

Aus der Klinik für Plastische Chirurgie und Schwerbrandverletzte,
Handchirurgie-Zentrum
der Berufsgenossenschaftlichen Kliniken Bergmannsheil – Universitätsklinik –
der Ruhr-Universität Bochum
Direktor: Prof. Dr. med. H.–U. Steinau

**Die Wirkung und die zugrunde liegenden Wirkmechanismen von
Polihexanid (Lavasept®) auf die Mikrozirkulation des Musculus cremaster
der Ratte:
Über die Beeinflussung der muskulären Mikrozirkulation der Wunde
durch lokale Applikation eines Antiinfektivums**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von
Wibke Stephanie Moll
aus Wuppertal
2003

Abstract

Moll

Wibke S.

Die Wirkung und die zugrunde liegenden Wirkmechanismen von Polihexanid (Lavasept®) auf die Mikrozirkulation des Musculus cremaster der Ratte:

Über die Beeinflussung der muskulären Mikrozirkulation der Wunde durch lokale Applikation eines Antiinfektivums

Problem: Das Antiseptikum Polihexanid (Lavasept® - LS), so konnten Vorversuche zeigen, verbessert die Mikrozirkulation durch Erweiterung der Arteriolen und Zunahme der funktionellen Kapillardichte (FKD). Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der zugrunde liegenden Wirkmechanismen von LS auf die Muskel-Mikrozirkulation.

Methode: Männliche Wistar-Ratten (n=51, 170±g KG) wurden in 4 Gruppen unterteilt. Nach Präparation des M. cremaster erfolgte die Erfassung der Arterioldurchmesser (AD) 1. bis 3. Ordnung und der FKD mittels Durchlicht-Intravitalmikroskopie. Gruppe 1: Denervation und LS, Gruppe 2: Bupivacain und LS, Gruppe 3: Phentolamin und LS, Gruppe 4: Metoprolol und LS.

Ergebnisse: 1. Die Denervation zeigt keinen Einfluss auf die Gefäßweite, die FKD nimmt signifikant ab ($p < 0,05$). 2. Nach LS erfolgt eine Abnahme der AD A_1 bis A_3 , signifikant bei A_1 nach 60 und 120 Minuten und bei A_2 nach 120 Minuten, und eine signifikante Abnahme der FKD in Gruppe 1 ($p < 0,05$). 3. Die AD bleiben nach Bupivacain konstant, die FKD zeigt eine signifikante Abnahme ($p < 0,05$). 4. Nach LS Gabe kommt es nach 120 Minuten bei den AD A_1 und A_2 zu einer signifikanten Abnahme in Gruppe 2. 5. Nach Phentolamin erfolgt tendenziell eine Vasodilatation, die FKD bleibt konstant. 6. LS führt zur signifikanten Abnahme aller AD ($p < 0,05$) und einer nicht signifikanten Abnahme der FKD in Gruppe 3 ($p < 0,05$). 7. Die Applikation von Metoprolol bewirkt eine signifikante Abnahme der AD (bei A_3) und der FKD ($p < 0,05$). 8. Nach LS bleiben die AD A_1 und A_2 konstant, die A_3 -AD sowie die FKD zeigen eine signifikante Abnahme ($p < 0,05$).

Diskussion:

Die Untersuchungen zeigen, daß Lavasept® wahrscheinlich über eine α -Rezeptoren-Blockade zur positiven Veränderung mikrozirkulatorischer Parameter führt. Ob α_{2D} -Rezeptoren von dieser Blockade ausgenommen sind, wie diese Arbeit vermuten läßt, muß durch weitere Untersuchungen mit selektiven Rezeptorantagonisten geklärt werden. Die lokale Anwendung von rezeptormodulierenden Substanzen, sowie von Lokalanästhetika und die Denervation hat keine Verbesserung der Mikrozirkulation zur Folge.

Dekan: Prof. Dr. med. G. Muhr
Referent: Prof. Dr. med. H.-U. Steinau
Koreferentin: Frau Prof. Dr. D. Koesling

Tag der Mündlichen Prüfung: 22.06.2004

Für meine Eltern Christa und Harald

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. Verzeichnis der Abkürzungen..... | 4 |
| 2. Einleitung..... | 6 |
| 2.1 Problemstellung..... | 7 |
| 3. Studiendesign und Methodik..... | 9 |
| 3.1 Versuchsaufbau..... | 9 |
| 3.1.1 Meßapparatur..... | 10 |
| 3.2 Versuchsablauf..... | 11 |
| 3.2.1 Einteilung der Versuchsgruppen..... | 11 |
| 3.2.2 Präparation des M. cremaster..... | 13 |
| 3.2.3 Denervation des M. cremaster..... | 17 |
| 3.2.4 Applikation der Pharmaka..... | 17 |
| 3.2.5 Pharmaka..... | 17 |
| 3.3 Datenerfassung..... | 19 |
| 3.4 Statistische Auswertung..... | 21 |
| 4. Ergebnisse..... | 22 |
| 4.1 Tierbasisdaten..... | 22 |
| 4.2 Wirkungen der Pretreatments auf die Mikrozirkulation des M. cremaster..... | 23 |
| 4.3 Auswirkungen des Pretreatments auf die Lavasept [®] -Wirkung..... | 27 |
| 4.3.1 Wirkung von Lavasept [®] nach vorheriger Denervation..... | 27 |
| 4.3.2 Wirkung von Lavasept [®] nach vorheriger Applikation von Bupivacain..... | 29 |

| | |
|---|-----------|
| 4.3.3 Wirkung von Lavasept® nach Blockade der α -Rezeptoren..... | 31 |
| 4.3.4 Wirkung von Lavasept® nach Blockade der β -Rezeptoren..... | 33 |
| 5. Diskussion..... | 36 |
| 5.1 Diskussion des Versuchsmodells..... | 36 |
| 5.1.1 Anatomie des M. cremaster..... | 37 |
| 5.1.2 Intravitalmikroskopie..... | 39 |
| 5.1.3 Bedeutung des Modells für den klinischen Einsatz..... | 40 |
| 5.2 Lavasept® | 41 |
| 5.2.1 Lavasept® als Antiinfektivum..... | 42 |
| 5.2.2 Die Wirkung von Lavasept® auf die Mikrozirkulation des M. cremaster der Ratte..... | 44 |
| 5.3 Biguanide..... | 47 |
| 5.4 Physiologische Grundlagen der Mikrozirkulation..... | 48 |
| 5.4.1 Innervation der Mikrozirkulation..... | 50 |
| 5.4.2 Gefäßrezeptoren..... | 51 |
| 5.4.2.1 Physiologischer Einfluß der α -Rezeptoren auf die Mikrozirkulation..... | 53 |
| 5.4.2.2. Physiologischer Einfluß der β -Rezeptoren auf die Mikrozirkulation..... | 54 |
| 5.5 Diskussion der Versuchsergebnisse..... | 55 |
| 5.5.1 Denervation..... | 55 |
| 5.5.2 Lokalanästhesie mit Bupivacain..... | 58 |
| 5.5.2.1 α -Rezeptorenblockade..... | 60 |
| 5.5.2.2 β -Rezeptorenblockade..... | 63 |
| 5.6 Schlußfolgerungen..... | 64 |
| 6. Zusammenfassung..... | 65 |
| 7. Literaturverzeichnis..... | 67 |

| | |
|---|-----------|
| 8. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen..... | 78 |
| 9. Anhang..... | 80 |
| 9.1 Aufzeichnungsblatt zur Datenerfassung..... | 80 |
| 10. Danksagung..... | 81 |
| 11. Lebenslauf..... | 82 |

1. Verzeichnis der Abkürzungen

| | |
|----------------|--|
| A ₁ | Arteriole 1.Ordnung |
| A ₂ | Arteriole 2.Ordnung |
| A ₃ | Arteriole 3.Ordnung |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| B | Bupivacain, ein lokales Anästhetikum |
| cAMP | cyklisches Adenosinmonophosphat |
| cGMP | cyklisches Guanosinmonophosphat |
| Cremaster | Musculus cremaster der Wistar-Ratte |
| D | Denervation |
| ET I | Endothelin I |
| EDRF | Endothelium derieved relaxing factor (= NO) |
| FKD | Funktionelle Kapillardichte, Anzahl der perfundierten Kapillaren |
| LS | Lavasept [®] , ein Haut- und Schleimhaut- Antiseptikum |
| M | Metoprolol, ein β_1 - und β_2 -Rezeptorblocker |
| MHK | minimale Hemmkonzentration (in $\mu\text{g/ml}$): experimentell ermittelte Konzentration einer Substanz, die unter definierten Bedingungen gerade in der Lage ist, ein sichtbares Wachstum der Mikroorganismen zu hemmen - Maß für die antibakterielle Wirkung einer Substanz |
| MW | Mittelwert |
| n | Anzahl der Versuchstiere |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| P | Phentolamin, ein α_1 - und α_2 -Rezeptorblocker |
| PG | Prostaglandin |
| PVP-Jod | Polyvinylpyrrolidon-Jod |

| | |
|----------------|---|
| SEM | Standard error of the mean, Standardfehler des Mittelwertes |
| STD | Standardabweichung |
| V ₁ | proximale Venole |
| V ₂ | intermediäre Venole |
| V ₃ | präkapilläre Venole |

2. Einleitung

2.1 Problemstellung

Wunden bilden einen Bestandteil des Lebens, welcher mit Zunahme des Lebensalters einen größeren Stellenwert einnimmt. Daher ist die Behandlung der Wunden eine zentrale und wichtige Aufgabe in der Medizin. Chronische nicht- oder schlecht-heilende Wunden stellen nicht nur für den Patienten ein soziales Problem dar, sie bilden gerade in den entwickelten Ländern ein zunehmendes sozio-ökonomisches Problem. Verschiedene Faktoren, welche die Heilung einer Wunde positiv oder negativ beeinflussen sind bekannt und es existieren unzählige Verbandstoffe, Wundsalben und -lösungen sowie andere extern und intern anzuwendende Mittel, welche eine verbesserte Wundheilung bedingen sollen.

Voraussetzung der modernen Wundbehandlung bildet die Antisepsis, die eine keimarme Wunde erzeugen soll. Dazu stehen zahlreiche Salben und Lösungen zur Verfügung, deren antiseptische Wirkungen genau untersucht und belegt sind.

Daneben ist aber auch die Durchblutung des Wundbettes eine Grundvoraussetzung zur Heilung. Welchen Einfluß die verschiedenen antiseptischen Medikamente auf die Durchblutung haben, ist nicht bekannt. Die bisher durchgeführten Untersuchungen beschränken sich auf Verträglichkeitsprüfungen hinsichtlich des allergenen Potentials der verschiedenen Substanzen, sowie auf in vitro- und tierexperimentelle Studien hinsichtlich der Zytotoxizität.

Durch die direkte Visualisierung der Mikrozirkulation ist es heute möglich, Veränderungen der Gewebedurchblutung zu quantifizieren und so den Einfluß dieser Mittel auf die Mikrozirkulation zu beobachten.

Über selektive Rezeptorblockaden der physiologischen Gefäßweitenregulation lassen sich dann zusätzlich Aussagen zum möglichen Wirkmechanismus einer Gefäßweitenänderung machen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine im Klinikalltag eingesetzte Desinfektionslösung hinsichtlich ihres Einflusses auf die Mikrozirkulation zu untersuchen und potentielle Wirkmechanismen aufzudecken.

Bei der untersuchten Desinfektionslösung handelte es sich um Polihexanid, enthalten in der Anwendungslösung Lavasept®.

Die mikrostatistische und mikrobiozide Wirkung von Lavasept® ist bekannt und es liegen zahlreiche Studien hierzu vor.

Dagegen ist nur wenig über den Einfluß von Lavasept® auf die Mikrozirkulation der Muskulatur bekannt. Da die Mikrozirkulation über den An- und Abtransport bestimmter Stoffe und die Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff ebenfalls einen großen Einfluß auf die Wundheilung ausübt, ist dies eine klinisch relevante Fragestellung.

Polihexanid ist chemisch ein Biguanid. Verschiedene Forschungsgruppen konnten zeigen, daß andere Biguaniden eine Vasodilation herbeiführen. Es liegt somit die Vermutung nahe, daß Lavasept® ähnliche Wirkungen aufweist.

Diese Vermutung konnte in Vorstudien bewiesen werden:

Lavasept® verbessert die Mikrozirkulation des M. cremaster der Ratte über eine Erweiterung der Arterioldurchmesser sowie über eine Zunahme der funktionellen Kapillardichte (Benkovic 2000).

Wie diese Wirkung von Lavasept® hinsichtlich der Mikrozirkulation zustande kommt ist jedoch unklar.

In dieser Studie soll dieser Wirkmechanismus genauer untersucht werden. Auch hierfür boten die Studien über andere Biguanide gute Anhaltspunkte, in denen durch die Blockade verschiedener Gefäßrezeptoren der Mechanismus der gefäßerweiternden Wirkung der Biguanide untersucht wurde.

Als Modell einer offenen, nicht kontaminierten Wunde wurde ein Muskel gewählt, da er im klinischen Alltag sowohl in der Chirurgie als auch in der Verbrennungsmedizin eine erhebliche Rolle spielt. Großflächige Muskelareale kommen nicht nur zur Operationsvorbereitung mit Desinfektionsmitteln in Kontakt: in der Behandlung Brandverletzter ist die langdauernde Behandlung mit Antiinfektiva, z.B. Lavasept®, eine wesentliche Therapiegrundlage.

Hierfür bot der Cremastermuskel der Ratte als Versuchsmodell optimale Bedingungen.

Die Auswirkungen einer Blockade der Gefäßrezeptoren, einer Denervation sowie der Applikation eines Lokalanästhetikums auf die Wirkung von Lavasept[®] wurden so untersucht.

Der gewählte Zeitraum der Untersuchung nach Vorbehandlung des Cremasters in den verschiedenen Gruppen umfaßte 120 Minuten, da in verschiedenen Studien gezeigt werden konnte, daß in dieser Zeit die Hauptveränderungen auftreten (Peter 2002). Weiter konnten wir dadurch sicher sein, daß das jeweilige „Pretreatment“ des Muskels sicher über den gesamten untersuchten Zeitraum wirksam war.

Folgende Fragestellungen sollen durch die vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen bearbeitet werden.

- Spielen Gefäßrezeptoren bei den durch Lavasept[®] hervorgerufenen Veränderungen der Mikrozirkulation eine pathophysiologische Rolle?
- Läßt sich durch lokale Anwendung von rezeptorblockierenden Substanzen die Mikrozirkulation in der Muskulatur verbessern?
- Hat die Denervation einen akuten Einfluß auf die Mikrozirkulation im denervierten Muskelabschnitt?
- Beeinflußt eine Denervation die Wirkung von Lavasept[®] auf die Mikrozirkulation?
- Kann durch Hemmung der postganglionären sympathischen Fasern eine Verbesserung der Mikrozirkulation herbeigeführt werden?
- Führt eine Hemmung der postganglionären sympathischen Fasern zu einer Veränderung der Lavasept[®]-Wirkung?
- Lassen die Ergebnisse Hinweise auf ein optimales Wundbehandlungsmittel zu und verbessern die Ergebnisse die Auswahlkriterien im klinischen Alltag?

3. Studiendesign und Methodik

Die Untersuchungen wurden gemäß der Richtlinien des deutschen Tierschutzgesetzes (§ 8 Abs.1 BGB) nach Erteilung der Genehmigung (Nr. 23.872/3.60) zur Durchführung von Tierversuchen der Bezirksregierung Arnsberg vom 31.03.2001 durchgeführt. Sämtliche Versuche fanden in den Laboratorien für Mikrozirkulationsforschung der Abteilung für Plastische Chirurgie, Haus X (BGFA-Gebäude), der Berufsgenossenschaftlichen Kliniken Bergmannsheil, Universitätsklinik Bochum, statt.

3.1 Versuchsaufbau

Als Versuchstiere wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 140 bis 200g ausgewählt. Bei Ratten dieser Größe ist der Cremastermuskel dünn genug (200-300 μm) für die Intravitalmikroskopie. Des weiteren ist das umgebende Bindegewebe nur gering ausgebildet, so daß die mikroskopische Darstellung der Mikrozirkulation minimal behindert wird.

Nach Eintreffen vom Züchter (Harlan & Winkelmann, Borchon, BRD) wurde den Tieren die Möglichkeit gegeben, sich während der nachfolgenden drei Tage vom Transport zu erholen und an die neue Umgebung zu gewöhnen. Sie wurden bis zu den Versuchen im Tierstall der Berufsgenossenschaftlichen Kliniken Bergmannsheil, Universitätsklinik Bochum, bei simuliertem 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus sowie bei kontrollierter Raumtemperatur von 20°C und Luftfeuchtigkeit von 45-50% in Käfigen gehalten. Sie erhielten freien Zugang zu Wasser und Futter (Standard Diät Haltungsfutter Nr.1324, Altromin GmbH, Lage, BRD).

Vor Versuchsbeginn wurde das Gewicht der Ratte mit Hilfe einer Kleintierwaage (K5T, Mettler, Zürich, Schweiz) ermittelt.

Um zirkardiane Einflüsse auf die Versuche zu vermeiden, begannen die Versuche jeweils um 9.00 Uhr MEZ.

3.1.1 Meßapparatur

Der wesentliche Bestandteil der Meßapparatur ist ein Durchlichtmikroskop, „Intravitalmikroskop“ (Axiotech Vario 100HD, Zeiss, Jena, BRD). Dieses ist über eine Videokamera (ATV-Horn, Modell-Nr. MC-3309, Aalen, BRD) mit einem Videorecorder (Panasonic, Modell AG 7350, Matsushita Electric Industrial Corp., Osaka, Japan) und einem 12" Farbmonitor (Sony, Trinitron Color-Videomonitor, Modell PVM-1453 MD, Köln, BRD) verbunden (Abb. 4). Auf diese Weise kann der Cremaster durchleuchtet und auf dem Monitor sichtbar gemacht werden. So können die Gefäßdurchmesser bestimmt und die Anzahl der funktionsfähigen Kapillaren gezählt werden. Das gewählte Objektiv erzeugte eine 100fache Vergrößerung. Auf dem Monitorbild erschienen die Strukturen durch die Vergrößerung der Videokamera insgesamt 800fach vergrößert (Abb. 1).

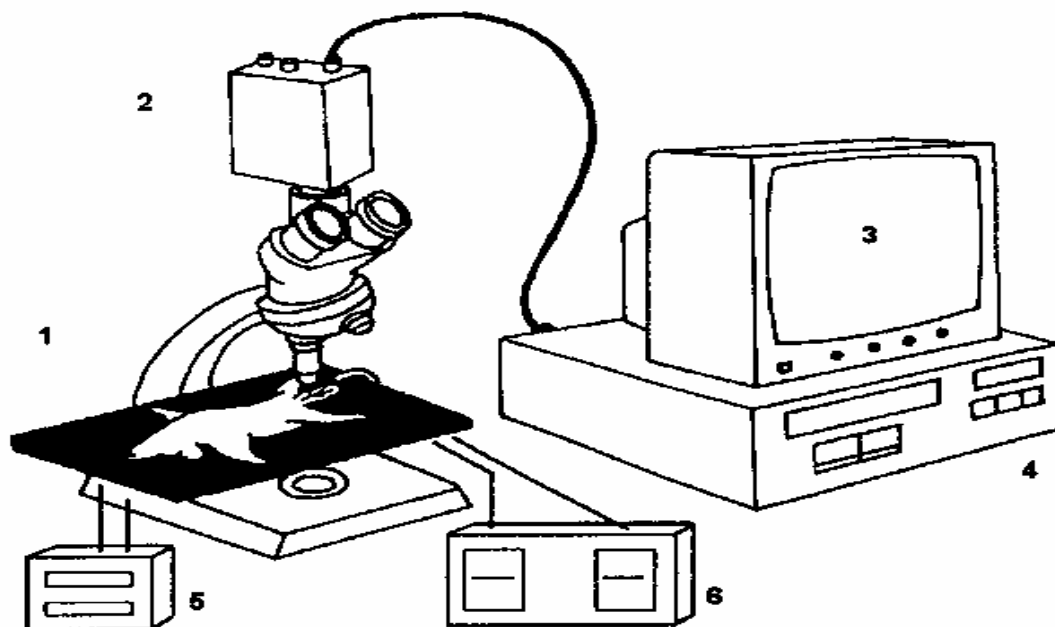


Abbildung 1: Schematische Darstellung der kompletten Meßapparatur: 1. Versuchstier mit präpariertem Cremaster unter dem Meßmikroskop; 2. Videokamera; 3. Monitor; 4. Videorecorder; 5. Temperaturmeßgerät; 6. Blutdruckmeßgerät

3.2 Versuchsablauf

3.2.1 Einteilung der Versuchsgruppen

Die Größe der Versuchsgruppen wurde in Zusammenarbeit mit dem biomedizinischen Institut der Duke University Medical School, Durham, N.C. USA vor Versuchsbeginn als kleinste mögliche Größe gemäß den Anforderungen des Tierschutzgesetzes festgelegt.

