Aus der Klinik für Anästhesiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Pannen

Der Einfluss verschiedener Anästhetika auf die mitochondriale Funktion in Colon und Leber im septischen und nicht-septischen Rattenmodell

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Anna Emilia Fröbel

2026

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. Olaf Picker

Zweitgutachterin: Prof. Dr. Marion Rapp

Für meine Eltern.

In tiefer Dankbarkeit für alles, was ihr mir ermöglicht habt.

Zusammenfassung

Die Sepsis ist definiert als lebensbedrohliche Organdysfunktion, die durch eine inadäquate Wirtsantwort auf eine Infektion hervorgerufen wird. Sie ist weltweit mit einer hohen Inzidenz und Letalität assoziiert. Es existieren Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen mitochondrialer Funktion (MF) und dem sepsisinduzierten Organversagen. Anästhetika können die MF unterschiedlich verändern und organspezifisch wirken. Sowohl intestinale als auch hepatische Störungen korrelieren mit der Mortalitätsrate bei Sepsis. Zur MF im Colon liegen bislang nur wenige Daten vor. Für die Leber gibt es kaum Untersuchungen, die die Effekte mehrerer Anästhetika miteinander vergleichen.

Das Ziel dieser Arbeit war daher, die Wirkung von fünf gängigen Anästhetika auf die MF in Colon und Leber unter septischen und nicht-septischen Bedingungen zu vergleichen. In einer verblindeten in-vivo-Studie wurden 120 Wistar-Ratten in 10 Gruppen ($n = 12$) randomisiert. Die Gruppen 1 bis 5 wurden einer sterilen Laparotomie (Sham) unterzogen. Bei den Gruppen 6 bis 10 wurde mittels *Colon-Ascendens-Stent* (CASP) eine abdominelle Sepsis induziert. Nach 24 Stunden wurde eine Relaparotomie durchgeführt. Die Narkoseaufrechterhaltung erfolgte je nach Gruppenzugehörigkeit mit Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam oder Dexmedetomidin. Nach 90 Minuten wurden alle Tiere durch Exsanguination getötet und Gewebe aus Colon und Leber entnommen. Anschließend erfolgte die Messung der MF in Colon- und Leberhomogenaten durch Respirometrie. Es wurde der basale Sauerstoffverbrauch (State 2) nach Gabe von Substraten für Komplex I (Glutamat/Malat) und für Komplex II (Succinat) der Atmungskette sowie der maximale Sauerstoffverbrauch (State 3) nach ADP-Gabe gemessen. Zudem wurde die ADP/O-Ratio als Maß für die Effizienz der oxidativen Phosphorylierung bestimmt. Als Parameter der Kopplung zwischen Atmungskette und oxidativer Phosphorylierung wurde ein Respiratory Control Index (RCI - State 3/2) herangezogen. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Kruskal-Wallis-Test mit Dunn-Korrektur; $p < 0,05$ wurde als signifikant gewertet.

Signifikante Unterschiede konnten nur für die MF in der Leber und nur bei nicht-septischen Tieren festgestellt werden: Nach einer Narkose mit Isofluran war die ADP/O-Ratio nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II signifikant höher als nach Midazolam-Narkose. Außerdem war State 3 nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I nach Propofol-Narkose signifikant niedriger als nach Midazolam-Narkose. Für die mitochondriale Funktion im Colon zeigten sich zwischen den untersuchten Anästhetika keine signifikanten Unterschiede. Bei den septischen Tieren konnten weder für die MF in der Leber noch im Colon signifikante Unterschiede gemessen werden.

Die vorliegende Arbeit zeigt somit, dass sich die untersuchten Anästhetika in ihrem Effekt auf die MF in der Leber bei nicht-septischen Tieren geringfügig unterscheiden. Hinsichtlich ihres Effekts auf die MF im Colon und bei septischen Tieren gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Anästhetika.

Abstract

Sepsis is defined as a life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection. It is associated with a high incidence and mortality worldwide. Evidence suggests an association between mitochondrial function (MF) and sepsis-induced organ failure. Anesthetic agents may affect mitochondrial function differently and exert organ-specific effects. Both intestinal and hepatic dysfunction are associated with increased mortality in sepsis. To date, only limited data are available regarding mitochondrial function in the colon. In the liver, only few studies have compared the effects of different anesthetic agents on mitochondrial function.

The aim of this study was therefore to compare the effects of five commonly used anesthetic agents on mitochondrial function in the colon and liver under septic and non-septic conditions. In a blinded in vivo study, 120 Wistar rats were randomized into 10 groups (n = 12). Groups 1 to 5 underwent sterile laparotomy (sham procedure). In groups 6 to 10, abdominal sepsis was induced using the colon ascendens stent peritonitis (CASP) model. After 24 hours, relaparotomy was performed. Depending on group allocation, anesthesia was maintained with isoflurane, sevoflurane, propofol, midazolam, or dexmedetomidine. After 90 minutes, all animals were euthanized by exsanguination, and tissue samples from the colon and liver were collected. Mitochondrial function in colon and liver homogenates was subsequently assessed by respirometry. Basal oxygen consumption (state 2) after administration of substrates for complex I (glutamate/malate) and complex II (succinate) of the respiratory chain, as well as maximal oxygen consumption (state 3) after ADP stimulation, were measured. In addition, the ADP/O ratio was determined as a parameter of oxidative phosphorylation efficiency. The respiratory control index (RCI; state 3/state 2) was used as a parameter of coupling between the respiratory chain and oxidative phosphorylation. Statistical analysis was performed using the Kruskal–Wallis test with Dunn's correction; $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Significant differences were detected only in hepatic mitochondrial function and only in non-septic animals: Following isoflurane anesthesia, the ADP/O ratio after stimulation of the respiratory chain via complex II was significantly higher compared to midazolam anesthesia. Furthermore, state 3 respiration after stimulation of the respiratory chain via complex I was significantly lower following propofol anesthesia compared to midazolam anesthesia. No significant differences in mitochondrial function of the colon were observed between the investigated anesthetic agents. In septic animals, no significant differences in mitochondrial function were detected either in the liver or in the colon.

In conclusion, the present study demonstrates that the investigated anesthetic agents differ slightly in their effects on hepatic mitochondrial function in non-septic animals. With regard to their effects on mitochondrial function in the colon and under septic conditions, no significant differences were observed between the different anesthetic agents.

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
€	Euro
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
ALT	Alanin-Aminotransferase
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
BSA	Bovines Serumalbumin
C	Celsius
ca.	circa
CASP	Colon-Ascendens-Stent-Peritonitis
CCCP	Carbonylcyanid-m-chlorphenylhydrazon
CLP	*cecal ligation and puncture*
CS	*cecal slurry*
DAMPs	*damage-associated molecular patterns*
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ER	Endoplasmatisches Retikulum
FADH	Reduzierte Form des Flavin-Adenin-Dinukleotids
$FADH_2$	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FCR	Folin-Ciocalteu-Reagenz
g	Gramm
GCS	*Glasgow Coma Scale*

h	Stunde
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
I. E.	Internationale Einheiten
IL-1	Interleukin-1
IL-10	Interleukin-10
IL-6	Interleukin-6
kg	Kilogramm
L	Liter
LANUV	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz
LPS	Lipopolysaccharide
MAP	*Mean arterial pressure*
MF	Mitochondriale Funktion
mg	Milligramm
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MQTiPSS	*Minimum Quality Threshold in Pre-clinical Sepsis Studies*
n	Größe der Stichprobe
NADH	Reduzierte Form des Nikotinamidadenindinukleotids
NETs	*Neutrophil Extracellular Traps*
O_2	Sauerstoff
$O2^{\cdot-}$	Hyperoxidanion
pA	Pikoampere
PAMPs	*pathogen-associated molecular patterns*
PBMC	periphere mononukleäre Blutzellen

PRIS	*Propofol-related infusion syndrome*
PRRs	*Pattern-Recognition*-Rezeptoren
RCI	*Respiratory Control Index*
RCR	*Respiratory Control Ratio*
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
rpm	Umdrehungen pro Minute
s.	siehe
SALD	Sepsis-assoziierte Leberdysfunktion
SRSS	*septic rat severity scoring system*
Tab.	Tabelle
TierSchVersV	Tierschutz-Versuchstierverordnung
TLRs	*Toll-Like*-Rezeptoren
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
UPR	*unfolded protein response*
Vol. %	Volumenprozent
ZETT	zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
ZNS	zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung ... 1

1.1 Bedeutung der Sepsis ... 1

1.2 Pathophysiologie der Sepsis ... 3

1.3 Grundlagen der mitochondrialen Funktionsweise ... 5

1.4 Sepsis und mitochondriale Funktion ... 7

1.5 Colon und Leber während einer Sepsis ... 7

1.6 Der Einfluss von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion ... 10

1.7 Ziele der Arbeit ... 12

2 Material und Methoden ... 13

2.1 Tierexperimenteller Versuchsteil ... 13

2.1.1 Allgemeines ... 13

2.1.2 Material, Geräte und Medikamente des tierexperimentellen Versuchsteils ... 13

2.1.3 Versuchstiere ... 13

2.1.4 Versuchsablauf ... 14

2.1.5 CASP-Operation ... 16

2.1.6 Sham-Operation ... 17

2.2 Laborexperimenteller Versuchsteil ... 18

2.2.1 Material, Geräte und Chemikalien des laborexperimentellen Versuchsteils ... 18

2.2.2 Herstellung der Homogenate ... 18

2.2.3 Proteinbestimmung mittels LOWRY-Methode ... 19

2.2.4 Respirometrie ... 21

2.3 Statistische Auswertung ... 25

3 Ergebnisse ... 26

3.1 Der Einfluss der verschiedenen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion in der Leber ... 26

3.1.1 Mitochondriale Funktion in der Leber bei nicht-septischen Tieren ... 26

3.1.2 Mitochondriale Funktion in der Leber bei septischen Tieren ... 30

3.2 Der Einfluss der verschiedenen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion im Colon 34
3.2.1 Mitochondriale Funktion im Colon bei nicht-septischen Tieren ... 34
3.2.2 Mitochondriale Funktion im Colon bei septischen Tieren ... 38
4 Diskussion ... 43
4.1 Methodendiskussion ... 43
4.1.1 Wahl des experimentellen Modells ... 43
4.1.2 Ethische Aspekte und Umsetzung des 3R-Prinzips ... 43
4.1.3 Methodenwahl zur Untersuchung der mitochondrialen Funktion ... 45
4.1.4 Auswahl der verwendeten Anästhetika ... 45
4.1.5 Auswahl des Sepsismodells ... 46
4.2 Ergebnisdiskussion ... 47
4.2.1 Effekte auf die mitochondriale Funktion in der Leber ... 48
4.2.2 Effekte auf die mitochondriale Funktion im Colon ... 49
4.2.3 Einfluss der Sepsis auf die Wirkung der Anästhetika ... 50
4.3 Schlussfolgerungen ... 52
5 Abbildungsverzeichnis ... 53
6 Tabellenverzeichnis ... 55
7 Anhang ... 57
7.1 Materialien und Geräte des tierexperimentellen Teils ... 57
7.2 Medikamente des tierexperimentellen Teils ... 58
7.3 Materialien und Geräte des laborexperimentellen Teils ... 59
7.4 Chemikalien und Reagenzien des laborexperimentellen Teils ... 61
7.5 Puffer und Lösungen des laborexperimentellen Teils ... 63
7.6 Septic rat severity score ... 65
8 Literaturverzeichnis ... 67

1 Einleitung

1.1 Bedeutung der Sepsis

Bereits 1913 bemerkte William Osler, ein kanadischer Arzt, der auch als Vater der modernen Medizin bezeichnet wird: „Außer in wenigen Ausnahmen scheint der Patient eher durch die Reaktion des Körpers auf die Infektion zu sterben als durch die Infektion selbst“ [1]. Damit beschrieb er schon damals ein zentrales Prinzip des heutigen Verständnisses von Sepsis. Das Krankheitsbild der Sepsis ist seit 2016 international einheitlich definiert als eine lebensbedrohliche Organdysfunktion, die durch eine inadäquate Wirtsantwort auf eine Infektion hervorgerufen wird [2]. Eine sepsisassoziierte Organdysfunktion liegt bei einem Anstieg des *SOFA-Scores* (s. Tabelle 1) um ≥ 2 Punkte vor. Der septische Schock stellt die schwerste Verlaufsform der Sepsis dar. Er ist definiert durch eine persistierende Hypotonie mit einem mittleren arteriellen Druck < 65 mmHg, die eine Katecholamingabe erforderlich macht, sowie durch ein Serumlaktat > 2 mmol/L trotz adäquater Volumengabe.

Die Sepsis zählt weltweit zu den häufigsten und schwerwiegendsten Erkrankungen. Im Jahr 2017 erkrankten schätzungsweise 48,9 Millionen Menschen, während 11 Millionen Todesfälle mit einer Sepsis assoziiert waren, was rund 20 Prozent aller Todesfälle entspricht [3]. Auch in Deutschland wird die jährliche Inzidenz auf etwa 279.000 Fälle geschätzt [3]. Sepsis betrifft alle Altersgruppen. Besonders hohe Inzidenzen zeigen sich bei Kindern unter 5 Jahren mit schätzungsweise 20,3 Millionen Sepsisfällen und 2,9 Millionen sepsisassoziierten Todesfällen sowie bei älteren Menschen zwischen 65 und 89 Jahren, bei denen ein weiterer Erkrankungsgipfel beobachtet wird [3]. Eine systematische Übersichtsarbeit und Metaanalyse aus dem Jahr 2020 zeigt einen deutlichen Anstieg der Sepsisinzidenz seit 2008 [4]. Schätzungen zur Inzidenz sind jedoch aufgrund von unterschiedlichen Definitionen und nur ungenauer Erfassung nur bedingt belastbar.

Nach überstandener Sepsis treten zudem häufig Langzeitfolgen auf. Innerhalb von zwei Jahren nach überlebter Sepsis versterben etwa 33 Prozent der Patienten. Weitere 17 Prozent entwickeln Langzeitkomplikationen, die als Post-Sepsis-Syndrom bezeichnet werden [5]. Hierzu zählen unter anderem eine eingeschränkte Muskelkraft, muskuloskelettale Schmerzen und Polyneuropathien sowie chronische Erschöpfung, Konzentrationsstörungen und verminderte kognitive Leistungen [6]. Auch psychische Beschwerden wie Depressionen, Schlafstörungen oder Angstzustände treten häufig auf [6].

Tabelle 1: Bestandteile und Punktwerte des Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)-Scores [1]

Parameter	0 Punkte	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	4 Punkte
Atmung: P_aO_2/F_iO_2	≥400 mmHg	<400 mmHg	< 300 mmHg	< 200 mmHg unter künstlicher Beatmung	< 100 mmHg unter künstlicher Beatmung
Gerinnung: Thrombozytenzahl	≥ 150.000/µl	< 150.000/µl	< 100.000/µl	< 50.000/µl	< 20.000/µl
Leber: Bilirubin	<1,2 mg/dl	1,2-1,9 mg/dl	2,0 – 5,9 mg/dl	6,0 – 11,9 mg/dl	>12,0 mg/dl
Herz-Kreislauf-System	MAP ≥ 70 mmHg	MAP < 70 mmHg	Dopamin <5 oder Dobutamin (jede Dosierung)[2]	Dopamin 5,1-15 oder Adrenalin ≤0,1 oder Noradrenalin ≤0,1[2]	Dopamin >15 oder Adrenalin >0,1 oder Noradrenalin >0,1[2]
Niere: Kreatinin/ Urinausscheidung	<1,2 mg/dl	1,2-1,9 mg/dl	2,0-3,4 mg/dl	3,5-4,9 mg/dl oder < 500 ml Urin / Tag	>5 mg/dl oder < 200 ml Urin / Tag
ZNS: Glasgow Coma Scale Score	15	13-14	10-12	6-9	<6

1 modifiziert nach Vincent et al. [7]

2 Katecholamingabe in µg/kg/min für mindestens eine Stunde

Die Behandlung der Sepsis ist zudem mit erheblichen Kosten verbunden. Daten aus den USA zeigen, dass die krankenhausbezogenen Behandlungskosten einer Sepsis höher sind als die eines akuten Myokardinfarktes, einer Herzinsuffizienz, einer Pneumonie oder einer COPD [8]. Eine systematische Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2022 zeigt, dass die

durchschnittlichen Krankenhauskosten pro Sepsis-Patient je nach Land im Zeitraum von Januar 2010 bis Januar 2022 zwischen 1 101 Euro und 91 951 Euro lagen [9]. Die medianen sepsisbedingten Gesundheitsausgaben pro Land betrugen 2,65 Prozent des jeweiligen nationalen Gesundheitsbudgets [9]. Diese Untersuchungen bezogen die Behandlung von Langzeitkomplikationen jedoch nicht mit ein, sodass insgesamt von einer noch deutlich höheren gesamtwirtschaftlichen Belastung auszugehen ist.

1.2 Pathophysiologie der Sepsis

Die Pathophysiologie der Sepsis ist nur unvollständig verstanden und Gegenstand intensiver Forschung. Die resultierende Organdysfunktion scheint multifaktoriell bedingt zu sein. Huang et al. beschreiben in einer systematischen Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2019 eine dysregulierte Immunantwort, Immunschwäche, mitochondriale Schäden, Koagulopathie sowie endoplasmatischen Retikulumstress (ER-Stress) als zentrale Mechanismen der Sepsis [10]. Ein weiterer Schlüsselmechanismus ist die gestörte Mikrozirkulation [11].

Auslöser der initialen Immunantwort ist in der Regel eine Infektion mit Bakterien, Pilzen, Viren oder Parasiten. Erregerbestandteile (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs), wie beispielsweise Lipopolysaccharide (LPS), sowie endogene Substanzen, die durch Zellschädigung freigesetzt werden (*damage-associated molecular patterns,* DAMPs), führen zu einer Aktivierung von *Pattern-Recognition*-Rezeptoren (PRRs) des angeborenen Immunsystems [12]. Die Aktivierung dieser Rezeptoren initiiert intrazelluläre Signalkaskaden, die zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) sowie antiinflammatorischer Zytokine wie Interleukin-10 (IL-10) führen [13, 14]. Die resultierende überschießende systemische Immunreaktion kann klinisch zu Fieber, Schock und Multiorganversagen führen.

Viele Patienten mit Sepsis entwickeln zudem eine Immunschwäche, die nosokomiale und andere sekundäre Infektionen sowie die Reaktivierung latenter Viren begünstigt. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind vielfältig und noch nicht vollständig verstanden. Zu den Mechanismen zählt unter anderem eine vermehrte Apoptose von B-Lymphozyten, T-Lymphozyten und dendritischen Zellen [15-17]. Ein weiterer zentraler Mechanismus ist die Ausbildung einer sogenannten Endotoxin-Toleranz. Darunter versteht man das bei Patienten mit Sepsis beobachtete Phänomen einer abgeschwächten Immunantwort von Monozyten und Makrophagen nach wiederholter Stimulation mit LPS [18, 19]. Weitere diskutierte

Mechanismen umfassen die vermehrte Freisetzung unreifer Neutrophiler sowie epigenetische und metabolische Veränderungen [20, 21].

Ein weiterer wichtiger Mechanismus ist die sepsisinduzierte Koagulopathie [22]. PAMPs und DAMPs führen über die Bindung an PRRs zur Aktivierung von Monozyten und damit zu einer vermehrten Expression des Tissue-Faktors, was den extrinsischen Gerinnungsweg aktiviert und eine verstärkte Thrombinbildung zur Folge hat. Eine Störung des gerinnungshemmenden Protein-C/S-Systems wird ebenfalls beobachtet [23]. Geschädigte Endothelzellen setzen zudem vermehrt Von-Willebrand-Faktor frei [24]. Aktivierte neutrophile Granulozyten bilden sogenannte *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs), netzartige Strukturen aus DNA und Histonen, die Pathogene binden und abtöten [25]. NETs fördern gleichzeitig die intravasale Blutgerinnung und die Bildung von Thromben [26]. In einer japanischen Beobachtungsstudie aus dem Jahr 2019 erfüllten 29 Prozent der Patienten die Kriterien für eine disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC) als schwerste Form der sepsisinduzierten Koagulopathie [27]. Im Rahmen einer DIC kommt es zur Bildung von Mikrothromben, die über eine Beeinträchtigung der Mikrozirkulation wesentlich zur Entstehung des sepsisinduzierten Organversagens beitragen [28].

Das endoplasmatische Retikulum (ER) ist ein Zellorganell in eukaryotischen Zellen und spielt eine zentrale Rolle in der Proteinsynthese, -faltung und posttranslationaler Modifikation. Darüber hinaus stellt es einen der wichtigsten intrazellulären Calciumspeicher dar. Da Calciumionen als *Second Messenger* fungieren, ist die Freisetzung von Calcium aus dem ER entscheidend für die intrazelluläre Signaltransduktion. Bei Störungen der Proteinfaltung kann es zur Akkumulation fehlgefalteter Proteine im ER kommen, was einen Zustand induziert, der als ER-Stress bezeichnet wird. ER-Stress wird auch vermehrt bei Patienten mit Sepsis beobachtet [29]. Bei ER-Stress reagiert die Zelle mit dem sogenannten *unfolded protein response* (UPR). Der UPR aktiviert verschiedene Signalwege, die zu einer Reduktion der Proteintranslation, einer Erhöhung der Faltungskapazität sowie zum Abbau fehlgefalteter Proteine führen [30]. Bei anhaltender Aktivierung des UPR kann es jedoch auch zur Induktion von Zelltod kommen, was zur Entstehung des Multiorganversagens in der Sepsis beiträgt [30].

