

## 6. Diskussion

### 6.1. Grundsätzliche Überlegungen zu den verwendeten Methoden

Störungen der mucosalen Durchblutung und ihre Auswirkungen auf die intestinale Barrierefunktion sind von grosser Bedeutung für die Pathogenese der Sepsis (Fink, 1993; Fink, 2003). So wurden in der Vergangenheit Modelle entwickelt, in denen vorwiegend der Einfluss von Endotoxin Gram-negativer Bakterien auf die Perfusion der Darmmucosa untersucht wurde. In diesen Studien konnte gezeigt werden, dass es unter dem Einfluss von Endotoxin zu einer Abnahme der Mucosaperfusion kommt (Tugtekin, 2001; Nakajima, 2001; Adolphs, 2004), welche in den *in-vivo* Modellen immer im Zusammenhang mit der systemischen Zirkulation gesehen werden muss. Dabei ist es unklar wie sich in diesen Modellen systemisch zirkulierende humorale Faktoren oder vegetative Stimuli auf die Darmperfusion im Gesamten ausgewirkt haben und welchen Anteil lokale Störungen der Mikrozirkulation hatten. Störungen der intestinalen Mikrozirkulation können eine Umverteilung des Blutflusses innerhalb der Darmwand beinhalten. Diese Umverteilung kann zu Ungunsten der Mucosa sein (Vallet, 1994; Mayer, 1999; Pittner, 2003) aber auch zur Mucosa hin gerichtet sein (Adolphs, 2004). Die Umverteilung der Perfusion ist unabhängig von Parametern der Makrozirkulation und kann in der Sepsis auch bei (noch) stabiler Kreislaufsituation zu einer Störung der mucosalen Perfusion führen (Nakajima, 2001).

Zur Untersuchung der Fragestellung wurde ein isoliertes Rattenileummodell (Brell, 2005b) mit konstantem Perfusionsfluss verwendet. Widerstandserhöhungen in der intestinalen Strombahn führen bei konstantem Perfusionsdruck zu einer Drosselung der Darmdurchblutung insgesamt (Widerstand = Druck/Fluss). Da das Ziel der vorliegenden Studie aber die Untersuchung der Wirkung eines Toxins auf die Mikrozirkulation der Mucosa und deren therapeutische Beeinflussung war, wurde der Perfusatsfluss konstant gehalten, um für die Analyse von Perfusionsumverteilungen innerhalb der Darmwand einheitliche Ausgangsbedingungen zu gewährleisten. Die Untersuchungen am isolierten Rattenileum wurden mit einem intravitalmikroskopischen Aufbau zur Untersuchung der mucosalen Mikrozirkulation kombiniert. Dadurch war es möglich, lokale Veränderungen der Mikrozirkulation einschließlich des Phänomens der Perfusionsumverteilung unabhängig von Parametern der systemischen Zirkulation zu untersuchen. Dadurch ist das isolierte Ileummodell dem Ganztierversuch bei der Untersuchung lokaler Mikrozirkulationsveränderungen überlegen.

Bezüglich der Wirkung von Adrenomedullin auf die Vasomotorik werden zwei Mechanismen beschrieben. Es handelt sich um indirekte endothelabhängige Effekte, die über eine endotheliale

Stickoxidfreisetzung (NO) vermittelt werden, und um direkte Effekte an der glatten Gefäßmuskulatur, die mit einem Anstieg des intrazellulären cAMP assoziiert sind (Yoshimoto, 1998). Im isolierten Organmodell sind somit die entscheidenden Komponenten (Endothel, glatte Muskulatur) enthalten, die an der Vermittlung der Adrenomedullin-abhängigen Vasorelaxation beteiligt sind, so dass der Einfluss von Adrenomedullin auf die Gefäßregulation des Darmes an diesem Modell untersucht werden kann. Die analytische Aussagekraft des Modells ist aufgrund der messtechnischen Möglichkeiten, die sich durch den isolierten Ansatz bieten, als hoch einzustufen. Es muss jedoch bei der Beurteilung und Einordnung der Ergebnisse der artifizielle Ansatz im Vergleich zur Situation *in vivo* berücksichtigt werden.

