

5. Ergebnisse

5.1. Mittlerer arterieller Blutdruck und Gefäßwiderstand des Ileumpräparats

Bei flusskonstanter Perfusion stand der Blutgefäßwiderstand des Ileumsegmentes in direkter Korrelation mit den gemessenen Druckveränderungen in der A. mesenterica superior (SMA-Druck)(Abb. 6A und 6B). Der Gefäßwiderstand wurde nach folgender Formel berechnet: Gefäßwiderstand = (SMA-Druck – Venöser Druck [mmHg]) x 80 / Organfluss [l/min] [dyn x sec x cm⁻⁵]. In der Kontrollgruppe war der Verlauf von Perfusionsdruck und Gefäßwiderstand konstant. Nach Stimulation mit α -Toxin stieg der SMA-Druck sowie der Gefäßwiderstand signifikant an. Dieser Anstieg begann bereits nach 10 Minuten und erreichte sein Maximum nach 30 Minuten. Die Intervention mit Adrenomedullin erfolgte 10 Minuten nach Beginn der α -Toxin Applikation, als der durch α -Toxin induzierte Druckanstieg bereits deutlich zu erkennen war. Adrenomedullin führte zu einem Abflachen des Anstieges, so dass sich am Versuchsende eine 50%-ige Reduktion der α -Toxin-induzierten Erhöhung von Gefäßwiderstand und SMA-Druck ergab.

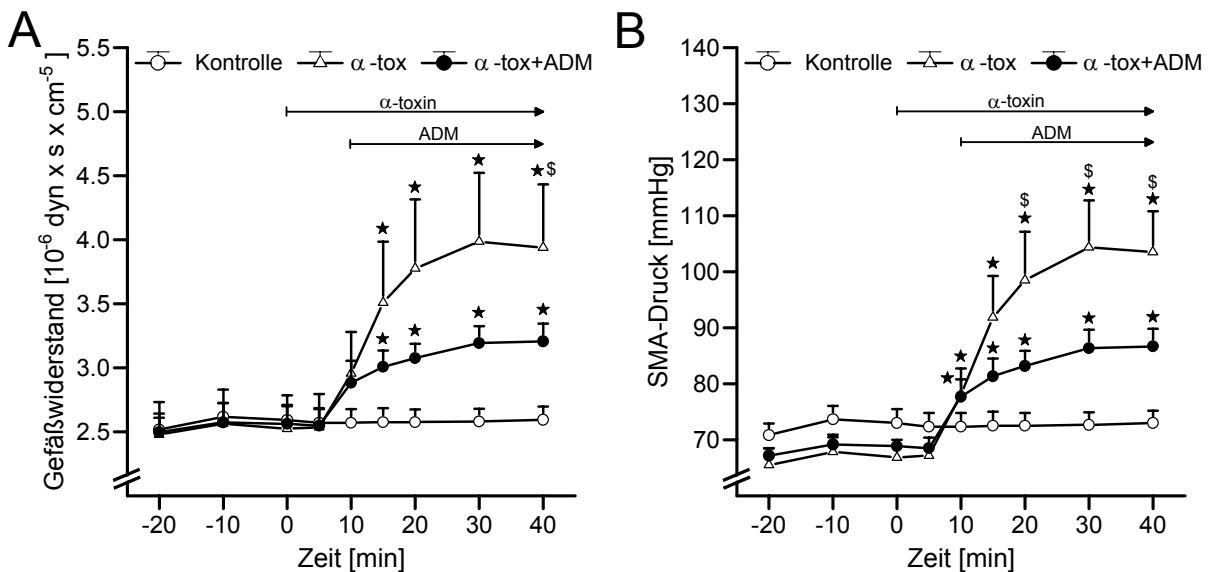


Abb. 6. Gefäßwiderstand und Druck in der Arteria mesenterica superior (SMA-Druck) eines isoliert perfundierten Rattenileums. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α -tox (0,05 μ g/ml α -Toxin); α -tox+ADM (0,05 μ g/ml α -Toxin + 0,1 μ M Adrenomedullin). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (je n=6) angegeben; * p < 0,05 gegen T = 0 min der gleichen Gruppen; \$ p < 0,05 vs. Kontrollgruppe.

