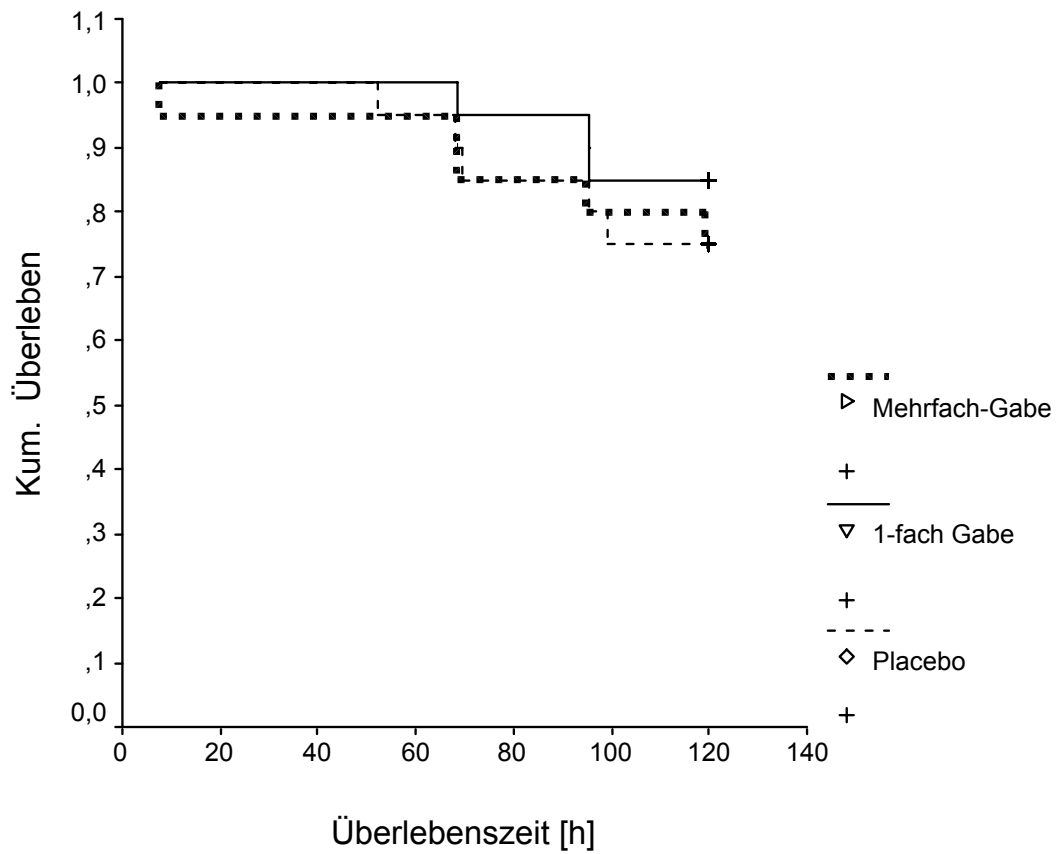


Abbildung 10: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Einfach- und Mehrfachgabe der Antihistaminikaprophylaxe im Vergleich zur Placebogruppe bei niedriger Mortalität.

4. 1. 4. Wirksamkeitstest von alleiniger Cimetidin-Prophylaxe

Ein weiterer Vorversuch galt der Frage nach der alleinigen Wirksamkeit von Cimetidin, einem H₂-Antagonist. Die Antihistaminikaprophylaxe wurde mit verschiedenen Dosen Cimetidin ohne Dimetinden durchgeführt. Die Dosierungen waren dabei in den Einzelgruppen 1 mg/kg KG, 5 mg/kg KG und 10 mg/kg KG. Eine Kontrollgruppe (Placebo), die keine Antihistaminikaprophylaxe erhielt, wurde mitgeführt.

Aus den gefundenen Überlebensraten ergab sich kein signifikanter Hinweis auf eine alleinige Wirksamkeit einer Cimetidinprophylaxe in diesem Versuchsansatz.

Im einzelnen zeigten sich für die Dosierungen folgende Überlebensraten:

Die Tiere, die 1 mg/kg KG Cimetidin erhalten hatten, zeigten ein Überleben von 85% (17/ 20), hierbei lag die mittlere Überlebenszeit (Mittelwert) bei 111h, das 95% Konfidenzintervall lag zwischen 99 und 122h bei einem Standardfehler von 6. Die Tiere der 5 mg/kg KG- Gruppe zeigten ein Überleben in 80% (16/ 20) mit einer mittleren Überlebenszeit (Mittelwert) von 110h. Hier lag das 95% Konfidenzintervall zwischen 100 und 120h, der Standardfehler betrug 5. Die Überlebensrate der Tiere, die 10 mg/kg KG Cimetidin erhielten, lag bei 90% (18/20) bei einer mittleren Überlebenszeit (Mittelwert) von 112h. Das 95% Konfidenzintervall lag für diese Gruppe zwischen 100 und 123h bei einem Standardfehler von 6. Die in der Kontrollgruppe gefundene Überlebensrate lag bei 80% (16/ 20), entsprechend einer mittleren Überlebenszeit (Mittelwert) von 103h. Das 95% Konfidenzintervall lag für diese Gruppe zwischen 86 und 121h. Der Standardfehler betrug 9. Veranschaulicht werden die Ergebnisse in Abbildung 11 und 12.

Bei drei Freiheitsgraden ergab der χ^2 -Test $p = 0,8$. Der Log-Rank Test ergab ebenfalls bei drei Freiheitsgraden $p = 0,81$. Eine signifikante Beeinflussung der Mortalität ist somit nicht nachweisbar.

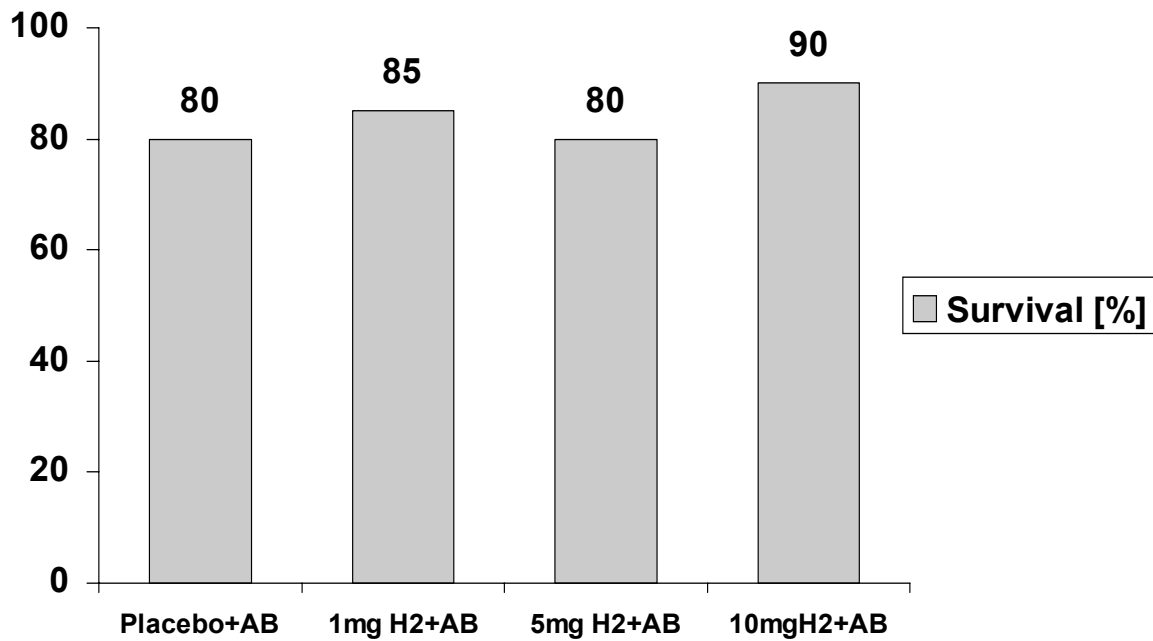


Abbildung 11: Vergleich der Überlebensraten bei verschiedenen Cimetidindosierungen ohne Dimetinden

H2-Antag. Cimetidin: 1-10 mg/kg;

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2)= 0,7- 0,9 ml/ kg KG (1:5 Verd.)

n=20 Tiere pro Gruppe

χ^2 -Test: p= 0,8

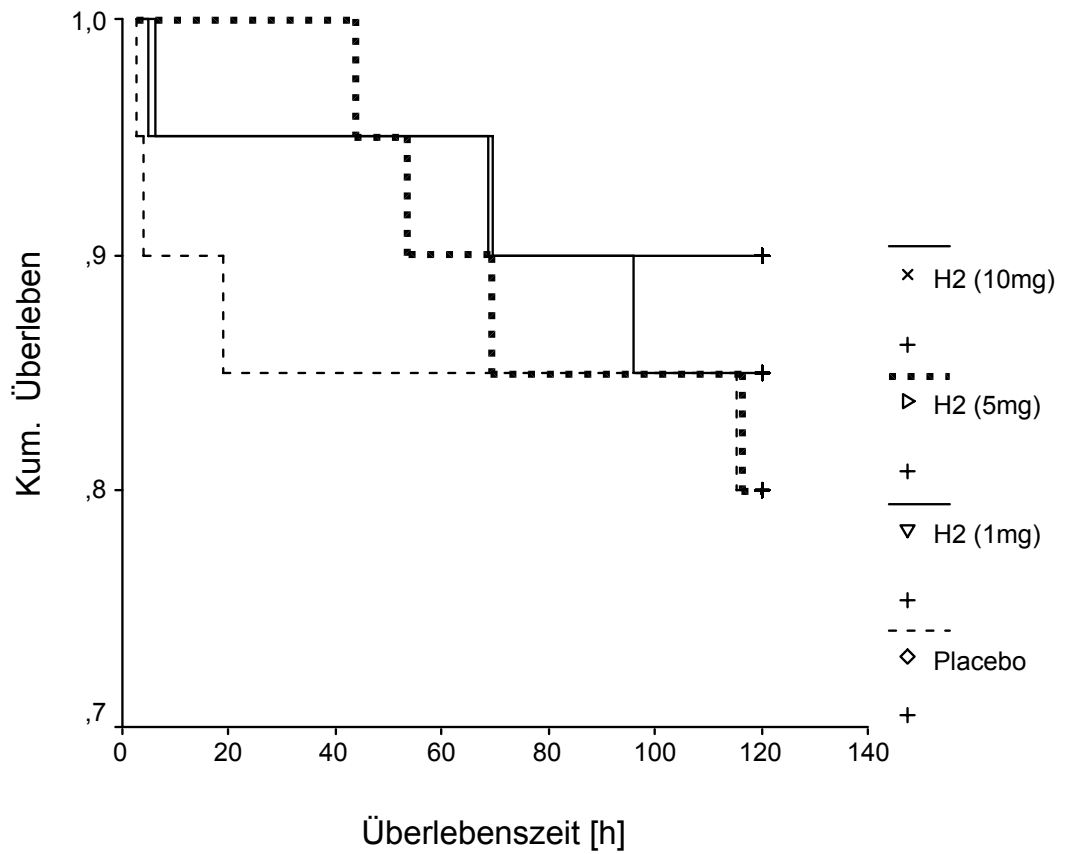


Abbildung 12: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für verschiedene Cimetidindosierungen und Placebogruppe.

4. 2. Ergebnisse der definitiven Versuche

4. 2. 1. Verbesserung der Überlebensraten bei aus Vorversuchen geprüfter Dosiskombination der Antihistaminika bei hoher Mortalität

Für die Dosiskombination von Antihistaminika, die sich im Vorversuch als wirkungsvollste Kombination zeigte, wurde die Fallzahl berechnet (siehe Material und Methoden), die erwartet wurde, um signifikante Mortalitätsunterschiede zu zeigen.

Aus den Ergebnissen der Vorversuche ergab sich so für die Kombination von 0,1 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin eine errechnete Fallzahl von $n = 30$. Die aufgrund dieser Berechnungen durchgeführten definitiven Versuche zeigten eine signifikante Erhöhung der Überlebensrate. In der Kontrollgruppe lag die Überlebensrate bei 40% (12/30), die Antihistaminikagruppe zeigte ein Gruppenüberleben von 67% (20/30) (Chi2-test $p = 0,04$; $df = 1$). Für die Kontrollgruppe ergab sich eine mittlere Überlebenszeit (Mittelwert) von 79h, das 95%-Konfidenzintervall lag zwischen 66 und 92, der Standardfehler betrug dabei 7. Die Antihistaminikagruppe zeigte eine mittlere Überlebenszeit (Mittelwert) von 102h, das 95%-Konfidenzintervall lag zwischen 92 und 112, der Standardfehler betrug 5.

Der χ^2 -Test ergab $p = 0,04$ und der Log-Rank-Test ergab $p = 0,01$. Der Mann-Whitney-Test ergab für die Placebogruppe einen mittleren Rang von 24,9 und eine Rangsumme von 747,0. In der Antihistaminikagruppe war der mittlere Rang 36,1; die Rangsumme war 1083,0. Für die beobachteten Unterschiede in der Überlebenszeit ergab sich so eine zweiseitige asymptotische Signifikanz (p) von $p = 0,007$. Siehe dazu Abbildungen 13 und 14.

