

Pathomechanismen des Organversagens: zelluläre Sauerstoffverwertungsstörung im Rahmen der Sepsis

M. Wendel, Axel R. Heller, Thea Koch

Angaben zur Veröffentlichung / Publication details:

Wendel, M., Axel R. Heller, and Thea Koch. 2009. "Pathomechanismen des Organversagens: zelluläre Sauerstoffverwertungsstörung im Rahmen der Sepsis." *Der Anaesthetist* 58 (4): 343-52. <https://doi.org/10.1007/s00101-009-1537-9>.

Nutzungsbedingungen / Terms of use:

licgercopyright



M. Wendel¹ · A.R. Heller² · T. Koch²

¹ Institut für Physiologie, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, TU Dresden

² Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin,
Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, TU Dresden

Pathomechanismen des Organversagens

Zelluläre Sauerstoffverwertungsstörung im Rahmen der Sepsis

Schwere Sepsis, septischer Schock und konsekutives Multiorganversagen sind lebensbedrohliche Komplikationen systemischer Infektionen und stellen die häufigste Todesursache von Patienten auf nichtkardiologischen Intensivstationen mit einer Inzidenz von ca. 116/100.000 Einwohnern dar [12]. In der vorliegenden Übersichtsarbeit sollen der Stand der aktuellen Diskussion zum Thema der sog. zellulären Sauerstoffverwertungsstörung im Rahmen der Sepsis dargelegt sowie neue therapeutische Ansätze, die sich hieraus ableiten lassen, erläutert werden.

Was führt zum Organversagen?

Die pathophysiologischen Mechanismen, die vom Beginn einer Infektion bis zum Organversagen führen, sind komplex. Schon seit Langem ist bekannt, dass es neben der Beeinträchtigung der Makrozirkulation im Rahmen der schweren Sepsis und des septischen Schocks auch zu ausgeprägten Veränderungen der Mikrozirkulation kommt. Diese sind durch das Vorliegen einer arteriären Vasokonstriktion und das Öffnen arteriovenöser Shunts gekennzeichnet. Die vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen führt darüber hinaus zur Okklusion von Kapillaren durch aktivierte Leukozyten und Erythrozyten. In der Summe kommt

es zu einer großen Heterogenität der kapillären Perfusion mit verlängerten Transitzonen und einem erhöhten Anteil nicht-perfundierter Kapillaren. Darüber hinaus ist auch die kapilläre Barrierefunktion beeinträchtigt; dies führt zu Flüssigkeitsverlusten aus dem Gefäßbett in das Interstitium. Die beeinträchtigte Mikrozirkulation und die Verlängerung der Diffusionsstrecke tragen so zur Organschädigung im Rahmen der schweren Sepsis und des septischen Schocks bei.

● Mangelnde zelluläre Sauerstoffverwertung trägt zur Organdysfunktion bei

Neben der Störung des Substratangebots wurden in den letzten Jahren auch zelluläre Sauerstoffverwertungsstörungen identifiziert, die durch Entzündungsmediatoren und vermehrten oxidativen Stress verursacht werden [25]. Die Beeinträchtigung der zellulären Sauerstoffverwertung und die damit verbundene reduzierte Adenosintriphosphat- (ATP-)Produktion werden nunmehr ebenfalls als wichtige Faktoren für die Entstehung der Organdysfunktion angesehen. Die Tatsache, dass die zellulären ATP-Spiegel in vielen Sepsismodellen nicht kritisch vermindert sind [68], kann nicht mit einer erhaltenen Organfunktion und intakter oxidativer Phosphorylierung gleichgesetzt werden. Vielmehr können präservierte ATP-

Spiegel im Rahmen der Sepsis auch Indiz für die Einschränkung des zellulären Funktionsstoffwechsels sein [67].

Pathogenese der Sepsis

Die Sepsis wird durch ein infektiöses Agens ausgelöst, das eine systemische Entzündungsreaktion in Gang setzt; diese ist durch die Produktion einer Vielzahl sowohl pro- als auch antiinflammatorischer Mediatoren gekennzeichnet. Das auslösende Agens ist in der Mehrzahl der Fälle bakteriell; es können aber auch Infektionen mit Pilzen und Viren ursächlich sein. Die Wirtsantwort auf eine Infektion mit Bakterien, Pilzen und Viren wird durch Erkennungsmoleküle des angeborenen Immunsystems initiiert. Bestandteile der Zellwände (Lipopolysaccharid, Lipoteichonsäure, Peptidoglykan), spezifische bakterielle Proteine (Flagellin) sowie Nukleinsäuren von Bakterien, Viren und Pilzen, sog. pathogenassoziierte molekulare Muster (PAMP), werden durch evolutionär konserverte Erkennungssysteme identifiziert („pattern recognition receptors“, PRR) und führen zur Einleitung der Abwehrreaktion des Organismus. Bekannteste und am besten charakterisierte Vertreter der PRR sind die „toll-like receptors“ (TLR), von denen bislang beim Menschen 11 Varianten identifiziert wurden, die unterschiedliche Spezifitäten für verschiedene PAMP aufweisen

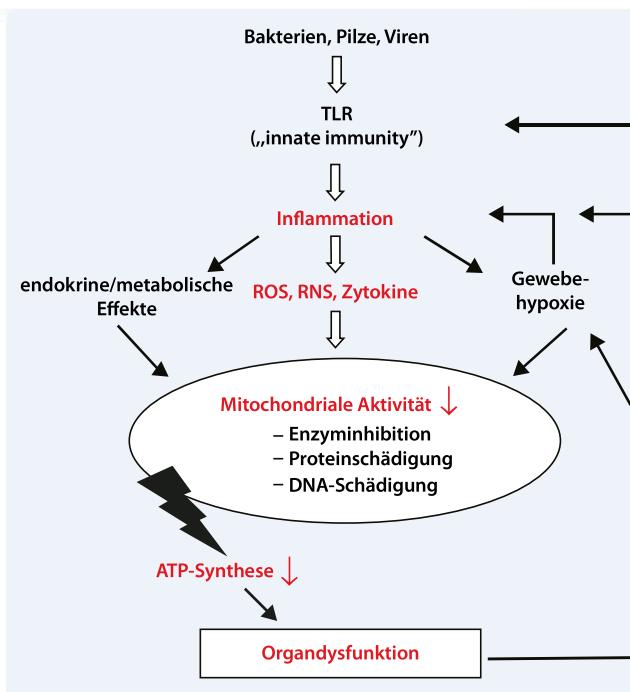


Abb. 1 Schematische Darstellung der Beeinträchtigung der zellulären Energiegewinnung in der Sepsis. TLR: „toll-like receptors“, ROS reaktive Sauerstoffspezies, RNS reaktive Stickstoffspezies

und zudem spezifisch subzellulär verteilt sind. So sind die TLR 3, 7, 8 und 9 nicht auf der Zelloberfläche, sondern in Endosomen lokalisiert; hier erkennen sie phagozytierte Pathogenstrukturen [39]. Das bekannteste Beispiel eines PAMP ist das Lipopolysaccharid (LPS), Zellwandbestandteil gramnegativer Bakterien, das CD14-vermittelt an den TLR4 bindet und nachfolgend eine proinflammatorische Signalkaskade auslöst. Daneben existieren noch weitere Systeme, die „nucleotide-binding oligomerization domain receptors“ (NOD), die „retinoic acid-inducible gene 1-like receptors“ (RLR; [1, 28]) und die „C-type lectin receptors“ (CLR; [61]) auf myeloiden Zellen, die ebenfalls an der angeborenen Pathogenerkennung beteiligt sind.

Die Signaltransduktion, die durch Bindung von PAMP an die PRR ausgelöst wird, führt zur Aktivierung verschiedener Transkriptionsfaktoren, unter anderem „nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells“ (NF- κ B) und „activator protein-1“ (AP-1), die die Expression proinflammatorischer Moleküle induzieren. So wird innerhalb weniger Stunden die Bildung von Zytokinen und Chemosignalen, Adhäsionsmolekülen und der inflammatorisch induzierbaren Enzyme Zyklooxygenase- (COX-)2 und induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase (iNOS) sowie weiterer Botenstoffe, darunter auch

das „High-mobility-group-box-1“-Protein (HMGB1), hochreguliert. Letzteres ist ein nukleäres Protein, das sowohl von aktivierte Monozyten und Makrophagen sezerniert als auch von nekrotischen Zellen freigesetzt wird [81] und an TLR 2 sowie TLR 4 bindet [56]. Hierdurch kann eine Entzündungsreaktion in Abwesenheit von Pathogenen aufrechterhalten kann. Es bindet darüber hinaus auch an den „receptor for advanced glycation endproducts“ (RAGE), einen Vertreter der Immunglobulinsuperfamilie, der ebenfalls den Transkriptionsfaktor NF- κ B aktiviert [11] und zur Hochregulation proinflammatorischer Gene führt [3]. Vom zeitlichen Verlauf her zählt HMGB1 zu den späten Mediatoren mit einer Spitzenkonzentration im Serum ca. 24 h nach Infektionsbeginn; bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock wurden erhöhte HMGB1-Plasma-Spiegel auch über mehrere Tage gemessen [34, 74].