5.2. Ergebnisse der intravitalmikroskopischen Untersuchung

5.2.1. Erythrozytengeschwindigkeit und Durchmesser der terminalen Villusarteriolen

Die durchschnittliche Erythrozytengeschwindigkeit in den terminalen Villusarteriolen des isolierten Ileumsegmentes betrug in der Kontrollgruppe $1,4 \pm 0,1$ mm/s und es zeigten sich zwischen den beiden Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede (Abb. 7). Die Infusion von $0,05 \mu\text{g/ml}$ α -Toxin führte zu einem signifikanten Abfall der Erythrozytengeschwindigkeiten auf Werte unter 50% des Ausgangsniveaus.

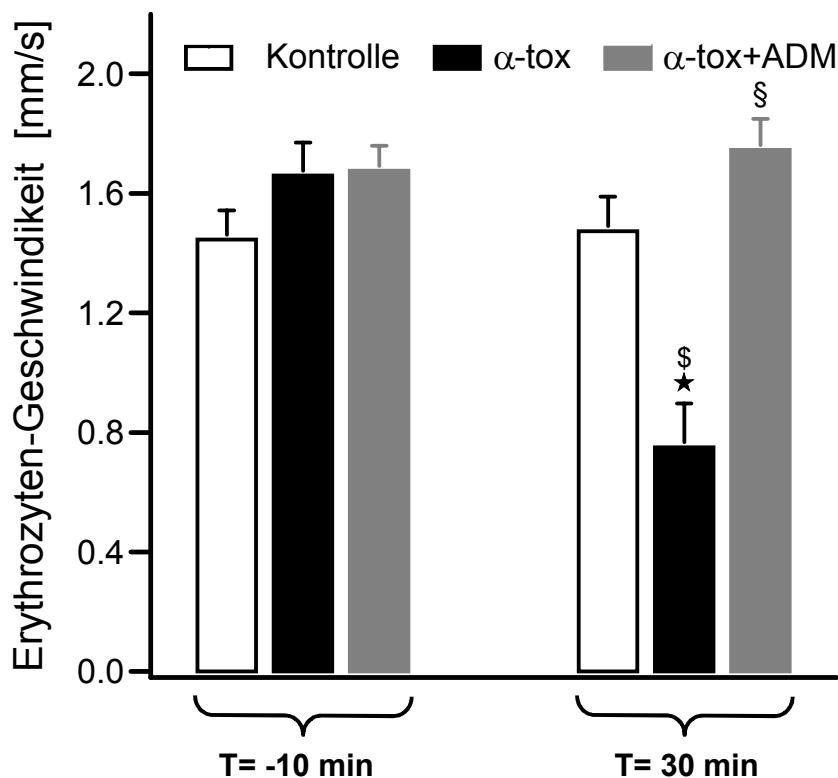


Abb. 7. Erythrozyten-Geschwindigkeit in den terminalen Villusarteriolen eines isoliert perfundierten Rattenileums gemessen an zwei Zeitpunkten im Versuchsverlauf. Die erste Messung erfolgte unter Kontrollbedingungen (T = -10 min) vor der Applikation von Substanzen. Die zweite Messung wurde bei T = 30 Minuten durchgeführt. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α -tox ($0,05 \mu\text{g/ml}$ α -Toxin); α -tox+ADM ($0,05 \mu\text{g/ml}$ α -Toxin + $0,1 \mu\text{M}$ Adrenomedullin). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (je n=6) angegeben; * $p < 0,05$ gegen T = 0 min der gleichen Gruppen; \$ $p < 0,05$ vs. Kontrollgruppe; § $p < 0,05$ vs. α -tox-Gruppe.

