

Aus der Klinik für Anaesthesiologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor Prof. Dr. Bernhard Zwißler

**Einfluss von Adipositas
auf die Pathogenese der Sepsis**
**Untersuchungen an Wildtyp-Mäusen am Modell
der polymikrobiellen Sepsis**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christian Rudolf Schlag

aus
München
2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Peter Conzen

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Thomas Hoffmann
Prof. Dr. Berthold Koletzko

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Johannes Tschöp

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 05.12.2019

Danksagung

*Besonderer Dank gebührt Johannes Tschöp für die exzellente Unterstützung
und Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit.*

Gewidmet

meiner Familie, meinen Patienten, meinen Lehrern.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1 Sepsis.....	6
1.2 Adipositas	8
1.3 Leptin.....	11
1.4 Einfluss von Leptin in der Sepsis	11
1.5 Rolle des ZNS in der Sepsis.....	12
1.6 Die Pathogenese der Sepsis	13
1.6.1 Proinflammatorische Mechanismen.....	14
1.6.2 Antiinflammatorische Mechanismen und CARS	16
1.7 Stand der Forschung	18
1.8 Fragestellung der Arbeit.....	18
2. Material und Methoden	19
2.1. Tiere und Tierhaltung.....	19
2.1.1 Tierstudienantrag.....	19
2.1.2 Tiere und Tierhaltung.....	19
2.1.3 Fütterung der Mäuse	19
2.2 Versuchsdurchführung.....	20
2.2.1 Präoperative Messung und Vorbereitungen	20
2.2.2 Bestimmung des Körpergewichts	20
2.2.3 Bestimmung der Körperkerntemperatur	21
2.2.4 Zökale Ligatur und Punktion.....	21
2.2.5 Endpunkt / Euthanasie	22
2.2.6 Blutentnahme (intrakardiale Punktion), Serumgewinnung.....	22
2.2.7 Bronchoalveoläre Lavage.....	22
2.2.8 Peritoneale Lavage.....	23
2.2.9 Organentnahmen und Histologie.....	23
2.3 Messverfahren	23
2.3.1 Messung von Zytokinen und Leptin	23
2.3.2 Durchflusszytometrie nach Oberflächenfärbung.....	24
2.3.3 Oxidativer Burst und Neutrophilenaktivierung	24
2.3.4 Bestimmung der Leukozytenzahl	25
2.4 Statistische Analyse	25

3. Ergebnisse	26
3.1 Vergleich der Überlebensraten nach CLP.....	26
3.2 Verlauf der Leptin Spiegel vor und nach CLP	28
3.3 Verlauf der proinflammatorischen Immunantwort nach CLP	30
3.3.1 IL-6	30
3.3.2 IL-1 β	31
3.3.3 TNF- α	32
3.3.4 Monozyten-inhibierendes Protein-2	34
3.4 Leukozytenzahl und Leukozytenaktivierbarkeit	35
3.4.1 Leukozyten	35
3.4.2 Neutrophile Granulozyten	37
3.4.3 Oxidativer Burst.....	38
3.5 Hämoglobingehalt und Thrombozytenzahl	40
3.6 Einfluss der High-fat-diet auf das zelluläre Immunsystem	40
3.7 Histopathologische Untersuchungen	42
4. Diskussion	43
4.1 Einfluss von Adipositas auf das Überleben in der Sepsis	43
4.2 Verlauf der Leptin-Spiegel vor und nach CLP	45
4.3 Einfluss der Adipositas auf die proinflammatorische Immunantwort nach CLP	46
4.4 Leukozytenzahl und Leukozytenaktivierbarkeit	47
4.5 Einfluss der High-fat-diet auf das zelluläre Immunsystem	49
5. Zusammenfassung	51
6. Literaturverzeichnis	52
7. Abkürzungsverzeichnis	61
8. Lebenslauf	63

1. Einleitung

1.1 Sepsis

Sepsis ist eine seit Jahrhunderten gefürchtete Komplikation verschiedener Infektionskrankheiten, die häufig zum Tode führt. Bereits vor über 2000 Jahren wurde der Begriff „Sepsis“, der sich vom griechischen „faul machen“ ableitet, vom griechischen Arzt Hippokrates (ca. 460 – 370 v. Chr.) geprägt.

Das Krankheitsbild der Sepsis wurde von Roger C. Bone, US-amerikanischer Intensivmediziner und Vorreiter im Kampf gegen die Sepsis, im Jahr 1989 definiert als „Invasion von Mikroorganismen und / oder ihrer Toxine in den Blutstrom zusammen mit der Reaktion des Organismus auf diese Invasion“ (1).

Tatsächlich stellt das klinische Krankheitsbild einen Symptomkomplex dar, der seinen Ursprung in der komplexen systemischen Reaktion des Immunsystems des betroffenen Individuums hat. Die Einteilung in Sepsis, schwere Sepsis und septischen Schock erfolgt unter Berücksichtigung des klinischen Bildes des Patienten und von Vital- bzw. Laborparametern. Obgleich für die Definition der Sepsis das Vorhandensein eines ursächlichen Erregers obligat ist, gelingt der Keimnachweis in Abhängigkeit von vorangegangener antibiotischer Behandlung nur bei etwa 30% der Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock (2,3,4). In etwa 30% der Fälle ist trotz wahrscheinlicher Infektion kein mikrobiologischer Keimnachweis möglich (5).

Die bis 2016 gültige Definition und Einteilung des klinischen Krankheitsbildes hatte ihren Ursprung in den Ergebnissen einer Konsensuskonferenz, welche im Jahre 1991 vom *American College of Chest Physicians* und der *Society of Critical Care Medicine* abgehalten wurde. Hierbei wurden schnell und einfach zu erhebende klinische Parameter, wie die Veränderungen der Körpertemperatur, der Herzfrequenz, der Atemfrequenz (Hyperventilation und / oder die Notwendigkeit der maschinellen Beatmung als Konsequenz aus der Sepsis), sowie eine Veränderungen der Leukozytenzahl als Sepsiskriterien gewählt. Die Bezeichnung des *Systemischen Inflammatorischen Response Syndroms* (SIRS) wurde für die systemische Entzündungsreaktion nach oben genannten Kriterien gewählt, die durch eine Infektion, aber auch aus anderen Umständen, wie z.B. Verbrennung, Pankreatitis oder Trauma aktiviert werden kann (6). Im weiteren Verlauf wurde die Definition 2001 um mehrere Laborparameter und klinische Symptome ergänzt,

da die bis dato gültigen Kriterien einerseits sehr sensitiv waren, sich jedoch als wenig spezifisch erwiesen.

In einer Überarbeitung der Sepsiskriterien 2016 wurde auf die Anwendung der SIRS-Kriterien verzichtet, da diese, wie bereits angeführt, zu unspezifisch waren und sogar lebensbedrohliche Infektionszustände nicht immer sicher detektieren konnten. Das Schlüsselement der neuen Sepsis 3 – Klassifikation stellt der SOFA-Score („Sequential (Sepsis-Related) Organ Failure Assessment Score“) dar. Damit werden die wichtigsten Organfunktionen bewertet, und so die Organdysfunktion als zentrales Element in den Mittelpunkt gerückt. Da die Folgen einer Sepsis-induzierten Organdysfunktion entscheidend für die Prognose sind, kommt den Organen Lunge, ZNS, Leber, Gerinnung, Herz-Kreislauf und Niere nun eine zentrale Rolle zu. Die jeweilige Dysfunktion wird mit Punkten zwischen 1 und 4 bewertet. Nach den Sepsis 3 – Kriterien liegt eine Sepsis dann vor, wenn sich der SOFA-Score eines Patienten akut um zwei oder mehr Punkte verschlechtert.

Ein septischer Schock ist definiert als fortgeschrittenes Krankheitsbild einer Sepsis, bei dem zum einen das Herzkreislaufsystem durch die pathophysiologischen Veränderungen beeinträchtigt ist, und andererseits zelluläre und metabolische Veränderungen so ausgeprägt sind, dass ein erhöhtes Mortalitätsrisiko besteht. Als klinische Kriterien gelten die Notwendigkeit der Kreislaufstabilisierung mittels Vasopressoren zum Erreichen eines mittleren arteriellen Blutdrucks von 65 mmHg und der Anstieg der Serumlaktatkonzentration auf über 2 mmol/l trotz einer adäquaten Volumentherapie. Durch die Neudefinition des septischen Schocks soll dieses spezielle Krankheitsbild deutlicher von anderen Formen der kardiozirkulatorischen Dysfunktion unterschieden werden (7). Die Konsensuskonferenz der Deutschen Sepsis Gesellschaft definiert in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Sepsis der European Society of Intensive Care Medicine eine schwere Sepsis weiterhin durch das Vorliegen dreier Kriterien: Erstens der Nachweis eines infektiösen Ursprungs der Inflammation, zweitens Nachweis einer systemischen inflammatorischen Wirtsreaktion (SIRS) und drittens das Vorliegen einer infektionsbezogenen Dysfunktion mindestens eines der in den Sepsis 3 – Kriterien genannten Organsysteme (8).

Sepsis und ihre Krankheitsfolgen septischer Schock und Multiorganversagen finden sich durch die hohe Mortalitätsrate von etwa 50% unter den häufigsten Todesursachen auf Intensivstationen mit nicht kardiologischem Schwerpunkt (9,10,11,12). In den USA steht

das Krankheitsbild Sepsis heute an zehnter Stelle der Todesursachenrangliste, mit kontinuierlich steigender Inzidenz im Verlauf der letzten Jahrzehnte (12,14,15,16,17). Für Deutschland wird die Zahl der an einer schweren Sepsis oder an einem septischen Schock erkrankten Patienten mit etwa 75.000 (110 von 100.000) jährlich beziffert. Auf deutschen Intensivstationen liegt die Prävalenz der schweren Sepsis und des septischen Schocks nach Angaben des Kompetenznetzwerks Sepsis (SepNet) bei 11% (13). Faktoren wie die zunehmende Alterung der Bevölkerung und die stetig wachsende Zahl an Patienten, die durch chemotherapeutische Maßnahmen oder andere immunsuppressive Medikamente an einer Abwehrschwäche leiden, tragen zu einem stetigen Anstieg der Fallzahlen bei. Steigende Zahlen an invasiven Eingriffen und nicht zuletzt eine stetig sich erhöhende Anzahl resistenter Keime, aber auch die spezifischere Diagnosestellung tragen ebenso ihren Teil hierzu bei (9).

Die Kosten für die Therapie septischer Patienten belaufen sich in Deutschland jährlich auf etwa 1,8 Milliarden Euro und somit 30% des Budgets für Intensivmedizin (18,19). In den USA werden jährlich Kosten von durchschnittlich 16,7 Milliarden Dollar veranschlagt (12). Hinzu addiert sich der volkswirtschaftliche Schaden durch Produktionsausfall, der für Deutschland mit weiteren 4,5 Milliarden Euro beziffert wird (18,19).

1.2 Adipositas

Übergewicht und Fettleibigkeit (Adipositas) stellen ein weiteres zunehmendes Problem in den westlichen Industriestaaten dar.

Im Jahr 2010 betrug die Zahl der adipösen erwachsenen Männer in Deutschland rund 16%, die der erwachsenen Frauen zwischen 13,8% und 15,6%, während bereits 50% der Bevölkerung als übergewichtig eingestuft werden. Erste Ergebnisse aus der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS), die als Quer- und Längsschnitterhebungsstudie bundesweit repräsentative Daten zur gesundheitlichen Lage der erwachsenen Bevölkerung im Alter zwischen 18 und 79 Jahren analysiert, finden eine noch höhere Prävalenz. So findet sich eine besorgniserregende Zunahme der Adipositas besonders im jungen Erwachsenenalter. Insgesamt beträgt die Adipositasprävalenz 23,3% bei Männern und 23,9% bei Frauen, wohingegen die Prävalenz im vergleichbaren „Bundes-Gesundheitssurvey 1998“ (BGS98) bei etwa 19% für Männer und circa 23% für Frauen lag (20).

Noch gravierender fällt diese Entwicklung in den USA aus, wo im Zeitraum von 2003-2004 bereits 17,1% der Kinder und Jugendlichen übergewichtig, und 32,3% der Erwachsenen adipös waren. Der Anteil der Personen mit schwerer Adipositas (BMI ≥ 40) betrug in den Vereinigten Staaten im Zeitraum 2003-2004 4,8%.

Doch das Problem bleibt nicht allein auf die westliche Welt beschränkt, auch in den Entwicklungsländern steigt die Zahl der Adipösen besorgniserregend an. So stieg in chinesischen Städten die Prävalenz adipöser Vorschulkinder von 1,5% im Jahr 1989 auf 12,6% im Jahr 1997 (21).

Tabelle 1. Klassifizierung des Körpergewichts nach der Gradeinteilung der WHO

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht [kg]} / \text{Körpergröße [m]}^2$$

< 18,5 kg/m ²	Untergewicht
18,5 – 24,9 kg/m ²	Normalgewicht
25,0 – 29,9 kg/m ²	Übergewicht
30,0 – 34,9 kg/m ²	Adipositas Grad I
35,0 – 39,9 kg/m ²	Adipositas Grad II
$\geq 40,0$ kg/m ²	Adipositas per magna

Tabelle 1. Gradeinteilung der Adipositas (22)

[WHO (Hrsg.): Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. In: WHO Technical Report Series. 894, 2000.]

Die schädigenden und lebensverkürzenden Auswirkungen von krankhaftem Übergewicht und Fettleibigkeit sind seit langem bekannt. Neben seiner Funktion als Energiespeicher ist Fettgewebe in die Steuerung vielfältiger Prozesse, einschließlich neuroendokriner und immunologischer Vorgänge eingebunden (23).

Hinsichtlich medizinischer Komplikationen sind fettsüchtige Menschen anfälliger für Krankheiten des Herzkreislaufsystems, wie arteriellen Hypertonus und koronare Herzkrankheit, metabolische Erkrankungen wie Diabetes mellitus, sowie für

Lungenerkrankungen und maligne Erkrankungen. Wird eine intensivmedizinische Therapie nötig, geht diese oftmals mit spezifischen Komplikationen, auch bedingt durch physiologische Veränderungen, einher. Neben Problemen bei der maschinellen Beatmung, Entwöhnung vom Respirator und vermehrten infektiologischen Komplikationen, ist die Zahl venöser Thrombosen, von Lungenembolien und anderen kardiovaskulären Komplikationen bei fettsüchtigen Patienten erhöht (24).

Eine Vielzahl von Studien hat mittlerweile einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Body Mass Index (BMI) und dem Outcome von Patienten auf Intensivstationen weltweit untersucht. Die hierbei gefundenen Untersuchungsergebnisse sind jedoch kontrovers. So fand die multizentrische SOAP-Studie (Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients) keinen signifikanten Unterschied zwischen untergewichtigen, normalgewichtigen, sowie übergewichtigen und stark übergewichtigen Patienten hinsichtlich der Mortalitätsrate des Intensivstations- bzw. Krankenhausaufenthaltes (24).

Eine große retrospektive Studie mit über 41.000 Patienten zeigte, dass ein niedriger BMI mit erhöhter Mortalität einhergeht, während Übergewicht und Fettleibigkeit möglicherweise die Mortalitätsrate verbessern. Der Vergleich von 117 Patienten mit BMI $> 40 \text{ kg/m}^2$ mit normalgewichtigen Kontrollpatienten zeigte in einer weiteren Studie eine deutlich erhöhte Mortalität in der Adipositasgruppe (25).

Eine österreichische Studie, die das Outcome von 301 Patienten mit septischem Schock untersuchte, fand keine signifikante Assoziation zwischen dem BMI und der Mortalität auf der Intensivstation. Jedoch zeigte sich ein Trend hinsichtlich einer niedrigeren Intensivstations-Mortalität und höheren BMI-Werten (26).

Die Auswertung der Daten von über 62.000 kritisch kranken Patienten in einer Meta-Analyse konnte hingegen einen Überlebensvorteil für Patienten mit leichtem und moderatem Übergewicht feststellen (27).

In einer Studie, die den Einfluss des BMI auf das Outcome nach intensivmedizinischer Behandlung untersuchte, fand sich in der Gruppe der übergewichtigen Patienten eine geringere Mortalität und in den Gruppen der übergewichtigen und adipösen Patienten ein verbesserter funktioneller Status nach Krankenhausentlassung (25).

Dieses sogenannte Adipositas-Paradoxon wurde in einer weiteren Studie beschrieben: Die Mortalitätsrate bei Patienten mit akut dekompensierter Herzinsuffizienz lag mit 2,4% für Adipöse deutlich unter der von normalgewichtigen (4,6%) und untergewichtigen (6,4%) Patienten (27). Unterstützt wird das Adipositas-Paradoxon durch Daten einer Metaanalyse aus den USA mit 2,8 Millionen Teilnehmern, die für Übergewichtige (BMI 25-29,9) eine

niedrigere Gesamtsterblichkeitsrate zeigte als für Normalgewichtige (28). Mäßiges Übergewicht scheint somit protektive Effekte aufzuweisen, die sich möglicherweise ein Leben lang, und nicht nur bei kritischen Erkrankungen auswirken. Während es bei krankhaftem Übergewicht zu physiologischen Veränderungen und der Manifestation von Folgeerscheinungen der Fettsucht wie Diabetes mellitus, kardiovaskulären Erkrankungen und veränderter Atemphysiologie kommt, ist dies bei mäßigem Übergewicht noch nicht der Fall.

1.3 Leptin

An der Steuerung und Kontrolle der Immunantwort bei Sepsis sind zahlreiche Mediatoren und Hormone sowie das zentrale Nervensystem beteiligt.