Ischämie und Hypoxie führen ebenfalls zu einer proinflammatorischen Aktivierung, wie aus zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen bekannt ist. Auch der im Rahmen der schweren Sepsis und des septischen Schocks auftretende Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks, bedingt durch die Abnahme des peripheren Gefäßwiderstands und durch Volumenverluste aus dem Intravasalraum in das Interstitium, mit resultie-

render Organminderperfusion kann die systemische Entzündungsreaktion weiter verstärken. Die frühe effektive Volumensubstitution und Katecholamintherapie sowie ggf. auch die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten, gesteuert anhand globaler Parameter von Kreislauffunktion und Organperfusion, führen zu einer deutlichen Reduktion der Mortalitätsrate von Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock, wie erstmals in der Studie von Rivers zur „early goal-directed therapy“ (EGDT; [59]) eindrucksvoll gezeigt wurde. Diese Befunde wurden in einer weiteren Studie reproduziert [50], und die Strategie der EGDT ist mittlerweile in die Therapierichtlinien der Sepsis eingegangen.

In diesem Zusammenhang ist besonders erwähnenswert, dass die Analyse des zeitlichen Verlaufs der Expression von Biomarkern [Tumornekrosefaktor- (TNF)- α , „intercellular adhesion molecule“- (ICAM)-1, Interleukin- (IL)-8, Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1Ra) und Kaspase- (Casp-3)] in der EGDT-Studie signifikant erniedrigte Spiegel in der EGDT-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte [58]. Dies bedeutet, dass eine frühzeitige Beseitigung von systemischer Hypotension und Organminderperfusion mit der Optimierung der Gewebeoxygenierung eine Reduktion der systemischen Entzündungsreaktion zur Folge hat. Der Zeitfaktor spielt hierbei eine zentrale Rolle, da eine später im septischen Krankheitsverlauf durchgeführte häodynamische Optimierung mit Verbesserung des Sauerstoffangebots die Mortalitätsrate von Patienten nicht reduzieren konnte und im ungünstigen Fall sogar erhöhte [32, 36].

Oxidativ-antioxidatives Gleichgewicht

Die Sepsis geht mit vermehrtem oxidativen Stress einher [19]. So werden reaktive Sauerstoffspezies („reactive oxygen species“, ROS) von aktivierte neutrophile Granulozyten produziert und tragen zur Gewebeschädigung bei. Des Weiteren ist die Xanthinoxidaseaktivität im Plasma erhöht. Bei septischen Patienten werden darüber hinaus erhöhte Spiegel der Stickstoffmonoxid- (NO-)Reaktionsprodukte

Nitrat und Nitrit gemessen. Das aus der chemischen Reaktion von NO mit dem Superoxidanion entstehende Peroxynitrit ist hochreaktiv und in der Lage, Proteine, Lipide und Nukleinsäuren irreversibel zu schädigen. Hieraus resultieren sowohl strukturelle Defekte als auch Funktionsstörungen von Zellen. Der erhöhten Produktion von ROS und reaktiven Stickstoffverbindungen („reactive nitrogen species“, RNS) steht eine verminderte antioxidative Kapazität gegenüber. So sind die antioxidativ wirksamen Bestandteile des Plasmas in Form von Harnsäure, Sulfhydrylgruppen von Proteinen, unkonjugiertem Bilirubin, Vitamin C und Vitamin E sowie weiterer noch nicht identifizierter antioxidativer Faktoren reduziert, während die Konzentrationen von Lipidperoxiden, Nitrotyrosin und thiobarbitursäurereaktiven Substanzen („thiobarbituric acid reactive substance“, TBARS), darunter Malondialdehyd, erhöht sind. Intrazellulär kommt es zum Abfall des reduzierten Glutathions (GSH) und einem Anstieg der Konzentration des oxidierten Glutathiondimers (GSSG), wodurch das Verhältnis von GSH zu GSSG sinkt. Zwar führen inflammatorische Mediatoren nach einer initialen Depression zu einer Hochregulation der GSH-Produktion, doch fallen die Werte bei prolongierter Sepsis im Verlauf von einigen Tagen wieder ab [9].

Peroxynitrit schädigt Proteine, Lipide und Nukleinsäuren irreversibel

Experimentelle Befunde konnten zeigen, dass Entzündungsmediatoren und der vermehrte oxidative Stress durch ROS und RNS im Rahmen der Sepsis direkten Einfluss auf die Funktion der Mitochondrien und die zelluläre Energiegewinnung haben (☞ **Abb. 1**).

Zelluläre Energiegewinnung

Die Bereitstellung des energiereichen Phosphats ATP ist wesentliche Voraussetzung für die Aufrechterhaltung des Struktur- und Funktionsstoffwechsels aller Zellen. Als Ausgangssubstrate der Energiegewinnung können Glucose, Fettsäuren und Aminosäuren dienen, die nach entsprechenden Zerlegungsreakti-

M. Wendel · A.R. Heller · T. Koch

Pathomechanismen des Organversagens. Zelluläre Sauerstoffverwertungsstörung im Rahmen der Sepsis

Zusammenfassung

Entzündungsmediatoren sowie vermehrt gebildete reaktive Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen führen zu zellulären Sauerstoffverwertungsstörungen im Rahmen der Sepsis. Insbesondere das hochreaktive Peroxynitrit schädigt Lipide, Proteine und Nukleinsäuren irreversibel und hemmt Enzymkomplexe der Atmungskette. Hierdurch werden der zelluläre Funktionsstoffwechsel und in der Folge die Organfunktionen beeinträchtigt. Die Reparatur geschädigter Desoxyribonukleinsäure (DNA) durch die Poly(adenosindiphosphat)ribose-Polymerase verbraucht große Mengen Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD⁺),

wodurch es zur zellulären NAD⁺-Verarmung kommt und die proinflammatorischen Reaktion weiter unterhalten wird. Die vorliegende Übersichtsarbeit fasst wesentliche Aspekte dieses pathophysiologischen Geschehens zusammen und stellt neue therapeutische Strategien vor, die experimentell effektiv sind und das Potenzial der klinischen Anwendung in sich tragen.

Schlüsselwörter

Sepsis · Zytopathische Hypoxie · Mitochondriale Dysfunktion · Entzündungsmediatoren · Radikale

Pathomechanisms of organ failure. Mitochondrial dysfunction in sepsis

Abstract

Proinflammatory mediators as well as increased formation of reactive oxygen and nitrogen species impair cellular respiration during sepsis. In particular, the highly reactive peroxynitrite irreversibly damages lipids, proteins and nucleic acids and also inhibits enzyme complexes of the respiratory chain. In this way cellular metabolic functions and subsequently organ functions are also impaired. Repair of DNA by poly(ADP-ribose)polymerase consumes large amounts of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) which leads to cellular NAD⁺ depletion fur-

ther promoting inflammation. This article summarizes central aspects of the pathophysiology of mitochondrial dysfunction during sepsis and gives an overview about newly developed strategies which proved effective in experimental studies and may have a potential clinical application in the future.