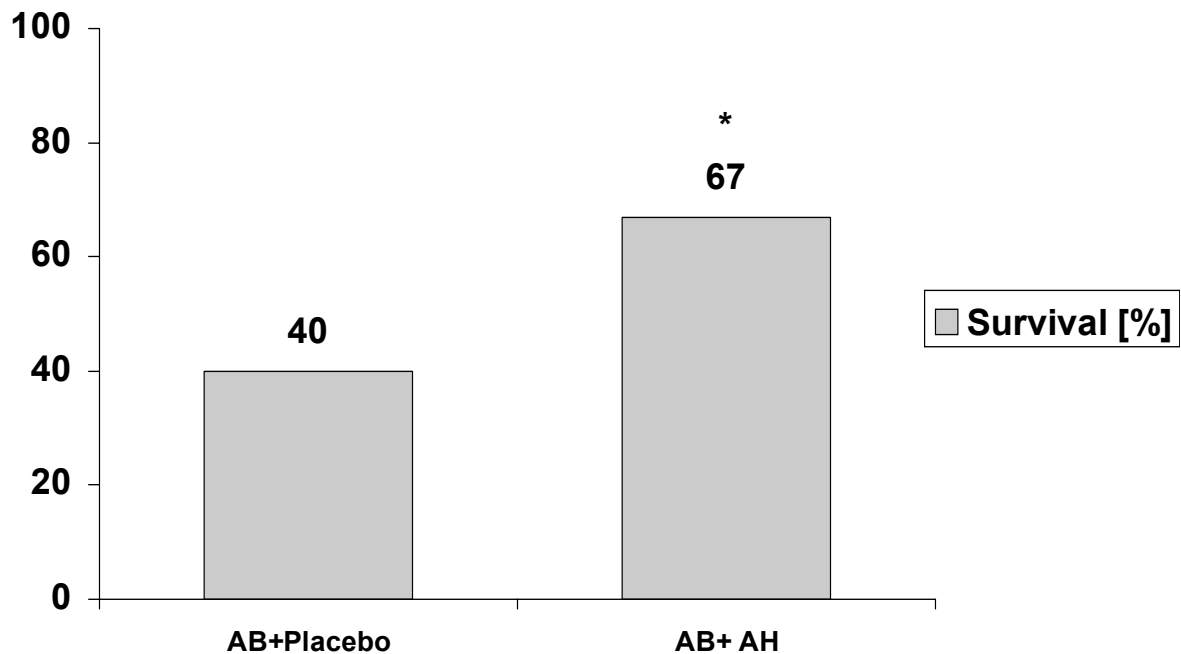


Abbildung 13: Vergleich der Überlebensraten von Antihistaminikaprophylaxe und Placebo bei hoher Mortalität in der Placebogruppe.

AH: H1-Antagonist: Dimetinden; 0,1mg/kg KG; H2-Antagonist: Cimetidin; 5mg/kg KG

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2)= 1,0 ml/ kg KG (1:5 Verd.)

n=30 Tiere pro Gruppe

* χ^2 -Test: p= 0,04

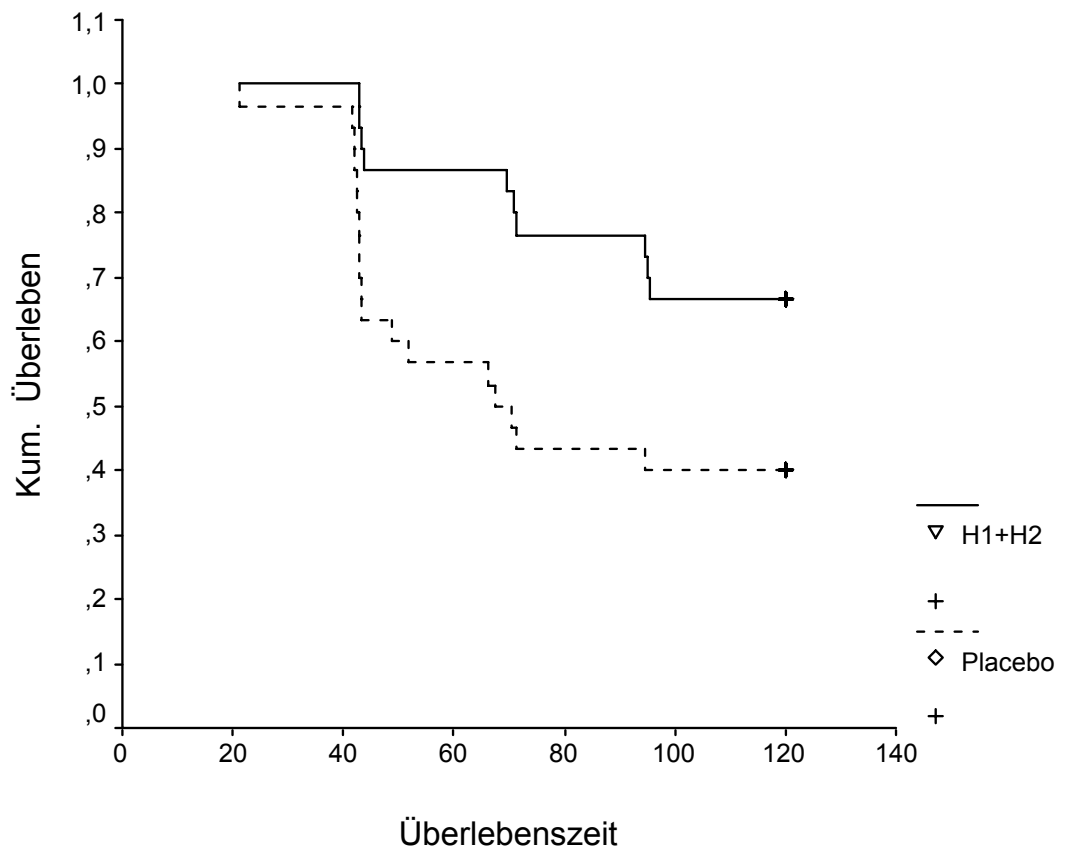


Abbildung 14: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei hoher Gesamtmortalität.

Log-Rank-Test ergab $p = 0,01$

4.2.2. Verbesserung der Überlebensraten bei aus Vorversuchen geprüfter Dosiskombination der Antihistaminika mit niedriger Grundmortalität

Neben dem Versuch, mit hoher Gesamtmortalität in der Placebogruppe, lässt sich die Wirksamkeit der Antihistaminikaprophylaxe auch für eine niedrigere Mortalität signifikant nachweisen. Die mit einer geringeren Stuhldosis durchgeführten Dosisfindungsversuche liefern die Daten für den signifikanten Wirkungsnachweis der in den definitiven Versuchen verwendeten Dosiskombination auch für eine niedrige Mortalität. Die gefundenen Überlebensraten lagen für die Kontrollgruppe (Placebo) bei 75% (15/20), die Tiere der Antihistaminikagruppe überlebten alle (20/20) (100% Überlebensrate) (Chi²-test $p = 0,02$; $df=1$). Für die Kontrollgruppe ergab sich eine mittlere Überlebenszeit (Mittelwert) von 110h, das 95%-Konfidenzintervall lag zwischen 102 und 119, der Standardfehler betrug dabei 4. Die Antihistaminikagruppe zeigte eine mittlere Überlebenszeit (Mittelwert) von 120h, Standardfehler und Konfidenzintervall entfallen somit.

Der χ^2 -Test ergab $p = 0,02$ und der Log-Rank-Test ergab $p = 0,02$. Der Mann-Whitney-Test ergab für die Placebogruppe einen mittleren Rang von 18,0 und eine Rangsumme von 360,0. In der Antihistaminikagruppe war der mittlere Rang 23,0; die Rangsumme war 460,0. Für die beobachteten Unterschiede in der Überlebenszeit ergab sich so eine zweiseitige asymptotische Signifikanz von $p = 0,02$. Veranschaulicht werden die Ergebnisse in Abbildungen 15 und 16.

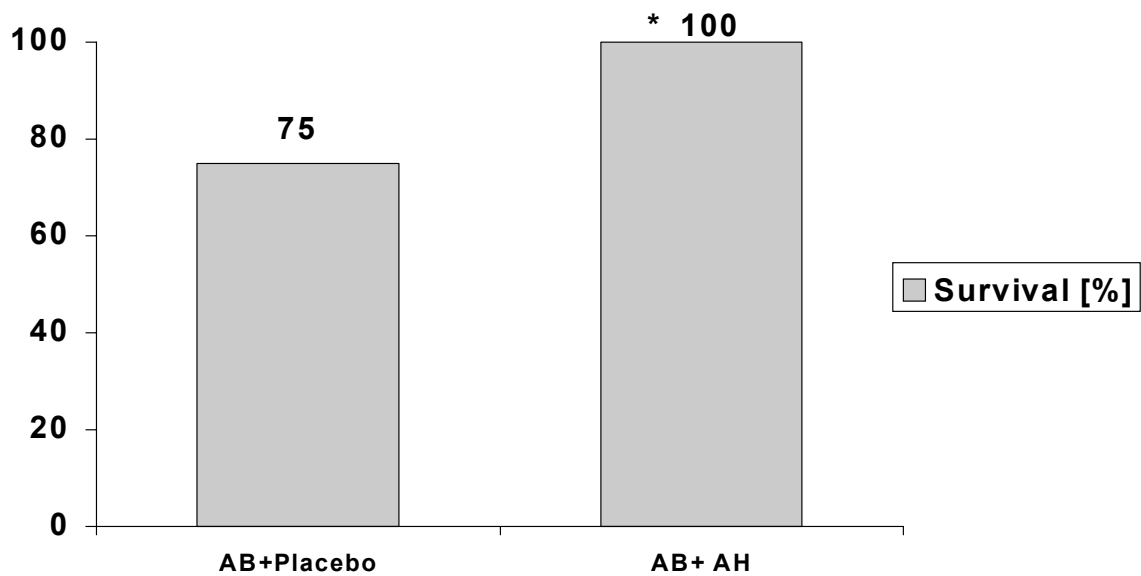


Abbildung 15: Vergleich der Überlebensraten von Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei niedriger Gesamtmortalität in der Placebogruppe.

AH:

H1-Antag. Dimetinden= 0,1mg/ kg KG ; H2-Antag. Cimetidin= 5 mg/ kg KG;

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Augmentan[®] (Co- Amoxiclav) = 10 mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2) = 0,7 ml/ kg KG (1:5 Verd.)

n = 20 Tiere pro Gruppe

* χ^2 -Test: p= 0,02

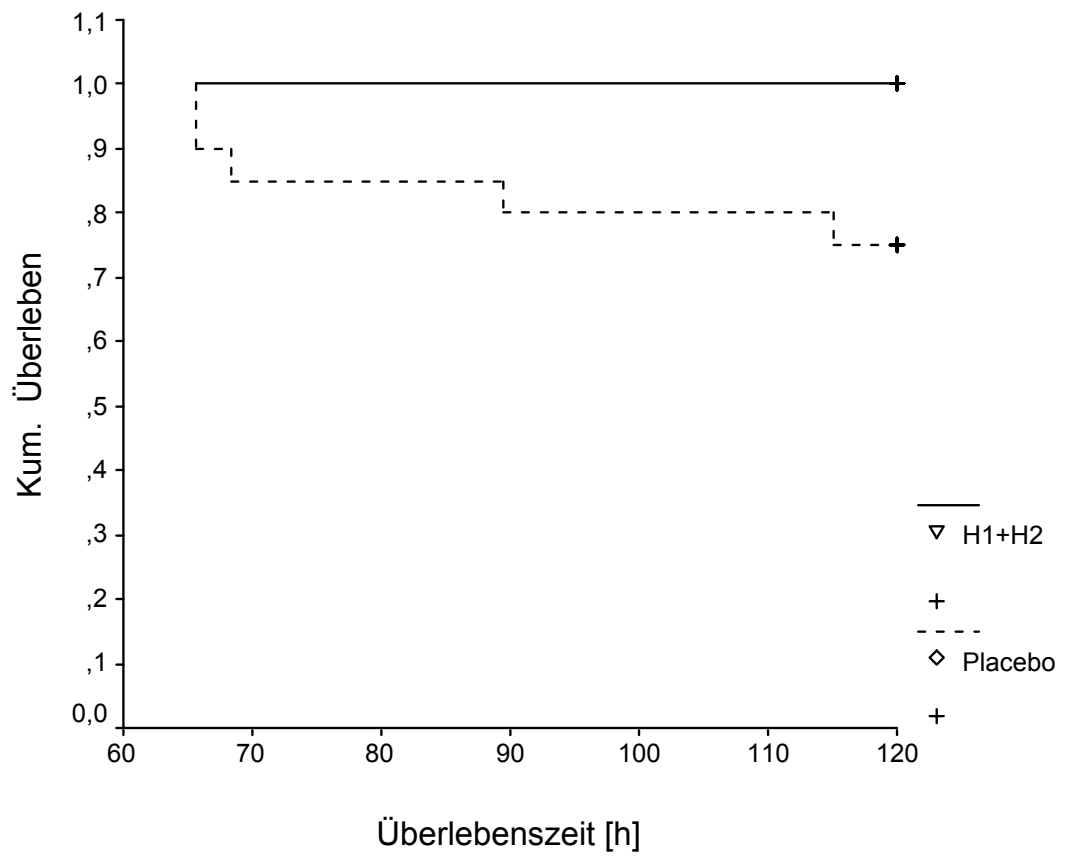


Abbildung 16: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei niedriger Mortalität. Der Log-Rank-test ergab ein p von 0,02.

4. 2. 3. Überprüfung der Wirksamkeit der Antihistaminikaprophylaxe mit einer anderen klinisch relevanten Antibiotikakombination

Neben den oben angeführten Versuchsreihen unter Verwendung von Co-Amoxiclav als Antibiotikum wurde zur Überprüfung der Wirksamkeit der Antihistaminikaprophylaxe mit anderen Antibiotikakombinationen ein Versuch mit der Kombination von Levofloxacin und Metronidazol durchgeführt. Der Versuchsaufbau und die Durchführung entsprachen bis auf die variierte Antibiotikakombination dem definitiven Versuch bei hoher Mortalität.

Die gefundenen Ergebnisse zeigen eine dramatische Abweichung von den unter Co-Amoxiclav- Antibiotikaprophylaxe gezeigten Ergebnisse.