Für die Versuchsreihe wurden insgesamt 51 männliche Ratten benötigt. Die Tiere wurden nach dem Zufallsprinzip in 4 Gruppen eingeteilt, wobei eine Gruppe 15 Tiere, die übrigen drei Gruppen je 12 Tiere enthielten.

Der Meßzeitpunkt nach 0 Minuten erscheint in jeder Gruppe und entspricht der Messung der Ausgangswerte nach einer 10 minütigen Stabilisierungsphase nach Präparation des M. cremaster und Positionierung des Versuchstieres unter dem Intravitalmikroskop.

| | |
|-----|---|
| -2h | Tracheotomie, Kanülierung der A. carotis, Cremasterpräparation |
| 0h | Beginn der Intravitalmikroskopie über insgesamt 3h mit stündlich gewonnenen Meßwerten |
| 1h | Messung nach Pretreatment (Gruppe 1 bis 4) des M. cremaster |
| 2h | 1. Messung nach Lavasept [®] -Gabe |
| 3h | 2. Messung nach Lavasept [®] -Gabe |

Die Gruppen gliederten sich wie folgt:

15 Tiere bildeten die „Denervation und Lavasept[®]“-Gruppe, in der die erste Messung eine Stunde nach der Denervation stattfand. Nach der Denervations-Messung wurde bei 9 Tieren Lavasept[®] auf den Cremaster aufgebracht. Die übrigen 6 Tiere wurden im Rahmen einer anderen Studie weiter untersucht. Nach Lavasept[®]-Applikation erfolgte nach 60 Minuten und nach 120 Minuten je eine weitere Messung (Tab. 1).

Um Aussagen über die Auswirkungen einer Denervation machen zu können, wurde diese Gruppe mit 15 Tiere bewußt größer gewählt, da im Vergleich zu den anderen Gruppen durch die diffizile Präparationstechnik eine größere Streubreite zu erwarten ist.

Tabelle 1: Gruppeneinteilung Denervation und Lavasept[®] (LS)

| Gruppe | Denervation und LS |
|---------------|--|
| Meßzeitpunkte | 0 min <i>Denervation</i> 60 min nach Denervation <i>Applikation von Lavasept[®]</i> 60 min nach Lavasept [®] 120 min nach Lavasept [®] |

Je 12 Tiere bildeten die Gruppen 2 bis 4, in denen der Einfluß von Bupivacain, einem Lokalanästhetikum, Phentolamin, einem α -Rezeptor-Blocker und Metoprolol, einem β -Rezeptor-Blocker, auf die Mikrozirkulation untersucht wurde.

In der zweiten Gruppe wurde der Cremaster zuerst mit Bupivacain behandelt. Es erfolgte eine Messung nach 60 Minuten. Dann wurde das Bupivacain mit Hilfe von physiologischer Kochsalzlösung abgespült und bei 6 Tieren Lavasept[®] auf den Muskel aufgebracht. Die übrigen 6 Tiere dienten wieder einer anderen Studie. Die Wirkungen von Lavasept[®] nach dem Pretreatment des Muskels mit Bupivacain wurden dann nach 60 und 120 Minuten bestimmt (Tab. 2).

In der dritten und vierten Gruppe wurden Metoprolol beziehungsweise Phentolamin anstatt Bupivacain verwandt. Die Meßzeitpunkte und Gruppengrößen änderten sich nicht.

Tabelle 2: Gruppeneinteilung Bupivacain (B) und Lavasept® (LS), Phentolamin (P) und LS, Metoprolol (M) und LS

| Gruppe | Bupivacain | Phentolamin | Metoprolol |
|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Meßzeitpunkte | 0 min | 0 min | 0 min |
| | <i>Applikation von B</i> | <i>Applikation von P</i> | <i>Applikation von M</i> |
| | 60 min nach B | 60 min nach P | 60 min nach M |
| | <i>Applikation von LS</i> | <i>Applikation von LS</i> | <i>Applikation von LS</i> |
| | 60 min nach LS | 60 min nach LS | 60 min nach LS |
| | 120 min nach LS | 120 min nach LS | 120 min nach LS |

3.2.2 Präparation des M. cremaster

Die Tiere wurden zuerst mit einer intraperitonealen Injektion Pentobarbital-Natrium (50mg/kg Körpergewicht; Narcoren®; Merial GmbH, Hallbergmoos, BRD) betäubt. Zusätzliche Anästhetika waren nicht erforderlich. Es wurde jedoch darauf geachtet, daß die Narkosetiefe durch stündliche Injektionen eines Drittels der Ursprungsdosis erhalten wurde (Acland 1989a).

Die Ratte wurde dann zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur mit dem Rücken auf eine Wärmematte (Watlow Corp., St.Louis, MO, USA) gelegt.

Nach Rasur des Halsbereiches folgte die Präparation der rechten Arteria carotis und die Platzierung einer intraarteriellen Blutdruckmeßsonde der Stärke PE50 (Carotis-Kunststoffkatheter, Becton Dickson, Intramedic® Polyethylene Tubing, Parippany, NY, USA). Mit Hilfe eines Blutdruckmeßgerätes (Pressure Monitor BP-1, World Precision Instruments, Berlin, BRD) konnte so kontinuierlich der arterielle Blutdruck überwacht werden. Über diesen Katheter konnte auch bei Bedarf eine Flüssigkeitssubstitution mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgen. Im Folgenden wurde eine Tracheotomie durchgeführt und ein Tubus (Venofix®, Luer Lock 21G, 0,8 x 2,0 mm, Braun AG, Melsungen, BRD) in der Trachea plaziert, um eine Verlegung der Atemwege zu verhindern.

Nachdem diese Schritte zur Überwachung und Gewährleistung der Vitalfunktionen der Ratte durchgeführt wurden, erfolgte nun die Präparation des

Cremasters. Nach Fixation der Hinterläufe mit Klebeband wurde dazu der Bereich des rechten Skrotums rasiert und lose Haare wurden sorgfältig entfernt. Danach erfolgte ein vertikaler Hautschnitt von der Spitze bis zur Basis des Skrotums und der Hoden wurde vorsichtig aus dem Skrotum gelöst. Diese und die folgenden Schritte wurden unter Zuhilfenahme eines Operationsmikroskops (Carl Zeiss Jena GmbH, Stemi2000-C, Jena, BRD; Kaltlichtquelle: Schott Mainz Glaswerke GmbH, KL 150 B, 15V, 150W, Mainz, BRD) mit mikrochirurgischen Instrumenten (S&T, Schweiz) durchgeführt.

Als nächster Schritt wurde ein Haltefaden (5-0 Prolene, Ethicon[®], Norderstedt, BRD) am distalen Ende des Cremasters platziert. Danach wurde der Cremaster in mikrochirurgischer Technik vorsichtig von seinem umschließenden Faszien- und Bindegewebe befreit. In diesem Stadium der Präparation sind bereits die zentralen Gefäße des Cremasters gut zu erkennen. Nun wurde der Cremaster genau auf der gegenüberliegenden Seite der Zentralgefäße eröffnet. Er ist durch das Lig. mesorchium mit dem Hoden verbunden. Nach Durchtrennen desselben konnte der Cremaster vorsichtig vom Hoden gelöst werden. Die Arteria und Vena spermatica sowie der Samenstrang wurden ligiert und anschließend durchtrennt. Der Hoden wurde somit entfernt. Der Cremaster wurde nun mit vier weiteren Fäden (5-0 Prolene; Ethicon[®], Norderstedt, BRD) aufgespannt und von eventuell noch vorhandenen Bindegewebsschichten befreit (Abb. 2).

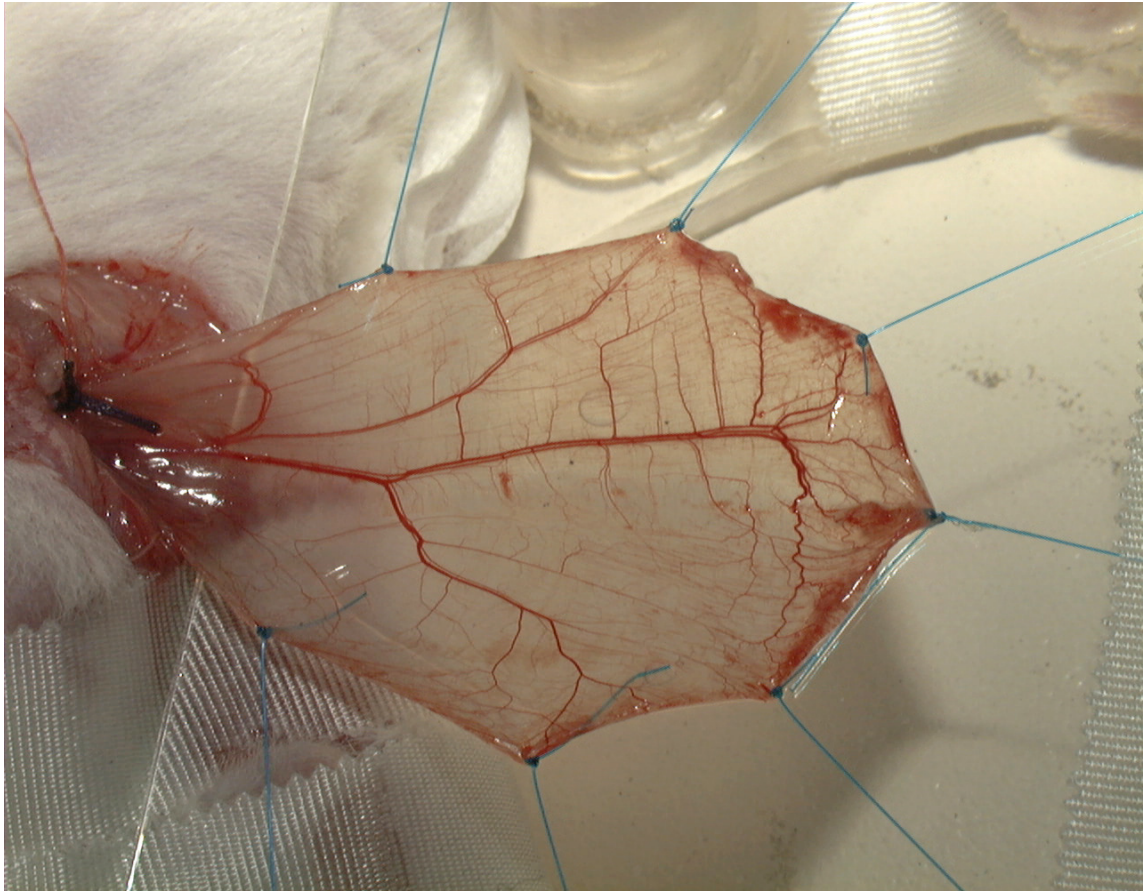


Abbildung 2: Präparierter, entfalteter und an seinem Gefäßstiel isolierter M. cremaster

Danach wurde das Tier mitsamt der Wärmematte auf einer speziell gefertigten Plexiglasunterlage fixiert. Kopf und Rumpf des Tieres lagen auf dem flachen oberen Teil der Halterung, die Hinterläufe werden um eine darunter eingelassene runde Aussparung festgeklebt. Auf dieser befand sich ein Objektträger, auf dem der Cremaster ausgebreitet und mit den Haltefäden aufgespannt werden konnte. Der Gefäßstiel durfte dabei nicht abgeknickt oder überspannt werden.

Um ein Austrocknen zu vermeiden, wurde der Cremaster über den ganzen Zeitraum hinweg mit einer Folie (Dow Brands, Saran Wrap, Indianapolis, IN, USA) bedeckt.

In ihren Arbeiten gelang es Baez und Barker zu zeigen, daß durch diese Technik der Cremasterpräparation der Blutstrom nicht beeinflusst wird und über einen Zeitraum von mehr als zwei Stunden konstant bleibt (Baez 1973; Barker 1992).

Zwei Sonden, die mit einem Temperaturmeßgerät (Atkins Mechanical Inc., Model # 39658T, Gainesville, FL, USA) verbunden waren, registrierten die Körperkerntemperatur und die Temperatur unter dem Cremaster. Die Körperkerntemperatur, die über eine im Magen der Ratte liegende Sonde gemessen wurde, wurde während der gesamten Dauer der Versuche zwischen 34,5 und 37,5°C gehalten. Die Temperatur unter dem Cremaster betrug 31 °C bis 35 °C.

Die Ratte wurde dann unter das Intravitalmikroskop gelegt und die Messungen entsprechend der jeweiligen Gruppeneinteilung konnten nach einer Stabilisierungsphase von 10 Minuten erfolgen (Abb. 3).

Nach Beendigung der Versuche erfolgte eine Euthanisierung der Tiere mit einer intraarteriellen Überdosis Pentobarbital.

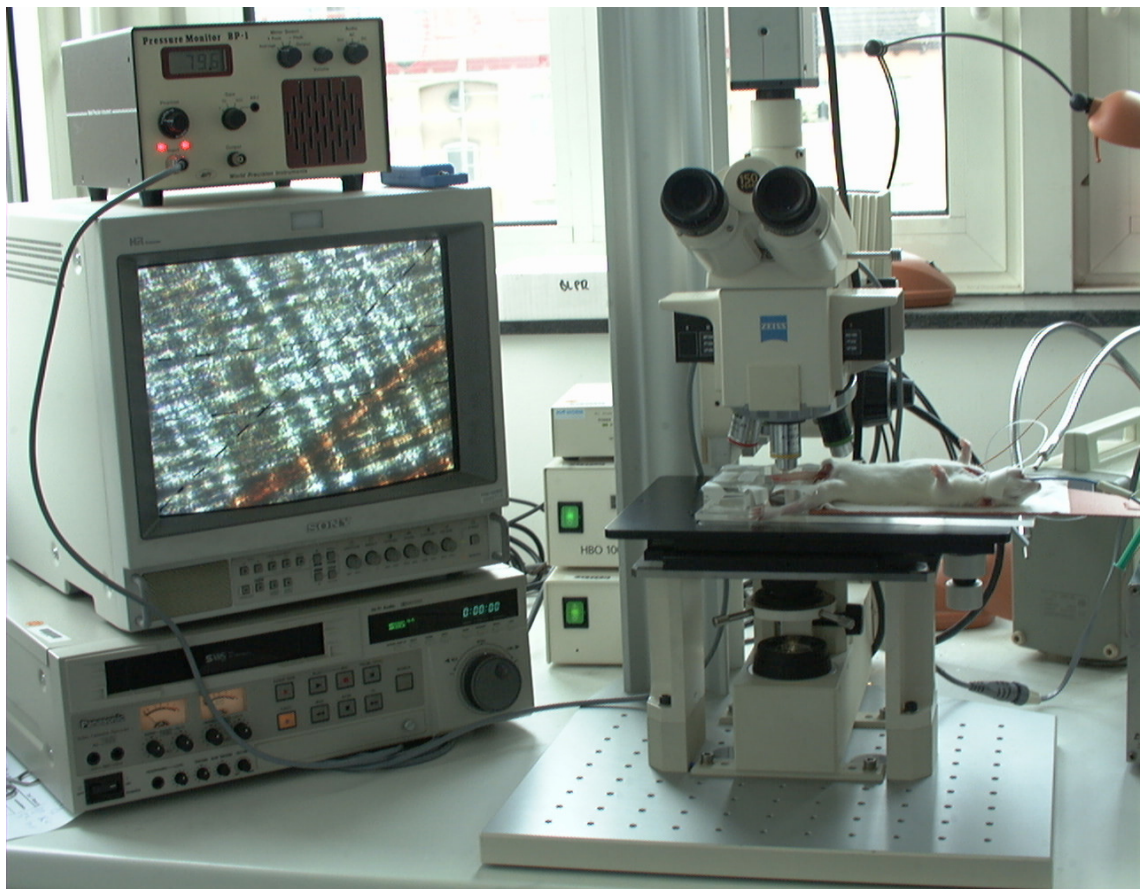


Abbildung 3: Versuchstier mit präpariertem und aufgespanntem M. cremaster unter dem Intravitalmikroskop mit sämtlichen Meßapparaturen (Durchlichtmikroskop, Videokamera, Videorecorder, Monitor mit A₂-Arteriole, Blutdruck- und Temperaturmeßgerät).

3.2.3 Denervation des Musculus cremaster

Zur Denervation wurde die Ratte in den entsprechenden Gruppen nach der 0-Minuten-Messung erneut unter dem Operationsmikroskop plaziert. Dann wurde in mikrochirurgischer Technik der Cremaster sorgfältig von beiden Seiten bis zu der zentralen Arterie und Vene durchtrennt. Es wurde auch jegliches Muskelgewebe ober- und unterhalb der Gefäße entfernt und die Adventitia der Gefäße entfernt. So wurde gewährleistet, daß alle Nervenfasern durchtrennt wurden.

Der Versuch wurde dann unter dem Intravitalmikroskop fortgesetzt.

3.2.4 Applikation der Pharmaka

Alle Pharmaka wurden jeweils in einer Menge von 3 ml mit Hilfe einer Spritze vorsichtig auf den Cremastermuskel aufgetropft, um eine Irritation des Muskels zu vermeiden. Die gewählte Menge garantierte eine vollständige Benetzung des Muskels.

Nach einer definierten Einwirkzeit von 30 Minuten wurden Bupivacain, Metoprolol und Phentolamin mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung abgespült und zu dem definierten Zeitpunkt nach einer Stunde die erste Messung durchgeführt. Dann wurden 3 ml Lavasept[®]-Lösung aufgetragen.

Um Verdunstung zu vermeiden, wurde der Cremaster immer - außer zum Aufbringen der Pharmaka und zum Spülen - mit einer Folie (Dow Brands, Saran Wrap, Indianapolis, IN, USA) bedeckt.

3.2.5 Pharmaka

Bupivacain

Bupivacain-Hydrochlorid ist ein langwirksames Lokalanästhetikum vom Aminoamid-Typ. Es ist bei gleicher Konzentration viermal stärker lokalanästhetisch wirksam als Lidocain oder Articain (Knoll 1991).

Das Pharmakon wird für Infiltrationsanästhesien (0,125-0,25%ige Lösungen), Leitungsanästhesien (0,5%), Epiduralanästhesien (0,25-0,75%) und Spinalanästhesien (0,5%) eingesetzt (Dahmen und Müller 1997).

Der Wirkeintritt erfolgt nach 10 Minuten und die Wirkdauer liegt zwischen 3 bis 10 Stunden (Concepcion 1984).

In dieser Arbeit wurden 3ml 0,5%iges Bupivacain pro Versuch verwandt (Carbostesin 0,5%, Astra, Wedel, BRD). Das entspricht 15mg Bupivacain-Hydrochlorid.

Metoprolol

Metoprolol ist ein β -Rezeptorenblocker. In Beloc[®] ist es als Metoprololtatrat vorhanden (Astra, Wedel, BRD). Es wirkt auf β_1 - und in höheren Konzentrationen auch auf β_2 -Rezeptoren. Durch die Applikation von 3 mg Metoprololtatrat pro Versuch wurde die Blockade von β_1 - und β_2 -Rezeptoren gewährleistet.

Die Halbwertszeit von Metoprolol beträgt 3 bis 4 Stunden, die Wirkdauer hingegen 7 bis 8 Stunden. Aktive Metabolite entstehen beim Abbau nicht.

Phentolamin

Phentolamin, ein α -Rezeptorenblocker, wirkt auf α_1 - und α_2 -Rezeptoren. Es besteht eine Halbwertszeit von 0,5 bis 0,75 Stunden und eine Wirkdauer von 3 bis 6 Stunden. Es wurde in einer Dosierung von 20mg/ml lokal auf den Muskel aufgebracht (Phentolamin, Sigma Chemicals, Seelze, BRD). Diese Form der Applikation hat sich in anderen Versuchen als suffiziente Form der Rezeptorenblockade erwiesen und stellt ein etabliertes Verfahren dar (Leech 1996, Sakanashi 1979).

Durch die Auswahl dieser Pharmaka wurde eine über den gesamten Meßzeitraum anhaltende Wirkung gewährleistet.

3.3 Datenerfassung

Monitoring des Versuchstieres:

Zu jedem Zeitpunkt einer Messung wurden der arterielle systemische Druck (A. carotis), die Körperkerntemperatur und die unter dem Cremaster herrschende Temperatur notiert.

Als Normwerte wurden angesehen:

- Arterieller systemischer Druck: 80 – 120 mm Hg
- Körperkerntemperatur: 34.5 – 37.5 °C
- Temperatur unter dem Cremaster: 31.0 – 35.0 °C

Diese Werte wurden festgelegt, um bei jeder Untersuchung identisch reproduzierbare Voraussetzungen zu schaffen.

Wurden diese Normwerte unkorrigierbar über- bzw. unterschritten erfolgte der Ausschluß des Tieres aus der Versuchsreihe.