Zur Intravitalmikroskopie wurde ein Abschnitt des terminalen Ileums mit dem Elektrokauter eröffnet und die Mucosa nach außen gekehrt. Die ausgebreitete Ileummucosa wurde durch Frischhaltefolie vor Austrocknung und mittels körperwarmer Elektrolytlösung vor Auskühlung geschützt. Für eine ausreichende Auflösung sorgte ein 20-faches Wasserimmersionsobjektiv. Aufgrund der optischen Eigenschaften des verwendeten Objektivs und bedingt durch die Arbeit mit dem Auflichtverfahren konnten Gefäße nur bis zu einer Tiefe von ca. 100µm untersucht werden. Die Messung der Erythrozytengeschwindigkeit bezog sich dabei auf den Bereich der Villusspitzen und den dort befindlichen Endverzweigungen der Villusarteriolen. Die Villusspitzen stellen aufgrund von Besonderheiten der Gefäßarchitektur den vulnerabelsten Teil der Darmmucosa dar (Sorrells, 1996). Das Phänomen der Gegenstromdiffusion, bei dem an der Villusbasis der Sauerstoff ungenutzt von der Villusarterie in die eng benachbarte Villusvene diffundieren kann (Shepherd, 1992) trägt dazu bei, dass Störungen der mucosalen Perfusion bevorzugt zur Hypoxieschädigung der Villusspitzen führen (Sorrells, 1996). Somit ist es aus pathophysiologischer Hinsicht sinnvoll die Perfusion an der Villusspitze zu untersuchen. Die in dem isolierten Ileumsegment mittels Doppelblitztechnik gemessenen durchschnittlichen Erythrozytengeschwindigkeiten lagen hierbei zwischen 1,2 und 1,6 mm/s, was in guter Übereinstimmung mit den *in vivo* am Rattenileum gemessenen Werten ist (Nakajima, 2001; Adolphs, 2004), so dass die erreichte Mucosaperfusion in dem isolierten Ileummodell der Situation *in vivo* entsprach. Die Perfusion  $Q$  in einem Gefäß wird aus dem Produkt des Gefäßdurchmessers  $D$  zum Quadrat und der Perfusionsgeschwindigkeit  $V$  berechnet ( $Q = D^2 * V * \pi/4$ ) (Bertuglia, 2003). Da die Gefäßdurchmesser an den Villusspitzen sich in den Versuchsgruppen nicht unterschieden und es im Versuchsverlauf zu keinen Änderungen kam, kann angenommen werden, dass die gemessenen Erythrozytengeschwindigkeiten in direktem linearen Zusammenhang mit der Perfusion stehen. So ist es für

diese Arbeit möglich die Begriffe Erythrozytengeschwindigkeit und Perfusion synonym zu verwenden.

Um die Auswirkungen einer veränderten Villusperfusion auf die Sauerstoffversorgung bewerten zu können, wurde über eine spektrophotometrische Sonde die Hämoglobin-Sauerstoffsättigung in der Ileummucosa gemessen. Die bei dieser Messung erreichte Messtiefe war abhängig von der geometrischen Anordnung der im Sensor eingearbeiteten Lichtleiter und betrug bei dem gewählten Sensor bis zu 100  $\mu\text{m}$ . Dadurch wurde gewährleistet, dass die Messtiefe der mucosalen Oxygenierung sich mit der intravitalmikroskopisch durchgeführten Perfusionsmessung deckte und ebenfalls in der Höhe der Villusspitzen lag. Zur Messung der Mucosaoxygenierung und der Perfusion wurde das terminale Ileum ausgewählt. Im Zusammenhang mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen ist bekannt, dass insbesondere das terminale Ileum ein immunologisch bedeutsamer Darmabschnitt ist. Darüber hinaus erlangt das Ileum beim kritisch Kranken eine besondere Bedeutung, da es von dort aus zur pathologischen Besiedlung des ansonsten keimarmen Dünndarms kommt (Bauer, 2002). Bezüglich der mucosalen Oxygenierung dieses Darmabschnittes und dessen Änderungen während der Sepsis gibt es beim Menschen aus methodischen Gründen noch keine Erkenntnisse. Ersatzweise wurde beim Menschen bisher die Oxygenierung der durch Endoskopie besser zugänglichen Magenschleimhaut gemessen. Hierbei wurde bei gesunden Probanden ein Oxygenierungsgrad der Magenschleimhaut zwischen 60 und 70 % ermittelt (Temmesfeld-Wollbrück, 1998). Die Oxygenierung der Dünndarmmucosa *in vivo* wurde tierexperimentell nur nach chirurgischer Eröffnung von Bauch- und Darmwand gemessen, wobei die Sauerstoffsättigung des Rattenileums und des Schweinejejunums jeweils bei 50% lag (Pajk, 2002; Pullamsetti, 2006). Die im Rahmen dieser Studie am isolierten Rattenileum spektrophotometrisch gemessene mucosale Hämoglobinoxxygenierung lag unter Kontrollbedingungen zwischen 68 und 75% und befand sich daher im hochnormalen Bereich, was die Intaktheit des isolierten Ileumpräparates unterstreicht. Neben dem Oxygenierungsgrad des mucosalen Hämoglobins erfasste die spektrophotometrische Sonde die Gesamtabsorption des Hämoglobins und errechnete daraus einen relativen Wert für die Hämoglobinkonzentration in der Mucosa. Veränderungen des mucosalen Hämoglobingehaltes können durch Hämatokritänderungen sowie durch Änderungen des Füllungszustandes der Kapillaren bedingt sein. Bei gleichbleibendem Hämatokritwert und gleichbleibender oder abfallender kapillärer Perfusion ist ein Anstieg der mucosalen Hämoglobinkonzentration als die Folge eines gestörten venösen Abflusses mit venöser Kongestion zu deuten (Leung, 1987). Leung et al. demonstrierten am Kolon von Ratten, dass es im