Durch die therapeutische Gabe von Adrenomedullin wurde die durch α -Toxin hervorgerufene Verlangsamung der Villusperfusion vollständig aufgehoben und es konnten am Versuchsende

Erythrozytengeschwindigkeiten leicht über dem Ausgangsniveau gemessen werden. In den untersuchten Arteriolen wurden gleichzeitig die Gefäßdurchmesser bestimmt. Diese betragen $8,4 \pm 1,1 \mu\text{m}$ in der Kontrollgruppe und zeigten im Versuchverlauf sowie zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede (Abb. 8).

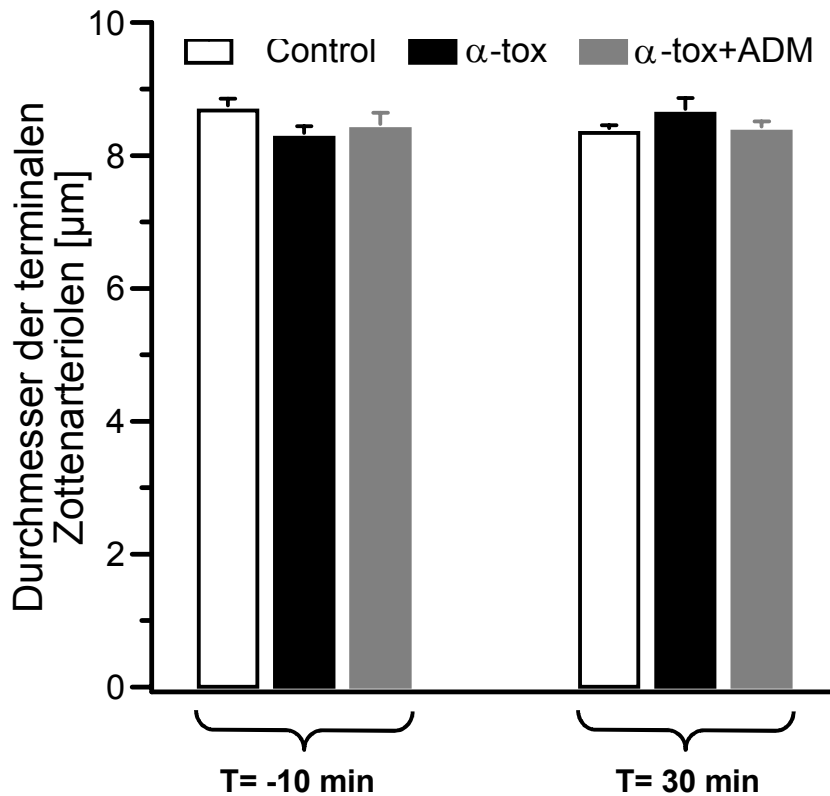


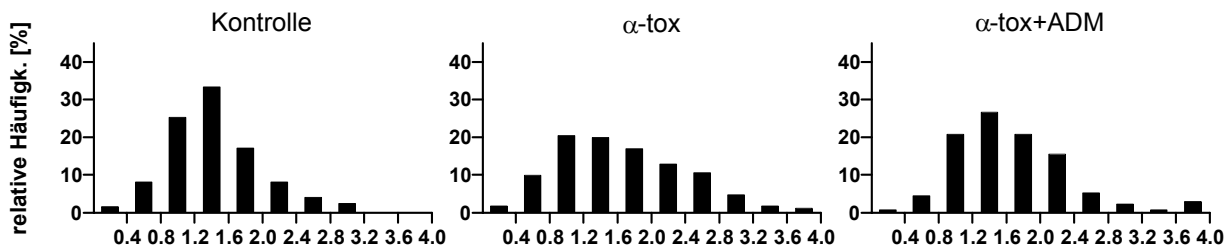
Abb. 8. Gefäßdurchmesser der terminalen Villusarteriolen eines isoliert perfundierten Rattens gemessen an zwei Zeitpunkten im Versuchverlauf. Die erste Messung erfolgte unter Kontrollbedingungen (T = -10 min) vor der Applikation von Substanzen. Die zweite Messung wurde bei T = 30 Minuten durchgeführt. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α -tox (0,05 $\mu\text{g/ml}$ α -Toxin); α -tox+ADM (0,05 $\mu\text{g/ml}$ α -Toxin + 0,1 μM Adrenomedullin). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (je n=6) angegeben.