Neben den immunologischen Veränderungen scheint auch die Mikrozirkulation wesentlich zur Organdysfunktion beizutragen. Im Rahmen eines septischen Schocks kommt es durch Abnahme des Gefäßtonus (relative Hypovolämie) und Flüssigkeitsverluste infolge erhöhter Gefäßpermeabilität (absolute Hypovolämie) zu einer verminderten Durchblutung der

kleinsten Blutgefäße. Dies beeinträchtigt die Organperfusion und führt zu einer Gewebehypoxie [11]. Diese Veränderungen treten bereits auf, bevor der mittlere arterielle Blutdruck relevant abfällt [31] und können auch nach Normalisierung der Makrozirkulation und des Blutdrucks weiter bestehen [32]. Aus diesem Grund gewinnt das Monitoring der Mikrozirkulation und die positive Beeinflussung der Mikrozirkulation bei kritisch kranken Patienten zunehmend an Bedeutung. So werden nicht-invasive Verfahren zur Visualisierung der Mikrozirkulation wie die sublinguale Mikrozirkulationsmessung mittels Videomikroskop weiterentwickelt [33]. Außerdem wird die medikamentöse Modulation der Mikrozirkulation intensiv erforscht und ist beispielsweise auch ein Schwerpunkt der Arbeitsgruppe, in der die vorliegende Arbeit entstanden ist [34-36].

1.3 Grundlagen der mitochondrialen Funktionsweise

Mitochondrien sind Zellorganellen in eukaryotischen Zellen, die eine zentrale Rolle im zellulären Energiestoffwechsel spielen. Über die oxidative Phosphorylierung in der inneren Mitochondrienmembran wird Adenosintriphosphat (ATP) gebildet, das als zentraler Energieträger und Signalmolekül fungiert. Entsprechend finden sich auch besonders viele Mitochondrien in Zellen mit hohem Energiebedarf, wie Muskel- oder Nervenzellen.

Mitochondrien sind von einer Doppelmembran umgeben. Die innere Membran ist stark gefaltet und bildet je nach Zelltyp unterschiedliche Strukturen. Hier sind die Enzyme der Atmungskette lokalisiert. Der Raum innerhalb der inneren Membran wird als Matrix bezeichnet und enthält zahlreiche Enzyme sowie die mitochondriale DNA. Die äußere Membran ist nicht gefaltet und beinhaltet Kanäle, die dem Stoffaustausch dienen. Mitochondrien unterscheiden sich je nach Gewebe- und Zelltyp sowohl in ihrer Morphologie als auch in ihrer funktionellen Spezialisierung und Proteinzusammensetzung [37].

Wichtige Funktionen der Mitochondrien sind unter anderem die oxidative Phosphorylierung, die mitochondriale Fettsäuresynthese und -oxidation, die Apoptoseinduktion, die intrazelluläre Speicherung von Calcium, der Citratzyklus, die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), Wärmeproduktion und Teile des Harnstoffzyklus [37]. In Tabelle 2 sind die zentralen Funktionen von Mitochondrien in eukaryotischen Zellen und deren Bedeutung aufgeführt.

Tabelle 2: Zentrale Funktionen von Mitochondrien in eukaryotischen Zellen

Spezifische Aufgabe	Bedeutung
ATP-Synthese	Energiegewinnung auf zellulärer Ebene [38, 39]
ß-Oxidation von Fettsäuren	Gewinnung von Substraten für den Citratzyklus (Acetyl-CoA) [40]
Citratzyklus	Bereitstellung von FADH2, NADH + H+ für die Atmungskette [40]
Häm-Biosynthese	Bestandteil von Hämoglobin, Myoglobin, Cytochrom c [40]
Calciumspeicherung	Signaltransduktion [37]
ROS-Produktion	Signalmoleküle [38, 40]
Apoptose-Induktion	Gewebehomöostase, Tumorsuppression [41]
Thermogenese	Wärmeproduktion [37]

Die oxidative Phosphorylierung stellt den zentralen Prozess der mitochondrialen Energiegewinnung dar. In der inneren Mitochondrienmembran befindet sich eine Elektronentransportkette, bestehend aus mehreren Proteinkomplexen (Komplex I-V) sowie den Elektronenträgern Ubiquinon und Cytochrom c. Die Elektronen von Nikotinamidadenindinukleotid (NADH) und Flavin-Adenin-Dinukleotid ($FADH_2$) werden auf die Komplexe I und II der Atmungskette übertragen. Der Elektronentransport ist mit dem Transport von Protonen aus der Matrix in den Intermembranraum gekoppelt. Hierdurch kommt es zum Aufbau eines elektrochemischen Protonengradienten. Die so gewonnene Energie wird durch die ATP-Synthase (Komplex V der Atmungskette) dazu genutzt, Adenosindiphosphat (ADP) zu Adenosintriphosphat zu phosphorylieren [42].

Im Rahmen der Atmungskette entstehen als Nebenprodukte reaktive Sauerstoffspezies (ROS), wie beispielsweise Superoxidanion ($O2\cdot-$) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2). Sie fungieren als *Second Messenger* in zellulären Signalprozessen, insbesondere im Rahmen der

Immunantwort [43]. Darüber hinaus spielen mitochondriale ROS eine wichtige Rolle in der Makrophagen-assoziierten Immunabwehr [44-46].

1.4 Sepsis und mitochondriale Funktion

Zahlreiche Studien haben Veränderungen der mitochondrialen Funktion bei Patienten mit Sepsis beschrieben [47-51]. Dabei zeigen sich unter anderem Hinweise auf eine eingeschränkte oxidative Phosphorylierung und eine gestörte Zellatmung.

So wurde beispielsweise eine vermehrte Inaktivierung des Pyruvatdehydrogenase-Komplexes beschrieben, wodurch zentrale Schritte der oxidativen Phosphorylierung beeinträchtigt werden [52]. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass periphere mononukleäre Blutzellen (PBMC) bei Patienten mit septischem Schock eine verminderte ATP-Synthase-Aktivität sowie eine reduzierte Zellatmung aufweisen [53]. Auch bei Patienten ohne Schocksymptomatik wurden eine herabgesetzte Aktivität der Komplexe I, III und IV der Atmungskette sowie ein reduzierter Sauerstoffverbrauch festgestellt [54]. Darüber hinaus wurde eine signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der mitochondrialen Dysfunktion, dem Schweregrad der Sepsis sowie dem klinischen Outcome beobachtet [54]. Weitere Untersuchungen zeigten in Thrombozyten septischer Patienten verminderte NADH-Konzentrationen und eine reduzierte Aktivität der Komplexe I, III und IV [55]. Auch in Muskelgewebe konnte eine verminderte ATP-Konzentration sowie eine eingeschränkte Aktivität mitochondrialer Enzyme nachgewiesen werden [56]. Experimentelle Studien in Tiermodellen zeigen ebenfalls eine reduzierte Aktivität der Atmungskettenkomplexe sowie weitere Marker für mitochondriale Dysfunktion [57-59].

Die Befunde unterscheiden sich jedoch in Abhängigkeit vom untersuchten Zell- und Gewebetyp sowie vom Stadium der Sepsis. In verschiedenen Organen verändert sich die mitochondriale Funktion auf ganz unterschiedliche Weise [53-55]. So gibt es Untersuchungen, in denen die mitochondriale Funktion während einer Sepsis gleich blieb und insbesondere in frühen Krankheitsstadien wurde teilweise sogar eine gesteigerte mitochondriale Funktion beschrieben [60, 61].

1.5 Colon und Leber während einer Sepsis

Die Leber erfüllt zentrale Funktionen im Stoffwechsel, in der Synthese von Gerinnungs- und Akute-Phase-Proteinen sowie in der Entgiftung. Im Rahmen einer Sepsis kommt es früh zu

einer Beeinträchtigung der Stoffwechsel- und Entgiftungsfunktion der Leber, später treten auch Cholestase und der Untergang von Hepatozyten auf [62]. Kupffer-Zellen werden stark aktiviert und produzieren große Mengen proinflammatorische Zytokine wie TNF-α, IL-1 und IL-6, was zu einer Verstärkung der systemischen Entzündungsreaktion führt. Durch die Rekrutierung von Neutrophilen kommt es zu einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation, unter anderem durch verstärkte Adhäsion an das Endothel und Obstruktion von kleinen Gefäßen. Des Weiteren fördern NETs die Entstehung von Mikrothromben und schädigen Gefäße [63]. Sowohl durch Kupffer-Zellen als auch durch Neutrophile werden große Mengen an ROS produziert, was eine mitochondriale Dysfunktion sowie eine Gewebeschädigung verursacht [63].

Arbeiten zum Einfluss der Sepsis auf die mitochondriale Respiration in der Leber zeigen teilweise widersprüchliche Ergebnisse. Einige Studien berichten über eine verminderte mitochondriale Funktion [66-69], während andere keine signifikanten Veränderungen finden [70, 71] oder sogar eine gesteigerte mitochondriale Funktion beobachten [50, 72]. Herminghaus et al. untersuchten vor diesem Hintergrund die mitochondriale Funktion in Abhängigkeit vom Schweregrad der Sepsis. Dabei zeigte sich, dass bei milder Sepsis sogar eine gesteigerte Effizienz der Atmungskette auftritt, während die Effizienz der oxidativen Phosphorylierung unabhängig vom Schweregrad unverändert bleibt [50]. In einer weiteren Studie analysierten Herminghaus et al. die mitochondriale Funktion im zeitlichen Verlauf der Sepsis. Hierbei wurde nach 24 und 48 Stunden eine gesteigerte mitochondriale Funktion beobachtet, gefolgt von einer verminderten Effizienz der oxidativen Phosphorylierung nach 72 Stunden. Nach 96 Stunden zeigte sich eine Normalisierung der mitochondrialen Funktion [60]. Diese Befunde verdeutlichen, dass die mitochondriale Funktion in der Leber bei Sepsis sowohl vom Schweregrad als auch vom zeitlichen Verlauf der Erkrankung abhängt.

Aufgrund ihrer vielfältigen Aufgaben ist davon auszugehen, dass eine Beeinträchtigung des Organs das Outcome bei Sepsis beeinflusst. Die Inzidenz der sepsisassoziierten Leberdysfunktion (SALD) ist aufgrund unterschiedlicher Definitionen schwer exakt zu beziffern [64]. Yan et al. ermittelten 2014 in einer Übersichtsarbeit eine durchschnittliche SALD-Inzidenz von 39,9 Prozent. Diese liegt damit niedriger als bei respiratorischen, renalen oder neurologischen Dysfunktionen, ist jedoch vergleichbar mit der Inzidenz kardiovaskulärer Störungen. Zudem entwickeln 8,5 Prozent der Patienten mit Sepsis ein akutes Leberversagen [62]. Die Mortalität bei SALD wird mit 54 bis 68 Prozent angegeben und übertrifft damit die Sterblichkeit septischer Patienten mit respiratorischer Dysfunktion

[62, 65]. Klinisch kann sich SALD unterschiedlich manifestieren. In der Literatur werden vor allem die sepsisassoziierte Cholestase, die hypoxische Hepatitis und das akute Leberversagen beschrieben [64-66].

Das Colon erfüllt als Teil des Dickdarms wichtige Funktionen wie die Resorption von Wasser und Elektrolyten, die Schleimproduktion sowie die Beherbergung von Bakterien, die Nahrungsbestandteile weiter aufteilen. Darüber hinaus befindet sich im Darm eine große Anzahl spezialisierter Immunzellen. Das intestinale Mikrobiom beeinflusst das Immunsystem [67]. Das intestinale Mikrobiom, die darmassoziierten Immunzellen, die Darmschleimhaut und das Darmepithel bilden gemeinsam die sogenannte Darmbarriere, die den Organismus vor Pathogenen schützt. Im Rahmen einer Sepsis kommt es häufig zu einer Störung dieser Barriere [68].

Eine wesentliche Ursache hierfür sind Mikrozirkulationsstörungen. Diese treten während einer Sepsis bereits auf, bevor sich makrozirkulatorische Parameter wie der mittlere arterielle Blutdruck verändern [69]. Während eines Stresszustands führt die Ausschüttung von Katecholaminen zu einer Vasokonstriktion und Umverteilung des Blutvolumens zugunsten von Herz und Gehirn [70]. In die Splanchnikusgefäße, die die Bauchorgane versorgen und drainieren, fließt etwa 20 bis 25 Prozent des Herzzeitvolumens [75, 76]. Aufgrund dieser guten Durchblutung und großen Oberfläche ist der Darm besonders anfällig für Mikrozirkulationsstörungen. Zusätzlich treten während einer Sepsis Endotheldysfunktionen sowie eine vermehrte Mikrothromben-Bildung auf [76]. Dadurch entsteht eine unregelmäßige Perfusion mit Arealen, die hypoxisch sind, und anderen Arealen, die noch relativ gut perfundiert sind [71]. Minderperfusion kann eine Ischämie des Darmgewebes verursachen und zu einer bakteriellen Translokation führen. Dabei kommt es über die Darmwand zum Übertritt von Bakterien und PAMPs in die Blutbahn oder Lymphknoten [72]. Über die Pfortader oder das Lymphsystem gelangen die Pathogene anschließend zur Leber, wo sie eine systemische Entzündungsreaktion auslösen bzw. verstärken können [71-73].

Darüber hinaus beeinflusst Sepsis die mitochondriale Dynamik im Darmepithel und führt über Veränderungen bei der mitochondrialen Fusion und Fission verstärkt zu mitochondrialer Fragmentation [74]. Dies geht mit einer erhöhten Produktion von ROS sowie einer mitochondrialen Dysfunktion einher [74]. Hierunter zeigt sich beispielsweise eine reduzierte Aktivität im Komplex I der Atmungskette [75]. Im Rahmen dieser mitochondrialen Dysfunktion kommt es außerdem zum Strukturverlust von *Tight junctions*

und zu Zytoskelettschäden [74, 76], was ein weiterer Faktor für die Entstehung einer gestörten Darmbarriere ist.

Zusätzlich verändert sich im Verlauf einer Sepsis das intestinale Mikrobiom, insbesondere im Colon [77]. Eine bereits vorhandene Dysbiose scheint sowohl das Risiko für die Entwicklung einer Sepsis als auch für die Ausprägung von Endorganschäden zu erhöhen [78, 79]. Die genauen Zusammenhänge zwischen dem intestinalen Mikrobiom und dem Immunsystem sind jedoch noch nicht komplett verstanden und Thema zahlreicher aktueller Forschungsprojekte [80-83].

Auch die Darmmotilität wird durch Sepsis beeinträchtigt. Castro et al. haben dosis- und zeitabhängige Veränderungen der Darmmotilität beschrieben, wobei es nach einer initialen Phase von Hypermotilität zu einem paralytischen Ileus kommt [84].

1.6 Der Einfluss von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion

Septische Patienten benötigen häufig eine Sedierung auf der Intensivstation oder eine Narkose im Rahmen operativer Eingriffe, sodass Anästhetika regelmäßig zum Einsatz kommen. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der Anästhetika Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin auf die mitochondriale Funktion untersucht. Die Datenlage hierzu ist komplex.

Isofluran ist ein weit verbreitetes volatiles Anästhetikum aus der Gruppe der Flurane und weist eine gute muskelrelaxierende sowie eine geringe analgetische Wirkung auf. Unter Isofluran-Narkosen wurde wiederholt eine Hemmung von Komplex I der Atmungskette beschrieben [85-89]. Osuru et al. berichteten zudem über eine verminderte Aktivität der Komplexe II, III, IV und V [90]. Isofluran wird allerdings im Rahmen einer pharmakologischen Prä- und Postkonditionierung mit kardio- und neuroprotektiven Effekten in Verbindung gebracht, die unter anderem durch Veränderungen der ROS-Produktion, der Atmungskette und des mitochondrialen Membranpotentials vermittelt werden [87, 91, 92]. Eine Studie aus dem Jahr 2025 lieferte Hinweise darauf, dass die protektiven Effekte eng mit dem Komplex I der Atmungskette zusammenhängen [93].

Sevofluran ist ein weiteres volatiles Anästhetikum aus der Gruppe der Flurane. Es hat eine gute hypnotische, jedoch nur mäßig muskelrelaxierende und analgetische Wirkung und wird häufig in der Kinderanästhesie eingesetzt. Die Studienlage bezüglich des Einflusses von Sevofluran auf die mitochondriale Respiration ist nicht eindeutig. Einige Studien

beschreiben eine verringerte Komplex I-Aktivität [85, 88, 94], während dieser Effekt in anderen Studien nicht beobachtet wurde [95]. Insgesamt scheint die Hemmung der mitochondrialen Respiration unter Sevofluran weniger ausgeprägt zu sein als unter Isofluran [85]. Wie für Isofluran wurden auch für Sevofluran im Rahmen von Prä- und Postkonditionierung kardio- und neuroprotektive Effekte beschrieben [96], die ebenfalls eng mit Komplex I zusammenzuhängen scheinen [93].

Propofol ist ein weit verbreitetes intravenöses Anästhetikum, das häufig zur Narkoseeinleitung sowie für total intravenöse Anästhesien verwendet wird. Es ist kurzwirksam und hat keine analgetische Wirkung. Auch unter Propofol-Narkosen wurde eine verringerte Komplex I-Aktivität beobachtet [95, 97], diese Effekte traten jedoch teilweise nur unter hohen Dosierungen [85] oder nur in der Leber, nicht aber im Colon auf [50]. Unter Propofol-Narkosen wurde zudem teilweise eine verringerte Aktivität in Komplex IV [95] und in Komplex II [85] gemessen.

Midazolam gehört zur Gruppe der Benzodiazepine und wird vor allem zur Prämedikation, Anxiolyse und Sedierung eingesetzt, kann jedoch auch zur Narkoseeinleitung und Narkoseaufrechterhaltung verwendet werden. Studien zum Einfluss von Midazolam auf die mitochondriale Respiration sind begrenzt. Colleoni et al. beschrieben eine Hemmung der Atmungskette, vor allem von Komplex I [98]. Kuebart et al. zeigten ebenfalls eine Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktion, dies trat jedoch nur unter sehr hohen Dosierungen und nur in der Leber, nicht im Colon, auf [99].

Dexmedetomidin ist ein selektiver α2-Adrenozeptor-Agonist und wird vor allem zur Sedierung intensivmedizinisch behandelter Patienten eingesetzt. Für Dexmedetomidin wurden überwiegend protektive Effekte auf die mitochondriale Funktion beschrieben. Mehrere Studien zeigen, dass Dexmedetomidin nach LPS-Injektion die ROS-Produktion senken, die ATP-Produktion steigern und das Membranpotential stabilisieren kann [100-102]. Weng et al. maßen bei Kardiomyozyten eine Reduktion der Atmungskomplexe, dafür aber eine höhere Effizienz der Kopplung und eine Stabilisierung des mitochondrialen Membranpotentials [103]. Kuebart et al. konnten in Colon- und Leberhomogenaten von gesunden Ratten jedoch keine Verbesserung der mitochondrialen Funktion feststellen [99].

Insgesamt zeigen sich substanzspezifische Unterschiede hinsichtlich des Einflusses auf die mitochondriale Funktion, wobei die Datenlage uneinheitlich ist. Tendenziell scheint vor

allem Propofol einen negativen Einfluss auf die mitochondriale Funktion zu haben, während für Dexmedetomidin sogar teilweise eine protektive Wirkung beschrieben wird.

1.7 Ziele der Arbeit

Die Sepsis ist weiterhin eine lebensbedrohliche Erkrankung mit einer weltweit hohen Inzidenz und Letalität [2]. Mitochondriale Dysfunktion stellt dabei einen wesentlichen Bestandteil der Pathophysiologie des sepsisinduzierten Organversagens dar [47, 48, 54]. Insbesondere intestinale und hepatische Störungen spielen eine Schlüsselrolle im Verlauf der Sepsis [72] und sind häufig mit mitochondrialen Veränderungen assoziiert [61, 74].

Im Verlauf der Erkrankung kommen bei Patienten mit Sepsis häufig Anästhetika zum Einsatz. Voruntersuchungen zeigen substanzspezifische Unterschiede im Einfluss der Anästhetika auf die mitochondriale Funktion [85]. Die Datenlage hierzu ist jedoch uneinheitlich und es existieren nur wenige Studien, die mehrere Anästhetika direkt miteinander vergleichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, die Effekte von fünf gängigen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion in Colon und Leber unter septischen und nicht-septischen Bedingungen vergleichend zu untersuchen.

Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Gibt es Unterschiede in den Effekten der Anästhetika (Propofol, Isofluran, Sevofluran, Dexmedetomidin und Midazolam) auf die mitochondriale Funktion in der Leber?
2. Gibt es Unterschiede in den Effekten der Anästhetika (Propofol, Isofluran, Sevofluran, Dexmedetomidin und Midazolam) auf die mitochondriale Funktion im Colon?
3. Unterscheiden sich die Effekte unter septischen und nicht-septischen Bedingungen?