Die Überlebensrate für die Placebogruppe, welche neben der Antibiotikagabe (Levofloxacin und Metronidazol) lediglich NaCl 0,9% erhielt, entsprach mit 30% (9/30) in etwa der Überlebensrate unter Co-Amoxiclav und Placebo (40% Überlebensrate). Am Ende des Beobachtungszeitraums lebten noch 9 von 30 Tieren. Die mittlere Überlebenszeit lag bei 66 Stunden mit einer Standardfehler von 7 und einem 95%-Konfidenzintervall von 51 bis 80 h.

Die ermittelte Überlebensrate für die Gruppe mit Levofloxacin und Metronidazol-Antibiotikakombination und Antihistaminikaprophylaxe lag mit 17% (5/ 29) deutlich unter der Kontrollgruppe und verfehlte die protektive Wirkung, die sich unter der Kombination mit Co-Amoxiclav und Antihistaminikaprophylaxe zeigte. Von 30 Tieren überlebten den Beobachtungszeitraum 5 Tiere, ein Tier wurde nach Narkosetod ausgeschlossen (5/29). Es ergab sich eine mittlere Überlebenszeit von 55 Stunden, das 95%-Konfidenzintervall lag hierbei zwischen 43 und 67 Stunden bei einem Standardfehler von 6.

Mit der verwendeten Tierzahl wird das gefundene Ergebnis jedoch statistisch noch nicht signifikant, der χ^2 -Test ergab $p= 0,221$, Log-Rank-Test $p = 0,279$.

Der Mann-Whitney-Test ergab für die Placebogruppe einen mittleren Rang von 31,95 und eine Rangsumme von 958,5. In der Antihistaminikagruppe war der mittlere Rang

27,98; die Rangsumme war 811,5. Für die beobachteten Unterschiede in der Überlebenszeit ergab sich so eine zweiseitige asymptotische Signifikanz von $p=0,369$. Siehe dazu Abbildung 17 und 18.

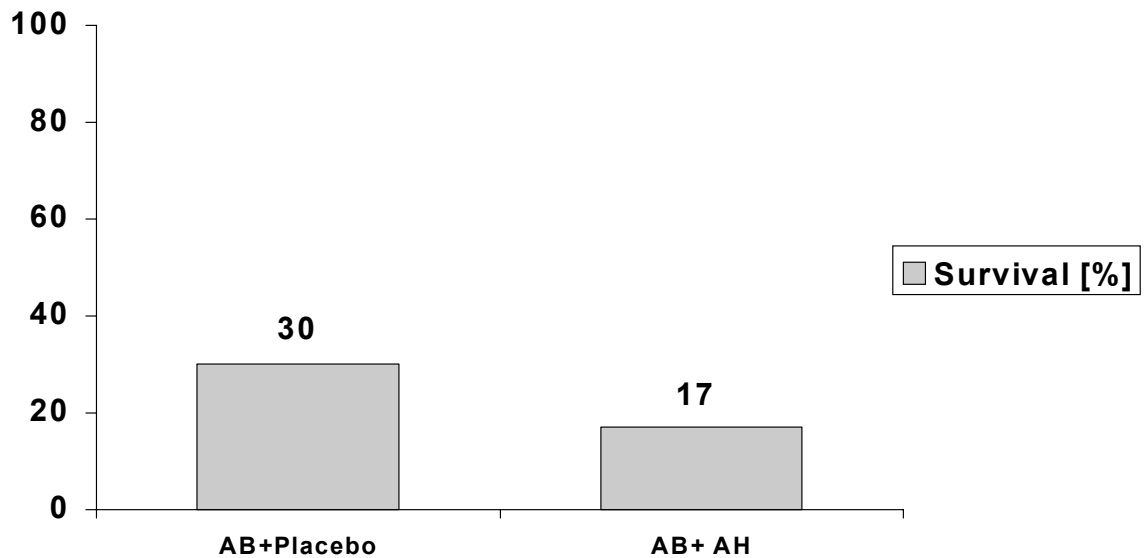


Abbildung 17: Vergleich der Überlebensraten Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei Antibiotikagabe mit Levofloxacin und Metronidazol

AH:

H1-Antag. Dimetinden= 0,1mg/ kg KG ; H2-Antag. Cimetidin= 5 mg/ kg KG;

Placebo: NaCl 0,9%;

AB: Levofloxacin 3mg/ kg KG, Metronidazol 1mg/ kg KG

Stuhl (Mix 2) = 0,7 ml/ kg KG (1:5 Verd.)

n = 30 Tiere pro Gruppe

χ^2 -Test: p= 0,221

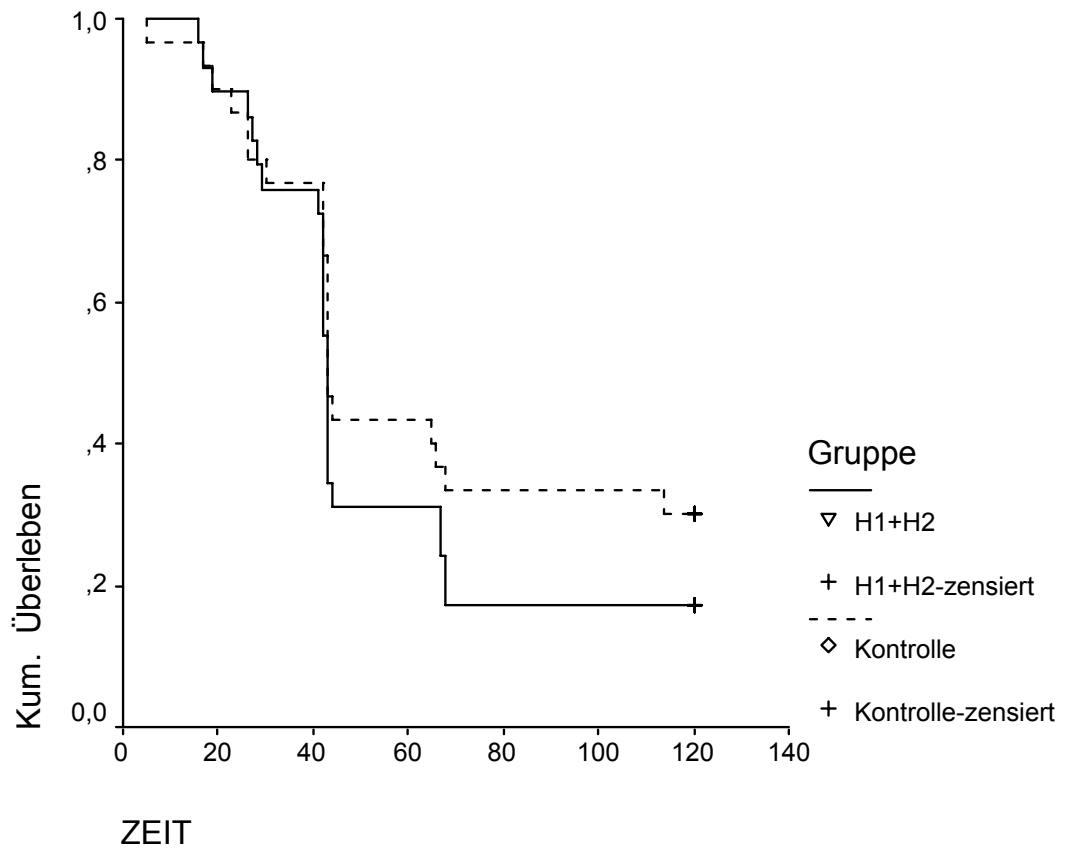


Abbildung 18: Darstellung der Kaplan-Meier Überlebenskurven für Antihistaminikagruppe und Placebogruppe bei Antibiose mit Levofloxacin und Metronidazol. Der Log-Rank-Test ergab ein $p=0,279$

5 Diskussion

5.1. Etablierung eines Modells zum Wirkungsnachweis von Medikamenten in einer Klinik-modellierenden randomisierten Tierstudie (CMRT)

Zielsetzung bei der Entwicklung des Konzepts der Klinik-modellierenden randomisierten Tierstudie (clinic modeling randomised trial, CMRT) war es, die Unzulänglichkeiten bisheriger Tierversuchskonzepte im Hinblick auf eine Übertragbarkeit der Ergebnisse in den klinischen Bereich soweit als möglich zu vermeiden.

Insbesondere im Hinblick auf Forschungsbemühungen im Umfeld von Histamin und Septischem Schock liegen mögliche Gründe für eine Diskrepanz zwischen präklinisch gefundenen Wirkungen und den Ergebnissen klinischer Studien in der grundlegenden Konzeption der Tierversuche. Schon die Wahl einer geeigneten Spezies ist hierbei von großer Bedeutung. Neugebauer et al. haben in Bezug auf Histamin und Septischem Schock in einer Metaanalyse die Vor- und Nachteile der bisherigen Tierversuchskonzepte beschrieben (Neugebauer et al., 1993). Die dort beschriebenen Ergebnisse sind mit in die Konzeption der CMRT's eingeflossen.

Das Ziel der größtmöglichen Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf klinische Verhältnisse sollte durch die Berücksichtigung möglichst vieler klinisch relevanter Parameter bei der Modellierung der klinischen Prozeduren erreicht werden. Den komplexen Interaktionen zwischen verschiedenen physiologisch-biochemischen Regelkreisen und den diversen Einflussgrößen des Versuchsablaufs sollte Rechnung getragen werden. Hierbei gilt ein besonderes Augenmerk der Verwendung verschiedener klinisch relevanter Antibiotika-Kombinationen, da durch diese maßgebliche Alterationen des Immunsystems im Sinne von aktivierenden und supressorischen Wirkungen hervorgerufen werden können. (VanVlem et al. 1996, Riesbeck et al., 1994)

Über die enge Modellierung der klinischen Prozeduren hinaus sollten auch die etablierten Standards für die Durchführung prospektiver, randomisierter, klinischer Studien berücksichtigt werden. Die auch in der Literatur an die Tierversuche zur Erforschung von Peritonitis und Sepsis gestellten Forderungen wie Zuverlässigkeit, Standardisierung, Reproduzierbarkeit und Nachbildung des humanen Krankheitsprozesses (Lorenz et al. 1994, Bauhofer et al. 1998, Sayek, 1997) sind in dem angewandten Tiermodell erfüllt worden.

Durch die größtmögliche Ausrichtung des Tiermodells auf die klinische Realität wurde versucht, eine weitgehende Übertragbarkeit der in den Tierversuchen gefundenen Ergebnisse auf die in der klinischen Forschung auftretenden Fragestellungen zu erzielen. Aus dem Bemühen um eine größtmögliche Übertragbarkeit der Ergebnisse rührt auch die aufwendige Durchführung der Versuche nach den Standards der Durchführung prospektiver, randomisierter, klinischer Studien, z.B. die hohe Fallzahl

Die in die Konzeption des Tiermodells einfließenden Überlegungen sind im einzelnen in der Einleitung unter Abwägung der Vor- und Nachteile schon näher beschrieben.

Die Modellvorstellung erwartet eine Mastzellaktivierung durch Stimulation des Endokriniums als auch des Gastro-Intestinalen Nervensystems aufgrund des Operationsstresses mit nachfolgender Modulation der Immunantwort durch Mastzellmediatoren- insbesondere Histamin- bei Peritonitis und Sepsis.

Zusammenfassend stellt sich das Konzept der Klinik-modellierenden randomisierten Tierstudien (CMRT) als Weiterentwicklung bisheriger Tierversuchsmodelle hin zu einer möglichst nahen Angleichung an die klinischen Verhältnisse dar; Zielgedanke ist dabei die Optimierung und bestmögliche Übertragbarkeit der präklinisch erworbenen Erkenntnisse auf die Klinik und damit die bessere Einbindung der präklinischen Forschung in die Klinik, sowie die Vermeidung von Rückschlägen beim Übergang von präklinischen zu klinischen Studien. (Celik et al., 1998; Bauhofer et al., 1998) Hier soll die Lücke zwischen präklinischer Forschung (Grundlagenforschung) und klinischer Forschung verringert bzw. geschlossen werden.

Die Konzeption des Modells beruht auf der Modellierung eines perioperativen Infektgeschehens. Deshalb unterscheidet sich das Konzept in Bezug auf die Zeitpunkte der Antibiotikagabe von anderen Tiermodellen, die ein akutes Infektionsgeschehen modellieren und somit die Antibiotikagaben zu späteren Zeitpunkten nach Infektionsbeginn erfolgen. (Bohnen et al., 1988)

Zur Validierung des Tierversuchskonzepts wäre eine prospektive, randomisierte, klinische Studie, die sich an den klinischen Parametern der Tierstudie orientiert, die anzustrebende Konsequenz. Die positiven Ergebnisse aus der Tierstudie ermutigten uns zu einem solchen Schritt. Einen vergleichbaren Schritt vom Tierexperiment zur klinischen Studie hat es für G-CSF bereits gegeben. Die im Rahmen von CMRT's gefundenen Ergebnisse dienen mit als Grundlage für die Konzeption einer kontrollierten klinischen Studie. Die Ergebnisse der Studie, die im Dezember 2002 abgeschlossen wurde, zeigen, dass man die in der Tierstudie gewonnenen Ergebnisse für weitere klinische Untersuchungen verwenden kann. (Lorenz et al., 2001; Bauhofer et al., 2001; Stinner et al., 2001) Der Vorteil der Tierstudien ist hierbei, dass man im Vorfeld und auch parallel zu der klinischen Studie viel mehr Versuchsbedingungen abprüfen kann, als es im Rahmen klinischer Studien möglich wäre.

Von großer Bedeutung ist bei der Betrachtung der Ergebnisse im Hinblick auf eventuelle klinische Anwendungen die Abhängigkeit der Wirkung von der verwendeten Antibiotikakombination, da sich hier mitunter konträre Wirkungen zeigen können.

5. 2. Mortalitätssenkende Wirkung von Antihistaminika-Kombinationen bei perioperativen Infektionen

5. 2. 1. Dosisfindung für Antihistaminika-Kombination

Die nach dem Vergleich von Einfach- und Mehrfachgabe durchgeführten Dosisfindungsversuche dienten der Ermittlung der effektivsten Dosiskombination, also der Antihistaminika-Kombination, welche die Mortalität im Vergleich zur Kontrollgruppe am stärksten senkte.

