

Aus dem Institut für Physiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

DISSERTATION

**Bedeutung der Epiduralanästhesie für die
mikrovaskuläre Perfusion des Darms bei
Endotoxinämie**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ines Thewes, geb. Korsukéwitz

aus Berlin

Gutachter/in:

1. Prof. Dr. med. Helmut Habazettl
2. Prof. Dr. med. Martin Welte
3. PD Dr. med. Jürgen Birnbaum

Datum der Promotion: 19.11.2010

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Inhaltsverzeichnis	4
1. Einleitung	6
1.1 Der Gastrointestinaltrakt als Resorptionszone und Barriere	6
1.2 Anatomie und vaskuläre Organisation des Dünndarms	6
1.3 Endotoxinämie und ihre Auswirkungen auf den Blutkreislauf	10
1.3.1 Die Endotoxinämie und das Krankheitsbild Sepsis	10
1.3.2 Einfluss der Endotoxinämie bzw. der Sepsis auf die Makrozirkulation und das Immunsystem	11
1.3.3. Der Einfluss der Endotoxinämie auf die intestinale Mikrozirkulation	11
1.4. Die thorakale Epiduralanästhesie	13
1.4.1 Grundlagen	13
1.4.2 Die Auswirkungen der thorakalen Epiduralanästhesie auf den Gastrointestinaltrakt	14
1.5 Zielsetzung der Arbeit	15
2. Material und Methoden	17
2.1 Tiere	17
2.2 Experimentelles Protokoll	17
2.2.1 Charakterisierung des LPS-Modells	17
2.2.2 Einfluss der TEA in der Endotoxinämie	18
2.3 Epidurale Katheterisierung	20
2.4 Präparation des Ileums	20
2.5 Intravitale Mikroskopie	22
2.6 Analyse der mikrovaskulären Perfusion	22
2.7 Erythrozytenfliessgeschwindigkeit	25
2.8 Systemische Variablen	25
2.9 Bestimmung der TNF α -Konzentration im Plasma	25
2.10 Statistische Analyse	26
3. Ergebnisse	27
3.1 Charakterisierung des LPS-Modells	27

3.2 Einfluss der thorakalen Epiduralanästhesie in der Endotoxinämie	28
3.2.1 Makrohämodynamische Parameter	28
3.2.2 Mikrovaskuläre Durchblutung	29
3.2.2.1 Nicht-perfundierte Kapillardichte	30
3.2.2.2 Funktionelle Kapillardichte	32
3.2.2.3 Gesamtkapillardichte	33
3.2.2.4 Zentralarterioldurchmesser	35
3.3 Erythrozytenfliessgeschwindigkeit	35
3.4 Systemische Variablen	37
3.5 Bestimmung des TNF α im Plasma	43
4. Diskussion	44
4.1 Diskussion der Methodik	45
4.2 Makrohämodynamische Parameter	46
4.3 Nicht-perfundierte Kapillaren	47
4.4 Funktionelle Kapillardichte	51
4.5 Gesamtkapillardichte	53
4.6 Arterioldurchmesser und Erythrozytenfliessgeschwindigkeit	54
4.7 Systemische Variablen	55
4.8 Konzentration von TNF α	56
4.9 Schlussfolgerung und Ausblick	57
5. Zusammenfassung	58
6. Abkürzungsverzeichnis	61
7. Literaturverzeichnis	63
8. Anhang	68
Lebenslauf	68
Publikationen	69
Selbständigkeitserklärung	71
Danksagungen	72

1. EINLEITUNG

1.1 Der Gastrointestinaltrakt als Resorptionszone und Barriere

Der Körper des Menschen benötigt ständige Energiezufuhr und muss dazu im kontinuierlichen Stoffaustausch mit der Umwelt stehen. Ein wesentlicher Bestandteil hierbei ist der Gastrointestinaltrakt mit seinen unterschiedlichen Aufgaben. Aufgrund seines steten Kontaktes mit der Außenwelt durch den aufgenommenen Nahrungsbrei stehen nicht nur resorptive Aufgaben zur Sicherung der Nährstoffversorgung, sondern auch die Sicherung einer effizienten Abwehr im Vordergrund. Der Gastrointestinaltrakt beginnt in der Mundhöhle, setzt sich mit Speiseröhre, Magen und Dünndarm fort und endet schließlich mit dem Dickdarm. Vor allem dem Dünndarm kommt sowohl bei der Nährstoffverwertung wie auch als Abwehrorgan eine wesentliche Rolle zu. In diesem Bereich des Gastrointestinaltraktes kommt es zur Vollendung der Aufspaltung der Nahrungsbestandteile sowie zur Resorption der bereits aufgespaltenen Nährstoffe. Der Dünndarm bildet die Barriere für diverse Pathogene, welche durch die Nahrungsaufnahme mit dem Körperinneren in Kontakt kommen. Zudem zeigen sich im Darmbereich Besiedlungen durch unterschiedlichste Keime wie z.B. Enterokokken, *Escherichia coli* oder *Candida albicans*, welche prinzipiell zur Standortflora gehören, also primär für den Wirtsorganismus keinen pathogenen Charakter aufweisen. Je nach Immunstatus und körperlicher Gesamtsituation des Wirtes können diese jedoch durchaus pathogen für den Wirt sein (Hao und Lee, 2004; Batt, Rutgers und Sancak, 1996).

1.2 Anatomie und vaskuläre Organisation des Dünndarms

Zur Erfüllung seiner weitreichenden Aufgaben zeigt der Dünndarm eine spezifische Anatomie. Die einzelnen Abschnitte des Gastrointestinaltraktes sind morphologisch nach einem einheitlichen Prinzip aufgebaut. Der Dünndarm weist von innen nach außen gesehen folgende Schichten auf (siehe auch Abb. 1.1 A, B):

- Tunica mucosa (Mukosa mit Lamina epithelialis, Lamina propria und Lamina muscularis mucosae)
- Tela submucosa (Submukosa)
- Tunica muscularis (Muskularis, unterteilt in Stratum circulare und Stratum longitudinale)
- Tela subserosa

- Tunica serosa

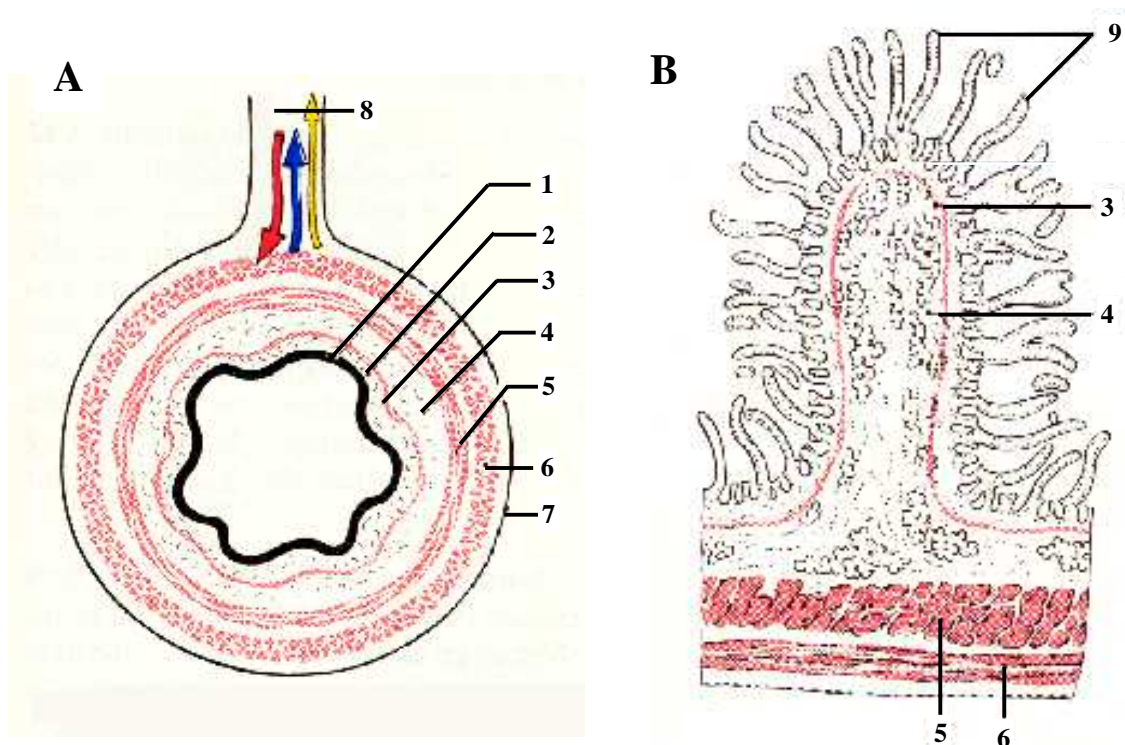


Abbildung 1.1: **A** Querschnitt durch das Duodenum; **B** Längsschnitt durch das Duodenum: 1: Lamina epithelialis 2: Lamina propria 3: Lamina muscularis mucosae 4: Tela submucosa 5: Stratum circulare 6: Stratum longitudinale 7: Tunica serosa mit Tela subserosa 8: Mesenterium 9: Villus intestinalis; rot: arterieller Zufluss, blau: venöser Abfluss, gelb: Lymphabfluss (Abb. modifiziert nach Leonhardt, 1990).

Die Mukosa ist die dem Darmlumen zugewandte Seite der Darmwand. Sie ist zum einen für die Resorption der verschiedenen Nahrungsbestandteile zuständig, zum anderen bildet sie zusammen mit der Submukosa die Barriere zum Darmlumen. Die Gesamtfläche der Mukosa wird durch zahlreiche Villi und diese wiederum durch Mikrovilli vergrößert, um den unterschiedlichen Aufgaben gerecht werden zu können. So finden sich hier auch zahlreiche Immunzellen wie Makrophagen und dendritische Zellen und Ansammlungen von Lymphozyten (Peyer'sche Plaques) zur Sicherung einer effizienten Abwehr. Aufgrund ihrer vielseitigen Aufgaben ist die Mukosa im Verhältnis zur Muskularis sehr stark mit Blutgefäßen durchsetzt. Im Villusbindegewebe liegt unter dem Epithel ein Netz von Blutkapillaren, welches von einer oder mehreren Arteriolen gespeist wird, die ungeteilt bis zur Villusspitze verlaufen. In den Epithelnetzwerken der Villusspitze liegen arteriovenöse Kurzschlüsse, von denen aus eine zentrale Vene das Blut zurück in die größeren Venen führt (s. Abb. 1.2 und Abb. 1.3). Die Endothelien der Blutkapillaren sind gefenstert, um eine optimale Aufnahme der Nährstoffe zu gewährleisten.

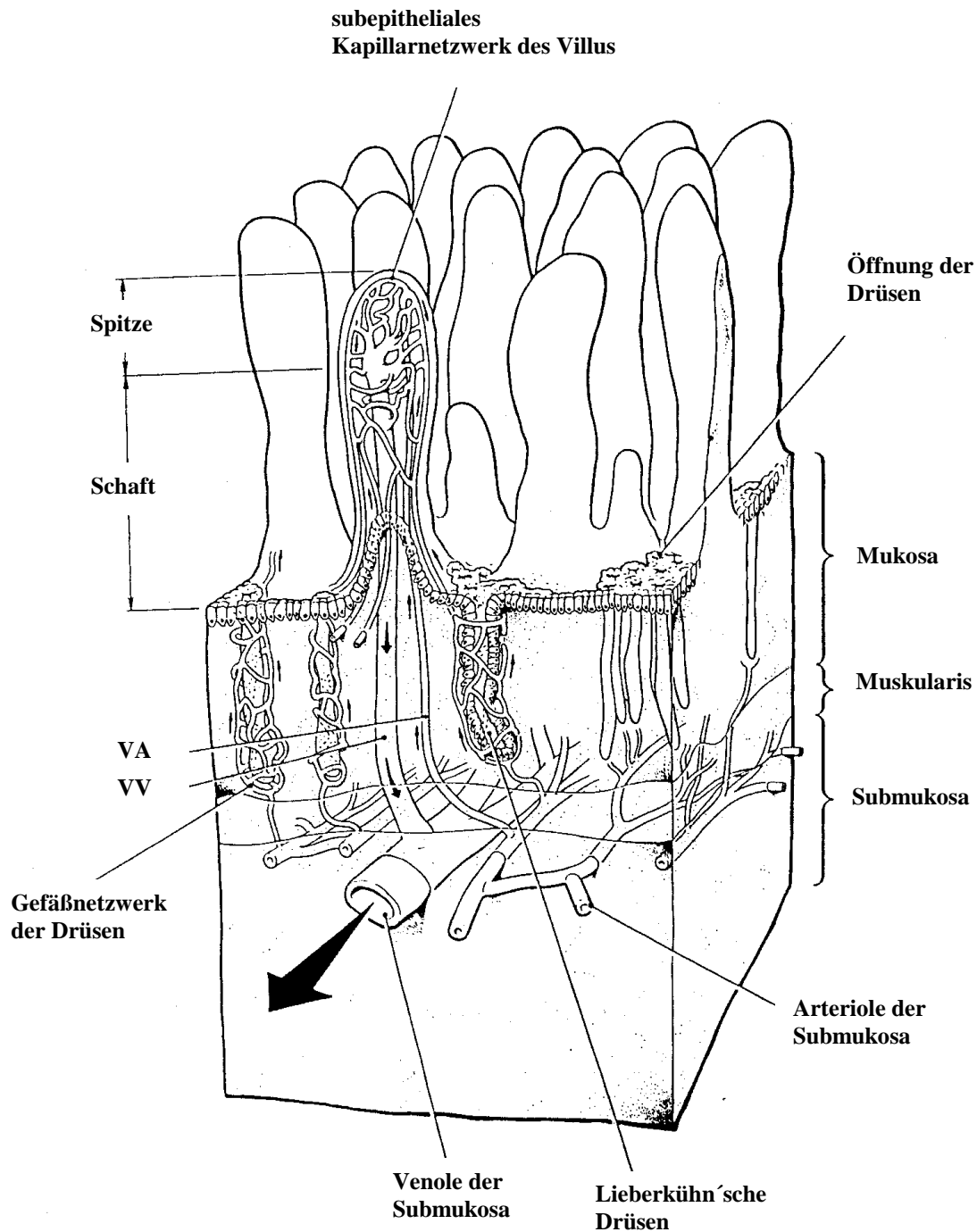


Abbildung 1.2: Schematische Darstellung der Blutversorgung des Dünndarms. VA = Villusarterie; VV = Villusvene. (Abb. modifiziert nach Gannon und Carati, 1990).

Innerhalb dieses Gefäßmantels liegt ein Lymphsinus, der zentrale Chylus, welche die bereits in der Schleimhaut synthetisierten Fette über den Ductus thoracicus ins Blut leitet.

Das Blut aus den venösen Gefäßsystemen wird dann in den Venen zur Pfortader geleitet und fließt letztlich über den Pfortaderkreislauf zur Leber, um dort entsprechend weiter verstoffwechselt zu werden.

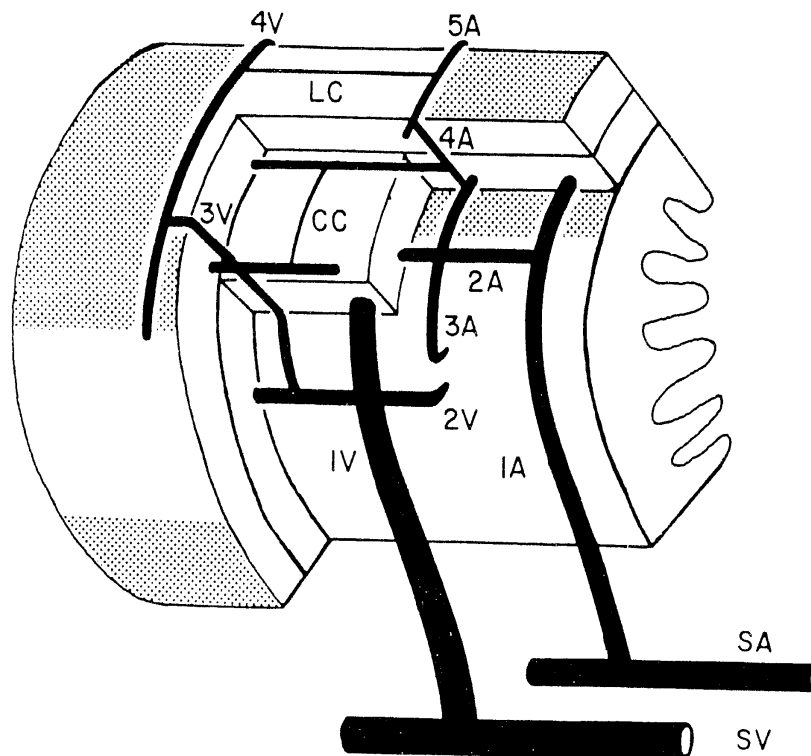


Abbildung 1.3.: Schematische Darstellung der mikrovaskulären Versorgung der Muskularis und der Submukosa am Beispiel eines einzelnen Gefäßabschnittes. Die Abgänge der Gefäße sind entsprechend ihrer Verzweigung nummeriert. Hier werden fünf Hauptarterienverläufe (1A bis 5A) und vier Hauptvenen (4V bis 1V) dargestellt. SA (Arterie) und SV (Vene) stellen die zu- bzw. abführenden Gefäßsysteme dar. Die Kapillargefäße im Stratum circulare (CC) und im Stratum longitudinale (LC) verlaufen parallel zum Verlauf der Muskelfasern. (Abb. aus Bohlen und Gore, 1977).

Die Muskularis bildet die das Darmrohr umgebende Muskelschicht, die für die Peristaltik zuständig ist. Sie wird unterteilt in eine Längs- und eine Ringmuskelschicht (Stratum longitudinale und Stratum circulare). Zwischen den beiden Muskelschichten liegt ein Nervengeflecht, der Plexus myentericus oder Auerbach-Plexus. Die Submukosa enthält ein weiteres Nervengeflecht, den Plexus submucosus (Meißner-Plexus). Beide Nervengeflechte bilden das intrinsische Darmnervensystem, welches eigenständig arbeitet und vornehmlich die Darmperistaltik und -sekretion koordiniert. Es wird jedoch sowohl vom Sympathikus (via Ganglion coeliacum) wie auch vom Parasympathikus (via Nervus vagus) beeinflusst. Das Blutgefäßsystem der Muskularis ist wesentlich weniger komplex aufgebaut als das der Mukosa, da es keine resorptiven bzw. immunologischen Aufgaben übernimmt. Die Kapillargefäße verlaufen hier entlang der Ausrichtung der Muskelfasern.

Also zeigt sich bereits im Aufbau der Blutgefäßsysteme der Muskularis und Mukosa der unterschiedliche Anspruch an die Aufgaben der Gewebeschichten. So ist in der Mukosa zum einen aufgrund der Nährstoffaufnahme und zum anderen als Immunbarriere eine deutlich ausgeprägtere Vaskularisation zu beobachten. Die Muskularis hingegen zeigt lediglich ein

entlang der Muskelfasern verlaufendes Kapillarsystem, da hier keine resorptiven bzw. immunologischen Anforderungen gestellt werden (s. Abb 1.2 und Abb. 1.3) und lediglich der Zu- bzw. Abfluss des Blutes gewährleistet werden muß.

1.3 Endotoxinämie und ihre Auswirkungen auf den Blutkreislauf

1.3.1 Die Endotoxinämie und das Krankheitsbild Sepsis

In der Sepsis kommt es zum konstanten oder periodischen Eindringen von Mikroorganismen (meist Bakterien, seltener Pilze, Viren oder Parasiten) in die Blutbahn. Dabei können Schäden an verschiedenen Organen des Organismus auftreten, was zum Schock und zum Multiorganversagen führen kann. Eine Sepsis kann aber auch durch bakterielle Endo- oder Exotoxine verursacht werden. Von einer Endotoxinämie spricht man, wenn Zellwandbestandteile (Lipopolysaccharide, LPS) gram-negativer Bakterien in die Blutbahn gelangen.

Häufig auftretende Sepsisherde beim Menschen sind z.B. der Nabel bei Neugeborenen, der Urogenitaltrakt (Harnwegsinfekte, postpartale Infektionen u.a.), der Hals-Nasen-Ohren-Bereich (z.B. Tonsillitis, Sinusitis, Otitis) und die Gallenwege. Aber auch der Magen-Darmtrakt spielt eine wesentliche Rolle in der Genese der Sepsis. So kann es im Zusammenhang mit Darmoperationen, einem Ileus oder im Rahmen eines Mesenterialinfarktes zu einer Aussaat von pathogenen Mikroorganismen kommen. Das septische Krankheitsbild ist für die Intensivmedizin von herausragender Bedeutung, da sowohl die Inzidenz als auch die Letalität hoch sind.

Das Krankheitsbild der Sepsis wird grundsätzlich in zwei unterschiedliche Formen unterteilt. Zum einen gibt es die systemische inflammatorische Reaktion (*systemic inflammatory response syndrom*, SIRS), zum anderen die eigentliche Sepsis mit bekanntem Focus. SIRS ist eine unspezifische Systemreaktion, unter der ein Patient mit unterschiedlichen Allgemeinsymptomen wie Tachykardie, Tachypnoe, Anstieg oder Abfall von Körpertemperatur und Leukozytenzahlen auffällig wird. Kann ein spezieller Focus nachgewiesen werden (z.B. in der Blutkultur oder im Trachealsekret) spricht man von einer Sepsis. Der Sepsis liegt das Versagen der körpereigenen Abwehr zugrunde. Die Infektion kann durch die Entzündungsantwort vom Körper nicht in ihren destruktiven Teilkomponenten begrenzt werden.

1.3.2 Einfluss der Endotoxinämie bzw. der Sepsis auf die Makrozirkulation und das Immunsystem

Der Krankheitsverlauf der Sepsis zeigt in der Regel zwei hämodynamische Phasen. So kommt es in der Frühphase zur hyperdynamen Form der Kreislaufreaktion mit gesteigertem Herzminutenvolumen, Tachykardie und noch normalem oder leicht erniedrigtem Blutdruck. In der darauf folgenden hypodynamen Form sinken der Blutdruck, der zentrale Venendruck sowie die Diurese. Der ausgeprägte Schock ist dann durch die hochgradige Hypotonie und Tachykardie geprägt.

Experimentell kann eine systemische Entzündung durch eine Endotoxinämie simuliert werden. Dazu wird ein Endotoxin wie z.B. bakterielles Lipopolysaccharid (LPS) intravenös verabreicht. Ein hoch standardisiertes Tiermodell für die humane Sepsis ist die systemische Applikation von LPS aus der Zellmembran gram-negativer Bakterien (Freise, Bruckner und Spiegel, 2001). Die Endotoxinämie löst unterschiedliche Effektor-Kaskaden und Akute-Phase-Reaktionen (Zytokin- und Bradykininausschüttung, Gerinnungskaskade, Komplementfaktoren) aus. Die primären Zielzellen des LPS im Wirtsorganismus sind Makrophagen als mononukleäre Phagozyten und Endothelzellen. An den Oberflächen von Makrophagen und dendritischen Zellen, also Zellen des angeborenen Immunsystems, befinden sich die *toll-like receptors* (TLR). Es sind 12 unterschiedliche *toll-like receptors* bekannt, die unterschiedliche sog. PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*) erkennen und binden. PAMPs sind Zellstrukturen, welche ausschließlich auf Pathogenen vorkommen.

Kommt es zum Eindringen eines Erregers, werden Makrophagen und dendritische Zellen durch Komplementfaktoren angelockt und nach Kontakt mit dem Erreger die Abwehrkaskade in Gang gesetzt. Bei Kontakt mit LPS, wie in diesem Versuch, handelt es sich um den TLR-4. Der Rezeptor erkennt die spezifische Struktur des LPS und signalisiert die Bindung des LPS an die Zelle, worauf über weitere Proteine nukleärer Faktor Kappa B (NF- κ B) freigesetzt wird. Dieser reguliert Gene für Cytokine und andere Immunmodulatoren hoch, was wiederum zur Aktivierung von B- und T-Zellen führt. Im weiteren Verlauf kommt es zur Freisetzung des Zytokins Tumornekrosefaktor-alpha (TNF α) sowie Interleukin 1 (IL-1).

Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Gabe von LPS einen signifikanten Anstieg von TNF α bewirkt (Heumann und Roger, 2002). Dabei zeigte sich die höchste Konzentration von TNF α 60-90 min nach Gabe des LPS. Es scheint einen Zusammenhang zwischen der Höhe des jeweiligen TNF α -Spiegels und dem klinischen Verlauf der Patienten zu geben.

Zusätzlich kommt es zur Ausschüttung von IL-1 und IL-6 sowie anderer Mediatoren. Die Rolle von IL-6 konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. So zeigten sich *in vitro* zum einen eine Hemmung von TNF α und IL1- β , zum anderen kommt es zur vermehrten Freisetzung von Akute-Phase-Proteinen, so dass zum jetzigen Zeitpunkt sowohl von einer pro- wie auch von einer antiinflammatorischen Funktion von IL-6 ausgegangen werden muss.

1.3.3 Der Einfluss der Endotoxinämie auf die intestinale Mikrozirkulation

Bei der Endotoxinämie kommt es früh im Krankheitsverlauf zu einer Beeinträchtigung der intestinalen Mikrozirkulation. Im Ileum der Ratte konnte gezeigt werden, dass es nach der Gabe von LPS zur Vasokonstriktion der mukosalen Mikrogefäße kommt (Theuer *et al.*, 1993). Es zeigt sich zudem eine deutliche Zunahme von *platelet-activating factor* (Miura *et al.*, 1993) und eine zunehmende Endothelinproduktion, was wiederum Einfluss auf die mikrovaskuläre Durchblutungssituation hat (Miura *et al.*, 1996; Wilson, Steeb und Garrison, 1993).