Vergleich zu anderen Verfahren zur Perfusionsmessung nur mit der Remissionsspektrophotometrie möglich war, die Auswirkung eines gezielt angelegten venösen Stauungsdrucks als Anstieg der mucosalen Hämoglobinkonzentration zu erfassen (Leung, 1987).

Ursache hierfür kann eine postkapilläre Vasokonstriktion sein, die in der Literatur als Bestandteil septischer Mikrozirkulationsstörungen beschrieben wurde (Lee, 1994; Mayer, 1999; Laroux, 2001). Insgesamt erlaubte der Einsatz der spektrophotometrischen Sonde ergänzend zur intravitalmikroskopischen Perfusionsmessung eine detaillierte Beurteilung von Mikrozirkulationsstörungen.

Störungen der Mikrozirkulation können zur lokalen Fehlverteilung des Blutflusses und zum Shuntfluss führen. In dessen Folge kommt es zu einer Verschlechterung der Sauerstoffaufnahme in den Organen. Um das Ausmaß eines etwaigen Shuntflusses abschätzen zu können wurde die Sauerstoffaufnahme des Ileumpräparats bestimmt.

Das Sauerstoffangebot betrug unter Kontrollbedingungen  $9,0 \pm 0,3$  ml O<sub>2</sub>/min pro 100g Darmgewebe, wovon etwa 20 % ( $1,8 \pm 0,1$  ml O<sub>2</sub>/min\*100g) vom Organ aufgenommen wurde. Nach Umrechnung zeigte sich, dass die Sauerstoffaufnahme von  $1,7 \mu\text{mol O}_2/\text{min}\cdot\text{g}$  mit den in anderen Modellen gemessenen Werten, die zwischen  $1,1$  und  $5,4 \mu\text{mol O}_2/\text{min}\cdot\text{g}$  lagen, übereinstimmte (Andlauer, 2000; Rigalli, 2001; Andlauer, 2004). Der prozentuale Anteil des aufgenommenen Sauerstoffs im Verhältnis zum Angebot wird als Sauerstoffextraktion bezeichnet. Es ist bekannt, dass der Darm einen großen Teil des zugeführten Sauerstoffs nicht ausschöpft, so dass über das portalvenöse Blut ein Teil des Sauerstoffbedarfs der Leber gedeckt werden kann. Die Sauerstoffextraktion des isolierten Ileums betrug 20 %, was in guter Übereinstimmung mit in vivo durchgeführten Messungen ist. Die Angaben in der Literatur bezüglich intestinaler Sauerstoffextraktion reichen von 18 bis 34 % (Stonestreet, 1998; van Bommel, 2000; Trager, 2000).

In der Summe konnte gezeigt werden, dass die Parameter, die in den Untersuchungen gemessen wurden am Ende der Baseline vor Beginn der eigentlichen Experimentalphase im physiologischen Bereich lagen und in der Kontrollgruppe während des weiteren Versuchsverlaufs stabil blieben.