5.2.2. Häufigkeitsverteilung der Erythrozytengeschwindigkeiten in den terminalen Villusarteriolen

Bei jedem intravitalmikroskopischem Untersuchungsgang wurde die Erythrozytengeschwindigkeit in 20 Darmvilli untersucht. Bei n=6 Versuchen pro Gruppe ergaben sich für jeden Messzeitpunkt 120 Einzelmessungen. Die gemessenen Geschwindigkeiten wurden je Untersuchungszeitpunkt in zehn Geschwindigkeitsuntergruppen eingeteilt und die relative Häufigkeit als Balkendiagramm zur Darstellung gebracht. Auf diese Weise konnte die Häufigkeitsverteilung der Perfusionsgeschwindigkeiten unter den unterschiedlichen Versuchsbedingungen untersucht werden und Aussagen bezüglich der Homogenität der Mucosaperfusion getroffen werden (Abb. 9).

Zum Zeitpunkt T = -10 Minuten war die Verteilungen der Erythrozytengeschwindigkeit in den drei Versuchsgruppen gleichartig. Der größte Teil der Werte lag im Bereich zwischen 0,8 und 2,0 mm/s und es traten nur vereinzelt langsam perfundierte Villi auf. Dieses Verteilungsmuster blieb in der Kontrollgruppe bis zur zweiten Messung am Versuchende (T = 30 min) bestehen. Nach α -Toxinexposition kam es innerhalb von 30 Minuten zu einer ausgeprägten Linksverschiebung der Verteilung hin zu langsamen Perfusionsgeschwindigkeiten. Es zeigte sich, dass mehr als 40 % der untersuchten Villi Perfusionsgeschwindigkeiten unter 0,4 mm/s aufwiesen. Durch die therapeutische Gabe von Adrenomedullin wurde die Anzahl der sehr langsam perfundierten Villi auf 25 % gesenkt und gleichzeitig der Anteil der schnell perfundierten Villi mit Geschwindigkeiten über 2.4 mm/s deutlich erhöht. Insgesamt kam es somit bei den mit α -Toxin und Adrenomedullin behandelten isolierten Ileumpräparaten zu einer breiteren Streuung der Perfusionsgeschwindigkeiten. Dieser Befund wurde durch eine Varianzanalyse der Perfusionsgeschwindigkeiten abgesichert, wobei sich im Vergleich zur Kontroll- und der α -tox-Gruppe eine Verdoppelung der Varianz ergab.

T = -10 min



T = 30 min

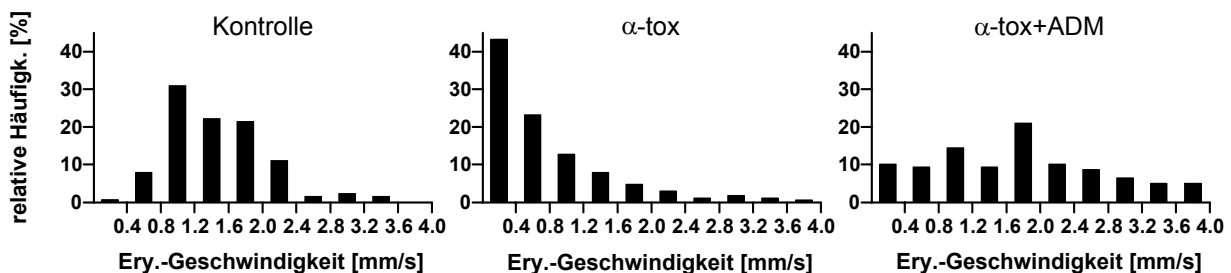


Abb. 9. Prozentuale Häufigkeitsverteilung der Erythrozyten-Geschwindigkeiten in den terminalen Villusarteriolen eines isoliert perfundierten Rattenileums gemessen an zwei Zeitpunkten im Versuchsverlauf. Die erste Messung erfolgte unter Kontrollbedingungen (T = -10 min) vor der Applikation von Substanzen. Die zweite Messung wurde bei T = 30 Minuten durchgeführt. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α-tox (0,05 µg/ml α-Toxin); α-tox+ADM (0,05 µg/ml α-Toxin + 0,1 µM ADM).