Die intestinale Mikrozirkulation wird in der Endotoxinämie jedoch auch durch eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems beeinflusst. Mehrere Untersuchungen konnten zeigen, dass es im Rahmen einer peritonealen Sepsis zu einem signifikanten Anstieg von Noradrenalin im Plasma kommt (Hahn *et al.*, 1995; Kovarik, Jones und Romano, 1987). Dies weist auf eine Sympatikus-bedingte Freisetzung aus dem Nebennierenmark hin. Yang *et al.* konnten zudem zeigen, dass auch der Darm selbst eine wichtige Quelle der Noradrenalin-Freisetzung darstellt (Yang *et al.*, 2000).

Werden durch die Sympatikusaktivierung ausreichende Mengen von Katecholaminen freigesetzt, so wirken diese auf dem Blutwege (humoral) vasokonstriktiv auf die mesenterialen und intestinalen Widerstandsgefäße. Zudem kann das aktivierte sympathische Nervensystem über den nervalen Weg eine Konstriktion der Widerstandsgefäße hervorrufen. Durch die Vasokonstriktion kommt es zur Blutflussverringerng, was zu einer Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff führen kann. Zudem scheint es einen direkten Zusammenhang zwischen der Verschlechterung der intestinalen Perfusion aufgrund von sympathoadrenerger Aktivität und dem Versagen der Barrierefunktion der Darmmukosa mit nachfolgender bakterieller Translokation zu geben (Sugita *et al.*, 1998; Kanwar *et al.*, 2000).

In vitro Experimente zeigten, dass eine hohe Konzentration von Noradrenalin mit einer erhöhten Anheftung von Pathogenen (hier *E. coli*) einhergeht (Green *et al.*, 2004). Zudem

kommt es zu einer Zunahme der Proliferationsrate der natürlich vorkommenden *E. coli* (Lyte *et al.*, 1997).

Ein weiterer Aspekt ist die durch Endotoxin ausgelöste Aktivierung von Leukozyten. Es kommt zur Freisetzung reaktiver Sauerstoffradikale und Enzyme, welche zur Oxydation der Lipidmembranen führt. Zudem kommt es zur Erhöhung der Kapillarpermeabilität und konsekutiv zu einem Gewebeödem mit einer Schädigung der Epithelzellen.

Der Darm spielt daher eine erhebliche Rolle bei der Initiierung, Perpetuierung und Amplifikation der systemischen Entzündungsreaktion (Deitch, 1990; Pastores, Katz und Kvetan, 1996; Carrico *et al.*, 1986).

1.4 Die thorakale Epiduralanästhesie

1.4.1 Grundlagen

Die Epidural- oder Periduralanästhesie ist ein im klinischen Alltag häufig verwendetes Regionalanästhesie-Verfahren, bei welchem ein Lokalanästhetikum (z.B. Lidocain, Bupivacain) über einen Katheter in den Epiduralraum injiziert wird. Dies führt zu einer reversiblen Blockade der motorischen, sensorischen und vegetativen Fasern der betroffenen Spinalnerven. Eine die thorakalen Rückenmarksegmente umfassende Ausbreitung des Lokalanästhetikums führt zu einer Blockade des thorakalen sympathischen Nervensystems (Th1-L2), welches unter anderem die Splanchnikusorgane innerviert (vgl. Abb 1.4).

Die Blockade von präganglionären Sympathikusfasern führt meist zu einem Blutdruckabfall. Dieser ist zum einen bedingt durch eine Verminderung des systemischen Gefäßwiderstandes (Greitz, Andreen und Irestedt, 1984), zum anderen kann auch eine Verminderung des Herzzeitvolumens dazu beitragen. Die Beeinträchtigung des Herzzeitvolumens ist dabei sowohl durch einen erniedrigten venösen Rückstrom als auch ggf. durch die Blockade kardialer sympathischer Fasern (Nn. accelerantes, Th1-Th4) mit daraus resultierender negativ inotroper und chronotroper Wirkung zu erklären. Eine Blockade der thorakolumbalen sympathischen Fasern beinhaltet auch Segmente, welche die Nebenniere innervieren. Dies bedingt eine stark verminderte Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark und führt zu einer Ausschaltung der sympathischen Reflexreaktion des Herz-Kreislaufsystems und zu einer Reduktion der endokrinmetabolischen Stressantwort auf einen operativen Eingriff (Kehlet, 1988). Zudem wird eine systemische Wirkung der verwendeten Lokalanästhetika

diskutiert, welche zusätzliche Einflüsse wie z. B. zentrale Nebenwirkungen, antiinflammatorische Wirkung, Blutdruckabfall durch Vasodilatation, negative Chronotropie und Dromotropie bewirken kann (Hahnenkamp *et al.*, 2002).

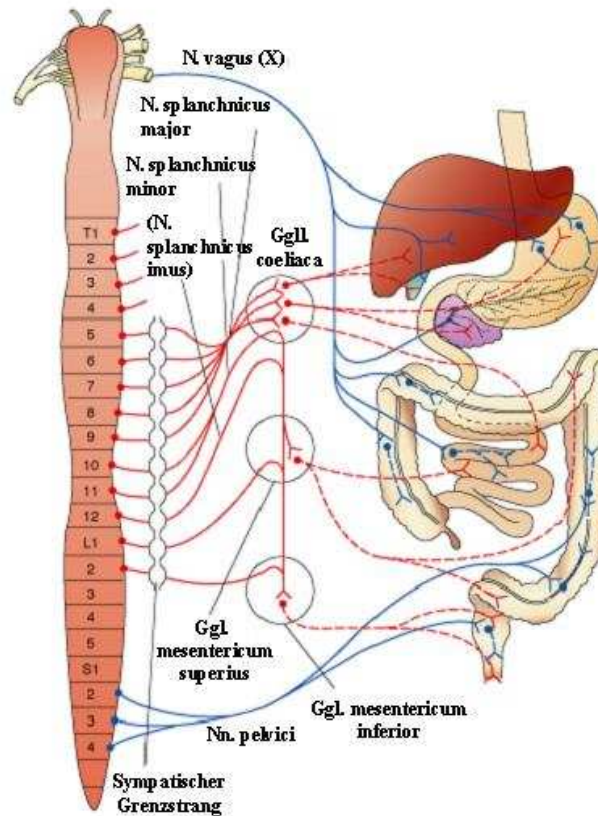


Abbildung 1.4: Schematische Übersicht über das vegetative Nervensystem. Je nach epiduraler Ausbreitung des Lokalanästhetikums können verschiedene Organe betroffen sein. (Abb. modifiziert nach Porth, 2004).

1.4.2 Die Auswirkungen der thorakalen Epiduralanästhesie auf den Gastrointestinaltrakt

Die Blockade der den Darm innervierenden sympathischen Fasern hat deutliche Auswirkungen auf die Motilität des Darms. Dies ist damit zu erklären, dass der Darm parasymphatisch durch den Nervus vagus innerviert wird, welcher direkt dem Nucleus dorsalis vagi im Rautenhirn entspringt (vgl. Abb. 1.4). Die Epiduralanästhesie blockiert lediglich die sympathischen Fasern und beeinflusst die parasymphatische Innervation des Darms nicht. Dies führt zu einem überwiegend parasymphatischen Tonus mit gesteigerter

Darmperistaltik (Ahn *et al.*, 1988; Lundberg *et al.*, 1989) und einer Verkürzung des postoperativen Ileus nach Abdominaleingriffen unter Epiduralanästhesie (Gelman *et al.*, 1977; Seeling *et al.*, 1990; Jayr *et al.*, 1993; Bredtmann *et al.*, 1990).

Trotz des weit verbreiteten Gebrauches der thorakalen Epiduralanästhesie im klinischen Alltag besteht bisher kein Konsens über die Auswirkung der Epiduralanästhesie auf die Darmperfusion. In einigen Studien wurde eine konstante Splanchnikusperfusion, teilweise sogar eine Abnahme des intestinalen Blutflusses unter Epiduralanästhesie nachgewiesen (Kennedy, Jr. *et al.*, 1971; Lundberg *et al.*, 1990; Vaisanen *et al.*, 1998; Greitz, Andreen und Irestedt, 1984; Sivarajan, Amory und Lindbloom, 1976). Im Gegensatz dazu verbesserte sich bei abdominalchirurgischen Patienten mit thorakaler Epiduralanästhesie die Perfusion der Darmwand (Johansson *et al.*, 1988) und es wurde ein Anstieg des pH-Wertes der Magenmukosa nachgewiesen, einem Surrogatparameter der mukosalen Durchblutung (Kapral *et al.*, 1999; Sutcliffe *et al.*, 1996).

Bei Patienten mit Peritonitis wurde die thorakale Epiduralanästhesie mit intravenöser Morphinapplikation als alternatives analgetisches Verfahren verglichen. Patienten unter Morphingabe zeigten eine Verminderung des mukosalen pH-Wertes im Vergleich zu den Patienten mit einer TEA in einem 24-stündigen Beobachtungszeitraum. Zudem war das Erscheinungsbild des Darmes bei den Patienten mit thorakaler Epiduralanästhesie im Ultraschallbild signifikant besser als bei Patienten unter Morphinbehandlung (Spackman *et al.*, 2000).

In einer intravitalmikroskopischen Studie mit Ratten zeigt sich unter Epiduralanästhesie eine Verbesserung der intestinalen mikrovaskulären Perfusion trotz Abfall des arteriellen Drucks (Sielenkamper, Eicker und Van Aken, 2000). Bei Ratten im hämorrhagischen Schock verbesserte die Epiduralanästhesie die mikrovaskuläre Perfusion der Muskularis (Adolphs *et al.*, 2003). Dies ist assoziiert mit einer verminderten systemischen Azidose und einer abgeschwächten Leukozyten-Endothel-Interaktion.

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Die intestinale mikrovaskuläre Perfusion ist während der Endotoxinämie deutlich vermindert. Dadurch kann es zu einer Schädigung der Darmwand und einer Beeinträchtigung der intestinalen Barrierefunktion kommen. Aufgrund der bisher vorliegenden Studienergebnisse erscheint die regionale Sympathikolyse in Form einer thorakalen Epiduralanästhesie als ein vielversprechendes Verfahren zur Verbesserung der mikrovaskulären Perfusion. Bisher gibt

es jedoch nur wenige Untersuchungen über die Auswirkung der thorakalen Epiduralanästhesie auf die intestinale Mikrozirkulation während der systemischen Inflammation.

Ziel dieser Arbeit war es daher, ein Rattenmodell für normotensive Endotoxinämie zu etablieren und die Effekte der thorakalen Epiduralanästhesie auf die intestinale Mikrozirkulation darzustellen. An diesem Modell sollte die Hypothese überprüft werden, dass die thorakale Epiduralanästhesie in der Endotoxinämie zu einer verbesserten intestinalen Mikrozirkulation führt.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Tiere

Für die Experimente wurden männliche Sprague Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 280-320 g verwendet. Alle Tiere hatten uneingeschränkten Zugang zu Wasser und Standard-Alleinfuttermittel (Altromin, Lage, Deutschland). Die Zucht und die Haltung erfolgten in einem institutseigenen Tierstall unter standardisierten Bedingungen (Temperatur 22 °C, Luftfeuchtigkeit 40-50 %, 12-stündiger Hell-Dunkel-Rhythmus). Die Tierhaltung und Versuchsdurchführung entsprachen dem deutschen Tierschutzgesetz und waren vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin unter dem Aktenzeichen G 0021/01 genehmigt.

2.2 Experimentelles Protokoll

2.2.1 Charakterisierung des LPS-Modells

Um die systemischen Effekte des Endotoxins auf die Tiere zu messen, wurde eine Gruppe von Tieren (n = 8) untersucht. Die Tiere wurden mit einer subkutanen Gabe von Urethan (Urethan 99 % (N), Sigma Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland, 1,5 g/kg) und Ketamin (Ketavet, Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen, Deutschland, 50 mg/kg) anästhesiert. Nach der Tracheotomie atmeten die Tiere Raumluft, die Atemfrequenz wurde zu den entsprechenden Messzeitpunkten notiert. Die Tiere wurden auf einer Wärmematte gelagert, die Veränderungen der Körpertemperatur wurden über eine rektale Sonde gemessen und durch ein Kontrollgerät (Homeothermic Blanket Control Unit, Havard Electronics, Edenbridge, Großbritannien) um 37 °C konstant gehalten.

Die linke Arteria carotis wurde zur Überwachung der hämodynamischen Parameter sowie zur Blutentnahme, die rechte Vena cava superior zur kontinuierlichen intravenösen Infusion von isotonischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%, Boehringer Ingelheim Delta Pharma, Pfullingen, Deutschland, 3 ml/h) mit je einem Polyethylenschlauch (innerer Durchmesser 0,58 mm, äußerer Durchmesser 0,96 mm, Portex, Hythe, Großbritannien) kanüliert. Mittlerer arterieller Druck (MAD) und Herzfrequenz (HF) wurden kontinuierlich dokumentiert und zu jedem Messzeitpunkt abgelesen. Es wurden dann n = 5 Tiere ausgewählt, die eine intravenöse

Infusion mit *Escherichia coli* Lipopolysaccharid (LPS, Serotyp 026:B6, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland) erhielten (LPS-Gruppe), während n = 3 Tieren eine analoge Menge isotonischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) (NaCl-Gruppe) infundiert wurde. Es wurden dann Messungen nach einer 30-minütigen Stabilisierungsphase (Ausgangswert) sowie nach 60 und 120 min Endotoxinämie erstellt. Dabei wurden Blutproben entnommen, in denen die Anzahl der Leukozyten (Coulter Ac Tdiff, Coulter Corporation, Miami, Florida, USA), sowie pH-Wert und Basen-Überschuss (Rapidlab 348, Chiron Diagnostics GmbH, Magdeburg, Deutschland) bestimmt wurden.

2.2.2 Einfluss der TEA in der Endotoxinämie

Um die Auswirkungen der thorakalen Epiduralanästhesie auf die Mikrozirkulation von Mukosa und Muskularis zu untersuchen, wurden vier weitere Versuchsgruppen gebildet. Die Tabelle 2.1 zeigt die Zusammenstellung der unterschiedlichen Versuchsgruppen mit der jeweiligen Infusion und dem untersuchten Gewebe.

Tabelle 2.1: Aufteilung der Versuchsgruppen zur Untersuchung der Mukosa bzw. Muskularis nach Gabe von Lidocain bzw. isotonischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%). Für jede Gruppe betrug die Anzahl der Tiere n = 8.

Gruppe	Untersuchte Darmschicht	Epidurale Infusion
Gruppe I	Mukosa	Lidocain 2 % (TEA)
Gruppe II	Mukosa	NaCl 0,9 % (CTRL)
Gruppe III	Muskularis	Lidocain 2 % (TEA)
Gruppe IV	Muskularis	NaCl 0,9 % (CTRL)

Unter Allgemeinanästhesie (Urethan/Ketamin) erfolgte eine tracheale Kanülierung und mechanische Beatmung mit Raumluft (Small Animal Ventilator, Harvard Electronics, Edenbridge, Großbritannien). Die Beatmungsfrequenz wurde gemäß den Blutgaswerten (siehe 2.8) variiert, um die Partialdrücke von Kohlendioxid zwischen 35 und 45 mmHg zu halten. Die Temperaturkontrollen wurden entsprechend dem oben angeführten Ablauf durchgeführt. Die rechte und linke Arteria carotis wurden zur Kontrolle des MAD und der HF sowie zur Blutprobenentnahme wie unter 2.2.1 beschrieben kanüliert. Der MAD und die HF wurden ebenfalls kontinuierlich dokumentiert und zu jeweils einem Wert pro Messzeitpunkt gemittelt. Zudem wurde die rechte Vena jugularis externa kanüliert und eine kontinuierliche intravenöse Infusion von isotonischer Kochsalzlösung (NaCl 0.9 %, 3 ml/h) verabreicht.

Die Tiere wurden auf einem speziell entworfenen Mikroskopiertisch (ELESTA AG Elektronik, Bad Ragaz, Schweiz; vgl. 2.5) positioniert und das terminale Ileum für die Intravitalmikroskopie präpariert. Um den initialen Hämatokrit der Tiere im Normbereich (36-54 %) zu halten, wurde bei Bedarf ein Bolus NaCl 0,9 % (0,5-1 ml) appliziert.

Nach einer Stabilisierungszeit von 30 min wurden 0,2 ml einer 5 %igen Fluoreszeinisothiocyanid-(FITC)-Dextran-Lösung (150S, Sigma-Aldrich) intravenös appliziert. Daraufhin wurden 10 zufällig ausgesuchte Villi der Mukosa (Gruppe I und II), bzw. 10 Regionen der Muskularis (Gruppe III und IV) auf Videoband aufgezeichnet (Ausgangswert; Abb. 2.1). Anschließend wurde den Tieren der Gruppen I und III ein epiduraler Bolus von 30 µl Lidocain 2 % (B. Braun, Melsungen, Deutschland) über einen Zeitraum von 15 min verabreicht. Um die sympathische Blockade aufrechtzuerhalten, wurde eine kontinuierliche epidurale Infusion (100 µl/h) per Perfusor (Perfusor segura FT, B. Braun) eingeleitet. Die Tiere der Gruppen II und IV erhielten NaCl 0,9 % in entsprechender Menge. Nach weiteren 30 min Stabilisierungszeit erfolgte die zweite Aufnahmereihe (Epidurale Infusion; Abb. 2.1) um die Auswirkungen der Epiduralanästhesie auf die intestinale mikrovaskuläre Perfusion zu beurteilen.

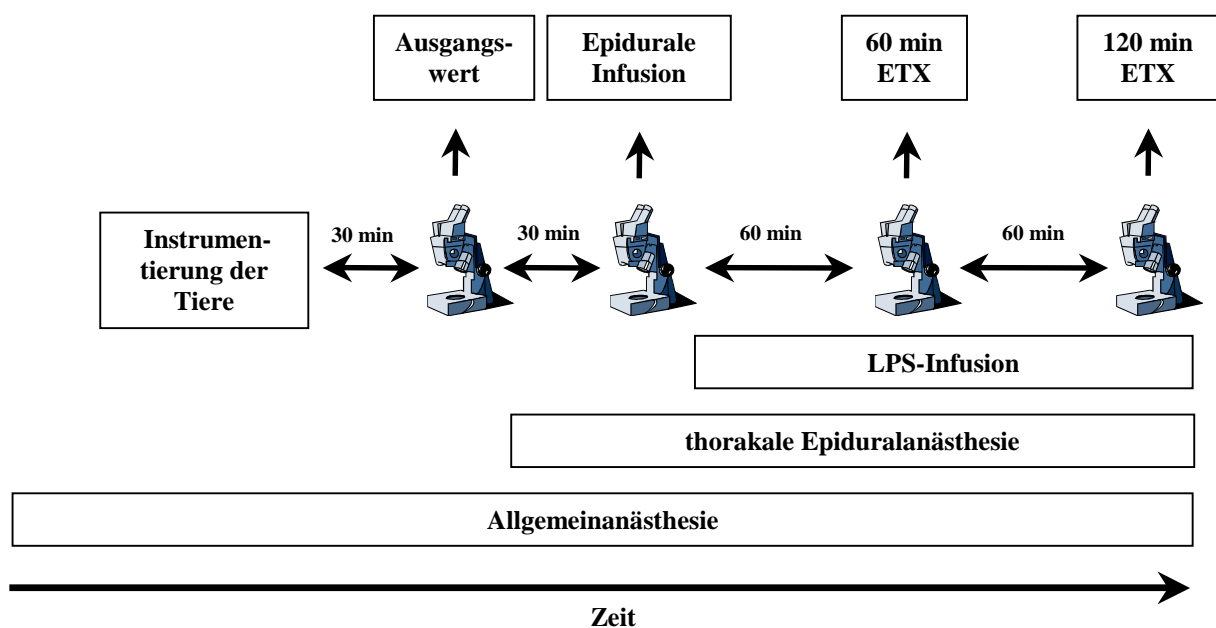


Abbildung 2.1: Schema zum zeitlichen Ablauf des Versuchs: 30 min nach der Instrumentierung der Tiere wurde der Ausgangswert ermittelt und die thorakale Epiduralanästhesie begonnen. Weitere 30 min später erfolgte die Aufnahme der zweiten Videosequenz (Epidurale Infusion) und die LPS-Infusion wurde gestartet. 60 min und 120 min nach Beginn der Endotoxinämie wurden die weiteren Videosequenzen aufgenommen (60 min ETX bzw. 120 min ETX).

Zum Initiieren und Aufrechterhalten der Endotoxinämie wurde den Tieren eine kontinuierliche Infusion ($1,5 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1} \times \text{h}^{-1}$) *Escherichia coli*-LPS intravenös verabreicht. Begonnen wurde

mit der Infusion des Toxins nach Beendigung der Stabilisierungsphase der epiduralen Infusion. Die Aufnahmen zur Beurteilung der mikrovaskulären Perfusion wurden nach 60 und 120 Minuten LPS-Infusion erstellt (Abb. 2.1).

Nach Beendigung der Versuche und Entnahme der Blutproben wurden die Tiere mit einer intravenösen Injektion von Pentobarbital (200 mg/kg, Narcoren, Merial, Hallbergmoos, Deutschland) euthanasiert.

2.3 Epidurale Katheterisierung

Die epidurale Katheterisierung erfolgte unter Allgemeinanästhesie nach einer leicht modifizierten Methode von Bahar *et al* (Bahar, Rosen und Vickers, 1984). Dazu wurde ein 200 mm langer Polyethylenschlauch (PE 10, innere Durchmesser 0,28 mm, äußerer Durchmesser 0,61 mm, Portex, Hythe, Großbritannien) verwendet, dessen Totraum mit einem monofilamentösen Faden (Prolene[®] 4/0, Johnson & Johnson Medical GmbH, Düsseldorf, Deutschland) verkleinert wurde. 40 mm von der Spitze entfernt wurde der Polyethylenschlauch mit Heißkleber (LT110, Uhu[®], Brühl, Deutschland) markiert, um eine Standardisierung der thorakalen Lage während des Versuchs zu gewährleisten. Nach Rasur wurde ein ca. 30 mm langer Schnitt median, entlang der Spinalfortsätze von L2-S1 gesetzt. Nach der Präparation der Faszien und Muskeln wurde der Spinalfortsatz L5 entfernt. Danach wurde mit einem elektrischen Bohrer (Mikromit 40/E+, Proxxon, Niersbach, Deutschland) ein Loch von etwa 2 mm Durchmesser in die Lamina dorsalis des Wirbelkörpers L4 gebohrt. Der Katheter wurde nun bis zur angebrachten Markierung 40 mm in kraniale Richtung geschoben, die Muskeln und Faszien wieder zugenäht und der Katheter zusätzlich mit Klebeband an der Rückenhaut fixiert. Nach Beendigung des Versuches wurde durch eine Autopsie die korrekte thorakale Lage der Katheterspitze im Epiduralraum überprüft.

2.4 Präparation des Ileums

Zur Präparation des Ileums wurde ein abdominaler Schnitt entlang der Linea alba durchgeführt und das terminale Ileum (5 cm vom ileocökalen Übergang) ausgelagert. Die Tiere wurden auf eine Plexiglasbühne gelegt und der Darm auf einer adjustierbaren Metallplattform unter das Mikroskop gelagert (vgl. Abb. 2.2). Die Metallplattform war mit

verformbarem Plastizin (Henkel Teroson GmbH, Heidelberg, Deutschland) überzogen, um eine Schädigung des Darmes zu verhindern und eine optimale Lagerung des Gewebes zu gewährleisten. Die Entnahme und spezielle Lagerung des Darmabschnittes garantierte eine Kontrolle des mesenterialen Gefäßsystems, so dass eine zufällige Einklemmung der Gefäße und/oder eine vaskuläre Stase verhindert werden konnten. Ein weiterer Vorteil der separaten Lagerung des Darmes war die Minimierung atemabhängiger Darmbewegungen, da durch diese die Qualität der Videoaufnahmen stark beeinträchtigt werden konnte.