Ausgehend von der in einer tierexperimentellen Studie am Schwein (Celik et al., 1998) verwendeten Dosiskombination (0,3 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin) wurden die Dosen der Antihistaminika variiert, um die effektivste Dosis auch für das Rattenmodell zu bestimmen.

Die ermittelte effektivste Dosiskombination entspricht exakt der auch in der Mainz-Marburg-Studie (klinische Studie) verwendeten Dosiskombination (0,1 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin).(Lorenz et al.,1994)

Die gefundene Dosis weicht von der in früheren Versuchen mit Endotoxin an Ratten ermittelten Dosis (Neugebauer et al., 1987) ab. Eine mögliche Erklärung hierfür liegt in der dort verwendeten intraperitonealen LPS-Gabe als Auslöser des Endotoxinschocks, welches eine von der polymikrobiellen Kontamination abweichende Kinetik des Schockgeschehens bewirkt.

5. 2. 2. Vergleich von Einfach-Prophylaxe und Mehrfachgabe

Die durchgeführten Versuche mit einer einmaligen perioperativen Antihistaminikagabe oder einer an den darauffolgenden postoperativen Tagen täglich zusätzlich applizierten Antihistaminikadosis zeigten kein Vorteil für die mehrfach behandelten Tiere. Eine

statistisch nicht signifikante Tendenz war zu Gunsten der einmal behandelten Tiere zu erkennen, die die später in den Dosisfindungsversuchen und den definitiven Versuchen gefundenen Verhältnisse widerspiegelt.

Die Schadensintensivität (hohe oder niedrige Mortalität) hatte dabei keinen signifikanten Einfluß auf die Beeinflussung der Überlebensrate durch die Antihistaminika. Sowohl bei hoher als auch bei niedriger Mortalität in der Kontrollgruppe zeigte sich die Einmalgabe tendenziell überlegen gegenüber der Mehrfachgabe.

Eine mögliche Erklärung für die gefundenen Ergebnisse wäre die Beeinflussung der inflammatorischen Regelkreise zu unterschiedlichen Zeitpunkten des septischen Geschehens. So scheint die Gabe von Antihistaminika in der frühen, hyperinflammatorischen Phase der Sepsis einen Vorteil zu bewirken, während in der späteren, immunparalytischen Phase kein Vorteil mehr zu erzielen ist.

Hiermit bestätigen sich die Ergebnisse der Mainz-Marburg –Studie, wo sich auch bei einer präoperativen Antihistaminikagabe ein Benefit (intraoperativ und auch postoperativ) für den Patienten zeigte (Lorenz et al., 1994)

Zusätzlich zeigte sich durch die Einfach-/Mehrfachgabe, dass durch eine Fortführung der Antihistaminikagabe kein weiterer Benefit zu erzielen ist, ein maximaler Effekt lässt sich schon durch eine einfache präoperative Prophylaxe erzielen. Im Hinblick auf eine spätere klinische Anwendung ist dieses Ergebnis in Bezug auf die etwaigen Kosten und den Behandlungsaufwand von grosser Bedeutung.

5. 2. 3. Wirksamkeitstest von alleiniger Cimetidin-Prophylaxe

Bei einer alleinigen perioperativen Cimetidin-Prophylaxe zeigte sich bei diesem Versuchsaufbau kein signifikanter Unterschied zwischen der Antihistaminikagruppe und der Kontrollgruppe.

Die gefundenen Ergebnisse scheinen so zunächst im Widerspruch zu Ergebnissen anderer Gruppen zu stehen, die eine gesteigerte Immunkompetenz nach H₂-Antagonisten Gabe perioperativ fanden (Nielsen, 1995). Der wesentliche Unterschied zwischen den von Nielsen durchgeführten Studien und den hier beschriebenen Versuchen besteht in der Infektion und Sepsis, die bei den Studien von Nielsen nicht initiiert wurden. Andere Studien von Nielsen wurden im traumatologischen Umfeld oder im Bezug auf postoperative Anämie und Fremdblutgabe durchgeführt (Nielsen et al., 1994). Die beschriebenen Ergebnisse stammen überwiegend aus klinischen Studien. Dies erscheint als Erklärung für das Abweichen der gefundenen Ergebnisse plausibel.

Die von Nielsen als Parameter angeführte verzögerte Hypersensitivitäts-Reaktion sollte hinsichtlich ihrer Validität bezüglich des Outcomes hinterfragt werden. (Nielsen et al., 1989) Als weitere mögliche Ursache für ein Abweichen der Ergebnisse kann man einen bei hoher Cimetidin-Dosis beobachteten Prolaktin-stimulierenden Effekt anführen, der unabhängig von der H₂-Rezeptorblockade auftritt. Bei Ranitidin, dem von Nielsen bevorzugten H₂-Rezeptorantagonist ist dieser Effekt nicht zu beobachten. (Knigge, 1989)

Ein Wirksamkeitstest bei alleiniger H₁-Rezeptorblockade wurde nicht durchgeführt. Bei LPS-induziertem Endotoxinschock am Schwein zeigte sich jedoch unter Antihistaminikaprophylaxe mit Dimetinden eine signifikant geringere Kreislauf und Stoffwechselreaktion verglichen mit der Kontrollgruppe. Der TNF-Anstieg war von der Antihistaminikaprophylaxe unbeeinträchtigt. (Dimmeler et al., 1995)

5. 2. 4. Diskussion der Ergebnisse der definitiven Versuche

Die aufgrund der in den Vorversuchsreihen gefundenen Überlebensraten als wirksamste Kombination ermittelte Antihistaminika-Dosiskombination wurde ausgewählt, um in einem definitiven Tierversuch den signifikanten Wirkungsnachweis zu erbringen. Die Fallzahlberechnung für diesen definitiven Versuch beruht auf den in den Vorversuchen gefundenen Daten.

Für die getestete Dosiskombination konnte so eine signifikante Reduktion der Mortalität nachgewiesen werden (siehe Ergebnisteil).

Das Ausmaß der Schädigung durch die Infektion scheint hierbei keinen Einfluss auf die Wirksamkeit der Prophylaxe zu haben. Der signifikante Nachweis der Wirksamkeit der Dosiskombination gelang sowohl für die stärker geschädigte Gruppe als auch für die geringer geschädigte Gruppe.

5. 3. Bedeutung der Ergebnisse für die klinische Anwendung an Patienten mit perioperativen Infektionen

Im Hinblick auf eine klinische Anwendung der getesteten Dosiskombination sollen hier die Ergebnisse noch einmal gesondert analysiert werden.

5. 3. 1. Vorteile der prophylaktischen Antihistaminikagabe

Die gefundenen Ergebnisse zeigen signifikante Verbesserungen der Überlebensraten für die in den definitiven Tierstudien getestete Dosiskombination. Dies gilt sowohl für eine stärkere Schädigung durch die Infektion als auch für einen geringeren Schaden durch die Infektion. Da in der klinischen Situation der Schweregrad einer Infektion a priori nicht vorhersagbar ist, erweist sich die Wirksamkeit der Prophylaxe bei verschiedenen schweren Infektionen als Vorteil für eine eventuelle klinische Anwendung.

Unter den verschiedenen anderen Dosierungen zeigte sich kein schädigender Einfluss der Antihistaminikagabe auf das Überleben, wenngleich der Gewinn in der Überlebensrate geringer war als in der definitiv getesteten Dosiskombination. Auch bei einem vom Tierversuch abweichenden Wirkungsmaximum der Antihistaminika wäre somit kein schädigender Einfluss der Antihistaminika-Prophylaxe bei klinischer Anwendung zu erwarten. Insbesondere weil es sich hier nur um eine einmalige Gabe handeln würde, kann von schwerwiegenden Nebenwirkungen durch die Antihistaminika abgesehen werden. Im Bereich der Prophylaxe anaphylaktischer und

anaphylaktoider Reaktionen haben H1- Antagonisten seit längerem einen festen Platz in den Therapieregimen, auch die Kombination von H1- und H2- Antagonisten gewinnt hierbei zunehmend an Bedeutung, wenngleich die Entscheidung für eine Kombination von H1- und H2- Antagonisten zur Zeit noch mehr im Ermessen des behandelnden Arztes liegt. (Winbery und Lieberman, 2002) Über die Probleme bei der Übertragbarkeit der Prophylaxe von anaphylaktischen auf septische Krankheitsbilder wird weiter unten noch eingegangen.

Eine Änderung des Applikationsschemas (zusätzliche Mehrfachgabe der Dosis jeweils an den postoperativen Tagen gegenüber einmaliger perioperativer Gabe) zeigte ebenfalls keinen schädigenden Einfluss auf das Überleben der Tiere bei direktem Vergleich zur Kontrollgruppe, die Gruppe mit Einfachgabe zeigte ein tendenziell etwas höheres Überleben als die Gruppe mit Mehrfachgabe.

In Dänemark wurde eine Multicenterstudie für eine Ranitidingabe bei kolorektalen Notfalleingriffen durchgeführt. Hier zeigte sich für die Ranitidingruppe ein signifikant höherer Mannheim Peritonitis Index (MPI). Der Vorteil für die Ranitidingruppe fiel jedoch relativ klein aus. Die Ranitidingabe erfolgte perioperativ und an den folgenden fünf Tagen. Als Antibiotikakombination wurde Metronidazol und Cefuroxim verwandt. (Moesgaard et al., 1998) Die positiven Ergebnisse bestätigen zum Teil die von uns gefundenen Ergebnisse, auf Grund der oben angeführten Ergebnisse erscheint uns jedoch die kombinierte H1/H2-Prophylaxe effektiver. Für eine alleinige H2-Prophylaxe zeigte sich unter den oben beschriebenen Versuchsbedingungen kein signifikanter Benefit.

Da der Beginn einer Infektion oder Bakteriämie sich im klinischen Alltag nicht sicher und schnell erkennen lässt, wurden Vorhersagesysteme entwickelt, die anhand klinisch erhobener Daten eine Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Bakteriämie unterschiedlichen Schweregrads angeben. (Bates et al., 1997) Die Etablierung solcher Systeme bleibt abzuwarten. Hiervon unberührt erscheint zur Validierung der Ergebnisse der Tierversuchsstudie die perioperative prophylaktische Gabe der Antihistaminika-Kombination für Risikopatienten besonders sinnvoll, gerade weil hier nicht immer exakt der Beginn eines septischen Geschehens wie zum Beispiel einer

Nahtinsuffizienz festzustellen ist. Die Klärung der Frage, ob die Gabe von Antihistaminka auch nach Feststellen der Peritonitis mit einem im klinischen Alltag stark schwankenden Zeitfenster zu einem Benefit für den Patienten führt, sollte zunächst Gegenstand weiterer präklinischer Forschung sein.

5. 3. 2. Interaktionen von Antibiotika und Immunsystem

Mit Ausnahme des zuletzt beschriebenen Versuchs, in dem als Antibiotika Levofloxacin und Metronidazol eingesetzt wurden, wurde bei allen durchgeführten Versuchen das gleiche Antibiotikum in der gleichen Dosierung verwendet, ferner war die Gabe des Antibiotikum auf den Versuchstag beschränkt.

Aufgrund der Ergebnisse des Versuchs mit Levofloxacin und Metronidazol kann eine generalisierte Antihistaminkaprophylaxe nicht empfohlen werden. Es ergeben sich somit weitere Ansätze zur Bearbeitung des Themas, da aufgrund der vielen auf dem Markt befindlichen potenten Antibiotika eine entsprechend große Anzahl verschiedener Antibiotikakombinationen wie verschiedene β -Lactam/ β -Lactamase-Kombinationen und Gyrasehemmer im Rahmen von Peritonitis und Sepsis eingesetzt werden. (Bohnen, 1998) Auf jedem Fall zeigen die Ergebnisse, das man bevor im Rahmen von klinischen Studien Untersuchungen durchgeführt werden, die in Frage kommenden Kombination in komplexen tierexperimentellen Studien überprüfen sollte. Das von uns verwendete komplexe Tiermodell mit dem Konzept der CMRTs eignet sich ganz besonders dazu. Es erklärt auch, warum im Tierversuch vielversprechende immunmodulierende Ansätze später in der Klinik scheiterten. Diese Ansätze wurden nur in reduktionistischen Tierexperimenten eingesetzt, meist ohne die Interaktion mit anderen Interventionen wie z.B. Antibiotikaprophylaxe etc.

Die Abhängigkeit der Wirksamkeit adjuvanter immunmodulierender Therapieverfahren von den verwendeten Antibiotika zeigte sich auch bei vergleichbaren Studien mit G-CSF (Bauhofer et al., 1998; Lorenz et al., 1994). Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden sehr umfangreiche tierexperimentelle Studien zur Ermittlung der optimalen Antibiotikakombinationen in Verbindung mit einer G-

CSF-Prophylaxe durchgeführt und für die Planung und Durchführung einer klinischen Studie verwendet (Lorenz et al; Bauhofer et al; Stinner et al 2001).

In der Literatur finden sich in Bezug auf Beeinflussung des Immunsystems durch verschiedene Antibiotika unterschiedliche Erklärungsansätze, welche zum Teil auf direkten Wirkmechanismen beruhen, zum Teil aber auch indirekte Wirkungen verantwortlich machen.

So beeinflussen möglicherweise unterschiedliche Freisetzungsmuster von mikrobiellen Zellfragmenten aufgrund der je nach Antibiotikum verschiedenen Wirkmechanismen an der Zelle die Dynamik der Freisetzung von Entzündungsmediatoren. (Dofferhoff et al., 1993)

Neben diesem indirekten Ansatz, die unterschiedliche Wirksamkeit immunmodulatorischer Therapieformen in Abhängigkeit des verwendeten Antibiotikums zu erklären, wäre eine andere Erklärung eine direkte Beeinflussung des Immunsystems durch die verschiedenen Antibiotika (Van Vlemm, 1996).