Eines dieser Steuerungs-Hormone, das Einfluss auf die Immunantwort hat, ist das Leptin. Leptin ist ein 16 kDa großes körpereigenes Hormon, das in den Fettzellen gebildet wird (29) und einer zirkadianen Rhythmik unterliegt (30,31). Es ist bekannt, dass Leptin die Blut-Hirn-Schranke überwindet (32) und den Großteil seiner biologischen Effekte erreicht, indem es direkt im Gehirn wirkt. Einige der bereits gut charakterisierten und im Gehirn vermittelten Funktionen des Leptins betreffen Nahrungsaufnahme, Energiehaushalt, Steuerung des Körpergewichts, metabolische und endokrinologische Funktionen, sowie die Fortpflanzung. Leptin fungiert u.a. als Sättigungssignal, indem es die Nahrungsaufnahme vermindert und über eine Sympathikusaktivierung den Energieverbrauch steigert (33-43).

Die Höhe des Hormonspiegels verändert sich durch Zustände wie Fasten oder Überernährung. So zeigen adipöse Individuen einen erhöhten Leptinspiegel, während er bei Fastenzuständen erniedrigt ist. Mutationen des *ob*-Gens sind bei Menschen und Mäusen mit Fettleibigkeit und Hyperphagie assoziiert (44).

Jedoch ist Leptin nicht nur bezüglich Nahrungsaufnahme und Energiehaushalt aktiv.

1.4 Einfluss von Leptin in der Sepsis

Leptin beeinflusst das Immunsystem während einer Sepsis, sowohl über seine zentrale Wirkung, als auch über seine direkte periphere Wirkung an Immunzellen und Organen. Dies wurde sowohl in Tierexperimenten (35,45-52) als auch in Studien an Patienten gezeigt (53-68). Während ein fehlender Anstieg bzw. ein Mangel an Leptin in der Sepsis mit einer signifikant höheren Sterblichkeit verbunden ist, beeinflusst in mehreren tierexperimentellen Studien die Substitution von Leptin die Immunantwort und den Verlauf einer Infektion positiv durch verbesserte Bakterien-Clearance und Reduktion neutrophiler Zellen und proinflammatorischer Zytokine (54,56,62,63,67,68,69).

Die Aussagen bezüglich der Funktion von Leptin im Immunsystem und im Rahmen einer Immunantwort sind aber sehr widersprüchlich und dessen genaue Rolle ist daher bis jetzt noch nicht geklärt.

Wie bereits angeführt ist Leptin ein wichtiges Signalprotein im ZNS. Einige der bereits gut charakterisierten und vor allem im Gehirn vermittelten Funktionen des Leptins betreffen Energiehaushalt, Steuerung des Körpergewichts, metabolische und endokrinologische Funktionen und die Kontrolle der Körperkerntemperatur. Leptin besitzt eigene Rezeptoren (Ob-R), die ubiquitär im Organismus vorkommen. Es existieren sechs Isoformen, von denen der langkettige Ob-Rb hauptsächlich für die biologischen Wirkungen und Signal-Effekte von Leptin verantwortlich ist. Leptin aktiviert den JAK-STAT3-Signalweg (dies sind Rezeptor-assoziierte Tyrosinkinase bzw. Transkriptionsfaktoren) und den intrazellulären Transkriptionsfaktor NF- κ B. Weitere wichtige Leptin-abhängige Signalwege sind die Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK) p38 und die extrazellulär signalregulierte Kinase (ERK).

1.5 Rolle des ZNS in der Sepsis

Schädigungen der endothelialen Barriere treten im Rahmen einer Sepsis auch am ZNS auf. Das ZNS ist das lebenswichtige Steuerungszentrum. Zusammen mit dem Hormonsystem, mit dem es aufs Engste verknüpft ist, steuert und regelt es alle Körperfunktionen von der Atmung über Bewegung und Fortpflanzung bis hin zur Verdauung. Darüber hinaus ist es Grundlage aller „höheren“ Funktionen wie etwa

Bewusstsein, Empfinden, Denken und Lernen. In der Sepsis kommt es durch Veränderungen der vaskulären Barriere zu einer Beeinträchtigung der ZNS-Funktion. Eine vermehrte Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke führt zur Entstehung eines Ödems mit Störung der zerebralen Perfusion und Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen im Sinne eines Versagens der Mikrozirkulation. Proinflammatorische Mediatoren (wie z.B. TNF- α , IL-1) werden nun auch vermehrt über die geschädigte Blut-Hirn-Schranke ins ZNS aufgenommen, stimulieren dort Astrozyten und die Mikroglia, wodurch noch weitere inflammatorische Mediatoren ausgeschüttet werden. Dadurch wird eine unphysiologische metabolische Kaskade angestoßen, die nur schwer zu kontrollieren ist. Lebenswichtige Steuerungsprozesse und die daran beteiligte Homöostase der Hormone und Signalproteine werden gestört, die Imbalance der Neurotransmitter führt im Verlauf zu zellulärem Energiemangel und Zelltod. Es resultiert das klinische Bild einer septischen Enzephalopathie mit Störung zerebraler Funktionen wie Konzentration, Gedächtnis, Wachheit und Koordination.

1.6 Die Pathogenese der Sepsis

Sepsis ist definiert als eine systemische inflammatorische Antwort auf eine zunächst lokal begrenzte Entzündung (72). Bakterielle Infektionen stellen den häufigsten Grund für eine Sepsis dar. Unter den Erregern sind je nach der untersuchten Kohorte in etwa gleich häufig grampositive und gramnegative Spezies zu verzeichnen. Jedoch können auch Pilzinfektionen und der Einfluss von Toxinen zu einem ähnlichen Krankheitsbild führen. In der Genese dieser Erkrankung spielt das Zusammenwirken von Infektion und Immunantwort eine entscheidende Rolle. Initial kommt es zu einer Aktivierung immunkompetenter Zellen. Diese primäre Immunantwort wird durch das Freisetzen einer Vielzahl von sekundären Mediatoren weiter verstärkt („systemic inflammatory response syndrome“, SIRS) und führt schließlich zum klinischen Bild der Sepsis. Sepsis und septischer Schock sind verbunden mit der Entwicklung eines oft tödlichen Versagens lebenswichtiger Organsysteme (Multiorganversagen). Die Behandlungsmöglichkeiten der Sepsis oder des durch Sepsis erzeugten Multiorganversagens sind bis heute unzureichend, da die genauen Vorgänge im Immunsystem während einer Sepsis äußerst komplex sind und bislang nicht ausreichend verstanden werden. Ein Hauptgrund für die Entstehung einer septischen Organdysfunktion ist die Schädigung des vaskulären Endothels.

Die Reaktion des Wirtsorganismus auf das Eindringen von Mikroorganismen lässt sich teilen in die angeborene unspezifische und die erworbene spezifische Immunabwehr. Die im Rahmen dieser Arbeit primär untersuchte unspezifische Immunabwehr wird repräsentiert durch Faktoren, die im Gewebe ständig vorhanden sind und von Gewebszellen schnell produziert werden können. Sie sind unmittelbar in der Lage, eingedrungene Fremdorganismen zu erkennen und zu bekämpfen. Hierzu zählen Gewebemakrophagen, neutrophile Granulozyten und Natürliche Killerzellen, sowie das Komplementsystem. Sie produzieren Interferone und Akute-Phase-Proteine, sowie Entzündungsmediatoren, welche sowohl eine autokrine, wie auch eine para- bzw. endokrine Wirkung entfalten können.

Im nachfolgenden Schritt beginnt die Aktivierung der spezifischen Immunabwehr, zu der neben B-Lymphozyten und den durch sie produzierten spezifischen Antikörpern, die T-Lymphozyten in Form von Zytotoxischen-T-Zellen, T-Helferzellen und regulatorischen T-Zellen gezählt werden. B-Lymphozyten produzieren nach Differenzierung zu Plasmazellen spezifische Antikörper. T-Helferzellen verbessern die Phagozytoseleistung der Makrophagen und rekrutieren durch Produktion von Zytokinen weitere Immunzellen, während Zytotoxische-T-Zellen direkt schädigend auf Mikroorganismen einwirken können. Eine weitere Untergruppe der T-Zellen, die $\gamma\delta$ -T-Zellen, die vor allem in mukösen Organen vorkommt, beeinflusst ebenfalls die Immunantwort durch Sekretion von pro- als auch anti-inflammatorischen Zytokinen. Die Ausprägung der Zytokinreaktion scheint vom Typ des Pathogens bzw. der Infektion abhängig zu sein. Die überwiegende Funktion der $\gamma\delta$ -T-Zellen scheint aber auf der proinflammatorischen Wirkung zu liegen. Die Studienlage hierzu gestaltet sich jedoch kontrovers (73).

1.6.1 Proinflammatorische Mechanismen

Der Auslöser einer Abwehrreaktion besteht in der Erkennung eines eingedrungenen mikrobiellen Organismus. Makrophagen und neutrophile Granulozyten können durch Chemotaxis Mikroorganismen aufspüren und im Folgenden mithilfe verschiedener Rezeptoren phagozytieren. Bei einer akuten Entzündung kommt es innerhalb von Minuten zur Mobilisation von ortsständigen Gewebemakrophagen. Diese beginnen mit der Phagozytose und produzieren Entzündungsmediatoren (IL-1 β , IL-6, TNF- α). Hierdurch werden große Zahlen an neutrophilen Granulozyten zur Einwanderung in den betroffenen

Bereich angelockt (neutrophile Phase). Im Folgenden werden Monozyten aus dem Blut rekrutiert (monozytäre Phase), die sich zu Makrophagen umwandeln. Schließlich kommt es durch Mediatoren bedingt (GM-CSF) zur vermehrten Produktion von Granulozyten und Monozyten im Knochenmark. Die akute Entzündung wird beendet, wenn das auslösende Agens beseitigt wurde.

Unter der Einwirkung weiterer Mediatoren (IL-1, IL-6, IL-12) kann es jedoch auch zu einer spezifischen Abwehrreaktion mit generalisiertem Anstieg der Lymphozyten kommen (lymphozytäre Phase) (74). Dendritische Zellen wandern in diesem Fall, unterstützt durch Zytokine wie TNF- α , in spezialisierte lymphatische Gewebe wie z.B. lokale Lymphknoten ein. Hier präsentieren sie Krankheitserreger und deren Antikörper und lösen im Folgenden durch Aktivierung von CD4-T-Zellen eine spezifische Immunantwort aus (75).

Die im Lauf der Abwehrreaktion produzierten Zytokine führen zu den klassischen Zeichen einer Entzündung. Die lokal wirksamen, aus dem Endothel stammenden Vasodilatoren Stickstoffmonoxid (NO) und Prostacyclin (PGI₂), die stimuliert durch IL-1 und TNF- α produziert werden, verlangsamen die Blutströmungsgeschwindigkeit. Auch die Adaption der Endothelbarriere ermöglicht den Leukozytendurchtritt von intravasal ins Gewebe. Aktivierte Neutrophile setzen hierzu Mediatoren (Metalloproteasen) frei, welche die extrazelluläre Matrix schädigen und zu einem Endothelleck führen. Neben den Immunzellen tragen insbesondere auch die Endothelzellen im betroffenen Gebiet durch Zytokinproduktion zur Unterhaltung der Entzündungsreaktion bei. Klinisch werden Erwärmung (Calor) und Rötung (Rubor) des betroffenen Gebietes sichtbar (76). IL-1 β , IL-6 und TNF- α spielen eine entscheidende Rolle bei der Induktion der Akute-Phase-Reaktion in der Leber und der Entstehung von Fieber, wodurch die Funktion der Immunabwehr auf verschiedene Weise begünstigt wird.

Die erhöhte Gefäßpermeabilität führt zur Gewebsschwellung (Tumor), der erhöhte Gewebedruck verstärkt die Schmerzentstehung (Dolor). Durch die Entzündungsreaktion kann die Funktion des betroffenen Gewebes eingeschränkt werden (Functio laesa).

Bedingt durch die der Entzündungsreaktion eigenen Veränderungen treten Immunglobuline, Komplementfaktoren, Fibrinogen und andere Bestandteile des Blutplasmas aus dem Gefäßsystem aus. Die Abwehr eingedrungener Organismen wird erleichtert und die weitere Verbreitung im Wirt verhindert, die Eliminierung gefördert (77). Eine lokale Induktion der Blutgerinnung dient als physikalische Barriere der Verhinderung der Erregerausbreitung,

Die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine durch die Wirtszellen ist ein streng regulierter Prozess, der die Entzündung am Ort der Infektion oder der Gewebsschädigung unterstützt und die Aktivierung des Immunsystems bedingt. Während der gewöhnliche Entzündungsprozess selbstlimitierend verläuft und nach der Beseitigung der Infektion abklingt, kommt es bei der chronischen Entzündungsreaktion bei Patienten mit Sepsis zur Dysregulation, die zur exzessiven und generalisierten Freisetzung der entzündungsunterhaltenden Zytokine führt.

Eine systemische Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine kann beispielsweise durch spezielle bakterielle Virulenzfaktoren hervorgerufen werden. Durch systemisches Eindringen von Zellwandbestandteilen wie Lipopolysaccharid oder sogenannten Superantigenen kann ein Zytokinsturm, eine exzessive Freisetzung proinflammatorischer Zytokine durch polyklonale Stimulation einer großen Zahl verschiedener CD4-positiver-T-Zellen, hervorgerufen werden. Folge ist die Entstehung großer Mengen proinflammatorischer Zytokine wie beispielsweise TNF- α , die zu generalisierter Vasodilatation mit nachfolgender Hypoperfusion und Ischämie anderer Organe, vor allem der Nieren und des Intestinaltraktes, führen (78).

Eine generell erhöhte Permeabilität der Endothelbarriere, durch Einwirkung von IL-1 und TNF- α , führt zu übermäßigem Austritt intravasaler Flüssigkeit, wodurch das Gewebe durch Ödembildung weiter geschädigt wird und sich außerdem die arterielle Hypotonie verstärkt. Als weiteres Charakteristikum der Sepsis wird in Folge der Entzündungsreaktion das Gerinnungssystem aktiviert. Die Gerinnungsaktivierung, die bereits im frühen Stadium der Sepsis erfolgt, dient der Verhinderung der Ausbreitung der Infektion. Jedoch kann es mit zunehmender Schwere des Entzündungsprozesses zu einer generalisierten und übermäßigen Aktivierung des Gerinnungssystems kommen. Nach der Bildung von Fibringerinnseln, welche sich in kleinen Gefäßen ablagern, kommt es dort zu mikrovaskulären Thromben, die zum Verschluss der Blutversorgung im Gewebe führen (76). Hierdurch können Gerinnungsfaktoren soweit verbraucht werden, dass eine angemessene Blutgerinnung nicht mehr möglich ist (79). Führend in der Unterhaltung dieses Prozesses sind neben den proinflammatorischen Zytokinen auch aktivierte neutrophile Granulozyten und Thrombozyten (80). Verbrauchskoagulopathie und Hypoperfusion münden häufig in einem Multiorganversagen mit hoher Letalitätsrate.

1.6.2 Antiinflammatorische Mechanismen und CARS

Im Gegensatz zu dieser proinflammatorischen Reaktion, die durch eingedrungene Pathogene oder stattgefundene Gewebszerstörung bedingt die SIRS-Reaktion zur Folge hat, steht die antiinflammatorische Reaktion, die in der Regel auf den proinflammatorischen Zytokinsturm folgt. Das Akronym CARS steht für *Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome* und wurde 1996 von Bone geprägt, um dieses immunologische Phänomen während der Sepsis zu beschreiben (81). Ebenso wie SIRS geht CARS mit der Freisetzung spezifischer antiinflammatorischer Zytokine einher und bewirkt eine systemische Deaktivierung des Immunsystems. Bone stellte die Hypothese auf, dass die antiinflammatorische Reaktion die zerstörerische Entzündungsreaktion ausgleichen und zu einem Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischer Immunreaktion führen soll. Gelingt es allerdings nicht, hierdurch ein Gleichgewicht zu erreichen, droht Schaden für den Organismus bis hin zum Tod, entweder durch die überschießende Entzündungsreaktion oder aber durch eine CARS-induzierte Immunparalyse, die den bereits geschwächten Organismus anfällig macht für nachfolgende Infektionen. Die möglichen Ursachen für die immunsuppressive Gegenreaktion sind vielfältig. Diskutiert werden die Einflüsse zahlreicher antiinflammatorischer Zytokine, Reaktionen auf vermehrte Apoptose körpereigener Zellen und veränderte Stimulierbarkeit der Abwehrzellen.

Monozyten präsentieren Antigene und segregieren proinflammatorische Zytokine, um die Immunantwort zu verstärken und nehmen somit eine wichtige Rolle in der Erkennung und Beseitigung von eingedrungenen Organismen wahr. Studien zeigten, dass als Folge von Trauma oder Sepsis sich diese Fähigkeit vermindert und weniger TNF- α und IL-1 produziert werden. Die Down-Regulierung der Monozytenfunktion geht mit einem erhöhten Risiko für eine Zweitinfektion und einer schlechten Prognose einher. Die Regulation der Apoptose der Immunzellpopulation während Sepsis und SIRS spielt eine zentrale Rolle beim Ausgleich des überschießenden Entzündungsprozesses, der dem Organismus ausgeprägten Schaden zufügt. Die Immunparalyse als Kennzeichen der CARS-Reaktion in der Sepsis stellt möglicherweise das pathologische Resultat einer erhöhten Apoptoserate von Effektorzellen des Immunsystems dar. Beleg dafür, dass die Apoptose ein direkter Mediator der Immunparalyse sein könnte und nicht nur einen Marker der Dysfunktion darstellt, lieferten experimentelle Tierstudien, in denen eine Reduktion der Apoptose das Überleben in der Sepsis verbesserte (82).