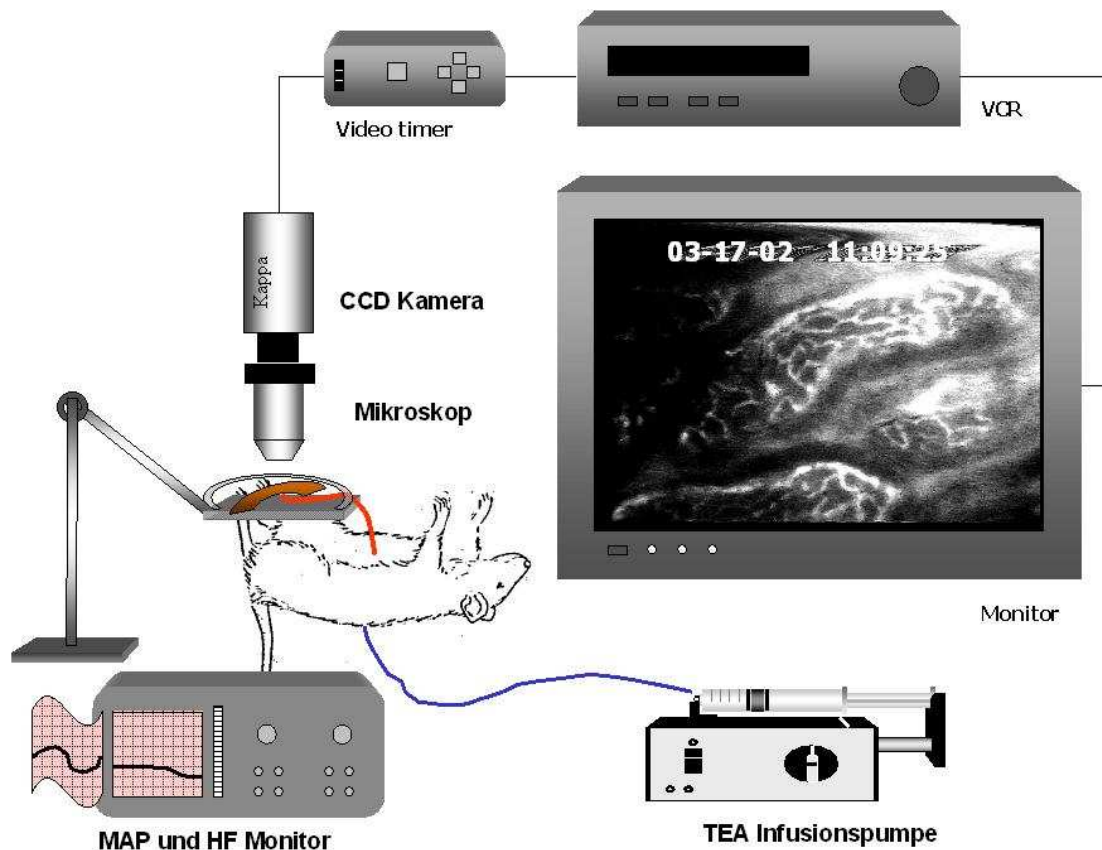


Abbildung 2.2: Vereinfachte schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. MAP = mittlerer arterieller Druck, HF = Herzfrequenz, TEA = thorakale Epiduralanästhesie, VCR = Videorekorder

Zur Darstellung der Mukosa (Gruppe I und II) wurde das zu untersuchende Segment auf der antimesenterialen Seite mit einem Elektrokauter (Kuasto-Lux II, Fa. Meyer und Kersting Medizintechnik GmbH, Karlsruhe, Deutschland) 2-3 cm in longitudinaler Richtung geöffnet. Der Darminhalt wurde vorsichtig mit angefeuchteten Wattestäbchen entfernt und der Darmabschnitt mit der mukosalen Seite nach oben auf der Mikroskopierplattform positioniert. Dann erfolgte eine Abdeckung des präparierten Situs mit Polyethylenfolie (Fa. Quickpack Haushalts und Hygiene GmbH, Renningen, Deutschland), um eine Austrocknung des Darmes

zu verhindern und die peristaltischen Darmbewegungen weitgehend zu reduzieren. Um eine konstante Temperatur von 37 °C zu gewährleisten, wurde das Darmsegment konstant mit warmer isotonischer-Elektrolytlösung (pH 7,4) beträufelt. Die Betrachtung der Muskularis erfolgte von der serösen Seite der Darmwand und erforderte somit keine Eröffnung des Darmes.

2.5 Intravitale Mikroskopie

Die intestinale mikrovaskuläre Perfusion im ausgelagerten Darmsegment wurde per Epi-fluoreszenzmikroskopie analysiert. Dazu wurde ein Mikroskop (Orthoplan, Leitz Wetzlar, Deutschland) mit einer 150 W Xenon-Lampe (XBO 150W/1, Fa. Osram, München, Deutschland) verwendet. Diese war verbunden mit einem Ploemo-Pak Illuminator (Vergrößerungsfaktor $\times 1,25$) und einem $E_{2/3}$ Filterblock (Blaufilter, Exzitation 450-490 nm; Emission >515 nm). Mit einem Wasser-Immersion-Objektiv (Vergrößerungsfaktor $\times 10$ Apertur 0,45, Leitz) konnte eine ca. 600-fache Vergrößerung erreicht werden.

Das Mikroskopbild wurde über eine CCD Kamera (CF 8/4 FMC C, Kappa opto-elektronics GmbH, Gleichen, Deutschland) auf einen Monitor (Fa. Sony, Köln, Deutschland) übertragen und mit einem S-VHS-Videorekorder (RTV-950, Blaupunkt GmbH, Hildesheim, Deutschland) aufgezeichnet, um eine spätere Bearbeitung zu ermöglichen (vgl. auch Abb. 2.2).

2.6 Analyse der mikrovaskulären Perfusion

Die mikrovaskuläre Perfusion des Darmes wurde zu vier Zeitpunkten untersucht: ein Ausgangswert zum Beginn des Versuches, nach 30 min epiduraler Infusion, sowie nach 60 und 120 Min. Endotoxinämie (vgl. Abb. 2.1).

Zu jedem Messzeitpunkt wurde die mikrovaskuläre Perfusion in jeweils 10 Villi der Mukosa (vgl. Abb. 2.3) bzw. 10 Regionen der Muskularis (vgl. Abb. 2.4 A) für jeweils 60 Sekunden aufgenommen. Um eine relative Vergleichbarkeit der verschiedenen Messungen zu ermöglichen, wurde ein elektronisches Koordinatensystem benutzt, welches mit dem Mikroskopiertisch gekoppelt war. Mit Hilfe dieses Koordinatensystems wurden in jeder Videosequenz jeweils die gleichen Regionen aufgesucht.

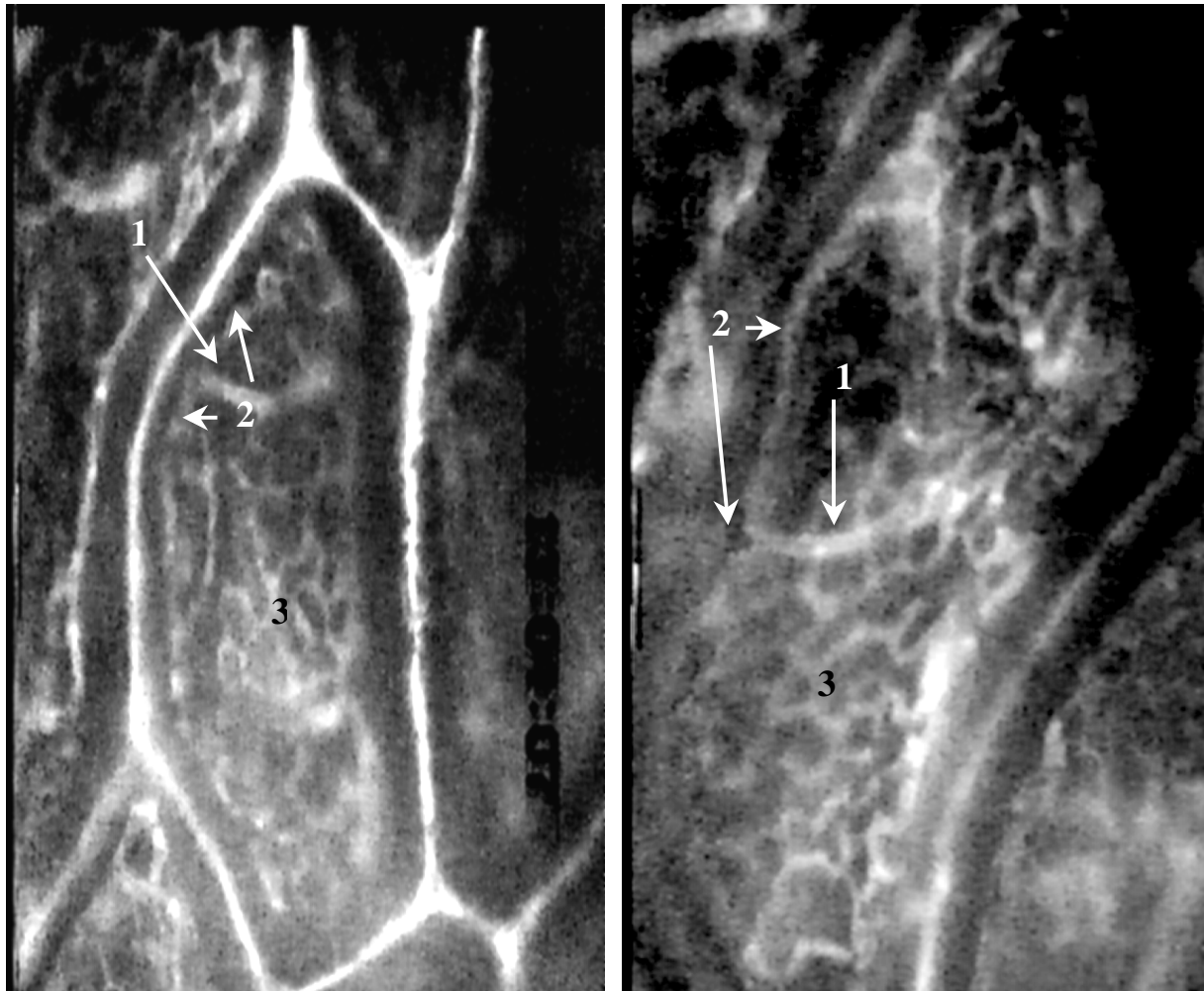


Abbildung 2.3: Beispiele für Videoaufnahmen der Mukosaperfusion; Videostandbild zweier unterschiedlicher Villi mit der Darstellung wichtiger mikrovaskulärer Strukturen: 1 = Zentralarteriole, 2 = Arteriolen, 3 = Kapillargefäße.

Die Analyse der Aufnahmen erfolgte offline mit einem Echtzeit-Bildverarbeitungs-System (Image Technologie MVC 150/40-PCI-Board, USA). Die erstellten Videoaufnahmen wurden dabei per Hand vom Monitor auf Klarsichtfolien übertragen (vgl. Abb.2.4 B)

Es wurden kontinuierlich-, intermittierend- und nicht perfundierte Kapillaren unterschiedlich gekennzeichnet (vgl. Abb. 2.4). Dabei wurde eine Kapillare als intermittierend perfundiert gewertet, wenn der Blutfluss mehr als 3 Sekunden zum Erliegen kam, jedoch prinzipiell noch ausreichenden Blutfluss aufwies. Kapillaren die während der gesamten Videosequenz keinen bzw. kaum messbaren Blutfluss zeigten, wurden als nicht perfundiert gewertet.

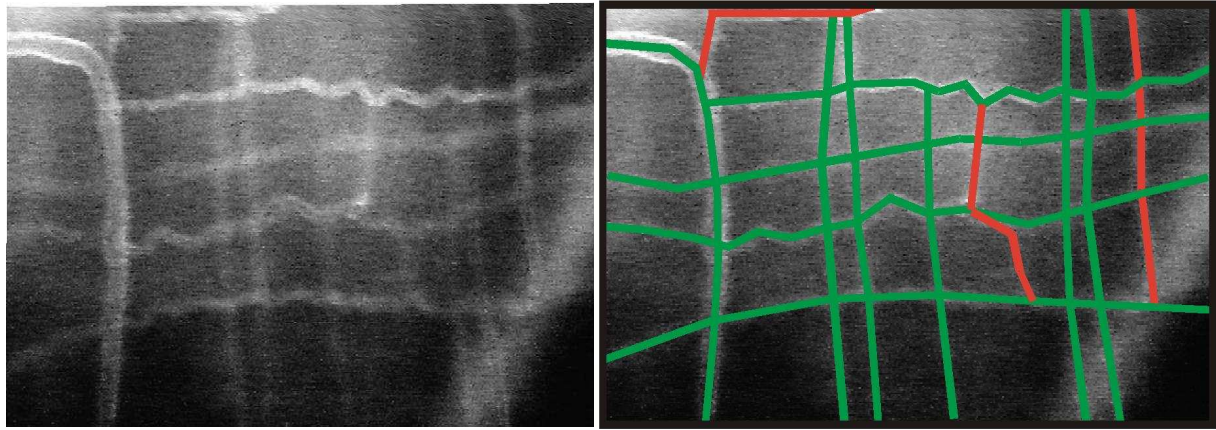


Abbildung 2.4: Beispiel für die Auswertung der Videoaufnahmen in der Muskularis. **A:** Videostandbild der Kapillardurchblutung, **B:** Übertragung der unterschiedlich perfundierten Kapillargefäße auf Folie (grün: kontinuierlich perfundierte Kapillargefäße; rot: nicht-perfundierte Kapillargefäße); nähere Erläuterung siehe Text.

Die Gesamtkapillarlänge errechnete sich aus der Summe von kontinuierlich-, intermittierend- und nicht-perfundierten Kapillaren. Die aufgezeichneten Kapillarnetzwerke wurden mit speziell entwickelten Softwareprogrammen analysiert. Mit Vision3D (Pries und Drüsedow, 1998) wurden die Kapillarlängen sowie die Durchmesser der Arteriolen quantifiziert. Mit Vmorph (Pries und Drüsedow, 1998) wurden die Flächen der untersuchten Regionen berechnet.

Zur Beurteilung der mikrovaskulären Perfusion wurden funktionelle Kapillardichte, nicht-perfundierte Kapillardichte und Gesamtkapillardichte in der Mukosa und Muskularis bestimmt. Zusätzlich wurde in den mukosalen Villi der Durchmesser der Zentralarteriole gemessen.

Die funktionelle Kapillardichte wurde als die Länge der mit Erythrozyten perfundierten Kapillaren pro Fläche [cm/cm^2] definiert. Sie setzt sich aus intermittierend und kontinuierlich perfundierter Kapillardichte zusammen.

Um eine durchschnittliche Kapillardichte pro Ratte und Messzeitpunkt zu erhalten, wurden die Kapillarlängen aller 10 Regionen addiert und durch die Summe der ermittelten Flächen dividiert. Dabei wurden in der Mukosa die Flächen der Villi, in der Muskularis hingegen die Fläche des Monitors verwendet. Um die Komplexität des Modells einzuschränken, wurde nicht zwischen der zirkulären und longitudinalen Muskelschicht in der Muskularis unterschieden.

Die Durchmesser der Villuszentralarteriolen wurden über die Mittelung dreier Werte an unterschiedlichen Stellen eines Gefäßes errechnet. Die so erhaltenen Werte von 10 Arteriolen

wurden wiederum gemittelt, um einen Durchschnittswert pro Ratte und Messzeitpunkt zu erstellen.

MAD und HF wurden über die gesamte Versuchszeit aufgezeichnet und zu den entsprechenden Messzeitpunkten abgelesen.

2.7 Erythrozytenfliessgeschwindigkeit

Die Bestimmung der Erythrozytenfliessgeschwindigkeit wurde mit der etablierten „Frame-by-Frame“-Methode (Tymil und Sherebrin, 1980) durchgeführt. Dabei wurde die Distanz einer Lücke im fluoreszierenden Plasma über eine Zeit von 2-10 Bildern (jeweils 40 ms) gemessen und durch die Zeit geteilt. In der Muskularis wurde die Geschwindigkeit in 6-10 Regionen dreifach bestimmt und der Mittelwert errechnet. In der Mukosa wurden die arteriolen Endgefäße (Zentralarteriole und zwei Verteilerarteriolen) analysiert und entsprechend der Muskularis ausgewertet.

2.8 Systemische Variablen

Zur Überwachung der Ratten aus den Versuchsgruppen I - IV wurde zu den jeweiligen Aufnahmezeitpunkten Blutproben entnommen und mit einem Blutgasanalysegerät (Rapidlab 348, Chiron Diagnostics GmbH, Magdeburg, Deutschland) analysiert. Dabei wurden Hämatokrit, pH-Wert, Basenüberschuss, Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck sowie die Natrium- und Kaliumkonzentration gemessen.

2.9 Bestimmung der TNF α -Konzentration im Plasma

Am Ende des Versuchs wurde den Ratten aus dem arteriellen Katheter 2 ml Blut entnommen und in heparinisierte Eppendorf-Reaktionsgefäße (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) überführt. Als Kontrollgruppe dienten anästhesierte, gesunde Ratten (n = 5). Die Blutproben wurden dann bei 4° C und 20000 U/min 10 min lang zentrifugiert (Centrifuge 5417R, Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Deutschland). Der Plasma-Überstand wurde zur späteren Analyse von TNF α in ein steriles Eppendorf-Gefäß überführt und bei -80 °C

gelagert. Das Rattenplasma wurde dann auf seinen TNF α -Gehalt mittels eines *solid phase sandwich enzyme linked immuno assay* (ELISA, BioSource International, Camarillo, CA, USA) nach Angaben des Herstellers untersucht.

2.10 Statistische Analyse

Alle statistischen Tests wurden unter Verwendung des Computerprogramms Sigma Stat 2.03 (SPSS Science Software GmbH, Erkrath, Deutschland) durchgeführt. Um die Effekte der epiduralen Anästhesie auf die intestinale mikrovaskuläre Perfusion, die Hämodynamik und den Hämatokrit zu untersuchen, wurde eine 2-faktorielle Varianzanalyse zu wiederholten Messzeitpunkten mit anschließendem post hoc Test nach Bonferroni durchgeführt. Nicht normalverteilte Daten wurden vor Analyse in eine Rangordnung (rank) gebracht. Die Vergleiche der zytochemischen Daten wurden mit einem *t*-Test für paarige Stichproben erstellt. Nicht normalverteilte Daten wurden als Mediane mit 25. und 75. Percentile dargestellt. Die parametrischen Daten wurden als Mittelwert mit Standardabweichung in prozentualer Abweichung vom Ausgangswert dargestellt. Unterschiede wurden als signifikant gewertet, wenn sich für *p* ein Wert kleiner als 0,05 ergab.

3. ERGEBNISSE

Um eine Aussage über den Einfluss einer kontinuierlichen LPS-Infusion auf systemische Parameter treffen zu können, wurden diese zuerst in zwei Gruppen von Tieren untersucht. In weiteren Tieren wurde dann der Einfluss der regionalen Sympathikolyse mittels thorakaler Epiduralanästhesie auf systemische Variablen sowie die mikrovaskuläre Perfusion des Ileums in der Endotoxinämie untersucht.

3.1 Charakterisierung des LPS-Modells

Um zu untersuchen, inwieweit die Infusion von LPS Einfluss auf den Organismus der Tiere hat, wurden die systemischen Variablen MAD, HF, Atemfrequenz, Leukozytenanzahl, Körpertemperatur, Blut-pH-Wert und Basen-Überschuss (Base-Excess; BE) bei zwei Gruppen mit Tieren ohne TEA ermittelt (Tabelle 3.1). Dabei erhielt eine Gruppe Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %), während den Tieren der andere Gruppe LPS in äquivalenter Menge zu den späteren Versuchsgruppen infundiert wurde.

Für den MAD, die Atemfrequenz, die Temperatur und den pH-Wert ergaben sich keine wesentlichen Änderungen zwischen den beiden Gruppen im Versuchsverlauf. Die HF blieb bei den Tieren mit Kochsalzinfusion konstant, während sie in der Gruppe der LPS-Tiere nach 60 min Endotoxinämie signifikant gegenüber dem Ausgangswert und nach 120 min Endotoxinämie signifikant gegenüber dem Ausgangswert und der NaCl-Gruppe zunahm. Die Leukozytenanzahl war bei der NaCl-Gruppe konstant. Bei der LPS-Gruppe zeigte sich eine signifikante Abnahme nach 60 min versus Ausgangswert und 120 min versus Ausgangswert und NaCl-Gruppe. Auch der Base-Excess änderte sich bei den NaCl-Tieren nicht signifikant, während es in der LPS-Gruppe sowohl nach 60 min wie auch nach 120 min Endotoxinämie zu einer signifikanten Abnahme gegenüber dem Ausgangswert kam.

Tabelle 3.1: Systemische Variablen in Gruppen mit intravenöser Kochsalz- oder Endotoxininfusion. NaCl = Natriumchlorid, LPS = Lipopolysaccharid, * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur Vergleichsgruppe mit $p < 0,05$

	Ausgangswert	60 min Infusion	120 min Infusion
MAD [mmHg]			
NaCl	125 ± 1	131 ± 16	128 ± 17
LPS	110 ± 14	131 ± 18	123 ± 14
HF [Schläge x min⁻¹]			
NaCl	347 ± 45	366 ± 49	371 ± 33
LPS	313 ± 46	361 ± 52 *	447 ± 40 *§
Atemfrequenz [min⁻¹]			
NaCl	111 ± 25	103 ± 13	109 ± 9
LPS	133 ± 33	147 ± 36	145 ± 41
Leukozyten [x10³/µl]			
NaCl	7,7 ± 1,5	7,2 ± 0,5	10,7 ± 4,1
LPS	8,6 ± 2,4	6 ± 2,2 *	4,1 ± 2,1 *§
Temperatur [°C]			
NaCl	36,6 ± 0,5	36,6 ± 0,6	36,8 ± 0,2
LPS	37,3 ± 1,0	37,4 ± 0,9	37,4 ± 1,0
pH			
NaCl	7,4 ± 0,04	7,38 ± 0,03	7,38 ± 0,02
LPS	7,35 ± 0,03	7,36 ± 0,03	7,38 ± 0,04
BE [mmol/l]			
NaCl	0,5 ± 2,2	-0,1 ± 2,2	-1,6 ± 2,2
LPS	-0,1 ± 1,8	-1,9 ± 1,1 *	-3,6 ± 1,0 *

3.2 Einfluss der thorakalen Epiduralanästhesie in der Endotoxinämie

3.2.1 Makrohämodynamische Parameter

Die hier untersuchten hämodynamischen Parameter umfassen den MAD sowie die HF. Die Abb. 3.1 A zeigt vergleichbare Ausgangswerte des mittleren arteriellen Druckes in der Kontrollgruppe (111 ± 21 mmHg) und der TEA-Gruppe (112 ± 15 mmHg). Nach Beginn der

epiduralen Infusion war bereits eine deutliche signifikante Abnahme des MAD in der TEA-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe und zum Ausgangswert zu erkennen, während die Kontrollgruppe keine signifikante Änderung zeigte. Im weiteren Verlauf der Endotoxinämie bleibt der MAD in der Gruppe der TEA-Tiere signifikant niedriger (Signifikanz versus Kontrollgruppe und Ausgangswert), während die Kontrollgruppe kaum eine Veränderung zeigt.

Abb. 3.1 B zeigt bereits in den Ausgangswerten eine signifikant unterschiedliche HF zwischen den Gruppen. Nach Infusionsbeginn zeigt sich in der TEA-Gruppe eine sowohl zur Kontrolle als auch zum Ausgangswert signifikante Abnahme der HF. Nach 60 und 120 min Endotoxinämie blieben die Herzfrequenzwerte in der TEA-Gruppe weiterhin signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe und gegenüber dem Ausgangswert, die Kontrollgruppe zeigte eine leichte Zunahme der HF.

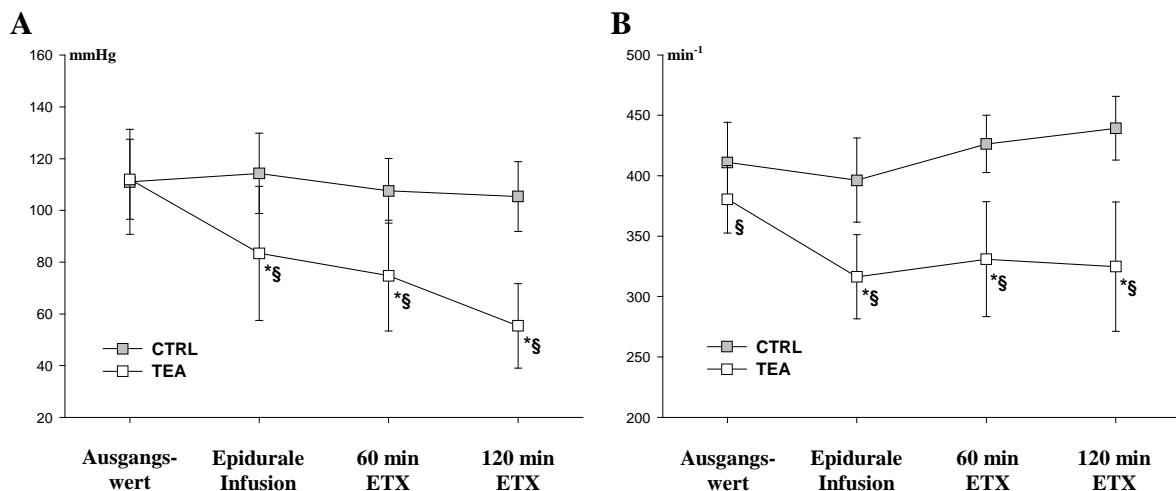


Abbildung 3.1: Häodynamik. **A:** Mittlerer arterieller Druck, **B:** Herzfrequenz; CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

3.2.2 Mikrovaskuläre Durchblutung

Zur Erfassung der mikrovaskulären Durchblutung des terminalen Ileums wurden die folgenden Parameter untersucht:

- die Länge der Kapillaren ohne bzw. mit minimaler Erythrozytenperfusion (nicht perfundierte Kapillaren)
- die Länge der mit Erythrozyten perfundierten Kapillaren (funktionelle Kapillardichte)

- die Gesamtkapillardichte
- die Durchmesser der Villusarteriolen (Zentralarteriolen)

Bei der nicht-perfundierten Kapillardichte wurden die Änderungen als Absolutwerte mit Median, 25. und 75. Perzentile angegeben.