## **6.2. Effekte von $\alpha$ -Toxin auf die mucosale Mikrozirkulation des isolierten Ileumsegmentes**

*Staphylococcus aureus* gehört zu den klinisch bedeutendsten Sepsiserregern und der überwiegende Teil der isolierten Staphylokokkenstämme bilden das aggressive  $\alpha$ -Toxin, ein porenbildendes Exotoxin (Li, 1997). Da *Staphylococcus aureus* häufig im Blut septischer Patienten gefunden

wird (Lowy, 1998), ist davon auszugehen, dass es zu einer systemischen Wirkung von  $\alpha$ -Toxin kommt. In der vorliegenden Arbeit wurde das Toxin in einer Konzentration von 0,05  $\mu\text{g/ml}$  dem arteriellen Perfusat kontinuierlich zugeführt. In dieser Dosierung führte Alphatoxin am isolierten Ileumsegment zu einer Vasokonstriktion, mit Anstieg des Perfusionswiderstandes um 60 %.

Es ist davon auszugehen, dass vaskuläre Endothelzellen das primäre Angriffsziel des über den Blutweg anflutenden  $\alpha$ -Toxins darstellen. Vaskuläre Endothelzellen dienen nicht nur dazu, das Gefäßsystem auszukleiden und dessen Dichtigkeit zu gewährleisten. Sie sind darüber hinaus inflammatorisch aktive Zellen und in der Lage zahlreiche Inflammationsmediatoren zu bilden, die über systemische, auto- und parakrine Effekte die Gefäßregulation beeinflussen (Volk, 2000). Es konnte gezeigt werden, dass durch  $\alpha$ -Toxin aktivierte Endothelzellen zur Freisetzung sowohl von vasokonstriktorisches (Thromboxan A<sub>2</sub>, Platelet activating factor [PAF]) als auch vasodilatativen Mediatoren (Prostaglandin I<sub>2</sub>, Stickoxid [NO]) angeregt werden (Suttorp, 1985; Suttorp, 1992; Suttorp, 1993; Sibelius, 2000). Untersuchungen an einem isolierten Kaninchenileum (Brell, 2004) in der isolierten Kaninchenlunge (Seeger, 1984), dem isolierten Rattenherzen (Sibelius, 2000) und *in vivo* bei Schafen (Harshman, 1992) zeigten, dass eine  $\alpha$ -Toxinexposition einen Anstieg des Perfusionsdruckes hervorruft. Diese Vasokonstriktion wurde in der isolierten Kaninchenlunge vorwiegend durch Thromboxan vermittelt (Walmrath, 1993), während im isolierten Kaninchenileummodell eher PAF-vermittelte Effekte eine Rolle spielten (Brell, 2004).

Die Intravitalmikroskopie zeigte, dass es während der Infusion von  $\alpha$ -Toxin insgesamt zu einer drastischen Minderung der Villusperfusion kam, wobei die gemessenen Perfusionsgeschwindigkeiten um mehr als 50 % unter den Ausgangswert abfielen. Die Darstellung der Verteilung der Erythrozytengeschwindigkeiten ergab, dass es ausgehend von einer Gauss'schen Verteilung der Einzelwerte zu einer ausgeprägten Linksverschiebung kam. Nach  $\alpha$ -Toxin lag der Anteil der sehr langsam perfundierten Villi mit Geschwindigkeiten  $< 0,4 \text{ mm/s}$  bei über 40 % und damit um ein Vielfaches höher als bei Kontrollversuchen ( $< 1 \%$ ). Eine vergleichbar drastische Senkung der Perfusion in den terminalen Villusarteriolen wurde von Nakajima et al. bei einer durch Endotoxin induzierten normotensiven Sepsis an Mäusen beschrieben (Nakajima, 2001). Auch Theuer et al. beobachtete am Darm von Ratten mit *E. coli*-Sepsis eine 40 %-ige Minderung der Mucosaperfusion, die sich unabhängig vom Blutfluss in der Arteria mesenterica superior ausbildete (Theuer, 1993). Die beschriebenen Veränderungen der Mikrozirkulation nach  $\alpha$ -Toxin entwickelten sich bei unveränderter Gesamtperfusion des Organs. Die Betrachtung der Gefäßarchitektur innerhalb