Meßparameter:

An Meßgrößen wurden die Arterioldurchmesser von A₁, A₂ und A₃ und die funktionelle Kapillardichte bestimmt (Abb. 4).

Die Messungen erfolgten direkt am Monitor mit Hilfe eines Lineals an der Außenseite der Gefäße.

Zum Wiederauffinden des Kapillargebietes und der Arteriolenabgänge zu den verschiedenen Meßzeitpunkten wurde in 10facher Vergrößerung eine genaue Skizze des Gefäßverlaufes angefertigt und die Stellen der Arteriolenabgänge sowie des Kapillargebietes markiert.

Alle Werte wurden in ein standardisiertes Versuchsprotokoll (siehe Anhang) aufgenommen.

Arterioldurchmesser:

Im Cremaster befinden sich drei verschiedene Arteriolen-Gruppen (Meininger 1987; Acland 1989b).

- Arteriole 1. Ordnung (A₁): Sie entspricht dem zentralen Stammgefäß des Muskels und mißt 80 – 120 µm (proximale Arteriole);

- Arteriolen 2. Ordnung (A_2): Sie zweigen von den Stammgefäßen ab und haben einen Durchmesser von 40 – 80 μm (intermediäre Arteriole);
- Arteriolen 3. Ordnung (A_3): Sie zweigen von den A_2 -Arteriolen ab und versorgen das Kapillarbett. Ihr Durchmesser beträgt 20 – 40 μm (präkapilläre Arteriole).

Gemessen wurde der äußere Durchmesser je eines A_1 -, A_2 - und A_3 - Gefäßes zu den oben definierten Zeitpunkten in Zentimeter vom Monitor. Später wurden die Werte in μm umgerechnet. Ein Zentimeter auf dem Monitor entspricht 12,5 μm in Realität am Tier.

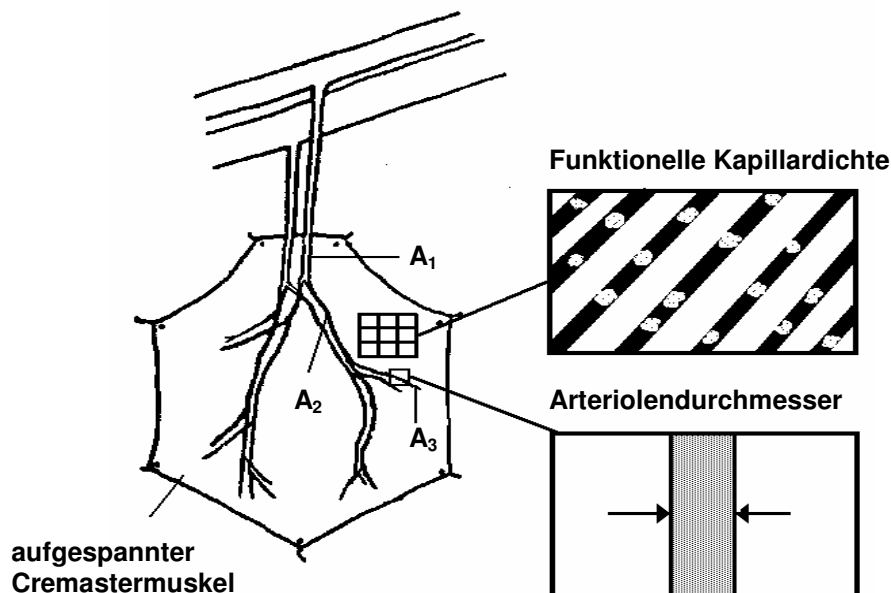


Abbildung 4: Erfasste Parameter der Untersuchung der Mikrozirkulation. Oben: Funktionelle Kapillardichte mit neun Gesichtsfeldern. Unten: Durchmesser der Arteriolen (hier am Beispiel der A_3 -Arteriole).

Kapillardichte:

Die funktionelle Kapillardichte ist definiert als die Anzahl der perfundierten Kapillaren. Um sie zu ermitteln, wurde eine Stelle im Grenzbereich zu größeren Venolen ausgewählt, die eine gute Kapillarperfusion aufwies sowie ein scharfes Bild auf dem Monitor lieferte. An dieser Stelle wurde jeweils die Anzahl der perfundierten - d.h. auf dem Monitor sichtbaren Kapillaren - über 3 x 3 Feldern gezählt. Jedes Feld entsprach einem Monitorbild und hatte eine Größe von 0,22

mm² (0,55 x 0,4 mm). Zur weiteren Auswertung wurden die Mittelwerte aus den Werten der jeweils neun Felder gebildet.

Sämtliche Messungen wurden mittels Videoband aufgezeichnet, um eine nachträgliche Auswertung zu gewährleisten.

3.4 Statistische Auswertung

Nach der Operation und Erfassung der Meßwerte der Tiere aller Gruppen erfolgte die statistische Auswertung nach Beratung durch Frau Hüsing und Herrn Holland-Letz durch das Institut für biomedizinische Statistik der Ruhr-Universität Bochum (Prof. Dr. Trampisch) mit Hilfe des Programmes StatView (StatView 5.0, SAS Institute, Cary, NC, USA).

Von den verschiedenen Meßwerten pro Gruppe und pro Meßzeitpunkt wurde jeweils der Mittelwert (MW), die Standardabweichung (STD) und der Standardfehler (standard error of the mean, SEM) des Mittelwertes bestimmt. Zur Erfassung der Unterschiede der Gefäßdurchmesser wurde nach Prüfung der Normalverteilung der einzelnen Gruppen ein ungepaarter t-Test durchgeführt. Dieser diente zum Vergleich der Ergebnisse in den Versuchsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe. Bei Abweichungen zum Zeitpunkt 0 min innerhalb der einzelnen Gruppen, erfolgte dann der ungepaarte t-Test innerhalb der Gruppe, d.h. die einzelnen Meßergebnisse wurden gegen den Ausgangswert (0 min) verglichen, um Änderungen während des Versuchsablaufes zu erfassen.

Die Ergebnisse der Bestimmung der funktionellen Kapillardichte wurden ebenfalls mit dem ungepaarten t-Test statistisch verglichen, hierbei wurden die Mittelwerte der 9 ausgezählten Gesichtsfelder als Meßpunkt gewählt. Abweichungen in den Messungen zum Zeitpunkt 0 Minuten wurden ebenfalls durch einen ungepaarten t-Test innerhalb der Gruppe untersucht.

Bei den Berechnungen wurden Unterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen als signifikant angesehen, wenn die Nullhypothese mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner 5% vorlag ($p < 0,05$).

4. Ergebnisse

Bei der Auswertung der Ergebnisse sollen zuerst die Tierbasisdaten wie Körpergewicht, Blutdruck, und Temperaturen beschrieben werden.

Danach werden die Folgen der verschiedenen Pretreatments auf die Mikrozirkulation des Muskels besprochen. Im dritten Teil wird dann auf die Auswirkungen der Pretreatments auf die Wirkung von Lavasept[®] eingegangen.

4.1 Tierbasisdaten

Es wurden insgesamt 51 männliche Wistar-Ratten, die auf 4 Gruppen randomisiert aufgeteilt wurden, untersucht. Dabei enthielt eine Gruppe (Denervation) 15 Tiere, die restlichen drei Gruppen (Bupivacain, Phentolamin, Metoprolol) je 12 Tiere. Nachfolgend wurde nach der Denervation bei 9 Tieren und in den anderen Gruppen bei je 6 Tieren Lavasept[®] appliziert. Die übrigen Tiere dienten einer anderen Studie.

Die Versuchstiere wogen im Mittel 166g. Bei den Blutdruckwerten, der Körperkerntemperatur sowie der Temperatur unter dem Cremaster wurden die im Kapitel Studiendesign und Methodik aufgestellten Grenzwerte (Gewicht 140-200g, RR 80-120mm Hg, T-gastral 34,5-37,5°C, T-cremaster 31-35°C) immer eingehalten, ansonsten erfolgte der Ausschluß des Tieres aus der Versuchsreihe.

Der Blutdruck lag im Mittel bei 96mm Hg. Der Mittelwert der Körperkerntemperatur betrug 35,4°C, der Mittelwert der Temperatur unter dem Cremaster lag mit 34,1°C niedriger.

4.2 Wirkungen der Pretreatments auf die Mikrozirkulation des M. cremaster

Denervation

Die Denervation bewirkt keine Änderung der Arterioldurchmesser A₁ bis A₃ (Abb. 5).

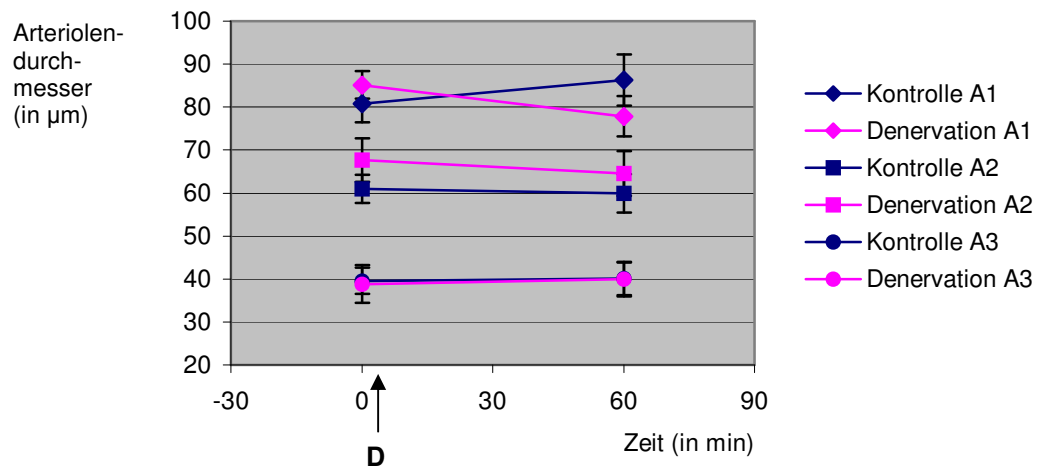


Abb. 5: Arterioldurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Denervation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n=15, **D** = Denervation

Die funktionelle Kapillardichte zeigte hingegen eine signifikante Abnahme $p < 0,05$ (Abb. 9).

Applikation von Bupivacain

Die Applikation von Bupivacain auf den Muskel bewirkt eine ähnliche Veränderungen der Mikrozirkulation wie die Denervation. Bei den Arterioldurchmessern konnten keine Veränderungen beobachtet werden (Abb. 6).

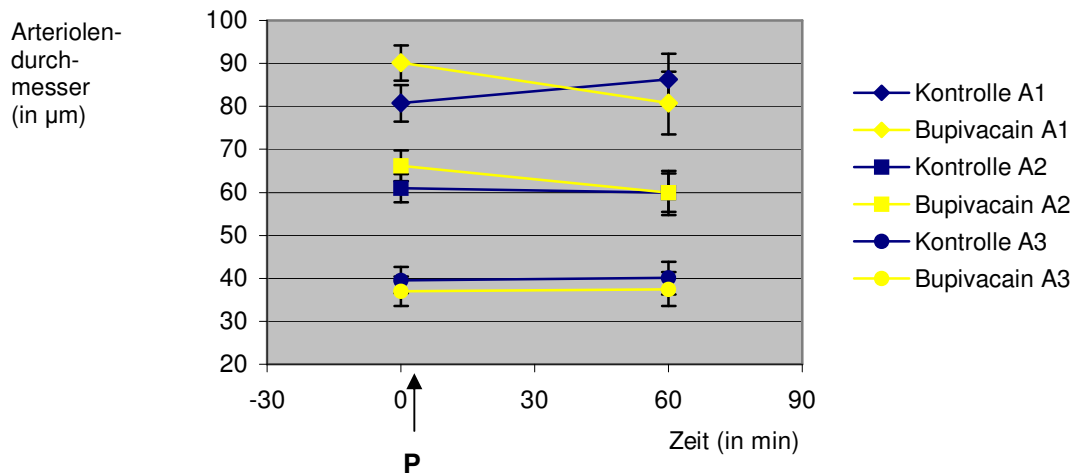


Abb. 6: Arteriolen-durchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Bupivacain-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n=12, **B** = Bupivacain-Applikation

Die funktionelle Kapillardichte zeigte eine signifikante Abnahme gegenüber dem Ausgangswert, die ausgeprägter war als nach Denervation (Abb. 9).

Blockade der α -Rezeptoren

Die Blockade der α_1 - und α_2 -Rezeptoren durch lokale Gabe von Phentolamin zeigt nach einer Stunde keine signifikanten Veränderungen der Arteriolen-durchmesser 1. bis 3. Ordnung. Tendenziell konnte aber eine Zunahme der Gefäß-durchmesser beobachtet werden (Abb. 7).

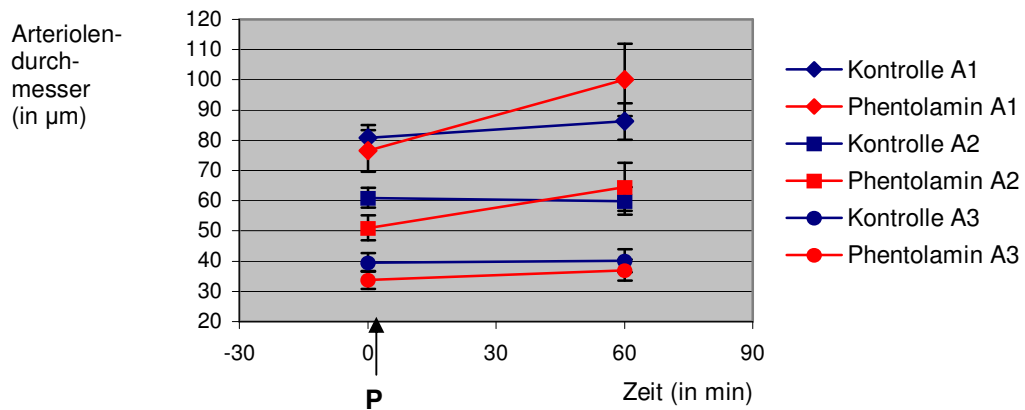


Abb. 7: Arterioldurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Phentolamin-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n=12, **P** = Phentolamin-Applikation

Die funktionelle Kapillardichte zeigte keine Änderung (Abb. 9).

Blockade der β -Rezeptoren

Die Gabe von Metoprolol in β_1 - und β_2 - Rezeptor blockierender Dosierung bewirkte eine Abnahme der Arterioldurchmesser. Bei den Arteriole 3. Ordnung war diese Abnahme signifikant (Abb. 8).

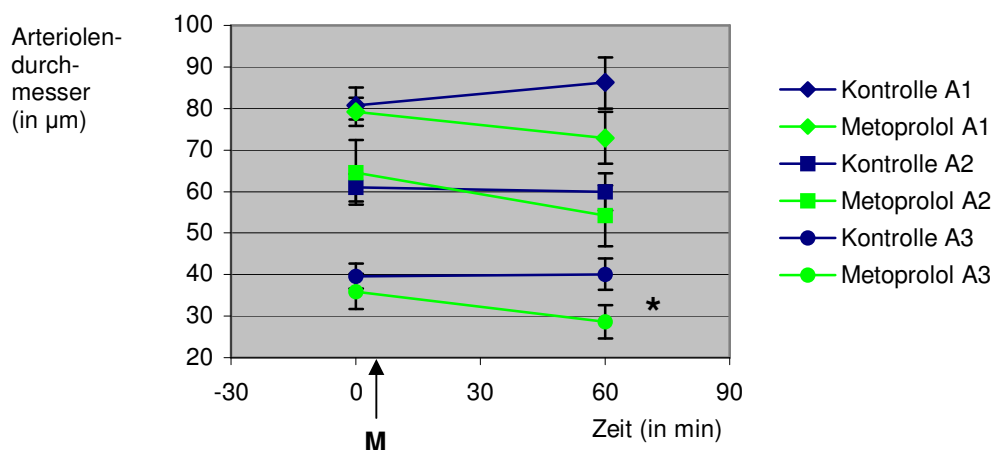


Abb. 8: Arterioldurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Metoprolol-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n=12, **M** = Metoprolol-Applikation (p<0,05 bei *)

Es kam ebenfalls zu einer signifikanten Abnahme ($p < 0,05$) der funktionellen Kapillardichte gegenüber des Ausgangswertes (Abb. 9).

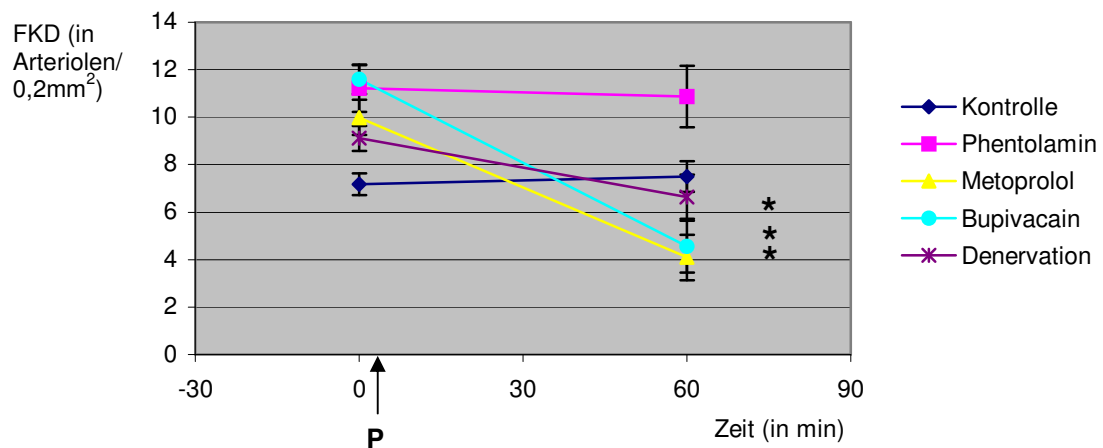


Abb. 9: Änderungen der funktionellen Kapillardichte (FKD) nach Phentolamin-, Metoprolol- und Bupivacain-Applikation sowie nach Denervation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, **P** = Pretreatment ($p < 0,05$ bei *)

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Blockade der α_1 - und α_2 -Rezeptoren führt zu einer Zunahme der Arterioldurchmesser ohne die FKD zu beeinflussen.

Die Gabe von β -Blockern führt zu einer signifikanten Abnahme der Gefäßdurchmesser (A_3) und der FKD.

Denervation und Applikation von Bupivacain bewirken keine Änderung der Arterioldurchmesser, verringern jedoch signifikant die FKD.

4.3 Auswirkungen des Pretreatments auf die Lavasept®-Wirkung

4.3.1 Wirkung von Lavasept® nach vorheriger Denervation

Am denervierten M. cremaster bewirkt Lavasept® eine signifikante Verringerung der Durchmesser der A₂-Arteriolen nach 120 Minuten. Bei den A₁-Arteriolen zeigte sich eine signifikante Abnahme über den gesamten Beobachtungszeitraum. Die Arteriolen 3. Ordnung zeigten keine Veränderung (Abb. 10, 11 und 12).