5.3. Mucosale Hämoglobinoxygenierung

Die mucosale Hämoglobinoxygenierung (mucosales HbO₂) des isolierten Ileumsegmentes wurde durch eine spektrophotometrische Sonde gemessen. In der Kontrollgruppe blieb die mucosale Sauerstoffsättigung während des gesamten Experimentes im Bereich von 68% bis 75% stabil. Die Applikation von α-Toxin dagegen führte zu einer sofortigen Verschlechterung der mucosalen Sauerstoffversorgung. Am Versuchsende war der Anteil des oxygenierten Hämoglobins von anfänglich $72 \pm 2 \%$ auf $18 \pm 1 \%$ abgefallen (Abb. 10). Die therapeutische Intervention mit Adrenomedullin setzte 10 Minuten nach Beginn der α-Toxin-Infusion ein, als die mucosale Sauerstoffsättigung bereits um fast 20 % abgefallen war. Adrenomedullin konnte ab diesem Zeitpunkt den Abstieg der mucosalen Oxygenierung aufhalten und bis zum Versuche den Oxygenierungsgrad sogar steigern. Bereits ab der 10-ten Minute nach Beginn der Adrenomedullingabe lagen die Oxygenierungswerte signifikant über der α-tox-Gruppe und konnten bis zum Versuche bei ca. 60 % gehalten werden.