Für die Parameter der funktionellen Kapillardichte, der Gesamtkapillardichte und der Zentralarteriolen Durchmesser werden die Änderungen in Prozent (%) zum Ausgangswert angegeben.

3.2.2.1 Nicht-perfundierte Kapillardichte

Bei der Bestimmung der mikrovaskulären Perfusion des terminalen Ileums wurden die Muskularis und die Mukosa separat betrachtet (vgl. Abb. 3.2).

In den Ausgangswerten der nicht-perfundierten Kapillaren in der Mukosa (Abb. 3.2 A) ist kein wesentlicher Unterschied zwischen Kontrollgruppe und TEA-Gruppe zu erkennen (TEA-Gruppe $12,45 \text{ cm}^{-1}$ [0,00/72,90 cm^{-1}]; Kontrollgruppe $0,00 \text{ cm}^{-1}$ [0,00/0,00] (Median [25./75. Perzentil])). Zu Beginn der epiduralen Infusion zeigt sich in der Kontrollgruppe eine leichte Zunahme der Dichte der nicht-perfundierten Kapillaren. Auch in der Gruppe der TEA-Tiere nimmt die nicht-perfundierte Kapillardichte zu, beide Gruppen weisen jedoch keine Signifikanz auf. Nach 60 min Endotoxinämie zeigen beide Gruppen eine signifikante Zunahme der nicht-perfundierten Kapillaren, 120 min nach Endotoxinämiebeginn konnte eine weitere Zunahme der nicht-perfundierten Kapillaren in beiden Gruppen nachgewiesen werden (Signifikanz versus Ausgangswert).

In der Muskularis (Abb. 3.2 B) zeigten die Tiere der Kontroll- sowie die TEA-Gruppe weder im Ausgangswert noch zu Beginn der epiduralen Infusion nicht-perfundierte Kapillaren. Nach 60 min Endotoxinämie lagen nur geringe Veränderungen vor. Bei der Messung nach 120 min jedoch zeigte sich in der Kontrollgruppe eine signifikante Zunahme der nicht-perfundierten Kapillargefäße (Signifikanz versus Ausgangswert und Kontrollgruppe), während bei den Tieren der TEA-Gruppe kaum Veränderung zum vorherigen Wert zu erkennen war.

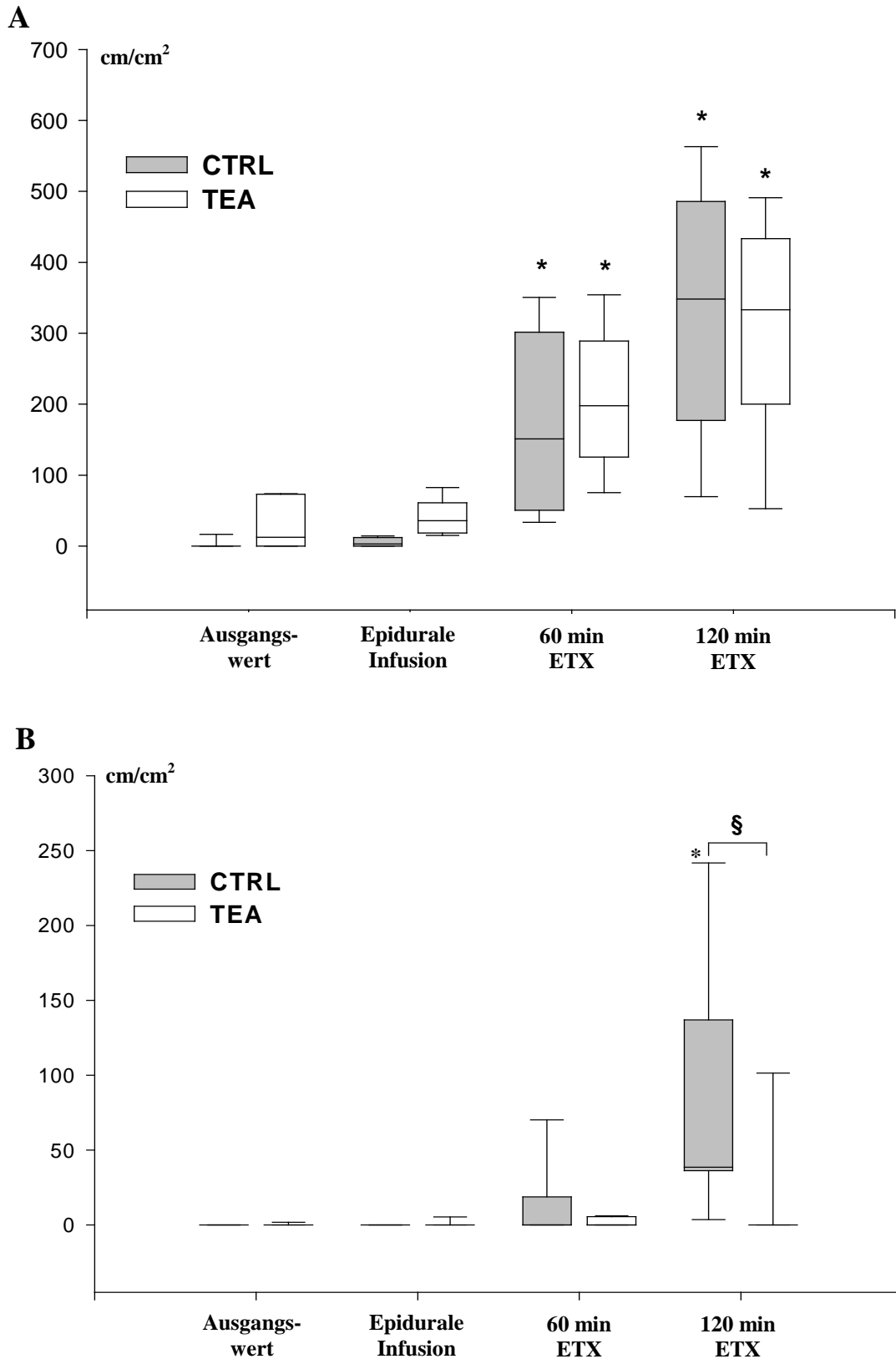


Abbildung 3.2: Box-Whisker-Plot zur nicht-perfundierten Kapillardichte. **A:** Gesamtlänge der nicht-perfundierten Kapillaren in der Mukosa; **B:** Gesamtlänge der nicht-perfundierten Kapillaren in der Muskularis. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur TEA-Gruppe mit $p < 0,05$.

3.2.2.2 Funktionelle Kapillardichte

In der Mukosa (Abbildung 3.3 A) war die funktionelle Kapillardichte nach epiduraler Infusion nicht wesentlich zum Ausgangswert verändert (Ausgangswerte TEA-Gruppe $795,35 \pm 45,49 \text{ cm}^{-1}$; Kontrollgruppe $632,15 \pm 43,59 \text{ cm}^{-1}$). Auch nach 60 min Endotoxinämie ist die funktionelle Kapillardichte sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der TEA-Gruppe nahezu unverändert. Nach 120 min Endotoxinämie ist die funktionelle Kapillardichte in der TEA-Gruppe hingegen signifikant zum Ausgangswert sowie zur Kontrollgruppe vermindert.

In der Muskularis zeigten sich zu Beginn der Versuchsreihe für die TEA-Gruppe ein Ausgangswert von $318,32 \pm 18,61 \text{ cm}^{-1}$, für die Kontrollgruppe wurde ein Wert von $402,50 \pm 64,45 \text{ cm}^{-1}$ ermittelt. Bei den Messungen nach Infusionsbeginn sowie nach 60 min Endotoxinämie zeigten sich keine deutlichen Veränderungen der funktionellen Kapillardichte (Abb. 3.3 B). Nach 120 min Endotoxinämie fiel die funktionelle Kapillardichte dann in beiden Gruppen signifikant zum Ausgangswert ab.

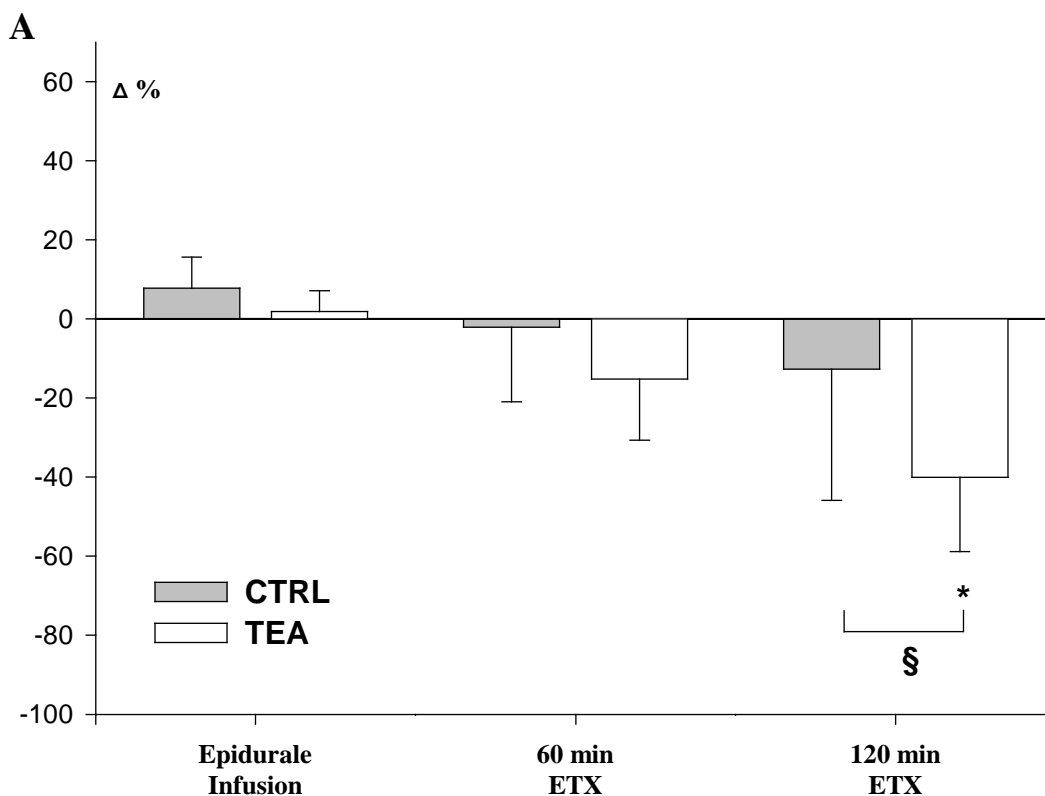


Abbildung 3.3A: Änderung der funktionellen Kapillardichte in der Mukosa in Prozent zum Ausgangswert. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$; § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

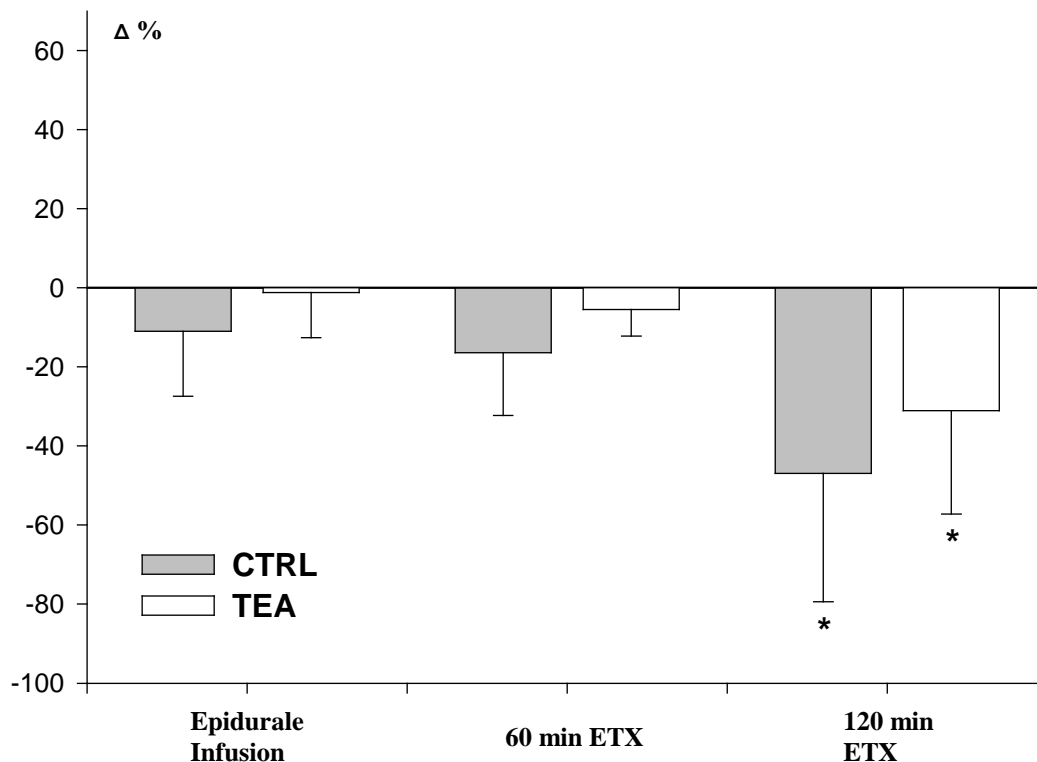
B

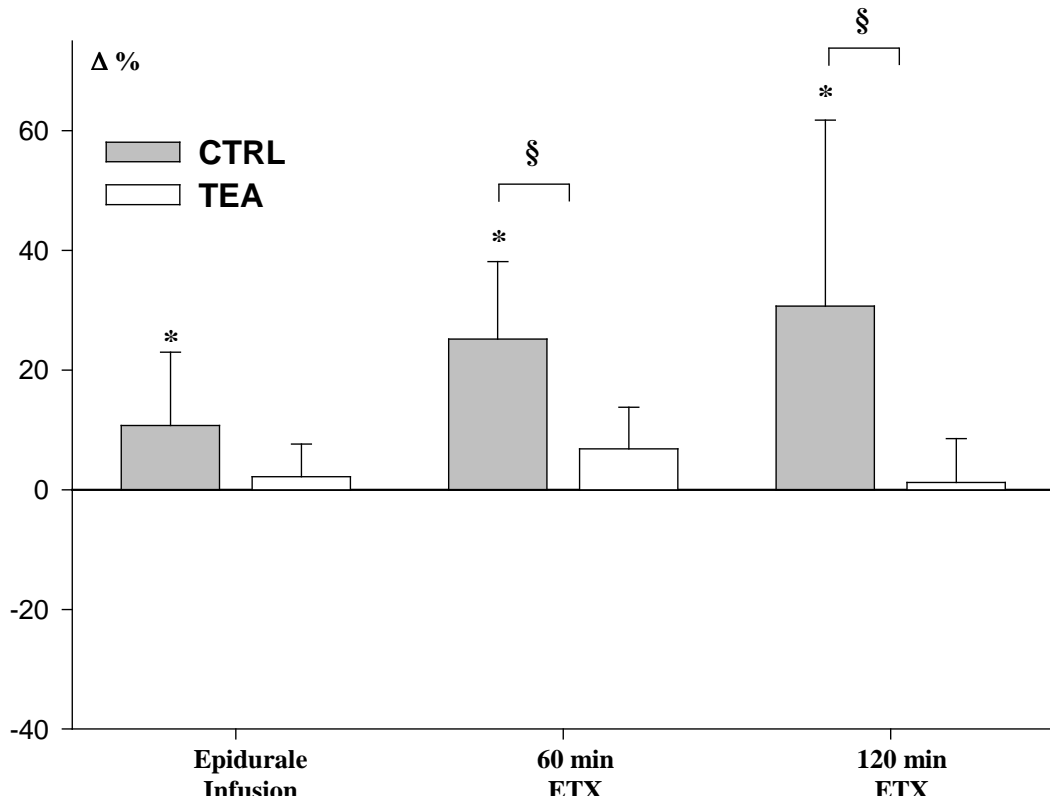
Abbildung 3.3B: Änderung der funktionellen Kapillardichte in der Muskularis in Prozent zum Ausgangswert. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$.

3.2.2.3 Gesamtkapillardichte

In der Mukosa (Abb. 3.4 A) zeigt die Kontrollgruppe bereits zu Beginn der epiduralen Infusion eine signifikante höhere Gesamtkapillardichte (gegenüber dem Ausgangswert von $650,76 \pm 28,14 \text{ cm}^{-1}$), nicht hingegen die TEA-Tiere (Ausgangswert $795,35 \pm 50,88 \text{ cm}^{-1}$). Nach 60 und 120 min Endotoxinämie nahm die Gesamtkapillardichte der Kontrolltiere weiter zu (jeweils signifikant versus Kontrollgruppe und Ausgangswert), während sie in der TEA-Gruppe nahezu unverändert blieb.

In der Muskularis (Abb. 3.4 B) hingegen zeigten die Tiere der Kontroll-Gruppe zu Infusionsbeginn kaum eine veränderte Gesamtkapillardichte zum Ausgangswert ($402,50 \pm 64,45 \text{ cm}^{-1}$), während bei den Tieren der TEA-Gruppe eine leichte Abnahme nachgewiesen werden konnte (Ausgangswert $319,25 \pm 18,74 \text{ cm}^{-1}$). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch nach 60 min Endotoxinämie. Nach 120 min Endotoxinämie jedoch war eine deutliche Abnahme der Gesamtkapillardichte bei den Tieren beider Gruppen zu beobachten (signifikant versus Ausgangswert).

A



B

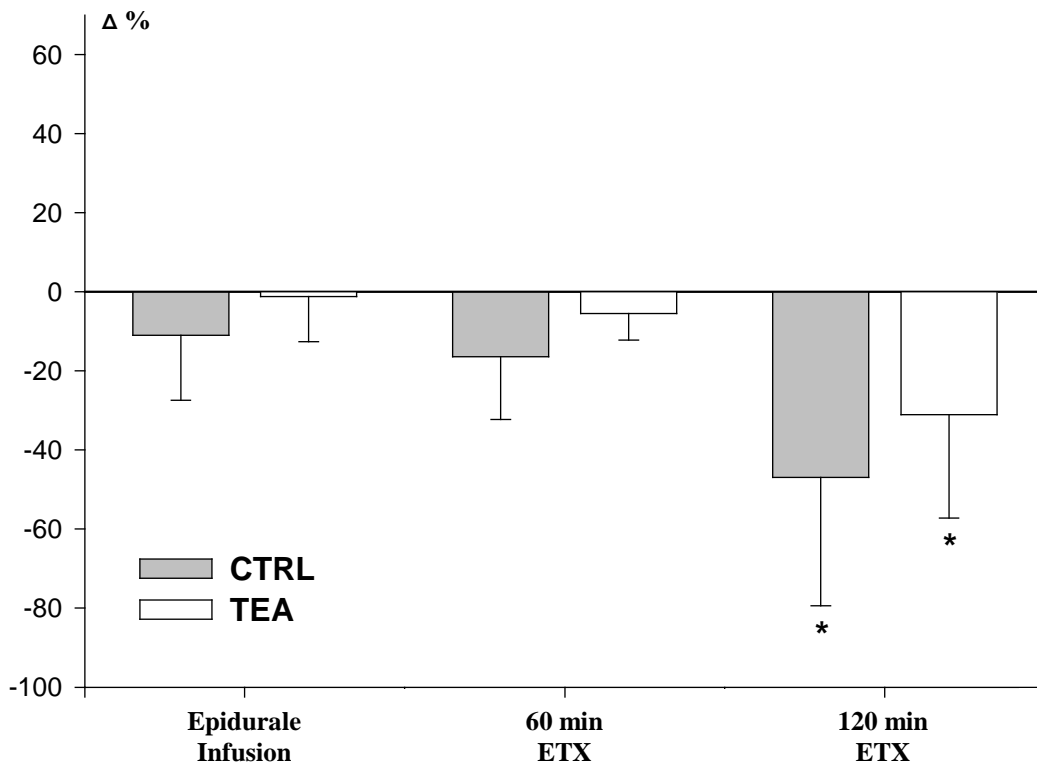


Abbildung 3.4: Änderung der Gesamtkapillardichte in Prozent zum Ausgangswert. **A:** Mukosa, **B:** Muskularis; CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur TEA-Gruppe mit $p < 0,05$.

3.2.2.4 Zentralarterioldurchmesser

Zu Beginn der thorakalen Epiduralanästhesie (Abb. 3.5) zeigte sich in der Kontrollgruppe eine signifikante Zunahme des Zentralarterioldurchmessers gegenüber der TEA-Gruppe (Ausgangswerte Kontrollgruppe $8,97 \pm 1,16 \mu\text{m}$; TEA-Gruppe $7,52 \pm 0,9 \mu\text{m}$). Nach 60 min Endotoxinämie näherten sich die Werte in beiden Gruppen dem Ausgangswert an. Nach 120 min Endotoxinämie hingegen war der Zentralarterioldurchmesser in der Kontrollgruppe signifikant zur TEA-Gruppe vermindert.

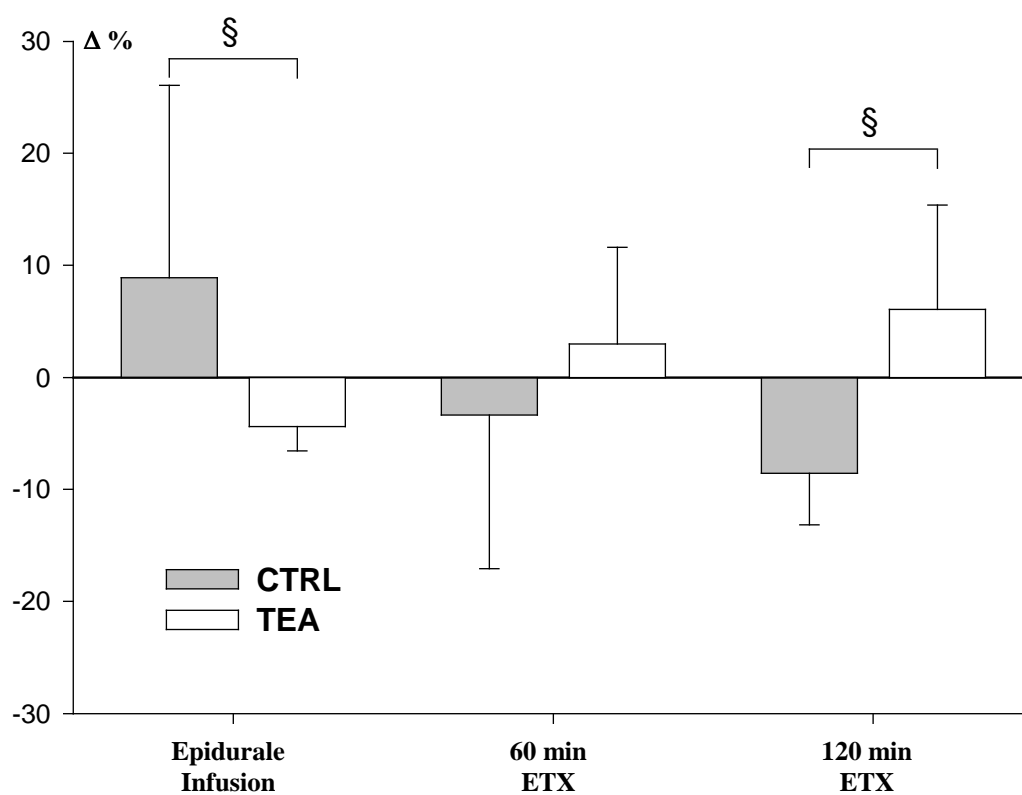


Abbildung 3.5: Änderung der Zentralarterioldurchmesser in Prozent zum Ausgangswert. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; § = Signifikanz zur TEA-Gruppe mit $p < 0,05$.

3.3 Erythrozytenfliessgeschwindigkeit

Die Erythrozytenfliessgeschwindigkeit ist ein Parameter, welcher die Quantität und Qualität der Perfusion des betrachteten Gefäßabschnittes widerspiegelt. Die Nährstoff- bzw. die Sauerstoffversorgung des Gewebes steht mit dem Erythrozytenfluss in engem

Zusammenhang. Somit ist die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten ein geeigneter Parameter, um die Versorgungssituation des Gewebes zu untersuchen.

Die Erythrozytenfließgeschwindigkeit in der Mukosa (Abb. 3.6 A) zeigte nach 30 min epiduraler Infusion in beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede zum Ausgangswert (Kontrollgruppe $1734,76 \pm 259,0 \mu\text{ms}^{-1}$; TEA-Gruppe $1395,1 \pm 263,81 \mu\text{ms}^{-1}$). Nach 60 min Endotoxinämie fiel die Fließgeschwindigkeit in der Kontrollgruppe signifikant ab. In der TEA-Gruppe hingegen blieb die Erythrozytenfließgeschwindigkeit zu diesem Zeitpunkt nahezu unverändert. Nach 120 min war die Fließgeschwindigkeit dann in beiden Gruppen signifikant zum Ausgangswert vermindert.

In der Muskularis (Abb. 3.6 B) zeigte sich nach epiduraler Infusion wie in der Mukosa bei den Tieren beider Gruppen keine signifikante Änderung zum Ausgangswert (Kontrollgruppe $976,33 \pm 158,73 \mu\text{ms}^{-1}$; TEA-Gruppe $880,93 \pm 124,48 \mu\text{ms}^{-1}$). Bei den Messungen nach 60 min hatte in beiden Gruppen die Fließgeschwindigkeit der Erythrozyten signifikant abgenommen (versus Ausgangswert). Nach 120 min war ein weiterer Abfall der Fließgeschwindigkeit in beiden Gruppen zu verzeichnen (Signifikanz versus Ausgangswert).