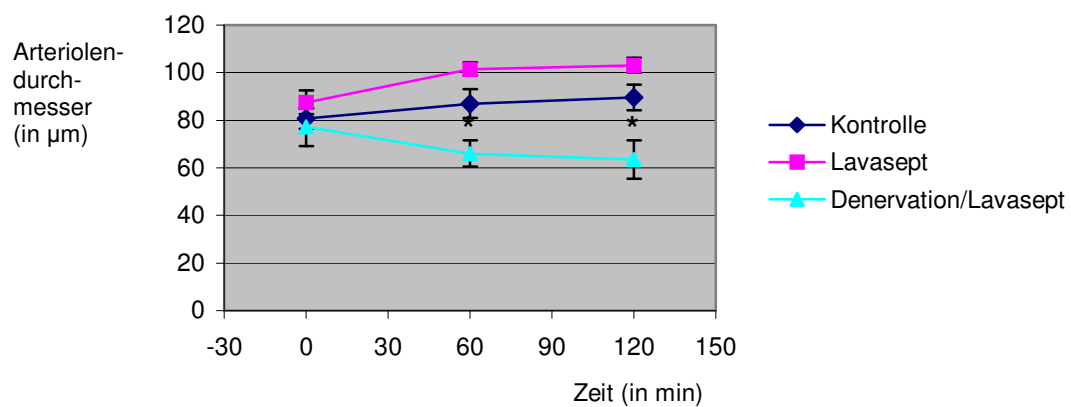


Abb. 10: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Denervation und Lavasept®-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept®-Gruppe, n = 9 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)

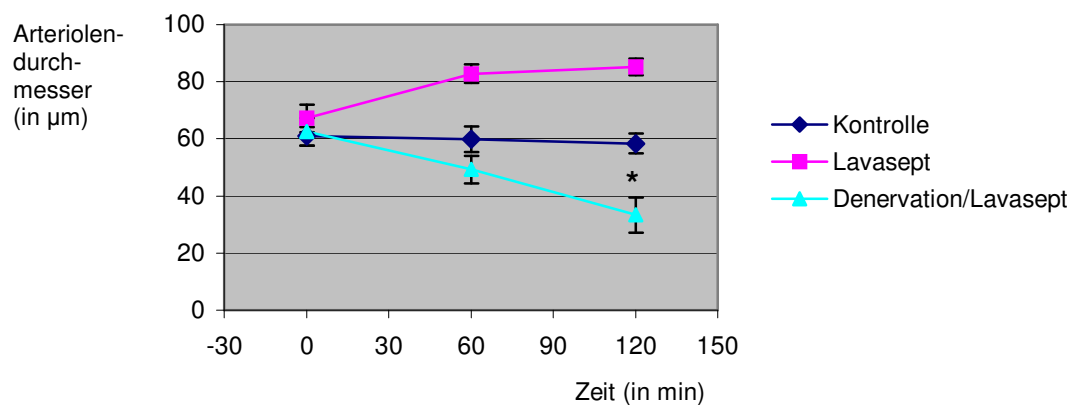


Abb. 11: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Denervation und Lavasept®-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept®-Gruppe, n = 9 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)

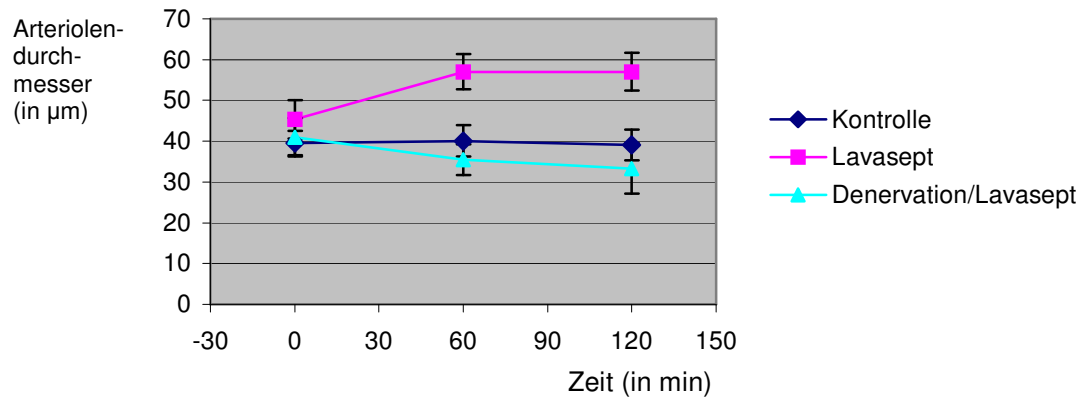


Abb. 12: Arteriolen-durchmesser 3. Ordnung nach Denervation und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 9

Die funktionelle Kapillardichte fiel zunächst signifikant nach einer Stunde ab, stieg aber im Verlauf der zweiten Stunde wieder an und erreichte fast die Höhe des Ausgangswertes (Abb. 13).

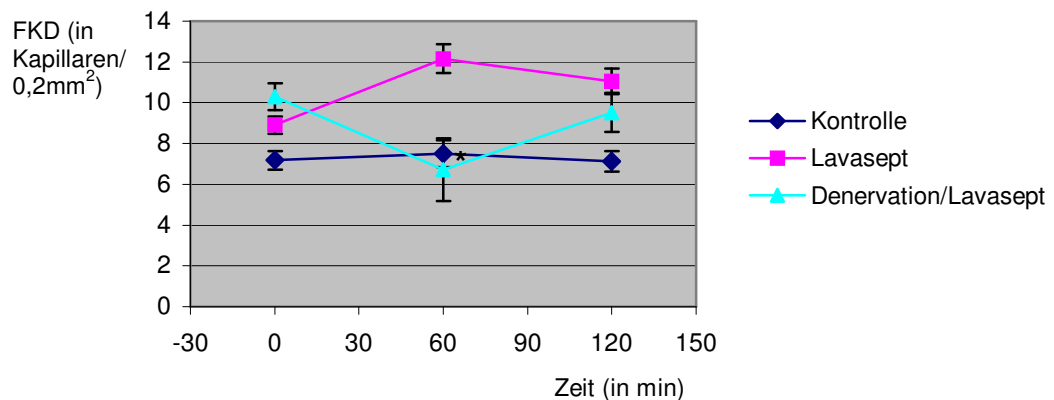


Abb. 13: Funktionelle Kapillardichte nach Denervation und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 9 (p < 0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)

4.3.2 Wirkung von Lavasept[®] nach vorheriger Applikation von Bupivacain

Nach vorheriger Applikation von Bupivacain kam es 120 Minuten nach Lavasept[®]-Applikation zu einer signifikanten Abnahme der Arterioldurchmesser erster und zweiter Ordnung (Abb. 14, 15 und 16).

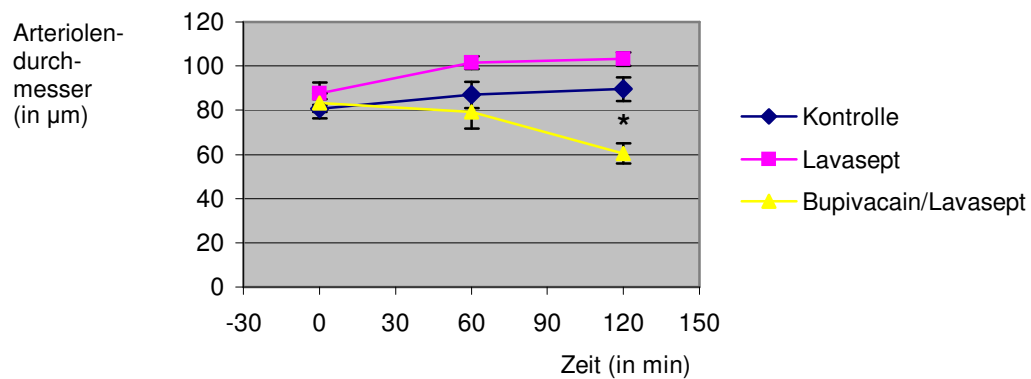


Abb. 14: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Bupivacain- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)

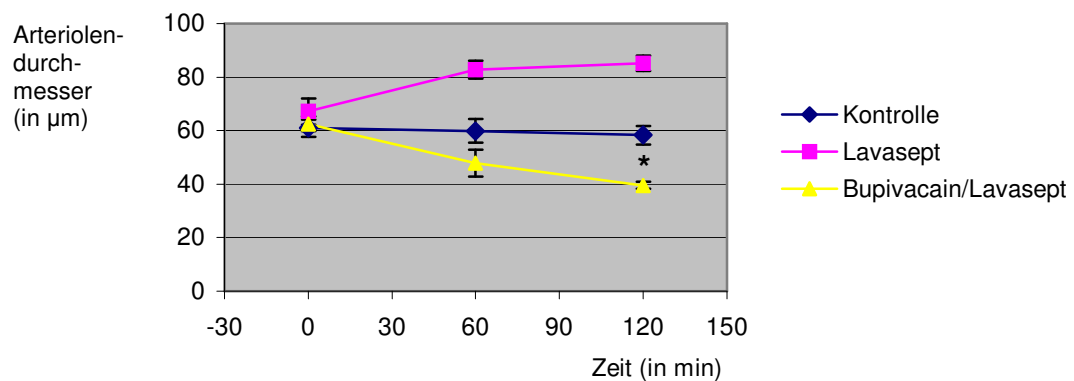


Abb. 15: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Bupivacain- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)

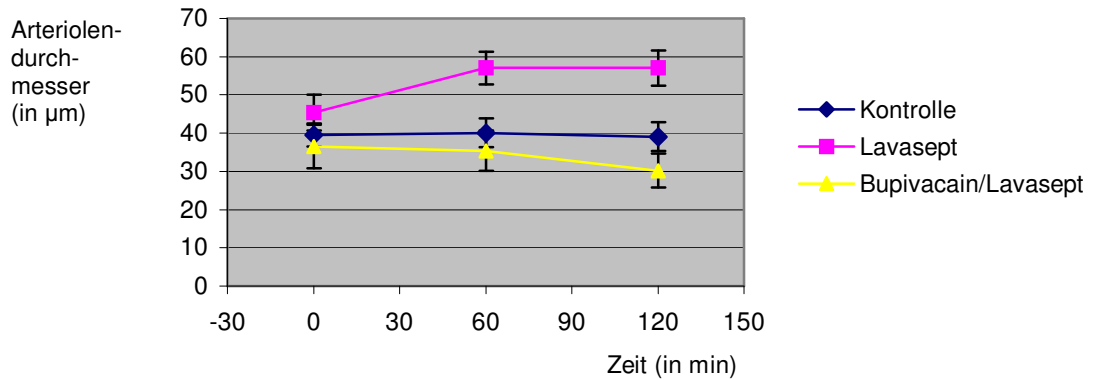


Abb. 16: Arteriolen-durchmesser 3. Ordnung nach Bupivacain- und Lavasept®-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept®-Gruppe, n = 6

Die FKD zeigte eine tendenzielle Abnahme nach Bupivacain, diese erreicht gegenüber den Ausgangswerten keine Signifikanz (Abb. 17).

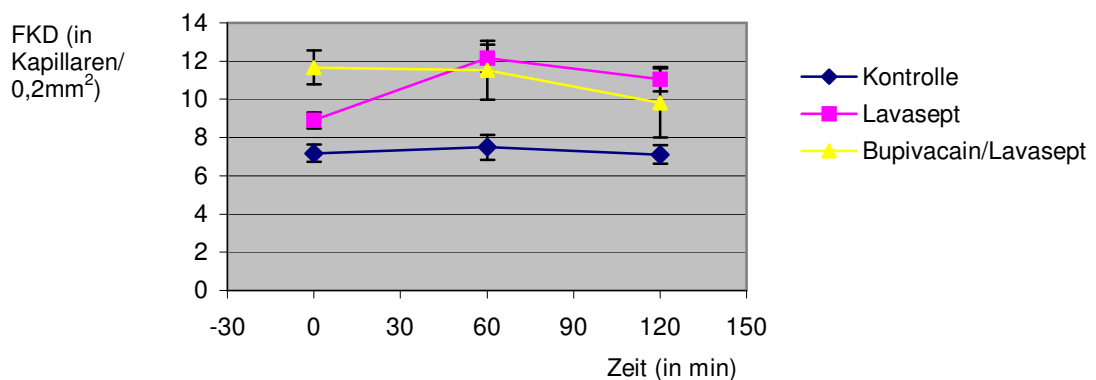


Abb. 17: Funktionelle Kapillardichte nach Bupivacain- und Lavasept®-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept®-Gruppe, n = 6

4.3.3 Wirkung von Lavasept[®] nach Blockade der α -Rezeptoren

Nach Blockade der α -Rezeptoren durch Phentolamin konnte Lavasept[®] in sämtlichen Arteriolen keine Erweiterung mehr herbeiführen. Es kam gegenüber der Kontrolle zu einer signifikanten Abnahme der Arterioldurchmesser, dementsprechend natürlich auch gegenüber der Gruppe, die ausschließlich Lavasept[®] appliziert bekam (Abb. 18, 19 und 20).

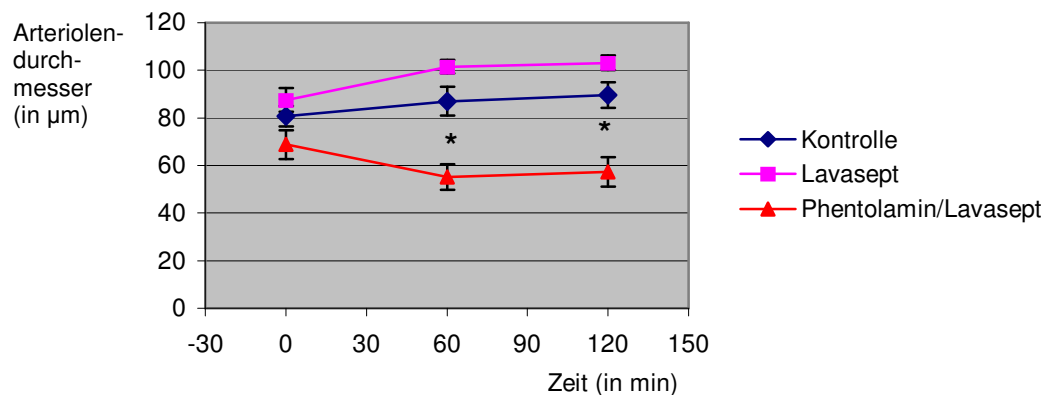


Abb. 18: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p < 0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe und vs. Lavasept[®]-Gruppe)

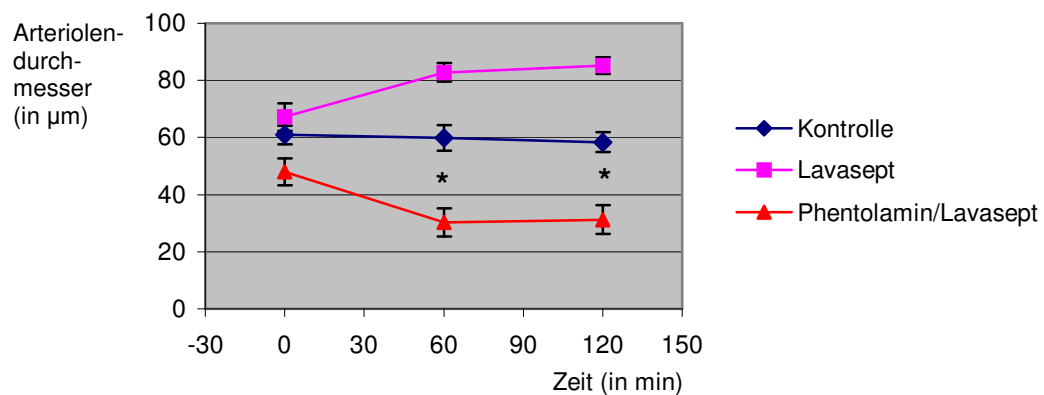


Abb. 19: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p < 0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe und vs. Lavasept[®]-Gruppe)

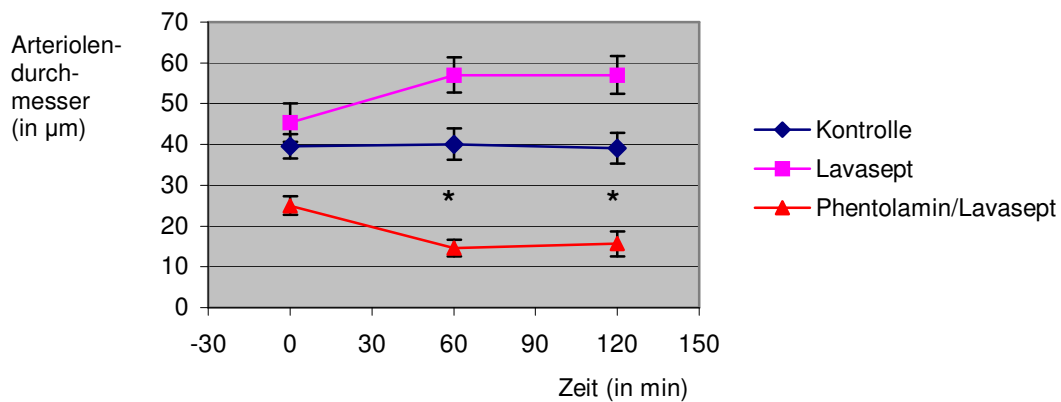


Abb. 20: Arterioldurchmesser 3. Ordnung nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p < 0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe und vs. Lavasept[®]-Gruppe)

Die stärkste Abnahme der Arterioldurchmesser fand sich bei den Arterien dritter Ordnung, hier erfolgte nahezu eine Halbierung der Gefäßdurchmesser nach Lavasept[®]-Gabe bei bestehender α -Rezeptorenblockade.

Im Gegensatz zur alleinigen Applikation von Lavasept[®] kam es nach Blockade der α -Rezeptoren durch Phentolamin auch zu einer signifikanten Abnahme der funktionellen Kapillardichte. Gegenüber der Kontrollgruppe erreichte diese jedoch kein Signifikanzniveau (Abb. 21).

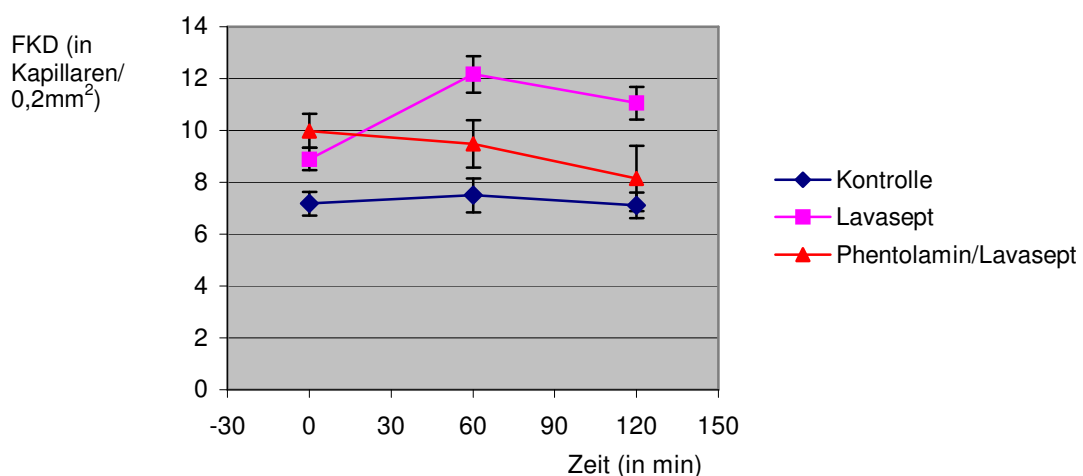


Abb. 21: Funktionelle Kapillardichte nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6

4.3.4 Wirkung von Lavasept® nach β -Rezeptoren-Blockade

Nach Blockade der β -Rezeptoren führte die Applikation von Lavasept® zu keiner Steigerung der Arterioldurchmesser, die Arteriolen erster und zweiter Ordnung zeigten aber auch keine signifikante Abnahme innerhalb der ersten 60 Minuten. Bei den Arteriolen dritter Ordnung fand sich eine signifikante Abnahme der Durchmesser nach 60 und 120 Minuten. Weiterhin zeigten die Arteriolen 1. Ordnung eine signifikante Abnahme nach 120 Minuten (Abb. 22, 23 und 24).

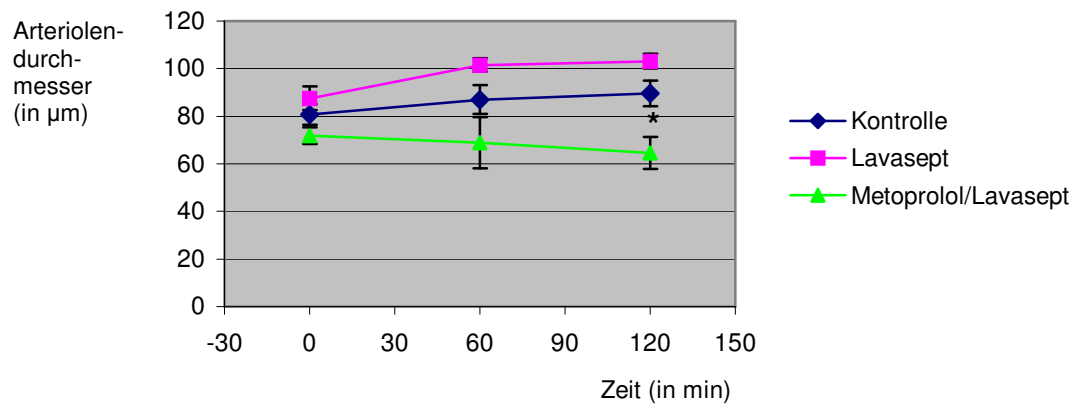


Abb. 22: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Metoprolol- und Lavasept®-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept®-Gruppe, $n = 6$ ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe)

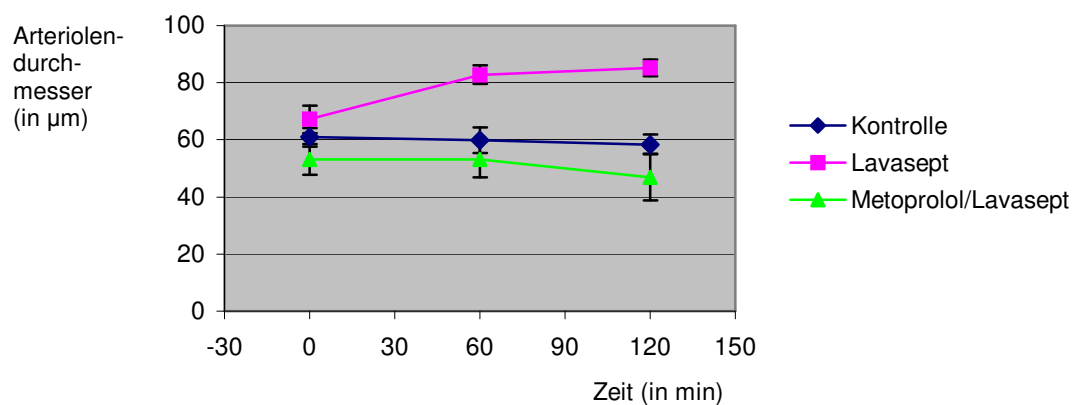


Abb. 23: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Metoprolol- und Lavasept®-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept®-Gruppe, $n = 6$

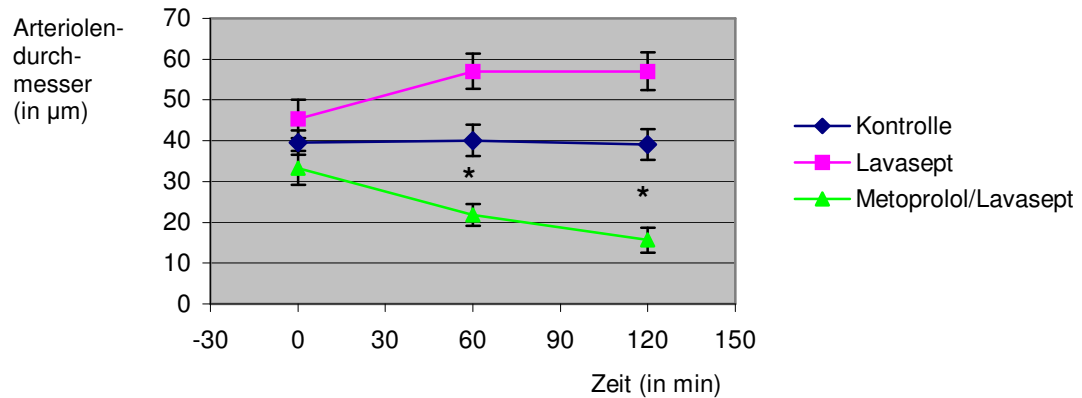


Abb. 24: Arteriolen-durchmesser 3. Ordnung nach Metoprolol- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p < 0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)

Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte sich eine Abnahme der funktionellen Kapillardichte. Diese war nach einer und nach zwei Stunden gegenüber der alleinigen Gabe von Lavasept[®] signifikant (Abb. 25).

