

Bettina Karoline Sabel, geb. Reidenbach

Dr. med.

**Intravitalmikroskopische Beobachtung und Analyse der Mikrozirkulation des terminalen Ileums unter den Bedingungen der Extrakorporalen Zirkulation.
Etablierung eines Großtiermodells**

Geboren am 05.11.1971 in St.Ingbert/Saar

Staatsexamen am 12.05.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. F.-U. Sack

Erst durch die Entwicklung der Herz-Lungen-Maschine und ihre Etablierung als Standardverfahren im klinischen Alltag konnte das Fach der Herzchirurgie in seiner heutigen Komplexität entstehen. Die Indikationen sowie das Altersspektrum konnten immer weiter ausgedehnt werden. Neben dem Segen, den die Entwicklung der Extrakorporalen Zirkulation für die Herzchirurgie bringt, ist ihr Einsatz mit speziellen Risiken für den Organismus aufgrund pathophysiologischer Veränderungen verbunden. Eine herausragende Rolle spielen hier neben einer generellen inflammatorischen Reaktion des Organismus, dem so genannten "Postperfusions-Syndrom", gastrointestinale Komplikationen nach EKZ. Diese sind zwar mit einer geringen Inzidenz beschrieben, jedoch mit einer hohen Mortalität behaftet, die als Folge eines Multiorganversagens angesehen wird.

Es ist bekannt, dass eine gastrointestinale Ischämie als Ursache und Trigger eines Multiorganversagens fungieren kann. Ursächlich wird hier ein mikrovaskulärer Perfusionsschaden des Darmes nach Minderperfusion angesehen.

Unter den unphysiologischen Bedingungen der Extrakorporalen Zirkulation kommt es zu einer veränderten Perfusion des Gastrointestinaltraktes, die als ursächlich für gastrointestinale Komplikationen nach herzchirurgische Eingriffen angesehen wird.

Obwohl die intestinale Perfusion nach EKZ Objekt einer Reihe experimenteller und klinischer Arbeiten ist, bleibt der eigentliche Ort der pathophysiologischen Veränderungen, nämlich die mikrovaskuläre Strombahn, bislang der direkten Beobachtung und quantitativen Analyse unzugänglich. Durch die bislang existierenden indirekten Methoden können direkte Beobachtung, quantitative Analyse und die Aufklärung der Pathogenese der Minderperfusion nicht erfolgen.

Um die pathophysiologischen Veränderungen auf Ebene der Mikrozirkulation des Darmes unter den Bedingungen der EKZ analysieren und so den Perfusionsschaden verstehen zu können, ist eine *in vivo* Beobachtung der Dünndarmmikrozirkulation erforderlich. Die intravitalmikroskopische Untersuchungstechnik zur *in vivo* Beobachtung findet sich in zahlreichen etablierten Kleintiermodellen. Bei diesen Modellen besteht jedoch aufgrund der Größenverhältnisse nicht die Möglichkeit zur Anwendung der EKZ.

In der vorliegenden Arbeit sollte also ein Modell entwickelt werden, das eine direkte, intravitalmikroskopische, *in vivo* Beobachtung und Analyse der Mikrozirkulation des Dünndarmes unter EKZ ermöglicht. Anhand dieses Modelles soll die Frage geklärt werden, ob und inwieweit sich die EKZ auf die mikrovaskuläre Perfusion des Dünndarmes auswirkt. In weiterführenden Studien sollen an diesem Modell Interventionsmöglichkeiten überprüfbar sein.

Läuferschweine mit einem Körpergewicht von 23-26 kg werden nach entsprechender Einleitung und unter Intubationsnarkose an ein umfassendes Kreislaufmonitoring angeschlossen. Katheter in der A. carotis und in der V. jugularis dienen der Druckmessung und als Zugang zur Verabreichung von Medikamenten und Infusionen. Das EKG wird über Stichelektroden abgeleitet. Eine links-anteriore Thorakotomie ermöglicht den Zugang zum Herzen. Das Herz-Zeit-Minutenvolumen wird über einen Flussmesskopf am Pulmonalishauptstamm abgeleitet. Die Anlage des pLHB erfolgt über Kanülierung der A. ascendens als arterieller Schenkel und über das linke Herzohr als venöse Drainage. Die Thorakotomie wird verschlossen, das Tier wird auf einen Kreutztisch eines speziell entwickelten Intravitalmikroskopes in Links-Seitenlage gebracht und fixiert.