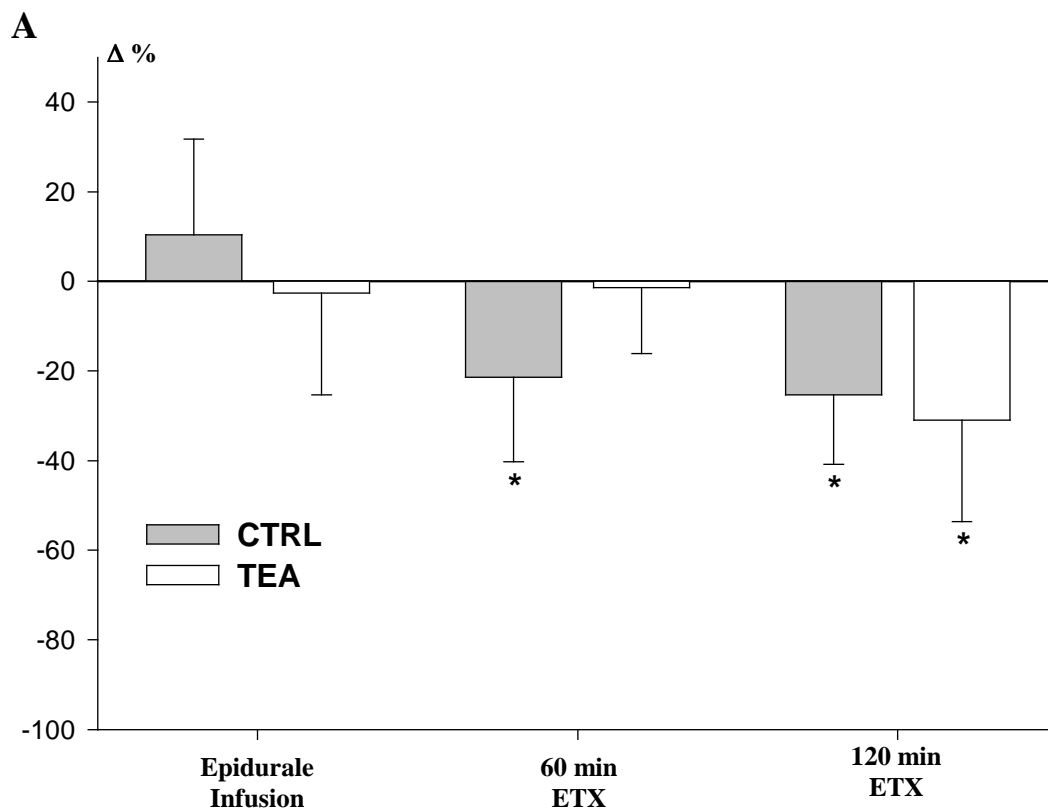


Abbildung 3.6A: Erythrozytenfließgeschwindigkeit in der Mukosa in Prozent zum Ausgangswert. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$.

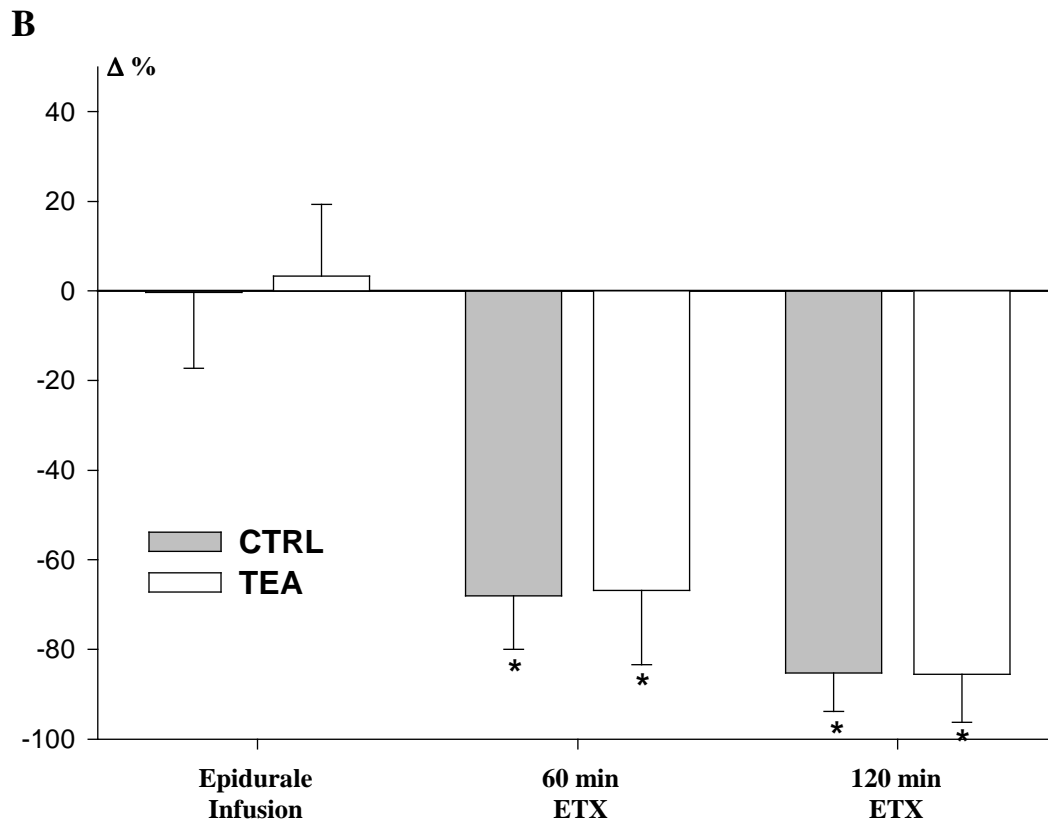


Abbildung 3.6B: Erythrozytenfliessgeschwindigkeit in der Muskularis in Prozent zum Ausgangswert. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie; * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$.

3.4 Systemische Variablen

Zur Untersuchung der systemischen Effekte der thorakalen Epiduralanästhesie wurden die folgenden Parameter herangezogen:

- Hämatokrit
- pH-Wert
- Basen-Überschuss (Base-Excess (BE))
- Sauerstoffpartialdruck
- Kohlendioxidpartialdruck
- Natriumkonzentration
- Kaliumkonzentration

Als Ausgangswert zeigte sich in beiden Gruppen beim Hämatokrit kein Unterschied (Kontrollgruppe 49 ± 3 %; TEA-Gruppe 49 ± 3 %; Abb. 3.7). Nach Beginn der epiduralen

Infusion zeigte sich sowohl in der Kontrollgruppe wie auch bei den Tieren der TEA-Gruppe eine signifikante Abnahme (Kontrollgruppe versus Ausgangswert, TEA-Gruppe versus Kontrollgruppe und Ausgangswert). Nach 60 min Endotoxinämie war eine weitere leichte Abnahme bei beiden Gruppen zu erkennen, welche für die Kontrollgruppe eine Signifikanz versus Ausgangswert und für die TEA-Gruppe eine Signifikanz versus Ausgangswert und Kontrollgruppe zeigte. Auch im weiteren Verlauf setzte sich dieser Trend fort. So zeigte sich nach 120 min Endotoxinämie eine signifikante Abnahme des Hämatokritwertes in der Kontrollgruppe (zum Ausgangswert) und ein ebenfalls signifikanter Abfall bei den Tieren der TEA-Gruppe zum Ausgangswert wie auch zur Kontrollgruppe.

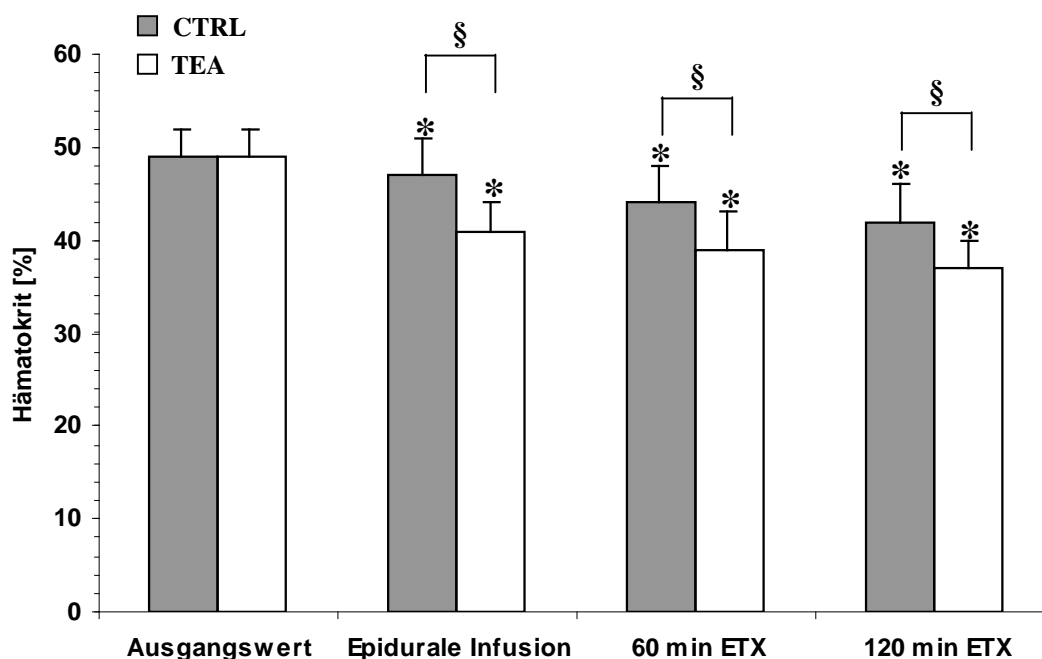


Abbildung 3.7: Änderung des Hämatokrit im Versuchsverlauf. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie, * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

Der pH-Wert (Abb. 3.8) lag zu Beginn des Versuches bei der Gruppe der Kontrolltiere bei $7,36 \pm 0,07$, bei den Tieren der TEA-Gruppe bei $7,38 \pm 0,07$. Nach Beginn der epiduralen Infusion zeigte sich in der Kontrollgruppe ein leichter Abfall des pH-Wertes, während bei der TEA-Gruppe ein signifikanter Anstieg des pH-Wertes zu verzeichnen war (Signifikanz versus Kontrollgruppe und Ausgangswert). Im weiteren Verlauf, also nach 60 min und 120 min Endotoxinämie zeigte sich in der Kontrollgruppe ein weiterer Abfall des pH-Wertes. Auch die Tiere der TEA-Gruppe zeigten einen progredienten leichten Abfall des pH-Wertes, jedoch ohne Signifikanz.

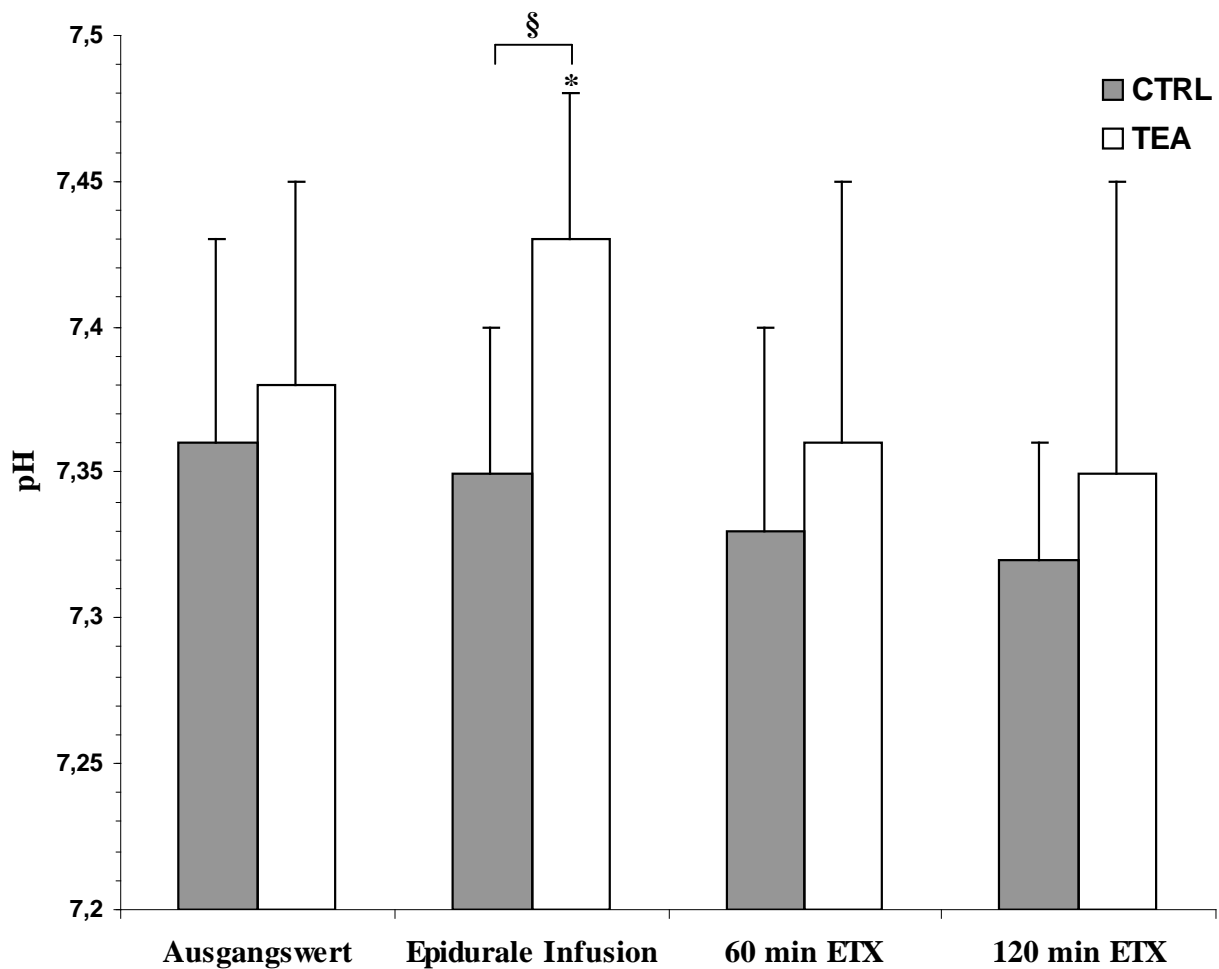


Abbildung 3.8: Veränderung des Blut-pH-Wertes während des Versuchsverlaufes. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie. * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

Bei der Messung des Base-Excess (BE; Abb. 3.9) wurde als Ausgangswert bei der Kontrollgruppe ein Wert von $-6,1 \pm 2,2$ mmol/l gemessen, bei der TEA-Gruppe ein Wert von $-4,6 \pm 2,4$ mmol/l (signifikant versus Kontrollgruppe). Nach Beginn der epiduralen Infusion konnte bei der Kontrollgruppe ein leichter Abfall des Wertes gezeigt werden, während sich bei der TEA-Gruppe keine Veränderung des BE-Wertes zeigte. Bei der Messung nach 60 min Endotoxinämie war ein Abfall des BE bei den Kontrolltieren nachzuweisen und zeigte nun eine Signifikanz gegenüber dem Ausgangswert. Auch bei den Tieren der TEA-Gruppe wurde eine Abnahme des BE-Wert gezeigt; es besteht Signifikanz versus Kontrollgruppe und Ausgangswert. Nach 120 min Endotoxinämie konnte ein weiterer signifikanter Abfall des BE-Wertes in beiden Gruppen ermittelt werden (jeweils versus Ausgangswert).

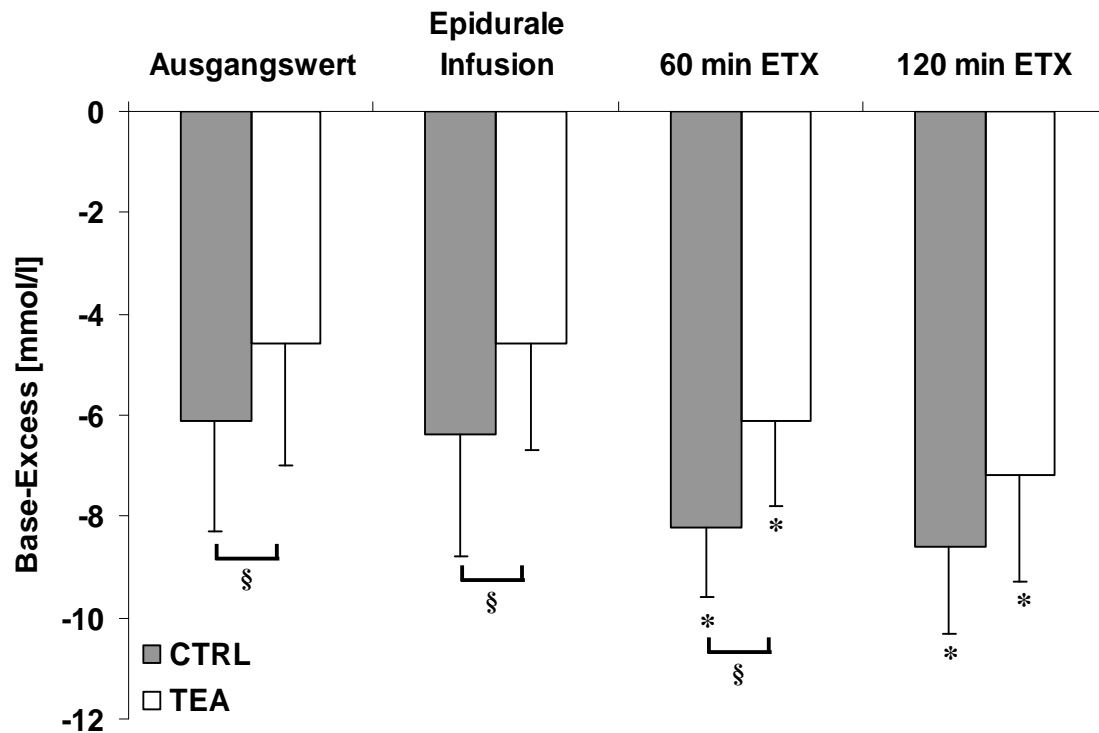


Abbildung 3.9: Veränderung des Base-Excess während des Versuchsverlaufes. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie. * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

Bei der Messung des Sauerstoffpartialdruckes (pO_2 ; Abb. 3.10) zeigte sich für die Kontrollgruppe ein Ausgangswert von 106 ± 10 mmHg, für die TEA-Gruppe ein Wert von 105 ± 12 mmHg. Nach Einsetzen der epiduralen Infusion konnte in der Gruppe der Kontrolltiere eine Abnahme des pO_2 nachgewiesen werden. Bei der TEA-Gruppe hingegen nahm der pO_2 signifikant zu (versus Kontrollgruppe und Ausgangswert). Im weiteren Verlauf zeigten sich keine weiteren signifikanten Änderungen.

Der Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pCO_2 ; Abb. 3.10) betrug zu Versuchsbeginn in der Kontrollgruppe 35 ± 7 mmHg und in der TEA-Gruppe 35 ± 6 mmHg. Nach 30 min thorakaler Epiduralanästhesie sah man in der Kontrollgruppe einen konstanten pCO_2 , während in TEA-Gruppe eine signifikante Abnahme des pCO_2 zu verzeichnen war (signifikant versus Kontrollgruppe und Ausgangswert). 60 min nach Endotoxingabe war eine Angleichung der Werte bei den Tieren beider Gruppen zu beobachten. Es ergaben sich keine weiteren signifikanten Änderungen.

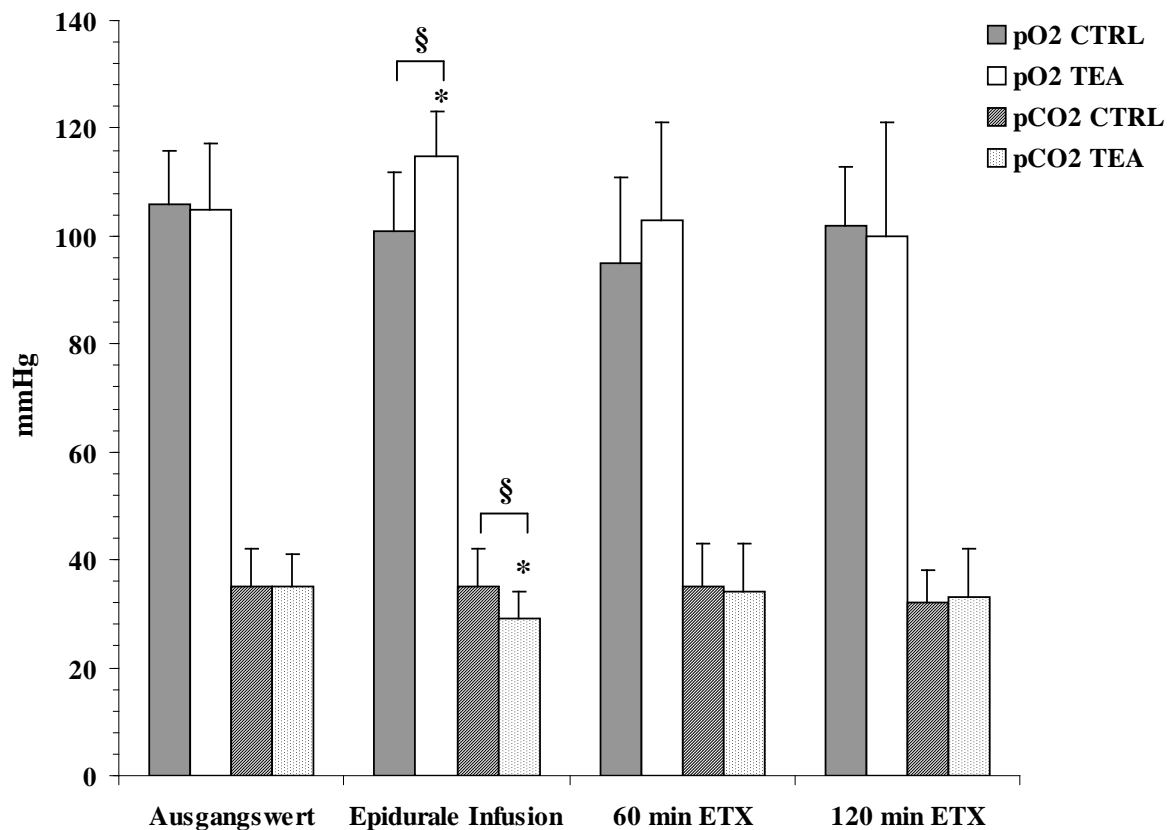


Abbildung 3.10: Änderung des Sauerstoff- (pO₂) und des Kohlendioxidpartialdrucks (pCO₂) während des Versuchsverlaufes. CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie. * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$, § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

Bei der Messung der Natriumkonzentration (Na-Konzentration) (Abb. 3.11 A) ergab sich für die Kontrollgruppe ein Ausgangswert von 139 ± 2 mmol/l und für die TEA-Gruppe ein Ausgangswert von 138 ± 3 mmol/l. In weiteren Messungen konnten keine signifikanten Änderungen festgestellt werden.

Die Kaliumkonzentration (Abb. 3.11 B) betrug zu Beginn des Versuches für die Kontrollgruppe $4,4 \pm 0,4$ mmol/l, bei der TEA-Gruppe $4,5 \pm 0,4$ mmol/l. Nach Beginn der epiduralen Infusion wurde in beiden Gruppen eine Zunahme der Kaliumkonzentration gemessen, wobei der Wert der Kontrollgruppe signifikant gegenüber dem Ausgangswert war. 60 min nach Endotoxingabe nahm die Kaliumkonzentration in beiden Gruppen ab, in der TEA-Gruppe jedoch etwas weniger als in der Kontrollgruppe. In weiteren Messungen nach 120 min konnte in beiden Gruppen eine signifikante Zunahme der Kaliumkonzentration beobachtet werden.