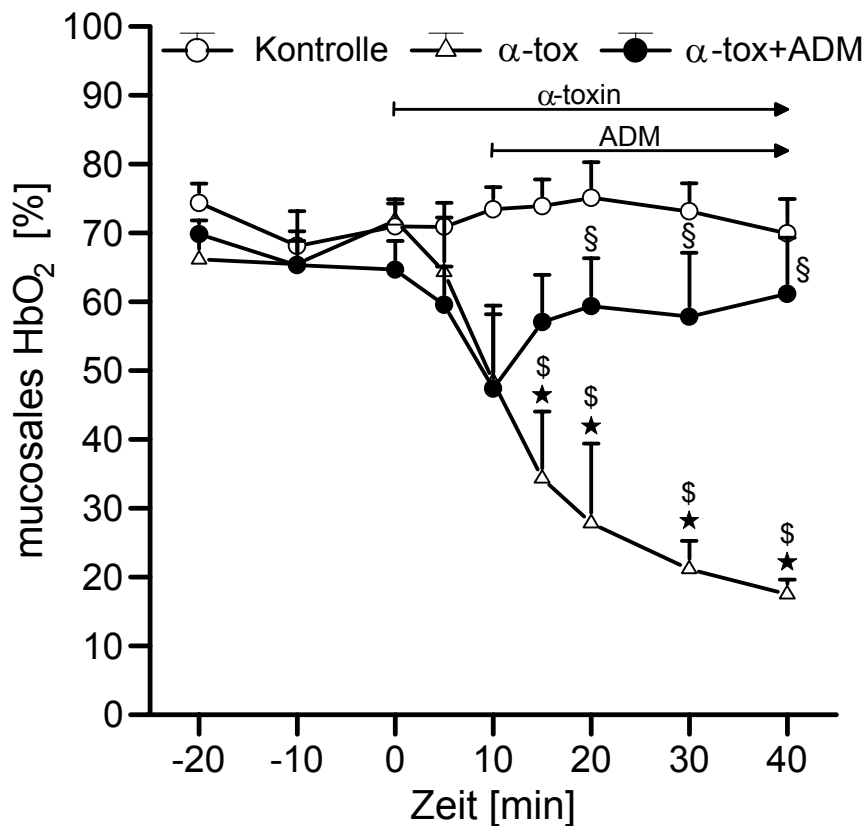


Abb. 10. Mucosale Hämoglobinoygenierung (mucosales HbO_2) eines isoliert perfundierten Rattenileums. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α -tox (0,05 μ g/ml α -Toxin); α -tox+ADM (0,05 μ g/ml α -Toxin + 0,1 μ M Adrenomedullin). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (je n=6) angegeben; * p < 0,05 gegen T = 0 min der gleichen Gruppen; § p < 0,05 vs. Kontrollgruppe; § p < 0,05 vs. α -tox-Gruppe.

5.4. Relative Hämoglobinkonzentration in der Mucosa

Ein weiterer Parameter, der durch die spektrophotometrischen Sonde erfasst wurde war der Hämoglobingehalt der Mucosa, der als relativer Wert aufgezeichnet wurde (mucosales Hb_{rel}). Dieser relative Wert wurde zu Versuchsbeginn auf 100 % gesetzt und im Versuchsverlauf die Änderungen betrachtet. Während in den Kontrollversuchen die relative Hämoglobinkonzentration der Mucosa konstant blieb, kam es unter dem Einfluss von α -Toxin zu einem deutlichen Anstieg auf mehr als das Doppelte. Dieser Effekt konnte durch die Applikation von Adrenomedullin deutlich abgeschwächt werden (Abb. 11).

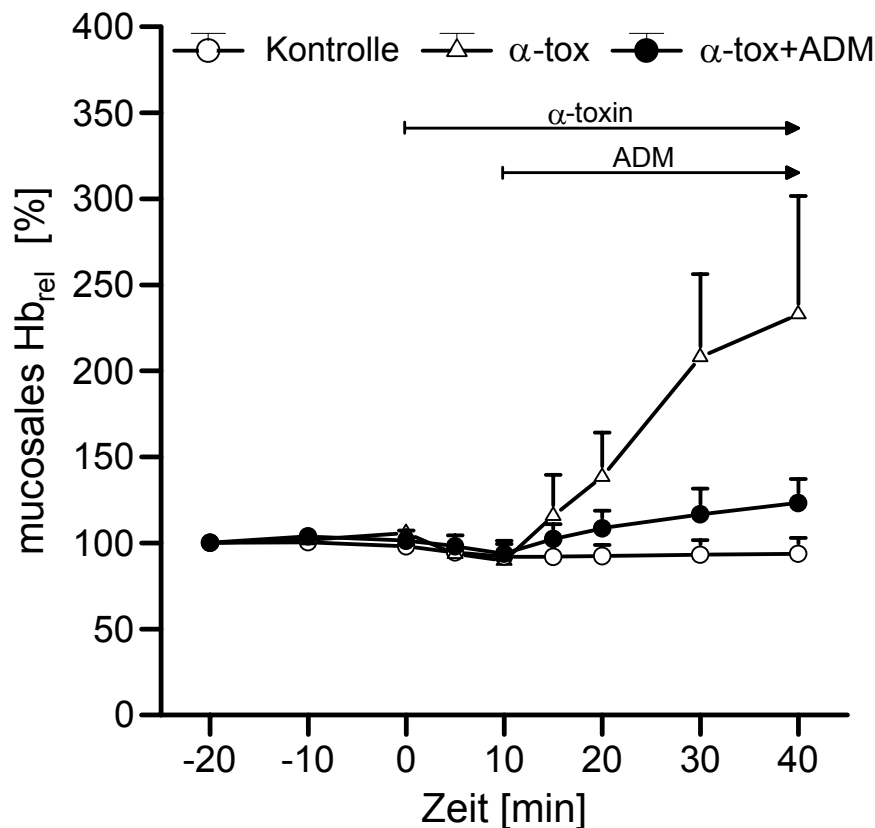


Abb. 11: Mucosale relative Hämoglobinkonzentration (*mucosales Hb_{rel}*) eines isoliert perfundierten Rattenileums. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α -tox (0,05 $\mu\text{g/ml}$ α -Toxin); α -tox+ADM (0,05 $\mu\text{g/ml}$ α -Toxin + 0,1 μM Adrenomedullin). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (je $n=6$) angegeben.