2 Material und Methoden

2.1 Tierexperimenteller Versuchsteil

2.1.1 Allgemeines

Für die Durchführung der im Folgenden beschriebenen Tierversuche lag eine Genehmigung nach § 8 des Tierschutzgesetzes vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) Nordrhein-Westfalen vor (Aktenzeichen 81-02.04.2019.A275). Operative Eingriffe (Sham-/CASP-Operationen, Laparotomie mit Organentnahme), Substanzapplikation und Betreuung der Tiere erfolgten durch die Veterinärmedizinerin Sandra Kramer. Die Verfasserin hatte lediglich Kontakt zu dem Gewebsmaterial, sodass kein Sachkundenachweis gemäß Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV) notwendig war.

2.1.2 Material, Geräte und Medikamente des tierexperimentellen Versuchsteils

Im Anhang befinden sich die Angaben zu den verwendeten Materialien, Geräten und Medikamenten des tierexperimentellen Versuchsteils.

2.1.3 Versuchstiere

Es wurden männliche, etwa 3 Monate alte Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 350 g +/- 45 g verwendet. Ausgewertet wurden die Ergebnisse von 120 Tieren. Weitere 11 Tiere verstarben vor Beendigung des Versuchs (8 nach einer Sham-Operation und 3 nach einer CASP-Operation), sodass von ihnen keine Daten in die Auswertung eingingen.

Die Versuchstiere wurden über die ZETT (zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) bezogen. Die Haltung erfolgte im Einklang mit der Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere.

Die Tiere wurden in handelsüblichen Einzelkäfigen gehalten. Sie erhielten Rattenstandardnahrung und sauberes Trinkwasser ad libitum aus einer Nippeltränke. Zudem wurde darauf geachtet, dass die Tiere Sichtkontakt zueinander hatten. Ab der ersten Operation bis zur Beendigung der Versuche wurden sie alle 6 Stunden durch einen Tierarzt

untersucht. Die Belastung der Tiere wurde mittels eines Score Sheets standardisiert dokumentiert und ein *Septic rat severity score* ermittelt (s. Anlage). Bei Erreichen einer Punktezahl von > 10 erfolgte aus Tierschutzgründen eine schmerzlose Tötung des Tieres mit Pentobarbital (600 mg/kg intraperitoneal).

2.1.4 Versuchsablauf

Die Tiere wurden randomisiert in 10 Gruppen eingeteilt. Jede Gruppe bestand aus 12 Tieren. Die verwendete Gruppengröße ergab sich aus einer *A-priori*-Poweranalyse. Es wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ und eine Power von 0,8 zugrunde gelegt. Basierend auf Erfahrungswerten aus vorangegangenen Untersuchungen wurde eine Standardabweichung von etwa 20 % des jeweiligen Mittelwertes angenommen. Unter diesen Voraussetzungen ergab sich eine erforderliche Gruppengröße von mindestens 12 Tieren pro Versuchsgruppe, um die erwarteten Unterschiede mit ausreichender statistischer Sicherheit nachweisen zu können. Die Tiere wurden anschließend durch die Veterinärmedizinerin Sandra Kramer je nach Gruppeneinteilung nach einem bestimmten Schema vorbehandelt und operiert (s. Abb. 1).

Alle Tiere erhielten 30 Minuten vor der Operation eine Analgesie mit Buprenorphin (0,05 mg/kg subkutan). Die Einleitung der Narkose erfolgte im Käfig mit Pentobarbital-Natrium (35 mg/kg intraperitoneal). Im Anschluss wurden die Tiere auf einem durch eine Wärmematte vorgewärmten Operationstisch in Rückenlage gelagert. Unter sterilen Bedingungen erfolgte eine Laparotomie mittels eines ca. 2 cm langen Schnitts entlang der *Linea alba* caudal des Nabels.

Von den 10 Gruppen wurden 5 Gruppen einer *Colon Ascendens Stent Peritonitis*-Operation (im Folgenden nur CASP-Operation genannt) unterzogen, um eine Sepsis zu induzieren. Die 5 anderen Gruppen wurden einer sterilen Laparotomie im Sinne einer Sham-Operation unterzogen. Die Operationsdauer betrug in allen Versuchsgruppen ca. 10 Minuten. In den folgenden 24 Stunden wurden die Tiere mindestens alle 6 Stunden mit Hilfe des oben bereits erwähnten *Score Sheets* (s. Anlage) tierärztlich untersucht und ein *Septic rat severity score* ermittelt. Zudem erhielten sie alle 6 bis 8 Stunden eine Analgesie mit Buprenorphin (0,05 mg/kg subkutan).

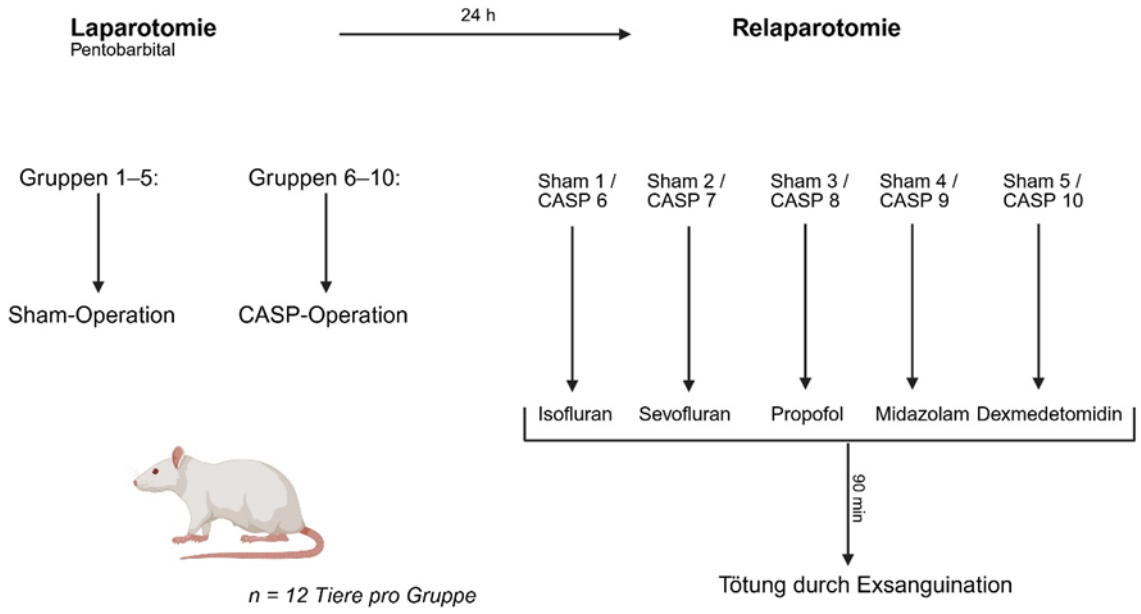


Abb. 1: Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf des tierexperimentellen Teils

Nach einer initialen Laparotomie unter Pentobarbitalnarkose erfolgte bei den Tieren entweder eine Sham-Operation (Gruppen 1–5) oder eine CASP-Operation (*Colon ascendens stent peritonitis*; Gruppen 6–10). Nach 24 Stunden (h) wurde eine Relaparotomie durchgeführt. Dabei wurden jeweils eine Sham- und eine CASP-Gruppe einem der folgenden Anästhetika zugeordnet: Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam oder Dexmedetomidin. Nach einer Expositionsdauer von 90 Minuten (min) erfolgte die Tötung der Tiere durch Exsanguination. Pro Versuchsgruppe wurden n = 12 Tiere untersucht.

Erstellt mit BioRender.com (BioRender, Toronto, Kanada).

24 Stunden nach der Operation erfolgte eine weitere Operation. Die Narkoseeinleitung erfolgte wieder mit Pentobarbital-Natrium (70 mg/kg intraperitoneal). Die Narkoseaufrechterhaltung erfolgte je nach Gruppenzugehörigkeit mit Isofluran (0,8-1,5 Vol.-%), Sevofluran (2-3 Vol.-%), Propofol (10-20 mg/kg/h), Midazolam (0,8-1,5 mg/kg/h) oder Dexmedetomidin (1,5-4,5 µg/kg/h) (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Versuchsgruppen mit Sham- bzw. CASP-Operation und jeweiliger Anästhesie

Gruppe	Versuchsbedingung	n
Gruppe 1	Sham + Isofluran (0,8-1,5 Vol.-%)	12
Gruppe 2	Sham + Sevofluran (2-3 Vol.-%)	12
Gruppe 3	Sham + Propofol (10-20 mg/kg/h)	12
Gruppe 4	Sham + Midazolam (0,8-1,5 mg/kg/h)	12
Gruppe 5	Sham + Dexmedetomidin (1,5-4,5 µg/kg/h)	12
Gruppe 6	CASP + Isofluran (0,8-1,5 Vol.-%)	12
Gruppe 7	CASP + Sevofluran (2-3 Vol.-%)	12
Gruppe 8	CASP + Propofol (10-20 mg/kg/h)	12
Gruppe 9	CASP + Midazolam (0,8-1,5 mg/kg/h)	12
Gruppe 10	CASP + Dexmedetomidin (1,5-4,5 µg/kg/h)	12

Dann erfolgte eine Relaparotomie mit Erweiterung des Schnitts bis zum Xyphoid. Nun wurden verschiedene Messungen durchgeführt, um die Ausprägung einer Sepsis, die Organfunktion, hämodynamische Parameter und die Mikrozirkulation zu bestimmen. Diese Messungen sind Gegenstand der Dissertation von Frau Sandra Kramer und werden im Folgenden nicht näher beschrieben.

Nach ca. 90 Minuten wurden alle Tiere in tiefer Narkose durch Exsanguination getötet und Gewebe aus Colon und Leber für weitere Untersuchungen entnommen. Die Gewebeproben wurden umgehend auf Eis gelagert.

2.1.5 CASP-Operation

CASP-Operationen gelten als eine gut etablierte Methode, um eine abdominale Sepsis in Nagetieren hervorzurufen [104]. Mithilfe eines Stents, der in das *Colon ascendens* implantiert wird, wird der kontinuierliche Austritt von Darminhalt in die Bauchhöhle ausgelöst. Dies führt zu einer Peritonitis und daraus folgend zu einer Sepsis [105].

Die Durchführung der CASP-Operation orientierte sich am von Herminghaus publizierten Versuchsprotokoll [105] (s. Abb. 2):

Am Übergang von Zökum zum *Colon ascendens* werden zwei Stents implantiert. Hierfür wird mit zwei Venenverweilkanülen das Darmlumen punktiert und mit nicht-resorbierbaren Fäden an der Darmwand fixiert und auf jeweils ca. 1 cm gekürzt. Mittels vorsichtiger Kompression des *Colon ascendens* wird die Durchgängigkeit der Stents für den Darminhalt überprüft, um eine kontinuierliche Bakterientranslokation in die Bauchhöhle zu gewährleisten. Die Bauchhöhle wird anschließend mit 10 ml warmer Infusionslösung gespült und die Bauchdecken fortlaufend verschlossen. Die Haut wird mit Einzelknopfnähten verschlossen.

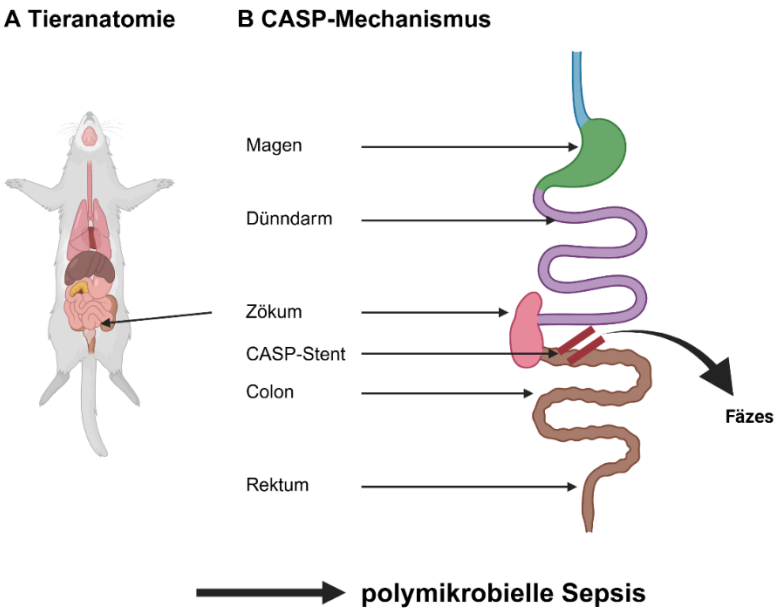


Abb. 2: Schematische Darstellung des CASP-Modells (Colon ascendens stent peritonitis) bei der Ratte

(A) Anatomische Lokalisation des Colon ascendens im Tier.

(B) Mechanismus des CASP-Modells. Zwei Stents werden in das *Colon ascendens* eingebracht, wodurch kontinuierlich Fäzes aus dem Darm in die Peritonealhöhle austreten. Dies führt zu einer polymikrobiellen Peritonitis und in der Folge zu einer polymikrobiellen Sepsis.

Erstellt mit BioRender.com (BioRender, Toronto, Kanada).

2.1.6 Sham-Operation

Als Sham-Operation bezeichnet man in der experimentellen Forschung eine Operation, die als Kontrollversuch bei einem Operationsverfahren eingesetzt wird. Ziel ist es, in dem Kontrollversuch möglichst gleiche Bedingungen zu schaffen, um eine Beeinflussung durch

weitere Variablen auf den beobachteten Effekt ausschließen zu können. Mögliche Störfaktoren bei der Untersuchung einer Operationsmethode sind beispielsweise die Narkose und das entstandene Gewebetrauma.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden bei den Sham-Operationen nach den bereits oben beschriebenen Vorbereitungen ebenfalls zwei auf ca. 1 cm gekürzte Venenverweilkanülen auf die *Tunica serosa* des *Colon ascendens* angenäht. Anders als bei den CASP-Operationen wurde nicht das Lumen penetriert, sodass kein Darminhalt in die Bauchhöhle gelangte. Die Bauchhöhle wurde auch hier wieder mit 10 ml warmer Infusionslösung gespült und die Bauchdecken fortlaufend verschlossen. Die Haut wurde wieder mit Einzelknopfnähten verschlossen.

Die beiden Operationsverfahren unterschieden sich somit lediglich in dem Austritt von Darminhalt und der daraus resultierenden Induktion einer Peritonitis und Sepsis.

2.2 Laborexperimenteller Versuchsteil

Alle im Folgenden durchgeführten Untersuchungen wurden hinsichtlich der Gruppeneinteilung der Versuchstiere verblindet durchgeführt.

2.2.1 Material, Geräte und Chemikalien des laborexperimentellen Versuchsteils

Im Anhang befinden sich alle Angaben zu den Materialien, Geräten, Chemikalien, Reagenzien, Puffern und Lösungen, die im laborexperimentellen Versuchsteil verwendet wurden.

2.2.2 Herstellung der Homogenate

Nach Entnahme der Organproben erfolgte umgehend die Lagerung in einem mit Isolationspuffer gefüllten Becherglas. Das Gewebe wurde nun in mehreren Schritten gereinigt, aufgearbeitet und homogenisiert. Während des gesamten Prozesses wurde durch die Lagerung auf Eis eine Kühlung des Gewebes gewährleistet.

Von dem Lebergewebe wurden zunächst 1 g abgewogen und der Rest verworfen. Anschließend wurde das Gewebe mit einer Schere in ca. 2 mm große Teile zerkleinert. Der Isolationspuffer wurde danach vorsichtig abgegossen und das Gewebe mit weiterem

Isolationspuffer mehrfach gespült. Der Überstand wurde ausgegossen und anschließend erneut 10 ml von dem Isolationspuffer hinzugegeben. Der Isolationspuffer und das Gewebe wurden im nächsten Schritt in einen S-Behälter gegeben und mittels eines elektrischen Laborrührwerks bei 2000 rpm fünfmal homogenisiert. Eine Kompresse wurde nun als Sieb benutzt, um verbliebene größere Gewebestückchen herauszufiltern. Die so entstandene Zellsuspension wurde anschließend in einem 50 ml Falcon-Zentrifugenröhrchen aufgefangen.

Das Gewicht des entnommenen Colongewebes wurde zunächst mittels einer Präzisionswaage bestimmt und dokumentiert. Alle weiteren Schritte erfolgten auch hier im Eisbad, um eine permanente Kühlung des Gewebes zu gewährleisten. Das Gewebe wurde danach in eine mit Isolationspuffer befüllte Petrischale gegeben, Fettanhängsel entfernt und der Darminhalt mit Hilfe einer Pinzette ausgestrichen. Anschließend wurde der Darm mit einer Schere längs eröffnet. Die Mukosa wurde mithilfe einer Kompresse weiter gesäubert. Zur Lockerung der Zellverbände wurde gewichtsadaptiert Trypsin-EDTA (0,05 %) hinzugegeben (Darmgewicht in g x 2 = x ml Trypsin-EDTA). Nach 5 Minuten wurde das Gewebe aus der Petrischale genommen und in ein kleines Glas mit gewichtsadaptierter Menge des Isolationspuffers mit humanem Serumalbumin hinzugegeben (Darmgewicht in g x 4 = x ml Isolationspuffer mit humanem Serumalbumin). Dem Isolationspuffer war vorher zudem gewichtsadaptiert der Proteaseinhibitor cOmplete™ hinzugefügt worden (Darmgewicht in g x 4 = x µL cOmplete™). Im Anschluss erfolgte mittels einer Schere die Zerkleinerung des Colongewebes in möglichst kleine Teile. Der Isolationspuffer und das Gewebe wurden in einen S-Behälter gegeben und mittels einem elektrischen Laborrührwerk bei 2000 rpm sechsmal homogenisiert. Auch hier wurde das Homogenat mittels einer Kompresse noch einmal gefiltert und die Zellsuspension in einem 50 ml Falcon-Zentrifugenröhrchen aufgefangen.

2.2.3 Proteinbestimmung mittels LOWRY-Methode

Die sogenannte Lowry-Methode ist ein erstmals im Jahr 1951 von Oliver Lowry publiziertes Verfahren, um Proteine quantitativ zu bestimmen [106]. Das Verfahren beruht auf zwei chemischen Reaktionen: In einem ersten Schritt reagieren in einer alkalischen Lösung, dem sogenannten Lowry-Reagenz, die Peptidbindungen mit Kupfer(II)-Ionen zu einem blau-violetten Komplex. Diese Reaktion läuft bei Raumtemperatur in 5 bis 10 Minuten vollständig ab. In einem zweiten Schritt wird gelbes Folin-Ciocalteu-Reagenz (FCR, Lösung

aus Molybdatophosphorsäure und Wolframatophosphorsäure) hinzugefügt. Der blau-violette Komplex reduziert das FCR, was zu einer intensiven Blaufärbung führt. Mittels Photometrie kann die resultierende Färbung dann zur quantitativen Bestimmung der Proteinkonzentration genutzt werden.

Um die Proteinkonzentration bestimmen zu können, wurde als Vergleichswert eine Standardreihe mit bekannter Proteinkonzentration herangezogen. Diese Standardreihe bestand aus Bovinem Serumalbumin und Aqua dest. in unterschiedlicher Konzentration (s. Tabelle 4).

Tabelle 4: Standardreihe aus Bovinem Serumalbumin

Standard	K0	K1	K2	K3	K4	K5	K6
Proteinkonzentration (µg/ml)	0	62,5	125	250	500	750	1.000

10 µl der Homogenate wurden jeweils in 990 µl Aqua dest. gegeben. Um die Messgenauigkeit zu erhöhen, wurden von jedem Homogenat drei solcher Suspensionen hergestellt. Zur Herstellung des Lowry-Reagenz wurden pro Versuchstier 8 ml Reagenz A, 80 µl Reagenz B und 80 µl Reagenz C vermischt. In Eppendorf-Gefäßen wurden 500 µl des Lowry-Reagenz mit je 100 µl der Standardreihe oder der Homogenatsuspensionen vermischt und 10 Minuten stehen gelassen. Dies entsprach dem ersten Schritt der oben beschriebenen Lowry-Methode.

Danach wurde jedem Eppendorf-Gefäß 50 µl von der Folin-haltigen Lowry-Lösung 2 hinzugefügt und der Inhalt vermischt. Es erfolgte eine 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur. Dies entsprach dem zweiten Schritt der oben beschriebenen Lowry-Methode.

Nach 30 Minuten wurden in eine 96-Well-Platte je zweimal 200 µl eines Eppendorf-Gefäßes in ein Well pipettiert. Mit der so präparierten 96-Well-Platte erfolgte im Multi-Detection Microplate Reader Synergy™2 mit der Software Gen5 Version 1.11.5 eine photometrische Bestimmung der Proteinkonzentrationen. Aus den unterschiedlichen Messwerten wurde jeweils ein Mittelwert für die Proteinkonzentration des Leberhomogenats und ein Mittelwert

für die Proteinkonzentration des Colonhomogenats errechnet. Diese Mittelwerte dienten später zur Bestimmung der benötigten Menge an Respirationspuffer.