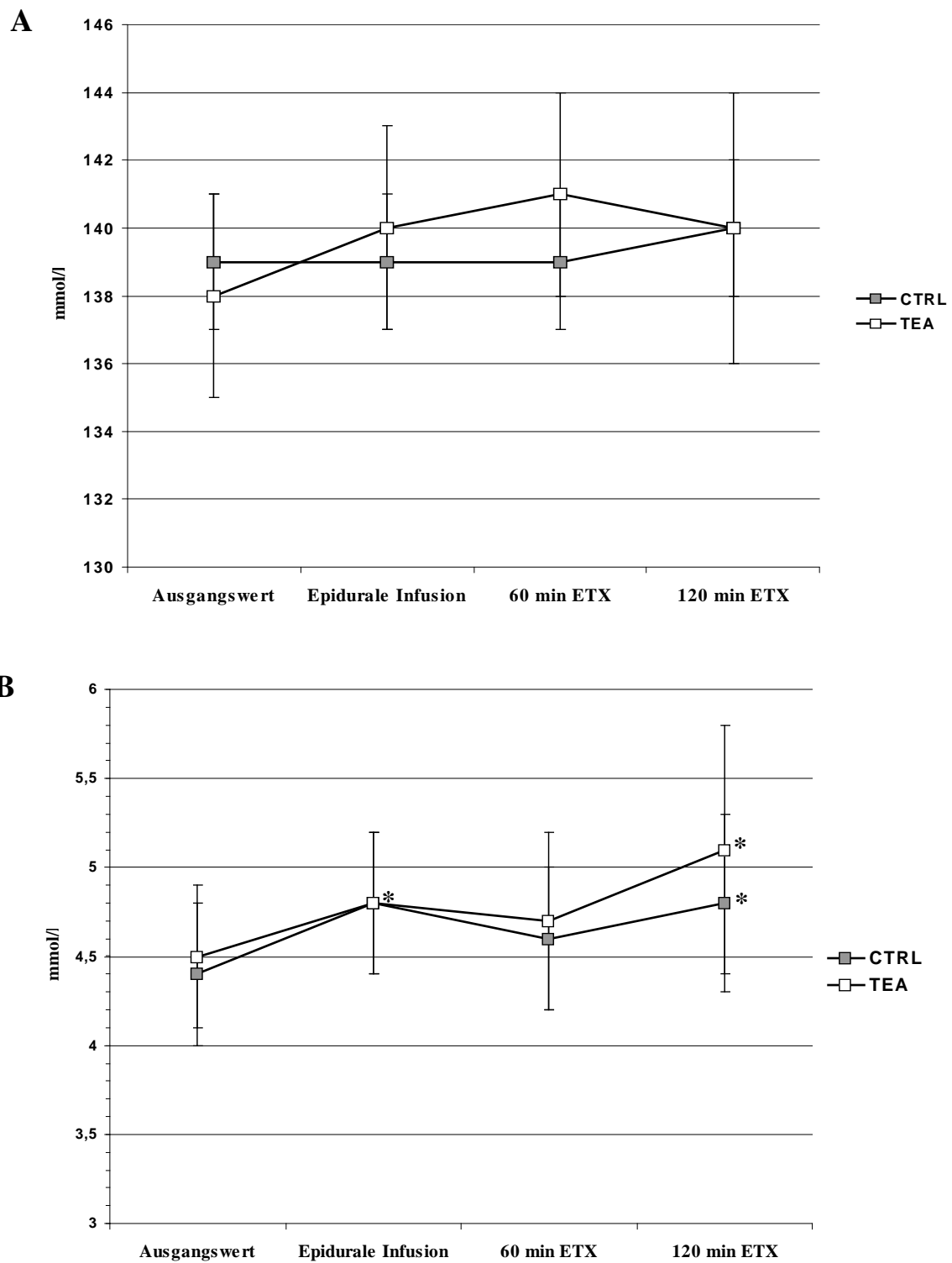


Abbildung 3.11: Veränderung der **A:** Natriumkonzentration und **B:** Kaliumkonzentration während des Versuches; CTRL = Kontrollgruppe, TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie, ETX = Endotoxinämie. * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$.

3.5 Bestimmung von TNF α im Plasma

TNF α ist ein proinflammatorisches Cytokin, welches von unterschiedlichen immunkompetenten Zellen bei Endotoxinkontakt ausgeschüttet wird. Dabei scheint es einen Zusammenhang zwischen dem Verlauf und der Höhe des TNF α -Spiegels und dem Krankheitsverlauf zu geben.

Die gesunden Tiere zeigten im Plasma nur minimale Konzentrationen von TNF α (0 pg/ml [0 / 4,39 pg/ml]; siehe Abbildung 3.12). In der Kontrollgruppe war die TNF α -Konzentration nach 120 min Endotoxinämie signifikant erhöht.

Bei den Tieren unter TEA-Einfluss wurde nach Beendigung des Versuchs eine signifikant höhere Konzentration des TNF α als bei den gesunden Tieren und bei den Tieren der Kontrollgruppe gemessen (Signifikanz versus Kontrollgruppe und Ausgangswert (gesunde Tiere)).

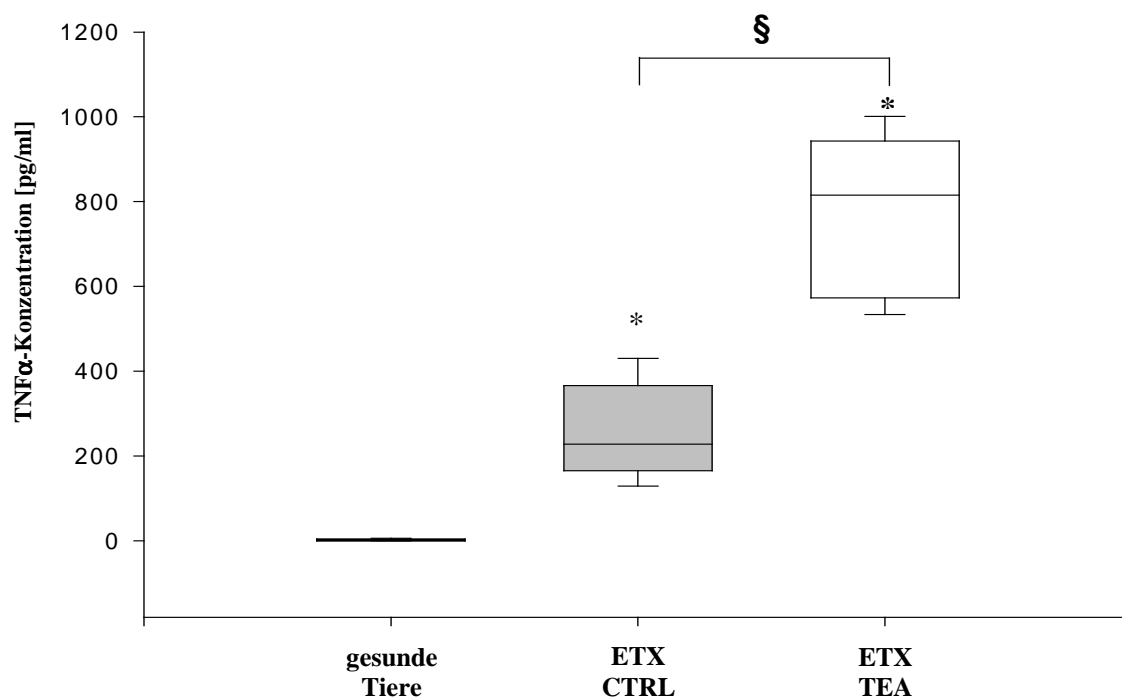


Abbildung 3.12: TNF α -Konzentration im Blutplasma. CTRL = Kontrollgruppe; TEA = Gruppe mit thorakaler Epiduralanästhesie; ETX = Endotoxinämie. * = Signifikanz zum Ausgangswert mit $p < 0,05$; § = Signifikanz zur Kontrollgruppe mit $p < 0,05$.

4. DISKUSSION

Die konstante oder periodische Aussaat von Mikroorganismen von einem Herd aus in die Blutbahn ist bezeichnend für das Krankheitsbild Sepsis. Bereits in der Frühphase kann es durch unterschiedliche Faktoren zu einer Minderperfusion der Splanchnikusorgane mit einer nachfolgenden Schädigung des Darmepithels kommen. Dadurch scheint im weiteren Verlauf eine Aussaat von Mikroorganismen aus dem Darmlumen in die Lymph- und Blutbahnen begünstigt zu werden. Dies kann im klinischen Zusammenhang für die Verschlechterung der Langzeitprognose des Patienten mit Multiorganversagen von Bedeutung sein (Carrico *et al.*, 1986; Deitch, 1990).

In dieser Studie sollten mittels Intravitalmikroskopie die Effekte der thorakalen Epiduralanästhesie auf die mikrovaskuläre Perfusion des terminalen Ileums in der Endotoxinämie untersucht werden. Die Hypothese der Studie war, dass die regionale Sympathikolyse mittels Epiduralanästhesie die mikrovaskuläre Perfusion in Mukosa und Muskularis erhöht und somit die endotoxinämiebedingte Minderperfusion und die damit verbundene Oxygenierungsstörung und Schädigung des Epithels verhindert.

Es zeigten sich in dieser Studie für die beiden Versuchsgruppen sehr unterschiedliche Ergebnisse.

Die Tiere der Kontrollgruppen ohne TEA zeigten bei den Messungen der nicht-perfundierten Kapillaren eine Zunahme in der Muskularis sowie in der Mukosa. Bei den Tieren unter TEA hingegen nahmen die nicht-perfundierten Kapillaren in der Mukosa zu, während die Werte der Muskularis nahezu unverändert blieben.

Die funktionelle Kapillardichte nahm in beiden Versuchsgruppen sowohl in der Mukosa wie auch in der Muskularis ab. Jedoch zeigten die Messungen in der Mukosa der Kontrollgruppe eine geringere Abnahme der funktionellen Kapillardichte als in der TEA-Gruppe, während in der Muskularis für die Kontrollgruppe eine stärkere Abnahme im Vergleich zur TEA-Gruppe zu verzeichnen war.

Für die Gesamtkapillardichte ergaben die Messungen in der Mukosa der Kontrolltiere eine Erhöhung, während sich für die TEA-Gruppe keine Zunahme zeigte. In der Muskularis hingegen zeigten beide Gruppen einen ähnlich signifikanten Abfall der Gesamtkapillardichte.

4.1 Diskussion der Methodik

Das in dieser Studie verwendete Sepsis-Modell sieht eine kontinuierliche intravenöse Infusion von *Escherichia coli* LPS vor. Bei den Tieren, die lediglich LPS ohne thorakale Epiduralanästhesie erhielten, kam es dabei zu einer Tachykardie und Leukopenie (Tabelle 3.1). Dies steht im Einklang mit einer Studie von Lee *et al.*, in der bei Ratten 3 h nach einer intravenösen Bolusgabe von 10 mg/kg LPS ebenfalls eine Zunahme der Herzfrequenz sowie ein Abfall der Leukozytenzahl beobachtet wurde (Lee *et al.*, 2002). Diese Veränderungen werden der Frühphase des Krankheitsverlaufes der Endotoxinämie zugeschrieben. Da die Veränderung in Herzfrequenz und Leukozytenanzahl bei Tieren nachgewiesen werden konnte, welche allein eine LPS-Gabe ohne weitere Manipulation im Sinne einer thorakalen Epiduralanästhesie erhalten hatten, kann eine Beeinflussung dieser Parameter durch die epidurale Katheterisierung und die intravitale Mikroskopie ausgeschlossen werden.

Bei diesen Tieren zeigte sich zudem ein Abfall des Base-Excess (Tabelle 3.1), was für eine beginnende Laktatazidose aufgrund von Gewebehypoxie im Rahmen der Endotoxinämie sprechen könnte. Insgesamt betrachtet geben die Veränderungen, die dieses Sepsismodell hervorruft, eher die Frühphase des Krankheitsbildes der Endotoxinämie wieder, in der nicht mit einer maximalen Aktivierung des Sympathikus gerechnet werden kann. Eventuell limitierte Effekte einer Sympathikusblockade sind vor diesem Hintergrund zu sehen. Es wurde jedoch bewusst dem normotensiven Modell der Vorzug gegeben, da im Gegensatz zum Schockmodell mit maximaler Sympathikusaktivierung die Makrohämodynamik als wesentlicher Einflußfaktor auf die Mikrozirkulation stabil bleiben sollte.

Der Vorteil des in dieser Studie verwendeten Sepsismodells ist zudem, dass es sich um ein standardisiertes Verfahren handelt, welches Vergleiche zwischen verschiedenen Forschungsgruppen zulässt (Freise, Bruckner und Spiegel, 2001). Im Gegensatz zu anderen Sepsismodellen, bei denen z. B. eine Perforation des Darms oder eine intraperitoneale Inokulation von Bakterien als Fokus bestehen, kann in dem hier verwendeten Modell eine lokale Beeinflussung der intestinalen Mikrozirkulation durch eine modellbedingte Peritonitis ausgeschlossen werden. Um eine lokale Irritation des Darms durch LPS zu vermeiden, wurde in dieser Studie zudem das Toxin nicht intraperitoneal sondern intravenös verabreicht.

Ein Einfluss der verwendeten Anästhetika auf die mikrovaskuläre Perfusion kann grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden (Longnecker und Harris, 1980). In einer Studie an endotoxämischen Nagetieren konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus Urethan und Chloralose eine ähnliche Makrohämodynamik hervorruft wie eine Dezerebration der

Versuchstiere. Versuche mit einer Kombination aus Ketamin und Xylazin zeigen einen Abfall des Blutdrucks sowie des Herzzeitvolumens (Luebbe, Harris und Garrison, 1998). Desweiteren verhinderten beide genannten Kombinationen eine endotoxinbedingte Vasodilatation der terminalen Arteriolen im Rattenkremaster (Luebbe, Harris und Garrison, 1998). Es bleibt zu hinterfragen, ob eine Anästhesie mit Urethan und Ketamin ohne Chloralose bzw. Xylazin, wie in dieser Studie verwendet, ähnliche systemische Wirkungen hervorruft. Zudem ist nicht klar, inwieweit die bestehenden Studienergebnisse auf die mikrovaskuläre Perfusion im Darm übertragbar sind. Da jedoch in dieser Studie die Anästhesie sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der TEA-Gruppe gleichermaßen standardisiert durchgeführt wurde, ist von einer Vergleichbarkeit der Ergebnisse, unabhängig von der systemischen Einwirkung der Anästhetika, auszugehen.

Der Effekt der sympathischen Blockade spielt in der vorliegenden Studie eine zentrale Rolle. Daher ist es entscheidend zu wissen, welche Segmente von der sympathischen Blockade betroffen sind. In vorausgegangenen Untersuchungen konnte mittels epiduraler Injektion einer Farbstofflösung (Methylenblau) gezeigt werden, dass bei segmentaler Höhe der Katheterspitze bei Th11 eine Ausbreitung des Farbstoffs bis Th 6 erreicht wird (Adolphs *et al.*, 2003). Dabei wurden die gleichen Volumina an Farbstofflösung benutzt wie die in der vorliegenden Studie verwendeten Volumina an Lokalanästhetikum. Da zudem gezeigt worden ist, dass die Ausbreitung des Lokalanästhetikums die der Farbstofflösung um einige Segmente übertrifft (Adolphs *et al.*, 2005; Feuk, Jakobson und Norlen, 1987; Schulte-Steinberg und Rahlfs, 1977), kann von einer adäquaten Blockade der sympathischen Nervenfasern der Segmente Th5-10, welche das Splanchnikusgebiet versorgen (Bonica, 1968), ausgegangen werden.

4.2 Makrohämodynamische Parameter

Der mittlere arterielle Druck (MAD) sowie die Herzfrequenz sind beides Parameter, welche unter anderem durch das autonome Nervensystem reguliert werden. So sind sie geeignet, als Messgröße für die sympathische Aktivität herangezogen zu werden.

Der MAD fiel bei TEA Tieren nach epiduraler Infusion von Lidocain ab und blieb während des gesamten Experiments niedriger als in der Kontrollgruppe, welche weitgehend unveränderte Blutdruckwerte zeigte. Ein Abfall des MAD unter Epiduralanästhesie ist ein häufig beschriebenes Phänomen und beruht auf der Blockade sonst konstringierend wirkender

Sympathikusfasern (Otton und Wilson, 1966; Kennedy, Jr. *et al.*, 1971). Das führt zu einer Vasodilatation im blockierten Gebiet mit einem Pooling des Blutes in der Peripherie (venöses Pooling) und einer Senkung der Vorlast. Daraus resultiert ein relativer Volumenmangel mit Blutdruckabfall und vermindertem Herzzeitvolumen. Zudem kann es allein durch die sympathische Blockade kardialer Fasern zu einer Verminderung des Herzzeitvolumens kommen. Ein systemischer kardiodepressiver Effekt des Lokalanästhetikums kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. So ist als systemische Nebenwirkung der in der Epiduralanästhesie eingesetzten Medikamente die allgemein kardiodepressive Wirkung mit negativer Inotropie, Chronotropie und Dromotropie, sowie eine generelle Vasodilatation bekannt. In Experimenten an Kaninchen konnte gezeigt werden, dass die systemische Gabe von Lidocain zu einem deutlichen Abfall des MAD führt (Hogan *et al.*, 1993). Ein Abfall des MAD nach epiduraler Gabe von Lidocain wurde in der vorliegenden Arbeit jedoch toleriert, um weitere Störgrößen wie Volumengabe oder Gabe von Vasopressoren auszuschließen.

Die Herzfrequenz der Kontrolltiere nahm im Verlauf der Endotoxinämie zu. Dies lässt sich als inflammatorische Reaktion auf die LPS-Infusion erklären. Im Gegensatz dazu konnte im Versuchsverlauf ein Abfall der Herzfrequenz bei den TEA-Tieren gezeigt werden. Die Regulation der Herzfrequenz erfolgt z. T. über die efferenten Fasern des Ganglion stellatum (Sympathikus) auf segmentaler Höhe von Th1/2 (Hedger und Webber, 1976). Dies lässt bei den Tieren mit TEA, wie bereits oben angeführt, auf eine Blockade der präganglionären kardialen Efferenzen durch die Epiduralanästhesie schließen, durch welche ein reflektorischer Anstieg der Herzfrequenz als Antwort auf den Blutdruckabfall nicht mehr möglich ist. Es konnte, wie oben erwähnt, in vorhergegangenen Untersuchungen mittels einer Farbstofflösung gezeigt werden, dass bei einer Katheterspitzen-Lage auf Höhe Th 11 eine Ausdehnung des Farbstoffs bis zum Segment Th 6 erreicht wird (Adolphs *et al.*, 2003). Es liegt im Versuch jedoch aufgrund der vorliegenden Ergebnisse eine Ausbreitung der Anästhetika bis mindestens auf Segmenthöhe Th 2 vor. Diese Diskrepanz zwischen sichtbarer Ausbreitung des Farbstoffes und messbarer Ausbreitung des Lokalanästhetikums wurde bereits durch Perfusionsmessungen (Adolphs *et al.*, 2005) sowie sensorische Testung (Feuk, Jakobson und Norlen, 1987; Schulte-Steinberg und Rahlfs, 1977) belegt.

4.3 Nicht-perfundierte Kapillaren

Da es bei verminderter bzw. fehlender Perfusion der Kapillaren zu einem Nährstoff- und Sauerstoffmangel im perfundierten Gebiet kommt, ist die Dichte der nicht-perfundierten Kapillaren ein Parameter, welcher einen guten Überblick über das Sauerstoff- und Nährstoffangebot bietet und somit auch hinweisend auf eine eventuelle durch Perfusionsdefizite ausgelöste Zellschädigung ist.

Wie in der Abbildung 3.2 A zu erkennen ist, zeigt sich in der Mukosa nach LPS-Gabe im gesamten Versuchsverlauf sowohl in der Kontroll- als auch in der TEA-Gruppe eine signifikante Zunahme der nicht-perfundierten Kapillaren. Daraus folgt, dass es sich hierbei nicht um ein Phänomen handelt, welches grundsätzlich durch die Aktivierung des sympathischen Nervensystems zu erklären ist. Mögliche Phänomene, die mit einer Verschlechterung der mikrovaskulären Perfusion einhergehen, sind endotheliale Schwellung, gesteigerte Erythrozytenrigidität sowie Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten. Man bezeichnet dies als Sludge-Phänomen. Wie bereits bei Affen (Coalson *et al.*, 1978; Coalson *et al.*, 1975) und Kaninchen (Cybulsky, Chan und Movat, 1988) gezeigt werden konnte, kommt es unter Einwirkung von LPS zu einer schweren mikrovaskulären Schädigung. Sowohl durch Hypoxie wie auch durch direkte Toxinwirkung kommt es zur immunologischen Aktivierung und zum Absterben von Endothelzellen. Insgesamt kommt es so zur Veränderung der Gefäßinnenwände. Diese begünstigt zusammen mit den oben beschriebenen Vorgängen die Verengung der Gefäßlumina und damit eine Veränderung der Rheologie des Blutes in den Kapillaren. So konnten Eichelbronner *et al.* zeigen, dass bei einer erniedrigten Blutflussrate in der Endotoxinämie die Erythrozyten stärker an das Endothel adhärieren können und es so zu einer Verklebung und Einengung der Gefäßbahn kommen kann (Eichelbronner, Sibbald und Chin-Yee, 2003). Diese unterschiedlichen Aspekte zusammengenommen erklären die deutliche Zunahme der nicht-perfundierten Kapillargefäße in beiden Versuchsgruppen.

Es kommt aufgrund der oben beschriebenen Abläufe insgesamt zu einer deutlichen Verlangsamung des Blutflusses. Auch wenn von einer vermehrten Sauerstoffextraktion ausgegangen werden muss, nimmt die Sauerstoffzufuhr durch das sehr langsam fließende Blut ab, so dass eine verminderte Oxygenierung des Darmgewebes angenommen werden muss. Aus diesem Grund wurden auch Kapillargefäße mit kaum noch nachweisbarem, minimalem Fluss als nicht-perfundierte Kapillargefäße gewertet.

Da die Tiere der Kontrollgruppe ebenfalls eine deutliche Zunahme der nicht-perfundierten Kapillargefäße zeigten, scheinen die beschriebenen Vorgänge nicht primär mit einer direkten

Sympathikusaktivität in Zusammenhang zu stehen. Es ließ sich keine Auswirkung der lokalen Blockade der Sympathikusfasern durch die TEA nachweisen, so dass von einer fehlenden Sympathikuswirkung in der Mukosa ausgegangen werden kann.

In der Muskularis (Abb.3.2 B) zeigte sich nach 120 min Endotoxinämie in der Kontrollgruppe eine deutliche Zunahme der nicht-perfundierten Kapillargefäße, welche in der TEA-Gruppe nicht nachweisbar sind. So scheint es in der Kontrollgruppe durch Aktivierung des Sympathikus zu einer Zunahme der nicht-perfundierten Kapillargefäße in der Muskularis zu kommen. In der TEA-Gruppe hingegen verhindert die regionale Sympathikolyse den Perfusionsausfall.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass in der Muskularis eine direkte Einwirkung des Sympathikus auf die Gefäße vorliegt, während in der Mukosa keine direkte Sympathikusaktivität nachweisbar ist. Dies kann durch das Ergebnis einer früheren Studie bestätigt werden, die in der Muskularis, nicht jedoch in der Mukosa sympathische Nervenfasern nachweisen konnte (Adolphs *et al.*, 2003); vgl. Abb. 4.1).

Dies lässt sich auch durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen. Offensichtlich kann die TEA in der Mukosa keine direkte Einwirkung auf die Kapillargefäße nehmen, während in der Muskularis aufgrund der sympathischen Blockade durch die TEA ein vermehrter Blutfluss in den Kapillargefäßen stattfindet. So erklärt es sich, dass die TEA entsprechend unserer Ergebnisse keine Verbesserung für die Perfusionssituation in der Mukosa bewirken konnte.

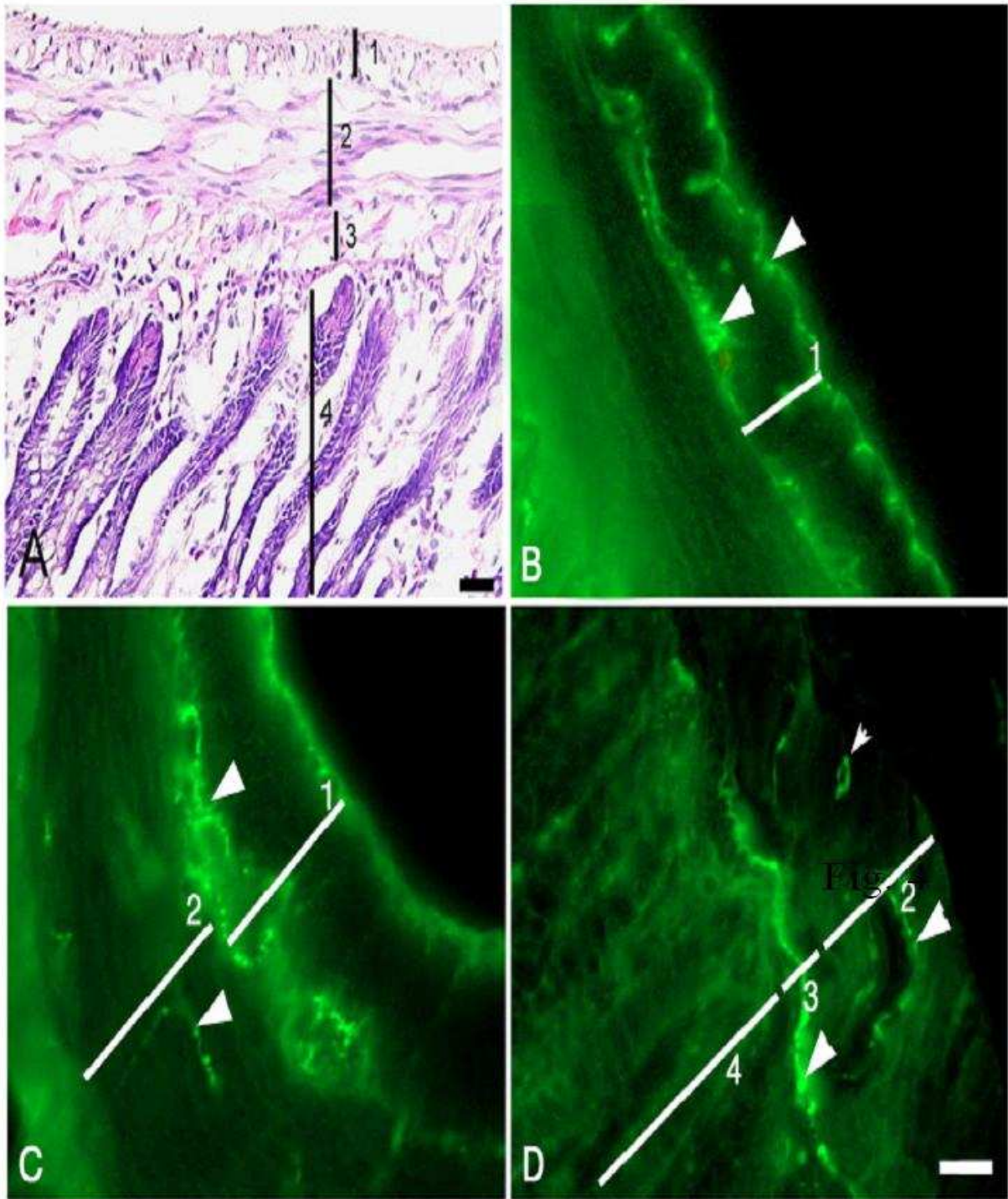


Abbildung 4.1: Verteilung der sympathischen Nervenfasern in der Gefäßwand des terminalen Ileums; A: die Färbung mit Hämatoxylin-Eosin zeigt die unterschiedlichen Schichten der Darmwand (1 = Muscularis longitudinalis propia, 2 = Muscularis circularis propria, 3 = Submukosa, 4 = Mukosa), B und C : Nachweis von sympathischen Nervenfasern in der Muscularis durch immunhistochemischen Nachweis von Tyrosinhydroxylase, D: immunhistochemischer Nachweis von sympathischen Nervenfasern in der Submukosa. Sympathischen Nervenfasern in der Mukosa des terminalen Ileums konnten nicht nachgewiesen werden (Abbildung aus Adolphs *et al.*, 2003).