5.5. Blutgasanalysen und Hämoglobingehalt arterieller und venöser Perfusatsproben

Zu definierten Zeiten im Versuchsverlauf wurde der Hämoglobingehalt des Perfusats bestimmt und arterielle sowie venöse Blutgasanalysen vorgenommen. Tabelle 2 gibt die entsprechenden Werte für die einzelnen Versuchsgruppen am Versuchsende wieder. Die Eigenschaften der arteriellen Perfusatsproben im Hinblick auf Hämoglobingehalt, Partialdrücke für Sauerstoff und Kohlendioxid sowie der Säure-Basen-Status waren in den einzelnen Versuchsgruppen gleich (Tabelle 2) und zeigten im Versuchsverlauf keine signifikanten Änderungen (hier nicht dargestellt).

Tabelle 2: Hämoglobinwerte, Blutgasanalyse und berechnete Werte aus arteriellem und venösem Perfusat. Die Proben wurden am Versuchende bei T = 40 Minuten entnommen.

	Kontrolle	α -tox	α -tox+ADM
Perfusatfluss (ml*min ⁻¹ *100g ⁻¹)	82 ± 2	86 ± 4	86 ± 2
Hb (g/dL)	8,1 ± 0,2	8,3 ± 0,1	8,0 ± 0,3
Arterielle Blutgasanalyse			
pO ₂ (mmHg)	498 ± 5	504 ± 4	507 ± 3
SO ₂ (%)	99,9 ± 0,0	99,9 ± 0,0	99,9 ± 0,0
pH	7,40 ± 0,01	7,40 ± 0,00	7,39 ± 0,01
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	18,9 ± 0,3	19,1 ± 0,3	19,4 ± 0,2
BE	-5,3 ± 0,4	-5,0 ± 0,3	-4,9 ± 0,2
pCO ₂ (mmHg)	31,5 ± 0,3	31,4 ± 0,3	32,8 ± 0,3
Venöse Blutgasanalyse			
pO ₂ (mmHg)	63,1 ± 0,5	81,3 ± 2,9 ^a	65,4 ± 2,9 ^b
SO ₂ (%)	91,7 ± 0,3	95,9 ± 0,5 ^a	92,2 ± 1,2
pH	7,37 ± 0,01	7,39 ± 0,01	7,39 ± 0,01
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	19,8 ± 0,25	19,3 ± 0,33	19,8 ± 0,1
BE	-5,0 ± 0,34	-5,0 ± 0,4	-4,9 ± 0,2
pCO ₂ (mmH)	35,3 ± 0,4	32,4 ± 1,0	34,7 ± 0,3
Berechnete Parameter			
DO ₂ (ml*min ⁻¹ *100g ⁻¹)	9,0 ± 0,3	9,5 ± 0,4	9,4 ± 0,3
VO ₂ (ml*min ⁻¹ *100g ⁻¹)	1,82 ± 0,07	1,56 ± 0,08 ^a	1,86 ± 0,06
O ₂ X (%)	17,3 ± 0,3	14,0 ± 0,4	16,5 ± 0,7
delta pCO ₂ (mmHg)	3,7 ± 0,4	0,9 ± 0,9 ^a	2,4 ± 0,3

Hb, Hämoglobin; pO₂, Sauerstoffpartialdruck; SO₂, Hämoglobin-Sauerstoffsättigung; HCO₃⁻, Bicarbonat; BE, Base Excess; pCO₂, Kohlendioxidpartialdruck; DO₂, Sauerstoffzufuhr; VO₂, Sauerstoffaufnahme; O₂X, Sauerstoffextraktion; delta pCO₂, arterio-venöser Kohlendioxiddifferenz.