Keywords

Sepsis · Cytopathic hypoxia · Mitochondrial dysfunction · Inflammatory mediators · Radicals

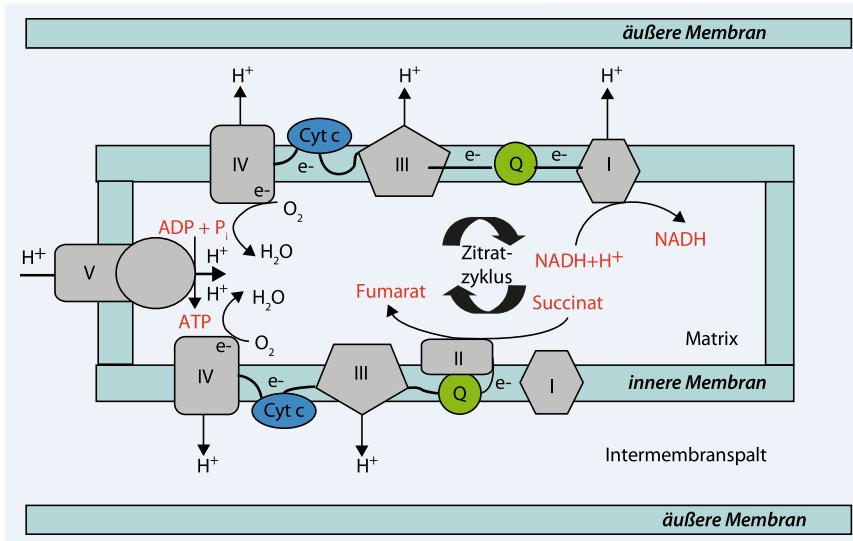


Abb. 2 ▲ Schematische Darstellung der Enzymkomplexe der Atmungskette

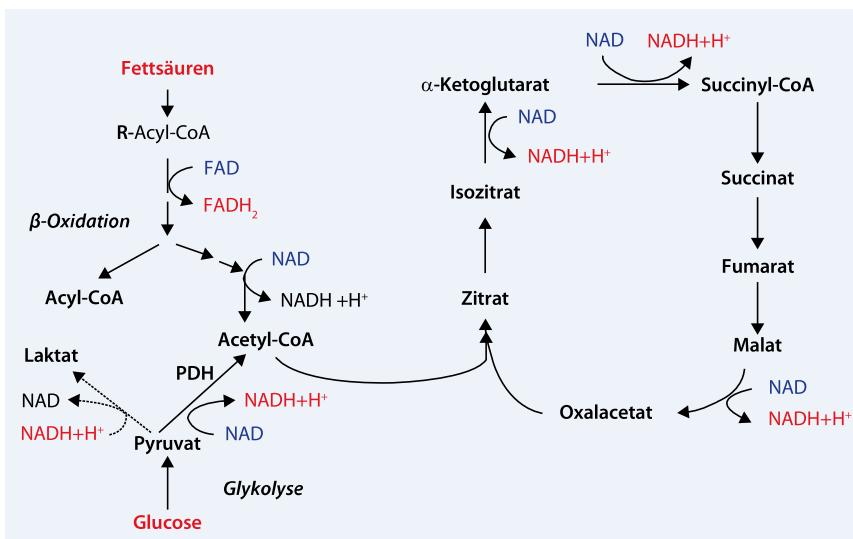


Abb. 3 ▲ NAD⁺ als essenzieller Elektronenakzeptor im Rahmen kataboler Stoffwechselprozesse

onen in den Zitratzyklus eingeschleust werden, worauf dann die Endoxidation der Reduktionsäquivalente NADH+H⁺ und FADH₂ (FAD: Flavin-Adenin-Dinukleotid) in der Atmungskette folgt. Quantitativ stellen der Zitratzyklus und die oxidative Phosphorylierung die wichtigste Quelle der zellulären ATP-Synthese dar, wie am Beispiel der Glucose als Substrat deutlich wird. Während durch alleinige anaerobe Glykolyse lediglich ein Nettoertrag von 5 ATP-Molekülen aus einem Glucosemolekül erzielt wird, erhöhen oxidative Decarboxylierung, Zitratzyklus und oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien diese Bilanz auf insgesamt 30 ATP-Moleküle.

Funktion der Atmungskette

Die Enzymkomplexe der Atmungskette (Komplexe I–IV) sind an der inneren Mitochondrienmembran angeordnet (► Abb. 2). Durch die NADH:Ubichinon-Oxidoreduktase im Komplex I der Atmungskette werden die Elektronen vom NADH+H⁺ auf das Ubichinon übertragen. Parallel hierzu werden 4 Protonen in den Intermembran- spalt gepumpt. Im Komplex II, der Succinat:Ubichinon-Oxidoreduktase des Zitratzyklus, wird Succinat zu Fumarat reduziert. Dabei überträgt FAD als prosthetische Gruppe die Elektronen auf das Ubichinon. Auch Elektronen aus

der β-Oxidation von Fettsäuren werden in Form von FADH₂ an dieser Stelle in die oxidative Phosphorylierung eingeschleust. Im Komplex III, der aus einer Ubihydrochinon:Zytochrom-c-Oxidoreduktase besteht, wird Ubihydrochinon oxidiert und Zytochrom c reduziert. Dabei werden 2 Protonen in den Intermembran- spalt gepumpt. Im Komplex IV, bestehend aus einer Zytochrom c:O₂-Oxidoreduktase, wird Zytochrom c wieder oxidiert. Nach der sukzessiven Übertragung von 4 Elektronen kann ein unbundenes Sauerstoffmolekül mit 4 Protonen, die der Mitochondrienmatrix entnommen werden, zu 2 Wassermolekülen reduziert werden. Die dabei frei werdende Energie wird wiederum zum Transport von 4 Protonen aus der Mitochondrienmatrix in den Intermembranraum genutzt. Im Komplex V, der ATP-Synthase, wird schließlich ATP synthetisiert. Der mithilfe der Protonentransporte an den Komplexen I, III und IV aufgebaute Protonengradient dient dann als treibende Kraft für die Synthese von ATP aus ADP und Phosphat. Physiologischerweise werden an den Komplexen I und III der Atmungskette geringe Mengen ROS in Form von Superoxidanionen, Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und Hydroxylradikalen gebildet.

Physiologische Funktionen von Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid

Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid sowie seine reduzierten und phosphorylierten Formen (NAD⁺, NADH+H⁺ und NADPH+H⁺) sind für den zellulären Energiestoffwechsel von zentraler Bedeutung. Während NAD⁺ und NADPH+H⁺ als Redoxsystem bei anabolen Prozessen dienen, fungieren NAD⁺ und NADH+H⁺ in katabolen Prozessen als Akzeptor sowie Donor von Elektronen und schleusen Reduktionsäquivalente in die Atmungskette ein (► Abb. 3). Diese Reaktionen sind reversibel und laufen ohne Verbrauch von NAD⁺ ab.

Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid, das de novo aus der Aminosäure Tryptophan oder aus Vorläufersubstraten, die mit der Nahrung aufgenommen werden (z. B. Niacin, Vitamin B₃), synthetisiert werden kann, wird in Zellen auch für

Funktionen, die unabhängig von Redoxreaktionen sind, benötigt. Es dient als Substrat verschiedener Enzyme, die an der DNA-Reparatur, der Genregulation und der Generierung spezifischer Signalmoleküle beteiligt sind [38]. Bei diesen Reaktionen wird NAD^+ verbraucht, das durch Biosynthese ersetzt werden muss. Der Verbrauch von NAD^+ durch die Poly(ADP)ribose-Polymerase (PARP) ist quantitativ am bedeutendsten. Dieses Enzym wird durch DNA-Strangbrüche aktiviert; daraufhin bindet PARP-1 an die betreffende Stelle der DNA und katalysiert die ADP-Ribosylierung von Proteinen einschließlich PARP-1 selbst, wodurch es zur Reduktion der Bindung von Transkriptionsfaktoren und zur Initiierung von DNA-Reparaturmechanismen kommt [53]. Hierbei werden ADP-Ribose-Moleküle an Proteine angehängt, wodurch große Mengen an NAD^+ verbraucht werden (Abb. 4). Die PARP-1-vermittelte ADP-Ribosylierung ist auch essenziell für die Reparatur der mitochondrialen DNA, die durch mitochondriale ROS geschädigte wurde [64].

Eine zweite Gruppe von Enzymen, die an der Genregulation beteiligt sind und ADP-Ribose-Transferase-Aktivität aufweisen, sind die Sirtuine (SIRT). Sie deacetylieren Histone unter Verbrauch von NAD^+ [63], regulieren die Expression einer Vielzahl von Genen und induzieren die Biogenese von Mitochondrien sowie eine Steigerung der mitochondrialen Funktion. Sirtuine sind Schlüsselregulatoren der metabolischen Homöostase, des Zellüberlebens und der Langzeitigkeit von Organismen [23, 84]. Sirtuin 3 reduziert die Bildung reaktiver Sauerstoffverbindungen in den Mitochondrien und kann die Expression der Zytochrom-c-Oxidase-Untereinheiten II und IV sowie der ATP-Synthetase erhöhen [66]. Sirtuin 1 induziert die Biogenese von Mitochondrien, die vermehrte Expression von Enzymen der oxidativen Phosphorylierung und erhöht den Sauerstoffverbrauch in Skelettmuskelfasern [45]. Im Rahmen inflammatorischer Prozesse vermindert SIRT1 die Bindung von NF- κ B an seine Promotersequenz und die nachfolgende Aktivierung proinflammatorischer Gene [85].