2.2.4 Respirometrie

Eine der zentralen Funktionen der Mitochondrien ist die Bereitstellung von ATP über die Atmungskette. Dabei wird Sauerstoff als terminaler Elektronenakzeptor verbraucht. Der Sauerstoffverbrauch stellt somit ein indirektes Maß für die mitochondriale Funktion dar. Zur Bestimmung der mitochondrialen Funktion wurde daher der Sauerstoffverbrauch der Homogenate nach Zugabe verschiedener Substrate und Inhibitoren gemessen. Wie in der Einleitung bereits dargestellt, erfüllen Mitochondrien zahlreiche Funktionen, von denen die Bereitstellung von ATP nur eine darstellt. Aus Gründen der besseren Verständlichkeit wird im Folgenden dennoch der Begriff „mitochondriale Funktion“ verwendet, wenn Parameter der Atmungskette und der oxidativen Phosphorylierung gemeint sind, auch wenn dies nur einem Teil der mitochondrialen Gesamtfunktion entspricht.

Die Messungen wurden mit einem Respirometriesystem von Strathkelvin Instruments und der zugehörigen Software durchgeführt. Das System besteht aus dem eigentlichen Respirometer, das mit einer Sauerstoffelektrode arbeitet, sowie aus einer speziell für Mitochondrien- und Zellsuspensionen geeigneten Messkammer-Einheit (MT200/MT200A Respirometer Cell; SI782 Single/Dual Channel Meter). Die Messkammer-Einheit umfasst eine Glaskammer, die während der folgenden Untersuchungen von konstant 30 °C warmem Wasser umspült wurde, einen transparenten Verschlusskolben sowie einen integrierten Magnetrührer. Der Verschlusskolben besitzt eine kleine Öffnung, über die während einer respirometrischen Messung Substrate und Inhibitoren zugegeben werden können.

Vor Beginn der Messungen erfolgte eine Kalibrierung des Respirometers mit geschütteltem Aqua dest. als Positivkontrolle. Durch das Schütteln wurde das Aqua dest. mit Luftsauerstoff angereichert. Die Positivkontrolle diente als oberer Referenzwert und lag zwischen 400 und 470 Pikoampere (pA). Als Negativkontrolle diente eine Lösung aus Aqua dest. und Natriumsulfit. Natriumsulfit reagiert mit Sauerstoff zu Natriumsulfat und entzieht Lösungen so Sauerstoff. Die Negativkontrolle diente als unterer Referenzwert und lag unter 50 pA.

Die Respirationspuffer (für Colonhomogenate mit 20 mg BSA/ml, für Leberhomogenate ohne zusätzliches Albumin) wurden in einem Wasserbad auf 30 °C erwärmt. Um vergleichbare Proteinmengen zu erhalten, wurden die Homogenate in Abhängigkeit von der

photometrisch bestimmten Proteinkonzentration in ein vorher errechnetes Mischverhältnis mit dem Respirationspuffer gebracht. Von den so hergestellten Proben wurden jeweils 550 µl in die Messkammer überführt. Die Respirationsraten wurden kontinuierlich erfasst und in nmol/min/mg Proteine angegeben.

Angelehnt an die von Chance und Williams 1956 etablierten klassischen Stadien der mitochondrialen Atmung werden die verschiedenen Phasen im Folgenden State 1, State 2, State 3 und State 4 genannt [107] (s. Abb. 3).

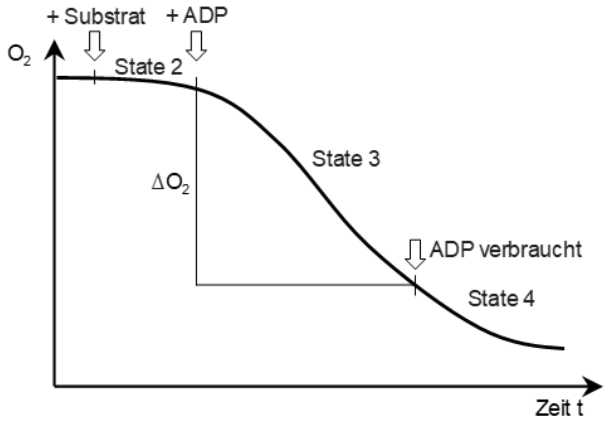


Abb. 3: Schematische Darstellung der respiratorischen Zustände während der Messung

Nach Zugabe von Substraten (Glutamat/Malat oder Succinat) wird State 2 erreicht, der den basalen Sauerstoffverbrauch mit vorhandenen Substraten in Abwesenheit von ADP beschreibt. Durch Zugabe von ADP wird State 3 induziert, der die maximale respiratorische Aktivität darstellt. Nach vollständigem Verbrauch des ADP geht die Respiration in State 4 über, der durch eine geringere Sauerstoffverbrauchsrate gekennzeichnet ist.

Der Beginn der Messung entspricht State 1, dem Zustand in Abwesenheit von Substraten und ADP. Eine Minute nach Messbeginn wurden entweder 2,5 mM Glutamat und 2,5 mM Malat oder 0,5 µM Rotenon und anschließend Succinat (5 mM für Colonhomogenate, 10 mM für Leberhomogenate) hinzugefügt. Dadurch wurde der sogenannte State 2 induziert, der den Zustand nach Zugabe von Substraten in Abwesenheit von ADP beschreibt. Glutamat und Malat dienen als Substrate für Komplex I der mitochondrialen Atmungskette. Succinat ist ein Substrat für Komplex II der Atmungskette. Das Succinat reagiert durch Komplex II zu Fumarat und reduziert dabei FAD zu FADH2. Rotenon ist ein Inhibitor von Komplex I der Atmungskette und wurde bei den Messungen mit Succinat eingesetzt, um die Respiration über Komplex II isoliert zu untersuchen.

Nach einer weiteren Minute wurde ADP hinzugefügt (250 µM für Leber- und 50 µM für Colonhomogenate), um State 3 zu induzieren. State 3 beschreibt den Zustand bei Vorhandensein von Substraten und Stimulation der Respiration durch ADP. Neben der Respirationsrate wurde zudem der maximale Sauerstoffverbrauch berechnet. Nach Verbrauch des ADP wird der State 4 erreicht. Nach insgesamt 5 bis 6 Minuten wurde der Versuch beendet.

Aus dem Verhältnis von State 3 zu State 2 wurde der Respiratory Control Index (RCI) berechnet. Er dient als Maß für die Kopplung zwischen den Komplexen I-IV der mitochondrialen Atmungskette und der ATP-Synthase, die teilweise auch als Komplex V bezeichnet wird. Je höher der RCI, desto stärker ist die Kopplung.

Aus dem Verhältnis von zugegebenem ADP und verbrauchtem Sauerstoff in State 3 wurde die ADP/O-Ratio berechnet. Die ADP/O-Ratio dient als Maß für die Effizienz der oxidativen Phosphorylierung. Je höher die ADP/O-Ratio, desto effizienter erfolgt die oxidative Phosphorylierung.

Zur Überprüfung der mitochondrialen Integrität wurden für jedes Gewebehomogenat Kontrollmessungen mit Cytochrom c, Oligomycin, Carbonylcyanid-m-chlorphenylhydrazon (CCCP) und Antimycin A durchgeführt (s. Abb. 4).

Cytochrom c wurde hinzugefügt, um Beschädigungen der äußeren Mitochondrienmembran zu detektieren. Es wurde im State 3 hinzugegeben und führt bei fehlender Integrität der äußeren Mitochondrienmembran zu einem Anstieg des Sauerstoffverbrauchs.

Oligomycin ist eine als Antibiotikum eingesetzte Substanz, welche die ATP-Synthase inhibiert. Sie wurde hinzugegeben, um Schäden der inneren Mitochondrienmembran zu detektieren. Nach Zugabe von Oligomycin wird durch die Hemmung der ATP-Synthase normalerweise ein dem State 2 ähnlicher Zustand hervorgerufen. Bei Schäden der inneren Mitochondrienmembran kommt es jedoch zu einem unkontrollierten Protonenfluss und dadurch zu einem unverhältnismäßig hohen Sauerstoffverbrauch.

CCCP ist ein Entkoppler der mitochondrialen Atmungskette. Es verhindert den Aufbau eines Protonengradienten und hemmt so die oxidative Phosphorylierung. Um das Membranpotential aufrechtzuerhalten, erhöht sich in intakten Mitochondrien die Aktivität der Atmungskette, was mit einem gesteigerten Sauerstoffverbrauch einhergeht.

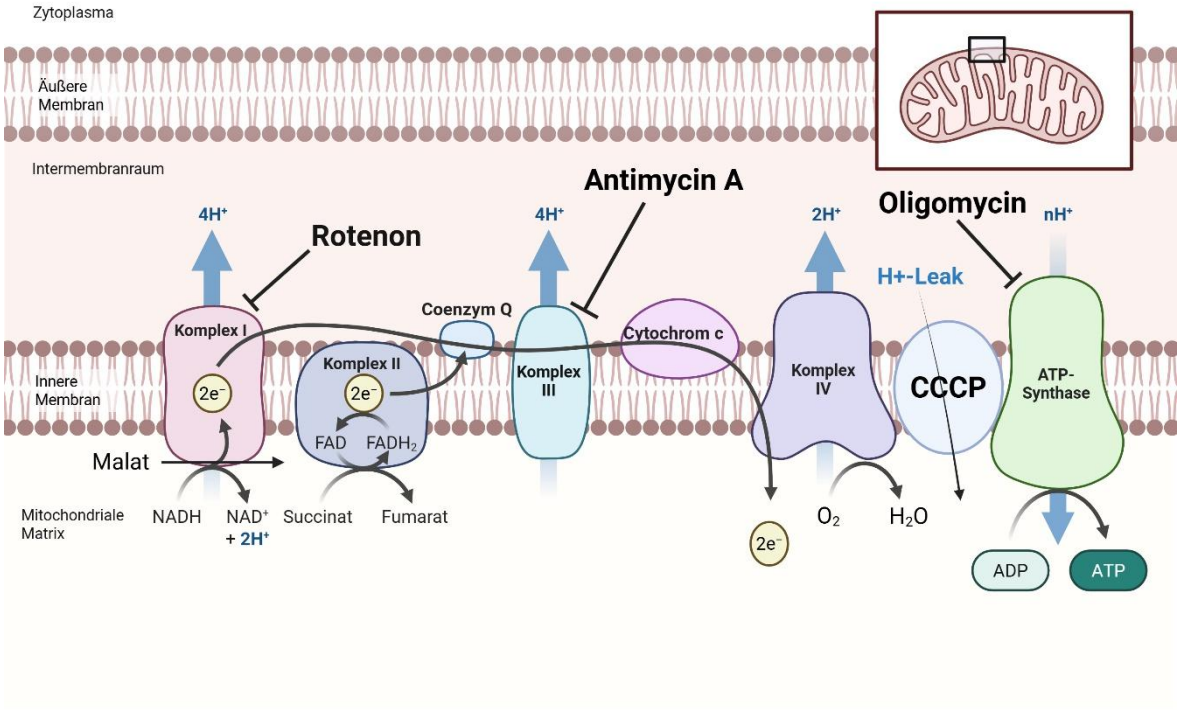


Abb. 4: Schematische Darstellung der mitochondrialen Atmungskette und der Angriffspunkte der verwendeten Substanzen

Elektronen werden von NADH bzw. $FADH_2$ über die Komplexe I–IV der Atmungskette auf Sauerstoff übertragen. Dabei werden Protonen aus der mitochondrialen Matrix in den Intermembranraum transportiert und ein Protonengradient aufgebaut, der die ATP-Synthese durch die ATP-Synthase antreibt. Rotenon hemmt Komplex I, Antimycin A Komplex III und Oligomycin die ATP-Synthase. Der Entkoppler CCCP führt zu einem Protonenleck und hebt den Protonengradienten auf.

Modifiziert nach einer Vorlage von BioRender.com (BioRender, Toronto, Kanada).

Antimycin A ist ebenso wie Oligomycin ein Antibiotikum. Es bindet an Komplex III der Atmungskette und blockiert die Übertragung von Elektronen von Coenzym Q auf Cytochrom c. Dadurch wird der Elektronentransport zur Cytochrom-c-Oxidase (Komplex IV) unterbrochen und der mitochondriale Sauerstoffverbrauch nahezu vollständig gehemmt, wodurch der nicht-mitochondriale Sauerstoffverbrauch ermittelt werden kann.

2.3 Statistische Auswertung

Um den Einfluss der verschiedenen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion zu untersuchen, wurden die respiratorischen Messdaten von Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin miteinander verglichen. Die Effekte auf septische und nicht-septische Tiere wurden getrennt voneinander untersucht. Ebenso wurden die Effekte auf Colon- und Lebergewebe und auf Komplex I und Komplex II der Atmungskette getrennt voneinander untersucht. Die statistische Auswertung erfolgte mit der Statistiksoftware GraphPad Prism® 8.

Von State 2, State 3, State 4, delta O, der ADP/O-Ratio und dem RCI wurden jeweils das Minimum, das Maximum, die Spannweite, der Mittelwert, der Median, die Standardabweichung, der Standardfehler, das untere Quartil, das obere Quartil und der Interquartilsabstand berechnet. Die Daten wurden mittels eines Kolmogorv-Smirnovs-Tests auf Normalverteilung getestet. Bei Nicht-Normalverteilung erfolgten Kruskal-Wallis-Tests, gefolgt von einer Dunn’s Korrektur. Das Signifikanzniveau lag bei 0,05.

Die Ergebnisse wurden in Box-Plot-Diagrammen grafisch dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Der Einfluss der verschiedenen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion in der Leber

3.1.1 Mitochondriale Funktion in der Leber bei nicht-septischen Tieren

Bei nicht-septischen Tieren zeigten sich nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I weder bei der ADP/O-Ratio noch dem RCI statistisch signifikante Unterschiede (s. Tabellen 6 und 7 sowie Abb. 5). Bei State 3 ergab sich jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe, die eine Propofol-Narkose erhalten hatte, und der Gruppe, die eine Midazolam-Narkose hatte: State 3 war nach Propofol-Narkose signifikant niedriger als nach Midazolam-Narkose (s. Tabelle 5 und Abb. 5: Propofol: 12,94 (IQR 11,67-14,9); Midazolam: 16,34 (IQR 14,62-17,64)). Nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II ergaben sich weder für State 3 noch für den RCI signifikante Unterschiede. Die ADP/O-Ratio war nach Isofluran-Narkose jedoch signifikant höher als nach Midazolam-Narkose (s. Tabelle 9 und Abb 6: Isofluran: 3,07 (IQR 3,03-3,3); Midazolam: 2,245 (IQR 1,88-2,86)).

Zusammenfassend zeigten sich in einzelnen Aspekten der mitochondrialen Funktion in der Leber nicht-septischer Tiere signifikante Unterschiede je nach Anästhetikum.

3.1.1.1 Mitochondriale Funktion in der Leber bei nicht-septischen Tieren nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I

Tabelle 5: Werte für State 3 in der Leber bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	12,33	13,4	9,75	11,7	12,6
25. Perzentile	14,22	13,61	11,67	14,62	13,9
Median	14,93	14,64	12,94	16,34	14,7
75. Perzentile	16,93	16,41	14,9	17,64	15,44
Maximum	18,17	18,33	15,63	18,7	18,21
Standardabweichung	1,8	1,7	1,87	2,11	1,59

Tabelle 6: Werte für ADP/O in der Leber bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	3,6	2,6	2,97	2,27	2,2
25. Perzentile	4,4	3,3	3,93	3,02	3,23
Median	4,76	3,84	4,2	3,68	4,07
75. Perzentile	5,55	4,8	4,5	4,52	4,87
Maximum	6,7	5,02	4,93	6,47	5,07
Standardabweichung	0,92	0,83	0,59	1,18	0,99

Tabelle 7: Werte für den RCI in der Leber bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	10,64	8,91	10,86	11,7	10,93
25. Perzentile	11,54	11,64	13,01	12,3	12,6
Median	13,79	13,18	14,12	12,74	13,01
75. Perzentile	15,25	14,95	15,03	15,96	13,46
Maximum	20,35	16,05	15,38	17,46	14,33
Standardabweichung	2,81	2,05	1,53	2,14	0,89

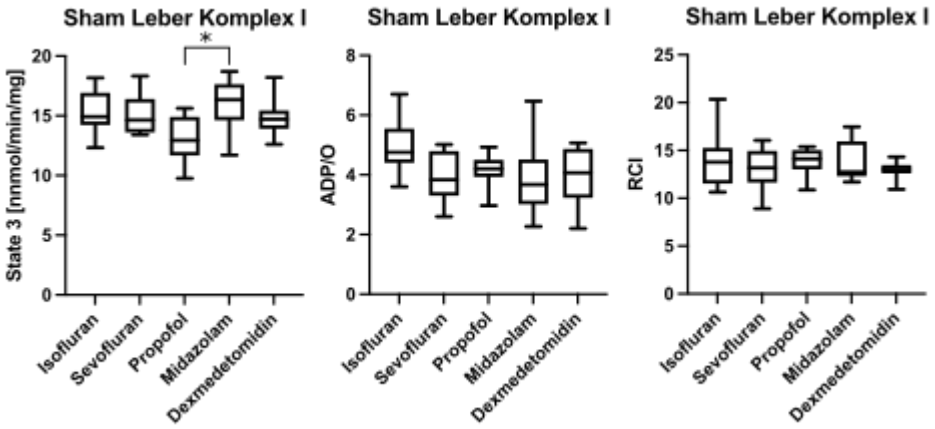


Abb. 5: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O und Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max). Signifikante Unterschiede zwischen Gruppen sind durch Klammern dargestellt. * = $p < 0{,}05$

3.1.1.2 Mitochondriale Funktion in der Leber bei nicht-septischen Tieren nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II

Tabelle 8: Werte für State 3 in der Leber bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	18,63	18,93	14,44	17	18,06
25. Perzentile	19,63	21,51	17,85	21,54	20,58
Median	22,3	22,52	20,07	22,8	22,24
75. Perzentile	26,03	24,24	22,5	25,91	24,45
Maximum	27,93	28	23,37	29,83	28,35
Standardabweichung	3,23	2,32	2,74	3,59	3,06

Tabelle 9: Werte für ADP/O in der Leber bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	2,47	1,76	2	1,57	1,6
25. Perzentile	3,03	1,94	2,47	1,88	1,83
Median	3,07	2,55	2,63	2,25	2,54
75. Perzentile	3,3	3,2	2,86	2,86	2,85
Maximum	5,1	3,6	3,25	4,23	3,16
Standardabweichung	0,73	0,63	0,33	0,77	0,54

Tabelle 10: Werte für den RCI in der Leber bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	6,95	7,83	7,92	8,1	7,77
25. Perzentile	7,87	8,95	8,88	8,8	9,01
Median	8,91	9,23	9,41	9,66	9,48
75. Perzentile	9,57	10,13	10,04	10,59	9,65
Maximum	10,33	11,23	10,23	11,66	10,35
Standardabweichung	1,04	0,87	0,69	1,10	0,69

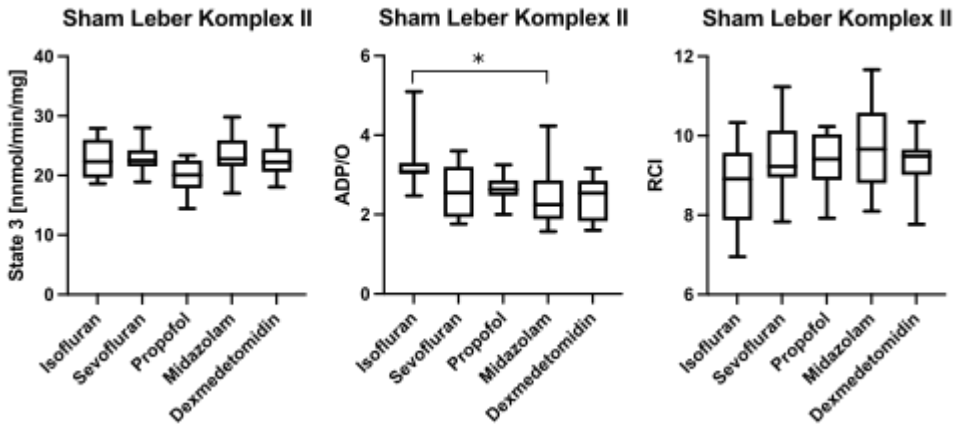


Abb. 6: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O-Ratio und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max). Signifikante Unterschiede zwischen Gruppen sind durch Klammern dargestellt.

* = $p < 0{,}05$

3.1.2 Mitochondriale Funktion in der Leber bei septischen Tieren

Bei den septischen Tieren zeigten sich zwischen den verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede der mitochondrialen Funktion in der Leber.