4.4 Funktionelle Kapillardichte

Um die intestinale Perfusion zu quantifizieren wurde zusätzlich zur Dichte der nicht-perfundierten Kapillaren (Abb. 3.2 A und B) die funktionelle Kapillardichte in der Mukosa und Muskularis des terminalen Ileums bestimmt. Die funktionelle Kapillardichte, also die Summe aus kontinuierlich und intermittierend durchbluteten Kapillaren, gilt als ein Maß für die Gewebperfusion (Nolte *et al.*, 1995). Eine Zunahme der funktionellen Kapillardichte korreliert somit mit einer Verbesserung der nutritiven und oxidativen Versorgung des Gewebes.

In der Mukosa der Kontrollgruppe zeigte sich im Verlauf keine wesentliche Verschlechterung der funktionellen Kapillardichte, während in der TEA-Gruppe eine deutliche Abnahme der funktionellen Kapillardichte zu verzeichnen war (Abb. 3.3 A). Dies weist darauf hin, dass die mukosale Perfusion und Oxygenierung bei den Kontrolltieren besser erhalten bleibt als in der Gruppe der Tiere unter TEA.

Diesem Phänomen könnte eine durch das sympathische Nervensystem bedingte Regulation der Darmdurchblutung zugrunde liegen. Es kann angenommen werden, dass es nach LPS-induzierter Aktivierung des sympathischen Nervensystems zu einer kompensatorischen Engstellung der Arteriolen in der dicht innervierten Muskularis kommt. Damit findet eine Umverteilung des Blutes hin zur Mukosa statt, in der aufgrund fehlender sympathischer Innervation eine derartige Engstellung der präkapillären Gefäße wie in der Muskularis offensichtlich nicht stattfindet. Dies hat die Funktion, eine suffiziente Durchblutung der Mukosa zu gewährleisten, die vielfältigen Aufgaben der Mukosa aufrechtzuerhalten und einen hypoxiebedingten Gewebsschaden zu verringern bzw. zu vermeiden.

Bei den Tieren der TEA-Gruppe fand sich eine deutliche Abnahme der funktionellen Kapillardichte in der Mukosa. Im Zusammenhang mit dem oben ausgeführten Mechanismus können in der Muskularis aufgrund der Blockade der sympathischen Nervenfasern der Muskularis die präkapillären Gefäße offensichtlich nicht ausreichend kontrahieren, um eine adäquate Umverteilung des Blutvolumens zu bewirken. Folglich kommt es zu einer Abnahme der funktionellen Kapillardichte mit einer Verminderung der Perfusion in der Mukosa unter TEA.

Zusätzlich kommt es in der Gruppe der TEA-Tiere, wie oben beschrieben, zu einem deutlichen Abfall der Herzfrequenz und damit zu einem verminderten Herzminutenvolumen mit Abfall des Blutdrucks. Es kommt zum globalen Perfusionsdefizit. Es erscheint wahrscheinlich, dass die in der TEA-Gruppe aufgetretenen Perfusionsdefizite zusätzlich zu

dem oben beschriebenen Mechanismus der Blutumverteilung von Muskularis zu Mukosa in engem Zusammenhang mit dem Blutdruckabfall stehen. Im Rahmen der Sympathikusblockade und auch über systemische Anästhetikawirkung kommt es zudem zum venösen Pooling des Blutes im Splanchnikusgebiet. So stellt sich die Frage, ob mit einer gruppenübergreifenden Volumentherapie und einer zusätzlichen Begrenzung der sympathischen Blockade auf Splanchnikussegmente eine deutliche Verbesserung der Mukosaperfusion in der TEA-Gruppe erreicht werden könnte. Dies wäre in weiterführenden Studien abzuklären.

In der Muskularis nahm die funktionelle Kapillardichte sowohl in der Kontrollgruppe wie auch bei der Gruppe der TEA-Tiere ab (Abb 3.3 B). Dies läßt sich damit erklären, dass die Tiere der Kontrollgruppe aufgrund der Umverteilung des Blutes zugunsten der Mukosa Gefäße in der Muskularis durch erhöhten Sympathikotonus kompensatorisch engstellen. Dann ist in diesen Kapillaren der Muskularis kein messbarer Plasmafluss mehr vorhanden. Bei den Tieren unter thorakaler Epiduralanästhesie jedoch konnte aufgrund der Sympathikusblockade keine entsprechende Umverteilung der Perfusion stattfinden. Es wurde durch die sympathoadrenerge Blockade eine kompensatorische Kontraktion der Gefäße der Muskularis verhindert, so dass eine regulative Umverteilung zur Mukosa wie in der Kontrollgruppe nicht möglich war. Man würde somit mit einer Zunahme der funktionellen Kapillardichte rechnen. Allerdings kam es, wie oben bereits ausgeführt, zu einem Abfall des Blutdrucks und einem venösen Pooling des Blutes mit einer konsekutiven Minderperfusion des Intestinums. Durch den Druckabfall und die damit verbundene Minderperfusion des Intestinums kam es so zu einem verminderten Blutfluss im Kapillargebiet der Muskularis unter Einfluss der thorakalen Epiduralanästhesie, was die Abnahme der funktionellen Kapillardichte erklären würde.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, dass die funktionelle Kapillardichte in der Muskularis der Kontrolltiere abnahm und die Dichte der funktionellen Kapillaren in der Mukosa sich nur geringfügig im Vergleich zum Ausgangswert der Kontrollgruppe veränderten. Hingegen kam es zusätzlich zu einer Zunahme der nicht-perfundierten Kapillargefäße in der Mukosa. Diese Ergebnisse wären widersprüchlich, wenn man davon ausgeht, dass die funktionelle Kapillardichte als alleiniger Parameter für ausreichende Oxygenierung aussagekräftig ist. Die Ergebnisse der funktionellen Kapillardichte im Vergleich mit den nicht-perfundierten Kapillaren und verändertem Erythrozytenfluss zeigen, dass die funktionelle Kapillardichte allein keine ausreichende Aussage über den Versorgungs- bzw. Perfusionszustand des Darmes geben kann, da auch trotz einer suffizient scheinenden funktionellen Kapillardichte es zu lokalen

Perfusionsdefiziten kommen kann. Unterstützt werden diese Ergebnisse durch die Arbeiten von Nolte und Massberg (Nolte *et al.*, 1995; Massberg *et al.*, 1998). Weiterhin wurde auch im Ileum von Ratten mit Pneumonie gezeigt, dass es trotz unveränderter funktioneller Kapillardichte zu einer Permeabilitätszunahme der Mukosa mit histologisch nachweisbarem Zellschaden kommen kann (Neviere *et al.*, 1999). Aus diesem Zusammenhang sollte, wie in dieser Studie geschehen, nicht allein die Messung der funktionellen Kapillardichte, sondern weitere Parameter, wie z. B. die nicht-perfundierte Kapillardichte und die Erythrozythenfließgeschwindigkeit hinzugezogen werden, um eine umfassende Beurteilung der Organperfusion treffen zu können.

4.5 Gesamtkapillardichte

Die Gesamtkapillardichte zeigt alle zur Perfusion zur Verfügung stehenden Kapillargefäße. Damit kann durch die gemessenen Parameter eine Aussage über die Perfusion des Gewebes getroffen werden.

Bei den Ergebnissen der Gesamtkapillardichte zeigt sich für die Mukosa im Versuchverlauf in der Kontrollgruppe eine deutliche Zunahme, während in der TEA-Gruppe die Gesamtkapillardichte über den gesamten Versuchverlauf weitgehend unverändert bleibt. Es scheint bei den Tieren der Kontrollgruppe zur Rekrutierung von Kapillargefäßen in der Mukosa zu kommen. Diese „neu rekrutierten“ Kapillaren könnten zu Versuchsbeginn, vermutlich aufgrund nur sehr geringer Perfusion mit fluoreszierendem Plasma, nicht erkennbar gewesen sein. Es wurde bereits in vorhergegangenen Studien gezeigt, dass es bei verminderter Perfusion von Darmabschnitten zu einer vermehrten Rekrutierung von Kapillargefäßen zur Verbesserung der Perfusionssituation kommt. Diese zusätzliche Durchblutung neuer Kapillarabschnitte scheint ein grundlegender Mechanismus der Sicherung einer suffizienten Durchblutung der Mukosa zu sein (Granger, Kviety, and Perry, 1982). Der Effekt der Umverteilung des Blutflusses auf „neue“ Kapillargefäße konnte auch schon im hämorrhagischen (Lundgren und Svanvik, 1973; Redfors *et al.*, 1984; Gosche und Garrison, 1991; Adolphs *et al.*, 2003) und im septischen Schock (Hiltebrand *et al.*, 2003; Revelly *et al.*, 1996) gezeigt werden.

Dies zeigen nunmehr auch die Messergebnisse zur Gesamtkapillardichte. Die Kontrollgruppe ist in der Lage, als Reaktion auf die Minderperfusion während der Endotoxinämie in der Mukosa neue Kapillargefäße zu rekrutieren, während in der Gruppe der TEA-Tiere dieses

nicht möglich ist. In der Muskularis hingegen zeigte sich in beiden Gruppen kein wesentlicher Unterschied. So nahm sowohl bei der Kontroll- wie auch bei der TEA-Gruppe die Gesamtkapillardichte im Laufe des Versuches leicht ab. In der Gruppe der Kontrolltiere konnte aufgrund des Kompensationsmechanismus mit Umverteilung des Blutvolumens und Rekrutierung neuer Gefäße eine vermehrte Durchblutung der Mukosa beobachtet werden, jedoch bedingt dieser Umverteilungmechanismus die Kontraktion von Gefäßen der Muskularis und somit auch eine Abnahme der Gesamtkapillardichte in der Muskularis.

In der Gruppe der TEA-Tiere hingegen findet aufgrund der Blockade des Sympathikus dieser Kompensationsmechanismus nicht statt. Es zeigt sich folglich insgesamt eine Abnahme der Gesamtkapillardichte.

4.6 Arterioldurchmesser und Erythrozytenfließgeschwindigkeit

Wie die Abbildung 3.5 zeigt, nimmt der Arterioldurchmesser in der Kontrollgruppe im Versuchsverlauf ab, während er in der TEA-Gruppe zunimmt. Da die Villusarteriolen der Mukosa zugehörig sind, scheint ein direkter Einfluss der sympathischen Blockade durch die thorakale Epiduralanästhesie auf die Arterioldurchmesser unwahrscheinlich (vgl. Abb. 4.1). Die Abnahme der Zentralarterioldurchmesser in der Kontrollgruppe könnte mit einer primären Schädigung des Endothels in der Villusarteriole bedingt durch die Endotoxinämie erklärt werden. Infolge der direkten Einwirkung der Toxine auf das Endothel der Kapillargefäße kommt es zu einer endothelialen Schwellung. Eng im Zusammenhang damit steht das Sludge-Phänomen. Hierbei kommt es bei veränderter Gefäßinnenwand und veränderter Rheologie des Blutes zur vermehrten Anheftung von zellulären Bestandteilen an die Gefäßwände, welches zu einer Einengung der Gefäßdurchmesser führt. In diesem Zusammenhang kann auch die Verlangsamung des Erythrozytenflusses erklärt werden (Miura *et al.*, 1996; Whitworth *et al.*, 1989).

Sielenkämper *et al.* zeigten in Versuchen mit thorakaler Epiduralanästhesie bei gesunden Tieren, dass bei gleichbleibendem Arterioldurchmesser die Erythrozytenfließgeschwindigkeit in der Mukosa zunimmt (Sielenkämper, Eicker und Van Aken, 2000). Diese Ergebnisse konnten hier nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, dass es in der Gruppe der TEA-Tiere zu einer Zunahme der Villusarterioldurchmesser bei gleichzeitiger Abnahme der Erythrozytenfließgeschwindigkeit kam. Der verminderte Erythrozytenfluss läßt sich wiederum im Zusammenhang mit den

Blutdruckverhältnissen und dem verminderten Herzminutenvolumen erklären. Aufgrund des Blutdruckabfalls und der verminderten Herzfrequenz im Rahmen der TEA kommt es zu einem verminderten Blutfluss sowohl in der Muskularis wie in der Mukosa der TEA-Tiere, was wiederum zu einer Abnahme der Erythrozytenfliessgeschwindigkeit führt. Zwar nahm in der TEA-Gruppe der Hämatokrit während des Versuchs ab (vgl. Abb. 3.7), was zu einer Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes führen müsste, jedoch scheint das nicht ausreichend zu sein, um den verminderten Fluss aufgrund der oben ausgeführten Vorgänge zu kompensieren.

Zusätzlich zeigt sich eine Zunahme der Arterioldurchmesser in der Gruppe der TEA-Tiere. Dies könnte über eine autoregulative myogene Weitstellung der Arteriolen erklärt werden (Bayliss-Effekt). Zudem könnten für die Zunahme der Arterioldurchmesser in der TEA-Gruppe mehrere weitere Faktoren ausschlaggebend sein. Es wurde bereits von Schmidt *et al.* gezeigt, dass unter Gabe sehr geringer Mengen von Dopamin in der Endotoxinämie die Arterioldurchmesser unverändert blieben, während sie ohne Dopamin unter gleichen Bedingungen konstringierten (Schmidt *et al.*, 1996). Das hier für die thorakale Epiduralanästhesie verwendete Lidocain könnte durch systemische Wirkung ähnliche Effekte direkt an den Villusarteriolen entwickeln und somit zu einer Weitstellung der Arteriolen führen. Des weiteren gibt es Studien, die eine Vasodilatation in Assoziation mit Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF α) sowohl alleine (Vicaut *et al.*, 1991) wie auch interagierend mit Endotoxinen (Glembot, Britt und Hill, 1996) zeigten. So gab es auch in der vorliegenden Arbeit ein Zusammentreffen von einer Erweiterung der Villusarteriolen und einem deutlich erhöhten TNF α in der TEA-Gruppe (siehe unten; Abb. 3.12).

4.7 Systemische Variablen

Die unterschiedlichen systemischen Variablen, welche in der Versuchsreihe gemessen wurden, reagieren sensitiv auf Störungen der körpereigenen Regulationsmechanismen und sind daher gut geeignet, um einen Überblick über die durch die Versuche ausgelösten Mechanismen zu bekommen.

Die hämatologischen Variablen liegen trotz unterschiedlicher Schwankungen in beiden Gruppen weitestgehend im Normbereich (Abb 3.7 – 3.11). Der stärkere Abfall des Hämatokrit (Abb 3.7) in der TEA-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe lässt sich bei vergleichbarer Volumengabe in beiden Gruppen durch die autoregulative Retention von

Wasser in der Niere als Kompensationsversuch auf den durch die TEA induzierten Blutdruckabfall erklären. Der Anstieg des pH-Wertes in der TEA-Gruppe zu Beginn der epiduralen Infusion (vgl. Abb. 3.8) könnte durch eine Hyperventilation als Reaktion auf die TEA zu erklären sein. Dadurch ließe sich auch die Zunahme des Sauerstoffpartialdrucks bei gleichzeitiger Abnahme des Kohlendioxidpartialdrucks zu Beginn der thorakalen Epiduralanästhesie erklären (Abb. 3. 10). Im weiteren Verlauf gleichen sich die Werte wieder dem Normwert an.

Die Abnahme des Base-Excess (Abb 3.9) zeigt eine Akkumulation nicht flüchtiger Säuren. Ein möglicher Laktatanstieg, verursacht durch den anaeroben Stoffwechsel im minderperfundierten Gewebe, könnte hierfür ursächlich sein.

4.8 Konzentration von TNF α

TNF α zeigt als proinflammatorisches Cytokin die immunologische Reaktion des Körpers auf den Endotoxinkontakt an. Bei der Messung der TNF α -Konzentration (Abb 3. 12) zeigt sich in der Kontrollgruppe ein stark erhöhter Wert nach Beendigung des Versuches. Diese Erhöhung ist auf die Wirkung der Endotoxine im Organismus und die dadurch ausgelöste Immunantwort, bei der es zu einer massiven Ausschüttung von proinflammatorischen Cytokinen (u.a. TNF α) kommt, zurückzuführen. Dabei scheint es einen engen Zusammenhang zwischen der Höhe des jeweiligen TNF α -Spiegels und dem klinischen Verlauf der Patienten zu geben. Jedoch gibt es dazu in der Literatur unterschiedliche Erkenntnisse. So zeigten Mozes *et al.* eine deutliche Verschlechterung der Langzeitprognose der Patienten mit hohem TNF α -Spiegel (Mozes *et al.*, 1991). Hingegen konnte in einer anderen Studie gezeigt werden, dass eine vermehrte Ausschüttung des Cytokins im Zusammenhang mit einer verbesserten Prognose der Patienten steht (Ploder *et al.*, 2006).

In der TEA-Gruppe liegt die TNF α -Konzentration nach Beendigung des Versuches ca. viermal so hoch wie in der Kontrollgruppe. In der Kombination mit der Endotoxinämie scheint sich unter der TEA die immunologische Antwort auf die Endotoxine zu verstärken. Bisher konnte kein direkter Zusammenhang zwischen einer thorakalen Epiduralanästhesie und einer Verstärkung der Immunantwort gezeigt werden (Procopio *et al.*, 2001). Jedoch ließe sich der stärkere Anstieg des TNF α in der Mukosa der TEA-Gruppe durch eine vermehrte Schädigung des Gewebes erklären. Wie oben gezeigt werden konnte, wurde die Mukosa in der TEA-Gruppe aufgrund verschiedener Mechanismen vermindert perfundiert. Durch das

Perfusionsdefizit kommt es dann im Verlauf zu einer vermehrten mukosalen Hypoxie mit einer vermehrten Schädigung der Zellen. Da dieses deutliche Defizit in der Perfusion der Mukosa nur die TEA-Tiere betrifft, scheint ein Zusammenhang mit den erhöhten TNF α -Werten wahrscheinlich.

4.9 Schlussfolgerung und Ausblick

Insgesamt zeigten in dieser Studie die Tiere der TEA-Gruppe in der Endotoxinämie ein schlechteres Ergebnis für die Perfusionsmessungen als die entsprechenden Vergleichsgruppen ohne thorakale Epiduralanästhesie. Die fehlende kompensatorische Engstellung der Muskularisgefäße einerseits und die deutlichen Blutdruckabfälle andererseits verschlechtern die Perfusion der Mukosa bei den TEA-Tiere derart, dass sich aus der Sicht der hier vorliegenden Ergebnisse keine Verbesserung, sondern eher eine Verschlechterung der Intestinalperfusion der Tiere in der Endotoxinämie unter einer TEA zeigte.

Jedoch stellt sich aus den hier vorliegenden Ergebnissen die Frage, ob eine Optimierung der Blutdruckeinstellung unter einer TEA eine Verbesserung der Perfusionssituation des Intestinums unter Endotoxinämie bringen würde. Es ist anzunehmen, dass bei stabilen Blutdruckverhältnissen eine deutliche Verbesserung der Perfusion der Mukosa unter TEA zu erreichen wäre und damit letztlich die Intestinalperfusion optimiert werden könnte. So sollte in weiterführenden Studien die Stabilisierung der Blutdruckverhältnisse unter der TEA, z.B. durch eine aggressive Volumensubstitutionstherapie, eine Verminderung der Anzahl blockierter Segmente oder die Gabe von Vasopressoren untersucht werden. Dies würde eine mögliche Option zur Verbesserung der Perfusionssituation darstellen, welche zu einem Benefit für die TEA-Tiere führen würde. Letztendlich würde die Bestätigung dieser Hypothese neue Wege zur Optimierung der Behandlung von septischen Patienten eröffnen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Das Intestinum ist aufgrund seiner Funktion mit sehr unterschiedlichen Anforderungen konfrontiert. So stehen hier nicht nur resorptive Aufgaben, sondern auch die Sicherung einer effizienten Abwehr im Vordergrund. Zur Aufrechterhaltung seiner Funktion benötigt der Dünndarm daher eine ausreichende Blutversorgung. Im Rahmen einer Endotoxinämie kann es jedoch zu einer Verschlechterung der Perfusion des Intestinums unter anderem durch eine sympathoadrenerge Reaktion des Körpers kommen. Dabei kann es dann im weiteren Verlauf zu einer progredienten Zellschädigung durch Hypoxie bei Minderperfusion bzw. durch direkte bakterielle Einflüsse kommen. Aufgrund ihrer diversen unterschiedlichen Aufgaben hat die Mukosa einen hohen O₂-Bedarf und verfügt daher über ein besonders komplex aufgebautes Kapillargefäßsystem. Damit ist die Mukosa aber auch für Schädigungen durch Hypoxie und Toxine besonders anfällig. Bei Schädigung der Epithelschichten wird eine bakterielle Translokation begünstigt. Der Darm kann so aufgrund seiner Standortflora sowie durch diverse den Darm passierende Pathogene zur Initiierung, Perpetuierung und Amplifikation einer systemischen Entzündungsreaktion beitragen. So scheint die Aufrechterhaltung einer effizienten intestinalen Gewebperfusion ein sinnvoller Ansatzpunkt zur Optimierung der Behandlung von Patienten in der Endotoxinämie zu sein.

Im Rahmen einer thorakalen Epiduralanästhesie kommt es zur Blockade der sympathoadrenergen Fasern im anästhesierten Gebiet. Dabei gibt es in Bezug auf den Darm unterschiedliche Erkenntnisse über die Einflüsse der TEA auf die Intestinaldurchblutung. So wurde in einigen Studien nachgewiesen, dass die TEA zu einer unveränderten, teilweise sogar zu einer verminderten Perfusion führen kann. Jedoch zeigten andere Studien, dass die TEA mit einer deutlichen Verbesserung der Gewebperfusion einhergeht.

Die Hypothese dieser Arbeit war daher, dass eine TEA insgesamt zu einer Verbesserung der Durchblutung des Intestinums führt und somit hypoxische Zellschädigungen im Rahmen der Endotoxinämie verhindert bzw. minimiert werden können. Unter diesem Aspekt wäre die TEA ein vielversprechender Behandlungsansatz zu einer Verbesserung der Situation und der Therapie von Patienten mit Ganzkörperinflammation und Sepsis. Unter dieser Arbeitshypothese wurden in dieser Studie erstmalig die Auswirkungen einer thorakalen Epiduralanästhesie auf die Perfusion der Muskularis und Mukosa des Dünndarms unter Endotoxinämie untersucht.

Die Versuchsreihen wurden an einem standardisierten Tiermodell durchgeführt. Es wurden vier Versuchsgruppen zu jeweils acht Tieren gebildet, wobei jeweils zwei Gruppen der

Untersuchung der Mukosa und zwei Gruppen der Untersuchung der Muskularis zugeordnet wurden. Dabei wurde jeweils einer Gruppe Lidocain als Anästhetikum in der TEA verabreicht, die Kontrollgruppe erhielt eine entsprechende Menge isotonischer Kochsalzlösung. Im weiteren Verlauf wurde nach entsprechender Vorbereitung und Lagerung der Tiere das terminale Ileum für die Intravitalmikroskopie ausgelagert. Zur Messung der Muskularisdurchblutung wurden Aufnahmen der serösen Seite des Darmes angefertigt, zur Erstellung der Bilder der Mukosa wurde der Darm eröffnet. Nach 30-minütiger Stabilisation wurde ein Bolus eines Fluoreszenz- Farbstoffs verabreicht und die ersten Videoaufnahmen angefertigt (Ausgangswerte). Dann wurde mit der Verabreichung des Anästhetikums bzw. der isotonischen Kochsalzlösung begonnen und weitere Aufnahmen nach 30 min durchgeführt (epidurale Infusion). Zur Sicherung der Vergleichbarkeit der Messungen wurde ein elektronisches, an den Versuchstisch gekoppeltes Koordinatensystem benutzt. So konnte bei den Aufnahmeserien jeweils die gleichen Gewebeabschnitte aufgesucht werden. Dann wurde die intravenöse Gabe des LPS begonnen und weitere Aufnahmen nach 60 und 120 min erstellt. Die intestinale mikrovaskuläre Perfusion im ausgelagerten Darmsegment wurde per Epifluoreszenz analysiert. Dabei wurden die erstellten Echtzeitvideosequenzen aufgezeichnet und später offline ausgewertet. Die aufgezeichneten Kapillarnetzwerke wurden dann mit einer speziell entworfenen Software analysiert. Zur Beurteilung der mikrovaskulären Perfusion wurden funktionelle Kapillardichte, nicht-perfundierte Kapillardichte und Gesamtkapillardichte in der Mukosa und Muskularis bestimmt. Zusätzlich wurden in den mukosalen Villi die Durchmesser der Zentralarteriolen gemessen. Desweiteren erfolgte die Bestimmung der Erythrozytenfliessgeschwindigkeit mit der etablierten „Frame-by-Frame“-Methode. Es wurden regelmäßige Messungen der HF, des MAD und unterschiedlicher systemischer Laborvariablen durchgeführt sowie die Konzentration von TNF α im Plasma gemessen.