1.7 Stand der Forschung

Trotz intensiver Forschung gibt es bislang keine befriedigende Therapie der schweren Sepsis und des septischen Schocks. Sanierung des Infektfokus, antibiotische Therapie zur Beseitigung des Infektionserregers, sowie intravenöse Substitution von Flüssigkeit und Katecholaminen zur Kreislaufunterstützung und Vermeidung der Organdysfunktion sind standardisierte Therapieverfahren. Jedoch stellen sie lediglich eine symptomorientierte Behandlungsstrategie dar, eine spezifische Therapie zur Immunmodulation existiert bislang nicht.

1.8 Fragestellung der Arbeit

Diese tierexperimentelle Arbeit untersucht die Auswirkungen einer ernährungsbedingten geringgradigen Adipositas auf die Überlebensrate und den Verlauf einer polymikrobiellen Sepsis.

Desweiteren wird untersucht, ob das körpereigene Hormon Leptin einen Einfluss auf den Verlauf der Immunantwort in der Sepsis hat. Dazu wird das etablierte Tiermodell der zökalen Ligatur und Punction (CLP) zur Induktion einer Sepsis verwendet.

2. Material und Methoden

2.1 Tiere und Tierhaltung

2.1.1 Tierstudienantrag

Alle Experimente wurden nach den Standards des Tierversuchskomitees und gemäß den Richtlinien des *European Communities Directive* 686/609/EEC und nach Genehmigung des Tierversuchsantrags durch die Regierung von Oberbayern durchgeführt.

2.1.2 Tiere und Tierhaltung

Als Versuchstiere wurden sieben Wochen alte männliche C57Bl/6J Wildtypmäuse (Janvier SAS, Le Genest Saint Isle, Frankreich) verwendet. Die Tiere wurden in der zentralen Versuchstierhaltung des Klinikums der Universität München (in der Chirurgischen Klinik der Universität München) mit konstanter Temperatur ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) und Luftfeuchte ($55 \pm 5\%$) bei automatischer Beleuchtung mit einem 12h-Tag-Nacht-Rhythmus in IVC-Long-Käfigen gehalten. Die Besatzdichte der Käfige betrug max. fünf Tiere pro Käfig. Es bestand jederzeit Zugang zu Futter und frischem, angesäuertem und autoklaviertem Wasser ad libitum. Die Einstreu und das Wasser wurden ein Mal pro Woche gewechselt. Entsprechend ausgebildetes Fachpersonal stellte die pflegerische und medizinische Betreuung sicher. Die Tiere wurden in einem optimiertem Hygienebereich unter SBF-Bedingungen gehalten.

2.1.3 Fütterung der Mäuse

Eine Hälfte der Versuchstiere erhielt spezielles hochkalorisches Futter (sogenannte „high fat diet“, E15186-34, Fa. Ssniff, Soest, Deutschland) das speziell für Mäuse hergestellt wird. Hauptbestandteil sind gesättigte Fettsäuren, die zur Verfügung stehende Energie setzt sich aus Fett (50,0%), Kohlenhydraten (28,0%) und Protein (22,0%) zusammen. Die Kontrollgruppe bestand aus gleich alten C57Bl/6J Mäusen, die über die gleiche Zeit ein Standardfutter erhielten. Die Energiezusammensetzung resultiert aus Fett (11,0%, Kohlenhydraten (65,0%) und Protein (23,0%).

Zielgewicht der adipösen Zielgruppe war ein Gewicht von 35-40g, das durch Fütterung mit „high fat diet“ (hfd) erreicht wurde. Im Vergleich dazu erreichten die Mäuse unter Ernährung mit Standard-Futter im gleichen Zeitraum ein Gewicht von ca. 20-25g.

2.2 Versuchsdurchführung

2.2.1 Präoperative Messungen und Vorbereitungen

In der Zeit der Gewichtszunahme wurden die Tiere einmal pro Woche an den Vorgang der Körpergewichtsmessung und die Bestimmung der Körperkerntemperatur gewöhnt. Durch die Gewöhnung erzeugten diese Maßnahmen keinen Stress an den Tieren unter den späteren Versuchsbedingungen.

2.2.2 Bestimmung des Körpergewichts

Das Körpergewicht aller Tiere wurde einmal pro Woche mit einer Waage bestimmt. Dazu wurden die Tiere einzeln aus dem Käfig genommen, in einer Schale auf der Waage gewogen, und danach in den Käfig zurückgesetzt. Dieser Vorgang ist nicht schmerzhaft und dient gleichzeitig dazu, die Tiere an diesen Vorgang zu gewöhnen. Nach Induktion einer Sepsis mittels zökaler Ligatur und Punktion wurde die Messung einmal täglich durchgeführt.

2.2.3 Bestimmung der Körperkerntemperatur

Die Körperkerntemperatur der Mäuse wurde einmal pro Woche bestimmt. Die dünne, flexible Temperatursonde eines Thermometers (Greisinger GTH1170 Thermometer, Fa. Greisinger, Regenstauf, Deutschland) wird rektal 3-4 mm eingeführt und die Temperatur innerhalb von fünf bis zehn Sekunden bestimmt. Nach Induktion einer Sepsis mittels zökaler Ligatur und Punktion wurde die Messung einmal täglich durchgeführt.

2.2.4 Zökale Ligatur und Punktion

Das Modell der zökalen Ligatur und Punktion gilt als der Goldstandard zur Erzeugung einer polymikrobiellen Sepsis. Zur Anästhesie erfolgte eine intraperitoneale Injektion von Pentobarbital (50mg/kg Körpergewicht; *Merial GmbH, Deutschland*) und Buprenorphin (0,3 mg/kg Körpergewicht; *Hexal, Deutschland*). Die Operation wurde unter erhaltener Spontanatmung unter Raumluftbedingungen auf einer elektrischen Heizmatte zur Hypothermieprophylaxe ausgeführt. Nach Rasur des Bauches wurde die Haut desinfiziert und mit einer Lochkomresse abgedeckt. Der Eingriff erfolgte unter sterilen Bedingungen. Über einen Mittellinienhautschnitt von einem Zentimeter Länge wurde mittels stumpfer Präparation das Peritoneum im Bereich der Linea alba dargestellt. Anschließend wurde das Peritoneum eröffnet und das Zökum aufgesucht, freigelegt und mobilisiert. Es erfolgte die Ligatur der hinteren 80% des Zökums unterhalb der Ileozökalklappe mit einer Seiden-Ligatur der Stärke 3.0 (Catgut, Markneukirchen, Deutschland) ohne eine Obstruktion der Kontinuität des Darms herbeizuführen. Das ligierte Zökum wurde mit einer Nadel der Größe 23G einmalig punktiert und eine geringe Menge Darminhalt ausgepresst um die vollständige Punktion und den Austritt infektiösen Darmmaterials in die sonst sterile Bauchhöhle sicherzustellen. Nach Repositionierung des Zökums erfolgte der Verschluss des Peritoneums und der Bauchdecke mittels chirurgischer Naht mit Seidenfaden der Stärke 4.0 (Fa. Catgut, Markneukirchen, Deutschland). Die Dauer des Eingriffs betrug circa zehn Minuten. Postoperativ erhielten die Versuchstiere einen 1 ml-Bolus steriler NaCl-Lösung 0,9% subcutan und wurden für den Zeitraum von zwei Stunden im Käfig auf einer Heizdecke belassen. In der Kontrollgruppe wurde eine sogenannte Schein-Operation durchgeführt. Der Vorgang hierbei war identisch zur CLP-Operation, jedoch erfolgten nach

Mobilisation des Zoekums keine Ligatur und keine Punktion. Postoperativ wurden die Versuchstiere in Einzelkäfigen untergebracht, in denen ihnen das gewohnte Futter („high-fat-diet“ oder Standard-Futter) sowie Wasser ad libitum zur Verfügung standen.

2.2.5 Endpunkt / Euthanasie

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte zu den definierten Zeitpunkten mittels zervikaler Dislokation. Die nachfolgend beschriebenen Methoden der Probengewinnung fanden nach Tötung des Versuchstieres statt.

2.2.6 Blutentnahme (intrakardiale Punktion), Serumgewinnung

Die Vollblutentnahme zur Probengewinnung erfolgte durch percutane intrakardiale Punktion. Anschließend erfolgte die Sammlung in Lithium-Heparin Plasma-Separator-Gefäßen (BD Biosciences, CA, USA). Nach Zentrifugieren (10.000 g für zehn Minuten) wurde das gewonnene Serum bei -20°C gelagert.

2.2.7 Bronchoalveoläre Lavage

Die bronchoalveoläre Lavage erfolgte sechs Stunden und 24 Stunden nach CLP. Hierzu wurde die Trachea im Halsbereich präpariert, eröffnet und mit einem Polyethylenkatheter kanüliert. Über eine aufgesetzte Spritze wurden die Lungen durch den Katheter mit einem Milliliter Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS-Lösung) gespült und die gewonnene Probe als bronchoalveoläre Lavage asserviert. PBS-Lösung ist isotonisch und nicht zellgiftig. Seine Puffereigenschaft ermöglicht das Arbeiten bei konstantem pH. Enthalten sind Natriumchlorid, Dinatriumhydrogenphosphat, Kaliumchlorid und Kaliumdihydrogenphosphat.

2.2.8 Peritoneale Lavage

Die Gewinnung der peritonealen Lavageflüssigkeit erfolgte nach aseptischer Präparation des Peritoneums wie bereits bei der CLP-Methode beschrieben. Anschliessend wurden 9 ml steriler Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert und erneut aspiriert. Diese Flüssigkeit wurde als peritoneale Lavage asserviert. Im Verlauf wurde ein Teil dieser Probe für die Zellzahlbestimmung verwendet, der Rest wurde zentrifugiert. Das so am Boden des Tubes entstehende Zell-Pellet wurde für die FACS-Analyse weiter verarbeitet, der Überstand wurde für die Zytokinbestimmung mittels ELISA-Technik verwendet.

2.2.9 Organentnahmen und Histologie

Nach Entnahme der Organe wurden diese in fünfprozentiger Formalinlösung (Sigma Aldrich, Hamburg, Deutschland) fixiert. Nach Aushärtung in Paraffin erfolgte die Färbung mit Hematoxylin und Eosin zur Lichtmikroskopie. Hierbei war das Präparat nicht nach Herkunft aus der high fat diet - oder Kontrollgruppe gekennzeichnet. Die Untersuchung wurde somit einfachverblindet von Seiten des Untersuchers (Fr. Dr. Huber, Universitätsklinikum Ulm, Deutschland) durchgeführt.

2.3 Messverfahren

2.3.1 Messung von Zytokinen und Leptin

IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF- α , Monozyteninhibierendes Protein-2 (MIP-2) und Leptin in der Peritonealflüssigkeit und im Serum wurden mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), gemäß den Vorgaben des Herstellers (PeproTech, Hamburg, Deutschland), mit einer Sensitivität von jeweils 62, 47, 63, 16, 16, und 20 pg/ml durchgeführt.

2.3.2 Durchflusszytometrie nach Oberflächenfärbung

Die durch Zentrifugieren des Bluts gewonnene Zellsuspension wurde in Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) asserviert. Nach zweifachem Waschen in HBSS wurden die aus bronchoalveolärer Lavage, Blut und Peritoneallavage gewonnenen Zellen gemäß dem üblichen Vorgehen für die Durchflusszytometrie vorbereitet. Die Zellen wurden in Fluorescent-activated cell sorting (FACS)-Puffer (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung mit 1% bovinem Albumin und 0,1% Natriumazid) resuspendiert. Um eine unspezifische Bindung an murine Fc- γ -Rezeptoren zu verhindern, wurden die Zellen mit anti-murinem CD16/CD32 (20 min., 1 mg/ml; BD Pharmingen, Franklin Lakes, NJ, USA) geblockt und 1% Rattenserum (Life Technologies, Paisley, Vereinigtes Königreich) zur FACS-Pufferlösung hinzugegeben. Die Zellen wurden mit Fluorescein-, Phycoerythrin- bzw. Peridinin-Chlorophyll – proteinmarkierten Antikörpern gefärbt. Hierzu wurden folgende Antikörper genutzt: anti-CD4 (Klon: RM4-5), anti-NK1.1 (Klon: PK136), anti- $\gamma\delta$ TCR (Klon: UC7-13D5), anti-TCR β (Klon: H57-597), anti-CD8 (Klon: 53-6.7), anti-CD68 (Klon: Y1/82A), anti-Ly6C (Klon: RB6-8C5), anti-Ly6G (Klon: 1A8), anti-CD45 (Klon: 30F-11), und anti-IL-17A (Klon: TC11-18H10) (alle von BD Biosciences, San Diego, CA, USA). Die Proben wurden anschließend mit FACS-Pufferlösung gewaschen und mittels FACScan Durchflusszytometer und der Software Cell Quest (BD Biosciences) unter Standardeinstellungen analysiert. Je Probe kamen hierbei zwischen 10.000 und 20.000 Zellen zur Analyse der Mittleren Fluoreszenzintensität (Mean fluorescence intensity, MFI), als Marker der Expression von Adhäsionsmolekülen an der Zelloberfläche.

2.3.3 Oxidativer Burst und Neutrophilenaktivierung

Neutrophile Granulozyten sind in der Lage nach Phagozytose von Bakterien reaktive Stoffwechselprodukte wie Superoxid und Wasserstoffperoxid zu bilden. Dieser Vorgang wird Oxidativer Burst oder auch Respiratorischer Burst genannt.

Zur Bestimmung der Neutrophilenaktivierung und der Produktion von Wasserstoffperoxid wurden Proben nach intrakardialer Punktion aus dem Blut und aus der Peritoneallavage gewonnen und asserviert. Die aus dem Blut und der Peritoneallavage gewonnenen Zellen wurden zweimalig mit HBSS gewaschen, für 15 Minuten bei 37°C inkubiert und dann für

15 Minuten durch 10^{-5} M des chemotaktischen Tripeptides Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin aktiviert. Die Aktivierung wurde durch Eiskühlung gestoppt. Fcγ-Rezeptoren wurden durch anti-murine CD16/CD32 (20 min., 1 mg/ml; BD Pharmingen) geblockt und die Zellen mit anti-murinem Gr1 (Klon: RB6-8C5; BioLegend, San Diego, CA, USA) und anti-murinem CD11b (Klon: M1/70; BioLegend) zur Identifikation der Leukozyten inkubiert. Nach Waschung mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung wurden die Zellen mittels Durchflusszytometrie analysiert.

2.3.4 Bestimmung der Leukozytenzahl

Die Leukozytenzahlen im Blut und in der Peritoneallavage wurden mittels eines Sysmex KX-21N Zellzählers (Sysmex, Lincolnshire, IL, USA) bestimmt.

2.4 Statistische Analyse

Für die statistische Analyse diente die Software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Quantitative Ergebnisse wurden als Mittelwert +/- Standardfehler des Mittelwertes angegeben. Überlebensraten wurden graphisch mittels der Kaplan-Meier Methode und statistische Vergleiche bezüglich des Überlebens wurden durch den log-rank Test dargestellt. Mittels Kolmogorov-Smirnov Test wurden die Daten hinsichtlich der Normalverteilung der Werte getestet. Die Art der Hypothesentestung war zweiteilig. Für den einfachen Vergleich zweier Gruppen („high fat diet“ und Kontrollgruppe) an einem Startpunkt wurde, um den Ausgangspunkt zu definieren (Daten „vor CLP“), ein zweiteiliger Student t-Test für unpaarige Proben genutzt. Für den Vergleich der Körpertemperatur zwischen den Gruppen im Vergleich des 10-Tages-Überlebens und 7-Tages-Überlebens wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen, gefolgt von einem post hoc Bonferroni Test genutzt.

3. Ergebnisse

3.1 Vergleich der Überlebensraten nach CLP

Durch die beschriebene Diät mit hochkalorischer Nahrung (Fettgehalt 50%) über einen Zeitraum von 12 Wochen erreichte die high fat diet (hfd)-Gruppe ein Körpergewicht, das das der Kontrollgruppe (Fettgehalt der Nahrung 11%) um 25% überstieg (Abb. 1). So lag das Körpergewicht der hfd-Gruppe bei $34,4 \pm 0,5$ g ($n=55$, $p < 0,0001$), im Vergleich zur Kontrollgruppe mit einem Gewicht von $27,7 \pm 0,2$ g ($n=60$). Dieser Zuwachs an Körpergewicht entspricht etwa einer Grad I Adipositas, während die Tiere der Kontrollgruppe als normalgewichtig zu betrachten sind.

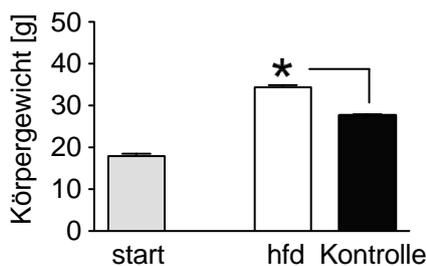


Abb. 1: Verhältnis des Körpergewichts in den Versuchsgruppen vor CLP

Zunächst wurde der Einfluss der hfd auf den Verlauf einer polymikrobiellen Sepsis untersucht. Hierzu wurde das Verfahren der zökalen Ligatur und Punktion an den Tieren der hfd- und der Kontrollgruppe durchgeführt. Es zeigte sich ein deutlicher Überlebensvorteil in der hfd-Gruppe (71,4%; $n=14$; $p < 0,0001$) im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe (10%; $n=10$) (Abb. 2). Die Tiere sowohl der hfd- als auch der Kontrollgruppe, die einer Scheinoperation ohne Eröffnung und Ligatur des Coecums unterzogen wurden (Sham-Operation), zeigten hingegen eine Überlebensrate von 100%. Entsprechend den Überlebensraten war auch die mittlere Überlebenszeit in der hfd-Gruppe ($199,9 \pm 17,6$ h; $n=14$; $p < 0,0003$) im Vergleich zur Überlebenszeit der Kontrollgruppe ($91,3 \pm 17,2$ h; $n=10$) deutlich verlängert (Abb. 3).