3.1.2.1 Mitochondriale Funktion in der Leber bei septischen Tieren nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I

Tabelle 11: Werte für State 3 in der Leber bei septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	11,13	4,89	12	9,6	11,13
25. Perzentile	12,83	12,1	12,99	13,47	14,13
Median	13,63	14,33	15,76	14,84	15,28
75. Perzentile	14,88	16,36	16,6	17,08	17,52
Maximum	17,03	18,72	17,82	18,67	21,97
Standardabweichung	1,84	3,75	2,01	2,67	3,23

Tabelle 12: Werte für ADP/O in der Leber bei septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,6	2,3	3	1,63	2,63
25. Perzentile	3,9	3,66	3,82	2,7	3,09
Median	5,13	4,53	4,31	3,39	3,81
75. Perzentile	5,37	4,95	4,42	4,61	4,21
Maximum	8,63	6,19	4,97	8,37	4,93
Standardabweichung	1,79	1,01	0,58	2,2	0,73

Tabelle 13: Werte für den RCI in der Leber bei septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	10,12	4,32	9,18	8,64	12,08
25. Perzentile	11,18	9,08	11,7	10,83	12,44
Median	12,25	13,09	12,31	13,89	13,54
75. Perzentile	14,16	15,67	14,33	16,35	15,8
Maximum	16,72	16,86	17,31	19,64	16,75
Standardabweichung	2,22	4,03	2,21	3,7	1,67

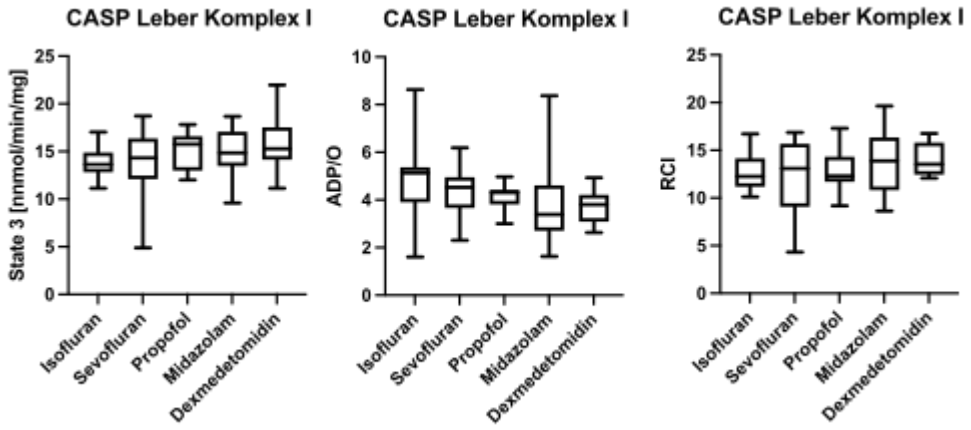


Abb. 7: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O-Ratio und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max).

3.1.2.2 Mitochondriale Funktion in der Leber bei septischen Tieren nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II

Tabelle 14: Werte für State 3 in der Leber bei septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	16,09	19,4	17,51	16,43	16,73
25. Perzentile	18,44	20,54	19,17	19,27	20,91
Median	19,8	21,6	21,95	21,64	22,74
75. Perzentile	21,27	24,42	23,57	25,17	26,06
Maximum	27,27	26,84	27,3	26,92	33,91
Standardabweichung	3,25	2,35	3,09	3,73	4,97

Tabelle 15: Werte für ADP/O in der Leber bei septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	2,13	1,35	1,9	1,13	1,63
25. Perzentile	2,58	2,35	2,28	1,9	1,98
Median	3,25	2,87	2,59	2,32	2,4
75. Perzentile	4,7	2,97	2,75	3,03	2,91
Maximum	5,61	3,5	2,84	5,13	3,26
Standardabweichung	1,12	0,55	0,3	1,28	0,53

Tabelle 16: Werte für den RCI in der Leber bei septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	10,12	4,32	9,18	8,64	12,08
25. Perzentile	11,18	9,08	11,7	10,66	12,44
Median	12,25	13,09	12,31	12,71	13,54
75. Perzentile	14,16	15,67	14,33	16,42	15,8
Maximum	16,72	16,86	17,31	19,64	16,75
Standardabweichung	2,22	4,03	2,21	3,86	1,67

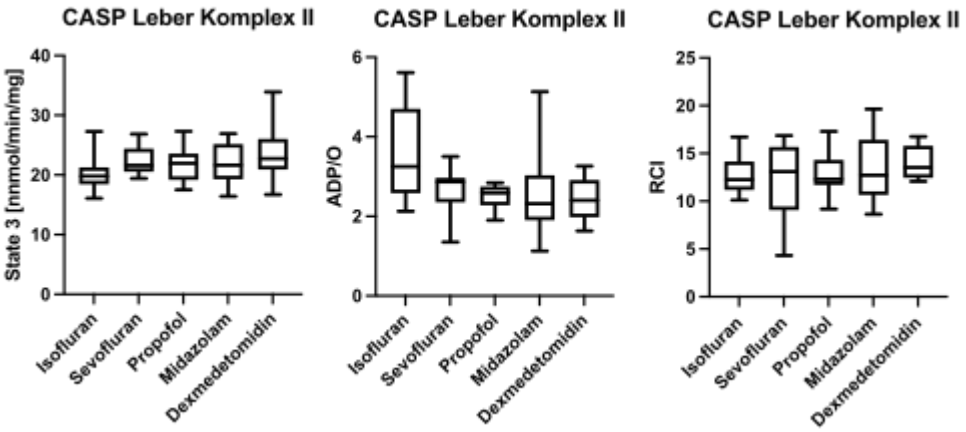


Abb. 8: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max).

3.2 Der Einfluss der verschiedenen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion im Colon

3.2.1 Mitochondriale Funktion im Colon bei nicht-septischen Tieren

Bei den nicht-septischen Tieren ergaben sich zwischen den verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede in der mitochondrialen Funktion im Colon, weder nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I noch über Komplex II.

3.2.1.1 Mitochondriale Funktion im Colon bei nicht-septischen Tieren, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I

Tabelle 17: Werte für State 3 im Colon bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	0,62	1,13	0,97	0,8	0,44
25. Perzentile	0,79	1,32	1,13	1,06	1,1
Median	1	1,5	1,33	1,53	1,4
75. Perzentile	1,49	1,69	1,7	2,09	1,71
Maximum	1,96	1,93	2,75	2,44	2,1
Standardabweichung	0,44	0,23	0,49	0,52	0,48

Tabelle 18: Werte für ADP/O im Colon bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,13	1,4	1,33	0,63	1,17
25. Perzentile	1,78	1,51	1,65	1,08	1,73
Median	2,77	1,88	2,07	1,6	1,97
75. Perzentile	4,17	2,35	2,77	2,78	2,29
Maximum	5,23	3,23	3,7	3,33	4,93
Standardabweichung	1,40	0,62	0,69	0,93	1,04

Tabelle 19: Werte für den RCI im Colon bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,4	2,06	2,04	2	1,82
25. Perzentile	1,99	2,61	2,21	2,26	2,37
Median	2,16	3,25	3,45	2,99	2,99
75. Perzentile	4,49	3,81	4,6	5,18	3,54
Maximum	6,29	5,52	4,99	7,07	5,55
Standardabweichung	1,53	0,97	1,18	1,79	1,1

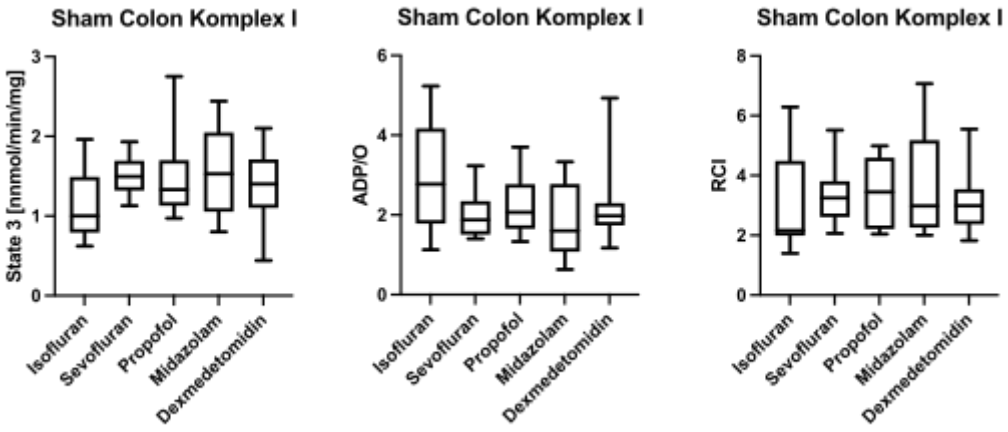


Abb. 9: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max).

3.2.1.2 Mitochondriale Funktion im Colon bei nicht-septischen Tieren, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II

Tabelle 20: Werte für State 3 im Colon bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	0,58	2,01	2,37	1,28	0,4
25. Perzentile	1,93	2,47	2,5	1,89	2,23
Median	2,83	3,32	2,97	3	2,8
75. Perzentile	3	4,2	3,49	4,55	3,46
Maximum	5,08	4,65	6,01	5,35	4,61
Standardabweichung	1,16	0,87	1,03	1,36	1,08

Tabelle 21: Werte für ADP/O im Colon bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	0,56	0,41	0,59	0,51	0,58
25. Perzentile	0,97	0,63	0,73	0,64	0,77
Median	1,4	0,92	1,19	0,93	1,03
75. Perzentile	1,9	1,3	1,37	1,29	1,62
Maximum	5,37	1,87	1,57	2,33	4,92
Standardabweichung	1,3	0,43	0,34	0,59	1,23

Tabelle 22: Werte für RCI im Colon bei nicht-septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,92	2,69	2,56	2,4	2,37
25. Perzentile	2,41	3,06	2,88	3,02	2,8
Median	2,7	4,37	4,71	4,56	3,73
75. Perzentile	5,12	5,78	5,48	5,97	5,82
Maximum	6,35	7,05	6,56	7,34	6,3
Standardabweichung	1,53	1,51	1,48	1,61	1,52

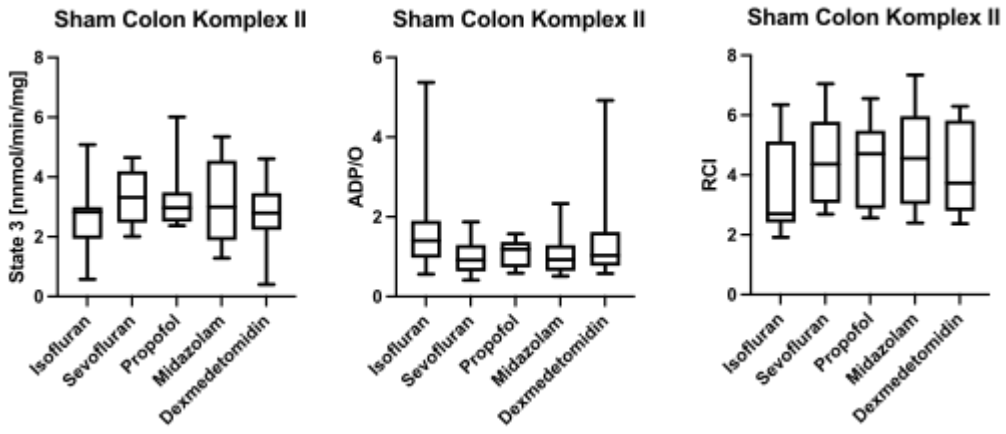


Abb. 10: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max).

3.2.2 Mitochondriale Funktion im Colon bei septischen Tieren

Bei den septischen Tieren ergaben sich zwischen den verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede in der mitochondrialen Funktion im Colon, weder nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I noch über Komplex II.

3.2.1.1 Mitochondriale Funktion im Colon bei septischen Tieren, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I

Tabelle 23: Werte für State 3 im Colon bei septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	0,8	0,92	0,86	0,8	0,76
25. Perzentile	1,01	1,02	1,09	0,95	0,85
Median	1,22	1,21	1,29	1,3	1,2
75. Perzentile	1,36	1,59	1,84	1,69	1,61
Maximum	1,57	2,44	2,4	2,57	1,67
Standardabweichung	0,23	0,44	0,5	0,55	0,35

Tabelle 24: Werte für ADP/O im Colon bei septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,27	1,23	0,7	1,02	0,96
25. Perzentile	1,58	1,65	1,49	1,60	1,39
Median	2,44	2,51	1,84	2,18	2,56
75. Perzentile	2,93	2,98	2,35	2,58	3,21
Maximum	3,6	3,13	3,37	4,4	4,1
Standardabweichung	0,75	0,69	0,78	0,90	1,07

Tabelle 25: Werte für den RCI im Colon bei septischen Ratten nach Komplex-I-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,73	2,17	2,1	2,22	1,75
25. Perzentile	2,18	2,98	2,61	2,55	2,24
Median	3,01	3,81	3,11	4,31	2,72
75. Perzentile	5,08	5,35	4,03	4,89	3,97
Maximum	5,75	9,86	5,14	6,36	4,67
Standardabweichung	1,47	2,09	0,9	1,34	1,04

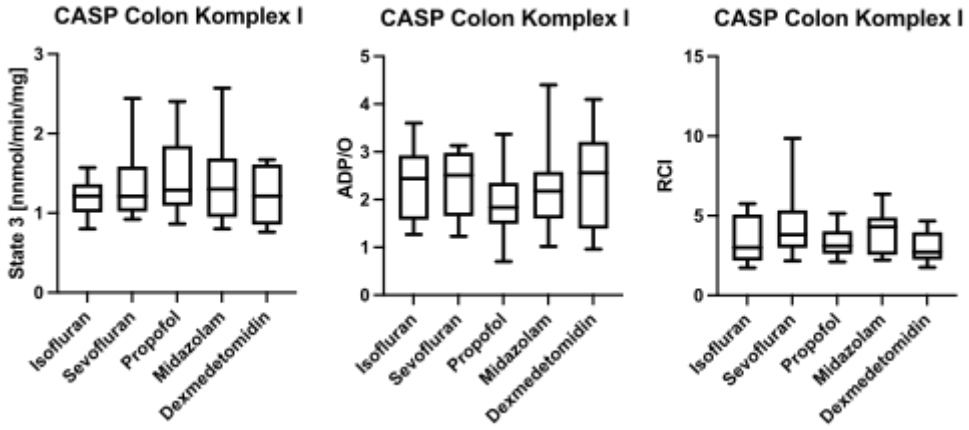


Abb. 11: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max).

3.2.1.2 Mitochondriale Funktion im Colon bei septischen Tieren, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II

Tabelle 26: Werte für State 3 im Colon bei septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1,53	1,72	2,33	1,93	1,21
25. Perzentile	1,84	2,32	2,74	2,55	1,69
Median	2,29	2,87	2,92	2,92	2,54
75. Perzentile	2,83	3,51	4,2	3,83	3,62
Maximum	3,13	4,15	5,33	5,16	3,93
Standardabweichung	0,56	0,75	1,02	1	1

Tabelle 27: Werte für ADP/O im Colon bei septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	1	0,65	0,5	0,48	0,53
25. Perzentile	1,14	0,74	0,61	0,77	0,7
Median	1,45	0,9	0,98	1,2	0,97
75. Perzentile	1,68	1,38	1,19	1,26	1,85
Maximum	2,05	1,93	1,4	1,78	2,64
Standardabweichung	0,34	0,4	0,32	0,38	0,73

Tabelle 28: Werte für den RCI im Colon bei septischen Ratten nach Komplex-II-Stimulation

	Isofluran	Sevofluran	Propofol	Midazolam	Dexmedetomidin
Minimum	2,01	2,92	2,45	2,81	1,86
25. Perzentile	2,59	4,25	3,51	3,12	2,75
Median	3,8	4,65	4,81	4,54	3,59
75. Perzentile	5,54	5,23	5,82	5,54	6,01
Maximum	5,74	6,73	6,26	6,25	6,88
Standardabweichung	1,49	1,06	1,37	1,27	1,8

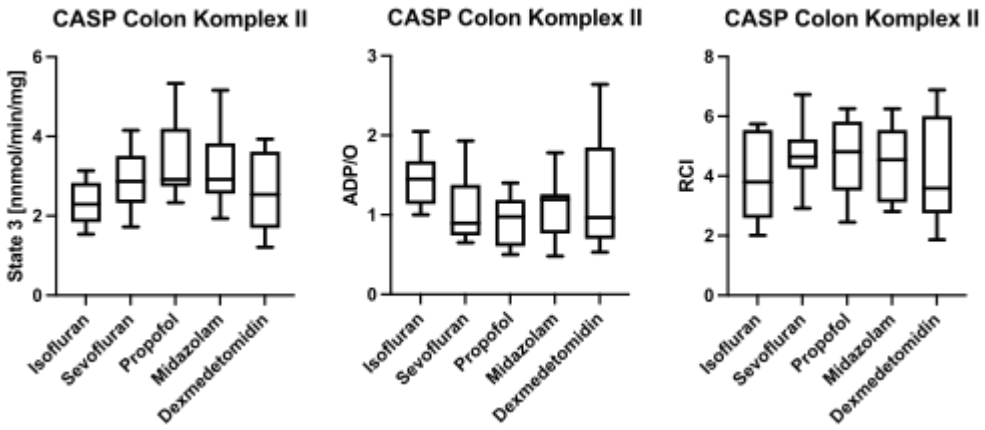


Abb. 12: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation

Dargestellt sind State 3, ADP/O und der Respiratory Control Index (RCI) für Isofluran, Sevofluran, Propofol, Midazolam und Dexmedetomidin. Die Daten sind als Boxplots dargestellt (Median, Interquartilsabstand, Min–Max).

4 Diskussion

4.1 Methodendiskussion

4.1.1 Wahl des experimentellen Modells

In der vorliegenden Arbeit wurde der Effekt von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion bei Ratten untersucht. In der Sepsisforschung sind Nagetiermodelle gut etabliert, insbesondere Mäuse und Ratten werden häufig eingesetzt [108]. Das Genom der Ratte weist eine hohe Ähnlichkeit zum menschlichen Genom auf und ein Großteil der menschlichen Krankheitsgene besitzt ein Ortholog im Rattengenom [109]. Darüber hinaus bietet die Ratte, im Vergleich zur Maus, aufgrund ihrer größeren Körper- und Organmasse praktische Vorteile für experimentelle Untersuchungen. So lassen sich chirurgische Eingriffe, wie beispielsweise die hier durchgeführten CASP- bzw. Sham-Operationen, einfacher durchführen und es können größere Gewebeproben gewonnen werden.

Eine Alternative zu tierexperimentellen Versuchen stellen in-vitro-Modelle dar. Auch in der Arbeitsgruppe, in der die vorliegende Arbeit durchgeführt wurde, werden entsprechende Versuche eingesetzt [110, 111]. In-vitro-Modelle sind in der Regel ethisch weniger problematisch, da keine Experimente an lebenden Organismen durchgeführt werden. Dadurch sind sie zudem häufig kostengünstiger und leichter reproduzierbar. Allerdings können in In-vitro-Modellen systemische Einflussfaktoren, wie beispielsweise die Interaktion zwischen verschiedenen Organen oder pharmakokinetische Prozesse, nicht abgebildet werden. Ein tierexperimentelles Modell kann dies genauer darstellen und war daher für die vorliegende Arbeit besser geeignet.

Eine noch höhere klinische Relevanz besitzen klinische Studien, da die Ergebnisse auf realen Krankheitsverläufen beruhen und direkt am Menschen erhoben werden. Die experimentellen Bedingungen sind hierbei jedoch deutlich schwieriger zu kontrollieren als in tierexperimentellen Studien. In Tiermodellen kann der Versuchsablauf standardisiert werden und statt Surrogatparametern kann Gewebe direkt analysiert werden.

4.1.2 Ethische Aspekte und Umsetzung des 3R-Prinzips

Die britischen Wissenschaftler William Russell und Rex Burch formulierten 1959 das sogenannte 3R-Prinzip zum ethischen Umgang mit Tierexperimenten [112]. Abb. 13

veranschaulicht das 3R-Prinzip. Es wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit berücksichtigt.

Im Vorfeld wurde beispielsweise geprüft, ob ein alternatives Verfahren wie ein In-vitro-Versuch genauso geeignet wäre (*Replacement*-Prinzip). Aufgrund der im vorherigen Unterkapitel dargestellten Gründe wurde entschieden, dass dies in diesem Fall nicht möglich ist.

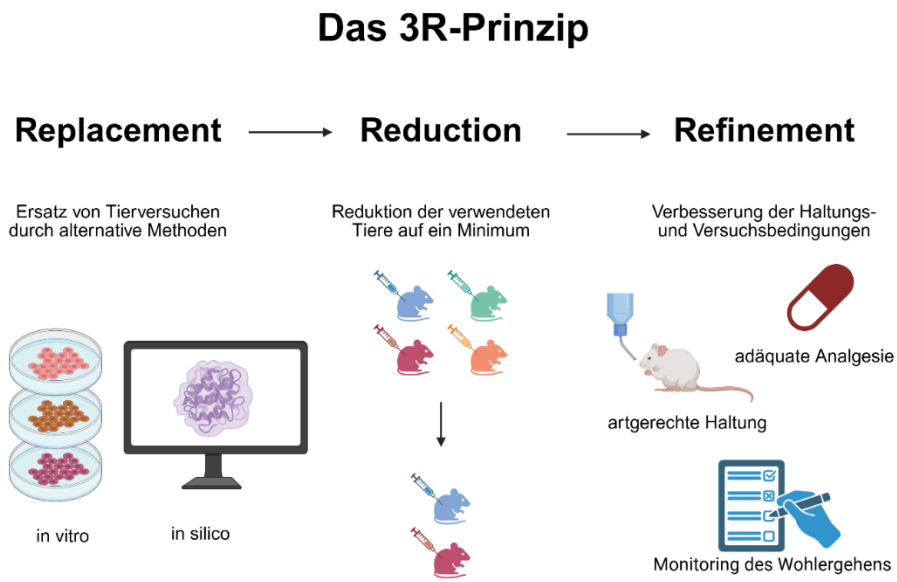


Abb. 13: Das 3R-Prinzip in der tierexperimentellen Forschung nach Russell und Burch.