der Darmwand kann diesen Befund erklären. Die Blutversorgung der Darmwand geht von einem arteriellen submucösen Gefäßplexus aus, der durch mesenteriale Arterien gespeist wird. Aus diesem Gefäßplexus gehen Arteriolen zur Mucosa und zur Muscularis ab, deren Sauerstoffversorgung durch zwei parallel geschaltete Kreisläufe erfolgt (Dregelid, 1986; Bohlen, 1998). Eine Änderung der Widerstandsverteilung zwischen diesen beiden Kreisläufen hat somit auch eine Umverteilung der Perfusion zur Folge. Durch eine mucosale Vasokonstriktion kommt es bei gleichbleibender Gesamtpfusion des Darmes zu einer Minderdurchblutung der Mucosa und zu einer Redistribution des Blutflusses zugunsten der Muscularis. Als Widerstandsgefäße sind die submucösen Arteriolen und die zentralen Villusarteriolen an der Villusbasis an der Regulation des mucosalen Blutflusses beteiligt, so dass eine aktive Verengung der Gefäßdurchmesser mit einer Abnahme der Villusperfusion verbunden ist (Vanner, 1990; Schmidt, 1996b; Schmidt, 2000; Hatoum, 2003).

In dieser Studie wurde die Perfusion und die Gefäßdurchmesser der terminalen Villusarteriolen im Bereich der Villusspitzen gemessen, während sich die tieferliegenden submucösen Arteriolen und zentralen Villusarteriolen der intravitalmikroskopischen Untersuchung entzogen. Die Infusion von Alphatoxin verursachte eine verminderte mucosale Perfusion aber keine Änderung der Gefäßdurchmesser der terminalen Villusarteriolen. Dieser Befund passte zu den Ergebnissen anderer Studien, die zeigten, dass überwiegend die submucösen und zentralen Villusarteriolen an der Regulation der mucosalen Perfusion beteiligt sind (Madorin, 1999; Sielenkamper, 2000; Westphal, 2004).

Die Relevanz der unter  $\alpha$ -Toxin beobachteten Perfusionsminderung der Ileummucosa wurde durch die spektrophotometrische gemessene Oxygenierung des mucosalen Hämoglobins belegt. Ausgehend von einer im physiologischen Bereich liegenden Hämoglobinoxygenierung der Mucosa um 70 %, kam es unter dem Einfluss von  $\alpha$ -Toxin zu einem Abfall der Oxygenierung auf unter 20 %, was die Relevanz der beobachteten Perfusionsverlangsamung für die mucosale Sauerstoffversorgung verdeutlicht.

Das Auftreten einer mucosaler Hypoxie im Zuge septischer Mikrozirkulationsstörungen ist für das Auftreten von Funktionsstörungen des Darmepithels und für den Anstieg der intestinalen Permeabilität von zentraler Bedeutung (Chiu, 1970; Haglund, 1976; Horton, 1992; Russell, 1995). In Folge eines Permeabilitätsanstiegs ist ein Übertritt von Darmbakterien oder deren Toxine aus dem Darmlumen in die systemische Zirkulation möglich (Fink, 1993; Fink, 2003).

Parallel zur Verminderung der Mucosaperfusion durch  $\alpha$ -Toxin zeigten die Experimente einen Anstieg der relativen mucosalen Hämoglobinkonzentration, der durch eine Abflussstörung mit Stase und venöser Kongestion erklärt werden kann. Da bei den Versuchen der venöse Druck im Bereich der Vena mesenterica superior konstant gehalten wurde, kommt als Ursache der Stase eine postkapilläre Vasokonstriktion in Frage, wie sie von einigen Autoren als Bestandteil einer septischen Mikrozirkulationsstörung beschrieben wurde (Lee, 1994; Mayer, 1999; Laroux, 2001). Da Staphylokokken  $\alpha$ -Toxin auch zur Schrankenstörung mit vaskulärer Hyperpermeabilität führt (Seeger, 1990; Hippenstiel, 2002; Brell, 2005b), kann der Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration auch als Folge der Extravasationen von intravasaler Flüssigkeit in der Interstitium mit dadurch bedingter intravasaler Hämokonzentration gedeutet werden.