Für Levofloxacin konnte so eine direkte, G-Protein vermittelte Histaminfreisetzung aus peritonealen Rattenmastzellen beobachtet werden als Beispiel für eine Beeinflussung des Immunsystems durch Antibiotika. (Mori et al., 2000) Hieraus würde sich möglicherweise auch ein direkter Ansatz für die unterschiedliche Wirksamkeit der Antihistaminikaprophylaxe bei Verwendung verschiedener Antibiotika erklären.

Eine Reihe immunologischer Studien haben die Frage der Beeinflussung des Immunsystems durch Antibiotika bearbeitet. Hierbei wurden Aspekte der Phagozytose, Chemotaxis, Zytotoxizität, Lymphozytenfunktion und Lymphozytenproliferation, Zytokinproduktion, Antikörperproduktion und Natürliche-Killerzellen-Aktivität gemessen (Riesebeck et al., 1994, Van Vlem et al., 1996). Von den in den oben beschriebenen Versuchen verwendeten Antibiotika (Amoxicillin und Clavulansäure bzw. Levofloxacin und Metronidazol) lagen keine Daten über immunmodulierende Wirkungen vor. Für Imipenem, Cefodizim und Clindamycin zeigten sich ausgeprägte

immunstimulierende Effekte, für Erythromycin, Roxithromycin, Cefotaxim, Tetracyclin, Rifampicin, Gentamicin, Teicoplanin und Ampicillin zeigten sich ausgeprägte immunsuppressorische Effekte. (Van Vlem et al., 1996) Es zeigen sich also auch innerhalb einzelner Wirkstoffgruppen zum Teil gegensätzliche Effekte auf das Immunsystem.

Ciprofloxacin zeigte eine deutliche Erhöhung verschiedener Zytokinspiegel bei Lymphozyten. (Riesebeck et al., 1994), Bei Lymphozyten die mit Cyclosporin A immunsupprimiert wurden, war dieser Effekt ebenfalls zu beobachten. (Riesebeck et al., 1994) In anderen Studien zeigt sich eher eine immunsuppressive Wirkung mit Hemmung der Lymphozytenproliferation (Van Vlem et al., 1996).

Einem breiten Einsatz der Antihistaminikaprophylaxe steht somit möglicherweise die mangelnde Kompatibilität zu verschiedenen Antibiotika im Weg. Hier führt eine Überprüfung der Wirksamkeit mit anderen, im klinischen Alltag weit verbreiteten Antibiotikakombinationen auf der Ebene von CMRT weiter.

Darüber hinaus sollten mögliche Einflüsse anderer Medikamente, die im Rahmen einer Intensivtherapie häufig eingesetzt werden, bedacht werden. So zeigte sich bei der Kombination von Antihistaminika und Cyclooxygenase-Hemmstoffen (hier Ibuprofen) eine Zunahme mikrovasulärer Läsionen. (Carey et al., 1994)

Als Konsequenz aus den oben beschriebenen zum Teil gegensätzlichen Effekten nach Antihistaminikagabe sollte der Einsatz der Prophylaxe im Szenario der Peritonitis und Sepsis nur unter definierten Bedingungen erfolgen.

Die von O'Keefe et al. 1998 veröffentlichte Studie bestätigt, dass ein genereller Einsatz von H2-Rezeptorantagonisten bei Schwerverletzten sogar die Rate der infektiösen Komplikationen erhöhen kann. Die Ergebnisse stehen nicht im Widerspruch zu den von uns gefundenen Daten. Die Versuche mit Levofloxacin und Metronidazol zeigen auch bei uns, dass die Wirksamkeit einer Antihistaminikaprophylaxe vom verwendeten Antibiotikum abhängt.

5. 3. 3. Stellenwert von immunmodulierenden Therapieverfahren in der Therapie des Septischen Schocks

Bedingt durch die Komplexität der Pathomechanismen im Rahmen von Sepsis und Multiorganversagen ist die Frage nach dem kausalen Beitrag einzelner Mechanismen zur Gesamtmortalität nicht hinreichend zu eruieren. So stellt sich die Insuffizienz der mechanischen Barriere der Darmwand einerseits als Ursache für eine Peritonitis mit Übergang in einen septischen Schock mit Multiorganversagen dar, andererseits zeigen Beobachtungen, dass Bakterientranslokationen durch die Darmwand im Rahmen von Multiorganversagen den Fortgang des Krankheitsgeschehens unter Umständen nicht beeinflussen. Auch durch selektive Dekontamination des Verdauungstrakts ließ sich nur eine Reduktion der Inzidenz von Atemwegsinfektionen bei Intensivpatienten erreichen. (Nieuwenhuijzen et al., 1996)

Das Auftreten von schweren Komplikationen wie ARDS (Adult Respiratory Distress Syndrom, akute Schocklunge) im Rahmen von systemischen Entzündungsreaktionen zeigt sich unabhängig von begleitenden nosokomialen Infektionen. Lediglich das Ausmaß und die Dauer der Entzündungsreaktion (korrelierend mit einer Erhöhung der Plasmaspiegel verschiedener inflammatorischer Zytokine) scheint direkten Einfluß auf die Entstehung des ARDS zu haben. (Headley et al., 1997)

Eine Beeinflussung der Mortalität erscheint somit über das heute erreichte Maß hinaus nur durch differenzierten Einsatz von immunmodulierenden Substanzen möglich zu sein. Gleichwohl haben die Enttäuschungen aus den bisherigen Studien mit immunmodulierenden Substanzen eine gedämpftere Erwartung hervorgerufen. Wenngleich es scheint, als ob die Steuerung der Entzündungsreaktion der grundlegendste Therapieansatz ist, sollte eine entschlossene chirurgische Herdsanierung und frühe Antibiotikatherapie als Säulen der Sepsistherapie nicht vernachlässigt werden. (Werdan et al., 1999)

5. 3. 4. Verwendung von männlichen Versuchstieren

In Bezug auf eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf allgemeine klinische Umstände sollte der Einsatz von ausschließlich männlichen Versuchstieren kurz diskutiert werden.

Betrachtet man die statistische Verteilung von verschiedenen Krankheiten mit neuroendokrin-immunologischen Pathomechanismen und wahrscheinlicher Mastzellbeteiligung, so fällt eine deutlich erhöhte Prävalenz bei Frauen auf. Eine mögliche Erklärung hierfür liegt in der Beeinflussung einer Vielzahl immunologischer Prozesse durch weibliche Hormone und Botenstoffe. So steigert Östradiol spezifisch die Histaminsekretion (Conrad et al., 1974) während Progesteron die Histaminfreisetzung hemmt (Vliagoftis et al., 1990). Schwankungen in der Ausprägung von Krankheitssymptomen während des Zyklus können in diesem Zusammenhang erklärt werden. (Theoharides, 1996) Alterationen des Hormonhaushalts im Verlauf der Schwangerschaft wie die Erhöhung des Kortisolspiegels beeinflussen nicht nur ausgeprägt autoimmune und atopische Krankheitsbilder, sie beeinträchtigen auch die allgemeine Abwehrlage des Organismus. (Wilckens et al., 1997)

Hinsichtlich der Relevanz für die gefundenen Ergebnisse muss unterschieden werden zwischen einer chronischen neuroendokrinen-immunologischen Entzündungsreaktion wie bei Interstitieller Cystitis, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, Migräne oder Multipler Sklerose und einem akuten, dynamischen Geschehen wie der Peritonitis und Sepsis, wo in kurzer Zeit eine fulminante Reaktion des Organismus abläuft.

Da die Mortalität bei Peritonitis und Sepsis sich nicht geschlechtsspezifisch unterscheidet (Martin et al., 2003) und hierbei eine maximale Aktivierung der neuroendokrinen-immunologischen Regelkreise stattfindet, wird ein möglicher geschlechtsspezifischer Wirkungsunterschied nicht relevant sein.

5. 3. 5. Bedeutung der Ergebnisse in Bezug auf klinische Forschung

Da es sich bei den verwendeten Antihistaminika um langjährig etablierte Medikamente handelt, bei denen auch das zu erwartende Spektrum der Nebenwirkungen bekannt ist, erscheint der Schritt hin zu einer prospektiven, randomisierten klinischen Studie nicht zu weit.

Die im Versuchsdesign angestrebte größtmögliche Angleichung der Tierversuchsstudie an die klinische Realität, welche im Konzept der CMRT begründet liegt, lassen eine hohe Übertragbarkeit der gefundenen Ergebnisse auf die Klinik erwarten und die in der Tierstudie gefundenen positiven Ergebnisse ermutigen zusätzlich zu einem solchen Schritt.

Da die immunmodulatorischen Eigenschaften von Histamin auch bei anderen schweren Krankheitsbildern die Pathophysiologie beeinflussen, ist auch hier ein möglicher Benefit für den Patienten zu suchen. So ließe sich möglicherweise auch bei Kolonkarzinompatienten als adjuvante Therapie oder im Rahmen von perioperativer Bluttransfusion eine Verbesserung der Abwehr durch Antihistaminikaprophylaxe erzielen. (Nielsen et al., 1991)

5. 3. 6. Einfluss von perioperativem Stress auf das Immunsystem, Unterschiede zwischen Laparoskopie und Laparotomie

Als ein weiterer möglicher Ansatzpunkt zur Reduktion von Morbidität und Mortalität bei Peritonitis und Sepsis soll die Bedeutung des perioperativen Stresses aufgegriffen werden. Hierbei richtet sich ein besonderes Augenmerk auf die weiter zunehmende laparoskopische Chirurgie.

Im Rahmen eines septischen Geschehens konnte im Tierversuch eine deutliche Verschiebung in der mukosalen Immunzellpopulation festgestellt werden. Vermittelt durch Glukokortikoide beobachtet man eine Reduktion von Plasmazellen und T-Lymphozyten, während die Anzahl der Makrophagen in der Mukosa ansteigt. Eine

Generalisation des Infektgeschehens scheint somit durch einen erhöhten Glukokortikoidspiegel erleichtert. (Österberg et al., 1997 ; Coutinho et al., 1997)

In einer Reihe von klinischen Studien wie auch Tierversuchsreihen zeigt sich weitgehend eindeutig eine signifikante Reduktion der Entzündungsreaktion bei laparoskopischer Technik gegenüber konventioneller Laparotomie anhand von klinischen Parametern und Labordaten. (Ortega et al., 1996) Dies bestätigt sich auch in den parallel zu den hier beschriebenen Versuchsreihen durchgeführten Versuchen im Rahmen unseres Forschungsprojekts.

Der zunehmende Einsatz laparoskopischer Techniken auch bei infektiösen Krankheitsprozessen wirft die Frage nach der möglichen Beeinflussung von Bakteriämie und Endotoxämie bei Laparoskopien auf. Jacobi und Mitarbeiter fanden hierfür an einem Tiermodell keinen Hinweis auf einen schädigenden Einfluss der Laparoskopie. Die Abszessbildung war in der Gruppe der laparoskopierten Tiere signifikant niedriger. (Jacobi et al., 1997)

In Bezug auf den Einfluss des Pneumoperitoneums und des verwendeten Gases wird eine Hemmung der TNF-a und IL-1 Sekretion durch Kohlendioxid insbesondere in der Frühphase beschrieben. Bei Verwendung von Raumluft oder Helium tritt diese Hemmung nicht auf. (Vittimberga et al., 1998, Kehlet et al., 1998) Holthausen beobachtet im Schweineversuch bei Septikämie eine unabhängig vom Laparoskopiegas auftretende mukosale Azidose und Kreislaufbelastung, bei Verwendung von Kohlendioxid ferner noch eine Stoffwechselstörung mit erhöhtem intestinalem ATP-Gehalt und erhöhten Endotoxinspiegeln nach Desufflation. (Holthausen et al., 1998)

5. 3. 7. Weiterführende Forschungsansätze

Neben der weiteren Forschung im klinischen Bereich liegt auch in der präklinischen Forschung im Umfeld der Mastzelle ein großes Betätigungsfeld. Die Beteiligung der Mastzellen an verschiedenen chronisch-entzündlichen Erkrankungen und ihre Funktion als Schnittstelle zwischen Immunsystem und Neuroendokrinum rückt sie in ein neues

Licht, dass über die Rolle als Vermittler der anaphylaktischen Sofortreaktion weit hinausgeht. Erst durch Fortschritte in der Färbetechnik lassen sich aktivierte (degranulierte) Mastzellen identifizieren. (Dines et al., 1997)

Neuere pharmakologische Entwicklungen auf dem Gebiet der Antihistaminika führten zu verschiedenen Wirkstoffen, die nicht selektiv H1-Rezeptoren blockieren sondern andere Ebenen der Signalübertragung der Mastzelle ebenfalls mit beeinflussen. Diese sogenannten Drittgenerations-Antihistaminika wirken so zusätzlich noch auf Plättchen-aktivierenden Faktor, Neurokinine, Leukotriene oder als H1-H2-Kombination. Die Ergebnisse klinischer Studien mit diesen Substanzen waren jedoch hinsichtlich ihrer Beeinflussung der allergischen Reaktion enttäuschend, so dass auch im Bereich der perioperativen Antihistaminikaphylaxe sich auch weiter die bekannten und bewährten Substanzen anbieten. (Aslanian et al., 1997)

Die Entdeckung des H4-Rezeptors mit vorrangiger Lokalisation im Knochenmark und in peripheren hämatopoetischen Stammzellen ergibt eine Erweiterung des Forschungsgebiets, da gerade im Bezug auf eine Histaminwirkung im Umfeld von Peritonitis und Sepsis hier sich neue Sichtweisen auf tun.