^asignifikant p<0,05 getestet gegen Kontrollgruppe; ^bsignifikant p<0,05 getestet gegen α -tox-Gruppe

Bei Betrachtung der venösen Blutgasanalysen fällt auf, dass der Sauerstoffpartialdruck und die venöse Sauerstoffsättigung in der α -tox-Gruppe signifikant höher war als in den übrigen Versuchsgruppen. Gleichzeitig kam es in dieser Versuchsgruppe zu einer signifikant verminderten Kohlendioxidfreisetzung (delta pCO₂). Dieser Befund zeigte sich hingegen nicht in der mit Adrenomedullin behandelten Versuchsgruppe (α -tox+ADM).

5.6. Sauerstoffaufnahme

In der Kontrollgruppe änderte sich die Sauerstoffaufnahme im Versuchsverlauf nicht. Durch die α -Toxin-Gabe kam es zu einer signifikanten Senkung der Sauerstoffaufnahme von $1,97 \pm 0,11$ auf $1,56 \pm 0,08$ mL O₂/min·100 g Gewebe, was einem Abfall um mehr als 20 % entsprach. Die therapeutische Anwendung von Adrenomedullin verhinderte den Abfall der Sauerstoffaufnahme nach α -Toxin-Gabe (Abb. 12).

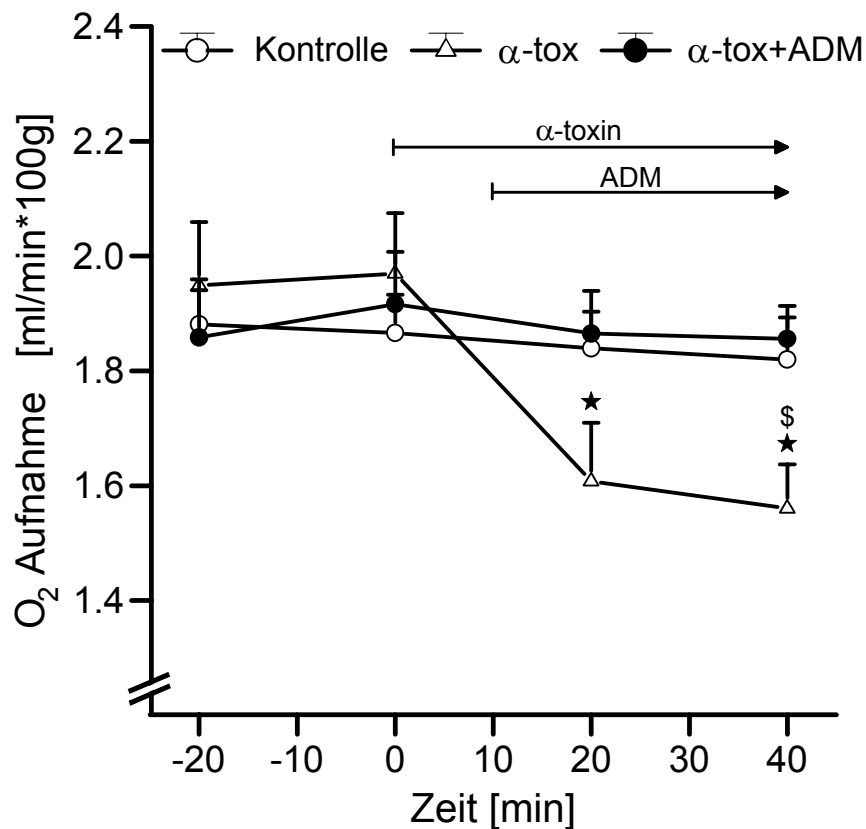


Abb. 12: Sauerstoffaufnahme eines isoliert perfundierten Rattenileums. Die Versuchstiere wurden zufällig folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolle (PBS); α -tox (0,05 μ g/ml α -Toxin); α -tox+ADM (0,05 μ g/ml α -Toxin + 0,1 μ M Adrenomedullin). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (je n=6) angegeben; *p < 0,05 gegen T = 0 min der gleichen Gruppen; \$p < 0,05 vs. Kontrollgruppe.