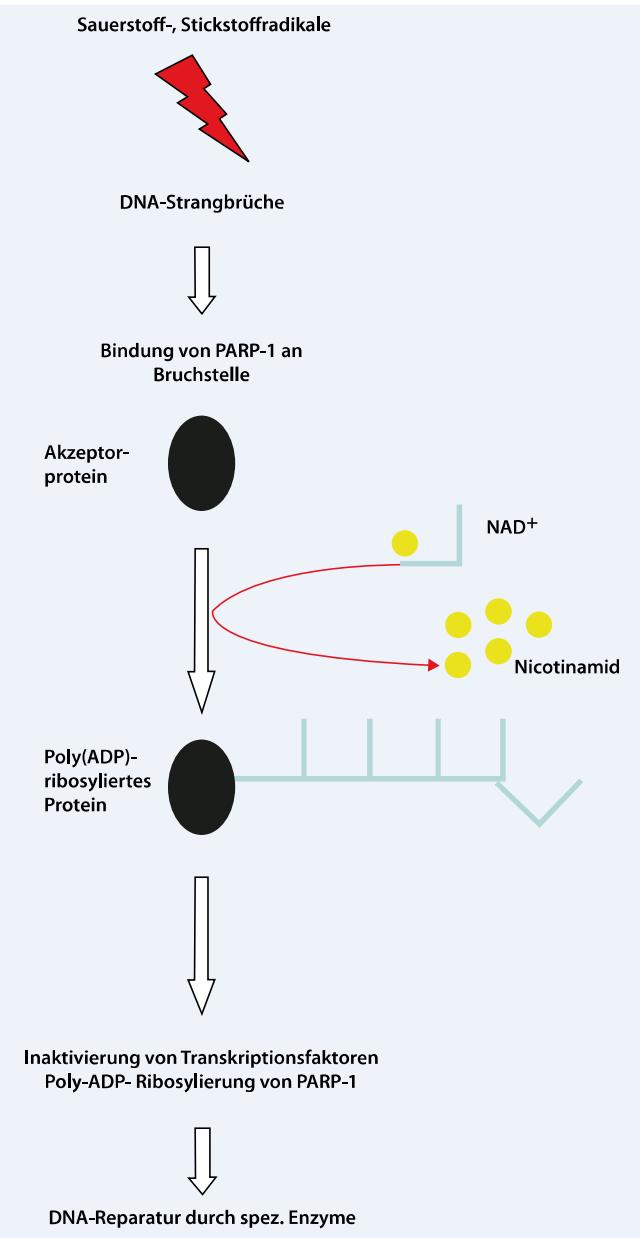


Abb. 4 ▶ Schematische Darstellung der Reparatur von DNA-Strangbrüchen unter Verbrauch von NAD^+

Darüber hinaus verstärkt es die antioxidativen Schutzmechanismen der Zelle [43, 80]. In der Leber supprimiert SIRT1 die Glykolyse und erhöht die hepatische Glukoneogenese [60].

Der größte Teil des zellulären NAD^+ -Gehalts ist in den Mitochondrien lokalisiert und in Redoxsysteme eingebunden; nur ein kleiner Teil steht für NAD^+ -verbrauchende Prozesse zur Verfügung. Steigt der Bedarf an NAD^+ , z. B. durch vermehrt erforderliche DNA-Reparatur, kommt es, falls eine erhöhte Zufuhr bzw. Utilisation geeigneter Vorläufermoleküle nicht in ausreichender Menge erfolgt, zur zellulären NAD^+ -Verarmung.

Einflüsse von Entzündungsmediatoren und oxidativem Stress auf die Mitochondrien

Aktivität der mitochondrialen Enzymkomplexe

Entzündungsmediatoren führen zu einer vermehrten Bildung von ROS in der Atmungskette und zur Aktivierung der iNOS, wodurch große Mengen NO gebildet werden.

Stickstoffmonoxid in physiologischen Konzentrationen hat einen inhibierenden Effekt auf den Komplex IV der Atmungskette [17]. Diese Bindung von NO an

Komplex IV ist kompetitiv zu Sauerstoff, sodass der inhibierende Effekt durch hohe Sauerstoffkonzentrationen überwunden werden kann. Die Blockade des Komplexes IV führt zu vermehrter ROS-Produktion in den Mitochondrien. Durch Reaktion von NO mit dem Superoxidanion entsteht das hochreaktive Peroxynitrit, das mit Lipiden, Proteinen und DNA reagiert und diese irreversibel schädigt. Peroxynitrit führt zur irreversiblen Blockade der Komplexe I, II und IV und inhibiert darüber hinaus auch die mitochondrialen Enzyme Aconitase, Kreatinkinase und Mangansuperoxiddismutase (Mn-SOD; [11]). In den Mitochondrien gebildete Superoxidanionen werden durch Mn-SOD zu H_2O_2 umgesetzt. Bei ausreichendem mitochondrialen GSH-Gehalt wird H_2O_2 dann weiter durch GSH-Peroxidases zu Wasser reduziert. Nach Depletion des mitochondrialen GSH zeigte sich in Mitochondrien von Hepatozyten eine vermehrte Produktion von H_2O_2 , und es kam zu vermehrter Lipidperoxidation. Eine Reduktion der mitochondrialen antioxidativen Kapazität führt demnach zu einer Verstärkung der TNF- α -induzierten mitochondrialen Schädigung und Dysfunktion [31].

Neben NO und seinem Reaktionsprodukt Peroxynitrit hemmt auch TNF- α die Atmungskette und führt zu vermehrter ROS-Produktion. Dabei spielt die intrazelluläre Bildung von Ceramid eine entscheidende Rolle, wie an Hepatozyten und Endothelzellen demonstriert wurde [18, 31]. Intramitochondrial kommt es daraufhin zu vermehrter Superoxidanionproduktion am Komplex III der Atmungskette.

Ultrastrukturelle Veränderungen

Neben den funktionellen wurden auch ultrastrukturelle Veränderungen der Mitochondrien in verschiedenen Organsystemen beobachtet. Schon 2 bzw. 4 h nach LPS-Gabe waren Zerreißungen der Mitochondrien in der Ileumschleimhaut und in den Hepatozyten von Katzen nachweisbar [20, 21, 22], während die Mitochondrien der Hepatozyten von Ratten 24 h nach LPS-Gabe kondensiert und elongiert waren [70]. Auch Skelett- und Herzmuskelzellen zeigten 12 und 24 h nach Ga-

be von *Escherichia coli* bzw. LPS ähnliche Veränderungen [76, 83]. Eine Schädigung der Mitochondrien war trotz adäquater Volumensubstitution nachweisbar [22] und ist demnach nicht als Manifestation der Organminderperfusion anzusehen.

Auch bei Patienten, die nach einem septischen Schock verstarben, zeigten sich deutliche ultrastrukturelle Veränderungen der Mitochondrien von Kardiomyozyten und Hepatozyten mit Schwelzung der Mitochondrien sowie Schädigung der Cristae [69, 79]. Darüber hinaus war eine deutliche PARP-Aktivierung nachweisbar [69].

Schädigung der mitochondrialen DNA

Die mitochondriale DNA ist für Schädigungen durch oxidative Mechanismen anfällig, da sie zum einen in enger Nachbarschaft zu den mitochondrialen Redoxsystemen steht, die eine Quelle von ROS darstellen, und zum anderen keine schützenden Histone besitzt. Darüber hinaus liegt sie in relativ geringer Kopienzahl vor. Eine Schädigung der mitochondrialen DNA führt zur verminderten Transkription mitochondrialer Proteine. Das mitochondriale Genom kodiert für 13 Proteine der Elektronentransportkette, die übrigen mitochondrialen Proteine werden nukleär kodiert, und auch die Replikation der mitochondrialen DNA wird durch die Aktivierung entsprechender nukleärer Transkriptionsfaktoren reguliert [16]. Eine Schädigung der mitochondrialen DNA durch ROS wurde bei einer Vielzahl von Erkrankungen nachgewiesen, darunter auch im Rahmen der Endotoxinämie und der Sepsis [70, 72]. Lipopolysaccharid induziert andererseits aber auch restitutive Mechanismen, die zur mitochondrialen Biogenese führen [37, 70, 71, 72]. In diesem Zusammenhang wurde auch eine regulatorische Funktion von Kohlenmonoxid identifiziert [73].