In der vorliegenden Arbeit wurde das 3R-Prinzip berücksichtigt. Es wurde geprüft, ob alternative Verfahren wie in-vitro-Versuche oder Computersimulationen eingesetzt werden können *(Replacement)*, die verwendeten Tiere wurden auf ein Minimum reduziert *(Reduction)* und die Haltung sowie die Durchführung der Experimente wurden so gestaltet, dass die Belastung der Tiere möglichst gering gehalten wurde *(Refinement)*.

Erstellt mit BioRender.com (BioRender, Toronto, Kanada).

Die übliche Gruppengröße in septischen Rattenmodellen beträgt 10 bis 12 Tiere pro Gruppe [113-118]. Die in dieser Arbeit vorliegende Gruppengröße von 12 Tieren pro Gruppe ergab sich aus einer *A-priori*-Poweranalyse (s. Abschnitt 2.1.4 Versuchsablauf). Eine Reduktion der Gruppengröße würde die statistische Teststärke (*Power*) der Untersuchung verringern und könnte dazu führen, dass ein tatsächlich vorhandener Effekt nicht erkannt wird [119]. Es erfolgte somit eine Abwägung zwischen dem Ziel, die Anzahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten, und der Notwendigkeit, eine ausreichende wissenschaftliche Aussagekraft der Untersuchung sicherzustellen (*Reduction*-Prinzip).

Unter dem Gesichtspunkt des *Refinement*-Prinzips wurden verschiedene Maßnahmen ergriffen, um das Leid der Tiere zu minimieren. Die Durchführung der Studie erfolgte im Einklang mit der Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (Europäische Union 22.09.2010). Die Tiere erhielten eine spezielle Rattendiät und Wasser ad libitum und hatten Sichtkontakt zueinander. Während des gesamten Versuchsablaufs erfolgte mindestens alle 6 Stunden eine tierärztliche Evaluation des gesundheitlichen Zustands der Ratten. Dies erfolgte systematisch unter Verwendung eines *Septic rat severity scoring systems* (s. Anhang). Bei Erreichen einer bestimmten Punktezahl erfolgte die schmerzlose Tötung mittels Pentobarbital. Zudem erhielten die Tiere alle 6 bis 8 Stunden eine Analgesie mit Buprenorphin (0,05 mg/kg). Die operativen Maßnahmen erfolgten immer unter Narkose und Analgesie.

4.1.3 Methodenwahl zur Untersuchung der mitochondrialen Funktion

In der vorliegenden Arbeit wurden respirometrische Messungen des Sauerstoffverbrauchs durchgeführt, um die mitochondriale Funktion zu untersuchen. Durch Zugabe von Glutamat und Malat bzw. Succinat und Rotenon konnten Komplex I und Komplex II der Atmungskette getrennt voneinander untersucht werden. Die Respirometrie stellt ein etabliertes Verfahren zur Untersuchung der mitochondrialen Funktion dar [120]. Mitochondrien besitzen jedoch zahlreiche Funktionen (s. Abschnitt 1.3 Grundlagen der mitochondrialen Funktionsweise). Die Respirometrie kann primär Aussagen zur oxidativen Phosphorylierung machen. Andere Funktionen, wie beispielsweise die ROS-Produktion oder weitere Stoffwechselprozesse, werden durch dieses Verfahren nicht erfasst. Die Aussagekraft der Respirometrie ist somit hinsichtlich der Gesamtfunktion der Mitochondrien begrenzt. Trotz dieser Limitationen gilt die Respirometrie weiterhin als Goldstandard-Methode zur Untersuchung der mitochondrialen Funktion in Gewebe- und Zellproben [121].

4.1.4 Auswahl der verwendeten Anästhetika

Die Auswahl der untersuchten Anästhetika erfolgte aufgrund ihrer klinischen Relevanz für die Behandlung kritisch kranker Patienten. Alle untersuchten Substanzen sind für eine intensivmedizinische Sedierung geeignet und werden in unterschiedlichem Umfang in der S3-Leitlinie *Analgesie, Sedierung und Delirmanagement in der Intensivmedizin* empfohlen [122]. Die Auswahl deckt die wichtigsten Sedativa- bzw. Anästhetikagruppen ab: Propofol

als intravenöses Anästhetikum und bevorzugte Substanz für eine Sedierung von bis zu 7 Tagen, Isofluran und Sevofluran als wichtige Vertreter der volatilen Inhalationsanästhetika, Midazolam als Benzodiazepin und weit verbreitetes Sedativum und Dexmedetomidin als zur Sedierung eingesetzter Alpha2-Adrenozeptoragonist. Insbesondere für Isofluran, Sevofluran und Propofol wurden in vorausgegangenen Arbeiten bereits Effekte auf die mitochondriale Funktion nachgewiesen (s. 1.6 Der Einfluss von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion). Für Propofol wurden in vorangegangenen Arbeiten sowohl protektive [123, 124] als auch nachteilige Effekte [125] in septischen Nagetiermodellen beschrieben. Das gleiche gilt für Isofluran [126, 127].

Die Auswahl dieser Substanzen ermöglicht somit einen Vergleich klinisch besonders relevanter Anästhetika und soll dazu beitragen, uneinheitliche Befunde aus vorherigen Studien besser einzuordnen.

4.1.5 Auswahl des Sepsismodells

Zur Sepsisinduktion im Nagetiermodell wurden in den vergangenen Jahrzehnten verschiedene Methoden entwickelt. Die beiden am häufigsten verwendeten Methoden sind das LPS-Modell (Injektion von Lipopolysacchariden, s. auch 1.2 Pathophysiologie der Sepsis) und das *Cecal Ligation and Puncture* (CLP)-Modell. Weitere etablierte Methoden sind die Injektion von Bakterien, das *Bacteria clot implantation*-Modell, das in dieser Arbeit angewandte *Colon Ascendens Stent Peritonitis* (CASP)-Modell sowie das *Cecal Slurry* (CS)-Modell [128].

Das LPS-Modell ist eine der älteren Methoden, wird jedoch weiterhin eingesetzt, da es technisch einfach anzuwenden und sehr gut reproduzierbar ist sowie rasch zu einer ausgeprägten systemischen Entzündungsreaktion und zu einem massiven Anstieg proinflammatorischer Zytokine führt [129]. In experimentellen Untersuchungen führte das LPS-Modell zudem zu stärkeren inflammatorischen Reaktionen als das CLP-Modell [130]. Die durch das LPS-Modell hervorgerufene Immunreaktion unterscheidet sich jedoch in ihrem zeitlichen Verlauf und in der Stärke der auftretenden Effekte deutlich von der Immunreaktion im CLP-Modell [129]. Internationale Konsensempfehlungen im Rahmen der Initiative „*Minimum Quality Threshold in Pre-clinical Sepsis Studies* (MQTiPSS)“ aus dem Jahr 2018 raten davon ab, das LPS-Modell zur Nachahmung einer menschlichen Sepsis zu verwenden [131].

Es wird angenommen, dass das CLP-Modell die Pathophysiologie der menschlichen Sepsis besser nachahmt als das LPS-Modell [108, 128, 130]. Es gilt als Goldstandard-Verfahren der Sepsisinduktion im Tiermodell [108, 132]. Im CLP-Modell wird das Zökum nach medianer Laparotomie unterhalb der Ileozäkalklappe ligiert und ein- oder mehrmals mit einer Nadel punktiert [133]. Hierdurch kommt es zum Austritt von Fäzes in die Peritonealhöhle, was zur Entwicklung einer polymikrobiellen Sepsis führt. Durch Variation der Ligaturhöhe, der Anzahl der Punktionen sowie des Nadeldurchmessers kann der Schweregrad der Sepsis modifiziert werden [128, 133].

Das CASP-Modell und das CLP-Modell ähneln sich darin, dass in beiden Modellen durch Austritt von Darminhalt eine Peritonitis und in der Folge eine polymikrobielle Sepsis ausgelöst wird. In einem direkten Vergleich der beiden Modelle wurden im CASP-Modell jedoch höhere Bakterienmengen sowie höhere Zytokinlevel nachgewiesen. Zudem zeigten sich im CLP-Modell nach 24 Stunden Adhäsionen zwischen Dünndarmschlingen und dem ligierten Zökum, sodass es zu keinem weiteren Austritt von Darminhalt kam, während im CASP-Modell kontinuierlich weiter Darminhalt in die Peritonealhöhle austrat [134]. Befürworter des CASP-Modells argumentieren, dass im Vergleich zum CLP-Modell sowohl der Austritt von Darminhalt als auch der Schweregrad der Sepsis besser kontrolliert werden können und das Modell dadurch reproduzierbarer ist [117, 128]. Vor diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Arbeit das CASP-Modell dem CLP-Modell vorgezogen. Alle tierexperimentellen Modelle stehen jedoch unter dem Kritikpunkt, dass die Ergebnisse nicht ohne Weiteres auf den Menschen übertragbar sind, da sich die Immunantwort von Nagetieren in wesentlichen Aspekten von der des Menschen unterscheidet [108, 135, 136].

4.2 Ergebnisdiskussion

Die in der Einleitung als Ziele der Arbeit formulierten Fragen können wie folgt beantwortet werden:

1. Es gibt Unterschiede in den Effekten einzelner Anästhetika auf die mitochondriale Funktion in der Leber. Nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I war State 3 nach Propofol-Narkose signifikant niedriger als nach Midazolam-Narkose. Außerdem war nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II die ADP/O Ratio nach Isofluran-Narkose signifikant höher als nach Midazolam-Narkose.

2. Es gibt keine signifikanten Unterschiede in den Effekten der unterschiedlichen Anästhetika auf die mitochondriale Funktion im Colon.
3. Die beobachteten Effekte unterscheiden sich unter septischen und nicht-septischen Bedingungen. Signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Anästhetika wurden nur unter nicht-septischen Bedingungen nachgewiesen.

4.2.1 Effekte auf die mitochondriale Funktion in der Leber

Nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I war State 3 (maximale respiratorische Aktivität nach Zugabe von ADP) nach Propofol-Narkose signifikant niedriger als nach Midazolam-Narkose. Dieser Befund steht im Einklang zu Voruntersuchungen, in denen ebenfalls ein negativer Effekt von Propofol auf die mitochondrialen Parameter in Komplex I beschrieben wurde. So stellten Rigoulet et al. 1996 fest, dass unter Propofol eine starke Inhibierung von State 3 in Lebermitochondrien von Ratten auftritt [137]. Grundmanová et al. zeigten im Myokardgewebe von Ratten nach Propofolverabreichung ebenfalls eine signifikant erniedrigte Aktivität in Komplex I [97]. Auch Lotz et al. zeigten unter Propofol im Myokard von Kaninchen eine signifikant beeinträchtigte Aktivität in Komplex I [95]. Im Mausmodell wurde ebenfalls eine verminderte Komplex-I-Aktivität nach Propofolgabe beobachtet [85].

Der Wirkmechanismus, wie Propofol Komplex I hemmt, ist nicht vollständig geklärt. Es wird jedoch angenommen, dass eine Propofol-abhängige Inhibition von Komplex I Teil der pathophysiologischen Prozesse ist, die zum *Propofol-related infusion syndrome* (PRIS) beitragen [138]. PRIS ist eine seltene, jedoch potenziell lebensbedrohliche Komplikation einer langfristigen Propofolgabe. Die in der vorliegenden Arbeit beobachteten signifikanten Veränderungen der mitochondrialen Funktion unter Propofol könnten diese Hypothese unterstützen.

Nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II war die ADP/O Ratio nach Isofluran-Narkose signifikant höher als nach Midazolam-Narkose. Dies spricht dafür, dass nach Midazolamgabe eine größere Sauerstoffmenge benötigt wird, um die gleiche Menge ADP umzusetzen und demnach dafür, dass die oxidative Phosphorylierung unter Isofluran effizienter abläuft als unter Midazolam.

Direkte Vergleichsuntersuchungen zwischen Isofluran und Midazolam konnten in der Literatur nicht gefunden werden, sodass eine Literatureinordnung des Befundes hier nur

indirekt erfolgen kann. Generell waren Effekte von Isofluran in anderen Untersuchungen vor allem für Komplex I beschrieben worden und zeigten überwiegend einen negativen Effekt auf die mitochondriale Funktion [85, 139, 140]. Hinsichtlich der Effekte von Midazolam auf die mitochondriale Funktion ist die Datenlage begrenzt und uneinheitlich. In einer älteren Studie aus dem Jahr 1996 sind negative Effekte von Midazolam auf die Komplexe I, II und III der Atmungskette beschrieben worden [98], während in einer neueren Untersuchung keine Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktion festgestellt wurde [141]. Kuebart et al. beobachteten nur unter supratherapeutischen Dosierungen einen negativen Effekt von Midazolam auf die oxidative Phosphorylierung [99]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen demnach für eine effizientere oxidative Phosphorylierung unter Isofluran als unter Midazolam, sollten jedoch vor dem Hintergrund fehlender Vergleichsdaten und da in anderen Parametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Substanzen gemessen wurden, vorsichtig interpretiert werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Propofol und Isofluran gefunden. Osuru et al. untersuchten die Effekte von Propofol und von Isofluran auf die mitochondriale Funktion in der Leber im septischen Rattenmodell. Dabei zeigte sich, dass die Komplex-I-Aktivität bei septischen Tieren unter Isofluran erniedrigt war, während sie unter Propofol sogar leicht stieg. Die Komplex-II-Aktivität war unter Isofluran signifikant erniedrigt, unter Propofol jedoch nicht [90]. Anders als in der vorliegenden Arbeit wurden die Substanzen jedoch nicht direkt miteinander verglichen, sodass eine unterschiedliche Fragestellung vorlag. Dass in der vorliegenden Arbeit im direkten Vergleich kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte, könnte darauf zurückzuführen sein, dass Propofol und Isofluran einen ähnlichen Effekt auf die mitochondriale Funktion haben. Andererseits könnten aber auch unterschiedliche Effekte vorliegen, die durch den Einfluss der Sepsis jedoch überlagert werden.

4.2.2 Effekte auf die mitochondriale Funktion im Colon

Im Gegensatz zu den in der Leber beobachteten Effekten konnten im Colon keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, weder bei septischen noch bei nicht-septischen Tieren.

Es gibt bislang nur eine begrenzte Anzahl an Untersuchungen, die sich mit dem Einfluss von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion im Colon beschäftigt haben. Zudem konnte in

der Literatur keine Studie gefunden werden, die – wie in der vorliegenden Arbeit - unterschiedliche Anästhetika im Hinblick auf die mitochondriale Funktion direkt miteinander verglichen hat. Herminghaus et al. beobachtete, dass Propofol eine Verbesserung der mitochondrialen Funktion im Colon bewirkt, während es gleichzeitig zu einer Verschlechterung der mitochondrialen Funktion in der Leber kommt [50]. Kuebart et al. sahen keinen Effekt von Midazolam und Dexmedetomidin auf die mitochondriale Funktion im Colon [99]. Es gibt jedoch Studien, die andere Effekte von Anästhetika auf das Colon untersucht haben. So gibt es beispielsweise eine Untersuchung, die Propofol und Dexmedetomidin im Hinblick auf die gastrointestinale Motilität bei septischen Mäusen verglichen hat und feststellte, dass Dexmedetomidin die gastrointestinale Peristaltik hemmt, während dies bei Propofol nicht passiert [142]. Die insgesamt geringe Datenlage erschwert die Einordnung der Befunde und verdeutlicht den Bedarf weiterer Untersuchungen in diesem Bereich.

Dass in der Leber – wenn auch nur wenige – signifikante Unterschiede aufgetreten sind und diese im Colon fehlen, stellt einen Hinweis auf eine organspezifische Wirkung von Anästhetika dar. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass Mitochondrien je nach Organ unterschiedliche Anforderungen erfüllen müssen und sich daher in ihrer Morphologie sowie der Proteinzusammensetzung unterscheiden [37, 143, 144]. McLaughlin et al. konnten zeigen, dass sich sowohl die Respirationsraten als auch die Expression der einzelnen Atmungskomplexe sowie die Effizienz der oxidativen Phosphorylierung zwischen verschiedenen Organen signifikant unterscheiden [145]. Dies könnte auch erklären, weshalb die Leber als hoch stoffwechselaktives Organ mit hoher Mitochondriendichte empfindlicher auf pharmakologische Einflüsse reagiert. Eine weitere Erklärung könnte die heterogene Zellzusammensetzung der Gewebe sein. Aufgrund des mehrschichtigen Aufbaus des Colons unterscheiden sich die enthaltenen Zelltypen in Colonhomogenaten möglicherweise stärker als in den Leberhomogenaten, wodurch es zu einer Überlagerung unterschiedlicher Effekte kommen könnte.

4.2.3 Einfluss der Sepsis auf die Wirkung der Anästhetika

Ein zentraler Befund der vorliegenden Arbeit ist, dass bei den septischen Tieren keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Anästhetika hinsichtlich der mitochondrialen Funktion auftraten.

Die Studienlage hinsichtlich des Einflusses von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion bei septischen Tieren ist limitiert, was einen direkten Vergleich der Ergebnisse erneut erschwert. Eine Voruntersuchung an septischen Ratten beschrieb eine stärkere Beeinträchtigung der Atmungskette unter Isofluran im Vergleich zu Propofol [90]. Allerdings erfolgte dort der Vergleich gegenüber nicht-septischen Kontrollgruppen und nicht zwischen den Anästhetika selbst, wodurch die Übertragbarkeit auf die vorliegenden Ergebnisse eingeschränkt ist.

Studien, die verschiedene Anästhetika im Kontext der Sepsis direkt miteinander vergleichen, beziehen sich überwiegend auf klinisch relevante Endpunkte wie Mortalität oder Organfunktion. Koutsogiannaki et al. zeigten beispielsweise, dass eine prolongierte Gabe von Isofluran das Outcome verschlechterte, während dies bei Propofol nicht der Fall war. Des weiteren beschrieben sie unter Isofluran eine verschlechterte Nierenfunktion, eine erhöhte Bakterienlast und eine verminderte Rekrutierung von Neutrophilen [126]. Schläpfer et al. stellten hingegen im septischen Rattenmodell eine erhöhte Mortalität unter Propofol verglichen mit volatilen Anästhetika fest [125]. Diese widersprüchlichen Ergebnisse zeigen, dass weiterer Forschungsbedarf in diesem Bereich besteht.

Eine mögliche Erklärung für das Ausbleiben signifikanter Unterschiede bei septischen, nicht jedoch bei nicht-septischen Tieren, ist, dass sepsisassoziierte Veränderungen der mitochondrialen Funktion die Effekte der untersuchten Anästhetika überlagern. Unter septischen Bedingungen wurde unter anderem eine Stickstoffmonoxid- und ROS-vermittelte Hemmung von Komplexen der Atmungskette [146] sowie die Downregulation von Genen, die für mitochondriale Proteine kodieren [147], beschrieben. Andererseits haben Herminghaus et al. während der initialen Phasen einer Sepsis auch verbesserte mitochondriale Respirationsparameter in der Leber beobachtet [61]. Diese Prozesse könnten die Detektierbarkeit zusätzlicher pharmakologischer Effekte erschweren.

4.3 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass sich die untersuchten Anästhetika hinsichtlich ihrer Effekte auf die mitochondriale Funktion insgesamt nur geringfügig unterscheiden. Signifikante Unterschiede konnten ausschließlich in der Leber und nur bei nicht-septischen Tieren nachgewiesen werden, während im Colon sowie unter septischen Bedingungen keine signifikanten Unterschiede beobachtet wurden.

Diese Befunde sprechen dafür, dass der Einfluss von Anästhetika auf die mitochondriale Funktion organspezifisch ist und die Leber eine höhere Sensitivität gegenüber pharmakologischen Einflüssen aufweist als das Colon. Die Ergebnisse bei septischen Tieren deuten darauf hin, dass sepsisassoziierte Veränderungen der mitochondrialen Funktion mögliche substanzspezifische Effekte nivellieren können.

Die Aussagekraft der Ergebnisse ist durch das tierexperimentelle Studiendesign und die daraus resultierende eingeschränkte Übertragbarkeit auf den Menschen limitiert. Zudem erfasst die Respirometrie nur einen Teil der mitochondrialen Funktion. Die vorliegenden Daten liefern daher wertvolle Erkenntnisse, erlauben aber keine unmittelbaren klinischen Schlussfolgerungen.

Zukünftige Studien sollten den Einfluss von Anästhetika unter septischen Bedingungen weiter untersuchen und zusätzliche mitochondriale Parameter sowie weitere organbezogene Endpunkte mit einbeziehen.