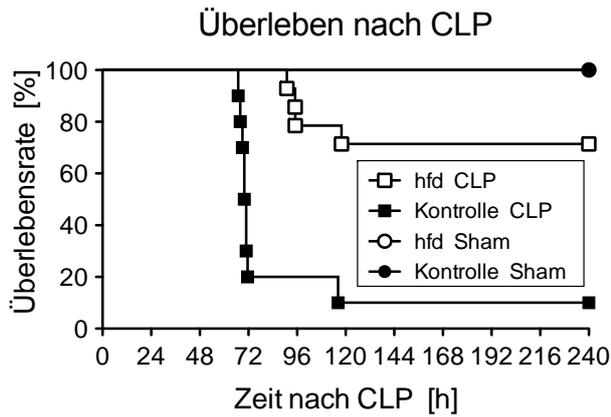


Abb. 2: Überlebensrate der Versuchsgruppen nach CLP im zeitlichen Verlauf

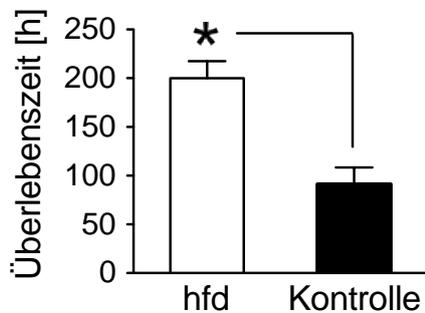


Abb. 3: Überlebenszeit nach CLP

Die Körpertemperatur gilt als unabhängiger Prädiktor der Mortalität in der Sepsis (36). Während die Körpertemperatur bei den Versuchstieren der hfd-Gruppe (n=14) und den Tieren beider Versuchsgruppen, die einer Scheinoperation unterzogen wurden (je Gruppe n=3), über den gesamten Untersuchungszeitraum nach der Coecalen Ligatur und Punktion stabil blieb, kam es in der Kontrollgruppe (n=10) innerhalb der ersten vier postinterventionellen Tage zu einem signifikanten Abfall ($p < 0,05$) (Abb. 4). Eine signifikante Änderung des Körpergewichts war in keiner der Gruppen zu messen (Abb. 5).

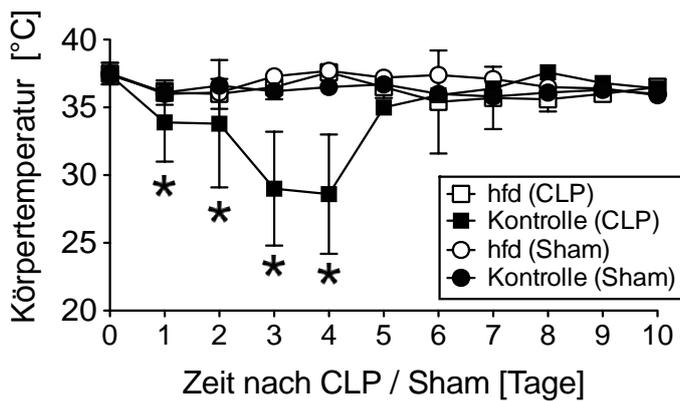


Abb. 4: Änderung der Körpertemperatur nach CLP bzw. Sham-Operation

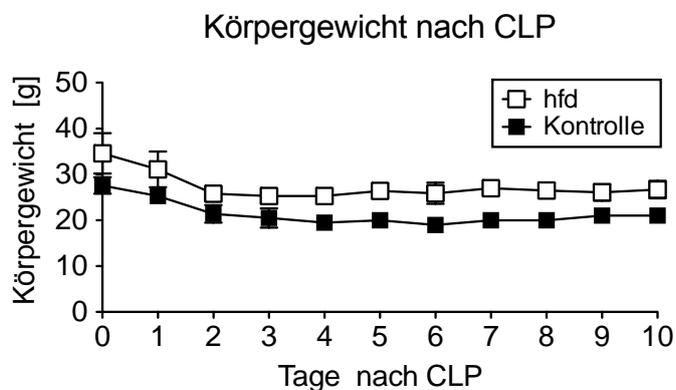


Abb. 5: Verlauf des Körpergewichts nach CLP

3.2 Verlauf der Leptin-Spiegel vor und nach CLP

Vor CLP wiesen die Tiere der hfd-Gruppe im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe signifikant höhere Leptin-Spiegel im Serum auf ($5,7 \pm 1,2$ ng/ml und $2,7 \pm 0,2$ ng/ml; pro Gruppe $n=5$; $p=0,033$) (Abb. 6). In den peritonealen Lavageflüssigkeit konnten präinterventionell in beiden Gruppen vergleichbar geringe Leptin-Spiegel nachgewiesen werden ($0,1 \pm 0,1$ ng/ml und $0,2 \pm 0,1$ ng/ml; $n=5$ pro Gruppe) (Abb. 7). Sechs Stunden nach Induktion der polymikrobiellen Sepsis durch CLP kam es in der hfd-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg des Leptin-Spiegels sowohl im Serum ($16,7 \pm 2,4$ ng/ml; $n=14$; $p=0,019$), als auch in der peritonealen Lavageflüssigkeit ($3,6 \pm 1,3$ ng/ml; $n=14$; $p=0,0007$). Nach 24 Stunden ($n=14$; $p < 0,0007$) und 48 Stunden ($n=10$; $p=0,006$) sanken

die Leptin-Spiegel wieder, jedoch waren sie im Vergleich zu den Werten der Kontrollgruppe weiterhin erhöht. In der Kontrollgruppe hingegen konnte weder sechs Stunden (n=19), 24 Stunden (n=23) noch 48 Stunden (n=11) nach CLP ein Anstieg des Leptinspiegels im Serum oder peritonealer Lavageflüssigkeit nachgewiesen werden.

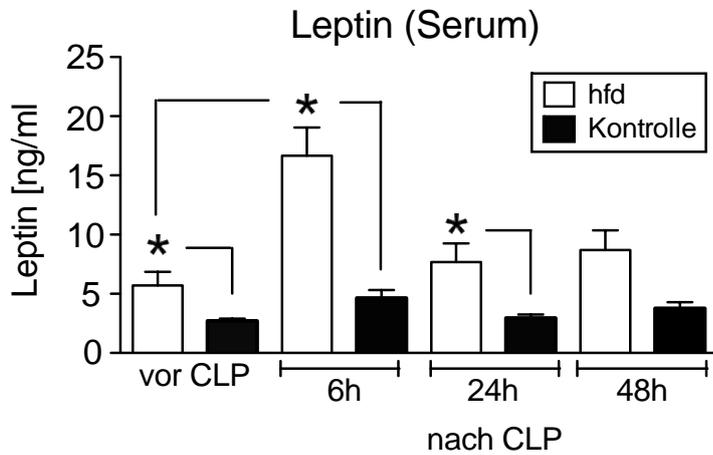


Abb. 6: Verlauf der Leptin-Spiegel im Serum

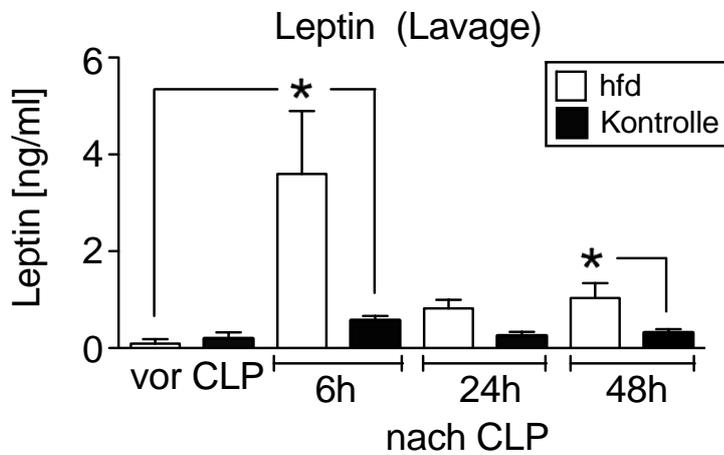


Abb. 7: Verlauf der Leptin-Spiegel in der Peritoneallavage

3.3 Verlauf der proinflammatorischen Immunantwort nach CLP

3.3.1 Interleukin-6

Sechs Stunden nach CLP war in der hfd- (n=14) und der Kontrollgruppe (n=19) ein deutlicher Anstieg des Interleukin-6 – Spiegels, sowohl im Serum ($18,2 \pm 2,6$ ng/ml und $20,8 \pm 2,2$ ng/ml; $p=0,004$), wie auch in der peritonealen Lavageflüssigkeit ($7,1 \pm 1,7$ ng/ml und $6,5 \pm 1,1$ ng/ml; $p=0,008$) festzustellen (Abb. 8 und 9). Sowohl im Serum wie auch in der peritonealen Lavageflüssigkeit sanken die IL-6 – Spiegel innerhalb von 24 Stunden nach CLP (hfd-Gruppe n=14; Kontrollgruppe n=23) bereits wieder. Hierbei fielen die IL-6 – Werte der hfd-Gruppe 24h und 48h nach CLP stärker ab als in der Kontrollgruppe. In der peritonealen Lavageflüssigkeit der Kontrollgruppe kam es nach 48h zu einem zweiten signifikanten Anstieg des IL-6 – Spiegels ($6,8 \pm 1,7$ ng/ml; n=11 und $2,4 \pm 0,7$ ng/ml; n=10; $p=0,044$) und dieser erreichte signifikant höhere Werte als in der hfd-Gruppe zu diesem Zeitpunkt.

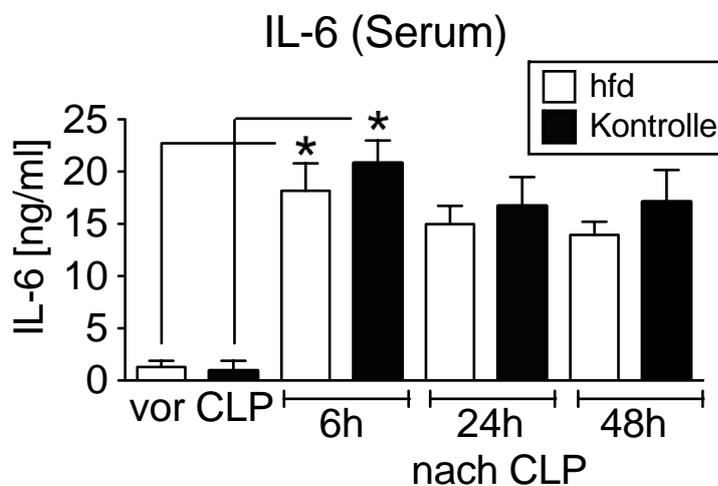


Abb. 8: Verlauf der IL-6 – Spiegel im Serum

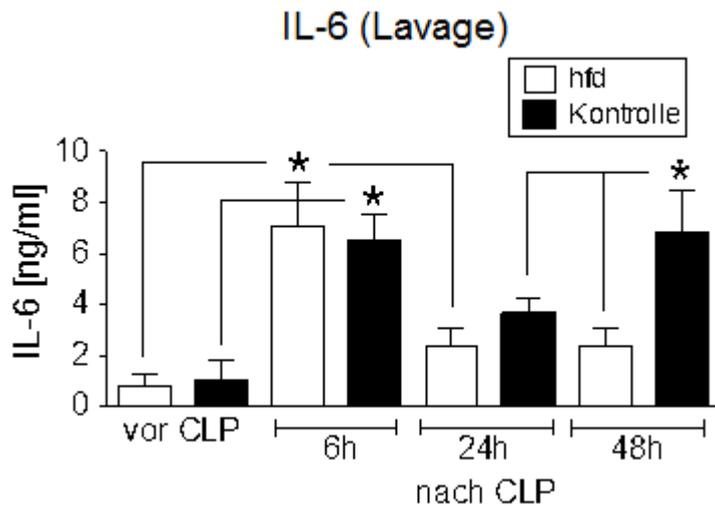


Abb. 9: Verlauf der IL-6 – Spiegel in der Peritoneallavage

3.3.2 Interleukin-1 β

Bereits präinterventionell fanden wir in der hfd-Gruppe signifikant höhere Serumspiegel von Interleukin-1 β ($25,5 \pm 2,1$ ng/ml; n=5; p=0,026) im Vergleich zur Kontrollgruppe ($18,1 \pm 1,8$ ng/ml; n=5) (Abb. 10). Sechs Stunden nach CLP waren die Serumwerte in der hfd-Gruppe weiterhin signifikant erhöht ($26,7 \pm 2,4$ ng/ml; n=14; p=0,011) gegenüber der Kontrollgruppe ($19,9 \pm 1,3$ ng/ml; n=23). Nach 24 Stunden (hfd-Gruppe n=14; Kontrollgruppe n=23) und 48 Stunden (hfd-Gruppe n=10; Kontrollgruppe n=11) bestand kein statistisch signifikanter Unterschied mehr bezüglich der Höhe der Interleukin-1 β – Werte im Serum.

In der peritonealen Lavageflüssigkeit war weder zum Zeitpunkt nach sechs Stunden (hfd-Gruppe n=14; Kontrollgruppe n=19), nach 24 Stunden (hfd-Gruppe n=14; Kontrollgruppe n=23), noch nach 48 Stunden (hfd-Gruppe n=10; Kontrollgruppe n=11) ein statistisch signifikanter Unterschied in der Höhe der IL-1 β – Spiegel festzustellen (Abb. 11).

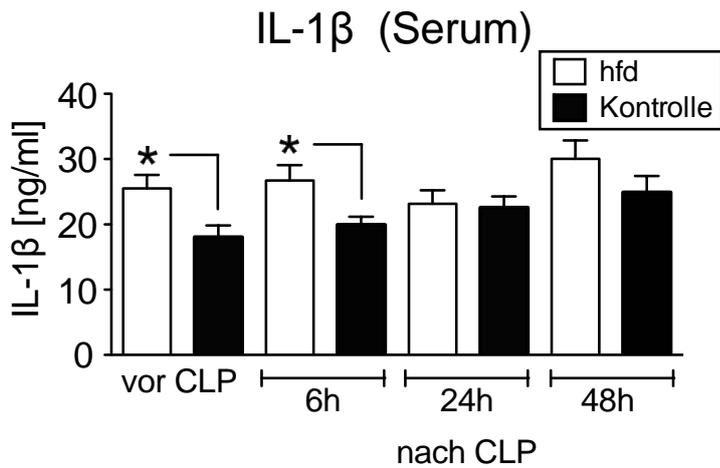


Abb. 10: Verlauf der IL-1β – Spiegel im Serum

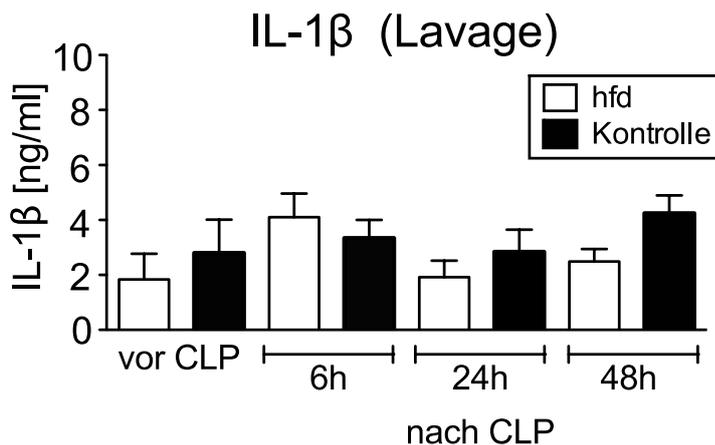


Abb. 11: Verlauf der IL-1β – Spiegel in der Peritoneallavage

3.3.3 Tumornekrosefaktor-α

Die Messung des Tumornekrosefaktors (TNF)-α im Serum ergab für beide Versuchsgruppen einen Anstieg sechs Stunden nach CLP (hfd-Gruppe n=14; Kontrollgruppe n=19) (Abb. 12). In der Kontrollgruppe fiel der Anstieg statistisch signifikant aus ($3,2 \pm 0,6$ ng/ml; $p=0,006$). Die Serumspiegel von TNF-α stiegen nach 24 Stunden in der Kontrollgruppe ($4,2 \pm 1,0$ ng/ml; $n=23$; $p=0,008$) gegenüber der hfd-Gruppe ($1,3 \pm 0,1$ ng/ml; $n=14$) weiter deutlich und statistisch signifikant an. Der Trend setzte sich in der

Kontrollgruppe ($5,7 \pm 0,9$ ng/ml; $n=11$; $p=0,023$) auch nach 48 Stunden gegenüber der hfd-Gruppe ($3,0 \pm 0,7$ ng/ml; $n=10$) fort, in der deutlich niedrigere Werte zu verzeichnen waren. Darüber hinaus zeigten sich zum Zeitpunkt 24 Stunden nach CLP in der peritonealen Lavageflüssigkeit der Kontrollgruppe ($0,9 \pm 0,2$ ng/ml; $n=23$; $p=0,007$) einen signifikanten Anstieg von TNF- α im Vergleich mit der hfd-Gruppe ($0,3 \pm 0,1$ ng/ml; $n=14$) (Abb. 13). In der peritonealen Lavageflüssigkeit der hfd-Gruppe hingegen konnte im Verlauf der untersuchten ersten 48 Stunden nach CLP keine Änderung festgestellt werden (6 Stunden: $n=14$; 24 Stunden: $n=14$; 48 Stunden: $n=10$).