Die intensive Beforschung des Themenbereichs des Systemischen Entzündungsreaktions Syndrom (SIRS) in den letzten Jahren und die vielen hierbei erlittenen Enttäuschungen erbrachten zum Teil neue Sichtweisen und Konzepte hervor, die den ohnehin schon komplexen Themenbereich noch weiter differenzieren. So wird dem proinflammatorischen SIRS eine antiinflammatorische Gegenreaktion gegenübergestellt, das CARS (Compensatory antiinflammatory response syndrome) (Davies et al., 1997). Theoretischer Hintergrund ist die immuninhibierende Wirkung einiger proinflammatorischer Zytokine, welche die Abwehrfunktion durch Verminderung von Monozyten/Makrophagen, T- und B-Zellen vermindern. Darüber hinaus kann durch die proinflammatorischen Zytokine die Produktion antiinflammatorischer Zytokine initiiert werden (Kox et al., 2000). Dieser natürliche Regelkreis kann im Rahmen einer generalisierten Entzündungsreaktion als Gegenregulation bis zur Immunparalyse führen. (Kox et al., 2000) In diesem Auf und

Ab von verschiedensten Entzündungsparametern ist zwischen SIRS und CARS noch MARS etabliert als „Mixed inflammatory response syndrome“. Als Abkürzung für die als Resultat aus dem Entzündungsgeschehen hervorgehenden Reaktionen hat sich CHAOS etabliert (Cardiovascular shock, Homeostasis, Apoptosis, Organ dysfunction, immune Suppression). Als therapeutische Konsequenz sollte bei Überwiegen der proinflammatorischen Einflüsse eine antiinflammatorische Therapie erfolgen bei Überwiegen von CARS wäre eine immunstimulierende Therapie indiziert. Um hieraus Therapieempfehlungen für die Klinik ableiten zu können, steht aber als Hürde und Herausforderung die Entwicklung einer sicheren Evaluierung des Entzündungsstatus aus. (Davies et al., 1997)

Die von uns propagierte Antihistaminikaprophylaxe bleibt von diesen Überlegungen ausgenommen, weil sie als Prophylaxe sicher in der Frühphase einer Entzündungsreaktion ihre immunmodulierende Wirkung erzielt.

Bei der Konzeption einer klinischen Studie zur Überprüfung der Wirksamkeit der Antihistaminikaprophylaxe stellt sich die Frage nach möglichen Endpunkten und einer Messung des Outcomes. Die im Tierversuch als hartes Kriterium angesetzte Überlebensrate sollte nicht als einzig ausschlaggebender Endpunkt betrachtet werden. Vielmehr gilt es in der klinischen Forschung Ansätze zu verfolgen, die valide Ergebnisse durch Einbeziehung sowohl einer harten „mechanischen“ Betrachtungsweise als auch einer hermeneutischen (also vom Patienten selbstberichteten) Betrachtungsweise liefern. Hierbei sei die Auswertung von Lebensqualitätsvariablen genauso einbezogen wie die Erfassung von klinischen Parametern. (Lorenz et al., 1999) Dass ein solcher Ansatz umsetzbar ist, zeigt die erfolgreiche Durchführung einer klinischen Studie an 80 Patienten mit Kolorektalem Karzinom (Risikopatienten ASA 3+ 4) und einer immunmodulierenden Prophylaxe mit G-CSF (Granulocyte-Colony-Stimulating Factor) zur Vermeidung von postoperativen Komplikationen und den Einfluss auf die postoperative Wiederherstellung (Lebensqualität) (Lorenz et al., Bauhofer et al., Stinner et al., alle 2001). Bei dieser Studie wurde im übrigen auch eine Antihistaminika-Prophylaxe durchgeführt. Die Studie befindet sich nach erfolgreichem Abschluss in der Auswertungsphase.

Die entsprechenden Versuchsbedingungen und Therapieinteraktionen wurden im Rahmen des CMRT Konzeptes in tierexperimentellen Studie im Vorfeld überprüft. (Lorenz et al., 2001; Bauhofer et al., 2001; Stinner et al., 2001)

Als ein weiterer Schritt im Hinblick auf die Validierung der Ergebnisse aus den hier beschriebenen CMRT's erscheint eine klinische Studie mit perioperativer Antihistaminikaprophylaxe im Rahmen von Gallenwegsoperationen mit Antibiotikaprophylaxe durch Amoxicillin/ Clavulansäure als nächster Schritt sinnvoll, da sich insbesondere bei Infektionen im Umfeld von Gallenwegsoperationen dieses Antibiotikaregime empfiehlt. (Michalopoulos et al., 1997)

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Studie befasst sich mit der Frage nach der Wirkung einer perioperativen Antihistaminika-Prophylaxe auf das Überleben bei postoperativer Kontamination und Infektion (Peritonitis und Sepsis) im Rahmen von Klinik modellierenden, randomisierten Tierstudien (CMRT) in der Ratte.

Es wurde dabei ein Tierversuchsmodell etabliert, das sich nicht nur im Hinblick auf medizinische Details sondern auch bei den Standards für die Durchführung prospektiver, randomisierter, klinischer Studien an den Verhältnissen in der Klinik orientiert. Zielsetzung war es hierbei, die Übertragbarkeit der in präklinischen Tierstudien gefundenen Ergebnisse auf den klinischen Bereich zu verbessern.

In den Vorversuchen zeigte sich die einfache perioperative Prophylaxe sowohl bei hohem als auch bei geringem Schaden durch die gesetzte Infektion tendenziell überlegen gegenüber der Mehrfachgabe perioperativ und an den postoperativen Tagen. Die effektivste Dosiskombination wurde durch Variation der beiden verwendeten Antihistaminika (H1+H2-Rezeptorantagonisten) ermittelt, die Ergebnisse dienten zur Berechnung der Fallzahlen für die definitiven Versuche. Eine alleinige Cimetidin-Prophylaxe (H2-Blocker) erwies sich unter Austestung verschiedener Dosierungen als nicht wirksam.

Die definitiven Versuche wurden mit der aus den Vorversuchen ermittelten wirksamsten Dosiskombination durchgeführt. Die benötigte Fallzahl wurde anhand der Überlebensraten aus den Vorversuchen errechnet. In den definitiven Studien zeigte sich eine signifikante Senkung der Mortalitätsraten für die getestete Antihistaminika-Kombination (0,1 mg/kg KG Dimetinden und 5 mg/kg KG Cimetidin) sowohl bei einer geringen als auch bei einer stärkeren Schädigung durch die Infektion. In der Gruppe mit geringerem Schaden konnte das Überleben von 75% in der Kontrollgruppe auf 100% in der Antihistaminika-Gruppe gesteigert werden. In der Gruppe mit stärkerem Schaden zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Überlebens von 40% in der Kontrollgruppe auf 67% in der Antihistaminika-Gruppe.

Da es sich bei den verwendeten Antihistaminika um langjährig etablierte Medikamente handelt, deren zu erwartendes Nebenwirkungsspektrum bekannt ist, erscheint der Schritt hin zur klinischen Studie nicht weit.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse ermutigten uns zu einem solchen Schritt. Eine prospektive, randomisierte, doppelblinde klinische Studie an 80 Patienten mit kolorektalem Karzinom, konnte Ende 2002 abgeschlossen werden. In dieser Studie wurde der Immunmodulator G-CSF (Granulozyten-Kolonie-Stimulierender-Faktor) in Kombination mit verschiedenen Antibiotikaprophylaxen und einer H1+H2-Antihistaminikaprophylaxe getestet. Die in den Klinik modellierenden präklinischen Studien ermittelten Einflüsse und Interaktionen von G-CSF, Antibiotikaprophylaxe und Antihistaminikaprophylaxe auf die postoperative Wiederherstellung und Lebensqualität der Patienten konnten teilweise in der klinischen Studie bestätigt werden. Die mitunter konträren Wirkungen bei Verwendung verschiedener Antibiotika-Kombinationen in den präklinischen Untersuchungen implizieren eine genaue präklinische Überprüfung der Wirksamkeit für die jeweilige Medikamentenkombination im Vorfeld einer klinischen Studie. Durch die Ergebnisse der klinischen Studie konnte bestätigt werden, dass das Konzept der CMRT's ein geeignetes Werkzeug zur präklinischen Überprüfung möglicher pharmakologischer und chirurgischer Interaktionen mit Einfluss auf das postoperative Outcome darstellt.

7 Literaturverzeichnis

Abraham E, Raffin TA

Sepsis Therapy Trials – Continued Disappointment or Reason for Hope
JAMA, 1994, Vol. 271, No. 23, pp1876-1878

Arad G, Nussinovich R, Na'amad M, Kaempfer R

Dual Control of Human Interleukin-2 and Interferon- γ Gene Expression by Histamine: Activation and Suppression
Cellular Immunology, 1996, Vol.170, pp 149-155

Artico M, Iannetti G, Tranquilli Leali FM, Malinovsky L, Cavallotti C

Nerve Fibers – mast cells correlation in the rat parietal pleura
Respiration Physiology, 1998, Vol.113, pp 181-188

Aslanian R, Piwinski JJ

New directions in antihistamine research
Exp.Opin.Ther.Patents, 1997, Vol.7, No.3, pp 201-207

Barrett KE

Cytokines: sources, receptors and signalling
Baillière's Clinical Gastroenterology, 1996, Vol.10, No.1, pp 1-15

Barthlen W, Miethke T, Bartels H, Stadler J, Wagner H, Siewert JR

Prognostische Aussagekraft der Monozyten HLA-DR Antigen Expression bei abdominalchirurgischen Patienten
Chirurgisches Forum für experim. und klinische Forschung,
Hrsg.: Trede/ Seifert/ Hartel, 1994, pp 265-270

Bates DW, Sands K, Miller E, Lancken PN, Hibberd PL, Graman PS, Schwartz, JS, Kahn, K, Snyderman, DR, Parsonnet J, Moore R, Black E, Johnson BL, Jha A, Platt R
Predicting Bacteremia in Patients with Sepsis Syndrome
The Journal of Infectious Diseases, 1997, Vol.176, pp 1538-1551

Bauhofer A, Lorenz W, Celik I, Stinner B, Solovera J, Llorijn R
Hematopoietic cytokines, G-CSF and abdominal surgery
Cytokines and the Abdominal Surgeon, Schein M. (editor), New York,
Springer, 1998, pp117-141

Bauhofer A, Lorenz W, Stinner B, Rothmund M, Koller M, Sitter H, Celik I, Farndon JR, Fingerhut A, Hay JM, Lefering R, Llorijn R, Nystrom PO, Schafer H, Schein M, Solomkin J, Troidl H, Volk HD, Wittmann DH, Wyatt J,
Granulocyte-colony stimulating factor in the prevention of postoperative infectious complications and sub-optimal recovery from patients with colorectal cancer and increased preoperative risk (ASA3 and 4). Protocol for a controlled clinical trial developed by consensus of an international study group. Part two: design of the study.
Inflammation Research, 2001, Vol. 50, No.4, pp187-205

Bernton EW, Bryant HU, Holaday JW
Prolactin and Immune Function
Psychoneuroimmunology, 1991, 2nd Edition, Academic Press, pp 403-428

Besedovsky HO, DelRey A
Immune-Neuro-Endocrine Interactions: Facts and Hypotheses
Endocrine Reviews, 1996, Vol.17, No.1, pp 64-102

Bischoff SC, Lorentz A, Schwengberg S, Weier G, Raab R, Manns MP
Mast cells are an important cellular source of tumour necrosis factor α in human intestinal tissue
Gut, 1999, Vol.44, pp 643-652

Bissonnette EY, Befus AD

Anti-inflammatory effect of β_2 -agonists: Inhibition of TNF- α release from human mast cells

J Allergy Clin Immunol, 1997, Vol.100, pp 825-831

Bissonnette EY, Enciso JA, Befus AD

TGF- β 1 Inhibits the Release of Histamine and Tumour Necrosis Factor- α from Mast Cells Through an Autocrine Pathway

Am. J. Respir. Cell Mol.Biol., 1997, Vol.16, pp 275- 282

Blalock JE, Bellinger DL, Benveniste E, Brooks WH, Carr DJJ,

Garza HHjr,Johnson HM, Roszman TL, Smith EM,

Stevens-Felten SY, Torres BA, Walter MR, Weigent DA

Neuroimmuno-endocrinology

Karger, 3rd Edition, 1997

Blalock JE

The syntax of immune-neuroendocrine communication

Immunology today, 1994, Vol. 15, No. 11, pp 504-511

Blalock JE, Smith EM

A complete regulatory loop between the immune and neuroendocrine systems

Federation Proceedings, 1985, Vol. 44, No. 1, pp 108-111

Bohnen JMA, Matlow AG, Mustard RA, Christie NA, Kavouris B

Antibiotic efficacy in intraabdominal sepsis: a clinically relevant model

Can. J. Microbiol., 1988, Vol.34, pp 323-326

Bohnen JMA

Antibiotic Therapy for Abdominal Infection

World J. Surg., 1998, Vol.22, pp 152-157

Bornstein SR, Chrousos GP

Adrenocortikotropin (ACTH)- and Non-ACTH-Mediated Regulation of the Adrenal Cortex: Neural and Immune Inputs

J Clin Endocrinology Metabolism, 1999, Vol.84, No.5, pp 1729-1736

Bourinbaier AS, Fruhstorfer EC

The Effect of Histamine Type 2 Receptor Antagonists on Human Immunodeficiency Virus (HIV) Replication: Identification of a New Class of Antiviral Agents

Life Sciences, 1996, Vol.59, No.23, pp. PL 365-370

Carey PD, Windsor ACJ, Walsh CJ, Fowler AA, Sugerman HJ

Multi-agent therapy in the treatment of sepsis-induced microvascular injury

British Journal of Surgery, 1994, Vol.81, pp 1752-1756

Celik I, Lorenz W, Stinner B, Duda D, Sitter H, Sauer S, Junge A, Hoppe M

Clinic modeling randomised trials (CMRT's) in animals as a new intermediate between biological experiments and randomised clinical trials: Application to antihistamine prophylaxis in anaesthesia and surgery