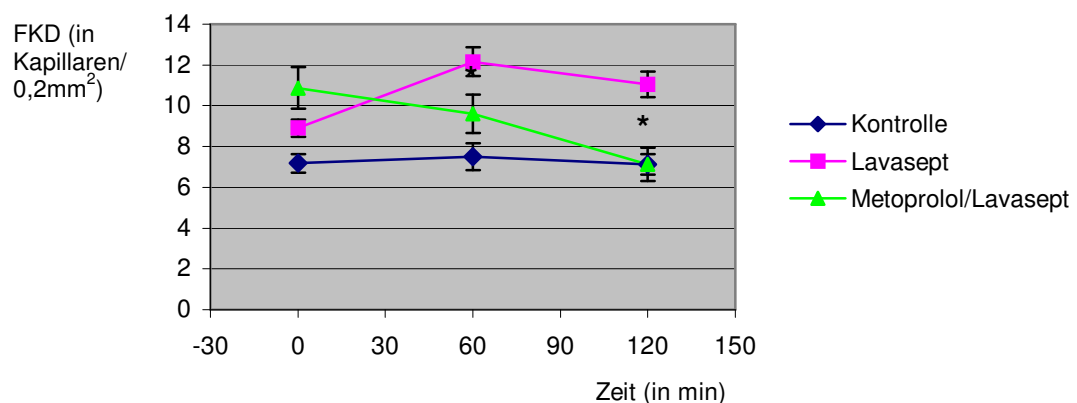


Abb. 25: Funktionelle Kapillardichte nach Metoprolol- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p < 0,05 bei * vs. Lavasept[®]-Gruppe)

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die gefäßerweiternde Wirkung von Lavasept[®] auf die Arteriolen kehrt sich nach Blockade der α -Rezeptoren, nach Denervation und nach Applikation von Lokalanästhetika um.

Die Blockade der β -Rezeptoren bewirkt bei gleichzeitiger Lavasept[®]-Gabe eine Abnahme der FKD, die Lavasept[®]-Applikation beim denervierten Muskel führt zu einem Anstieg der FKD gegenüber der Denervation ohne Lavasept[®]-Gabe.

5. Diskussion

5.1 Diskussion des Versuchmodells

Der Cremastermuskel ist zur Untersuchung der Mikrozirkulation ein häufig gewähltes Modell, welches identische, reproduzierbare morphologische Strukturen aufweist. Der M. cremaster, eine Aussackung des M. obliquus abdominis internus und des M. transversus abdominis, entsteht während der Ontogenese durch einen Descensus des Hodens. Dadurch ist er ein quergestreifter, aus zwei Schichten bestehender Muskel (Grant 1966).

Während Majno, Palade und Schaefl 1961 den Cremaster der Ratte erstmals zu Studien nutzten, entwickelte Grant 1964 die Intravital-Mikroskopie des Cremasters (Majno 1961a,b; Grant 1964; Grant 1966) zur Beobachtung der Mikrozirkulation.

1973 bewies Baez die Stabilität dieses Modells. Er war der Erste, der den Cremaster in einer neuen Technik eröffnete (Baez 1973). Harris und Mitarbeiter vervollständigten das Modell, und Wiegmann et al. versuchten durch Eintauchen des Cremasters in ein Wasserbad Temperatur, pO_2 , pCO_2 und pH besser zu kontrollieren (Harris 1975; Wiegmann 1979).

Die Technik der Cremaster-Präparation zur Studie der Mikrozirkulation findet bis heute Anwendung (Anderson 1988, Peter 2002).

Der Vorteil dieses Modells liegt in der guten Visualisierung der Gefäße - bis hin zu den Kapillaren - mit Hilfe der Intravitalmikroskopie, die im Laufe der Jahre immer weiter entwickelt wurde (Harris 1997).

Zu diskutieren ist, ob die Präparation allein und der Verschluss der den Cremaster versorgenden Kollateralgefäße, der bei der Präparation erfolgt, schon Veränderungen in der Mikrozirkulation des Muskels hervorruft (Nishigaki 1990). Es wurde vermutet, daß durch die Manipulation am Muskels eine Spastik der Gefäße hervorgerufen wird. Dies wurde aber in den Studien von Baez, Barker und Peter widerlegt (Baez 1973, Barker 1992, Peter 2002). Sie konnten zeigen, daß der Blutfluß durch die Präparation über bis zu sechs Stunden unbeeinflusst bleibt.

Auch in unserer Vorstudie zeigte die Kontrollgruppe, in welcher der Cremaster nur präpariert, aufgespannt und über einen Zeitraum von zwei Stunden beobachtet wurde, keine signifikanten Änderungen der Arterioldurchmesser sowie der funktionellen Kapillardichte (Benkovic 2000).

5.1.1 Anatomie des Musculus cremaster

Gefäßversorgung

Meiniger (Meiniger 1987) und Hill (Hill 1990; Hill 1992) beschrieben in detaillierten anatomischen Studien die Gefäßversorgung des Musculus cremaster.

Nach diesen Arbeiten besteht der Cremaster-Stiel überwiegend aus dem Truncus pudis-epigastricus. Dieser Truncus entsteht aus der A. iliaca externa direkt proximal des Lig. inguinalis. Er verläuft innerhalb der muskulären Bauchwand nahe am Lig. inguinalis und endet an der medialen Seite des M. rectus abdominis an der Basis des Penis. Dort gibt er Äste zum Cremaster, zum Penis, zum M. erectus abdominis und zum Perineum ab. Der Ast zum Cremaster, die A. spermatica externa, verläuft innerhalb des Cremasters auf der dorsalen Seite.

Sie geht in den Hauptstamm, die Arteriole 1. Ordnung über und verzweigt sich baumartig innerhalb des Cremasters. Von diesem Hauptstamm gehen die Arteriolen 2. Ordnung ab, aus denen wiederum die Arteriolen 3. Ordnung hervorgehen (Meiniger 1987 und Hill 1995).

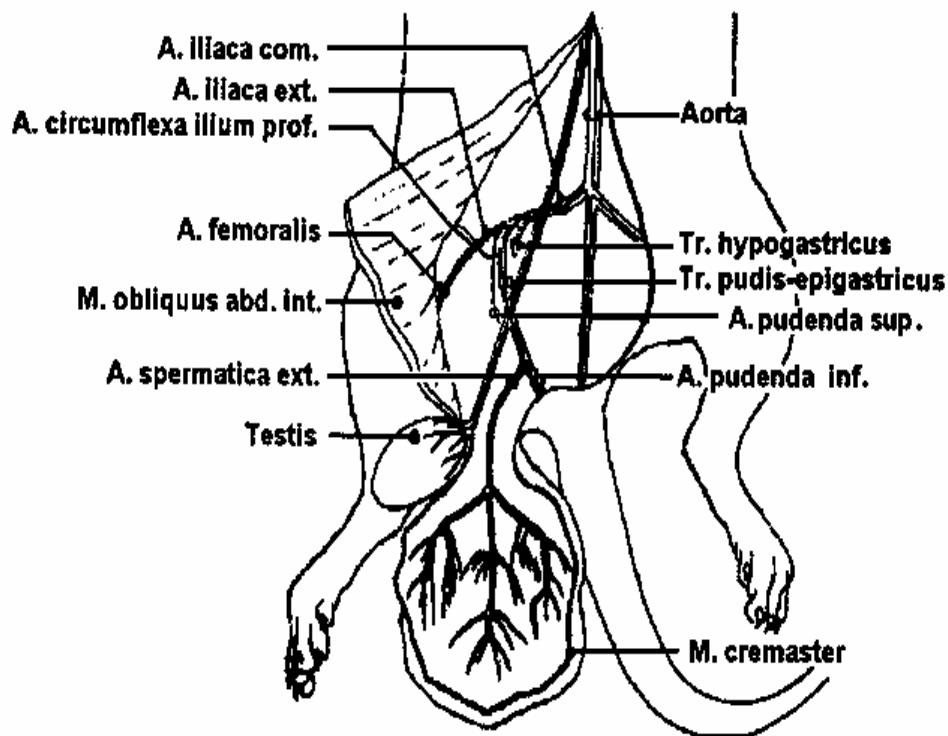


Abbildung 26: Schematisierte Anatomie der Inguinalregion der Ratte (in Anlehnung an Meininger 1987)

Obwohl einige Autoren die Anatomie der Gefäßversorgung des Cremasters als komplett variabel ansahen, konnte gezeigt werden, daß der Cremaster meistens (in 70% der Fälle) vom Truncus pudis-epigastricus versorgt wird. In den anderen Fällen wird der Cremaster durch den Truncus hypogastricus oder die A. pudenda sup. ernährt (Meininger 1987; Hill 1995; Peter 1997).

Für diese Studie ist die Anatomie und Gefäßversorgung cranial des Leistenbandes, das heißt außerhalb des Cremasters, nur von untergeordneter Bedeutung, da wir uns ausschließlich auf die A₁ bis A₃ Gefäße und die Kapillaren innerhalb des Cremasters bezogen, die per Definition immer gleich bleibend sind.

Der venöse Abfluß wird durch die gleichnamigen Venen, V. spermatica externa und später V. pudis-epigastrica, die parallel zu den arteriellen Gefäßen verlaufen, gewährleistet (Abb. 26).

Nervale Versorgung

Die motorische und sensible Innervation des Cremasters geht vom N. genitofemoralis aus. Der N. genitofemoralis verläuft lateral parallel zur A. iliaca bis zum Lig. inguinalis und gibt dort einen Hauptast ab, welcher die Iliacalgefäße überkreuzt und nahe des Tr. pudis-epigastricus verläuft (Abb. 26). Des weiteren besteht eine ausgedehnte sympathische Innervation des M. cremaster (Fleming 1988).

5.1.2 Intravitalmikroskopie

In der Mikrozirkulationsforschung kommen hauptsächlich zwei verschiedene Techniken zum Einsatz. Der Durchlichtmikroskopie, die auch in dieser Studie zur Anwendung kam, steht die Auflichtmikroskopie gegenüber. Beide Methoden haben relevante Vor- und Nachteile.

Die Durchlichtmikroskopie kann nur bei genügend dünnen Geweben zur Anwendung kommen, ist dann aber hervorragend geeignet, da sie ohne weitere Hilfsstoffe auskommt.

Die Auflichtmikroskopie ist von der Dicke des untersuchten Gewebes unabhängig, da die Gefäße durch fluoreszierende Farbstoffe (z.B. FITC Dextran) und bestimmte Filter sichtbar gemacht werden können. Der Nachteil hierbei ist, daß es nach wiederholten Gaben der Farbstoffe über längere Zeiträume auch zu einer Diffusion und Akkumulation dieser Farbstoffe in die umliegenden Gewebe kommt. Dies führt zu einer eingeschränkten Beurteilbarkeit der Gefäße und Kapillaren bei wiederholten Messungen.

Da in dieser Studie mit dem Cremaster ein besonders dünnes Gewebe zu Verfügung stand und wiederholte Untersuchungen notwendig waren, war die Durchlichtmikroskopie hier die Methode der Wahl.

5.1.3 Bedeutung des Modell für den klinischen Einsatz

Der freiliegende Muskel wurde als Modell einer nicht kontaminierten, offenen Wunde gewählt, um die Interaktionen des Antiseptikums Lavasept[®] mit der Mikrozirkulation zu untersuchen. Er wurde ausgewählt, da im klinischen Alltag freiliegende Muskulatur nicht nur in der Traumatologie sondern auch bei der Behandlung Schwerbrandverletzter eine wichtige Rolle spielt. Besonders im zweiten Fall ist die lang andauernde lokale antiseptische Behandlung eine wichtige Therapiegrundlage (Bruck 2000).

5.2 Lavasept®

Lavasept® ist ein Wundantiseptikum, das in der chirurgischen Versorgung drohender bzw. akuter oder chronischer Weichteil- und Knocheninfektionen zur Anwendung kommt. Auch zur Behandlung Schwerbrandverletzter wird Lavasept® als Lösung, Gel oder in Form von okklusiven Hydrokolloidverbänden oft verwendet (Bruck 2000).

Lavasept® wird in Form von Spül-/Saugdrainagen, antiseptischer Abdeckung, intraoperativen Spülungen und zum antiseptischen Feuchthalten des Operationsgebietes angewandt. Es gewinnt außerdem zunehmend an Bedeutung in der Haut- und Schleimhautantiseptik.

Die Anwendungslösung besteht aus einer Lösung aus 0,1 oder 0,2%igem Lavasept®-Konzentrat und Ringer-Lösung.

Bei dem farblosen Lavasept®-Konzentrat handelt es sich um die Kombination aus Polihexanid (20%) und Macrogolum (Polyethylenglycol) 4000 (1%) in wäßriger Lösung (Fresenius 1994). Durch den Zusatz von Polyethylenglycol wird die Oberflächenspannung der Lösung herabgesetzt und möglicherweise zusätzlich durch hydrophobe und hydrophile Wechselwirkungen mit Zellmembranen (Bakterien, Körperzellen) die Bioverfügbarkeit, Penetration und Toxizität des antiseptischen Wirkstoffes beeinflusst.

Der wirksame Bestandteil des Lavasept®-Konzentrats ist Polihexanid (Polyhexamethylenbiguanid-Hydrochlorid; Summenformel $(C_8 H_{18} N_5 Cl)_n$), ein Biguanid.

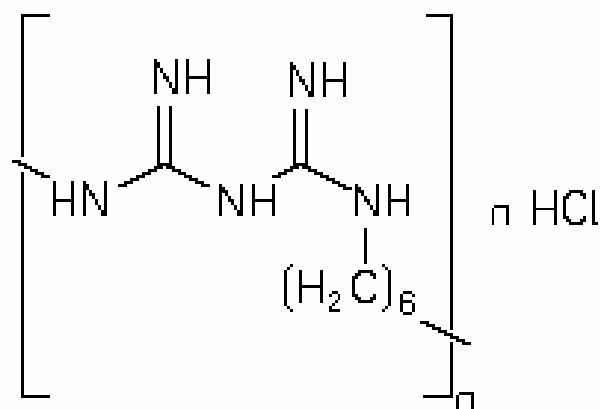


Abbildung 27: Strukturformel von Polihexanid

5.2.1 Lavasept® als Antiinfektivum

Bis vor einigen Jahren war PVP-Jod (Betasisodona®) das am häufigsten gebräuchliche Pharmakon, das eine lokale Antisepsis erzeugte und ein großes Keimspektrum sowie wenige Nebenwirkungen aufwies. Seit Ende der 80er Jahre stehen zahlreiche Alternativen, zum Beispiel auch Lavasept® zur Verfügung. Lavasept® kam in den 80er Jahren als neue Lösung eines bereits bekannten Biguanids, Polihexanid - das bis dahin in reinem Zustand nur zur Flächendesinfektion verwandt wurde, auf den Markt.

Polihexanid ist mikrobiozid hochwirksam und weist ein breites Wirkungsspektrum auf. Es wirkt sowohl gegen gram-positive als auch gegen gram-negative klinisch relevante Mikroorganismen und Pilze. Die minimalen Hemmkonzentrationen (MHK; in µg/ml Polihexanid) von Polihexanid liegen zum Beispiel für *Staphylococcus aureus* bei 0,5–1, für *Streptococcus pyogenes* bei 0,5, für *Bacillus subtilis* bei 0,5, für *Enterococcus faecalis* bei 2-64 und für *Escherichia coli* bei 1-4. Damit zeigt Polihexanid eine bessere Wirksamkeit als einige lokal angewandte Antibiotika wie zum Beispiel Chloramphenicol oder Tetracyclin. Andere Antibiotika wie Gentamycin oder Ciprofloxacin wirken dagegen effektiver (Wiedemann 1999).

Auch *Pseudomonas aeruginosa*, der ein häufiger Erreger in Problemwunden ist, wird von Polihexanid erfaßt (MHK 4-16) und zeigt keine erhöhten Resistenzentwicklungen. Zusätzlich zeigt sich gegen den multi-resistenten (MRSA) und den vancomycin-intermediären *Staphylococcus aureus* (VISA) eine gute Wirksamkeit. Die MHK beträgt für MRSA und VISA 1-2 (Wiedemann 1999).

Polihexanid entwickelt seinen mikrobioziden Effekt innerhalb eines wechselnden Zeitraumes. Bei verschiedenen Bakterien wie *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes* und *pneumoniae* liegt bereits nach fünf Minuten die Keimzahlreduktion bei mehr als 99,999%. Bei *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza* und MRSA werden diese Werte nach fünf bis dreißig Minuten erreicht (Wiedemann 1999).

Im Gegensatz dazu erreicht PVP-Jod (Betasisodona®) bereits nach einer Minute diese Keimzahlreduktion. Dieser in vitro vorhandene Vorteil muß aber unter dem Aspekt praxisrelevanter Bedingungen betrachtet werden, da dort die

Anwendungsdauer im Rahmen von Wundkompressen und Spüllösungen meist oberhalb von 30 Minuten liegt und somit auch Lavasept[®] wirksam ist (Wiedemann 1999).

Zur bakteriziden Wirkung von Lavasept[®] bzw. Biguaniden ist bekannt, daß es aufgrund starker kationischer Ladung zum unmittelbaren Kontakt mit anionisch geladenen Bakterien kommt und so zur Zerreißung der inneren Bakterienmembranen und zur Denaturierung der Eiweistrukturen führt (Schäfer 1974).

Auch im eiweißreichen Milieu, in Gegenwart von Blut und Proteinen, welches bei anderen Antiseptika wie den Jodophoren (Braunol[®]) zum Wirkungsverlust (sogenannter „Eiweißfehler“) führt, erweist sich Lavasept[®] mikrobiozid wirksam. Es zeigt sich lediglich eine Verlängerung der zur Erzielung derselben Keimzahlreduktion erforderlichen Einwirkzeit (Skripitz 1994, Werner 1992).

Die gute Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Lavasept[®] im Wundmodell, wie sie insbesondere auch bei längerer Exposition zum Ausdruck kommt, findet ihre Bestätigung bei einem Vergleich zu PVP-Jod (Betaisodona[®]) in tierexperimentellen Studien (Kallenberger 1991; Kramer 1998) und stimmt mit klinischen Erfahrungen überein (Willenegger 1994a; Schmit-Neuerburg 2001). Dagegen sollte es ähnlich wie andere Antiinfektiva bei der Spülung von aseptischen Gelenken keine Anwendung finden, da es den Knorpel schädigt und zu einer Wachstumshemmung führt (Kallenberger 1991).