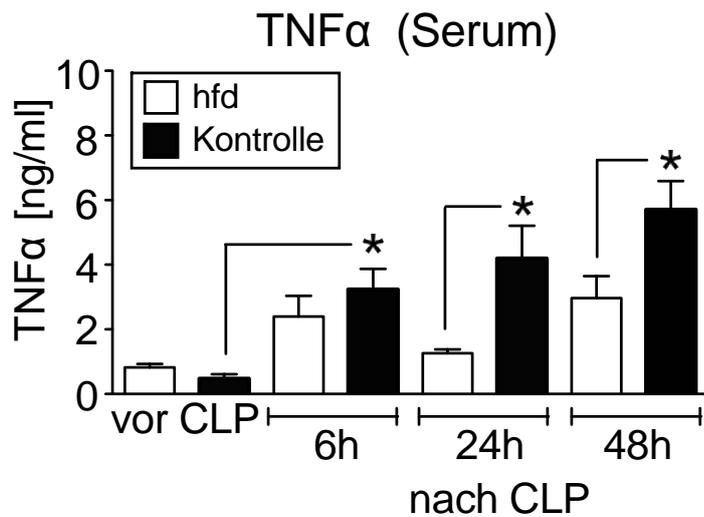


Abb. 12: Verlauf der TNF- α – Spiegel im Serum

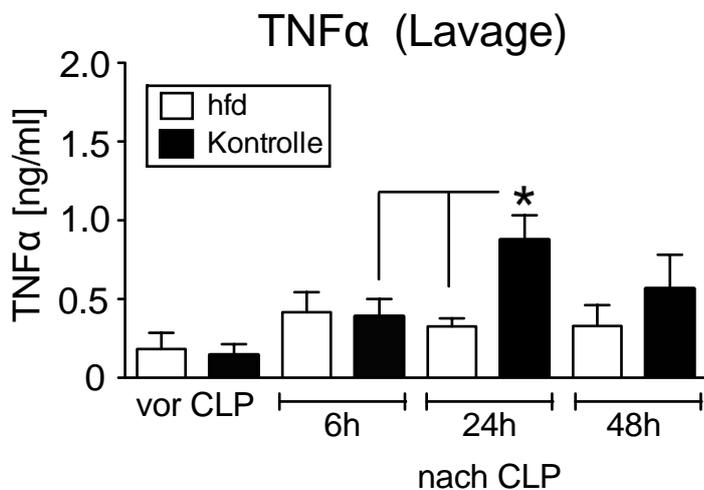


Abb. 13: Verlauf der TNF- α – Spiegel in der Peritoneallavage

3.3.4 Monozyteninhibierendes Protein-2

Die Spiegel des Monozyteninhibierenden Proteins-2 (MIP-2) waren zum Zeitpunkt sechs Stunden nach CLP in der Kontrollgruppe sowohl im Serum (1506 ± 471 pg/ml; $n=19$; $p=0,045$), wie auch in der peritonealen Lavageflüssigkeit (1561 ± 233 pg/ml; $n=19$; $p=0,003$) im Vergleich zu den Werten der hfd-Gruppe im Serum (467 ± 86 pg/ml; $n=14$) und der peritonealen Lavageflüssigkeit (658 ± 125 pg/ml; $n=14$) signifikant erhöht (Abb. 14 und 15). Nach 24 Stunden lagen die Werte von MIP-2 im Serum in der Kontrollgruppe (727 ± 101 pg/ml; $n=23$) weiterhin über den Serumwerten der hfd-Gruppe (158 ± 40 pg/ml; $n=14$). In der peritonealen Lavageflüssigkeit war die Erhöhung der Werte der Kontrollgruppe (1312 ± 170 pg/ml; $n=14$; $p=0,002$) gegenüber denen der hfd-Gruppe (398 ± 206 ng/ml; $n=14$) auch statistisch signifikant ausgeprägt. Zum Zeitpunkt der Messung 48 Stunden nach CLP wies die Kontrollgruppe im Serum (1181 ± 572 pg/ml; $n=11$) weiterhin höhere Werte von MIP-2 auf als die hfd-Gruppe (755 ± 220 pg/ml; $n=10$). In der peritonealen Lavageflüssigkeit sanken die Spiegel des MIP-2 zum Zeitpunkt 48 Stunden nach CLP, waren jedoch in der Kontrollgruppe (419 ± 95 pg/ml; $n=11$) weiterhin gegenüber der hfd-Gruppe (78 ± 12 pg/ml; $n=10$) erhöht.

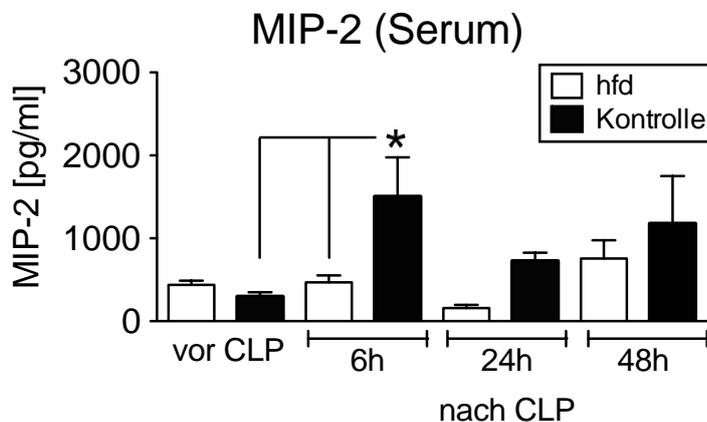


Abb. 14: Verlauf der MIP-2 – Spiegel im Serum

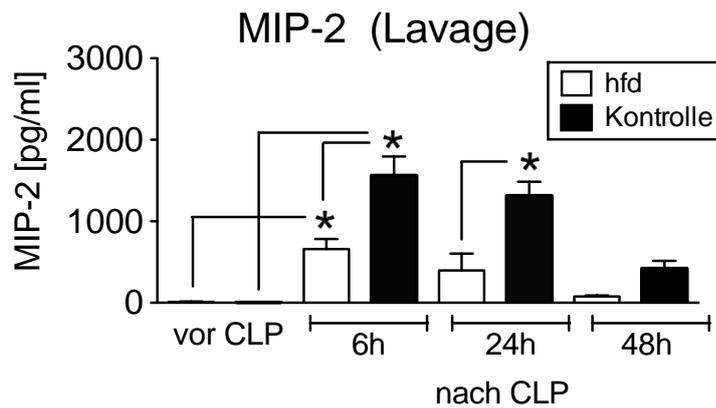


Abb. 15: Verlauf der MIP-2 – Spiegel in der Peritoneallavage

3.4 Leukozytenzahl und Leukozytenaktivierbarkeit

Um zu bestimmen, ob eine dauerhafte hochkalorische Ernährung Einfluss auf das Immunsystem durch Veränderung der Zahl von zirkulierenden oder in einen Infektherd einwandernden Leukozyten hat, wurde die Zahl der Leukozyten im Blut und in der peritonealen Lavageflüssigkeit vor und nach CLP bestimmt. Es wurden außerdem die Neutrophilen-Zellzahlen und der Spontane Oxidative Burst zur Objektivierung der Leukozytenaktivierbarkeit untersucht.

3.4.1 Leukozyten

In der hfd-Gruppe war die Zahl der im Blut zirkulierenden Leukozyten bereits vor Induktion der Sepsis im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht ($6,4 \pm 0,7 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$ und $4,0 \pm 0,5 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$; $p=0,032$) (Abb. 16). Die Zahl der Leukozyten im Blut sank sechs Stunden nach CLP ($5,1 \pm 0,5 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=10$). In der Kontrollgruppe kam es zu keinen signifikanten Veränderungen zu den Zeitpunkten sechs Stunden ($n=15$), 24 Stunden ($n=5$) und 48 Stunden ($n=5$) nach Induktion der Sepsis.

Intraperitoneal, am Entzündungsherd, war sechs Stunden nach CLP in beiden Gruppen ein signifikanter Anstieg der Leukozytenzahl festzustellen (hfd-Gruppe: $n=10$, $p=0,048$; Kontrollgruppe: $n=15$, $p=0,009$), der in der hfd-Gruppe zum Zeitpunkt 24 Stunden nach

Induktion der Sepsis noch deutlicher ausfiel ($2,8 \pm 0,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$; $p=0,003$) und signifikant höher lag ($p=0,034$), als die Leukozytenzahl in der peritonealen Lavageflüssigkeit der Tiere der Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt ($1,5 \pm 0,4 \times 10^6 / \text{ml}$, $n=5$) (Abb. 17). 48 Stunden nach CLP waren die Leukozytenzahlen in der peritonealen Lavageflüssigkeit der hfd-Gruppe ($1,9 \pm 0,03 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=4$) auf das Niveau der Kontrollgruppe gesunken ($1,6 \pm 0,3 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=8$).

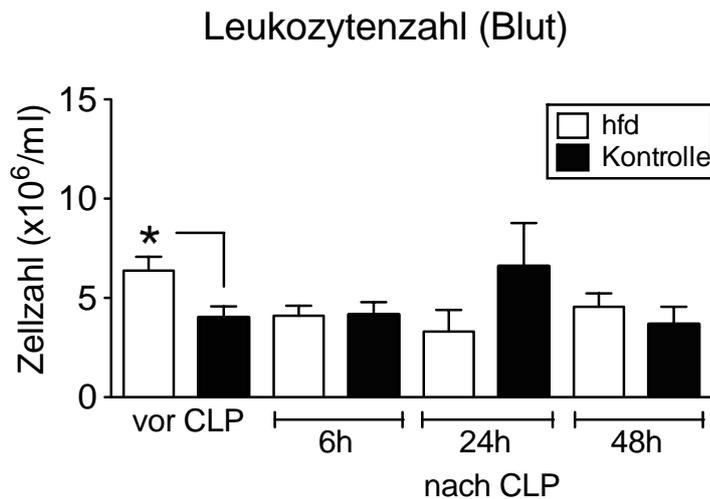


Abb. 16: Verlauf der Leukozytenzahl im Blut

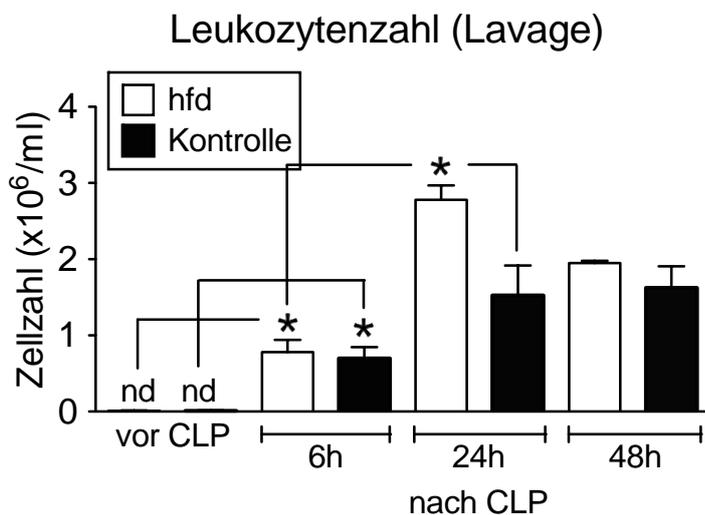


Abb. 17: Verlauf der Leukozytenzahl in der Peritoneallavage

3.4.2 Neutrophile Granulozyten

Neutrophile Granulozyten stellen mit 60-70% die größte Untergruppe der Leukozyten und gehören zur ersten Reihe der Immunabwehr gegen bakterielle Infektionen (37). Es wurde untersucht, ob neutrophile Granulozyten einen Einfluss auf die verbesserte Überlebensrate der hfd-Gruppe haben. Die Zahl der neutrophilen Granulozyten im Serum in der hfd-Gruppe war vor Induktion der Sepsis signifikant höher ($0,20 \pm 0,06 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$; $p=0,011$) als in der Kontrollgruppe ($0,03 \pm 0,01 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$) (Abb. 18). In der peritonealen Lavageflüssigkeit konnten vor CLP in keiner Gruppe neutrophile Granulozyten nachgewiesen werden ($n=5$ je Gruppe) (Abb. 19). Die Neutrophilenzahl im Serum der hfd-Gruppe erreichte nach 24 Stunden signifikant höhere Werte ($2,0 \pm 0,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=14$; $p=0,0003$) als die Kontrollgruppe ($0,8 \pm 0,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=14$). Nach 48 Stunden sank die Neutrophilenzahl im Serum beider Gruppen ab (hfd-Gruppe: $0,3 \pm 0,1 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$ und Kontrollgruppe: $0,2 \pm 0,1 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$), blieb aber erhöht im Vergleich zu prä-CLP. Ebenso wie im Serum fiel auch der Anstieg der Neutrophilenzahl in der peritonealen Lavageflüssigkeit der hfd-Gruppe zum Zeitpunkt nach 24 Stunden signifikant höher aus ($3,4 \pm 0,7 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=14$; $p=0,017$) als in der Kontrollgruppe ($0,9 \pm 0,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=14$; $p=0,001$) (Abb. 20). Analog zum Verlauf der Neutrophilenzahl im Serum fiel auch die Zahl der Neutrophilen in der peritonealen Lavageflüssigkeit der hfd-Gruppe ($0,8 \pm 0,3 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=7$) und der Kontrollgruppe ($0,6 \pm 0,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=9$) nach 48 Stunden ab, war aber noch erhöht im Vergleich zu den Ausgangswerten.

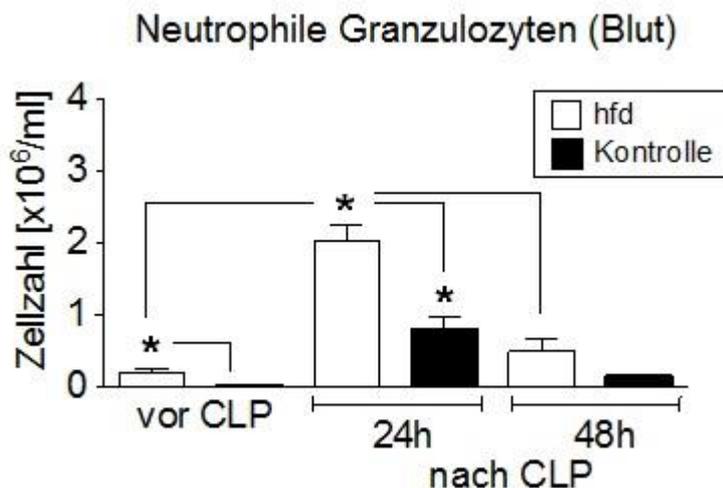


Abb. 18: Verlauf der Neutrophilenzahl im Blut

Neutrophile Granulozyten (Lavage)

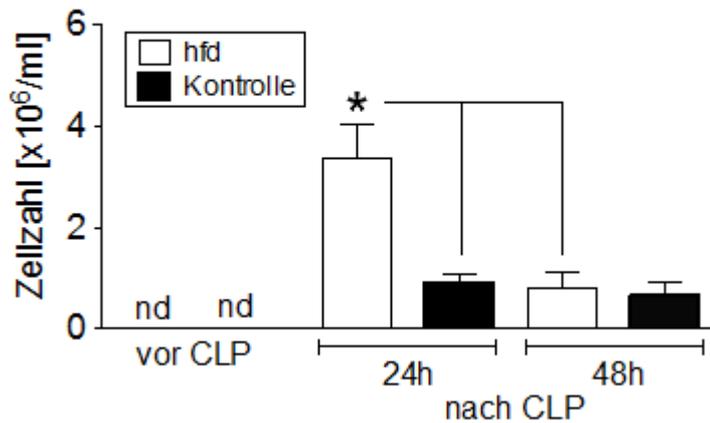


Abb. 19: Verlauf der Neutrophilenzahl in der Peritoneallavage

Wir untersuchten weiterhin die Aktivierung und Funktionalität der neutrophilen Granulozyten. Das Oberflächenprotein CD11b wird von einer Vielzahl von Leukozyten, darunter Monozyten, Neutrophilen, Natürlichen Killerzellen, Granulozyten und Makrophagen exprimiert. CD11b reguliert die Leukozytenadhäsion und -migration im Rahmen der Entzündungsreaktion, sowie Funktionen des Komplementsystems, der Chemotaxis und Phagozytose. Zu den Zeitpunkten 24 Stunden (n=14 je Gruppe) und 48 Stunden (n=5 je Gruppe) nach CLP war ein Anstieg der Expression von CD11b sowohl im Blut, wie auch in der peritonealen Lavageflüssigkeit beider Gruppen zu beobachten. Jedoch bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

3.4.3 Oxidativer Burst

Die Aktivität des Oxidativen Burst von neutrophilen Granulozyten, die aus Serum und peritonealer Lavageflüssigkeit beider Gruppen isoliert wurden, zeigte 24 Stunden nach Induktion der Sepsis einen deutliche Anstieg sowohl in der hfd-Gruppe (295 ± 22 MFI; n=5 vs. 447 ± 23 ; n=14; p=0,002) als auch in der Kontrollgruppe (341 ± 15 MFI vs. 447 ± 16 MFI; n=14; p=0,002) (Abb. 20 und 21). Nach 48 Stunden erhöhte sich die Aktivität des Oxidativen Burst in der hfd-Gruppe (515 ± 94 MFI; n=5) und der Kontrollgruppe (625 ± 79 MFI; n=5) weiter. Jedoch gab es zu keinem Zeitpunkt einen Unterschied in der Aktivität des Oxidativen Burst in den beiden Gruppen. Die neutrophilen Granulozyten aus der

peritonealen Lavageflüssigkeit der hfd-Gruppe zeigten ein leichte Erhöhung der Aktivität des Oxidativen Burst 24 bis 48 Stunden nach CLP (517 ± 15 MFI; $n=14$ vs. 606 ± 73 MFI; $n=5$), während die Erhöhung der Aktivität des Oxidativen Burst bei der Kontrollgruppe signifikant höher war (703 ± 64 MFI; $n=14$ vs. 570 ± 17 MFI; $n=5$; $p=0,026$). Nach Stimulation mittels Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin konnte in keiner der beiden Gruppen eine weitere Zunahme der Aktivität der neutrophilen Granulozyten, weder im Blut, noch in der Lavageflüssigkeit zum Zeitpunkt 24 Stunden ($n=14$ je Gruppe) und 48 Stunden ($n=5$ je Gruppe) nach CLP festgestellt werden.