Mitochondriale Dysfunktion und Organfunktion

Skelettmuskulatur

Die Bedeutung der mitochondrialen Dysfunktion wurde an der Skelettmuskulatur

mit Blick auf die „Critical-illness“-Myopathie untersucht. Allerdings lässt sich aus den bisher veröffentlichten Studien kein eindeutiger kausaler Zusammenhang zwischen beeinträchtigter oxidativer Phosphorylierung und dem Krankheitsbild ableiten.

Die Analyse der Aktivität der Enzymkomplexe der Atmungskette sowie der intrazellulären GSH-Konzentration und der Nitrit-/Nitratspiegel zeigte an Skelettmuskelbiopsien septischer Patienten innerhalb der ersten 24 h eine Überproduktion von NO bei gleichzeitiger Depletion von GSH im Vergleich zu Kontrollpatienten [75]. Die Aktivität des Komplexes I der Atmungskette war bei Patienten, die nicht überlebten, signifikant niedriger als bei Überlebenden. Diese Befunde sind mit einer Schädigung des Enzymkomplexes durch RNS bzw. deren Reaktionsprodukten bei gleichzeitig reduzierter antioxidativer Kapazität [10], insbesondere in der Frühphase der Sepsis, vereinbar. Hingegen wurden im späteren Verlauf bei reduzierter Mitochondriendichte keine Unterschiede mehr beobachtet [29]. Es fand sich darüber hinaus auch kein Unterschied hinsichtlich der Aktivitäten der Enzymkomplexe der Atmungskette zwischen Extremitäten- und Atemmuskulatur bei septischen Patienten. Allerdings unterschieden sich beide Muskelgruppen hinsichtlich des ATP- und Kreatinphosphat (CP)-Gehalts: Während in der Atemmuskulatur septischer Patienten ATP- und CP-Gehalt mit dem von Kontrollpatienten vergleichbar waren, waren beide Werte in der Extremitätenmuskulatur septischer Patienten signifikant vermindert [30].

Nach 4 h zeigte sich am Skelettmuskel von Ratten mit fäkaler Peritonitis [57] ein deutlich verminderter O_2 -Verbrauch, wenn Substrate des Komplexes I (Glutamat und Malat) eingesetzt wurden, während der O_2 -Verbrauch nach Gabe von Succinat deutlich anstieg. Parallel hierzu war die Aktivität des Komplexes I in septischen Tieren signifikant niedriger im Vergleich zu den Kontrollen, während der Komplex II sowohl hinsichtlich der Aktivität als auch der Proteinmenge unbeeinflusst war.

Mit Blick auf die Critical-illness-Myopathie ergeben die bislang publizierten

Daten kein einheitliches Bild. So scheint eine deutliche Beeinträchtigung des Komplexes I der Atmungskette in der Frühphase der Sepsis vorzuliegen, der offensichtlich mit der Schwere der Sepsis korreliert. Inwiefern diese Funktionseinschränkung auch zur respiratorischen Insuffizienz beiträgt, ist derzeit noch unklar. Hinsichtlich der Funktion der Atemmuskulatur scheint im Verlauf der Sepsis mehr der Verlust von Mitochondrien als die Funktionseinschränkung der Atmungskette von Bedeutung zu sein.

Septische Kardiomyopathie

Die Bedeutung der mitochondrialen Dysfunktion wurde auch im Rahmen der septischen Kardiomyopathie untersucht. Neben der starken Vasodilatation trägt die reduzierte linksventrikuläre Pumpfunktion zur Hypotension im Rahmen der Sepsis bei. Zur Klärung der Bedeutung der zellulären Sauerstoffverwertungsstörung wurden Studien an Ratten und Mäusen sowohl nach LPS-Gabe als auch nach Induktion einer abdominalen Peritonitis durchgeführt.

Lipopolysaccharid führte in Kardiomzyten der Maus über eine TLR-4-abhängige Induktion der iNOS zur Abnahme der linksventrikulären Funktion und zur Reduktion der Sarkomerverkürzung [5, 55]. Die Abnahme der Kontraktilität konnte sowohl durch einen kompetitiven Antagonisten des LPS als auch durch Inhibition der iNOS verhindert werden [5]. In einer Studie an Ratten [76] zeigte sich ein biphasischer Verlauf der septischen Kardiomyopathie. So war die initiale Kontraktilitätsabnahme 6 h nach LPS-Gabe durch eine NO-vermittelte Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase (sGC) bedingt und konnte durch Methylenblau, einen Inhibitor der sGC, aufgehoben werden. Im weiteren Verlauf waren 48 h nach LPS-Gabe deutliche Reduktionen der Enzymaktivitäten der Komplexe I und V sowie eine leichte Reduktion der Aktivität des Komplexes II der Atmungskette zu beobachten. Diese Effekte wurden durch Vorbehandlung mit Aminoguanidin, einem selektiven Inhibitor der iNOS, nicht jedoch durch Methylenblau, verhindert und waren Ausdruck der mitochondrialen Dysfunktion. Damit einhergehend

zeigten sich mitochondriale Schwellung und Zerreißungen der Cristae, die ebenfalls durch Aminoguanidin vorbehandlung stark vermindert wurden. Am Modell der abdominalen Peritonitis wurde eine zeitabhängige irreversible Hemmung der Zytochrom-c-Oxidase (Komplex IV der Atmungskette) von Kardiomzyten beobachtet, die mit einem verminderten Gehalt des Enzyms einherging [47]. Darüber hinaus war auch der mitochondriale Gehalt von Zytochrom c, dem Substrat der Zytochrom-c-Oxidase, vermindert. Interessanterweise führte die i.v.-Zufuhr von Zytochrom c zu einer Zunahme des mitochondrialen Zytochrom-c-Gehalts und damit einhergehend auch zu einer Normalisierung der myokardialen Kontraktilität [47]. Die Ursache dieser Substratverarmung ist noch unklar. Sie könnte durch das Öffnen der mitochondrialen Permeabilität-Transition-Poren (MPTP) mit nachfolgender Freisetzung von Zytochrom c bedingt sein. So verbesserte die Hemmung der MPTP sowohl die myokardiale Kontraktilität als auch die mitochondriale Funktion [46]. Ob darüber hinaus im Rahmen der Sepsis Zytochrom c durch ROS bzw. RNS in seiner chemischen Struktur modifiziert [4, 14] und dadurch inaktiviert wird oder ob die Transkription und Proteinsynthese von Zytochrom c unter inflammatorischen Bedingungen reduziert ist, ist bislang nicht bekannt.

Weitere Faktoren, die zur Entstehung der septischen Kardiomyopathie beitragen, umfassen Veränderungen der intrazellulären Kalziumflüsse, der Signaltransduktion an β -Adrenozeptoren sowie die Aktivierung von Matrixmetalloproteinasen [27].

Befunde an Hepatozyten

Experimentelle Befunde an Hepatozyten zeigen ebenfalls eine Inhibition der mitochondrialen Funktion sowohl durch proinflammatorische Mediatoren als auch durch Endotoxin. So entfaltete TNF- α in vitro zu einem frühen Zeitpunkt (2 h) einen direkten inhibierenden Effekt auf die Mitochondrienfunktion von Hepatozyten [44]. Nach LPS-Gabe an Katzen war die mitochondriale Funktion reduziert. Der Effekt war am ausgeprägtesten, wenn

Substrate der Komplexe I und IV appliziert wurden, und am geringsten für Succinat, das als Substrat des Komplexes II dient [22].