Bei der Toxizitätsprüfung in vitro ergibt sich für Polihexanid die Einstufung als gering toxisch und für 0,2%iges Lavasept[®] als untoxisch im Gegensatz zu dem mäßig bis sehr toxischen Chlorhexidin bzw. Octenidin. Die selektive Toxizität, d.h. die therapeutische Breite, von Lavasept[®] ist als außerordentlich günstig einzustufen (Kramer 1993).

Auch im Phytotoxizitätstest war Lavasept[®] anderen Antiseptika wie Betaisodona[®] an Verträglichkeit signifikant überlegen (Kühl 1994).

Bei der Behandlung tiefer und chronischer Wunden sowie zur Spl-Saug-Drainage und zur antiinfektiven Lavage von Körperhöhlen einschließlich der Bauchhöhle kann es aufgrund der fehlenden Toxizität auch langfristig im Gegensatz zu PVP-Jod (Betaisodona[®]), Octenisept[®], Chlorhexidin und Ethanol angewandt werden. Dieses wurde in tierexperimentellen Studien bewiesen (Kramer 1998).

Nach PVP-Jod-Anwendung bei der Peritoneallavage an Tieren kam es zu Fettgewebsnekrosen, während Lavasept[®] diese Auswirkungen beim Menschen nicht zeigte (Görtz 1984; Willenegger 1994b).

Selten kann Lavasept[®] in zu hoher Konzentration zu unerwünschten Wirkungen in Form von allergischen Reaktionen, Fieberschüben und generalisierten Exanthenen führen.

Aber selbst die versehentliche intravenöse Gabe läßt sich durch geeignete Maßnahmen ohne größeren Schaden für den Patienten behandeln (Homann 2002).

Problemwunden wie Ulcera cruris oder Wunden am diabetischen Fuß können mit Hilfe von Lavasept[®] erfolgreich zur Abheilung gebracht werden (Bienz 1998; Roth 1998).

Wichtig zu erwähnen ist aber auch, das diese positiven Ergebnisse nur unter Einhaltung der anerkannten chirurgischen Behandlungsgrundsätze, der chirurgischen Dekontamination, zur vollen Wirkung kommen können (Willenegger 1994a).

5.2.2 Die Wirkung von Lavasept[®] auf die Mikrozirkulation des M. cremaster

Wie in Vorstudien gezeigt werden konnte, führt die Applikation von Lavasept[®] auf den Muskel zu einer Erweiterung der Gefäße erster bis dritter Ordnung, die bei den A₂- und A₃-Arteriolen gegenüber der Kontrollgruppe signifikant ist. Diese Zunahme der Gefäßdurchmesser ist in den ersten 60 Minuten nach Applikation am ausgeprägtesten ($p=0,0016$ bei A₂, $p=0,0097$ bei A₃). Nach weiteren 60 Minuten bleiben die Werte auf dem Niveau des 60-Minuten-Wertes bei A₃ ($p=0,0076$). Bei den A₁- und den A₂-Gefäßen erfolgt eine weitere Zunahme, die bei A₂ signifikant ($p<0,0001$) ist (Benkovic 2000, Abb. 28).

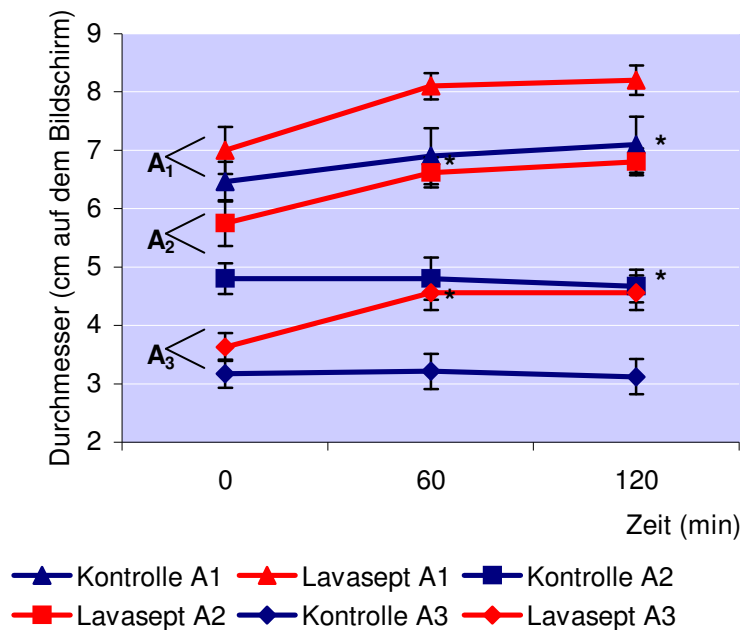


Abb. 28: Arterioldurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Lavasept[®]-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ($p < 0,05$ bei *)

Nach dem Gesetz von Hagen-Poiseuille ($R = 8 \cdot \eta \cdot l / \pi \cdot r^4$, R - Widerstand, η - Viskosität, l - Länge, r - Radius) kann man aus einer Vergrößerung des Durchmessers auf eine Steigerung des Blutflusses schließen, da der Widerstand sinkt (Gaehtgens 1996).

Zusätzlich zur Zunahme der Arterioldurchmesser konnte eine signifikante Steigerung der funktionellen Kapillardichte über einen Zeitraum von 60 Minuten beobachtet werden ($p < 0,0001$). In den folgenden 60 Minuten kam es dann zu einer leichten Abnahme der perfundierten Kapillaren, die gegenüber der Kontrollgruppe immer noch erhöht ist ($p < 0,0001$) (Benkovic 2000).

Nach Nolte ist eine Steigerung der funktionellen Kapillardichte als ein Indikator für eine verbesserte Gewebepfusion des Muskel zu werten (Nolte 1995). Die Gewebepfusion wiederum ist die Grundvoraussetzung für die Versorgung des Muskels mit Sauerstoff und für den An- und Abtransport von Metaboliten und Nährstoffen und so eine Voraussetzung für das Überleben des Gewebes.

Es kann also gefolgert werden, daß durch die Applikation von Lavasept® die Gewebepерfusion und so die Versorgung des Muskels mit Sauerstoff und Nährstoffen verbessert wird.

Diese Wirkung von Lavasept® auf die Mikrozirkulation schreiben wir dem Inhaltsstoff Polihexanid zu. Die übrigen Bestandteile der Anwendungslösung Lavasept® sind Wasser und ein Macrogolum, Polyethylenglycol, durch dessen Zusatz die Oberflächenspannung der Lösung herabgesetzt wird und das möglicherweise zusätzlich durch hydrophobe und hydrophile Wechselwirkungen mit Zellmembranen (Bakterien, Körperzellen) die Bioverfügbarkeit, Penetration und Toxizität des antiseptischen Wirkstoffes beeinflußt. Polyethylenglycol beeinflußt die Mikrozirkulation nicht.

Unbekannt bleibt aber, auf welchen Mechanismen die Wirkung auf die Mikrozirkulation beruht. Im folgenden soll erst mal auf andere - dem Lavasept® strukturell verwandte – Biguanide, sowie den Aufbau und die komplexen Regulationsmechanismen der Mikrozirkulation eingegangen werden, um mögliche Wirkmechanismen von Lavasept® verstehen zu können.

5.3 Biguanide

Zu den bekanntesten Biguaniden zählt das Metformin. Es ist ein orales Antidiabetikum zur dosisabhängigen Senkung des Blutzuckerspiegels.

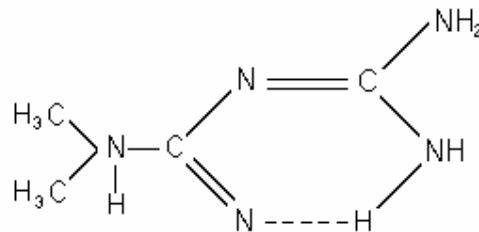


Abbildung 29: Strukturformel von Metformin

Bereits 1993 wurde auch eine blutdrucksenkende Wirkung durch Metformin am Menschen (Chan 1993; Guigliano 1993; Velaquez 1994) und am Tiermodell (Verma 1994a,b; Petersen 1996) beschrieben.

Weiter wurde vermutet, daß diese Wirkung auf einer dosisabhängigen, reversiblen Senkung der efferenten sympathischen Aktivität beruht (Liu 1996; Petersen 1996).

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, das Metformin zu einer direkten Vasorelaxation von Gefäßen führt (Miller 1996; Lee 1999).

Diese Wirkung des Metformin blieb durch eine vorher durchgeführte β -Rezeptor-Blockade unbeeinflusst. Dagegen schwächte eine Blockade der α -Rezeptoren sowie eine ganglionäre Blockade die Wirkung von Metformin nicht nur ab, sondern kehrte sie ins Gegenteil um und es kam zu einer Gefäßkonstriktion (Muntzel 1997).

Zusätzlich besitzt Metformin aber eine indirekt sympathikomimetische Aktivität. Diese wird erkennbar, wenn α -Rezeptoren bereits blockiert sind. Dann wirkt sich der indirekt sympathikomimetische Effekt in Form einer Vasokonstriktion und auch Abnahme der funktionellen Kapillardichte aus (Lee 2001). Dieser indirekt sympathikomimetische Effekt scheint auf einer direkten Freisetzung von Noradrenalin zu beruhen, eine Tatsache, welche die verminderte Vasodilation nach Blockade der β -Rezeptoren erklärt (Peuler 1999).

In Anlehnung an diese Studien wurden die Gruppen dieser Arbeit gestaltet.

5.4 Physiologische Grundlagen der Mikrozirkulation

Unter dem funktionellen Begriff der Mikrozirkulation werden Arteriolen, Kapillaren, Venolen sowie die im Gewebe liegenden Lymphgefäße zusammengefaßt. Hier, in der terminalen Strombahn, findet der Stoffaustausch von Nahrungs- und Stoffwechsellendstoffen, Boten- und Abwehrsubstanzen sowie Wärme zwischen Blut und Interstitium statt.

Die terminale Strombahn kann in einen afferenten Schenkel, die Kapillaren und einen efferenten Schenkel unterteilt werden.

Die kleinsten Arterien und Arteriolen gehören zum afferenten Schenkel. Ihre Wand besteht aus nur einer Muskelschicht. Sie gliedern sich in proximale (A_1 , 80-120 μm), intermediäre (A_2 , 40-80 μm) und präkapilläre (A_3 , 15-40 μm) Arteriolen (Meininger 1987). Die Muskelschicht der A_3 -Arteriolen kann unterbrochen und zirkulär angeordnet sein und so die Funktion eines präkapillären Sphinkters ausüben (Fulton 1970). Dadurch können einzelne Versorgungsbereiche intermittierend stärker oder schwächer durchblutet werden (Colantuoni 1984), was vom Funktionsgrad der einzelnen Organe abhängig ist. So kann im Skelettmuskel bei Aktivität die Zahl der perfundierten Kapillaren (funktionelle Kapillardichte – FKD) von 50 auf 500/ mm^2 erhöht werden (Fleischhauer 1985).

Die Kapillaren sind mit einer einschichtigen Lage Endothelzellen ausgekleidet, auf die eine Basalmembran folgt, die wiederum von Perizyten umgeben ist (Fleischhauer 1985).

Der efferente Schenkel des Systems besteht aus Venolen und Sammelvenen. Die Venolen, die direkt den Kapillaren folgen, werden die postkapillären Venolen (V_3 , 10-45 μm) genannt und besitzen keine Muskelzellen. Es folgen Sammelvenolen (V_2 , 45-85 μm) und muskularisierte Venolen (V_1 , 85-130 μm), die das Blut ableiten (Fleischhauer 1985).

Kapillaren und postkapilläre Venolen bieten durch ihre langsame Blutflußgeschwindigkeit, das gute Verhältnis von Gefäßoberfläche und Gefäßdurchmesser und die dünnen Gefäßwände für den Stoffaustausch besonders günstige Bedingungen.

Der Umfang dieses Stoffaustausches wird also auch durch die Weite der Gefäße reguliert. An diesem Regulationsvorgang ist das Endothel und die glatte

Gefäßmuskulatur über neurogene, myogene, humoral-hormonale und endothelvermittelte Mechanismen beteiligt.

Das Endothel setzt zahlreiche Stoffe frei, die über eine direkte Kommunikation mit glatten Muskelzellen über gap-junctions Einfluß auf die Blutgefäße ausüben. Dazu gehören zum Beispiel der stark wirksame Vasodilatator Prostaglandin (PG) I₂ (McLennan 1991), und NO (Stickstoffmonoxid) bzw. EDRF (endothelium derived relaxing factor). EDRF wurde erst 1980 von Furchgott und Zawadski entdeckt und löst als Argininabbauprodukt über eine intrazelluläre cGMP-Erhöhung in den Gefäßmuskelzellen ihre Erschlaffung aus (Furchgott 1980; Griffith 1984; McDermott 1991).

Auch verschiedene andere Substanzen wie Acetylcholin, Bradykinin, Serotonin, ADP und ATP führen nicht direkt, sondern über eine NO-Freisetzung aus dem Endothel zu einer Vasodilation.

Mit Endothelin I (ET I), das außer im Endothel auch in glatten Muskelzellen, Neuronen, Endometriumzellen, Hepatozyten und den Nieren-Mesangiumzellen synthetisiert wird, konnte der potenteste bekannte Vasokonstriktor und Gegenspieler zum EDRF ausgemacht werden (Levin 1995). Die Wirkung von ET I konnte in verschiedenen experimentellen Studien bewiesen werden (Chen 1993).

Als weiterer Vasokonstriktor steht Angiotensin I zur Verfügung. Nach Synthese im Endothel kann es zu Angiotensin II umgewandelt werden, das zur Konstriktion von Gefäßen führt (Davies 1993; Vane 1990).

Weitere die Mikrozirkulation beeinflussende Substanzen sind Vasopressin (ADH), ACTH, Thyroxin, Histamin, Thromboxan A₂ (TXA₂), PGE₂, PGH₂.

Die glatte Muskulatur der Gefäße reguliert auch über eine aktive Spannungsentwicklung (Tonus) die Gefäßweite. Selbst in Abwesenheit aller äußeren Einflüsse erschlafft die Gefäßmuskulatur nicht vollständig, sondern besitzt einen sogenannten myogenen Basistonus, der vom transmuralen Druckgradienten abhängt, und so die Ruhedurchblutung des Gewebes sichert (Folkow 1964; Greenfield 1964).

Weiter beeinflusst der Druck im venösen Ausfluß bzw. der systemische Druck die Mikrozirkulation (Haddy 1964; Dell 1980).

Neben all diesen Mechanismen ist der Besatz der Blutgefäße mit Rezeptoren von entscheidender Bedeutung. Zur Zeit der Entdeckung von EDRF und

anderen bislang unerforschten vasoaktiven Substanzen gerieten sie ein wenig in Vergessenheit. In den letzten Jahren erlebte die Forschung auf dem Gebiet der Rezeptoren aber eine Renaissance. Verschiedene Rezeptor-Subtypen wurden entdeckt und es konnte gezeigt werden, daß ein typischer Rezeptorbesatz im Endothel die Gefäßweite direkt oder über eine NO-Freisetzung modulieren kann (Leech und Faber 1996, Yu 1997, Guimaraes 2001). Daher muß zum Beispiel auch die Annahme revidiert werden, daß die Kapillarperfusion rezeptorunabhängig gesteuert wird (Peter 1997).

5.4.1 Innervation der Mikrozirkulation

Alle Abschnitte des Gefäßsystems werden von Fasern des vegetativen Nervensystems versorgt. In der terminalen Strombahn nimmt der Einfluß dieser vasomotorischer Fasern auf den Gefäßtonus von proximal nach distal ab, so daß die neurogene Wirkung auf die präkapillären Gefäße geringer wird.

In den meisten Geweben sind die kleinen Arterien und großen Arteriolen reich innerviert. Die adrenergen Axone folgen dem arteriolären Netzwerk bis zu den präkapillären Arteriolen und verzweigen sich dort im umgebenden Gewebe. Die Kapillaren und die postkapillären Venolen sind meist nicht innerviert. Die muskulären Venolen und kleinen Venen besitzen eine spärliche oder auch keine Innervation (Fleming 1988).

Der neurogene Einfluß auf die Gefäße wird über sympathische Nervenfasern via verschiedener Transmitter, die auf bestimmte Gefäßrezeptoren einwirken, ausgeübt. Die Regulation der Gefäßweite geschieht allein durch postganglionäre sympathische Neuronen. Diese Neurone ziehen an den Gefäßen entlang und ihre Endungen verzweigen sich zwischen Adventitia und Media der Gefäßwand. Dort bilden sie in Form von bläschenförmigen Auftreibungen Varikositäten, in denen der Transmitter Noradrenalin gespeichert ist. Diese Varikositäten und die Membran der glatten Muskelzelle, in der sich die Gefäßrezeptoren befinden, bilden die eigentliche neuromuskuläre Synapse (Seller 1996) (Abb.30).

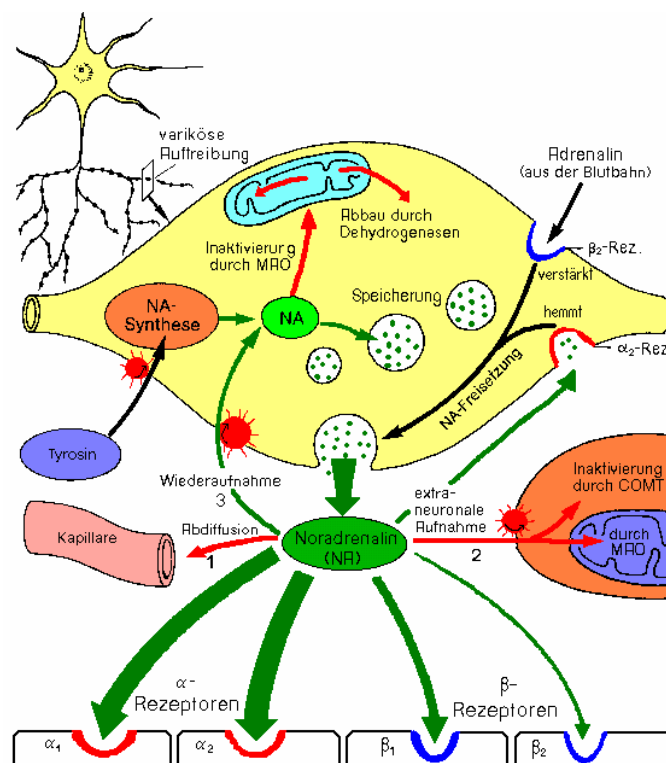


Abb. 30: Adrenerge Übertragung (in Anlehnung an Gay und Rothenburger aus: Taschenatlas der Physiologie, Despopoulos und Silbernagel, 6. Auflage, 2003)

5.4.2 Gefäßrezeptoren

Die Gefäßrezeptoren befinden sich in der Zellmembran der Gefäßmuskelzellen. Sie lassen sich in zwei Gruppen teilen: Rezeptoren vom α -Typ und Rezeptoren vom β -Typ. Weiter werden die α -Rezeptoren in α_1 - und α_2 - sowie die β -Rezeptoren in β_1 -, β_2 -, β_3 - und möglicherweise auch β_4 -Rezeptoren unterteilt, von denen die β_2 - und die β_3 -Rezeptoren bei der Regulation der Mikrozirkulation eine Rolle spielen. β_1 -Rezeptoren finden sich am Herzmuskel. Die β_3 -Rezeptoren beeinflussen neben der Mikrozirkulation auch noch den Lipidstoffwechsel (Trochu 1999).

α - und β -Rezeptoren unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Gefäßmuskulatur. Während eine Stimulation der α -Rezeptoren zu einer Konstriktion der Gefäßwand führt, bewirkt eine Stimulation der β -Rezeptoren eine Gefäßdilatation (Gaethgens 1996).

Die Transmitter die diese Wirkung in physiologischer Weise vermitteln sind Noradrenalin und Adrenalin. Sie unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Affinität zu den verschiedenen adrenergen Rezeptoren. Noradrenalin wird aus postganglionären sympathischen Axonen freigesetzt und bindet durch seine im Gegensatz zu Adrenalin höhere Affinität besonders an α -Rezeptoren. Dort erfolgt im Falle der α_1 -Rezeptoren eine Signaltransduktion via stimulierendem G-Protein und Phospholipase C durch die Zellmembran ins Innere der Zelle und über den Anstieg des Second-messenger Inositoltrisphosphat die Auslösung einer Kontraktion nach Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration. An den α_2 -Rezeptoren gebundenes Noradrenalin führt ebenfalls G-Protein-vermittelt über eine Verminderung der intrazellulären cAMP-Konzentration zu einer Kontraktion der Gefäßmuskulatur und so zu einer Vasokonstriktion. Das aus der Nebennierenrinde stammende Adrenalin bindet an β_2 -Rezeptoren. Dort führt es einheitlich über G_S -Protein zu einer Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration und so zu einer Gefäßdilataion (Abb. 31).