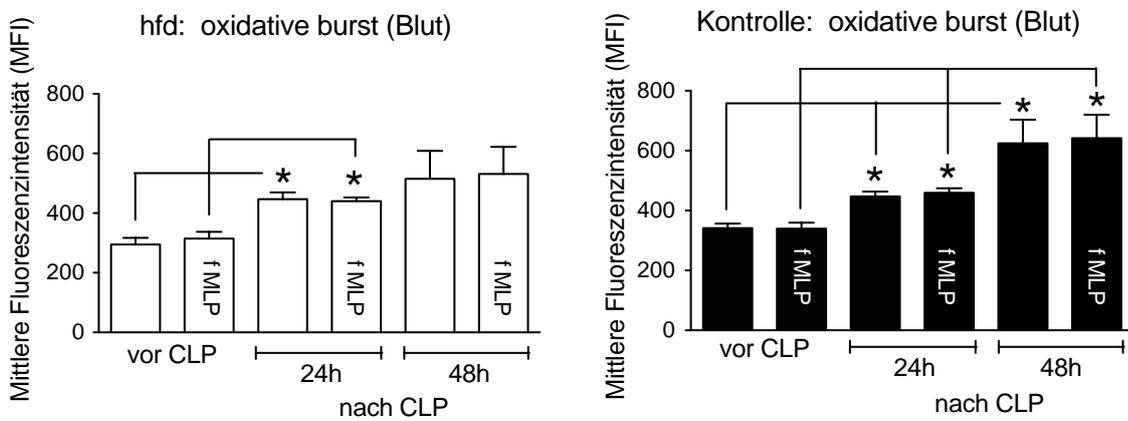


Abb. 20: Verlauf der mittleren Fluoreszenzintensität im Blut

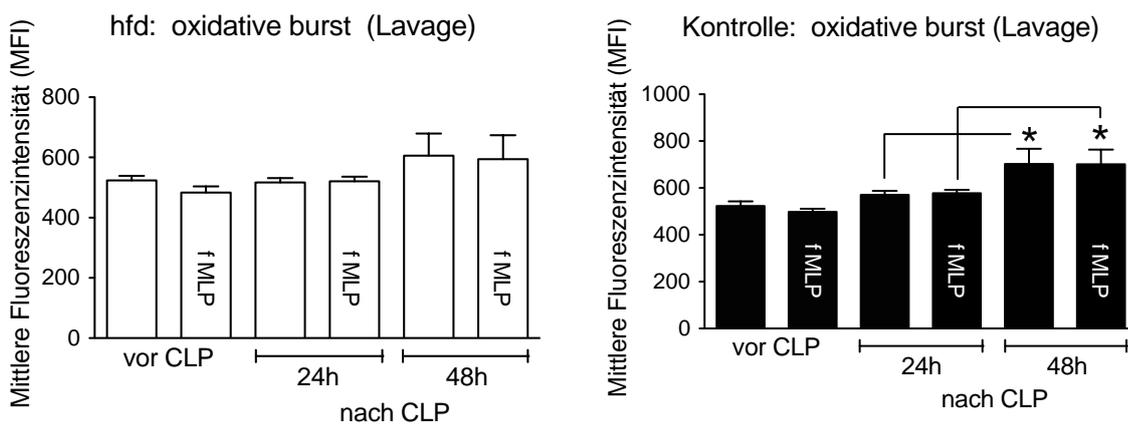


Abb. 21: Verlauf der mittleren Fluoreszenzintensität in der Peritoneallavage

3.5 Hämoglobingehalt und Thrombozytenzahl

Für den Hämoglobingehalt, den Hämatokrit (Abb. 22) und die Thrombozytenzahl zeigte sich in beiden Gruppen zu keinem beobachteten Zeitpunkt nach CLP (sechs Stunden (n=10), 24 Stunden (n=8) und 48 Stunden (n=5)) eine Veränderung.

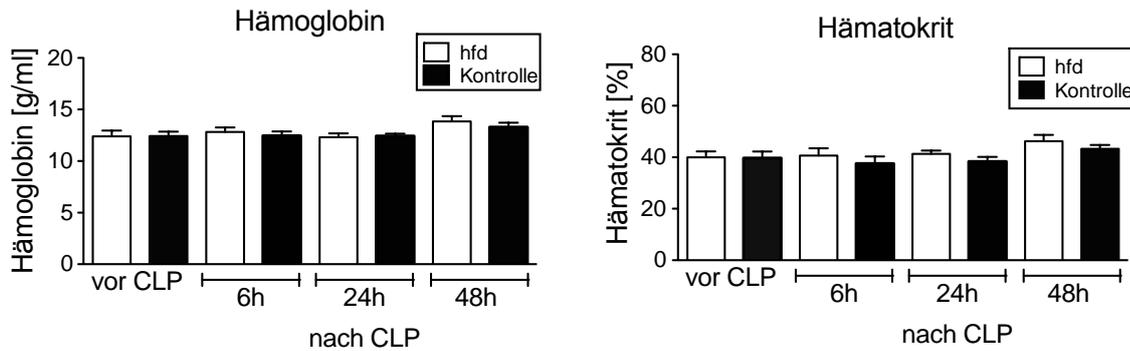


Abb. 22: Verlauf von Hämoglobingehalt und Hämatokrit

3.6 Einfluss der high fat diet auf das zelluläre Immunsystem

Wir untersuchten ferner Unterschiede zwischen den beiden Gruppen in der Ausprägung verschiedener T-Zellsubtypen am Ort des Entzündungsherdens vor und 24 Stunden nach Induktion der Sepsis. Hierbei zeigte sich, dass sich die Zahl der CD4-T-Zellen in der peritonealen Lavageflüssigkeit beider Versuchsgruppen vor CLP (n=5 je Gruppe) und 24 Stunden nach Intervention (hfd-Gruppe: n=9, Kontrollgruppe n=10) nicht unterschied (Abb. 23).

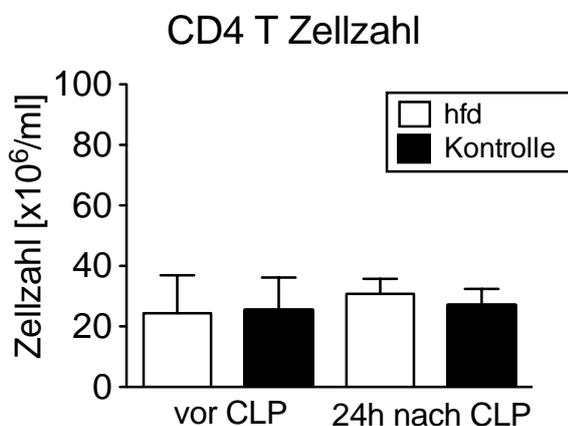


Abb. 23: Verlauf der CD4-T-Zellzahl in der Peritoneallavage

Jedoch ließ sich bereits vor CLP eine signifikant höhere Zahl an $\gamma\delta$ -T-Zellen bei der hfd-Gruppe ($5,6 \pm 1,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$; $p=0,041$) im Vergleich zur Kontrollgruppe $1,7 \pm 0,5 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$) feststellen (Abb. 24). 24 Stunden nach Induktion der Sepsis zeigte sich in der hfd-Gruppe bei der Zahl der $\gamma\delta$ -T-Zellen keine Veränderung ($5,8 \pm 1,5 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=9$), während in der Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt die Zellzahl leicht anstieg ($3,4 \pm 0,5 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=10$).

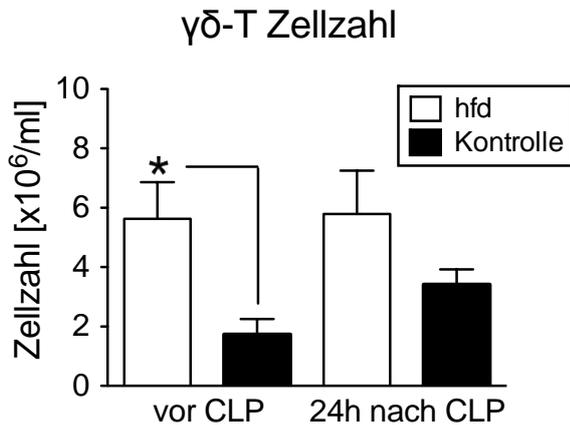


Abb. 24: Verlauf der $\gamma\delta$ -T-Zellzahl in der Peritoneallavage

Bei der Untersuchung der Zahl der Natürlichen Killerzellen (NK) stellten wir in der hfd-Gruppe vor Induktion der Sepsis in der peritonealen Lavageflüssigkeit eine signifikante Erhöhung ($11,4 \pm 3,2 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$; $p=0,023$) im Vergleich zur Kontrollgruppe ($3,0 \pm 0,7 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=5$) fest (Abb. 25). Zum Zeitpunkt der Untersuchung 24 Stunden nach CLP zeigte sich in der hfd-Gruppe eine Verminderung der Zellzahl ($4,9 \pm 0,7 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=9$), wohingegen in der Kontrollgruppe ein signifikanter Anstieg in der Zahl der NK-Zellen in der peritonealen Lavageflüssigkeit festzustellen war ($9,9 \pm 1,6 \times 10^6 / \text{ml}$; $n=10$; $p=0,018$). Somit lag in der Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt eine deutlich höhere Zellzahl vor.

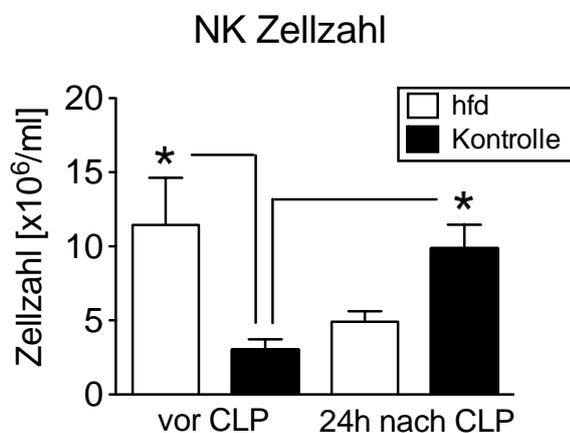


Abb. 25: Verlauf der Natürlichen Killerzellen (NK) Zellzahl in der Peritoneallavage

3.7 Histopathologische Untersuchungen

Leber und Lunge der Tiere der hfd-Gruppe zeigten vor Durchführung der CLP den Beginn einer geringgradigen fettigen Degeneration. Sechs Stunden nach CLP ließ sich bei keiner der beiden Versuchsgruppen in den Lungen der Nachweis eines entzündlichen Prozesses erbringen. 24 Stunden und 48 Stunden nach Induktion der Sepsis zeigte sich allerdings in der Kontrollgruppe sowohl ein alveoläres Ödem, wie auch deutlich mehr Alveolarmakrophagen, als im Vergleich zur hfd-Gruppe. In der Untersuchung der Leber ließen sich jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen feststellen.

4. Diskussion

4.1 Einfluss von Adipositas auf das Überleben in der Sepsis

Bisher war der Zusammenhang zwischen Übergewicht beziehungsweise Adipositas und dem Outcome kritisch kranker Patienten unklar und die aktuelle Studienlage bietet widersprüchliche Ergebnisse. Einerseits wird Adipositas als ein unabhängiger Risikofaktor bezüglich der Mortalität bei Sepsis gewertet (83-85), andere Studien zeigen jedoch eine Reduktion der Sterblichkeit (25,86) oder auch das Fehlen eines Zusammenhangs (87). Adipositas scheint zu einer verminderten zellulären Immunantwort und einer reduzierten Fähigkeit zur intrazellulären Abtötung von Bakterien zu führen (88) und mit einer verminderten Aktivität der NK-Zellen assoziiert zu sein (89). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen demonstrierten jedoch Mica et al. (90), dass bei polytraumatisierten Patienten ein BMI zwischen 25-30 bzw. über 30 mit einer signifikant geringeren Inzidenz an dem Trauma folgenden septischen Erkrankungen assoziiert war, als in der Patientengruppe mit einem BMI unter 25. Die Datenlage lässt darauf schließen, dass die Notwendigkeit besteht, zwischen dem klinischen Grad der Adipositas und der daraus folgenden Auswirkung auf das Immunsystem zu differenzieren. Eine erstgradige Adipositas ohne die klassischen, bei höhergradiger Adipositas vorliegenden Begleiterkrankungen, scheint einen protektiven Einfluss auf die Immunantwort in einer Sepsis zu besitzen, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen. Dies könnte durch die bestehende adipositasbedingte Hyperleptinämie und deren Einfluss auf das zelluläre Immunsystem verursacht werden. Bei Vorliegen einer höhergradigen Adipositas ist die Immunfunktion jedoch durch eine reduzierte Immunzellfunktion beeinträchtigt (91) und bestehende Komorbiditäten führen zu einer erhöhten Rate an Endorganschäden und zu erhöhter Mortalität. In diesem murinen Versuchsmodell wurde durch Fütterung einer hochkalorischen Diät über 12 Wochen ein Übergewicht erzeugt, das mit einer Adipositas Grad I beim Menschen vergleichbar ist. In den histologischen Präparaten der hfd-Gruppe fanden sich nach CLP-induzierter Sepsis, abgesehen von einer beginnenden fettigen Degeneration der Leber und der Lunge, keine Hinweise auf das Vorliegen höhergradiger Organeinschränkungen. Somit konnte gezeigt werden, dass eine geringgradige Adipositas einen Überlebensvorteil in der Sepsis bietet.

Ein zu den Ergebnissen dieser Arbeit konträres Ergebnis zeigten Kaplan et al., die demonstrierten, dass eine kurzzeitige hochkalorische Diät über einen Zeitraum von nur drei Wochen, gefolgt von einer CLP-induzierten Sepsis mit einer geringeren Überlebensrate im Vergleich zur Kontrollgruppe einhergeht (92). In der genannten Studie erreichten die Versuchstiere der hfd-Gruppe jedoch während der kurz andauernden hochkalorischen Fütterung nur ein geringfügig höheres Gewicht als die Tiere der Kontrollgruppe. Einer Gewichtserhöhung von weniger als 10% gegenüber der Kontrollgruppe steht in der vorliegenden Studie ein um etwa 25% höheres Gewicht der Studiengruppe gegenüber. Kim et al. zeigten, dass eine hochkalorische Ernährung im Mausmodell zu einer Änderung der darmeigenen mikrobiellen Flora führt und durch die Erhöhung von Endotoxinspiegeln im Darmlumen die Entzündungsreaktion verstärken kann (93). Eine erhöhte Sterblichkeitsrate in der hfd-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe wäre als Konsequenz zu erwarten. Es zeigte sich jedoch hinsichtlich der Mortalität das Gegenteil. Eine unterschiedliche Bakterienlast in den beiden Versuchsgruppen konnte zum Zeitpunkt 24 Stunden nach CLP nicht festgestellt werden. Auch in der oben bereits erwähnten Studie von Kaplan et al. konnte nach high fat diet über einen kürzeren Zeitraum keine unterschiedliche Bakterienlast zwischen den Tieren der Kontrollgruppe und der Studiengruppe festgestellt werden (92).

Als mögliches weiteres Kriterium für das bessere Überleben in der hfd-Gruppe kommt die Größe des Zökums in Betracht. Im Vergleich zum Operationssitus der Tiere der Kontrollgruppe erschien das Zökum der Tiere der hfd-Gruppe bei der Präparation im Rahmen der Zökalen Ligatur und Punktion durchgehend kleiner. Die entstehende Nekrosefläche nach Ligatur und Punktion war somit geringer und hätte möglicherweise zu einer weniger ernsthaften Entzündungsreaktion führen können. Makroskopisch jedoch stellte sich das Zökum beider Gruppen hinsichtlich Gewebsschwellung, Nekrose, Abszessformation und Beteiligung des Peritoneums ähnlich dar. Auch in Zusammenschau mit den gemessenen Interleukin-6 – Serumspiegeln als Marker der durch die CLP induzierten proinflammatorischen Reaktion und einer gleich hohen bakteriellen Belastung im Peritoneum gehen wir davon aus, dass die Schwere der induzierten Entzündungsreaktion in beiden Gruppen vergleichbar ist.

4.2 Verlauf der Leptin-Spiegel vor und nach CLP

Leptin wird überwiegend von Adipozyten segregiert und spielt eine Rolle bei der Regulation der Immunantwort (94). Diese Arbeit konnte zeigen, dass bei einer geringgradigen Adipositas bereits erhöhte systemische Leptinspiegel bestehen. Nach Induktion der Sepsis kam es zu weiteren signifikanten Erhöhungen der Leptinspiegel, die vermutlich für das verbesserte Outcome in der Sepsis verantwortlich sind.

Als Reaktion auf eine intraperitoneale Lipopolysaccharid-Injektion wurden im Mausversuch ebenfalls erhöhte Leptinspiegel festgestellt (96). Erwachsene Patienten, die an einer Sepsis leiden, zeigten in Untersuchungen höhere Leptinspiegel als gesunde Kontrollpersonen (96). In ihrem CLP-Modell an Mäusen, die einer kurzfristigen high fat diet unterzogen wurden stellten Kaplan et al. sowohl in der Kontroll-, wie auch in der hfd-Gruppe eine Erhöhung der Leptin-Plasmaspiegel nach Sepsisinduktion fest (92).