Die Ergebnisse der Messungen zeigten, dass die Tiere der Kontrollgruppen ohne TEA im Rahmen einer normotensiven Endotoxinämie offensichtlich in der Lage sind, durch einen Kompensationsmechanismus die Perfusion der Mukosa zu sichern. Dabei wird der Blutfluß von der Muskularis hin zur Mukosa umverteilt. Es scheint sich hierbei um einen Mechanismus zu handeln, der grundsätzlich in der Muskularis lokalisiert ist. Es kommt zur Kontraktion der Muskularisgefäße durch sympathischen Einfluss und damit zur Umverteilung des Blutes in Richtung der Mukosa und Rekrutierung neuer Kapillargefäße. Dadurch wird die Perfusion der Mukosa stabilisiert und einer Schädigung des Endothels vorgebeugt. Im Gegensatz dazu zeigten die Tiere der TEA-Gruppe diesen Mechanismus zur

Sicherung der Mukosaperfusion nicht. Durch die Blockade der sympathischen Nervenfasern, welche sich in der Muskularis befinden, waren die Tiere nicht in der Lage, die Muskularisgefäße kompensatorisch zu kontrahieren. Zudem kam es im Rahmen der thorakalen Epiduralanästhesie zusätzlich zu einem Abfall der Herzfrequenz, des Blutdrucks, zum venösen Pooling im Splanchnikusgebiet und konsekutiv zu einer globalen Hypoperfusion im untersuchten Gewebe. Dies wiederum führte zu einer Verminderung der mukosalen Perfusion. Folglich führte die thorakale Epiduralanästhesie unter diesen Bedingungen zu einer Verschlechterung der Perfusion und Oxygenierung der Mukosa und damit vermeintlich zu einer vermehrten Schädigung des Darmepithels, die mit einem starken Anstieg der TNF- α -Konzentration einherging.

So lässt sich abschließend feststellen, dass die Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdruckes essentiell für die Optimierung der Mikroperfusion des Splanchnikus unter thorakaler Epiduralanästhesie zu sein scheint. Es ist anzunehmen, dass es unter optimierten Blutdruckverhältnissen eine Verbesserung für die Perfusionssituation des Intestinums unter TEA in der Endotoxinämie gibt. In weiteren Studien sollte untersucht werden, inwiefern sich die Perfusion der Mukosa unter TEA bei Optimierung des Perfusionsdruckes, z. B. durch aggressive Volumentherapie oder Hinzunahme von Vasopressoren, verändert bzw. verbessert. Hieraus könnte sich dann langfristig gesehen ein neuer Ansatz für die Therapie und damit eine Verbesserung der Situation septischer Patienten ergeben.

6. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BE	Base-Excess (Basen-Überschuß)
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCD	charge-coupled Device Kamera
cm	Zentimeter
cm ⁻¹	pro Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
CTRL	Kontrollgruppe
et al.	et alii (und andere)
ETX	Endotoxinämie
ELISA	solid phase enzyme linked immuno sorbent assay
FITC-Dextran	Fluoreszeinisothiocyanid-Dextran-Lösung (Farbstofflösung)
g	Gramm
g/kg	Gramm pro Kilogramm
ggf.	gegebenenfalls
Ggl.	Ganglion
Ggl.	Ganglia
h	Stunde
HF	Herzfrequenz
IL	Interleukin
L	lumbale Nervenaustrittsstellen
LPS	Lipopolysaccharid
MAD	mittlerer arterieller Druck
min	Minute
ml	Milliliter
ml/h	Milliliter pro Stunde
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol/l	Millimol pro Liter
ms	Millisekunden

NaCl	Natriumchlorid
NF- κ B	nukleärer Faktor Kappa B
n	Anzahl der Versuchstiere
N.	Nervus
Nn.	Nervi
nm	Nanometer
PAMPS	pathogen associated molecular patterns
pg/ml	Pikogramm pro Milliliter
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
s. Abb.	siehe Abbildung
SIRS	systemic inflammatory response syndrom
TEA	thorakale Epiduralanästhesie
Th	thorakale Nervenaustrittsstellen
TLR	toll-like receptor
TNF α	Tumornekrosefaktor-alpha
u.a.	unter anderem, und andere
U/min	Umdrehungen pro Minute
vgl.	vergleiche
W	Watt
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
μ l	Mikroliter
μ l/h	Mikroliter pro Stunde
°C	Grad Celsius
%	Prozent
*	Signifikanz zum Ausgangswert
§	Signifikanz zur Kontrollgruppe

7. Literaturverzeichnis

Adolphs,J., Schmidt,D.K., Mousa,S.A., Kamin,B., Korsukewitz,I., Habazettl,H., Schafer,M., and Welte,M. (2003) Thoracic epidural anesthesia attenuates hemorrhage-induced impairment of intestinal perfusion in rats *Anesthesiology* 99: 685-692.

Adolphs,J., Schmitt,T.K., Schmidt,D.K., Mousa,S., Welte,M., Habazettl,H., and Schafer,M. (2005) Evaluation of sympathetic blockade after intrathecal and epidural lidocaine in rats by laser Doppler perfusion imaging *Eur.Surg.Res.* 37: 50-59.

Ahn,H., Bronge,A., Johansson,K., Ygge,H., and Lindhagen,J. (1988) Effect of continuous postoperative epidural analgesia on intestinal motility *Br.J.Surg.* 75: 1176-1178.

Bahar,M., Rosen,M., and Vickers,M.D. (1984) Chronic cannulation of the intradural or extradural space in the rat *Br.J.Anaesth.* 56: 405-410.

Batt,R.M., Rutgers,H.C., and Sancak,A.A. (1996) Enteric bacteria: friend or foe? *J.Small Anim Pract.* 37: 261-267.

Bohlen,H.G., Gore,R.W. (1977) Comparison of microvascular pressures and diameters in the innervated and denervated rat intestine *Microvasc.Res.* 14: 251-264.

Bonica,J.J. (1968) Autonomic innervation of the viscera in relation to nerve block *Anesthesiology* 29: 793-813.

Bredtmann,R.D., Herden,H.N., Teichmann,W., Moecke,H.P., Kniesel,B., Baetgen,R., and Tecklenburg,A. (1990) Epidural analgesia in colonic surgery: results of a randomized prospective study *Br.J.Surg.* 77: 638-642.

Carrico,C.J., Meakins,J.L., Marshall,J.C., Fry,D., and Maier,R.V. (1986) Multiple-organ-failure syndrome *Arch.Surg.* 121: 196-208.

Coalson,J.J., Benjamin,B.A., Archer,L.T., Beller,B.K., Spaet,R.H., and Hinshaw,L.B. (1978) A pathologic study of Escherichia coli shock in the baboon and the response to adrenocorticosteroid treatment *Surg.Gynecol.Obstet.* 147: 726-736.

Coalson,J.J., Hinshaw,L.B., Guenter,C.A., Berrell,E.L., and Greenfield,L.J. (1975) Pathophysiologic responses of the subhuman primate in experimental septic shock *Lab Invest* 32: 561-569.

Cybulsky,M.I., Chan,M.K., and Movat,H.Z. (1988) Acute inflammation and microthrombosis induced by endotoxin, interleukin-1, and tumor necrosis factor and their implication in gram-negative infection *Lab Invest* 58: 365-378.

Deitch,E.A. (1990) The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure *Arch.Surg.* 125: 403-404.

Eichelbronner,O., Sibbald,W.J., and Chin-Yee,I.H. (2003) Intermittent flow increases endotoxin-induced adhesion of human erythrocytes to vascular endothelial cells *Intensive Care Med.* 29: 709-714.

- Feuk,U., Jakobson,S., and Norlen,K. (1987) Central haemodynamics and regional blood flows during thoracic epidural analgesia combined with positive pressure ventilation. An experimental study in the pig *Acta Anaesthesiol.Scand.* 31: 479-486.
- Freise,H., Bruckner,U.B., and Spiegel,H.U. (2001) Animal models of sepsis *J.Invest Surg.* 14: 195-212.
- Gannon,B., Carati,C. (1990) Intestinal Microvascular Organization. In *Gastrointestinal Microcirculation*. Messmer,K., Hammersen,F. (eds). Basel: Karger, pp. 55-89.
- Gelman,S., Feigenberg,Z., Dintzman,M., and Levy,E. (1977) Electroenterography after cholecystectomy. The role of high epidural analgesia *Arch.Surg.* 112: 580-583.
- Glembot,T.M., Britt,L.D., and Hill,M.A. (1996) Endotoxin interacts with tumor necrosis factor-alpha to induce vasodilation of isolated rat skeletal muscle arterioles *Shock* 5: 251-257.
- Gosche,J.R., Garrison,R.N. (1991) Prostaglandins mediate the compensatory responses to hemorrhage in the small intestine of the rat *J.Surg.Res.* 50: 584-588.
- Granger,D.N., Kvietys,P.R., and Perry,M.A. (1982) Role of exchange vessels in the regulation of intestinal oxygenation *Am.J.Physiol* 242: G570-G574.
- Green,B.T., Lyte,M., Chen,C., Xie,Y., Casey,M.A., Kulkarni-Narla,A., Vulchanova,L., and Brown,D.R. (2004) Adrenergic modulation of Escherichia coli O157:H7 adherence to the colonic mucosa *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol* 287: G1238-G1246.
- Greitz,T., Andreen,M., and Irestedt,L. (1984) Effects of ephedrine on haemodynamics and oxygen consumption in the dog during high epidural block with special reference to the splanchnic region *Acta Anaesthesiol.Scand.* 28: 557-562.
- Hahn,P.Y., Wang,P., Tait,S.M., Ba,Z.F., Reich,S.S., and Chaudry,I.H. (1995) Sustained elevation in circulating catecholamine levels during polymicrobial sepsis *Shock* 4: 269-273.
- Hahnenkamp,K., Theilmeier,G., Van Aken,H.K., and Hoenemann,C.W. (2002) The effects of local anesthetics on perioperative coagulation, inflammation, and microcirculation *Anesth.Analg.* 94: 1441-1447.
- Hao,W.L., Lee,Y.K. (2004) Microflora of the gastrointestinal tract: a review *Methods Mol.Biol.* 268: 491-502.
- Hedger,J.H., Webber,R.H. (1976) Anatomical study of the cervical sympathetic trunk and ganglia in the albino rat (*Mus norvegicus albinus*) *Acta Anat.(Basel)* 96: 206-217.
- Heumann,D., Roger,T. (2002) Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria *Clin.Chim.Acta* 323: 59-72.
- Hiltebrand,L.B., Krejci,V., tenHoevel,M.E., Banic,A., and Sigurdsson,G.H. (2003) Redistribution of microcirculatory blood flow within the intestinal wall during sepsis and general anesthesia *Anesthesiology* 98: 658-669.
- Hogan,Q.H., Stadnicka,A., Stekiel,T.A., Bosnjak,Z.J., and Kampine,J.P. (1993) Effects of epidural and systemic lidocaine on sympathetic activity and mesenteric circulation in rabbits *Anesthesiology* 79: 1250-1260.

- Jayr,C., Thomas,H., Rey,A., Farhat,F., Lasser,P., and Bourgain,J.L. (1993) Postoperative pulmonary complications. Epidural analgesia using bupivacaine and opioids versus parenteral opioids *Anesthesiology* 78: 666-676.
- Johansson,K., Ahn,H., Lindhagen,J., and Tryselius,U. (1988) Effect of epidural anaesthesia on intestinal blood flow *Br.J.Surg.* 75: 73-76.
- Kanwar,S., Windsor,A.C., Welsh,F., Barclay,G.R., Guillou,P.J., and Reynolds,J.V. (2000) Lack of correlation between failure of gut barrier function and septic complications after major upper gastrointestinal surgery *Ann.Surg.* 231: 88-95.
- Kapral,S., Gollmann,G., Bachmann,D., Prohaska,B., Likar,R., Jandrasits,O., Weinstabl,C., and Lehofer,F. (1999) The effects of thoracic epidural anesthesia on intraoperative visceral perfusion and metabolism *Anesth.Analg.* 88: 402-406.
- Kehlet,H. (1988) The modifying effect of anesthetic technique on the metabolic and endocrine responses to anesthesia and surgery *Acta Anaesthesiol.Belg.* 39: 143-146.
- Kennedy,W.F., Jr., Everett,G.B., Cobb,L.A., and Allen,G.D. (1971) Simultaneous systemic and hepatic hemodynamic measurements during high peridural anesthesia in normal man *Anesth.Analg.* 50: 1069-1077.
- Kovarik,M.F., Jones,S.B., and Romano,F.D. (1987) Plasma catecholamines following cecal ligation and puncture in the rat *Circ.Shock* 22: 281-290.
- Lee,R.P., Wang,D., Lin,N.T., and Chen,H.I. (2002) Physiological and chemical indicators for early and late stages of sepsis in conscious rats *J.Biomed.Sci.* 9: 613-621.
- Leonhardt,H. (1990) *Taschenlehrbuch der gesamten Anatomie - Band 3: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen* Stuttgart: Thieme Verlag.
- Longnecker,D.E., Harris,P.D. (1980) Microcirculatory actions of general anesthetics *Fed.Proc.* 39: 1580-1583.
- Luebbe,A.S., Harris,P.D., and Garrison,R.N. (1998) E. Coli bacteremia-induced changes in the skeletal muscle microcirculation vary with anesthetics *Croat.Med.J.* 39: 392-400.
- Lundberg,J., Biber,B., Delbro,D., Martner,J., and Werner,O. (1989) Effects of dopamine on intestinal hemodynamics and motility during epidural analgesia in the cat *Acta Anaesthesiol.Scand.* 33: 487-493.
- Lundberg,J., Lundberg,D., Norgren,L., Ribbe,E., Thorne,J., and Werner,O. (1990) Intestinal hemodynamics during laparotomy: effects of thoracic epidural anesthesia and dopamine in humans *Anesth.Analg.* 71: 9-15.
- Lundgren,O., Svanvik,J. (1973) Mucosal hemodynamics in the small intestine of the cat during reduced perfusion pressure *Acta Physiol Scand.* 88: 551-563.
- Lyte,M., Arulanandam,B., Nguyen,K., Frank,C., Erickson,A., and Francis,D. (1997) Norepinephrine induced growth and expression of virulence associated factors in enterotoxigenic and enterohemorrhagic strains of Escherichia coli *Adv.Exp.Med.Biol.* 412: 331-339.

Massberg,S., Eisenmenger,S., Enders,G., Krombach,F., and Messmer,K. (1998) Quantitative analysis of small intestinal microcirculation in the mouse *Res.Exp.Med.(Berl)* 198: 23-35.

Miura,S., Fukumura,D., Kurose,I., Higuchi,H., Kimura,H., Tsuzuki,Y., Shigematsu,T., Han,J.Y., Tsuchiya,M., and Ishii,H. (1996) Roles of ET-1 in endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat small intestine *Am.J.Physiol* 271: G461-G469.

Miura,S., Imaeda,H., Shiozaki,H., Kurose,I., Fukumura,D., Tashiro,H., Serizawa,H., Suematsu,M., Sekizuka,E., and Tsuchiya,M. (1993) Attenuation of endotoxin-induced intestinal microcirculatory damage by eicosapentanoic acid *Am.J.Physiol* 264: G828-G834.

Mozes,T., Ben Efraim,S., Tak,C.J., Heiligers,J.P., Saxena,P.R., and Bonta,I.L. (1991) Serum levels of tumor necrosis factor determine the fatal or non-fatal course of endotoxic shock *Immunol.Lett.* 27: 157-162.

Neviere,R.R., Pitt-Hyde,M.L., Piper,R.D., Sibbald,W.J., and Potter,R.F. (1999) Microvascular perfusion deficits are not a prerequisite for mucosal injury in septic rats *Am.J.Physiol* 276: G933-G940.

Nolte,D., Zeintl,H., Steinbauer,M., Pickelmann,S., and Messmer,K. (1995) Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion? *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.* 15: 244-249.

Otton,P.E., Wilson,E.J. (1966) The cardiocirculatory effects of upper thoracic epidural analgesia *Can.Anaesth.Soc.J.* 13: 541-549.

Pastores,S.M., Katz,D.P., and Kvetan,V. (1996) Splanchnic ischemia and gut mucosal injury in sepsis and the multiple organ dysfunction syndrome *Am.J.Gastroenterol.* 91: 1697-1710.

Ploder,M., Pelinka,L., Schmuckenschlager,C., Wessner,B., Ankersmit,H.J., Fuerst,W., Redl,H., Roth,E., and Spittler,A. (2006) Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha production and not monocyte human leukocyte antigen-DR expression is correlated with survival in septic trauma patients *Shock* 25: 129-134.

Porth,C.M. (2004) *Pathophysiology: Concepts of Altered Health States* Lippincott Williams & Wilkins.

Pries, A. R. and Drüsedow, S. Vision3D, Vmorph. 1998. Berlin, Germany.
Ref Type: Computer Program

Procopio,M.A., Rassias,A.J., DeLeo,J.A., Pahl,J., Hildebrandt,L., and Yeager,M.P. (2001) The in vivo effects of general and epidural anesthesia on human immune function *Anesth.Analg.* 93: 460-5, 4th.

Redfors,S., Hallback,D.A., Sjoval,H., Jodal,M., and Lundgren,O. (1984) Effects of hemorrhage on intramural blood flow distribution, villous tissue osmolality and fluid and electrolyte transport in the cat small intestine *Acta Physiol Scand.* 121: 211-222.

Revelly,J.P., Ayuse,T., Brienza,N., Fessler,H.E., and Robotham,J.L. (1996) Endotoxic shock alters distribution of blood flow within the intestinal wall *Crit Care Med.* 24: 1345-1351.

Schmidt,H., Secchi,A., Wellmann,R., Bohrer,H., Bach,A., and Martin,E. (1996) Effect of low-dose dopamine on intestinal villus microcirculation during normotensive endotoxaemia in rats *Br.J.Anaesth.* 76: 707-712.

Schulte-Steinberg,O., Rahlfs,V.W. (1977) Spread of extradural analgesia following caudal injection in children. A statistical study *Br.J.Anaesth.* 49: 1027-1034.

Seeling,W., Bruckmooser,K.P., Hufner,C., Kneitinge,r,E., Rigg,C., and Rockemann,M. (1990) [No reduction in postoperative complications by the use of catheterized epidural analgesia following major abdominal surgery] *Anaesthesist* 39: 33-40.

Sielenkamper,A.W., Eicker,K., and Van Aken,H. (2000) Thoracic epidural anesthesia increases mucosal perfusion in ileum of rats *Anesthesiology* 93: 844-851.

Sivarajan,M., Amory,D.W., and Lindbloom,L.E. (1976) Systemic and regional blood flow during epidural anesthesia without epinephrine in the rhesus monkey *Anesthesiology* 45: 300-310.

Spackman,D.R., McLeod,A.D., Prineas,S.N., Leach,R.M., and Reynolds,F. (2000) Effect of epidural blockade on indicators of splanchnic perfusion and gut function in critically ill patients with peritonitis: a randomised comparison of epidural bupivacaine with systemic morphine *Intensive Care Med.* 26: 1638-1645.

Sugita,T., Watarida,S., Katsuyama,K., Nakajima,Y., Yamamoto,R., Matsuno,S., Tabata,R., and Mori,A. (1998) Endotoxemia after elective surgery for abdominal aortic aneurysm and the effect of early oral feeding *J.Cardiovasc.Surg.(Torino)* 39: 547-549.

Sutcliffe,N.P., Mostafa,S.M., Gannon,J., and Harper,S.J. (1996) The effect of epidural blockade on gastric intramucosal pH in the peri-operative period *Anaesthesia* 51: 37-40.

Theuer,C.J., Wilson,M.A., Steeb,G.D., and Garrison,R.N. (1993) Microvascular vasoconstriction and mucosal hypoperfusion of the rat small intestine during bacteremia *Circ.Shock* 40: 61-68.

Tyml,K., Sherebrin,M.H. (1980) A method for on-line measurements of red cell velocity in microvessels using computerized frame-by-frame analysis of television images *Microvasc.Res.* 20: 1-8.

Vaisanen,O., Parviainen,I., Ruokonen,E., Hippelainen,M., Berg,E., Hendolin,H., and Takala,J. (1998) Epidural analgesia with bupivacaine does not improve splanchnic tissue perfusion after aortic reconstruction surgery *Br.J.Anaesth.* 81: 893-898.

Vicaut,E., Hou,X., Payen,D., Bousseau,A., and Tedgui,A. (1991) Acute effects of tumor necrosis factor on the microcirculation in rat cremaster muscle *J.Clin.Invest* 87: 1537-1540.

Whitworth,P.W., Cryer,H.M., Garrison,R.N., Baumgarten,T.E., and Harris,P.D. (1989) Hypoperfusion of the intestinal microcirculation without decreased cardiac output during live *Escherichia coli* sepsis in rats *Circ.Shock* 27: 111-122.

Wilson,M.A., Steeb,G.D., and Garrison,R.N. (1993) Endothelins mediate intestinal hypoperfusion during bacteremia *J.Surg.Res.* 55: 168-175.

Yang,S., Koo,D.J., Zhou,M., Chaudry,I.H., and Wang,P. (2000) Gut-derived norepinephrine plays a critical role in producing hepatocellular dysfunction during early sepsis *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol* 279: G1274-G1281.

8. Anhang

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationen

Originalpublikation:

Adolphs,J., Schmidt,D.K., Korsukewitz,I., Kamin,B., Habazettl,H., Schäfer,M., and Welte,M. (2004) Effects of thoracic epidural anaesthesia on intestinal microvascular perfusion in a rodent model of normotensive endotoxaemia. *Intensive Care Med* 30: 2094-2101.

Adolphs,J., Schmidt,D.K., Mousa,S.A., Kamin,B., Korsukewitz,I., Habazettl,H., Schäfer,M., and Welte,M. (2003) Thoracic epidural anesthesia attenuates hemorrhage-induced impairment of intestinal perfusion in rats *Anesthesiology* 99: 685-692.

Poster/Abstracts:

Anästhesietage Berlin Brandenburg Sachsen Sachsen-Anhalt Thüringen (ABBSAT), Leipzig, 19.-20. 9. 2003:

Adolphs J, Schmidt DK, Korsukewitz I, Schäfer M, Habazettl H, Welte M. Einfluss der thorakalen Epiduralanästhesie auf die intestinale mikrovaskuläre Perfusion in der Endotoxinämie.

Jahrestagung der Gesellschaft für Mikrozirkulation und vaskuläre Biologie e.V. (GfMvB), 6.-8.12. 2002, München:

Korsukewitz I, Adolphs J, Kamin B, Mousa SA, Schäfer M, Welte M, Pries AR, Habazettl H Effects of thoracic epidural anesthesia on intestinal capillary perfusion during endotoxemia. *J. Vasc. Res.* 2003; 40:179-208

6. Deutscher Interdisziplinärer Kongress für Intensivmedizin und Notfallmedizin (DIVI), 13.-16.11. 2002, Hamburg:

Adolphs J, Schmidt DK, Korsukewitz I, Mousa SA, Schäfer M, Habazettl H, Welte M. Intestinale mikrovaskuläre Perfusion in der Endotoxinämie - Einfluss der thorakalen Epiduralanästhesie, *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 39, S1: A 249

Annual Meeting American Society of Anesthesiologists, 12.-16.10.2002, Orlando, Florida, USA: Adolphs J, Schmidt DK, Korsukewitz I, Mousa SA, Schäfer M, Habazettl H, Welte M. Thoracic epidural anesthesia prevents intestinal vasoconstriction and perfusion deficits in endotoxemic rats. *Anesthesiology* 2002; 96: A647

Sonstige Beiträge:

Thoracic epidural anesthesia prevents intestinal vasoconstriction and impairment of capillary perfusion in endotoxemic rats. Jahrbuch 2002, Fachbereich Humanmedizin der FU Berlin.

Selbständigkeitserklärung:

„Ich, Ines Thewes, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Bedeutung der Epiduralanästhesie für die mikrovaskuläre Perfusion des Darms bei Endotoxinämie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

Danksagungen:

Zuerst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Helmut Habazettl für die Überlassung des spannenden Themas, die gute Betreuung und seine stete Diskussionsbereitschaft danken.

Desweiteren danke ich meinen direkten Betreuern Dr. med. Jörn Schäper und Dr. med. Diego Schmidt für die gute Betreuung und enge Zusammenarbeit.

Ein besonderer Dank geht an Ursel Hilse, die mit ihrer Unterstützung und ausführlichen Vorbereitung und Betreuung der Versuchstiere zum Gelingen der Versuchsreihen beitrug.