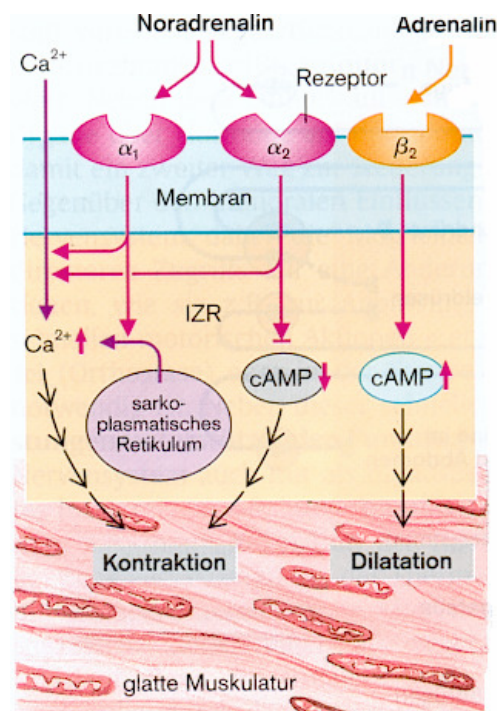


Abb. 31: Signaltransduktion der α - und β -Rezeptoren (in Anlehnung an: Gay und Rothenburger aus: Lehrbuch der Physiologie, Klinker und Silbernagel, 2. Auflage, 1996)

Die Gefäßrezeptoren befinden sich im gesamten Gefäßsystem. Dabei ist die Verteilung der einzelnen Rezeptor-Typen abhängig von der Größe der Gefäße und der Lokalisation im arteriellen oder venösen Schenkel. Des Weiteren bestehen Unterschiede innerhalb der einzelnen Tierarten sowie beim Menschen.

Wichtig zu erwähnen ist auch, daß nie nur ein Rezeptor-Typ alleine aktiviert oder blockiert wird. Die einzelnen Rezeptoren sind ein Teil eines komplexen Ganzen, das auf einem Gleichgewicht zwischen Aktivierung und Blockierung und verschiedenen Feedback-Mechanismen in Zusammenarbeit mit vielen anderen oben erwähnten Regulationsmechanismen des mikrozirkulären Blutflusses beruht.

5.4.2.1 Physiologischer Einfluß der α -Rezeptoren auf die Mikrozirkulation

Die α -Rezeptoren sind wie bereits beschrieben weiter in α_1 - und α_2 -Rezeptoren unterteilt. Die gefäßverengende Wirkung von α_1 -Rezeptoren ist stärker als die von α_2 -Rezeptoren.

α_1 -Rezeptoren dominieren an den großen Arteriolen und Venolen (A_1 und A_2) über α_2 -Rezeptoren (Faber 1988). Der α_1 -Rezeptor läßt sich noch weiter in α_{1A} -, α_{1B} - und α_{1D} -Rezeptoren, der α_2 -Rezeptor weiter in $\alpha_{2A/D}$ -, α_{2B} -, sowie α_{2C} -Rezeptoren unterteilen.

Im Cremastermuskel der Ratte finden sich der α_{1A} - und der α_{1D} -Rezeptor bevorzugt an den größeren Arteriolen, während der α_{1B} -Rezeptor kleinere Arteriolen und die Venolen beeinflusst. Der α_{1A} -Rezeptor ist weder für Arteriolen noch für Venolen spezifisch. Auch der α_{1D} -Rezeptor läßt sich in den Venolen finden (Leech und Faber 1996, Piascik 1997, Gisbert 2000).

α_2 -Rezeptoren dagegen beeinflussen besonders die Gefäßweite von kleinen, präkapillären (A_3) Arteriolen (Faber 1988). Entgegen der Meinung von Messing ist heute bekannt, daß die α_2 -Rezeptoren auch im venösen System von Bedeutung sind (Messing 1990; Leech und Faber 1996).

Weiterhin vermitteln sie im Endothel der Arteriolen die EDRF-Freisetzung über Noradrenalin und wirken so der direkt über α_1 -Rezeptoren vermittelten

Vasokonstriktion entgegen (Angus 1986, Richard 1990, Vanhoutte und Miller 1989), da EDRF über die Freisetzung von NO zu einer Gefäßerweiterung führt. 1993 identifizierte Bockman diesen α -Rezeptor-Untertyp als α_{2D} -Rezeptor (Bockman 1993).

Im Kapillarsystem besteht somit eine spezielle Situation: Durch α -Agonisten kommt es im Endothel der Kapillaren zu einer α_{2D} -vermittelten NO-Freisetzung, die nicht durch gleichzeitige α -Rezeptor bedingte Vasokonstriktion abgeschwächt wird.

5.4.2.2 Physiologischer Einfluß der β -Rezeptoren auf die Mikrozirkulation

Die β -Rezeptoren unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lokalisation. β_1 -Rezeptoren befinden sich am Herzen und führen dort nach Stimulation über eine cAMP-Erhöhung über verschiedene molekulare Mechanismen zu einer gesteigerten Kontraktilität des Myokards. Für die Mikrozirkulation spielen diese Rezeptoren wahrscheinlich keine Rolle.

Der β_2 -Rezeptor befindet sich wie die α -Rezeptoren in der Gefäßmuskulatur. Auch dort führt seine Stimulation wie bei den β_1 -Rezeptoren zu einer Erhöhung des intrazellulären cAMP. Diese bewirkt hier eine Dilatation der glatten Muskelzellen.

Anfangs vermutete man, daß der β_3 -Rezeptor nur den Lipidstoffwechsel beeinflusst. Es konnte aber gezeigt werden, daß eine Stimulation des β_3 -Rezeptors in den Gefäßen auch zu einer Vasodilation über eine Aktivierung der NO-Synthetase und ansteigendem cGMP führt (Strosberg 1998; Trochu 1999). Diese Wirkung des β_3 -Rezeptors läßt sich aber nicht durch Propanolol oder andere bisher bekannte β -Blocker beeinflussen (Guimaraes 2001).

5.5 Diskussion der Versuchsergebnisse

5.5.1 Denervation

Die chirurgische Durchtrennung von sympathischen Nerven zerstört die Möglichkeit der Einflußnahme des zentralen Nervensystems auf das Gefäßsystem (Fleming 1988). Es kommt zu morphologischen Veränderungen an den Nervenfasern in Form einer Demyelinisierung ähnlich wie bei der Axotomie somatischer Nervenfasern (Chen 1991). Bei dem innervierten Muskel kann man nach 14 Tagen eine Abnahme der Muskelmasse und des Durchmessers der Muskelfasern beobachten (Banbury 1999). Die Reinnervation und Regeneration der Axone ist zeitlich unterschiedlich und von der Art des Gewebes abhängig (Fleming 1988). Die Regeneration kann sich über Monate hinziehen und letztendlich doch unvollständig und inadequat sein (Lätheenmaäki 1986).

Weiterhin zeigt die Denervation Auswirkungen auf den Gefäßverlauf. So konnte gezeigt werden, daß die Gefäße nicht mehr parallel zu den Muskelfibrillen sondern geschlängelt verlaufen. Dieser Effekt hält über 3 bis 6 Wochen an und normalisiert sich erst wieder nach mehr als drei Monaten (Stroinska-Kusiowa 1979).

Wichtiger jedoch sind die Auswirkungen der Denervation auf die Mikrozirkulation des denervierten Gewebes.

In dieser Arbeit konnten wir die kurzfristigen Folgen einer Denervation aufzeigen. Die A₁-, A₂- sowie A₃- Gefäße zeigten über einen Zeitraum von 60 Minuten keine Veränderungen.

Die Anzahl der perfundierten Kapillaren hingegen verringerte sich signifikant. Verschiedene Autoren haben die Auswirkungen der Denervation auf die Mikrozirkulation beschrieben. In einer Studie konnte gezeigt werden, das diese in drei Phasen verlaufen (Banbury 1999).

In der ersten Phase, die auch „hyperadreneric state“ genannt werden kann, erfolgt durch die Denervierung akut eine massive Freisetzung adrenerger Transmitter. Obwohl man vermuten könnte, daß dies zu einer Vasokonstriktion

führt, blieb in experimentellen Studien der Gefäßdurchmesser in der ersten Stunde konstant (Siemionov 1994; Banbury 1999).

Dies deckt sich exakt mit unseren Ergebnissen. Man könnte dies darauf zurückführen, daß alle Rezeptoren blockiert sind und so die Transmitter keinen Einfluß nehmen können (Pearl 1981). Die Vasokonstriktion der akuten Phase, die einige Autoren beschreiben (Fleming 1988), muß also später - nach einer Stunde - auftreten (Banbury 1999).

Andere Autoren berichteten in ihren Studien über eine Steigerung des Blutflusses durch Vasodilation (Midrio 1968; Chen 1991). Diese trat aber nur innerhalb der ersten dreißig Minuten auf und ist auf einen akuten Verlust des Gefäßruhetonus zurückzuführen, so daß dies nicht mit den oben genannten Auswirkungen interferiert.

Die funktionelle Kapillardichte hingegen nimmt in der akuten Phase der Denervation ab (Banbury 1999). Das konnten wir in dieser Studie innerhalb der ersten Stunden auch bestätigen.

Diese erste Phase dauert bis zu zwei Stunden und zeichnet sich zusätzlich durch eine erloschene Reaktion der Gefäße auf vasoaktive Substanzen wie zum Beispiel Noradrenalin, Acetylcholin und ERDF aus (Banbury 1999). In anderen Studien hingegen konnten eine unveränderte Wirkung von vasoaktiven Substanzen oder EDRF nach Denervation gezeigt werden (Grant 1966; Gazdag 1993). Diese unterschiedlichen Ergebnisse können daran liegen, daß Grant kein in vivo Modell für diese Untersuchungen gebrauchte.

Die zweite Phase beginnt nach zwei Stunden bis zu 24 Stunden und hält bis zu 14 Tagen an. Es zeigt sich eine Dilatation der Gefäße bei unverändertem funktionellen Kapillarfluß (Siemionov 1994; Banbury 1999). Die Reaktion auf vasoaktive Substanzen ist immer noch nicht wiederhergestellt. Dieser Abschnitt kann auch als „nonadrenergic phase“ beschrieben werden. Ein Erklärungsversuch für diese Vorgänge greift die down-Regulation der Gefäßrezeptoren auf, bei der es durch die vorhergehenden Transmitterüberschuß zu einer Abnahme der Rezeptordichte kommt (Banbury 1999).

Nach ca. 14 Tagen steigt der Kapillarfluß wieder an und zeigt so den Beginn der dritten Phase auf. Es besteht nun eine gesteigerte Antwort der Gefäße auf vasoaktive Substanzen (Fleming 1988, Bentzer 1997, Banbury 1999). Ob diese

Reaktion nun durch eine up-Regulation von Rezeptoren durch Fehlen der Innervation hervorgerufen wird, ist nicht erwiesen aber durchaus möglich (Banbury 1999). Andere Autoren vermuten die Ursache dieser Hypersensitivität, die nicht substanz-spezifisch ist, in einer teilweisen Depolarisation der Zellmembranen aufgrund einer reduzierten Na^+/K^+ -ATPase Aktivität (Hershman 1993).

Ob sich diese positiven Auswirkungen in diesem Stadium der Denervation konservieren lassen, ist noch nicht bekannt, da 14 Tage den längsten beobachteten Zeitraum darstellen.

Die Arbeit von Borisov et al. dagegen untersuchte die totale Anzahl der Kapillaren nach Denervation. Sie konnte zeigen, daß das Verhältnis von Kapillaren zu Muskelzellen kontinuierlich über einen Zeitraum von 12 Monaten nach Denervation bis auf ca. 10% des Ausgangswertes abnimmt und danach bis zu sechs weiteren Monaten konstant bleibt (Borisov 2000).

Nach der Denervation trugen wir Lavasept[®] auf den Muskel auf um zu überprüfen, ob eine Denervation die Wirkung von Lavasept[®] verändert.

Die nachfolgende Lavasept[®]-Applikation erweiterte dann nach 60 Minuten die A_3 -Arteriolen nur gering und ohne Signifikanz. Die Durchmesser der A_1 -Arteriolen verringerte sich nach 60 Minuten signifikant. Nach insgesamt 120 Minuten kam es zu einer signifikanten Abnahme der Gefäßdurchmesser erster und zweiter Ordnung.

Auch bei der funktionelle Kapillardichte erzeugte die Applikation von Lavasept[®] nach der Denervation eine signifikante Abnahme der perfundierten Kapillaren nach einer Stunde, die aber zum Ende der Messungen wieder den Ausgangswert erreichte.

Diese Untersuchung zeigt, daß nach einer Denervation die gefäßerweiternde Wirkung von Lavasept[®] verändert ist. Nach der Denervation ist der Mechanismus der Gefäßweitenregulation über alle Arten der Gefäßrezeptoren unterbrochen. Da Lavasept[®] nicht mehr seine ursprüngliche Wirkung zeigt, läßt dies vermuten, daß Lavasept[®] über die Rezeptoren Einfluß auf die Mikrozirkulation nimmt.

Wie oben beschrieben sind die Kapillaren nicht innerviert, besitzen aber nach neuen Studien den α_{2D} -Rezeptor. Aber es kommt nicht zu der Lavasept[®]-

typischen Steigerung der funktionellen Kapillardichte. Man kann also davon ausgehen, daß Lavasept[®] zwar an den Rezeptoren wirkt, aber den α_{2D} -Rezeptor nicht beeinflusst.

5.5.2 Lokalanästhesie mit Bupivacain

Lokalanästhetika heben reversibel und örtlich begrenzt die Erregbarkeit der sensiblen Nervenendigungen und das Leitungsvermögen der sensiblen Nervenfasern auf. Diese Blockade ist nicht spezifisch und wirkt sich in hohen Konzentrationen auch auf die motorischen Nervenfasern aus.

Chemisch werden zwei Gruppen unterschieden:

1. Aminoamide
2. Aminoester.

Diese Verbindungen sind schwache Basen, die nur als saure Salze (Hydrochloride) wasserlöslich sind.

Ihr Wirkmechanismus beruht vor allem auf einer Herabsetzung der Membranpermeabilität für Kationen - besonders für Natrium - durch eine Blockade von Ionenkanälen. Dieses ist vergleichbar mit einer herabgesetzten Erregbarkeit der Nervenfasern, die bei steigenden Konzentrationen bis zu einer völligen Unerregbarkeit führen kann, da eine Erregung nur dann zustande kommt oder fortgeleitet wird, wenn durch einen plötzlichen Anstieg der Natriumpermeabilität das Membranruhepotential zusammenbricht. Durch die lipophilen Eigenschaften des nicht-ionisierten Anteils lagern sich die Lokalanästhetika in die Zellmembran ein und blockieren mit ihrem ionisierten Anteil, dem Kation, durch unspezifische Membranexpansion die Ionenkanäle. Bei den basischen Anästhetika herrscht nicht die Expansion sondern die Interaktion mit einer Bindungsstelle im Inneren der Ionenkanäle vor. In niedrigen Konzentrationen werden vornehmlich Natriumkanäle, in höheren Dosen auch Kaliumkanäle blockiert (Mutschler 1997).

Ein saures Milieu im Gewebe, z.B. bei Entzündungen, vermindert die Wirkung der Lokalanästhesie (Miliam 1984).

Die Applikation von Lokalanästhetika auf die Muskulatur wirkt sich durch ihren Einfluß auf die Ionenkanäle der Nerven- und glatten Muskelzellen auch auf die

Mikrozirkulation aus (Altura 1974). Der genaue Wirkmechanismus ist aber noch nicht bekannt (Geter 1986).

So konnte anhand von Lidocain gezeigt werden, daß Lokalanästhetika zu einer Dilatation von Gefäßen führen. Diese Wirkung ist konzentrationsabhängig. So führt 12 bis 20 prozentiges Lidocain zur maximalen Wirkung, während 8 prozentiges nur die Hälfte der maximal erreichbaren Wirkung erzielt und 2% weitgehend ineffektiv sind (Beekmann 1988).

Diese Gefäßerweiterung verläuft biphasisch. In der ersten Minute zeigt sich eine Konstriktion, die von einer andauernden Dilatation gefolgt wird (Haines 1987). Es konnte auch gezeigt werden, daß die Dilatation mit einer Erhöhung des kapillären Blutflusses einher geht.

Diese Reaktionen können auch bei anderen Anästhetika wie zum Beispiel Nicardipin besonders nach Verringerung des Blutflusses durch Mikroanastomosen beobachtet werden (Evans 1997).

In dieser Studie wurde Bupivacain als Lokalanästhetikum gewählt, das wie Lidocain zu den Lokalanästhetika vom Amidtyp gehört. Der Vorteil von Bupivacain ist seine lange Wirkdauer, die es für diese Versuche optimal geeignet macht. Dagegen zeigt sich bei Bupivacain keine deutliche Vasodilatation direkt nach der Applikation. Es kommt erst im weiteren Verlauf zu einer Erweiterung der Gefäße, bei der es bis zu 70 Minuten dauern kann, bevor signifikante Veränderungen auftreten (Geter 1986).

Nach Applikation von Bupivacain kam es in unserer Studie nach 60 Minuten zu keiner Veränderung der Arterioldurchmesser erster bis dritter Ordnung, tendenziell zu einer Vasokonstriktion. Ähnliche Ergebnisse konnte auch Johns beobachten, der die Auswirkungen von topisch appliziertem Bupivacain in verschiedenen Konzentrationen auf die Mikrozirkulation untersuchte (Johns 1986). Hier zeigte unsere gewählte Konzentration keine signifikanten Änderungen, allerdings wurde nur ein Zeitraum von 50 Minuten untersucht. Bei der funktionellen Kapillardichte hingegen kam es zu einer signifikanten Abnahme.

Die nachfolgende Lavasept[®]-Applikation kann dann über einen Zeitraum von zwei Stunden nicht die erwartete Dilatation der Gefäße bewirken. Es kommt im

Gegenteil zu einer Abnahme der Gefäßdurchmesser, die im Vergleich zu den Ausgangswerten bei den A_1 - und A_2 -Gefäßen nach 120 Minuten signifikant ist. Bei der funktionellen Kapillardichte führt das Lokalanästhetikum zu einer signifikanten Abnahme der perfundierten Kapillaren. Nach Lavasept[®]-Applikation zeigt diese weiterhin eine tendenzielle Abnahme und keine Zunahme wie nach der alleinigen Applikation von Lavasept[®].

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß die Blockade der Ionenkanäle mit der Wirkung von Lavasept[®] interferiert.

Für diese Wirkungen gibt es zwei Erklärungsansätze.

Erstens kann man vermuten, daß die Lavasept[®]-Wirkung neural, eventuell über Rezeptoren vermittelt, zustande kommt. Durch die Blockade der motorischen Nervenfasern durch Bupivacain könnte sich diese Wirkung nicht weiter entfalten.

Ein weiterer Erklärungsversuch schließt die starke kationische Ladung ein, die Lavasept[®] und andere Biguanide besitzen (Schäfer 1974). Sie verstärken den Kalium-Transport in Membranen. Nach Blockade der Ionenkanäle inklusive des Kaliumkanals blieb dann die gefäßerweiternde Wirkung von Lavasept[®] aus (Peuler 1999).

5.5.3 α -Rezeptoren-Blockade

Die Blockade der α -Rezeptoren, α_1 oder α_2 , führt zu einer Gefäßdilatation, da nach ihrer Blockade die adrenergen Transmitter über die nicht blockierten β -Rezeptoren zu einer Dilatation führt.

α -Antagonisten, die diese Reaktion auslösen sind zum Beispiel Phentolamin, Prazosin, Rauwolscin oder Yohimbin. Für jeden Rezeptor-Untertyp der α_1 - oder der α_2 -Rezeptoren sind pharmakologische Stoffe bekannt, die diesen speziellen Rezeptor-Untertyp blockieren.

Während Phentolamin an α_1 - und α_2 -Rezeptoren wirkt, beschränkt sich die Wirkung von Prazosin auf α_1 -Rezeptoren und die von Rauwolscin und Yohimbin auf α_2 -Rezeptoren (Abb. 32).