5 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf des tierexperimentellen Teils 15

Abb. 2: Schematische Darstellung des CASP-Modells (Colon ascendens stent peritonitis) bei der Ratte..... 17

Abb. 3: Schematische Darstellung der respiratorischen Zustände während der Messung..... 22

Abb. 4: Schematische Darstellung der mitochondrialen Atmungskette und der Angriffspunkte der verwendeten Substanzen..... 24

Abb. 5: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation 28

Abb. 6: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation..... 30

Abb. 7: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation 32

Abb. 8: Vergleich der Atmungsparameter von Lebermitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation..... 34

Abb. 9: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation 36

Abb. 10: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien nicht-septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation..... 38

Abb. 11: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-I-Stimulation 40

Abb. 12: Vergleich der Atmungsparameter von Colonmitochondrien septischer Ratten nach Isofluran-, Sevofluran-, Propofol-, Midazolam- oder Dexmedetomidin-Narkose nach Komplex-II-Stimulation..... 42

Abb. 13: Das 3R-Prinzip in der tierexperimentellen Forschung nach Russell und Burch...... 44

6 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bestandteile und Punktwerte des Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)-Scores [1] 2

Tabelle 2: Zentrale Funktionen von Mitochondrien in eukaryotischen Zellen 6

Tabelle 3: Versuchsgruppen mit Sham- bzw. CASP-Operation und jeweiliger Anästhesie ... 16

Tabelle 4: Standardreihe aus Bovinem Serumalbumin 20

Tabelle 5: Werte für State 3 in der Leber bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 26

Tabelle 6: Werte für ADP/O in der Leber bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 27

Tabelle 7: Werte für den RCI in der Leber bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 27

Tabelle 8: Werte für State 3 in der Leber bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 28

Tabelle 9: Werte für ADP/O in der Leber bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 29

Tabelle 10: Werte für den RCI in der Leber bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 29

Tabelle 11: Werte für State 3 in der Leber bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 30

Tabelle 12: Werte für ADP/O in der Leber bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 31

Tabelle 13: Werte für den RCI in der Leber bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 31

Tabelle 14: Werte für State 3 in der Leber bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 32

Tabelle 15: Werte für ADP/O in der Leber bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 33

Tabelle 16: Werte für den RCI in der Leber bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 33

Tabelle 17: Werte für State 3 im Colon bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 35

Tabelle 18: Werte für ADP/O im Colon bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 35

Tabelle 19: Werte für den RCI im Colon bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 36

Tabelle 20: Werte für State 3 im Colon bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 37

Tabelle 21: Werte für ADP/O im Colon bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 37

Tabelle 22: Werte für RCI im Colon bei nicht-septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 38

Tabelle 23: Werte für State 3 im Colon bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 39

Tabelle 24: Werte für ADP/O im Colon bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 39

Tabelle 25: Werte für den RCI im Colon bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex I 40

Tabelle 26: Werte für State 3 im Colon bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 41

Tabelle 27: Werte für ADP/O im Colon bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 41

Tabelle 28: Werte für den RCI im Colon bei septischen Ratten, nach Stimulation der Atmungskette über Komplex II 42

7 Anhang

7.1 Materialien und Geräte des tierexperimentellen Teils

Vasofix Safety® 16G	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Introcan Safety® 24G	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Prolene™ 6-0, 9,3mm, 3/8c, 75cm	Ethicon, Norderstedt, Deutschland
Vicryl™ plus 17mm, 1/2c, 70cm	Ethicon, Norderstedt, Deutschland
Polyester grün 4-0 100 m nicht resorbierbar	Resorba, Nürnberg, Deutschland
Raucodrape® Lochtuch 45x75cm	Lohmann und Rauscher GmbH und Co. KG, Neuwied, Deutschland
Surgical gloves sterile 6,5	Semperit Investment Asia, Singapur, Asien
Wattestäbchen	Mai Med GmbH, Neuenkirchen, Deutschland
MoliNea, Molicare®, normal, 40x60cm	Hartmann, Wiener Neudorf, Österreich
Transpore®, 2,5cm x 9,1m	3M, Saint Paul, Minnesota, Vereinigte Staaten
Omnifix®-F, Luer-Solo, 1ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
ES-Kompressen 10x10cm	Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
Homeothermic Monitoring System Version 1.1.1 Wärmematte	Hugo Sachs Elektronik - Harvard Apparatus GmbH, March, Deutschland
VentElite Hugo Sachs Elektronik Beatmungsgerät	Harvard Apparatus GmbH, March, Deutschland

Trajan 800 Narkosegerät	Dräger, Drägerwerk AG & Co. KGaA, Lübeck, Deutschland
Pilot Anästhesie Perfusor	Fresenius Vial S.A. Brezins, Frankreich
Verdampfer Vapor 19.1	Dräger, Drägerwerk AG & Co. KGaA, Lübeck, Deutschland

7.2 Medikamente des tierexperimentellen Teils

Temgesic® Buprenorphin	Indivior, UK Limited
Narcoren® Pentobarbital-Natrium	Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein, Deutschland
Bepanthen® Augen-und Nasensalbe	Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland
Kodan® Tinktur forte farblos	Schülke und Mayr, Norderstedt, Deutschland
Jonosteril® Infusionslösung 500ml	Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland
Sauerstoff, 10L 200bar	The Linde Group, Leuna, Deutschland
Druckluft für Atemschutzgeräte, 10L 200bar	The Linde Group, Leuna, Deutschland
Heparin-Natrium, 5.000 I.E./ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Isofluran-Piramal	Primal Critical Care Deutschland GmbH, Hallbergmoos, Deutschland
Sevorane® Sevofluran	AbbVie Deutschland GmbH und Co KG, Ludwigshafen, Deutschland

Propofol 1%, 10mg/1ml	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
Midazolam 5mg/ml	Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Dexmedetomidin 100 µg/ml	EVER Valinject GmbH, Unterach, Österreich

7.3 Materialien und Geräte des laborexperimentellen Teils

Borosilikatglas	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Badthermostat	Julabo ED, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Badthermostat	Thermomix 1420, B.BRAUN Deutschland GmbH & Co. KG, Melsungen, Deutschland
Eismaschine	Manitowoc Flockeneisbereiter, Manitowoc Ice, Manitowoc, USA
Falcon	Falcon™ 15ml, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Falcon	Falcon™ 50ml, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Laborrührwerk	IKA® EUROSTAR 20 digital 2000rpm, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland
Mikrospritze	Exmire Microsyringe, Ito Corporation, Fuji, Japan
Mikrotiterplatten	Mikrotestplatte 96-Well F, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Multi-Detektions-Plattenlesegerät	BioTek Synergy 2 mit Software Gen5™ Version 1.11., BioTek, Winooski, USA (Protein- sowie MDA-Konzentrationsbestimmung)
pH-Meter	Digital-pH-Meter 646, Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland

Einmal-Pipette	Pipette Pasteur 7ml, VWR International, Darmstadt, Deutschland
Pipette	Pipettensatz Eppendorf Research® 100µl bis 5000µl, Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Pipetus	Pipetus, Hirschmann Laborgeräte, Eberstadt, Deutschland
Pipettenspitze	10µl Tips, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitze	200µl Tips, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitze	1000µl Graduated Tip, Starlabgroup, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitze	0,1-5ml Eppendorf Tips, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitze	10ml Costar Stripette, Corning Incorporated, New York, USA
Reaktionsgefäß	Micro-Tubes, 1,5ml, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Reaktionsgefäß	Micro-Tubes 2,0ml, SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Respirometer	MT200 und SI782, Strathkelvin Instruments, North Lanarkshire, Schottland
Respirometer Software	782 System Version 4.4 HID, Strathkelvin Instruments, North Lanarkshire, Schottland
Statistiksoftware und graphische Darstellung	GraphPad Prism Version 6.0, GraphPad Software, Inc, La Jolla, USA
Tiefkühlschrank	Liebherr Comfort, Liebherr, Bulle, Schweiz
Tiefkühlschrank	Sanyo Medicool, PHC Corporation, Tokyo, Japan

Vortexgerät	Vortex Genie Touch Mixer 1, Scientific Industries, New York, USA
Waage	LA230S, Sartorius, Göttingen, Deutschland

7.4 Chemikalien und Reagenzien des laborexperimentellen Teils

Adenosindiphosphat	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Antimycin A	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Aqua dest.	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
Bovine Serum Albumin *(fatty acid free)*	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
CCCP (Carbonylcyanide 3-chloro-phenylhydrazone)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
cOmplete^{TM} (Protease Inhibitor Cocktail)	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland
Cytochrom c	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
DMSO (Dimethylsulfoxid)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
EGTA	Carl Roth & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Folin-Ciocalteau-Reagenz	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
L-Glutamat	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Kaliumchlorid	Carl Roth & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck, Darmstadt, Deutschland

di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kaliumnatriumtartrat-Tetrahydrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kaliumhydroxid	Carl Roth & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Kupfer(II)-Sulfat-Pentahydrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
L-Malat	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
D(-)-Mannitol	Carl Roth & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
MOPS (3-(N-Morpholino)-propan-sulfonsäure)	Carl Roth & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Natriumcarbonat, wasserfrei	Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt, Deutschland
Oligomycin	EMD Chemicals, San Diego, USA
Rotenon	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
D(+)-Saccharose	Carl Roth & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Sodium sulfite	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Succinat	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Tetrasodiumpyrophosphat	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Trypsin-EDTA (Ethylendiamintetraacetat)	Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Deutschland

7.5 Puffer und Lösungen des laborexperimentellen Teils

Isolationspuffer	200 mM D(-)-Mannitol 50 mM D(+)-Saccharose 5 mM Kaliumdihydrogenphosphat 5 mM MOPS 0,1%iges BSA *fatty acid free* 1 mM EGTA 4 M Kaliumhydroxid Mannitol und 1 Liter Aqua dest. werden zusammengegeben und bei mindestens 90 °C ca. 20 bis 30 Minuten erhitzt. Nach Abkühlen werden die weiteren Substanzen hinzugegeben. Der pH-Wert wird mit Kaliumhydroxid auf 7,15 titriert. Für das Colon werden vor Gebrauch zusätzlich 20 mg BSA/ml hinzugefügt.
Respirationspuffer	130 mM Kaliumchlorid 5 mM di-Kaliumhydrogenphosphat 20 mM MOPS 2,5 mM EGTA 1 µM Tetrasodiumpyrophosphat 0,1%iges BSA *fatty acid free* 4 M Kaliumhydroxid

	Die Substanzen werden zusammengegeben und mit Aqua dest. auf 1 Liter aufgefüllt. Der pH-Wert wird mit Kaliumhydroxid auf 7,4 titriert. Für das Colon werden vor Gebrauch zusätzlich 20 mg BSA/ml hinzugefügt.

Lösungen für die Proteinkonzentrationsbestimmung

Lowry Lösung 1	Reagenz A: 10 g Natriumcarbonat werden in 500 ml 1 M Natriumhydroxid-Lösung gelöst Reagenz B: 2 g Kaliumnatriumtartrat-Tetrahydrat werden in 100 ml Aqua dest. gelöst Reagenz C: 1 g Kupfer(II)-Sulfat-Pentahydrat wird in 100 ml Aqua dest. gelöst
Lowry Lösung 2	400 µl Folin-Ciocalteau-Reagenz 400 µl Aqua dest.

7.6 Septic rat severity score

Untersuchung	Untersuchungsergebnis	Punktezahl
Körpergewicht	1. präoperatives Gewicht (pG) in Gramm 2. Momentanwert (mW) in Gramm 3. Δ=% des mW vom pG	Δ% < 5 → 0 Punkte Δ% < 15 → 2 Punkte Δ% < 20 → 3 Punkte Δ% > 20 → 10 Punkte
Erscheinung	1. Normale Erscheinung, Fell anliegend, sauber geputzt 2. Geringes Pflegedefizit, Fell gesträubt 3. Zunehmendes Pflegedefizit, Ränder an Auge/Anus 4. Deutliches Pflegedefizit, Augen verklebt, Einstreu haftet am Anus	→ 0 Punkte → 1 Punkt → 2 Punkte → 3 Punkte
Spontanverhalten	1. Ratte erkundet Käfig, aktiv 2. Ratte sitzt auf einer Stelle, Ganzkörperbewegung vorhanden 3. Buckelige Haltung, schwankender Gang 4. Immobil, Seitenlage	→ 0 Punkte → 1 Punkt → 3 Punkte → 10 Punkte
Provoziertes Verhalten	1. Ratte flieht bei Käfigöffnung, starker Muskeltonus 2. Ratte flieht erst bei Annäherung der Hand 3. Ratte flieht erst bei Berührung 4. Fluchtreflex erloschen	→ 0 Punkte → 1 Punkt → 3 Punkte → 10 Punkte
Atemfrequenz	1. Präoperativer Wert (pW) 2. Momentanwert (mW) 3. Δ=% des mW vom pW	Δ% < 10 → 0 Punkte Δ% < 20 → 1 Punkt Δ% < 50 → 2 Punkte Δ% > 50 → 3 Punkte
Exspiratorisches Atemgeräusch	1. Nein 2. Ja	→ 0 Punkte → 1 Punkt
Abdomenpalpation (AP)	1. Kein Druckschmerz, weiches Abdomen 2. Geringe Reaktion auf AP, weiches Abdomen 3. Abdominelle Resistenz 4. Deutliche Schmerzzeichen auf AP, hartes Abdomen	→ 0 Punkte → 1 Punkt → 3 Punkte → 10 Punkte
Kotbeschaffenheit	1. Viel normaler Kot im Käfig, koten während der Untersuchung 2. Viel Kot im Käfig, Kot blutig, dünnflüssig oder schleimig 3. Wenig Kot im Käfig, unabhängig von Beschaffenheit 4. Kein Kot im Käfig seit letzter Untersuchung	→ 0 Punkte → 2 Punkte → 3 Punkte → 10 Punkte

Auswertung:

Aufaddieren der pro Untersuchungskategorie erreichten Punktezahlen. Wird in wenigstens zwei Kategorien die Punktezahl von 3 Punkten erreicht, werden alle 3-Punkte Werte auf 4 Punkte aufgewertet. Tötung des Tieres durch Überdosierung Pentobarbital (600 mg/kg) i.p. notwendig bei 10 und mehr Punkten.

8 Literaturverzeichnis

1. Osler, W., *THE EVOLUTION OF MODERN MEDICINE*. 1913.
2. Singer, M., et al., *The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3).* JAMA, 2016. **315**(8): p. 801–810.
3. Rudd, K.E., et al., *Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study.* Lancet (London, England), 2020. **395**(10219): p. 200–211.
4. Fleischmann-Struzek, C., N. Rose, and K. Reinhart, *Sepsis-associated deaths in Germany: characteristics and regional variation.* Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz, 2022. **65**(3): p. 388–395.
5. Mostel, Z., et al., *Post-sepsis syndrome - an evolving entity that afflicts survivors of sepsis.* Mol Med, 2019. **26**(1): p. 6.
6. Huang, C.Y., et al., *Life after sepsis: an international survey of survivors to understand the post-sepsis syndrome.* Int J Qual Health Care, 2019. **31**(3): p. 191–198.
7. Vincent, J.L., et al., *The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine.* Intensive care medicine, 1996. **22**(7): p. 707–710.
8. Danna, D.M., *Hospital Costs Associated with Sepsis Compared with Other Medical Conditions.* Crit Care Nurs Clin North Am, 2018. **30**(3): p. 389–398.
9. van den Berg, M., et al., *Hospital-related costs of sepsis around the world: A systematic review exploring the economic burden of sepsis.* J Crit Care, 2022. **71**: p. 154096.
10. Huang, M., S. Cai, and J. Su, *The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets.* Int J Mol Sci, 2019. **20**(21).
11. De Backer, D., F. Ricottilli, and G.A. Ospina-Tascon, *Septic shock: a microcirculation disease.* Curr Opin Anaesthesiol, 2021. **34**(2): p. 85–91.
12. Raymond, S.L., et al., *Microbial recognition and danger signals in sepsis and trauma.* Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017. **1863**(10 Pt B): p. 2564–2573.
13. Arora, J., A.A. Mendelson, and A. Fox-Robichaud, *Sepsis: network pathophysiology and implications for early diagnosis.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2023. **324**(5): p. R613–R624.
14. Doganyigit, Z., E. Eroglu, and E. Akyuz, *Inflammatory mediators of cytokines and chemokines in sepsis: From bench to bedside.* Hum Exp Toxicol, 2022. **41**: p. 9603271221078871.
15. Hotchkiss, R.S., et al., *Rapid onset of intestinal epithelial and lymphocyte apoptotic cell death in patients with trauma and shock.* Crit Care Med, 2000. **28**(9): p. 3207–17.
16. Venet, F., et al., *Early assessment of leukocyte alterations at diagnosis of septic shock.* Shock, 2010. **34**(4): p. 358–63.
17. Chen, X., J. Ye, and J. Ye, *Analysis of peripheral blood lymphocyte subsets and prognosis in patients with septic shock.* Microbiol Immunol, 2011. **55**(10): p. 736–42.
18. Biswas, S.K. and E. Lopez-Collazo, *Endotoxin tolerance: new mechanisms, molecules and clinical significance.* Trends Immunol, 2009. **30**(10): p. 475–87.
19. Cavaillon, J.M. and M. Adib-Conquy, *Bench-to-bedside review: endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis.* Crit Care, 2006. **10**(5): p. 233.

20. Venet, F. and G. Monneret, *Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression.* Nat Rev Nephrol, 2018. **14**(2): p. 121–137.

21. Yao, R.Q., et al., *Advances in Immune Monitoring Approaches for Sepsis-Induced Immunosuppression.* Front Immunol, 2022. **13**: p. 891024.

22. Kinasewitz, G.T., et al., *Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism [ISRCTN74215569].* Crit Care, 2004. **8**(2): p. R82–90.

23. Levi, M. and T. van der Poll, *Inflammation and coagulation.* Crit Care Med, 2010. **38**(2 Suppl): p. S26–34.

24. Iba, T. and J.H. Levy, *Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombus formation during sepsis.* J Thromb Haemost, 2018. **16**(2): p. 231–241.

25. Koepke, L.G., F. Simon, and A. Heuer, *[The Vascular System Caught in a Dark-NET].* Gefasschirurgie, 2022. **27**(6): p. 444–448.

26. Fuchs, T.A., et al., *Extracellular DNA traps promote thrombosis.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(36): p. 15880–5.

27. Saito, S., et al., *Epidemiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis and validation of scoring systems.* J Crit Care, 2019. **50**: p. 23–30.

28. Gando, S., *Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome.* Crit Care Med, 2010. **38**(2 Suppl): p. S35–42.

29. Khan, M.M., W.-L. Yang, and P. Wang, *ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS IN SEPSIS.* Shock (Augusta, Ga.), 2015. **44**(4): p. 294–304.

30. Vivas, W. and S. Weis, *Tidy up - The unfolded protein response in sepsis.* Frontiers in immunology, 2022. **13**: p. 980680.

31. Zhang, H., et al., *Time of dissociation between microcirculation, macrocirculation, and lactate levels in a rabbit model of early endotoxemic shock.* Chin Med J (Engl), 2020. **133**(18): p. 2153–2160.

32. Ince, C., *Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation.* Crit Care, 2015. **19 Suppl 3**(Suppl 3): p. S8.

33. Damiani, E., et al., *Microcirculation-guided resuscitation in sepsis: the next frontier?* Front Med (Lausanne), 2023. **10**: p. 1212321.

34. Marcus, C., et al., *Effects of Local Vasodilators and the Autonomic Nervous System on Microcirculation and Mitochondrial Function in Septic Rats.* Int J Mol Sci, 2024. **25**(17).

35. Kuebart, A., et al., *Pravastatin Improves Colonic and Hepatic Microcirculatory Oxygenation during Sepsis without Affecting Mitochondrial Function and ROS Production in Rats.* Int J Mol Sci, 2023. **24**(6).

36. Kuebart, A., et al., *Gemfibrozil Improves Microcirculatory Oxygenation of Colon and Liver without Affecting Mitochondrial Function in a Model of Abdominal Sepsis in Rats.* Int J Mol Sci, 2023. **25**(1).

37. Monzel, A.S., J.A. Enríquez, and M. Picard, *Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction.* Nature metabolism, 2023. **5**(4): p. 546–562.

38. Suomalainen, A. and J. Nunnari, *Mitochondria at the crossroads of health and disease.* Cell, 2024. **187**(11): p. 2601–2627.

39. Follprecht, D., et al., *Mitochondria in focus: From structure and function to their role in human diseases. A review.* Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia, 2025. **169**(4): p. 235–246.

40. Spinelli, J.B. and M.C. Haigis, *The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism.* Nature cell biology, 2018. **20**(7): p. 745–754.

41. Bock, F.J. and S.W.G. Tait, *Mitochondria as multifaceted regulators of cell death.* Nature reviews. Molecular cell biology, 2020. **21**(2): p. 85–100.

42. Supinski, G.S., E.A. Schroder, and L.A. Callahan, *Mitochondria and Critical Illness.* Chest, 2020. **157**(2): p. 310–322.

43. Dan Dunn, J., et al., *Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis.* Redox biology, 2015. **6**: p. 472–485.

44. West, A.P., G.S. Shadel, and S. Ghosh, *Mitochondria in innate immune responses.* Nature reviews. Immunology, 2011. **11**(6): p. 389–402.

45. Cai, S., et al., *Mitochondrial dysfunction in macrophages promotes inflammation and suppresses repair after myocardial infarction.* The Journal of clinical investigation, 2023. **133**(4).