Das Unvermögen der normalgewichtigen Tiere der Kontrollgruppe, nach Induktion der Sepsis den körpereigenen Leptinspiegel zu erhöhen, ging in unserer Studie mit einer schwerwiegenden Hypothermie einher. Fieber ist eines der Hauptsymptome einer Sepsis und verbessert die Funktion einer großen Zahl an Immunzellen. Die fehlende Möglichkeit die Körpertemperatur zu erhöhen ist, wie auch eine Hypothermie, mit einem schlechteren Überleben in der Sepsis behaftet (97,98). Sowohl Interleukin-6 wie auch TNF- α führen bei einer Sepsis zu einer Erhöhung der Körpertemperatur. Eine Hypothermie geht jedoch nicht mit erniedrigten Spiegeln dieser Zytokine einher (98). Da sich in der vorliegenden Studie die Spiegel von Interleukin-6 und TNF- α im Serum und der peritonealen Lavageflüssigkeit zum frühen Untersuchungszeitpunkt nach sechs Stunden zwischen den beiden Versuchsgruppen nicht unterschieden, lässt folgern, dass die Interleukine IL-6 und TNF- α nicht der Hauptmediator für die Entstehung einer Hypothermie sind. Es ist jedoch bekannt, dass Leptin via IL-1 die Körpertemperatur reguliert (99). Am Beispiel von Leptin-defizienten ob/ob-Mäusen konnte demonstriert werden, dass ein Fehlen von Leptin zu einer Hypothermie führt (42) und Leptinmangelzustände mit einem erhöhten Infektionsrisiko vergesellschaftet sind (100). Die Substitution von Leptin führt bei Leptin-defizienten ob/ob-Mäusen zu einer Erhöhung der Körpertemperatur (101). Somit ist das Unvermögen, den Leptinspiegel im Körper im Falle einer akuten Inflammation zu erhöhen und damit die Körpertemperatur zu steigern eine mögliche Erklärung für das Vorliegen der Hypothermie in der Kontrollgruppe während der Sepsis. In einer weiteren Studie konnten Siegl et al. zeigen, dass die Substitution von Leptin in der Kontrollgruppe nach Sepsisinduktion die vormals festgestellte Hypothermie signifikant abmildert (102).

4.3 Einfluß der Adipositas auf die proinflammatorischen Immunantwort nach CLP

Sepsis führt zu einer proinflammatorischen Immunantwort. Diese kann aber, je nach Schweregrad, zu einem unkontrollierten und überschießenden Zytokinsturm führen und in der Folge für Organschäden und Mortalität verantwortlich sein (103). Interleukin-1 β und TNF- α sind dabei wichtige Mediatoren (104). Hohe TNF- α – Spiegel sind mit höheren Raten an Organdysfunktion, Zellnekrosen und erhöhter Letalität vergesellschaftet (105). In der hier vorliegenden Studie entwickelte die Kontrollgruppe eine ausgeprägtere proinflammatorische Immunreaktion. Vergleichbare Ergebnisse zeigt die bereits zitierte Studie von Kaplan et al. (92). Desweiteren kam es in der hier untersuchten Kontrollgruppe nach 48 Stunden zu einem erneuten Anstieg der Inflammation.

Verminderte Serumspiegel von TNF- α im Vergleich zur normalgewichtigen Kontrollgruppe wurden von Amar et al. bei Mäusen mit ernährungsbedingter Adipositas sowohl bei chronischer bakterieller Infektion, wie auch nach intravenöser Injektion des Bakteriums *Porphyromonas gingivalis* nachgewiesen. Außerdem führte die ex vivo-Stimulation von peritonealen Makrophagen mit *Porphyromonas gingivalis* zu einer erhöhten Expression des NF- κ B – Gens der Makrophagen, jedoch aber zu erniedrigten Spiegeln von TNF- α und IL-6 in der Makrophagenkultur der adipösen Studiengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (106).

In den Versuchen dieser Arbeit, wie auch in den genannten Studien, führte die Adipositas der Studiengruppe zu einer geringer ausgeprägten und zeitlich begrenzten proinflammatorischen Immunreaktion nach Induktion der Sepsis. Den hier beobachteten frühen, aber zeitlich limitierten Anstieg der proinflammatorischen Zytokine in der hfd-Gruppe lässt sich auf die Adipositas-assoziierte Hyperleptinämie in dieser Gruppe zurückführen.

Takahashi et al. wiesen nach, dass Leptin einen protektiven Effekt, beispielsweise im Rahmen einer systemischen proinflammatorischen Reaktion, gegenüber der Wirkung von TNF- α aufweist (107). Dies bestätigt die Beobachtung einer verminderten TNF- α – Ausschüttung unter high fat diet in dieser Studie.

Takahashi et al. beschrieben außerdem eine mögliche Hemmwirkung von durch TNF- α aktiviertem Leptin auf die proinflammatorische Entzündungskaskade, wodurch deren potenziell schädliche Einwirkung auf den Organismus begrenzt wird (107).

Amar et al. schlussfolgerten, dass Diät-induzierte Adipositas zu einer Dysregulation der auf die proinflammatorische Immunantwort folgende antiinflammatorischen Reaktion führt,

und es auf diese Weise zu einer Veränderung des gesamten pro- und antiinflammatorischen Netzwerkes kommt (106). Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen wie die zitierten Studien von Takahashi et al. und Amar et al. für eine Abschwächung der proinflammatorischen Reaktion durch eine Adipositas-induzierte Hyperleptinämie, wodurch eine Überreaktion im Sinne eines Zytokinsturms verhindert wird. Die gesamte Immunantwort scheint hierbei zu Gunsten der antiinflammatorischen Reaktion verändert. Es ergibt sich daher die Folgerung, dass Leptin bei der Regulation der Dauer und der Stärke einer Immunreaktion eine Schlüsselrolle zukommt.

4.4 Leukozytenzahl und Leukozytenaktivierbarkeit

Beim Menschen besteht eine positive Korrelation zwischen dem Körperfettanteil und der Leukozytenzahl und Studien wiesen eine Mediation der Leukozytenzahl durch das von Adipozyten freigesetzte Leptin nach (96). Neben einer Adipositas-induzierten Erhöhung der Leukozyten- und Lymphozytenzahl zeigte sich auch die Phagozytoserate durch Monozyten und Granulozyten und ebenso der Oxidative Burst erhöht (108).

In dieser Studie fanden wir Adipositas-assoziiert erhöhte Leukozytenzahlen bereits vor Induktion einer Sepsis. Somit scheint bei diesem Grad der Adipositas eine Art Voraktivierung des Immunsystems vorzuliegen ohne den Nachweis einer chronischen Inflammation.

Leptin-Defizienz geht mit einer verringerten Lymphozytenzahl einher (109). Bei Leptin-Rezeptor – defizienten (ob/ob) Mäusen ist die Zahl der Natürlichen Killerzellen reduziert, was Anhalt dafür liefert, dass Leptin direkten Einfluss auf die Entwicklung und Aktivierung von NK-Zellen hat (110).

Neutrophile Granulozyten sind entscheidend für die Immunantwort bei einer bakteriellen Infektion, da die Ausbreitung der Erreger in den Kreislauf durch diese Zellen unterbunden wird. Jedoch kann die Aktivität der neutrophilen Granulozyten mittels der durch sie freigesetzten Mediatoren und die folgenden pathophysiologischen Veränderungen zu Gewebeschädigung und bis zum Multiorganversagen führen (111). Ein Mangel an diesen Abwehrzellen geht mit einem schwereren Verlauf bakterieller Infektionen einher (112).

Craciun et al. konnten demonstrieren, dass die frühzeitige Erhöhung der Neutrophilenzahl am Ort der Infektion bei einer Sepsis hingegen zu einer verbesserten Überlebensrate führt (113).

Bereits vor Induktion der Sepsis wurde eine signifikant höhere Leukozytenzahl im Serum der hfd-Gruppe nachgewiesen, ebenso war die Zahl der neutrophilen Granulozyten vor Zökaler Ligatur und Punktion gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Während sich die Leukozytenzahl im Serum im weiteren Verlauf zwischen der Studiengruppe und der Kontrollgruppe nicht signifikant unterschied, zeigte sich im Serum der hfd-Gruppe nach 24 Stunden eine signifikant höhere Neutrophilenzahl als in der Kontrollgruppe. Auch in der peritonealen Lavageflüssigkeit zeigten sich 24 Stunden nach Sepsisinduktion signifikant höhere Leukozyten- und Neutrophilen-Zellzahlen als in der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse dieser Arbeit stehen in Einklang mit den angeführten Studien, die einen Zusammenhang zwischen Adipositas, relativer Hyperleptinämie und erhöhter Leukozytenzahl herstellten. Eine höhere Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α kann sich hemmend auf die Migration der neutrophilen Granulozyten an den Ort der Infektion auswirken (114,115). Dies bestätigt die Ergebnisse dieser Arbeit die Kontrollgruppe betreffend: Erhöhte Spiegel von TNF- α in Serum und Lavageflüssigkeit gehen in der Kontrollgruppe bei der bestehenden relativen Hypoleptinämie im Vergleich zur hfd-Gruppe mit erniedrigten Leukozyten- und Neutrophilen-Zellzahlen einher. In der hfd-Gruppe jedoch ermöglichen erhöhte Leptinspiegel, die als Lockstoff für neutrophile Granulozyten wirken, bereits zu einem frühen Zeitpunkt und mit höherer Effektivität neutrophile Granulozyten in das Peritoneum und somit an den Ort der Entzündung zu rekrutieren. Zusätzlich ist der hemmende Einfluss hoher TNF- α – Spiegel auf diesen Vorgang weniger stark ausgeprägt. Die adipositasbedingte Hyperleptinämie führte zu einer erhöhten Zahl an neutrophilen Granulozyten, Natürlichen Killerzellen und $\gamma\delta$ -T-Zellen.

Eine durch Adipositas verursachte Hyperleptinämie scheint somit die zelluläre Immunantwort auf eine bakterielle Infektion zu verbessern. Durch eine erhöhte Zahl an Leukozyten kommt es zu einer Art Voraktivierung des zellulären Immunsystems. Dieses scheint im Falle einer Aktivierung dann auch schneller und effektiver die Infektion zu bekämpfen. Die so verbesserte Immunantwort und die geringeren Spiegel proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α lassen eine raschere und bessere lokale Eindämmung der Erreger vermuten. Hierfür spricht die zeitlich begrenzte proinflammatorische Reaktion, die in der hfd-Gruppe zu beobachten war. Eine unkontrollierte und überschießende, generalisierte Immunantwort, in deren Folge es vermehrt zum Multiorganversagen kommt, bleibt dadurch aus.

4.5 Einfluss der high fat diet auf das zelluläre Immunsystem

Niedrige Leptin-Spiegel gehen mit einer verminderten Lymphozytenproliferation und geringer T-Helferzell-Zytokin-Produktion einher (116).

Eine beeinträchtigte Funktion des zellulären Immunsystems und erniedrigte Leptinspiegel treten bei Menschen mit niedrigem Körpergewicht auf. Unterernährung prädisponiert sogar für tödlich verlaufende Infektionskrankheiten (31,92). Leptin beeinflusst die T-Zellantwort und reguliert die Proliferation von naiven T-Zellen und T-Gedächtniszellen. Desweiteren erhöht Leptin die Produktion der Th1-Zell-Zytokine und vermindert die Produktion der von Th2-Zellen absorbierten Zytokinantwort. Die Substitution von Leptin reversierte im Mausversuch die immunsuppressiven Auswirkungen akuten Fastens. Lord et al. schlussfolgerten, dass Leptin als Bindeglied zwischen dem Ernährungsstatus eines Individuums und der zellulären Immunfunktion fungiert (31).

Weitere Studien liefern Anhalt dafür, dass Leptin sowohl die T-Zellantwort hin zu einer proinflammatorischen Th1-Zell – Reaktion verschiebt, als auch an sich nötig ist, um eine T-Zell-vermittelte Immunreaktion zu stimulieren (117). Auch wird für Fettgewebe, das Strukturen des Immunsystems wie Thymus, Knochenmark oder Lymphknoten umgibt, nicht mehr nur eine Schutz- oder Energiespeicherfunktion angenommen. Leptin als Produkt dieses Fettgewebes ist nötig für die Aktivität der T-Zellen und versetzt das Immunsystem in die Lage, einen optimalen proinflammatorischen Bereitschaftszustand aufrecht zu erhalten (31). Caspar-Bauguil et al. wiesen Natürliche Killerzellen und $\gamma\delta$ -T-Zellen in Fettgewebe nach und konnten zeigen, dass ihre Zahl direkt auf der Höhe des Leptinspiegels beruht (118,119). Auch geht Adipositas mit einer erhöhten Zahl an Leukozyten- und Lymphozytensubpopulationen einher. Adipositas wird von einer erhöhten Monozyten- und Granulozyten-Phagozytose, wie auch von einer erhöhten Oxydativen-Burst – Aktivität begleitet (108).

Immunzellen, die bei einer bakteriellen Infektion als erste den Erreger bekämpfen, sind neutrophile Granulozyten, Natürliche Killerzellen und $\gamma\delta$ -T-Zellen. $\gamma\delta$ -T-Zellen können bei einer Sepsis den Organschaden reduzieren und die Mortalität senken (73).

Neben den im Verhältnis zur Kontrollgruppe signifikant höheren Zahlen von neutrophilen Granulozyten in Serum und peritonealer Lavageflüssigkeit 24 Stunden nach Induktion der Sepsis ließen sich in der hfd-Gruppe bereits vor Induktion der Sepsis signifikant höhere Zahlen an $\gamma\delta$ -T-Zellen und Natürlichen Killerzellen im Vergleich zur Kontrollgruppe nachweisen. Dies ist ein weiterer Hinweis, dass eine Adipositas-induzierte

Hyperleptinämie zu einer erhöhten Bereitschaft des zellulären Immunsystems führt. Im Falle einer Aktivierung ist dadurch eine schnellere und effektivere Immunantwort auf die bakterielle Infektion ermöglicht und eine effektive Beseitigung der Erreger und ihrer Toxine gelingt, bevor es zu einer überschießenden Immunreaktion mit Zytokinsturm und nachfolgendem Organschaden und erhöhter Mortalität kommt.

5. Zusammenfassung

Durch die Fütterung einer hochkalorischen Diät über einen Zeitraum von 12 Wochen entwickelten unsere Versuchstiere eine erstgradige Adipositas, die mit einer relativen Hyperleptinämie einherging.

Adipositas war initial nicht nur mit höheren systemischen Leptinspiegeln verbunden, sondern auch mit einer Erhöhung der peritonealen Zahl an Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und $\gamma\delta$ -T-Zellen, während die Spiegel der proinflammatorischen Zytokine nicht verändert waren. Somit scheint bei diesem Grad der Adipositas eine Art Voraktivierung des Immunsystems vorzuliegen ohne den Nachweis einer chronischen Inflammation. In der Sepsis zeigte sich in der high fat diet-Gruppe (hfd-Gruppe) eine signifikant höhere Überlebensrate nach Zökaler Ligatur und Punktion (CLP). Schein-operierte (Sham)-Tiere beider Gruppen zeigten eine Überlebensrate nach CLP von 100%. Während die Tiere der hfd-Gruppe nach CLP bei einer zusätzlichen Sepsis-induzierten Hyperleptinämie normotherm blieben, traten in der Kontrollgruppe eine ausgeprägte Hypothermie und stagnierende Leptinspiegel auf. Das verbesserte Outcome der hfd-Gruppe war verbunden mit einer verminderten und zeitlich begrenzten proinflammatorischen Zytokinantwort bei gleichzeitig verbesserter zellulärer Immunantwort, insbesondere bezüglich der Anzahl der neutrophilen Granulozyten.

Somit konnte demonstriert werden, dass eine Adipositas ersten Grades bzw. eine Adipositas-bedingte Hyperleptinämie sich während einer Sepsis protektiv auswirkt.

Weiterführende Studien an diesem murinen Sepsismodell konnten zeigen, dass dieser positive Verlauf auch durch eine gezielte Leptinsubstitution bei normgewichtigen Tieren mit niedrigeren Leptinspiegeln im Vergleich zu den Versuchstieren in der hfd-Gruppe in der Sepsis erreicht werden kann (102).