Inflamm.res., 1998, Vol. 47, Suppl. 1, pp S66-S68

Celik I, Stover C, Botto M, Thiel S, Tzima S, Künkel D, Walport M, Lorenz W, Schwaeble W

Role of the Classical Pathway of Complement Activation in Experimentally Induced Polymicrobial Peritonitis

Infection and Immunity, 2001, Vol.69, No.12, pp 7304-7309

Clements P, Milman N, Struve-Christensen E, Nüchel Petersen B, Pedersen M, Bisgaard H, Permin H, Norn S

Bacteria-induced histamine release from human bronchoalveolar cells and blood leukocytes

Allergy, 1991, Vol.46, pp 45-51

Conrad MJ, Feigen GA,

Sex hormones and kinetics of anaphylactic histamine release

Physiol. Chem. Phys., 1974, Vol.6, Nr.1, pp11-16

Coutinho HB, Robalinho TI, Coutinho VB, Amorim AMS, Furtado AF, Ferraz A,
Ferraz E, Walker F, King G, Sewell HF, Wakelin D

*Intra-abdominal sepsis: an immunocytochemical study of the small intestine
mucosa*

J Clin Pathol, 1997, Vol.50, No.4, pp 294-298

Day J

Pros and cons of the use of antihistamines in managing allergic rhinitis

J Allergy Clin Immunology, 1999, Vol.103, pp S395-S399

Daynes RA, Araneo BA, Hennebold J, Enioutina E, Mu HH

Steroids as Regulators of the Mammalian Immune Response

J Invest Dermatol, 1995, Vol.105, pp 14S-19S

Davies MG, Hagen PO

Systemic inflammatory response syndrome

British Journal of Surgery, 1997, Vol.84, pp920-935

Deitch EA

Animal Models of Sepsis and Shock: A Review and Lessons learned

Shock, 1998, Vol. 9, No. 1, pp. 1-11

Dimitriadou V, Lampracht-Hall M, Reichler J, Theoharides TC

*Histochemical and Ultrastructural Characteristics of Rat Brain Mast Cells
Stimulated with Compound 48/80 and Carbachol*

Neuroscience, 1990, Vol. 39, No. 1, pp. 209-224

Dimmeler S, Lechleuthner A, Auweiler M, Troost C, Nagelschmidt M, Neugebauer E
*Effect of H1-Antagonism on Cardiovascular, pulmonary, and Immunological
Dysfunction in Porcine Endotoxin Shock*
SHOCK, 1995, Vol.3, No.6, pp 416-421

Dines KC, Powell HC

*Mast Cell Interactions with the Nervous System: Relationship to Mechanisms of
Disease*

J Neuropath Exp Neurol, 1997, Vol.56, No.6, pp627-640

Döcke WD, Syrbe U, Meinecke A, Platzer C, Makki A, Asadullah K, Klug C,
Zuckermann H, Reinke P, Brunner H, von Baehr R, Volk HD

Improvement of Monocyte Function- A New Therapeutic Approach?

Intensive Care and Emergency Medicine, 1994, Vol. 18, pp. 473-488

Doenicke A, Lorenz W

*Histamine Release in Anaesthesia and Surgery. Premedication with H1- and
H2-Receptor Antagonists: Indications, Benefits and Possible Problems*

Klin Wochenschr, 1982, Vol.60, pp 1039-1045

Dofferhoff ASM, Esselink MT, deVries-Hospers HG, v. Zanten A, Bom VJJ, Weits J,
Vellenga E

*The release of endotoxin from antibiotic-treated Escherichia coli and the
production of tumor necrosis factor by human monocytes*

Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1993, Vol. 31, pp 373-384

Dunn AJ

Nervous System- Immune System Interactions: An Overview

Journal of Receptor Research, 1988, Vol. 8, No.1-4, pp 589-607

Echtenacher B, Falk W, Männel DN, Krammer PH

Requirement of endogenous tumor necrosis factor/ cachectin for recovery from experimental peritonitis

J.Immunology, 1990, Vol. 145, No. 11, pp3762- 3766

Echtenacher B, Männel DN, Hültner L

Critical protective role of mast cells in a model of acute septic peritonitis

NATURE, 1996, Vol.381, pp 75-77

Falus A, Meretey K

Histamine: an early messenger in inflammatory and immune reactions

Immunology today, 1992, Vol. 13, No. 5, pp 154-156

Füreder W, Bankl HC, Toth J, Walchshofer S, Sperr W, Agis H, Semper H, Sillaber C, Lechner K, Valent P

Immunophenotypic and functional characterisation of human tonsillar mast cells

J.Leukoc. Biol., 1997, Vol. 61, pp 592-599

Galli SJ

New Concepts about the Mast Cell

NEJM, 1993, Vol.328, No.4, pp 257-265

Galli SJ, Wershil BK

The two faces of the mast cell

NATURE, 1996, Vol.381, pp 21-22

Garbarg M, Trung Tuong MD, Gros C, Schwartz JC

Effects of histamine H3-receptor ligands on various biochemical indices of histaminergic neuron activity in rat brain

Europ.J.Pharm., 1989, Vol. 164, pp. 1-11

Goetzl EJ, Sreedharan SP

Mediators of communication and adaption in the neuroendocrine and immune systems

FASEB, 1992, Vol. 6, pp 2646-2652

Gordon JR, Galli SJ

Mast cells as a source of both preformed and immunologically induced TNF- α /cachectin

NATURE, 1990, Vol.346, pp274-276

Hall JC, Heel KA, Papadimitriou JM, Platell C

The Pathobiology of Peritonitis

Gastroenterology, 1998, Vol.114, pp 185-196

Hasslen SR, Nelson RD, Kishimoto TK, Warren, WE, Ahrenholz DH, Solem LD

Down-regulation of Homing Receptors: A Mechanism For Impaired Recruitment of Human Phagocytes in Sepsis

The Journal of Trauma, 1991, Vol.31, No.5, pp 645-652

Hattori Y, Murakami Y, Atsuta H, Minamino N, Kangawa K, Kasai K

Glucocortikoid Regulation of Adrenomedullin in a Rat Model of Endotoxic Shock

Life Science, 1998, Vol.62, No.13, pp PL181-189

Headley AS, Tolley E, Meduri GU

Infections and the Inflammatory Response in Acute Respiratory Distress Syndrome

Chest, 1997, Vol.111, pp 1306-1321

Heemken R, Gandawidjaja L, Hau T

Peritonitis: Pathophysiology and Local Defense Mechanisms

Hepato-Gastroenterology, 1997, Vol.44, pp 927-936

Holthausen U, Nagelschmidt M, Fu ZX, Goost H, Minor T, Neugebauer E, Troidl H
*Einfluß eines Pneumoperitoneums auf Hämodynamik und intestinale Integrität
bei Endotoxinämie: CO₂ versus Helium*
Langenbecks Arch Chir I (Forumband 1998), pp561-564

Hooghe R, Delhase M, Vergani P, Malur A, Hooghe-Peters EL
*Growth hormone and prolactin are paracrine growth and differentiation
factors in the haemopoietic system*
Immunology Today, 1993, Vol.14, No.5, pp 212-214

Horn KD
*Evolving strategies in the treatment of sepsis and systemic inflammatory
response syndrome (SIRS)*
Q J Med, 1998, Vol.91, pp 265-277

Jacobi CA, Ordemann J, Böhm B, Zieren HU, Volk HD, Lorenz W, Halle E, Müller
JM
*Does laparoscopy increase bacteriemia and endotoxemia in a peritonitis
model?*
Surg Endosc, 1997, Vol. 11, pp 235-238

Jacobi CA, Ordemann J, Zieren HU, Volk HD, Bauhofer A, Halle E, Müller M
*Increased Systemic Inflammation After Laparotomy vs Laparoscopy in an
Animal Model of Peritonitis*
Arch Surg, 1998, Vol.133, pp258-262

Jacobs EH, Yamatodani A, Timmerman H
*Is histamine the final neurotransmitter in the entrainment of circadian rhythms
in mammals?*
TiPS , 2000, Vol.21, pp 293-298

Janeway CA

The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self

Immunology Today, 1992, Vol.13, No.1, pp 11-16

Kehlet H, Nielsen HJ

Impact of Laparoscopic Surgery on Stress Responses, Immunofunction, and Risk of Infectious Complications

New Horizons, 1998, Vol.6, No.2 (Suppl), ppS80-S88

Knigge UP

Histaminergic Regulation of Prolactin Secretion

Danish Medical Bulletin, 1990, Vol. 37, No. 2, pp109-124

Kox WJ, Volk T, Kox SN, Volk HD

Immunomodulatory therapies in sepsis

Intensive Care Med Vol. 26, S124-S128, 2000

Kurosawa M, Amano H, Kanbe N, Igarashi Y, Nagata H, Yamashita T, Kurimoto F, Miyachi Y

Response to cyclosporin and low-dose methylprednisolon in aggressive systemic mastocytosis

J Allergy Clin Immunology, 1999, Vol.103, pp S412-S420

Lin TJ, Befus AD

Differential Regulation of Mast Cell Function by IL-10 and Stem Cell Factor

Journal of Immunology, 1997, Vol.159, pp 4015-4023

Lorenz W, Dick W, Junginger T, Ohmann C, Ennis M, Immich H, McPeck B, Dietz W, Weber D and members of the Trial Group Mainz/Marburg

Induction of anaesthesia and perioperative risk: influence of antihistamine H1 + H2-prophylaxis and volume substitution with Haemaccel-35 on cardiovascular and respiratory disturbances and histamin release
Theor Surg, 1988, Vol.3, pp 55-77

Lorenz W, Dietz W, Ennis M, Stinner B, Doenicke A

Histamine in anaesthesia and surgery: causality analysis
Uvnäs B. (Editor): Handb. Exp. Pharmacol., Vol. 97, Histamine and Histamine antagonists., Berlin, Springer, 1991

Lorenz W, Duda D, Dick W, Sitter H, Doenicke A, Black A, Weber D, Menke H, Stinner B, Junginger T, Rothmund M, Ohmann C, Healy MJR, Trial Group Mainz/Marburg

Incidence and clinical importance of perioperative histamine release: randomised study of volume loading and antihistamines after induction of anaesthesia
Lancet, 1994, Vol. 343, pp. 933-940

Lorenz W, Reimund KP, Weitzel F, Celik I, Kurnatowski M, Schneider C, Neumann K, Sitter H, Rothmund M

Granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis before operation protects against lethal consequences of postoperative peritonitis
Surgery, 1994, Vol. 116, No. 5, pp 925-934

Lorenz W, Troidl H, Solomkin JS, Nies C, Sitter H, Koller M, Krack W, Roizen MF

Second Step: Testing-Outcome Measurements
World J. Surg., 1999, Vol. 23, pp 768-780

Lorenz W, Stinner B, Bauhofer A, Rothmund M, Celik I, Fingerhut A, Koller M, Lorijn RH, Nystrom PO, Sitter H, Schein M, Solomkin JS, Troidl H, Wyatt J, Wittmann DH

Granulocyte-colony stimulating factor in the prevention of postoperative infectious complications and sub-optimal recovery from patients with colorectal cancer and increased preoperative risk (ASA3 and 4). Protocol for a controlled clinical trial developed by consensus of an international study group. Part one: rationale and hypothesis

Inflammation Research, 2001, Vol. 50, No.3, pp115-122

Lotan M, Schwartz M

Cross talk between the immune system and the nervous system in response to injury: implications for regeneration

FASEB, 1994, Vol. 8, pp 1026-1033

Malaviya R, Ikeda T, Ross E, Abraham SN

Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infections through TNF- α

NATURE, 1996, Vol.381, pp 77-80

Mandrup-Poulsen T, Nerup J, Reimers JI, Pociot F, Andersen HU, Karlsen A, Bjerre U, Bergholdt R

Cytokines and the endocrine system. I. The immunoendocrine network

European Journal of Endocrinology, 1995, Vol.133, pp 660-71

Männel DN, Hültner L, Echtenacher B

Critical protective role of mast cell-derived tumour necrosis factor in bacterial infection

Res. Immunol.,1996, Vol 147, No.8-9, pp 491-493

Marone G, Casolaro V, Patella V, Florio G, Triggiani M

Molecular and Cellular Biology of Mast Cells and Basophils

Int Arch Allergy Immunol, 1997, Vol.114, pp 207-217

Marshall JC

Clinical trials of mediator-directed therapy in sepsis: what have we learned

Intensive Care Med, 2000, Vol. 26, pp S75-S83

Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M

The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000

N Engl J Med, 2003, Vol.348, pp1546-1554

Mathison R, Davison JS, Befus AD

Neuroendocrine regulation of inflammation and tissue repair by submandibular gland factors

Immunology today, 1994, Vol. 15, No. 11, pp 527-532

McEwen BS, Biron CA, Brunson KW, Bulloch K, Chambers WH, Dhabhar FS, Goldfarb RH, Kitson RP, Miller, AH, Spencer RL, Weiss JM

The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions

Brain Research Reviews, 1997, Vol.23, pp 79-133

McKay DM, Bienenstock J

The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract

Immunology today, 1994, Vol. 15, No. 11, pp 533-538

**Members of the American college of Chest Physicians/ Society of Critical Care
Medicine Consensus Conference**

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*

Critical Care Medicine, 1992, Vol. 20, No. 6, pp 864-874

Meretey K, Falus A

*The use of molecular probes in the study of the action of histamine on
macrophages*

Agents and Actions, 1988, Vol. 23, No. ¾ , pp 328-330

Michalopoulos A, Geroulanos S

Antibiotics for Prophylaxis and Treatment of Intra-Abdominal Infections

Hepato-Gastroenterology, 1997, Vol.44, pp 947-958

**Moesgaard F, Jensen LS, Christiansen PM, Thorlacius-Ussing O, Nielsen KT,
Rasmussen NR, Bardram L, Nielsen HJ**

*The effect of ranitidine on postoperative infectious complications following
emergency colorectal surgery: A randomized, placebo-controlled, double-blind
trial*