Bei Störungen der Mikrozirkulation kann es im Zuge einer Perfusionsumverteilung neben dem Auftreten einer Minderperfusion, wie an der Mucosa beobachtet, auch zur Mehrperfusion anderer Darmwandschichten kommen (Vallet, 1994; Ince, 1999; Ince, 2005). Aufgrund der gestörten Autoregulation der Gefäße mit Perfusionsfehlverteilung gelangt der angebotene Sauerstoff nicht mehr dorthin, wo er benötigt wird, was bei der Sepsis zu einer Störung der Sauerstoffaufnahme führen kann (Vallet, 2002).

Alpha-Toxin führte bei den Experimenten der vorliegenden Arbeit zu einem signifikanten Anstieg des venösen  $pO_2$  und zu einer Verminderung der Sauerstoffaufnahme im Vergleich zu den Ausgangswerten um 18 %. Bei gleichbleibendem Sauerstoffangebot ist der Abfall der Sauerstoffaufnahme bei gleichzeitigem Nachweis einer Mucosahypoxie als Folge einer Perfusionsfehlverteilung auf Organebene zu erklären. Durch diese Fehlverteilung erreicht das oxygenierte Blut nicht die sauerstoffaufnehmende Mucosa und wird im Sinne eines Shuntflusses an dieser vorbeigeleitet. Insgesamt zeigt sich nach Gabe von 0,05  $\mu\text{g/ml}$   $\alpha$ -Toxin eine profunde Störung der Mikrozirkulation in der Mucosa, die trotz konstanter Gesamtpfusion des Organs zu einer kritischen Abnahme der mucosalen Sauerstoffversorgung führt.

### **6.3. Effekte von Adrenomedullin nach Gabe von $\alpha$ -Toxin**

Bei Patienten mit septischem Schock steigen die Plasmaspiegel für Adrenomedullin von  $5,1 \pm 0,2$  pmol/L, um das 40-fache über den Normalwert an (Ueda, 1999). Adrenomedullin ist ein vorwiegend parakrin bzw. autokrin wirkender Mediator (Kato, 1997; Nishikimi, 2003). Die Plasmaspiegel geben zwar den Trend zur vermehrten Freisetzung bei septischem Schock wieder, aufgrund

der Verdünnung im systemischen Kreislauf und des pulmonalen Abbaus (Ornan, 1999) erlauben sie keine Rückschlüsse auf die im Gewebe tatsächlich vorliegenden Wirkkonzentrationen.

In der Sepsis nimmt die Reagibilität gegenüber Adrenomedullin ab, so dass trotz hoher Plasmaspiegel ein relativer Adrenomedullinmangel besteht (Wang, 1999; Wang, 2001; Fowler, 2002). An Ratten, bei denen durch Ligatur und Punktion des Caecums eine polymikrobiellen Sepsis induziert wurde, demonstrierten Yang et al., dass die therapeutische Gabe vielfach supraphysiologischer Adrenomedullin-Konzentrationen die inflammatorische Antwort hemmte und die Prognose entscheidend verbesserte (Yang, 2002b). In vorangegangenen Untersuchungen an humanen Endothelzellen und an der isolierten Kaninchenlunge konnte gezeigt werden, dass 0,1  $\mu\text{M}$  Adrenomedullin den inflammatorisch bedingten Anstieg der endothelialen Permeabilität signifikant hemmte (Hippenstiel, 2002; Brell, 2005b). Da das Gefäßendothel nicht nur an der Regulation der parazellulären Permeabilität beteiligt ist, sondern auch einen starken Einfluss auf die Vasomotorik besitzt (Volk, 2000), verwendeten wir 0,1  $\mu\text{M}$  Adrenomedullin am isolierten Rattenileummodell um den Effekt auf durch  $\alpha$ -Toxin induzierte Mikrozirkulationsstörungen zu untersuchen.