46. Tur, J., et al., *Mitofusin 2 in Macrophages Links Mitochondrial ROS Production, Cytokine Release, Phagocytosis, Autophagy, and Bactericidal Activity.* Cell reports, 2020. **32**(8): p. 108079.

47. Singer, M., *Mitochondrial function in sepsis: acute phase versus multiple organ failure.* Critical care medicine, 2007. **35**(9 Suppl): p. S441–8.

48. Stanzani, G., M.R. Duchen, and M. Singer, *The role of mitochondria in sepsis-induced cardiomyopathy.* Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease, 2019. **1865**(4): p. 759–773.

49. Duran-Bedolla, J., et al., *Sepsis, mitochondrial failure and multiple organ dysfunction.* Clinical and investigative medicine. Medecine clinique et experimentale, 2014. **37**(2): p. E58–69.

50. Herminghaus, A., et al., *Propofol improves colonic but impairs hepatic mitochondrial function in tissue homogenates from healthy rats.* Eur J Pharmacol, 2019. **853**: p. 364–370.

51. Herminghaus, A., et al., *Severity of polymicrobial sepsis modulates mitochondrial function in rat liver.* Mitochondrion, 2015. **24**: p. 122–8.

52. McCall, C.E., et al., *Sepsis, pyruvate, and mitochondria energy supply chain shortage.* Journal of leukocyte biology, 2022. **112**(6): p. 1509–1514.

53. Japiassu, A.M., et al., *Bioenergetic failure of human peripheral blood monocytes in patients with septic shock is mediated by reduced F1Fo adenosine-5'-triphosphate synthase activity.* Crit Care Med, 2011. **39**(5): p. 1056–63.

54. Garrabou, G., et al., *The effects of sepsis on mitochondria.* The Journal of infectious diseases, 2012. **205**(3): p. 392–400.

55. Protti, A., et al., *Platelet mitochondrial dysfunction in critically ill patients: comparison between sepsis and cardiogenic shock.* Critical care (London, England), 2015. **19**(1): p. 39.

56. Fredriksson, K., et al., *Derangements in mitochondrial metabolism in intercostal and leg muscle of critically ill patients with sepsis-induced multiple organ failure.* American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 2006. **291**(5): p. E1044–50.

57. Kokkinaki, D., et al., *Chemically synthesized Secoisolariciresinol diglucoside (LGM2605) improves mitochondrial function in cardiac myocytes and alleviates septic cardiomyopathy.* J Mol Cell Cardiol, 2019. **127**: p. 232–245.

58. Soriano, F.G., et al., *Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock.* Crit Care Med, 2006. **34**(4): p. 1073–9.

59. Vanasco, V., et al., *Cardiac mitochondrial biogenesis in endotoxemia is not accompanied by mitochondrial function recovery.* Free Radic Biol Med, 2014. **77**: p. 1–9.

60. Singer, M., et al., *Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation.* Lancet, 2004. **364**(9433): p. 545–8.

61. Herminghaus, A., et al., *Time-related changes in hepatic and colonic mitochondrial oxygen consumption after abdominal infection in rats.* Intensive Care Med Exp, 2019. **7**(1): p. 4.

62. Yan, J., S. Li, and S. Li, *The role of the liver in sepsis.* International reviews of immunology, 2014. **33**(6): p. 498–510.

63. Geladari, E.V., et al., *Sepsis and the Liver.* Diseases, 2025. **13**(12).

64. Woźnica, E.A., et al., *Liver dysfunction in sepsis.* Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University, 2018. **27**(4): p. 547–551.

65. Chen, J.-W., et al., *Sepsis-associated liver injury: Mechanisms and potential therapeutic targets.* World journal of gastroenterology, 2024. **30**(42): p. 4518–4522.

66. Kasper, P., et al., *Leberfunktionsstörungen bei Sepsis.* Medizinische Klinik - Intensivmedizin und Notfallmedizin, 2020. **115**(7): p. 609–619.

67. Wiertsema, S.P., et al., *The Interplay between the Gut Microbiome and the Immune System in the Context of Infectious Diseases throughout Life and the Role of Nutrition in Optimizing Treatment Strategies.* Nutrients, 2021. **13**(3).

68. Fay, K.T., M.L. Ford, and C.M. Coopersmith, *The intestinal microenvironment in sepsis.* Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease, 2017. **1863**(10 Pt B): p. 2574–2583.

69. Hua, T., et al., *Micro- and Macrocirculatory Changes During Sepsis and Septic Shock in a Rat Model.* Shock, 2018. **49**(5): p. 591–595.

70. Dickson, K., H. Malitan, and C. Lehmann, *Imaging of the Intestinal Microcirculation during Acute and Chronic Inflammation.* Biology (Basel), 2020. **9**(12).

71. Zheng Lirong , J.T., Li Yang , Zhang Zhihao , Su He , Zhang Ruifen *The interplay between gastrointestinal dysfunction and gut microbiota dynamics in sepsis.* Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2026. **Volume 16 - 2026**.

72. Zhang, X., et al., *The gut-liver axis in sepsis: interaction mechanisms and therapeutic potential.* Crit Care, 2022. **26**(1): p. 213.

73. Potruch, A., A. Schwartz, and Y. Ilan, *The role of bacterial translocation in sepsis: a new target for therapy.* Ther Adv Gastroenterol, 2022. **15**: p. 17562848221094214.

74. Cao, Y.Y., et al., *PLK1 protects intestinal barrier function during sepsis by targeting mitochondrial dynamics through TANK-NF-kappaB signalling.* Mol Med, 2022. **28**(1): p. 163.

75. Andersson, A., et al., *Gut microcirculatory and mitochondrial effects of hyperdynamic endotoxaemic shock and norepinephrine treatment.* Br J Anaesth, 2012. **108**(2): p. 254–61.

76. Uddin, J., et al., *STARD7 maintains intestinal epithelial mitochondria architecture, barrier integrity, and protection from colitis.* JCI Insight, 2024. **9**(22).

77. Peng, Y., et al., *Changes in the microbiota in different intestinal segments of mice with sepsis.* Frontiers in cellular and infection microbiology, 2022. **12**: p. 954347.

78. Adelman, M.W., et al., *The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis.* Critical care (London, England), 2020. **24**(1): p. 278.

79. Klingensmith, N.J. and C.M. Coopersmith, *Gut Microbiome in Sepsis.* Surgical infections, 2023. **24**(3): p. 250–257.

80. García-Montero, C., et al., *Nutritional Components in Western Diet Versus Mediterranean Diet at the Gut Microbiota-Immune System Interplay. Implications for Health and Disease.* Nutrients, 2021. **13**(2).

81. Shi, N., et al., *Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system.* Military Medical Research, 2017. **4**: p. 14.

82. Wastyk, H.C., et al., *Gut-microbiota-targeted diets modulate human immune status.* Cell, 2021. **184**(16): p. 4137–4153.e14.

83. Hu, Q., et al., *STING-mediated intestinal barrier dysfunction contributes to lethal sepsis.* EBioMedicine, 2019. **41**: p. 497–508.

84. Castro, M., et al., *Radiographic and histopathological study of gastrointestinal dysmotility in lipopolysaccharide-induced sepsis in the rat.* Neurogastroenterol Motil, 2023. **35**(10): p. e14639.

85. Fedorov, A., A. Lehto, and J. Klein, *Inhibition of mitochondrial respiration by general anesthetic drugs.* Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, 2023. **396**(2): p. 375–381.

86. Kayser, E.B., et al., *Isoflurane selectively inhibits distal mitochondrial complex I in Caenorhabditis elegans.* Anesth Analg, 2011. **112**(6): p. 1321–9.

87. Pravdic, D., et al., *Complex I and ATP synthase mediate membrane depolarization and matrix acidification by isoflurane in mitochondria.* Eur J Pharmacol, 2012. **690**(1-3): p. 149–57.

88. Rodriguez, E., B. Peng, and N. Lane, *Anaesthetics disrupt complex I-linked respiration and reverse the ATP synthase.* Biochim Biophys Acta Bioenerg, 2025. **1866**(1): p. 149511.

89. Hanley, P.J., et al., *Halothane, isoflurane and sevoflurane inhibit NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) of cardiac mitochondria.* J Physiol, 2002. **544**(3): p. 687–93.

90. Osuru, H.P., et al., *Anesthesia-Sepsis-Associated Alterations in Liver Gene Expression Profiles and Mitochondrial Oxidative Phosphorylation Complexes.* Frontiers in medicine, 2020. **7**: p. 581082.

91. Xu, F., et al., *The Effect of Mitochondrial Complex I-Linked Respiration by Isoflurane Is Independent of Mitochondrial Nitric Oxide Production.* Cardiorenal Med, 2018. **8**(2): p. 113–122.

92. Jiang, M., et al., *Neuroprotection provided by isoflurane pre-conditioning and post-conditioning.* Med Gas Res, 2017. **7**(1): p. 48–55.

93. Olufs, Z.P.G., D.A. Wassarman, and M. Perouansky, *Stress Pathways Induced by Volatile Anesthetics and Failure of Preconditioning in a Mitochondrial Complex I Mutant.* Anesthesiology, 2024. **140**(3): p. 463–482.

94. Riess, M.L., et al., *Attenuation of mitochondrial respiration by sevoflurane in isolated cardiac mitochondria is mediated in part by reactive oxygen species.* Anesthesiology, 2004. **100**(3): p. 498–505.

95. Lotz, C., J. Stumpner, and T.M. Smul, *Sevoflurane as opposed to propofol anesthesia preserves mitochondrial function and alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury.* Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 2020. **129**: p. 110417.

96. Ma, H., et al., *Sevoflurane postconditioning attenuates cardiomyocytes hypoxia/reoxygenation injury via PI3K/AKT pathway mediated HIF-1alpha to regulate the mitochondrial dynamic balance.* BMC Cardiovasc Disord, 2024. **24**(1): p. 280.

97. Grundmanová, M., et al., *Propofol-induced mitochondrial and contractile dysfunction of the rat ventricular myocardium.* Physiological research, 2016. **65**(Suppl 5): p. S601–S609.

98. Colleoni, M., et al., *Biochemical Characterization of the Effects of the Benzodiazepine, Midazolam, on Mitochondrial Electron Transfer.* Pharmacology & Toxicology, 1996. **78**: p. 69–76.

99. Kuebart, A., et al., *Effects of midazolam and dexmedetomidine on liver and intestinal mitochondrial respiration.* Eur J Pharmacol, 2025. **1001**: p. 177740.

100. Fu, C., et al., *Dexmedetomidine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting oxidative stress, mitochondrial dysfunction and apoptosis in rats.* Mol Med Rep, 2017. **15**(1): p. 131–138.

101. Wang, Y., et al., *Dexmedetomidine alleviates LPS-induced apoptosis and inflammation in macrophages by eliminating damaged mitochondria via PINK1 mediated mitophagy.* Int Immunopharmacol, 2019. **73**: p. 471–481.

102. Kiyonaga, N., T. Moriyama, and Y. Kanmura, *Effects of dexmedetomidine on lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in rats and mitochondrial function in cell culture.* Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 2020(125): p. 109912.

103. Weng, X., et al., *Reduced mitochondrial response sensitivity is involved in the anti-apoptotic effect of dexmedetomidine pretreatment in cardiomyocytes.* Int J Mol Med, 2018. **41**(4): p. 2328–2338.

104. Traeger, T., et al., *Colon ascendens stent peritonitis (CASP)--a standardized model for polymicrobial abdominal sepsis.* J Vis Exp, 2010(46).

105. Herminghaus, A. and O. Picker, *Colon Ascendens Stent Peritonitis (CASP).* Methods Mol Biol, 2021. **2321**: p. 9–15.

106. Lowry, O.H., et al., *Protein measurement with the Folin phenol reagent.* J Biol Chem, 1951. **193**(1): p. 265–75.

107. Chance, B. and G.R. Williams, *Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. IV. The respiratory chain.* J Biol Chem, 1955. **217**(1): p. 429–38.

108. Fink, M.P., *Animal models of sepsis.* Virulence, 2014. **5**(1): p. 143–153.

109. Gibbs, R.A., et al., *Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution.* Nature, 2004. **428**(6982): p. 493–521.

110. Kurth, N.E., *Einfluss von Midazolam auf die mitochondriale Funktion im Colon und in der Leber von gesunden Ratten*. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

111. Volmer, N., *Der Einfluss von Metformin auf die mitochondriale Funktion in Colon- und Leberhomogenaten gesunder Ratten in vitro*. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

112. W.M.S. Russell, R.B., *The Principles of Humane Experimental Technique*. 1959.

113. González-Nicolás, M.Á., et al., *Cilastatin Attenuates Acute Kidney Injury and Reduces Mortality in a Rat Model of Sepsis.* International journal of molecular sciences, 2025. **26**(16).

114. Hassan, N.F., et al., *Alirocumab boosts antioxidant status and halts inflammation in rat model of sepsis-induced nephrotoxicity via modulation of Nrf2/HO-1, PCSK9/HMGB1/NF-κB/NLRP3 and Fractalkine/CX3CR1 hubs.* Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 2024. **177**: p. 116929.

115. Shen, L., et al., *Expression of c-FLIP in a rat model of sepsis and its effects on endothelial apoptosis.* Molecular medicine reports, 2017. **16**(1): p. 231–237.

116. Paredes, S.D., et al., *Somatostatin Mitigates Gastric Mucosal Damage Induced by LPS in a Male Wistar Rat Model of Sepsis.* Biomolecules, 2025. **15**(4).

117. Utiger, J.M., et al., *Description of a rat model of polymicrobial abdominal sepsis mimicking human colon perforation.* BMC research notes, 2021. **14**(1): p. 14.

118. Dumbuya, J.S., et al., *Effects of hydrogen-rich saline in neuroinflammation and mitochondrial dysfunction in rat model of sepsis-associated encephalopathy.* Journal of translational medicine, 2022. **20**(1): p. 546.

119. Smalheiser, N.R., et al., *Effect size, sample size and power of forced swim test assays in mice: Guidelines for investigators to optimize reproducibility.* PloS one, 2021. **16**(2): p. e0243668.

120. Lanza, I.R. and K.S. Nair, *Mitochondrial metabolic function assessed in vivo and in vitro.* Current opinion in clinical nutrition and metabolic care, 2010. **13**(5): p. 511–517.

121. Sharma, E., et al., *Overview of methods that determine mitochondrial function in human disease.* Metabolism: clinical and experimental, 2025. **170**: p. 156300.

122. *S3-Leitlinie Analgesie, Sedierung und Delirmanagement in der Intensivmedizin*. 2021.

123. Zheng, G., et al., *Propofol attenuates sepsis-induced acute kidney injury by regulating miR-290-5p/CCL-2 signaling pathway.* Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas, 2018. **51**(11): p. e7655.

124. Zhou, B.-W., et al., *Propofol improves survival in a murine model of sepsis via inhibiting Rab5a-mediated intracellular trafficking of TLR4.* Journal of translational medicine, 2024. **22**(1): p. 316.

125. Schläpfer, M., et al., *Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis.* Critical care (London, England), 2015. **19**(1): p. 45.

126. Koutsogiannaki, S., et al., *From the Cover: Prolonged Exposure to Volatile Anesthetic Isoflurane Worsens the Outcome of Polymicrobial Abdominal Sepsis.* Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology, 2017. **156**(2): p. 402–411.

127. Koutsogiannaki, S., et al., *Isoflurane attenuates sepsis-associated lung injury.* Biochemical and biophysical research communications, 2022. **599**: p. 127–133.

128. Cai, L., et al., *Advances in Rodent Experimental Models of Sepsis.* International journal of molecular sciences, 2023. **24**(11).

129. Remick, D.G., et al., *Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture.* Shock (Augusta, Ga.), 2000. **13**(2): p. 110–116.

130. Seemann, S., F. Zohles, and A. Lupp, *Comprehensive comparison of three different animal models for systemic inflammation.* Journal of biomedical science, 2017. **24**(1): p. 60.

131. Osuchowski, M.F., et al., *Minimum quality threshold in pre-clinical sepsis studies (MQTiPSS): an international expert consensus initiative for improvement of animal modeling in sepsis.* Intensive care medicine experimental, 2018. **6**(1): p. 26.

132. Kannan, S.K., et al., *Mouse Models of Sepsis.* Current protocols, 2024. **4**(3): p. e997.

133. Rittirsch, D., et al., *Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture.* Nature protocols, 2009. **4**(1): p. 31–36.

134. Maier, S., et al., *Cecal ligation and puncture versus colon ascendens stent peritonitis: two distinct animal models for polymicrobial sepsis.* Shock (Augusta, Ga.), 2004. **21**(6): p. 505–511.

135. Seok, J., et al., *Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(9): p. 3507–12.

136. Mestas, J. and C.C. Hughes, *Of mice and not men: differences between mouse and human immunology.* J Immunol, 2004. **172**(5): p. 2731–8.

137. Rigoulet, M., et al., *Mechanisms of inhibition and uncoupling of respiration in isolated rat liver mitochondria by the general anesthetic 2,6-diisopropylphenol.* European journal of biochemistry, 1996. **241**(1): p. 280–285.

138. Singh, A. and A.P. Anjankar, *Propofol-Related Infusion Syndrome: A Clinical Review.* Cureus, 2022. **14**(10): p. e30383.

139. Zimin, P.I., et al., *Isoflurane disrupts excitatory neurotransmitter dynamics via inhibition of mitochondrial complex I.* Br J Anaesth, 2018. **120**(5): p. 1019–1032.

140. Rodriguez, E., B. Peng, and N. Lane, *Anaesthetics disrupt complex I-linked respiration and reverse the ATP synthase.* Biochimica et biophysica acta. Bioenergetics, 2024. **1866**(1): p. 149511.

141. Kawachi, A., et al., *Propofol-Induced Mitochondrial Dysfunction Is Independent of Mitochondrial Permeability Transition.* Biomedicines, 2025. **13**(12).

142. Chang, H., et al., *Effect of sedation with dexmedetomidine or propofol on gastrointestinal motility in lipopolysaccharide-induced endotoxemic mice.* BMC Anesthesiol, 2020. **20**(1): p. 227.

143. Johnson, D.T., et al., *Tissue heterogeneity of the mammalian mitochondrial proteome.* Am J Physiol Cell Physiol, 2007. **292**(2): p. C689–97.

144. Forner, F., et al., *Quantitative proteomic comparison of rat mitochondria from muscle, heart, and liver.* Mol Cell Proteomics, 2006. **5**(4): p. 608–19.

145. McLaughlin, K.L., et al., *Novel approach to quantify mitochondrial content and intrinsic bioenergetic efficiency across organs.* Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 17599.

146. Fink, M.P., *Bench-to-bedside review: Cytopathic hypoxia.* Crit Care, 2002. **6**(6): p. 491–9.

147. Singer, M., *The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure.* Virulence, 2014. **5**(1): p. 66–72.

Danksagung

Mein Dank gilt zuerst Herrn Prof. Dr. Picker für die Möglichkeit diese Arbeit unter seiner Betreuung durchzuführen sowie für sein Vertrauen und seine Unterstützung im Verlauf meines Promotionsvorhabens. Besonders dankbar bin ich ihm dafür, dass er mein Promotionsvorhaben auch in einer späteren Phase weiterhin unterstützt hat und mich entscheidend darin bestärkt hat, die Arbeit konsequent zum Abschluss zu bringen.

Frau Prof. Dr. Rapp danke ich ganz besonders dafür, dass sie meine Promotion auch nach ihrem Wechsel an eine andere Klinik weiter begleitet hat. Diese Unterstützung und die dadurch geschaffene Kontinuität habe ich keineswegs als selbstverständlich empfunden und sehr geschätzt.

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Herminghaus, die mich während der gesamten Promotionszeit mit außergewöhnlichem Engagement, großer fachlicher Kompetenz und persönlichem Einsatz begleitet hat. Ohne ihre kontinuierliche Begleitung wäre die Fertigstellung dieser Dissertation in dieser Form für mich nicht möglich gewesen. Für ihre Zeit, ihr Vertrauen und die umfassende Unterstützung bin ich ihr von Herzen dankbar.

Frau Prof. Dr. Bauer danke ich für die Möglichkeit, die experimentellen Arbeiten in ihrem Labor durchführen zu dürfen.

Frau Dr. Kramer danke ich sehr für die Durchführung der operativen Eingriffe und die angenehme Zusammenarbeit.

Ein besonderer Dank gilt meiner Freundin Liana Stepanyan, durch die ich auf die Möglichkeit dieser Doktorarbeit aufmerksam geworden bin und die mir den Kontakt zur Arbeitsgruppe vermittelt hat. Wir haben Höhen und Tiefen des Promotionsvorhabens miteinander geteilt, uns in schwierigen Phasen gegenseitig aufgefangen und immer wieder neu motiviert. Für diesen Austausch bin ich ihr sehr dankbar.

Meinem Partner Moritz Rayer danke ich von Herzen für seinen Rückhalt während der gesamten Promotionszeit. Viele Momente des Zweifelns und der Überforderung hat er geduldig mitgetragen und mir dabei stets Halt gegeben. Ohne seine Unterstützung wäre der Weg bis zur Fertigstellung dieser Arbeit für mich deutlich schwerer gewesen.

Zu guter Letzt gilt meinen Eltern mein tief empfundener Dank. Sie haben mir stets Vertrauen in meine Fähigkeiten vermittelt und mich darin bestärkt, mir selbst etwas zuzutrauen.