Klinische Studien zeigten bei erwachsenen Patienten die an einer Sepsis leiden erhöhte Leptinspiegel im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (96). Eine Behandlung mit Leptin in der Sepsis könnte somit einen vielversprechenden neuen Ansatz für eine personalisierte Sepsis-Therapie für Patienten eröffnen, die an einer relativen Hypoleptinämie leiden und vergleichsweise niedrige Leptinspiegel aufweisen.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA: Sepsis Syndrome: a valid clinical entity. *Crit Care Med* 1989; 17:389-93
- (2) Bates DW, Cook EF, Goldman L, Lee TH: Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospectively validated model. *Ann Intern Med* 1990; 113:495–500
- (3) Bates DW, Sand K, Miller E et al: Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Infect Dis* 1997; 176:1538–1551
- (4) Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M: The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348:1546–1554
- (5) Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H et al: Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* 2002; 28:108–121
- (6) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101:1644– 1655
- (7) Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, Rubenfeld G, Kahn JM, Shankar-Hari M, Singer M, Deutschman CS, Escobar GJ, Angus DC: Assessment of Clinical Criteria for Sepsis For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8):762–774
- (8) Hagel S, Brunkhorst FM: Sepsis. *Intensivmed* 2011, 48:57–73.
- (9) Balk RA: Severe sepsis and septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16:179-192
- (10) Bone RC: The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115:457-469
- (11) Balk RA, Bone RC: The septic syndrome: definition and clinical implications. *Crit Care Clin* 1989; 5:1-8
- (12) Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al: Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29:1303-1310
- (13) Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG et al (2007) Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 33:606–618
- (14) Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al: The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348:1546–1554
- (15) Dombrovsky VY, Martin AA, Sunderram J, et al: Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 2007; 35:1244–1250

- (16) Russell JA: Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006; 355:699–713
- (17) Wheeler AP: Recent developments in the diagnosis and management of severe sepsis. *Chest* 2007; 132:1967–1976.
- (18) Brunkhorst FM: Epidemiology, economy and practice – results of the German study on prevalence by the competence network sepsis (SepNet). *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed* 2006; 41:43–44
- (19) Moerer O, Burchardi H: Kosten der Sepsis. *Anaesthesist* 2006; 55:36–42
- (20) Kurth B.-M.: Erste Ergebnisse aus der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS). *Bundesgesundheitsbl* 2012; 55:980-990
- (21) Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM: Prevalence of Overweight and Obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*. 2006; 295(13):1549–1555.
- (22) WHO (Hrsg.): Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. In: WHO Technical Report Series. 894, 2000.
- (23) Kershaw EE, Flier JS: Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2548-2556
- (24) Sakr Y, Reinhart K: Obesity is associated with increased morbidity but not mortality in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2008; 34:1999-2009
- (25) Tremblay A, Bandi V: Impact of Body Mass Index on Outcomes Following Critical Care. *CHEST* 2003; 123:1202-1207
- (26) Wurzinger B: The association between body-mass index and patient outcome in septic shock: a retrospective cohort study. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122:31-36
- (27) Akinnusi ME: Effect of obesity on intensive care morbidity and mortality: A meta-analysis. *Crit Care Med* 2008; 36:151-158
- (28) Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI: Association of All-Cause Mortality With Overweight and Obesity Using Standard Body Mass Index Categories: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2013; 309(1):71–82
- (29) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-32
- (30) Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce, MR, Ohannesian JS, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF: Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Eng J Med* 1996; 334:292-295
- (31) Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI: Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394:897-901

- (32) Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Maness LM: Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides* 1996; 17(2):305-311
- (33) Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, Steiner RA: Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 1996; 137:3144-3147
- (34) Bluher S, Mantzoros CS: Leptin in reproduction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2007; 14:458-464
- (35) Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P: Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995; 269:546-549
- (36) Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME: Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science* 1997; 275:88-90
- (37) Chehab FF, Lim ME, Lu R: Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet* 1996; 12:318-320
- (38) Friedman JM: The function of leptin in nutrition, weight, and physiology. *Nutr Rev* 2002; 60:1-14
- (39) Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM: Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269:543-546
- (40) Morrison CD: Leptin signaling in brain: A link between nutrition and cognition? *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1792(5):401-408
- (41) Myers MG Jr, Münzberg H, Leininger GM, Leshan RL. The geometry of leptin action in the brain: more complicated than a simple ARC. *Cell Metab*. 2009; 9(2):117-23
- (42) Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F: Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269:540-543
- (43) Williams KW, Scott MM, Elmquist JK: From observation to experimentation: leptin action in the mediobasal hypothalamus. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89(3):985S-990
- (44) Friedmann MF, Halaas JL: Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-770
- (45) De Rosa V, Procaccini C, La Cava A, Chieffi P, Nicoletti GF, Fontana S, Zappacosta S, Matarese G: Leptin neutralization interferes with pathogenic T cell autoreactivity in autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest* 2006; 116:447-455
- (46) Fantuzzi G, Faggioni R: Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol* 2000; 68:437-446

- (47) Harden LM, du Plessis I, Poole S, Laburn HP: Interleukin-6 and leptin mediate lipopolysaccharide-induced fever and sickness behavior. *Physiol Behav* 2006; 89(2):146-155
- (48) Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI: Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394:897-901
- (49) Sachot C, Poole S, Luheshi GN. Circulating leptin mediates lipopolysaccharide-induced anorexia and fever in rats. *J Physiol* 2004; 561:263-272
- (50) Soliman M, Ishioka K, Kimura K, Kushibiki S, Saito M: Plasma leptin responses to lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha in cows. *Jpn J Vet Res* 2002; 50(2-3):107-114
- (51) Soliman M, Abdelhady S, Fattouh I, Ishioka K, Kitamura H, Kimura K, Saito M: No alteration in serum leptin levels during acute endotoxemia in sheep. *J Vet Med Sci* 2001; 63(10):1143-1145
- (52) Takahashi H, Tsuda Y, Takeuchi D, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F: Influence of systemic inflammatory response syndrome on host resistance against bacterial infections. *Crit Care Med* 2004; 32:1879-1885
- (53) Blanco-Quiros A, Casado-Flores J, Arranz E, Garrote JA, Asensio J, Perez A: Influence of leptin levels and body weight in survival of children with sepsis. *Acta Paediatr* 2002; 91:626-631
- (54) Bornstein SR, Licinio J, Tauchnitz R, Engelmann L, Ngro AB, Gold P, Chrousos GP: Plasma leptin levels are increased in survivors of acute sepsis: associated loss of diurnal rhythm, in cortisol and leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:280-283
- (55) Bornstein SR, Preas HL, Chrousos GP, Suffredini AF: Circulating leptin levels during acute experimental endotoxemia and antiinflammatory therapy in humans. *J Infect Dis* 1998; 178:887-890
- (56) Bracho-Riquelme RL, Reyes-Romero MA, Pescador N, Flores-García AI: A leptin serum concentration less than 10 ng/ml is a predictive marker of outcome in patients with moderate to severe secondary peritonitis. *Eur Surg Res* 2008; 41:238-244
- (57) Carlson GL, Saeed M, Little RA, Irving MH: Serum leptin concentrations and their relation to metabolic abnormalities in human sepsis. *Am J Physiol* 1999; 276:E658-E662
- (58) Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli AM, O'Rahilly S: Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002; 110:1093-1103
- (59) Flier JS: Lowered leptin slims immune response. *Nat Med* 1998; 4:1124-1125
- (60) Hotchkiss RS, Karl IE: The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348:138-150

- (61) Lago R, Gómez R, Lago F, Gómez-Reino J, Gualillo O: Leptin beyond body weight regulation--current concepts concerning its role in immune function and inflammation. *Cell Immunol* 2008; 252(1-2):139-145
- (62) Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Rosicka M: Ghrelin and leptin elevation in postoperative intra-abdominal sepsis. *Eur Surg Res* 2005; 37(6):354-359
- (63) Maruna P, Gurlich R, Frasko R, Halizuk M: Serum leptin levels in septic men correlate well with C-reactive protein (CRP) and TNF-alpha but not with BMI. *Physiol Res* 2001; 50:589-594
- (64) Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J: Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:3686-3695
- (65) Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F: Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269:540-543
- (66) Santos-Alvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V: Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol* 1999; 194:6-11
- (67) Torpy DJ, Bornstein SR, Chousos GP: Leptin and interleukin-6 in sepsis. *Horm Metab Res* 1998; 30:726-729
- (68) Tzanela, M: Leptin alterations in the course of sepsis in humans. *In Vivo* 2006; 20(4):565-570
- (69) Arnalich F, Lopez J, Codoceo R, Jimenez M, Madero R, Montiel C: Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in septic shock. *J Infect Dis* 1999; 180:908-911
- (70) Hotchkiss RS, Karl IE: The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348:138-50
- (71) Rivers EP, Katranji M, Jaehne KA, Brown S, Abou Dagher G, Cannon C, Coba V: Early interventions in severe sepsis and septic shock: A review of the evidence one decade later. *Minerva Anesthesiol* 2012; 78:712-24
- (72) Kasten KR, Tschöp J, Goetzman HS, England LG, Dattilo JR, Cave CM, Seitz AP, Hildeman DA, Caldwell CC: T Cell Activation Differentially Mediates the Host Response to Sepsis. *Shock* 2010; 34(4): 377-383
- (73) Shubin NJ, Monaghan SF, Ayala A: Anti-Inflammatory Mechanisms of Sepsis. *Contrib Microbiol.* 2011; 17:108-124
- (74) Detjen P, Speckmann E-J, Hescheler J: *Physiologie*, Elsevier München; 4. Auflage 2005: 391

- (75) Murphy K, Travers P, Walport M: Janeway Immunologie, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg; 7. Auflage 2009: 18,78
- (76) Chong DLW, Sriskandan S: Pro-Inflammatory Mechanisms of Sepsis. *Contrib Microbiol.* 2011; 17:86-107
- (77) Detjen P, Speckmann E-J, Hescheler J: Physiologie, Elsevier München; 4. Auflage 2005: 387
- (78) Detjen P, Speckmann E-J, Hescheler J: Physiologie, Elsevier München; 4. Auflage 2005: 407
- (79) Murphy K, Travers P, Walport M: Janeway Immunologie, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg; 7. Auflage 2009: 117)
- (80) Levi M, de Jonge E, van der Poll T: Sepsis and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Thrombolysis* 2003; 16:43-47
- (81) Bone RC: Sir Asaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 1996; 24: 125-1128
- (82) Ward NS, Casserly B, Ayala A: The Compensatory Anti-inflammatory Response syndrome (CARS) in Critically ill patients. *Clin Chest Med.* 2008; 29:617-625
- (83) Neville AL, Brown CV, Weng J, Demetriades D, Velmahos GC: Obesity is an independent risk factor of mortality in severely injured blunt trauma patients. *Arch Surg* 2004; 139:983–7
- (84) Yaegashi M, Jean R, Zuriqat M, Noack S, Homel P: Outcome of morbid obesity in the intensive care unit. *J Intensive Care Med* 2005; 20:147–54
- (85) Bercault N, Boulain T, Kuteifan K, Wolf M, Runge I, Fleury JC: Obesity-related excess mortality rate in an adult intensive care unit: A risk-adjusted matched cohort study. *Crit Care Med* 2004; 32:998–1003
- (86) Giles KA, Hamdan AD, Pomposelli FB, Wyers MC, Siracuse JJ, Schermerhorn ML: Body mass index: Surgical site infections and mortality after lower extremity bypass from the National Surgical Quality Improvement Program 2005–2007. *Ann Vasc Surg* 2010; 24:48–56
- (87) Ray DE, Matchett SC, Baker K, Wasser T, Young MJ: The effect of body mass index on patient outcomes in a medical ICU. *Chest* 2005; 127:2125–31
- (88) Chandra RK, Kutty KM: Immunocompetence in obesity. *Actas Paediatr Scand* 1980; 69:25–30
- (89) Nieman DC, Henson DA, Gusewitch G, Warren BJ, Dotson RC, Butterworth DE, Nehlsen-Cannarella SL: Physical activity and immune function in elderly women. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25:823–831

- (90) Mica L, Vomela J, Keel M, Trentz O: The impact of body mass index on the development of systemic inflammatory response syndrome and sepsis in patients with polytrauma. *Injury* 2014; 45:253–8
- (91) Martí A, Marcos A, Martínez JA: Obesity and immune function relationships. *Obes Rev* 2001; 2:131–40
- (92) Kaplan JM, Nowell M, Lahni P, O'Connor MP, Hake PW, Zingarelli B: Short-term high fat feeding increases organ injury and mortality after polymicrobial sepsis. *Obesity* 2012; 20:1995–2002.
- (93) Kim KA, Gu W, Lee IA, Joh EH, Kim DH: High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One* 2012; 7:e47713
- (94) Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, et al: Leptin regulates proinflammatory immune responses. *Faseb J.* 1998; 12:57–65
- (95) Wang W, Poole B, Mitra A, et al: Role of leptin deficiency in early acute renal failure during endotoxemia in ob/ob mice. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:645–649
- (96) Wilson CA, Bekele G, Nicolson M, Ravussin E, Pratley RE: Relationship of the white blood cell count to body fat: Role of leptin. *Br J Haematol* 1997; 99:447–51
- (97) Jampel HD, Duff GW, Gershon RK, Atkins E, Durum SK: Fever and immunoregulation. III. Hyperthermia augments the primary in vitro humoral immune response. *J Exp Med* 1983; 157:1229–38
- (98) Marik PE, Zaloga GP: Hypothermia and cytokines in septic shock. Norasept II Study Investigators. North American study of the safety and efficacy of murine monoclonal antibody to tumor necrosis factor for the treatment of septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26:716–21
- (99) Luheshi GN, Gardner JD, Rushforth DA, Loudon AS, Rothwell NJ: Leptin actions on food intake and body temperature are mediated by IL-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:7047–52
- (100) Brennan AM, Mantzoros CS: Drug Insight: The role of leptin in human physiology and pathophysiology—Emerging clinical applications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2:318–27
- (101) Harris RB, Zhou J, Redmann SM Jr, Smagin GN, Smith SR, Rodgers E, Zachwieja JJ: A leptin dose-response study in obese (ob/ob) and lean (+/?) mice. *Endocrinology* 1998; 139:8–19
- (102) Siegl D, Annecke T, Johnson BL 3rd, Schlag C, Martignoni A, Huber N, et al: Obesity-induced hyperleptinemia improves survival and immune response in a murine model of sepsis. *Anesthesiology* 2014; 121: 98–114
- (103) Wang H, Ma S: The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome. *Am J Emerg Med* 2008; 26:711–5

- (104) Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, Connolly RJ, Dinarello CA: Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest* 1988; 81:1162–72
- (105) Bahrami S, Yao YM, Leichtfried G, Redl H, Marzi I, Schlag G: Significance of TNF in hemorrhage-related hemodynamic alterations, organ injury, and mortality in rats. *Am J Physiol* 1997; 272(5 Pt 2):H2219–26
- (106) Amar S, Zhou Q, Shaik-Dasthagirisahab Y, Leeman S: Diet-induced obesity in mice causes changes in immune responses and bone loss manifested by bacterial challenge. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(51):20466–71
- (107) Takahashi N, Waelput W, Guisez Y: Leptin is an endogenous protective protein against the toxicity exerted by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1999; 189:207–12
- (108) Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE, Fagoaga OR: Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc* 1999; 99:294–9
- (109) Faggioni R, Jones-Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C, Fantuzzi G: Leptin-deficient (*ob/ob*) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity: Role of tumor necrosis factor alpha and IL-18. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:2367–72
- (110) Tian Z, Sun R, Wei H, Gao B: Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice: Leptin as a critical regulator in NK cell development and activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 298:297–302
- (111) Deitch EA: Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann. Surg.* 1992; 216:117–134
- (112) Malech HL, Gallin JI: Current concepts: Immunology. Neutrophils in human diseases. *N Engl J Med* 1987; 317:687–94
- (113) Craciun FL, Schuller ER, Remick DG: Early enhanced local neutrophil recruitment in peritonitis-induced sepsis improves bacterial clearance and survival. *J Immunol* 2010; 185:6930–8
- (114) Otsuka Y, Nagano K, Nagano K, Hori K, Oh-ishi J, Hayashi H, Watanabe N, Niitsu Y: Inhibition of neutrophil migration by tumor necrosis factor. Ex vivo and in vivo studies in comparison with in vitro effect. *J Immunol* 1990; 145:2639–43
- (115) Tavares-Murta BM, Cunha FQ, Ferreira SH: The intravenous administration of tumor necrosis factor alpha, interleukin 8 and macrophage-derived neutrophil chemotactic factor inhibits neutrophil migration by stimulating nitric oxide production. *Br J Pharmacol* 1998; 124:1369–74
- (116) Ahima RS, Flier JS: Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62:413–37
- (117) Matarese G: Leptin and the immune system: how nutritional status influences the immune response. *European Cytokine Network* 2000; 11(1):7-14

(118) Caspar-Bauguil S, Cousin B, Galinier A, Segafredo C, Nibbelink M, André M, Casteilla L, Pénicaud L: Adipose tissues as an ancestral immune organ: Site-specific change in obesity. *FEBS Lett* 2005; 579:3487–92

(119) Caspar-Bauguil S, Cousin B, André M, Nibbelink M, Galinier A, Periquet B, Casteilla L, Pénicaud L: Weight-dependent changes of immune system in adipose tissue: Importance of leptin. *Exp Cell Res* 2006; 312:2195–202

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BGS98	Bundes-Gesundheitssurvey 1998
BMI	Body Mass Index
bzw.	beziehungsweise
CARS	Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome
CD	Cluster of Differentiation
CLP	Zökale Ligatur und Punktion
DEGS	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ERK	extrazellulär signalregulierte Kinase
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting
GM-CSF	Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
hfd	high fat diet
HBSS	Hanks' Balanced Salt Solution
IL	Interleukin
IVC	Individuell ventilierter Käfig
JAK-STAT	Janiskinase Signal Transducers and Activators of Transcription
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MIP	Monozyteninhibierendes Protein
NaCl	Natriumchlorid
NF-kB	Nuclear factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells
ob	obesity
Ob-R	Leptin-Rezeptor
Ob-Rb	langkettiger Leptin-Rezeptor
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung
SepNet	Kompetenznetzwerk Sepsis
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom
SOAP	Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients
SOFA	Sequential (Sepsis-Related) Organ Failure Assessment
Th1	Typ-1-T-Helferzelle
Th2	Typ-2-T-Helferzelle
TNF- α	Tumornekrosefaktor-alpha

u.a.	unter anderem
WHO	World Health Organisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

Eidesstattliche Versicherung

Schlag, Christian Rudolf

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Einfluss von Adipositas
auf die Pathogenese der Sepsis
Untersuchungen an Wildtyp-Mäusen am Modell
der polymikrobiellen Sepsis**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Neubiberg, 20.03.2019

Christian Rudolf Schlag