Die Zeit bis zum Auftreten  $\alpha$ -Toxin induzierter Störungen ist kurz, was durch den direkten Angriff des porenbildenden Toxins an der Zellmembran zu erklären ist (Seeger, 1984; Seeger, 1990; Bhakdi, 1991). Bereits 5 Minuten nach Beginn der  $\alpha$ -Toxingabe war eine Steigerung des Perfusionswiderstandes und ein Abfall der mucosalen Oxygenierung messbar. Ziel der Gabe von Adrenomedullin war es, die Perfusion der Mucosa wiederherzustellen, bevor irreversible Schäden durch anhaltende Hypoxie auftraten. Aus diesem Grunde wurde Adrenomedullin als therapeutische Infusion 10 Minuten nach Beginn der  $\alpha$ -Toxinapplikation gestartet. Mit Beginn der Adrenomedullin-Gabe flachte der durch  $\alpha$ -Toxin induzierte Anstieg des Gesamtwiderstandes und des Druckes in der Arteria mesenterica superior deutlich ab. Am Versuchende lag der SMA-Druck 50% niedriger im Vergleich zu den Werten nach alleiniger  $\alpha$ -Toxin-Gabe. Die Senkung des Perfusionswiderstandes ist auf die vasodilatative Eigenschaften von Adrenomedullin zurückzuführen (Fowler, 2002). Bemerkenswert ist hierbei, dass es bei einer nur partiellen Hemmung der durch  $\alpha$ -Toxin verursachten Vasokonstriktion es zu einer scheinbar vollständigen Wiederherstellung der mucosalen Perfusion kam, wie es bei der Auswertung der durchschnittlichen Perfusionsgeschwindigkeiten in den terminalen Villusarteriolen deutlich wurde. Es ist möglich, dass die durch Adrenomedullin bewirkte Vasodilatation insbesondere die mucosalen Gefäße erweitert und

sich nicht auf alle Gefäße in gleichem Maße auswirkt. Die mucosalen Gefäße des Darmes könnten eine besonders hohe Empfindlichkeit gegenüber Adrenomedullin besitzen, zumal die intestinale Produktion des parakrin wirkenden Adrenomedullins in besonderem Maße auf die Mucosa konzentriert ist (Sakata, 1998). Die Auswertung der Verteilung der Einzelwerte zeigte, dass die Wiederherstellung der durchschnittlichen Erythrozytengeschwindigkeit nach Gabe von  $\alpha$ -Toxin durch Adrenomedullin durch eine deutliche Minderung des Anteils sehr langsam perfundierter Villi mit Erythrozytengeschwindigkeiten unter 0,4 mm/s erreicht wurde ( $>40\%$   $\alpha$ -tox-Gruppe vs.  $<10\%$   $\alpha$ -tox+ADM-Gruppe). Gleichzeitig kam es zu einer deutlichen Zunahme der, mit Geschwindigkeiten über 2,4 mm/s schnell perfundierten Villi. Insgesamt kam es also in den mit Adrenomedullin therapierten Organen zu einer breiteren Streuung der Perfusionsgeschwindigkeiten. Die Zunahme der mucosalen Zirkulation führte zu einer signifikanten Steigerung der Sauerstoffsättigung des mucosalen Hämoglobins. Mit Beginn der Adrenomedullingabe kam es zum Wiederaufstieg der zuvor unter  $\alpha$ -Toxin abgefallenen Oxygenierung. Am Versuchende wurde das Ausgangsniveau wieder erreicht, wobei der Oxygenierungsgrad von  $61 \pm 8\%$  signifikant über dem in der  $\alpha$ -Toxin-Gruppe lag ( $18 \pm 2\%$ ). Durch die gleichzeitige Messung von Perfusion und Oxygenierung konnte in der vorliegenden Arbeit der Zusammenhang zwischen Änderungen der Perfusion und dem Oxygenierungsgrad der Mucosa gezeigt werden. Während in Arbeiten mit alleiniger Perfusionsmessung, (Nakajima, 2001), die Auswirkungen der erfassten Perfusionsänderungen im Hinblick auf die Sauerstoffversorgung der Mucosa nicht beurteilt werden können, kann bei isolierter Betrachtung des mucosalen Oxygenierungsgrades (Germann, 1995), nicht direkt auf die Perfusion zurückgeschlossen werden, da auch Änderungen des mucosalen Sauerstoffverbrauchs sich auf diesen Parameter auswirken können (King, 1999).

Der unter  $\alpha$ -Toxin zu beobachtende Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration, der als Zeichen einer venösen Kongestion der Villuskapillaren infolge postkapillärer Vasokonstriktion gewertet wurde (Lee, 1994; Mayer, 1999; Laroux, 2001), wurde ebenfalls durch die nachfolgende Adrenomedullin-Gabe vollständig aufgehoben. Dieser Effekt kann von Bedeutung sein, da eine Erweiterung der postkapillären Gefäße zu einer Widerstandslenkung in der mucosalen Strombahn und zur Steigerung der Mucosaperfusion beiträgt und durch eine Senkung des intrakapillären Druckes einer Extravasation von Intravasalfüssigkeit entgegenwirkt.