Inflamm. Res., 1998, Vol. 47, pp 12-17

Moon MH,

Shock and Related Capillary Phenomena

Oxford Press, London ,1938

Mori K, Maru C, Takusana K, Furuhami K

*Mechanism of histamine release induced by levofloxacin, a fluoroquinolone
antibacterial agent*

Eur. J. Pharmacology, 2000, Vol.394, pp 51-55

Müller-Werdan U, Werdan K

Therapie der Sepsis- eine Standortbestimmung

Arzneimitteltherapie, 1999, 17.Jg., Heft 4, pp124-132

Murphy WJ, Longo DL

Growth hormone as an immunomodulating therapeutic agent

Trends in Immunology Today, 2000, Vol.21, No.5, pp 311-313

Naclerio R

Clinical manifestations of the release of histamine and other inflammatory mediators

J Allergy Clin Immunology, 1999, Vol.103, pp S382-S385

Neugebauer E, Lorenz W, Beckurts T, Maroske D, Merte H

Significance of histamine formation and release in the development of endotoxic shock: Proof of current concepts by randomised controlled studies in rats

Reviews of Infectious Diseases, 1987, Vol. 9, Suppl. 5 , pp 585-593

Neugebauer E, Lorenz W, Maroske D, Barthlen W

Mediatoren beim septischen Schock: Strategien zu ihrer Sicherung und zur Einschätzung ihrer kausalen Bedeutung

Chirurg, 1987, Vol. 58, pp 470-481

Neugebauer E, Rixen D, Lorenz W

Histamin in septic/ endotoxic shock

Handbook of Mediators in Septic Shock, Neugebauer E, Holaday JW (Eds.), Boca Raton, FL, CRC Press, 1993, Chapter 3, pp51-126

Neugebauer E, Lorenz W, Rixen D, Stinner B, Sauer S, Dietz W

Histamine release in sepsis: A prospective, controlled, clinical study

Crit Care Med , 1996, Vol .24, No.10, pp 1670-1677

Nielsen HJ, Witt K, Moesgaard F, Kehlet H

Ranitidine for Improvement of Delayed Hypersensitivity Rspouse in Patients with Sepsis

Acta Chir Scand, 1989, Vol.155, pp 445-449

Nielsen HJ, Hammer JH, Moesgaard F, Kehlet H

Possible Role of Histamine-2 Receptor Antagonists for Adjuvant Treatment in Colorectal Cancer

Eur J Surg, 1991, Vol.157, pp 437-441

Nielsen HJ

Histamine-2 Receptor Antagonists as Immunomodulators: New Therapeutic Views

Annals of Medicine, 1996, Vol. 28, pp. 107-113

Nielsen HJ

The effect of histamine type-2 receptor antagonists on posttraumatic immune competence

Danish Medical Bulletin, 1995, Vol. 42, No. 2, pp 162-174

Nielsen HJ, Mynster T, Jensen S, Hammer J, Nielsen H

Effect of ranitidine on soluble interleukin 2 receptors and CD8 molecules in surgical patients

B.J.Surgery, 1994, Vol. 81, pp 1747-1751

Nielsen HJ, Moesgaard F, Hammer JH

Effect of ranitidine and low-dose interleukin-2 in vitro on NK-cell activity in peripheral blood from patients with liver metastases from colorectal cancer

European Journal of Surgical Oncology, 1995; Vol.21, pp 526-530

Nielsen HJ, Nielsen H, Jensen S, Moesgaard F

Ranitidin Improves Postoperative Monocyte and Neutrophil Function

ArchSurg, 1994, Vol. 129, pp309- 315

Nieuwenhuijzen GAP, Deitch EA, Goris RJA

Infection, the Gut and the Development of the Multiple Organ Dysfunction Syndrome

Eur J Surg, 1996, Vol.162, pp 259-273

Nilsson BO, Kockum I, Rosengren E

Effects of aminoguanidine and L-NAME on histamine-induced blood pressure drop in the rat

Acta Physiol Scand, 1997, Vol.161, pp 339-344

O'Keefe GE, Gentilello LM, Maier RV

Incidence of Infectious Complications Associated With the Use of Histamine 2-Receptor Antagonists in Critically Ill Trauma Patients

Annal of Surgery, 1998, Vol.227, No.1, pp 120-125

Orr EL

Nervous-System-Associated Mast Cells: Gatekeepers of Neural and Immune Interactions

Drug Development Research, 1988, Vol.15, pp 195-205

Ortega AE, Peters JH, Incarbone R, Estrada L, Ehsan A, Kwan Y, Spencer CJ, Moore-Jeffries E, Kuchta K, Nicoloff JT

A Prospective Randomized Comparison of the Metabolic and Stress Hormonal Responses of Laparoscopic and Open Cholecystectomy

J.Am.Coll.Surg., 1996, Vol.183, pp 249-256

Österberg J, Johnsson C, Gannedahl G, Westlund A, Haglund U

Alterations in Mucosal Immune Cell Distribution in Septic Rats

SHOCK, 1997, Vol.7, No.3, pp 182-185

Patella V, Ciccarelli A, Lamparter-Schummert B, De Paulis A, Adt M, Marone G

Heterogeneous effects of protamine on human mast cells and basophils

British Journal of Anaesthesia, 1997, Vol.78, pp 724-730

Pouw Kraan van der TCTM, Snijders A, Boelje LCM, de Groot ER, Alewijnse AE

Histamine Inhibits the Production of Interleukin-12 through Interaction with H2 Receptors

J. Clin. Invest., 1998, Vol.102, pp1866-1873

Purcell WM, Atterwill CK

Mast cells in Neuroimmune Function: Neurotoxicological and Neuropharmacological Perspectives

Neurochemical Research, 1995, Vol. 20, No. 5, pp 521-532

Ramos BF, Zhang Y, Jakschik BA

Mast cells contribute to fibrin deposition in reverse passive Arthus reaction in mouse skin

Eur. J. Immunol., 1992, Vol.22, pp 2381-2385

Reale M, Frydas S, Barbacane RC, Conti P, Placido FC, Cataldo I, Anogianakis G, Dimitriadou D, Vacalis D, Trakatellis A

Generation of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) by rat peritoneal mast cells after LPS or TNF-alpha activation

Int.J.Immunopathology and Pharmacology, 1996, Vol. 9, No. 3, pp109-112

Reichlin S

Neuroendocrine-Immune Interactions

NEJM, 1993, Vol. 328, pp 1246-1253

Riesbeck K, Sigvardsson M, Leanderson T, Forsgren A

Superinduktion of Cytokine Gene Transcription by Ciprofloxacin

J.Immunology, 1994, Vol.153, pp 343-352

Riesbeck K, Gullberg M, Forsgren A

Evidence that the antibiotic ciprofloxacin counteracts cyclosporine-dependent suppression of cytokine production

Transplantation, 1994, Vol.57, No.2, pp 267-272

Rixen D, Neugebauer E, Lechleuthner A, Buschauer A, Nagelschmidt M, Thoma S, Rink A

Beneficial effect of H2-agonism and H1-antagonism in rat endotoxic shock

Shock, 1994, Vol. 2, No. 1, pp 47-52

Sayek I

Animal Models for Intra-Abdominal Infection

Hepato-Gastroenterology, 1997, Vol.44, pp 923-926

Schneider E, Rolli-Derkinderen M, Arock M, Dy M

Trends in histamine research: new functions during immune responses and hematopoiesis

TRENDS in Immunology, 2002, Vol.23, No.5, pp255-263

Shavit Y

Stress-Induced Immune Modulation in Animals: Opiates and Endogenous Opioid Peptides

Psychoneuroimmunology, 2nd Edition, Academic Press, 1991, pp 789-806

Smith EM

Hormonal Activities of Cytokines

Blalock JE(ed): Neuroimmunoendocrinology, 3rd rev ed. Chem Immunol.

Basel, Karger, 1997, Vol.69, pp 185-202

Stinner B, Bauhofer A, Lorenz W, Rothmund M, Plaul U, Torossian A, Celik I, Sitter H, Koller M, Black A, Duda D, Encke A, Greger B, van Goor H, Hanisch E, Hesterberg R, Klose KJ, Lacaine F, Lorijn RH, Margolis C, Neugebauer E, Nystrom PO, Reemst PH, Schein M, Solovera J

Granulocyte-colony stimulating factor in the prevention of postoperative infectious complications and sub-optimal recovery from patients with colorectal cancer and increased preoperative risk (ASA3 and 4). Protocol for a controlled clinical trial developed by consensus of an international study group. Part three: individual patient, complication algorithm and quality manage

Inflammation Research, 2001, Vol. 50, No.5, pp233-248

Theoharides TC

The Mast Cell: A Neuroimmunoendocrine Master Player

Int. J. Tiss. Reac. , 1996, Vol 18, No.1, pp 1-21

Timmerman H

Histamine Agonists and Antagonists

Acta Otolaryngol (Stockh), 1991, Suppl.479: pp5-11

Tomaszewska D, Przekop F

The Immune-Neuro-Endocrine Interactions

J Physiol Pharmacol, 1997, Vol.48, No.2, pp 139-158

Turnball AV, Rivier CL

Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Cytokines: Actions and Mechanisms of Action

Physiological Reviews, 1999, Vol.79, No.1, pp1-71

Udelsman R, Holbrook NJ

Endocrine and molecular responses to surgical stress

Current Problems in Surgery, 1994, Vol. 31, No. 8, pp 658- 720

VanVlem B, Vanholder R, DePaepe P, Vogelaers D, Ringoir S

Immunomodulating Effects of Antibiotics: Literature Review

Infection, 1996, Vol.24, No.4, pp 275-291

Vincent JL, Abraham E, Annane D, Bernard G, Rivers E, VandenBerghe G

Reducing mortality in sepsis: new directions

Crit Care, 2002, Vol. 6, Suppl.3, S1-S18

Vittimberga FJ, Foley DP, Meyers WC, Callery MP

Laparoscopic Surgery and the Systemic Immune Response

Annals of Surgery, 1998, Vol.227, No.3, pp 326-334

Vliagoftis H, Hutson AM, Mahmudi.Azer S, Kim H, Rumsaeng V, Oh, CK, Moqbel R, Metcalfe DD

Mast cells express connexins on their cytoplasmic membrane

J Allerg Clin Immunology, 1999, Vol.103, pp 656-662

Vliagoftis H, Dimitriadou V, Theoharides TC

Progesterone triggers selective mast cell secretion of 5-hydroxytryptamine

Int.Arch.Allergy Appl.Immunol, 1990, Vol. 93, p 113

Walter MR

Structural Biology of Cytokines, Their Receptors, and Signaling Complexes:

Implications for the Immune and Neuroendocrine Circuit

Blalock JE(ed): Neuroimmunoendocrinology, 3rd rev ed. Chem Immunol.

Basel, Karger, 1997, Vol.69, pp76-98

Weigent DA, Blalock JE

Interactions between the Neuroendocrine and Immune Systems: Common

Hormones and Receptors

Immunological Reviews, 1987, No.100, pp 79-108

White M

Mediators of Inflammation and the inflammatory process

J Allergy Clin Immunology, 1999, Vol.103, pp S378-S381

Wilckens T

Glucocorticoids and immune function: physiological relevance and

pathogenetic potential of hormonal dysfunction

TiPS, 1995, Vol.16, pp 193-197

Wilckens T, DeRijk R

Glucocorticoids and immune function: unknown dimensions and new frontiers

Immunology today 1997; Vol.18, No.9, pp 418-424

Winbery SL, Lieberman PL

Histamin and Antihistamines in Anaphylaxis

Clin Allergy Immunol, 2002, Vol.17, pp 287-317

Zhang Y, Ramos BF, Jakschik BA

Neutrophil Recruitment by Tumour Necrosis Factor from Mast Cells in Immune Complex Peritonitis

SCIENCE, 1992, Vol.258, pp 1957-1959

Zhi-Quing B, Kobayashi K, Zenda N, Shimamura T

Tumour Necrosis Factor- α - and Interleukin-6- Triggered Mast Cell Development From Mouse Spleen Cells

Blood, 1997, Vol.89, No.2, pp 526-533

8. Anhang

8.1. Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren:

Amon, Arnold, Aumüller, Basler, Bauer, Baum, Beato, Daume, Daut, Egbring, Emmons, Fruhstorfer, Fuhrmann, Ganz, Gemsa, Geus, Golenhofen, Gotzen, Gressner, Griss, Habermehl, Happle, Havemann, Hilgermann, Joseph, Kaffarnik, Kern, Kleine, Kleinsasser, Klenk, Klose, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroll, Kummer, Kuni, Lang, Lange, Lauer, Lennartz, Lorenz, Maisch, Mannheim, Mannherz, Mennel, Moll, Oertel, Pfab, Renschmidt, Riedmiller, Rothmund, Schachtschabel, Schmitz-Moormann, Schneider, Schüffel, Schulz, Seifart, Seitz, Seyberth, Simon, Slenzka, Steiniger, Thomas, v.Wichert, Voigt, Wiegand

8.2. Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Lorenz für die Überlassung des interessanten Themas, die Unterstützung und das Interesse sowie für die Durchsicht der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Dr. I. Celik für die hervorragende Betreuung der Arbeit sowohl während der praktischen Phase als auch bei wissenschaftlichen Fragen.

Den übrigen Mitarbeitern des Instituts und meinem Mitdoktorand Jan-Hendrik Krömer danke ich für die immer freundliche, hilfsbereite und kompetente Unterstützung bei der Durchführung der Arbeiten. Hierbei möchte ich besonders Dieter Künkel, Ingeborg Mutschall und Armin Demand hervorheben.

An dieser Stelle möchte ich mich auch besonders bei meinen Eltern bedanken, die mir durch ihre großzügige Unterstützung das Studium und die Fertigstellung dieser Arbeit ermöglichten.