Im Kokultursystem von LPS behandelten Kupffer-Zellen und Hepatozyten verminderten die NOS-Inhibitoren „ N^G -L monomethyl arginine“ (L-NMMA, unspezifische NOS-Inhibition) und Aminoguanidin (spezifischer iNOS-Inhibitor) den Abfall der mitochondrialen Funktion zum Zeitpunkt 4 h; dies spricht für eine Beteiligung von NO [44]. In Hepatozyten, die nach Induktion einer abdominalen Peritonitis isoliert wurden, führte IL-1 β zeitabhängig zu einer Zunahme der NO-Produktion [77]. Parallel hierzu kam es zu einer Abnahme des zellulären ATP-Gehalts und zu einer starken Reduktion des Verhältnisses von Acetacetat zu β -Hydroxybutyrat („ketone body ratio“, KBR), das direkt proportional zum mitochondrialen Quotienten von freiem NAD $^+$ zu NADH+H $^+$ ist. Diese Veränderungen wurden durch L-NMMA verhindert, was für eine Beteiligung von NO spricht. In diesem Zusammenhang wurde auch in einer klinischen Untersuchung bei Patienten, die im Rahmen einer Sepsis verstarben, eine Korrelation von erhöhten Plasma-Nitrat-/Nitrit-Spiegeln mit stark erniedrigter KBR beobachtet [62].

Befunde an intestinalen Epithelzellen

In kultivierten Darmepithelzellen führte die Inkubation mit einem Zytokinmix aus TNF- α , IL-1 β und Interferon- (IFN-) γ zu einer Zunahme der anaeroben Glykolyse und einem vermehrten ATP-Umsatz bei vermindertem Gehalt an NAD $^+$ /NADH+H $^+$ [7, 40]. Der vermehrte zelluläre ATP-Umsatz war durch eine Zunahme der Protein- und Nukleinsäuresynthese unter Zytokinstimulation bedingt [7]. Interessanterweise führte die inflammatorische Stimulation unter Hypoxie zu einer weiteren Verstärkung dieser Effekte. Erhöhte anaerobe Glykolyse und Reduktion der mitochondrialen Funktion unter Zytokinstimulation wurden darüber hinaus auch in anderen Zelltypen wie Myozyten, Myoblasten und Makrophagen gezeigt [2, 5, 45]. Im Modell der zytokinstimulierten Enterozyten verhinderten mehrere Sub-

stanzen den Abfall des zellulären Sauerstoffverbrauchs. So waren „scavenger“ für Superoxidanionen und NO ebenso effektiv wie ein PARP-Inhibitor und eine Substanz, die den Zerfall von Peroxynitrit beschleunigt [40]. Diese Befunde weisen auf eine wesentliche Rolle der peroxynitriduzierten DNA-Schädigung hin. Die Bedeutung der massiv gesteigerten NO-Produktion wurde auch in der Magen- und Ileumschleimhaut demonstriert; hier verminderte Aminoguanidin den Abfall der mitochondrialen Aktivität und die Abnahme des Sauerstoffverbrauchs nach LPS-Gabe [41, 78].

Darüber hinaus führte in zytokinstimulierten Enterozyten die Substitution von NAD⁺ in liposomaler Form zu einer Normalisierung des zellulären O₂-Verbrauchs [40]. Die Substitution von NAD⁺ verminderte dabei insbesondere die Störung der intestinalen Barrierefunktion. Des Weiteren waren die Aktivierung von NF-κB, iNOS und die konsekutive NO-Produktion in zytokinstimulierten Enterozyten reduziert [57]. Diese Befunde belegen, dass extrazelluläres NAD⁺ nicht nur zu einer Normalisierung des zellulären O₂-Verbrauchs führt, sondern auch antiinflammatorisch wirksam ist.

Therapeutische Ansätze

Aus diesen Erkenntnissen wurde eine Reihe neuer innovativer Therapieansätze abgeleitet und experimentell erprobt. Darüber hinaus liefern sie auch Erklärungsmodelle für bereits bekannte Effekte.

Eine Vielzahl tierexperimenteller Untersuchungen konnte zeigen, dass die selektive Inhibierung der induzierbaren NO-Synthase, die zur Produktion großer Mengen von NO und RNS führt, die Organfunktion und das Überleben verbessert [41, 49, 54, 74]. Im Gegensatz dazu erbrachten tierexperimentelle Studien zur unspezifischen Hemmung der NOS, die mit dem Ziel der Aufhebung der Vasoconstriction durchgeführt wurden, uneinheitliche Ergebnisse, und eine klinische Phase-III-Studie musste aufgrund einer signifikanten Zunahme der Mortalitätsrate in der Behandlungsgruppe vorzeitig abgebrochen werden [51].

Vor dem Hintergrund der hohen pathophysiologischen Bedeutung von mi-

tochondrial produzierten ROS wurden Antioxidanzien entwickelt, die spezifisch das mitochondriale Kompartiment erreichen. So verbesserte ein zellpermeables Peptidantioxidans, SS-31, das in Mitochondrien stark angereichert wird, die myokardiale Kontraktilität nach Ischämie-Reperfusions-Schädigung am Meerschweinchenherzen und verminderte die Infarktausdehnung nach zerebraler Ischämie im Mausmodell [15, 86].

Ein Vertreter einer weiteren Klasse von Antioxidanzien, die selektiv in Mitochondrien angereichert werden, ist die Verbindung XJB-5-131. Der antioxidativ wirksame Teil besteht aus einem Nitroxidradikal, das durch Annahme eines Elektrons zu einem Hydroxylamin reduziert wird und dann als ROS-Scavenger dient. Hydroxylamine besitzen eine Superoxid-dismutaseaktivität, wodurch die Reaktion des Superoxidanions mit NO und die nachfolgende Bildung von Peroxynitrit verhindert werden. Zur mitochondrialen Akkumulation wurde diese antioxidativ wirksame Verbindung an ein Fragment von Gramicidin S, einem zellmembranwirksamen Antibiotikum, gekoppelt. XJB-5-131 verbesserte die Barrierefunktion der Ileumschleimhaut und verlängerte das Überleben von Ratten nach hämorrhagischem Schock. Die Substanz reduzierte auch die iNOS-Aktivierung und NO-Produktion von Mäusen 24 h nach intraperitonealer LPS-Gabe [26].

Möglicherweise hat die Wahl des Energiesubstrats einen Einfluss auf die mitochondriale Funktion. So verbesserte die Applikation von Succinat als Substrat die myokardiale Funktion nach Ischämie-Reperfusions-Schaden [13], und die Infusion von Succinatdimethylester verminderte den Abfall des ATP-Spiegels von Hepatozyten und verbesserte das Überleben in Modellen der experimentell induzierten Sepsis [24, 52].

Daneben stellen auch die exogene Zufuhr von Zytochrom c und liposomalem NAD⁺, wie bereits beschrieben, mögliche neue therapeutische Strategien zur Prävention bzw. Therapie des Organversagens dar.

Exogene Zufuhr von Zytochrom c und liposomalem NAD⁺, mitochondrienspez. Antioxidanzien und HMGB1-Antagonisten als mögliche neue Therapieansätze

Die Inhibierung des DNA-Reparaturenzyms PARP verbesserte in tierexperimentellen Studien zwar signifikant das Überleben in Modellen der Sepsis und Endotoxinämie [33]. Eine therapeutische Anwendung beim Menschen ist allerdings aufgrund der hohen Bedeutung von DNA-Reparaturmechanismen zur Vermeidung von Mutationen und zur Aufrechterhaltung der genomischen Integrität sicherlich zurückhaltend zu sehen.

Auf der Ebene der Modulation proinflammatorischer Mediatoren verdient HMGB1 besondere Beachtung. Wie zuvor erwähnt, wird HMGB1 zeitlich verzögert freigesetzt und ist demnach als später Mediator im Rahmen der systemischen Inflammation anzusehen. Neutralisierende Antikörper gegen HMGB1 führten ebenso wie Äthylpyruvat, das die HMGB1-Freisetzung hemmt, sowie ein Fragment des HMGB1, die sogenannte A-Box, das als HMGB1-Antagonist wirkt, zu einer Reduktion der Mortalitätsrate in tierexperimentellen Modellen der Sepsis (zur Übersicht [82]). Mit Blick auf die klinische Situation bei der Behandlung septischer Patienten ist hierbei das verlängerte therapeutische Zeitfenster mit einem Behandlungserfolg auch bei Applikation dieser Substanzen bis 24 h nach dem initierenden Ereignis von besonderer Bedeutung.