Über eine rechte Unterbauchlaparotomie wird jetzt eine ca. 10 cm lange Schlinge des terminalen Ileums vor die Bauchwand ausgelagert, stabilisiert und mit Klarsichtfolie abgedeckt und die Temperatur wird konstant gehalten. So ist eine intravitalmikroskopische

Untersuchung möglich. Mit Hilfe Kontrast verbessernder Maßnahmen werden verschiedene Segmente der Mikrostrombahn hervorgehoben. Es erfolgt dann die intravitalmikroskopische Beobachtung und Aufzeichnung von definierten Arealen. Die Analyse und Auswertung wird mit Hilfe eines speziellen Programms off-line durchgeführt.

Es werden 2 Versuchsgruppen untersucht und verglichen. Gruppe I wird von „sham“ operierten Tieren gebildet und dient als Kontrollgruppe ohne Extrakorporale Zirkulation. In Gruppe II wird der Einfluss der Extrakorporalen Zirkulation erfasst und als standardisierte Perfusion wird ein partieller Linksherzbypass (pLHB) mit einem Fluss von 2000 ml/min über 2 Stunden angelegt.

Nach entsprechender Narkose, Anschluss an Monitoring und chirurgischer Präparation schließt sich eine 30-minütige Stabilisierungsphase an. Dann wird die Ausgangssituation beurteilt und aufgezeichnet, falls die geforderten Kriterien einer intakten Mikrozirkulation erfüllt sind. Neben der Erfassung und Aufzeichnung der makrohämodynamischen Parameter (HZV, arterielle und venöse Blutdrücke, Herzfrequenz) werden Gewebe- und Blutproben asserviert. Parallel erfolgt nach intraarterielle Gabe von FITC markiertem Dextran (MG 150.000) die intravitalmikroskopische Aufzeichnung der Mikrozirkulation. Fluoreszenzmarkierte Microshperes werden zur Messung der Blutzellgeschwindigkeit appliziert. Nach dieser ersten Messung erfolgt in Gruppe II der Anschluss an die Extrakorporale Zirkulation. Zu den definierten Zeitpunkten vor pLHB, nach 1 und 2 Stunden unter pLHB (Gruppe II), und 1 und 2 Stunden nach pLHB(Gruppe II) werden die genannten Parameter erhoben und aufgezeichnet. Bei der Kontrollgruppe finden die Messungen nach der Stabilisierungsphase und dann jeweils nach 1, 2, 3 und 4 Stunden statt.

In beiden Gruppen waren arterielle und venöse Blutdrücke, das HZV, sowie die Körperkerntemperatur über die Versuchsdauer konstant zu halten und zeigten ebenfalls im Vergleich miteinander keine signifikanten Unterschiede. Auch die erfassten Hb- und Hk-Werte blieben in beiden Gruppen im Normbereich.

Unter normothermen Bedingungen und stabilen, physiologischen Kreislaufverhältnissen zeigte sich jedoch in der Gruppe mit pLHB eine signifikante Vasokonstriktion der Arteriolen, die ihre maximale Ausprägung 2 Stunden nach Bypass aufwies.

Resultierend zeigt das abhängige Kapillarbett eine Reduktion der funktionellen Kapillardichte auf Werte von etwa 30 % im Vergleich zum Ausgangswert vor EKZ.

Intravaskuläre Hämokonzentration und „sludge-Phänomene“ können als Folge des pLHB in den postkapillären, submukösen Sammelvenolen beobachtet werden.

Die Extravasation von FITC- Dextran ist Zeichen einer Permeabilitätsstörung der Gefäßwand. Die Blutzellgeschwindigkeit in den gemessenen Gefäßen zeigt sich schon während der Extrakorporalen Perfusion vermindert. Die Ausprägung der Minderperfusion nimmt im Verlauf kontinuierlich zu.

Es wurde ein Großtiermodell entwickelt, das die Beobachtung der Mikrozirkulation des terminalen Ileums unter standardisierten Bedingungen der Extrakorporalen Zirkulation möglich macht. Die gewonnenen Daten können quantitativ ausgewertet werden und in Relation zu den parallel erfassten Parametern der Makrohämodynamik gesetzt werden. In zwei Versuchsgruppen konnte gezeigt werden, dass bereits der Einsatz eines partiellen Linksherzbypasses bei stabiler Makrohämodynamik und Normothermie zu signifikanten Störungen auf der Ebene der Mikrostrombahn des Dünndarmes führt. Diese pathophysiologischen Veränderungen lassen sich bei verschiedenen Elementen der Mikrozirkulation beobachten und quantifizieren. So ist mit Hilfe dieses Modelles die Möglichkeit gegeben, den Einfluss und die Wirksamkeit verschiedener Therapieoptionen zu überprüfen.