Es ist möglich, dass die Wirkung von Adrenomedullin auf die Permeabilität, die in isolierten Darm- und Lungenmodellen gezeigt wurde (Hippenstiel, 2002; Brell, 2005b), nicht allein auf

einer Stabilisierung der endothelialen Barriere beruht, sondern auch auf eine Verminderung des transkapillären Filtrationsdruckes zurückzuführen ist.

Die Verbesserungen der intestinalen Mikrozirkulation, die mit der Applikation von Adrenomedullin erzielt wurden, führten auch dazu, dass der nach alleiniger Gabe von  $\alpha$ -Toxin auftretende Abfall der Sauerstoffaufnahme nicht beobachtet wurde. Das erklärt sich durch die Aufhebung der toxininduzierten Perfusionfehlverteilung und dadurch vermehrten Sauerstoffextraktion.

#### **6.4. Schlussfolgerungen**

In der vorgelegten Arbeit konnte demonstriert werden, dass das isoliert perfundierte Rattenileum in Verbindung mit der Intravitalmikroskopie und der Spektrophotometrie sich zur Untersuchung der intestinalen Mikrozirkulation auf Mucosaebene eignet. Über die Messung der mucosalen Perfusion hinaus ließen sich durch die angewendeten Verfahren die vaskulären Reaktionen nach Exotoxingabe und deren Beeinflussung durch Adrenomedullingabe beschreiben.

Die bisherigen Untersuchungen, die mit  $\alpha$ -Toxin an Schafen, der isolierten Kaninchenlunge und am isolierten Rattenherzen durchgeführt wurden, führten zu der Schlussfolgerung, dass insbesondere das pulmonale und kardiale Gefäßbett ein mögliches Ziel von zirkulierendem  $\alpha$ -Toxin darstellt (Seeger, 1990; Harshman, 1992; Sibelius, 2000). Die hier vorgelegte Studie zeigt, dass die mesenteriale Strombahn ebenfalls hochsensibel gegenüber  $\alpha$ -Toxin ist, da es schon bei geringen Toxinkonzentrationen zu erheblichen Störungen der Mikrozirkulation kommt. Alphatoxin führte im isolierten Ileummodell zu einer Vasokonstriktion, die zu einer Verminderung der Villusperfusion mit Ausbildung von mucosaler Hypoxie geführt hat. Bei erhaltener Gesamtperfusion des Organs ist dieser Befund durch eine Redistribution des Blutflusses von der Mucosa weg zu den äußeren Schichten der Darmwand zu erklären. Der unter  $\alpha$ -Toxin beobachtete Anstieg der mucosalen Hämoglobinkonzentration weist auf eine Konstriktion postkapillärer Gefäße hin, die zur Minderung der mucosalen Perfusion beigetragen haben kann. Darüber hinaus wurde ein Abfall der Sauerstoffaufnahme des Ileumpräparates beobachtet, der als Folge eines durch  $\alpha$ -Toxin verursachten Perfusionsmismatches gewertet wurde.

Adrenomedullin führte zu einer partiellen Hemmung des durch  $\alpha$ -Toxin verursachten Anstieges des Perfusionswiderstandes und damit des Druckes in der Arteria mesenterica superior. Gleichzeitig wurde die Perfusion der Mucosa nahezu vollständig wiederhergestellt und ein Abfall der mucosalen Oxygenierung verhindert. So ist davon auszugehen, dass Adrenomedullin sich in be-

sonderem Maße auf die Mucosa versorgenden Gefäße des Darmes auswirkt und so eine Redistribution der Perfusion hin zur Mucosa bewirkt hat. Die durch Adrenomedullin verbesserte Sauerstoffzufuhr zur Mucosa und damit bedarfsgerechtere Perfusionsverteilung führte zu einer Verbesserung der Sauerstoffaufnahme des Organs.

Es zeigte sich, dass Adrenomedullin in der Lage ist, die durch ein aggressives bakterielles Exotoxin hervorgerufenen Mikrozirkulationsstörungen des Darmes signifikant zu reduzieren. Somit liegt der Schluß nahe, dass Adrenomedullin, welches vorwiegend im Bereich der Mucosa exprimiert wird, eine wichtige Rolle bei der Regulation der mucosalen Perfusion spielt.