Das Konzept der zellulären Sauerstoffverwertungsstörung liefert einen wesentlichen Beitrag zum besseren Verständnis der Pathophysiologie des Organversagens. Allerdings stehen bislang noch keine diagnostischen Verfahren zur Verfügung, die routinemäßig eingesetzt werden können, um die Beeinträchtigung des bioenergetischen Status von Zellen und Organen zu quantifizieren. Derzeit werden zum einen die Nahinfrarot-Spektroskopie, die den Redoxstatus des Zytochrom aa₃ messen und somit Informationen über die Funktion der Atmungskette geben kann [65], sowie die „³¹P nuclear magnetic resonance“ (³¹P-NMR), mithilfe deren die Umsatzraten der energierei-

chen Phosphate bestimmt werden können [42], experimentell erprobt. Diese Verfahren könnten hilfreiche zusätzliche Informationen liefern und neben den globalen Parametern ein Monitoring der zellulären Sauerstoffverwertung und Energiegewinnung ermöglichen. Hierdurch könnte auch die Effektivität neuer Therapieverfahren auf den Energiestatus von Zellen und Organen charakterisiert und mit den klinischen Routineparametern zur Beurteilung der Kreislauf- und Organfunktion korreliert werden.

Fazit für die Praxis

Auch wenn die beschriebenen erweiterten diagnostischen Verfahren zur Bestimmung des zellulären Energiestatus in der klinischen Praxis derzeit noch fehlen, ist mit den aktuell gültigen Richtlinien zur Diagnose und Behandlung der Sepsis ein wichtiger Fortschritt im Konzept zur Behandlung der Sepsis erzielt worden. Die konsequente hämodynamische Stabilisierung und das frühzeitige Erreichen einer zentralvenösen Sauerstoffsättigung über 70% tragen entscheidend zur Verbesserung der Prognose von septischen Patienten bei, und die Studien zur EGDT zeigen, dass parallel zur Verbesserung der Organfunktionen auch die systemische Entzündungsreaktion vermindert wird. Dabei steht die Bedeutung des rechtzeitigen Ergreifens der therapeutischen Maßnahmen mit Erreichen der vorgegebenen Zielparameter in vollem Einklang mit dem zeitlichen Ablauf der pathophysiologischen Prozesse. Umgekehrt wird im Blick auf das dargelegte pathophysiologische Konzept auch klar, warum spät einsetzende therapeutische Interventionen mit dem Ziel der hämodynamischen Optimierung und der Verbesserung des zellulären Sauerstoffangebots den Verlauf der Sepsis nicht günstig beeinflussen können, da es dann schon zu irreversiblen Schädigungen der Mitochondrien gekommen ist und sich ein Circulus vitiosus aus Organfunktion, Kreislaufinsuffizienz und hypoxisch-ischämischer Triggerung des Entzündungsgeschehens entwickelt hat. Inwiefern hier die oben erwähnten neuen Therapieoptionen den Krankheitsverlauf

günstig beeinflussen können, wird die Zukunft zeigen.

Korrespondenzadresse

Dr. M. Wendel



Institut für Physiologie,
Medizinische Fakultät
Carl Gustav Carus, TU Dresden
Fiedlerstr. 42, 01307 Dresden
Martina.Wendel@gmx.de

Interessenkonflikt. Es besteht kein Interessenkonflikt.

Literatur

1. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O (2006) Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124:783–801
2. Albina JE, Mastrofrancesco B (1993) Modulation of glucose metabolism in macrophages by products of nitric oxide synthase. *Am J Physiol Cell Physiol* 264:C1594–C1599
3. Basta G, Lazzarini G, Massaro M et al (2002) Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE. *Circulation* 105:816–822
4. Batthyany C, Souza JM, Duran R et al (2005) Time course and site(s) of cytochrome c nitration by peroxynitrite. *Biochemistry* 44:8038–8046
5. Baumgarten G, Knefermann P, Schuhmacher G et al (2006) Toll-like receptor 4, nitric oxide and myocardial depression in endotoxemia. *Shock* 25:43–49
6. Benigni F, Atsumi T, Calandra T et al (2000) The proinflammatory mediator macrophage migration inhibitory factor induces glucose catabolism in muscle. *J Clin Invest* 106:1291–1300
7. Berg S, Sappington PL, Guzik LJ (2003) Proinflammatory cytokines increase the rate of glycolysis and adenosine-5'-triphosphate turnover in cultured rat enterocytes 31:1203–1212
8. Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M et al (2001) Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor NF-κB. *Diabetes* 50:2792–2808
9. Biolo G, Antonione R, De Cicco M (2007) Glutathione metabolism in sepsis. *Crit Care Med* 35 [Suppl]: S591–S595
10. Brealey D, Brand M, Hargraves I et al (2002) Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet* 360:219–223
11. Brown GC, Borutaite V (2007) Nitric oxide and mitochondrial respiration in the heart. *Cardiovasc Res* 75:283–290
12. Brunckhorst FM, Engel C, Bone H-G et al; The German Competence Network Sepsis (SepNet) (2005) Epidemiology of severe sepsis and septic shock in Germany – results from the German Prevalence Study. *Crit Care* 9 [Suppl 1]:83
13. Cairns CB, Ferroggiaro AA, Walther JM et al (1997) Postischemic administration of succinate reverses the impairment of oxidative phosphorylation after cardiac ischemia and reperfusion injury. *Circulation* 96 [Suppl 9]:II260–265
14. Castro L, Eiserich JP, Sweeney S et al (2004) Cytochrome c: a catalyst and target of nitrite-hydrogen peroxide-dependent protein nitration. *Arch Biochem Biophys* 421:99–107
15. Cho S, Szeto HH, Kim E et al (2007) A novel cell-permeable antioxidant peptide, SS31, attenuates ischemic brain injury by down-regulating CD36. *J Biol Chem* 282:4634–4642
16. Clayton DA (1992) Transcription and replication of animal mitochondrial DNAs. *Int Rev Cytol* 141:217–232
17. Cleeter MW, Cooper JM, Darley-Usmar VM et al (1994) Reversible inhibition of cytochrome C oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett* 345:50–54
18. Corda S, Laplace C, Vicaut E et al (2001) Rapid reactive oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor- α is mediated by ceramide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 24:762–768
19. Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S et al (2006) The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radic Biol Med* 40:398–406
20. Crouser ED, Julian MW, Dorinsky PM (1999) Ileal VO(2)-DO(2) alterations induced by endotoxin correlate with severity of mitochondrial injury. *Am J Respir Crit Care Med* 160:1347–1353
21. Crouser ED, Julian MW, Weinstein DM et al (2000) Endotoxin-induced ileal mucosal injury and nitric oxide dysregulation are temporally dissociated. *Am J Respir Crit Care Med* 161:1705–1712
22. Crouser ED, Julian MW, Blaho DV et al (2002) Endotoxin-induced mitochondrial damage correlates with impaired respiratory activity. *Crit Care Med* 30:276–284
23. Dali-Yousef N, Lagouge M, Froelich S et al (2007) Sirtuins: the „magnificent seven“, function, metabolism and longevity. *Ann Med* 39:335–345
24. Ferreira FL, Ladrière L, Vincent JL et al (2000) Prolongation of survival time by infusion of succinic acid dimethyl ester in a caecal ligation and perforation model of sepsis. *Horm Metab Res* 32:335–336
25. Fink MO (2002) Bench-to-bedside review: cytopathic hypoxia. *Crit Care* 6:491–499
26. Fink MP, Macia CA, Xiao J et al (2007) Hemigranulin-TEMPO conjugates: novel mitochondria-targeted antioxidants. *Crit Care Med* 35 [Suppl]:S461–S467
27. Flierl MA, Rittirsch D, Huber-Lang MS et al (2008) Molecular events in the cardiomyopathy of sepsis. *Mol Med* 14:327–336
28. Franchi L, McDonald C, Kanneganti TD et al (2006) Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors: intracellular pattern recognition molecules for pathogen detection and host defense. *J Immunol* 177:3507–3513
29. Frederiksson K, Hammarqvist F, Strigard K et al (2006) Derangements in mitochondrial metabolism in intercostals and leg muscle of critically ill patients with sepsis-induced multiple organ failure. *Am J Physiol* 291:E1044–E1050
30. Frederiksson K, Rooyackers O (2007) Mitochondrial function in sepsis: respiratory versus leg muscle. *Crit Care Med* 35 [Suppl]:S449–S453
31. Garcia-Ruiz C, Colell A, Mari M et al (1997) Direct effect of ceramide on the mitochondrial electron transport chain leads to generation of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 272:11369–11377
32. Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P et al (1995) A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. *SvO₂ Collaborative Group. N Engl J Med* 333:1025–1032

33. Gerö D, Szabo C (2008) Poly(ADP-ribose) polymerase: a new therapeutic target? *Curr Opin Anesthesiol* 21:111–121
34. Gibot S, Massin F, Cravois A et al (2007) High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock. *Intensive Care Med* 33:1347–1353
35. Han X, Uchiyama T, Sappington PL et al (2003) NAD+ ameliorates inflammation-induced barrier dysfunction in cultured enterocytes and mouse ileal mucosa. *J Pharmacol Exp Ther* 307:443–449
36. Hayes MA, Timmins AC, Yau EHS et al (1994) Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients. *N Engl J Med* 330:1717–1722
37. Hickson-Bick DL, Jones C, Buja LM (2008) Stimulation of mitochondrial biogenesis and autophagy by lipopolysaccharide in the neonatal rat cardiomyocyte protects against programmed cell death. *J Mol Cell Cardiol* 44:411–418
38. Howard M, Grimaldi JC, Bazan JF et al (1993) Formation and hydrolysis of cyclic ADP-ribose catalyzed by lymphocyte antigen CD38. *Science* 262:1056–1059
39. Kawai T, Akira S (2007) Signaling to NF- κ B by toll-like receptors. *Trends Mol Med* 13:460–469
40. Khan AU, Delude RL, Han YH et al (2002) Liposomal NAD(+) consumption prevents diminished O(2) consumption by immunostimulated CaCo-2 cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 282:L1082–L1091
41. King CJ, Tytgat S, Delude RL et al (1999) Ileal mucosal oxygen consumption is decreased in endotoxemic rats but is restored toward normal by treatment with aminoguanidine. *Crit Care Med* 27:2518–2524
42. Kobayashi A, Okayama Y, Yamazaki N (1993) 31P-NMR magnetization transfer study of reperfused rat heart. *Mol Cell Biochem* 119:121–127
43. Kobayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Chen C et al (2005) SIRT1 is a critical regulator of FOXO-mediated transcription in response to oxidative stress. *Int J Mol Med* 16:237–243
44. Kurose I, Miura S, Higuchi H et al (1996) Increased nitric oxide synthase activity as a cause of mitochondrial dysfunction in rat hepatocytes: roles of tumor necrosis factor alpha. *Hepatology* 24:1185–1192
45. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z et al (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 127:1109–1122
46. Larche J, Lancel S, Hassoun SM et al (2006) Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents sepsis-induced myocardial dysfunction and mortality. *J Am Coll Cardiol* 48:377–385
47. Levy RJ, Deutschmann CS (2007) Cytochrome c oxidase dysfunction in sepsis. *Crit Care Med* 35[Suppl]:S468–S475
48. L'Her E, Sebert P (2001) A global approach to energy metabolism in an experimental model of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 164:1444–1447
49. Liaudet L, Rossette A, Schaller MD et al (1998) Non-selective versus selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental endotoxic shock. *J Infect Dis* 177:127–132
50. Lin SM, Huang CD, Lin HC et al (2006) A modified goal-directed protocol improves clinical outcome in intensive care patients with septic shock: a randomized controlled trial. *Shock* 26:551–557
51. Lopez A, Lorente JA, Steingrub J et al (2004) Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. *Crit Care Med* 32:21–30
52. Malaisse WJ, Nadi AB, Ladrière L et al (1997) Protective effects of succinic acid dimethyl ester infusion in experimental endotoxemia. *Nutrition* 13:330–341
53. Malanga M, Althaus FR (2005) The role of poly(ADP-ribose) in the DNA damage signaling network. *Biochem Cell Biol* 83:354–364
54. Matejovic M, Krouzecký A, Martinková V et al (2004) Selective inducible nitric oxide synthase inhibition during long-term hyperdynamic porcine bacteremia. *Shock* 21:458–465
55. Nemoto S, Vallejo JG, Kneuermann P et al (2002) Escherichia coli LPS-induced LV dysfunction: role of toll-like receptor-4 in the adult heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:H2316–H2323
56. Park JS, Svetkauskaitė D, He Q et al (2004) Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem* 279:7370–7377
57. Protti A, Carre J, Frost MT et al (2007) Succinate recovers mitochondrial oxygen consumption in septic rat muscle. *Crit Care Med* 35:2150–2155
58. Rivers EP, Kruse JA, Jacobsen G et al (2007) The influence of early hemodynamic optimization on biomarker patterns of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 35:2016–2024
59. Rivers E, Nguyen B, Havstad S et al (2001) Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 345:1368–1377
60. Rodgers JT, Lerin C, Haas W et al (2005) Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1α and SIRT1. *Nature* 434:113–118
61. Robinson MJ, Sancho D, Slack EC et al (2006) Myeloid C-type lectins in innate immunity. *Nat Immunol* 7:1258–1265
62. Saito S, Kamiyama Y, Kitade H et al (2000) Nitric oxide production and hepatic dysfunction in patients with postoperative sepsis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27:197–201
63. Sauve AA, Wolberger C, Schramm VL, Boeke JD (2006) The biochemistry of sirtuins. *Annu Rev Biochem* 75:435–465
64. Scovassi AI (2004) Mitochondrial poly(ADP-ribosylation): from old data to new perspectives. *FASEB J* 18:1487–1488
65. Schaefer CF, Lerner MR, Biber B (1991) Dose-related reduction of intestinal cytochrome a₁a₃ induced by endotoxin in rats. *Circ Shock* 33:17–25
66. Shi T, Wang F, Stieren E et al (2005) SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem* 280:13560–13567
67. Singer M, de Santis V, Vitale D, Jeffcoate W (2004) Multorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. *Lancet* 364:545–548
68. Solomon MA, Correa R, Alexander HR (1994) Myocardial energy metabolism and morphology in a canine model of sepsis. *Am J Physiol* 266:H757–H768
69. Soriano FG, Nogueira AC, Caldini EG et al (2006) Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial dysfunction associated with septic shock. *Crit Care Med* 34:1073–1079
70. Suliman HB, Carraway MS, Piantadosi CA (2003) Postlipopolysaccharide oxidative damage of mitochondrial DNA. *Am J Respir Crit Care Med* 167:570–579
71. Suliman HB, Carraway MS, Welty-Wolf KE et al (2003) Lipopolysaccharide stimulates mitochondrial biogenesis via activation of nuclear respiratory factor-1. *J Biol Chem* 278:41510–41518
72. Suliman HB, Welty-Wolf KE, Carraway M et al (2004) Lipopolysaccharide induces oxidative cardiac mitochondrial damage and biogenesis. *Cardiovasc Res* 64:279–288
73. Suliman HB, Carraway MS, Tatro LG et al (2007) A new activating role for CO in cardiac mitochondrial biogenesis. *J Cell Sci* 120:299–308
74. Sundén-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Rouhainen A et al (2005) Persistent elevation of high-mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 33:564–573
75. Svistunenko DA, Davies N, Brealey D et al (2006) Mitochondrial dysfunction in patients with severe sepsis: an EPR interrogation of individual respiratory chain components. *Biochim Biophys Acta* 1757:262–272
76. Tatsumi T, Akashi K, Keira N et al (2004) Cytokine-induced nitric oxide inhibits mitochondrial energy production and induces myocardial dysfunction in endotoxin-treated rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 37:775–784
77. Tu W, Saito S, Zhang Z et al (2003) Hepatocellular dysfunction induced by nitric oxide production in hepatocytes isolated from rats with sepsis. *Shock* 19:373–377
78. Unno N, Wang H, Menconi MJ et al (1997) Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin-induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. *Gastroenterology* 113:1246–1257
79. Vanhorebeek I, De Vos R, Mesotten D et al (2005) Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in critically ill patients. *Lancet* 365:53–69
80. van der Horst A, Tertoolen LG, de Vries-Smits LM et al (2004) FOXO4 is acetylated upon peroxide stress and deacetylated by the longevity protein human Sir2(SIRT1). *J Biol Chem* 279:28873–28879
81. Wang H, Yang H, Tracey KJ (2004) Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis. *J Int Med* 255:320–331
82. Wang H, Zhu S, Zhou R et al (2008) Therapeutic potential of HMGB1-targeting agents in sepsis. *Expert Rev Mol Med* 10:e32
83. Welty-Wolf KE, Simonson SG, Huang YC et al (1996) Ultrastructural changes in skeletal muscle mitochondria in gram-negative sepsis. *Shock* 5:378–384
84. Westphal CH, Dipp MA, Guarente L (2007) A therapeutic role for sirtuins in disease of aging? *Trends Biochem Sci* 32:555–560
85. Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS et al (2004) Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J* 23:2369–2380
86. Zhao K, Zhao GM, Wu D et al (2004) Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury. *J Biol Chem* 279:34682–34690