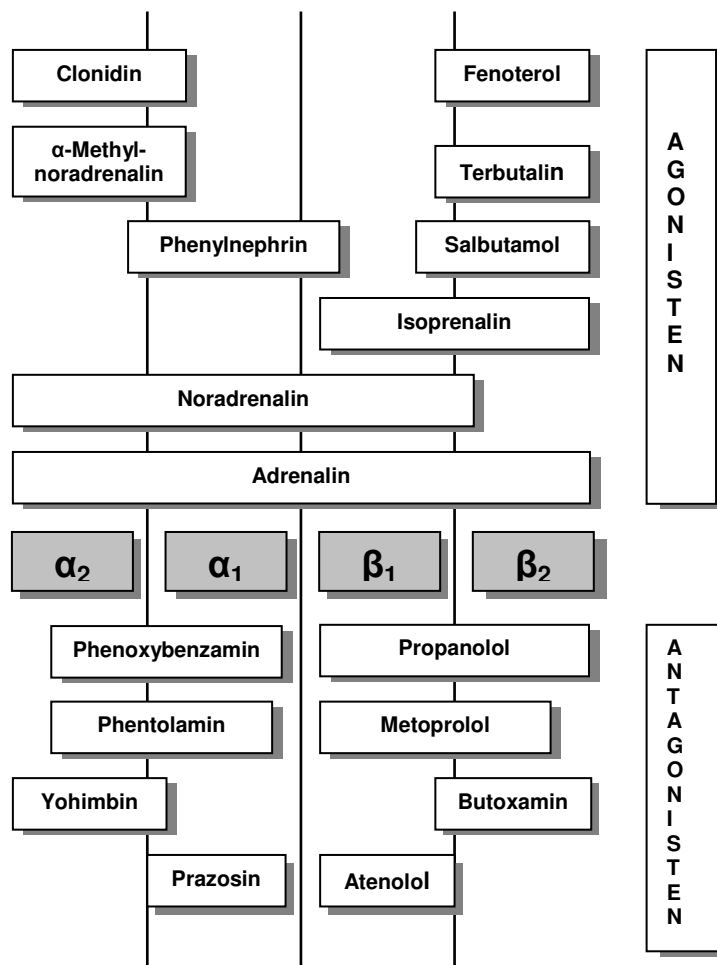


Abb. 32: Relative Rezeptorselektivität von Adrenozeptor-Agonisten und Antagonisten

Daraus läßt sich folgern, daß Phentolamin im Gegensatz zu Prazosin, Rauwolschin und Yohimbin auf alle Arteriolen Gruppen (A_1 bis A_3) sowie die Kapillaren und die Venolen einwirken kann.

In dieser Studie führte die Blockade der α -Rezeptoren durch Phentolamin nach 60 Minuten bei allen beobachteten Arteriolen-Gruppen zu einer Vasodilatation, die allerdings nicht signifikant war.

Diese Dilatation ist bei den A_1 -Arteriolen ausgeprägter als bei den A_2 - und A_3 -Arteriolen. Das läßt sich darauf zurückführen, daß die A_1 -Arteriolen mit α_1 -

Rezeptoren besetzt sind, die eine stärkere vasodilatorische Wirkung als die α_2 -Rezeptoren haben, die auf den kleineren Arteriolen zu finden sind.

Die funktionelle Kapillardichte hingegen nahm ab. Dies läßt sich damit erklären, daß durch die Blockade der α_{2D} -Rezeptoren der Endothelzellen die NO-Freisetzung vermindert wird, da es durch die anatomische Beschaffenheit der Kapillaren nicht zu einer gleichzeitigen direkten Vasodilation durch Blockade der α -Rezeptoren kommen.

Das nach der Blockade der α -Rezeptoren aufgebraachte Lavasept[®] erzeugte bei den A₁- A₂- und A₃-Arteriolen eine Vasokonstriktion, die bei allen Arteriolen nach 60 und nach 120 Minuten signifikant war (alle $p < 0,05$).

Diese Ergebnisse zeigen nicht nur einen Verlust der gefäßerweiternden Wirkung von Lavasept[®] durch α -Rezeptor-Blockade, sondern eine Umkehr ins Gegenteil. Dieselben Beobachtungen konnten auch schon bei dem Biguanid Metformin gemacht werden.

Die durch Lavasept[®] verursachte Gefäßerweiterung scheint über eine Inhibition der α -Rezeptor vermittelten Vasokonstriktion zustande zu kommen.

Wenn dies der Fall ist, müßte die alleinige Applikation von Lavasept[®] aber auch - wie bei Phentolamin allein - zu einer Abnahme der funktionellen Kapillardichte führen. In unseren Vorstudien konnte aber gezeigt werden, daß Lavasept[®] hier zu einer Zunahme führt. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, daß der α_{2D} -Rezeptor durch Lavasept[®] nicht blockiert wird und es so weiterhin zu einer NO-vermittelten Vasodilation kommen kann.

Nach der Blockade der α -Rezeptoren bewirkt Lavasept[®] bei der funktionellen Kapillardichte eine Abnahme der perfundierten Kapillaren. Hierbei zeigen sich keine Signifikanzen. Auch hier kommt es durch Blockade der α -Rezeptoren dazu, daß Lavasept[®] nicht zu einer Zunahme der funktionellen Kapillardichte führen kann.

Diese Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß Lavasept[®] alle α -Rezeptoren bis auf den α_{2D} -Rezeptor blockiert, was man auch aus den Ergebnissen der Denervations-Gruppe schließen kann.

Diese Blockade der α -Rezeptoren durch Lavasept[®] führt zwar lokal zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation, ist aber auch kritisch zu beobachten. Der

bei der Behandlung Schwerbrandverletzter durchgeführte großflächige Einsatz von Lavasept® kann theoretisch auch zu einer systemischen Blockade von α -Rezeptoren führen und so die Kreislaufregulation negativ beeinflussen. Die Folgen dieser Beeinflussung des Kreislaufes sind nicht abzusehen.

5.5.4 β -Rezeptoren-Blockade

Werden die β -Rezeptoren blockiert, führt dies über eine vermehrte Wirkung von Noradrenalin an den α -Rezeptoren zu einer Konstriktion der Gefäße. Atenolol ist ein selektiver β_1 -Antagonist und Butoxamin nimmt Einfluß auf β_2 -Rezeptoren. Metoprolol ist ein β_1 -Antagonist, der in höherer Konzentration auch β_2 -Rezeptoren blockiert (Abb. 32). Dagegen wird der β_3 -Rezeptor von Metoprolol nicht beeinflusst.

In dieser Arbeit konnten wir zeigen, daß die Applikation von Metoprolol nach 60 Minuten zu einer Konstriktion der Arteriolen erster bis dritter Ordnung führt. Diese Vasokonstriktion zeigte bei den A_3 -Gefäßen eine statistische Signifikanz. Die funktionelle Kapillardichte nahm auch signifikant ab.

Die Applikation von Lavasept® führte zu keiner Steigerung der Arteriolendurchmesser. In den ersten 60 Minuten blieben diese eher konstant. Bei den Arteriolen dritter Ordnung fand sich eine signifikante Abnahme der Durchmesser nach 60 und 120 Minuten. Weiterhin zeigten die Arteriolen 1. Ordnung eine signifikante Abnahme nach 120 Minuten.

In dieser Gruppe wurden erst die β -Rezeptoren blockiert. Es wird vermutet, daß das aufgebrauchte Lavasept® die α -Rezeptoren blockiert. In diesem Fall wären alle Gefäßrezeptoren blockiert und es würde zu keiner weiteren Veränderung der Gefäßdurchmesser kommen. Genau dies konnten wir in diesem Versuch nachweisen. Die Arteriolendurchmesser 1. und 2. Ordnung zeigten keine Änderungen. Die Arteriolendurchmesser 3. Ordnung zeigen dagegen sogar eine signifikante Abnahme. Da die kleinen A_3 -Arteriolen besonders mit α_2 -Rezeptoren besetzt sind und bereits vermutet wurde, daß Lavasept® nicht die α_{2D} -Rezeptoren blockiert, könnte dort Noradrenalin über die α -Rezeptoren zu einer Konstriktion führen.

5.6 Schlußfolgerung

Die Verbesserung der Mikrozirkulation durch Erweiterung der Arteriolen und Erhöhung der funktionellen Kapillardichte ist neben der ursprünglichen antiinfektiven Wirkung von Lavasept® ein Faktor, der die Wundheilung zusätzlich positiv beeinflussen könnte.

Die Mechanismen, mit denen Lavasept® die Mikrozirkulation beeinflusst, sind vielfältig. Sicher kann man sagen, daß die Gefäßrezeptoren einen wichtigen Faktor darstellen.

Unsere Untersuchungen legen nahe, daß die Wirkung über eine α -Rezeptor-Blockade – mit Ausnahme des α_{2D} -Rezeptors – vermittelt wird. Um dies zu beweisen müßten aber noch weitere Untersuchungen mit selektiven α -Rezeptoren-Antagonisten erfolgen.

Weiterhin konnte in dieser Studie gezeigt werden, daß die lokale Applikation verschiedener in der Intensivmedizin gebräuchlicher Substanzen wie α - und β -Blocker, sowie Lokalanästhetika und Denervation keine gefäßerweiternde Wirkung im Muskel zeigt und die Anzahl der perfundierten Kapillaren nicht erhöht. Eine Anwendung zur Verbesserung der Mikrozirkulation ist daher nicht zu empfehlen.

6. Zusammenfassung

Bei der Behandlung akuter und chronischer Wunden sind verschiedene Medikamente neben der chirurgischen Therapie im Einsatz. Neben den Antibiotika haben sich die lokalen Antiinfektiva aufgrund geringerer systemischer Nebenwirkung und Resistenzentwicklung immer mehr in den Vordergrund gedrängt. Während ihre mikrobiozide Wirkung und ihre Gewebeverträglichkeit hinreichend untersucht sind, ist ihre Wirkung auf die Mikrozirkulation, die einen entscheidenden Einfluß auf die Wundheilung ausübt, weitgehend unerforscht.

Am Beispiel des Antiinfektivum Lavasept[®] sollte in dieser Arbeit ein möglicher Wirkmechanismus aufgezeigt werden. Lavasept[®] wurde ausgewählt, da sein wirksamer Bestandteil Polihexanid, ein Biguanid ist. In Anlehnung an die Studien über andere Biguanide, die eine α -rezeptorvermittelte Gefäßerweiterung verursachen, wurde der Versuchsaufbau dieser Arbeit gestaltet.

Um eine offene Wunde zu simulieren, wurde der Cremastermuskel der Ratte, der ein etabliertes Modell der Mikrozirkulationsforschung darstellt, gewählt. Nachdem in Vorstudien bereits eine signifikante Erweiterung der Gefäße sowie einer Erhöhung der funktionellen Kapillardichte durch Lavasept[®] nachgewiesen werden konnte, wurde jetzt der genaue Wirkmechanismus untersucht. Dazu wurde in vier verschiedenen Gruppen der Cremastermuskel durch eine Denervation, eine Hemmung der motorischen Muskelplatte durch ein Lokalanästhetikum, eine β -Rezeptorblockade sowie durch eine Blockade der α -Rezeptoren vorbehandelt. Danach wurde die Wirkung von Lavasept[®] über einen Zeitraum von zwei Stunden beobachtet.

Die Denervierung zeigt keinen Einfluss auf die Gefäßweite, die Anzahl der perfundierten Kapillaren nimmt signifikant ab ($p < 0,05$). Die nachfolgende Lavasept[®] Applikation führt zu einer Abnahme der Arterioldurchmesser A_1 bis A_3 , die signifikant bei A_1 nach 60 und 120 Minuten und bei A_2 nach 120 Minuten ist, sowie zu einer signifikanten Abnahme der FKD, die aber wieder auf den Ausgangswert ansteigt, ($p < 0,05$). Die Arterioldurchmesser bleiben nach Bupivacain Gabe konstant, die FKD zeigt eine signifikante Abnahme ($p < 0,05$).

Nach Lavasept® Applikation kommt es dann nach 120 Minuten bei den Arterioldurchmessern A_1 und A_2 zu einer signifikanten Abnahme. Phentolamin führt tendenziell zu einer Vasodilation, die FKD bleibt konstant. Lavasept® nach vorheriger α -Rezeptor-Blockade vermittelt eine signifikante Abnahme aller Gefäßdurchmesser ($p < 0,05$) und eine nicht signifikante Abnahme der FKD ($p < 0,05$). Die Applikation von Metoprolol führt zu einer signifikanten Abnahme der Arterioldurchmesser A_3 und der FKD ($p < 0,05$). Lavasept® nach erfolgter Blockade der β -Rezeptoren verändert die Arterioldurchmesser A_1 und A_2 nicht, die A_3 -Durchmesser sowie die FKD zeigen eine signifikante Abnahme ($p < 0,05$).

Diese Ergebnisse zeigen, daß die lokale Applikation verschiedener in der Intensivmedizin gebräuchlicher Substanzen wie α - und β -Blocker, sowie Lokalanästhetika und Denervation zu keiner gefäßerweiternden Wirkung im Muskel beiträgt und die Anzahl der perfundierten Kapillaren nicht erhöht. Teilweise zeigte sich sogar eine Verschlechterung der mikrozirkulatorischen Parameter. Eine Anwendung mit dem Ziel der Verbesserung der Mikrozirkulation ist daher nicht zu empfehlen.

Nach dieser Arbeit können nun auch Aussagen zu einem potentiellen Wirkmechanismus von Lavasept® gemacht werden.

Unsere Untersuchungen legen nahe, daß die Wirkung über eine α -Rezeptor-Blockade – mit Ausnahme des α_{2D} -Rezeptors – vermittelt wird. Um dies zu beweisen müßten aber noch weitere Untersuchungen mit selektiven α -Rezeptoren-Antagonisten erfolgen.

7. Literaturverzeichnis

1. Altura, B.M., Altura, B.T.
Effects of local anaesthetics, antihistamines, and glucocorticoids on peripheral blood flow and vascular smooth muscle.
Anaesthesiology 41, 197 (1974)
2. Anderson, G.L., Acland, R.D., Siemionov, M., McCabe, S.J.
Vascular isolation of the rat cremaster muscle.
Microvasc. Res. 36, 56-63 (1988)
3. Angus, J.A., Cocks, T.M., Satoh, K.
The alpha adrenoceptors on endothelial cells.
Fed. Proc. 45(9), 2355-2359 (1986)
4. Baez, S.
An open cremaster muscle preparation for the study of blood vessels by in vivo microscopy.
Microvasc. Res. 5, 384-394 (1973)
5. Banbury, J., Siemionow, M., Porvasnik, S., Petras S., Zins, J.E.
Muscle flaps' triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation.
Plast. Reconstr. Surg. 104(3), 730-737 (1999)
6. Barker J.H., Acland, R.D., Anderson, G.L., Patel, J.
Microcirculatory disturbances following the passage of emboli in an experimental free-flap model.
Plast. Reconstr. Surg. 1, 95-102 (1992)
7. Beekman, W.H., Sluimers, J.E., Kort, W.J., van der Meulen, C.J.
Resolution of experimental microvascular vasoconstriction in rats by topical application of lidocaine hydrochloride in varying concentrations.
Ann. Plast. Surg. 21(6), 570-5 (1988)
8. Benkovic C., Homann H.H., Mühlberger T., Peter F.W., Vogt, P.M., Steinau H.U.
Einfluß verschiedener Antiseptika auf die Mikrozirkulation des M. cremaster der Ratte
Vortrag anläßlich des 31. Jahreskongresses der Vereinigung der Deutschen Plastischen Chirurgen (VDPC) 2000 in Magdeburg
9. Bentzer, P., Nielsen, N., Arner, M., Danielsen, N., Ekblad, E., Lundborg, G., Arner, A.
Supersensitivity in rat micro-arteries after short-term denervation.
Acta. Physiol. Scand. 161(2), 125-33 (1997)

10. Bienz, R., Roth, B.
Lokale antiseptische Ulcus cruris Therapie mit Lavasept[®]-Lösung
In: Wassel, P., Gerngroß
Moderne Wundbehandlung, Kap. 11
Springer Verlag
Berlin 1998
11. Bockmann, C.S., Jeffries, W.B., Abel, P.W.
Binding and functional characterization of α_2 adrenergic receptor subtypes
on pig vascular endothelium.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 267, 1126-1133 (1993)
12. Borisov, A.B., Huang, S.K., Carlson, B.M.
Remodeling of the vascular bed and progressive loss of capillaries in
denervated skeletal muscle.
Anat. Rec. 258(3), 292-304 (2000)
13. Bruck, J.C., Koch, S., Kramer, A.
Wirksamkeit von Lavasept[®] auf granulierenden bzw. epithelisierenden
Wunden – Klinische und histologische Untersuchungen
Hgy Med 25(1), 46 (2000)
14. Chan, A.C.N., Tomlison, B., Crichtley, J.A.J., Cockram, C.S., Walden,
R.J.
Metabolic and hemodynamic effects of metformin and glibenclamide in
normotensive NIDDM patients.
Diabetes Care 16, 1035-1038 (1993)
15. Chen, L.E., Seaber, A.V., Bossen, E., Urbaniak J.R.
The effect of acute denervation on the microcirculation of skeletal
muscle: rat cremaster model.
J. Orthop. Res. 9(2), 266-274 (1991)
16. Chen, L.E., Seaber, A.V., Otto-Hgen, P., Urbaniak, J.R.
The Effect of Endothelin I on Muscle Microcirculation and its Attenuation
by Verapamil.
J. Reconstr. Microsurg. 9, 49-54 (1993)
17. Colantuoni, A., Bertuglia, S., Intaglietta, M.
Quantitation of rhythmic diameter changes in arterial microcirculation.
Am. J. Physiol. 264, 508-517 (1984)
18. Concepcion, M., Covino, B.G.
Rational use of anaesthetics.
Drugs 27, 256-270 (1984)
19. Dahmen, K., Müller, S.
Lokalanästhetika
In: Dresdener online Anästhesiematerial 1997-1999.
www.tu-dresden.de/medkai/969709.pdf

20. Davies, M.G., Hagen, P.-O.
The vascular endothelium: A new horizon.
Ann. Surg. 218(5), 593-609 (1993)
21. Dell, P.C., Seaber, A.V., Urbaniak, J.R.
The effect of systemic acidosis on perfusion of replanted extremities.
J. Hand. Surg. (Am) 5(5), 433-442 (1980)
22. Evans, G.R.D., Gheradini, G., Gürlek, A., Langstein, H., Joly, G.A.,
Cromeens, D.M., Sukumaran, A.V., Williams, J., Kilbourn, R.G., Wang,
B., Lundeborg, T.
Drug-induced vasodilatation in an in vitro and in vivo study: The effects of
nicardipine, papaverine, and lidocaine on the rabbit carotid artery.
Plast. Reconstr. Surg. 100(6), 1475-1481 (1997)
23. Faber, J.E.
In situ analysis of α -adrenoreceptors on arteriolar and venular smooth
muscle cell in rat skeletal muscle microcirculation.
Circ. Res. 62, 37-50 (1988)
24. Fleischhauer, K.
Die Organe des Kreislaufs (Angiologia).
In: Fleischhauer, K., ed.
Benninghoff. Makroskopische und mikroskopische Anatomie des
Menschen.
Urban & Schwarzenbeck, 14th edition, 1-43
München, Wien, Baltimore 1985
25. Fleming, B.P.
Innervation of the microcirculation.
J. Reconstr. Microsurg. 4(3), 237-240 (1988)
26. Folkow, B.
Autoregulation in muscle and skin.
Circ. Res. 14(1), 114-119 (1964)
27. Fresenius AG Schweiz
Lavasept[®] Konzentrat - Das bakterizide, gewebefreundliche
Wundantiseptikum, Produktinformation Antiinfektiva (1994)
28. Fulton, G.P.
Structure and function of the microvascular system.
In: Malinin, T.I., Linn, B.S., Callahan, A.B., Warren, W.D., eds.
Microcirculation, perfusion, and Transplantation of Organs.
Academic Press, 9-21
New York, London 1970
29. Furchgott, R.F., Zawadski, J.V.
The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth
muscle by acetylcholine.
Nature 288 (5789), 373-376 (1980)

30. Gaethgens, P.
Das Kreislaufsystem
In: Klinke, R., Silbernagel, S. (Hrsg.)
Lehrbuch der Physiologie
Georg Thieme Verlag
Stuttgart, New York 1996
31. Gazdag, A., Chen, L., Hagen, P.O., Seaber, A.V., Urbaniak, J.R
Effect of denervation on endothelium-derived relaxing factor-dependent relaxation in the rat cremaster muscle.
Microsurg. 14(8), 494-500 (1993)
32. Geter, R.K., Winter, R.R.W., Puckett, C.L.
Resolution of experimental microvascular spasm and improvement in anastomotic patency by direct topical agent application.
Plast. Reconstr. Surg. 77, 105-115 (1986)
33. Gisbert, R., Noguera, M.A., Ivorra, M.D., D'Ocon, P.
Functional evidence of a constitutively active population of α_{1D} -adrenoceptors in rat aorta.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 295, 810-817 (2000)
34. Giugliano, D., De Rosa, N., Di Maro, G., Marfella, R., Acampora, R., Buoninconti, R. D'Onofrio, F.
Metformin improves glucose, lipid metabolism, and reduces blood pressure in hypertensive obese women.
Diabetes Care 16, 1387-1390 (1993)
35. Görtz, G., Borchard, F.
Fettgewebsnekrosen nach intraabdomineller PVP-Jod-Instillation – Experimentelle Untersuchungen
In: Hierholzer, G., Görtz, G.
PVP-Jod in der operativen Medizin
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1984 S.192
36. Grant, R.T.
Direct observation of skeletal muscle blood vessels (rat cremaster).
J. Physiol. 172, 123-137 (1964)G
37. Grant, R.T.
Effect of denervation on skeletal muscle blood vessels (rat cremaster).
J. Anat. 100, 305-312 (1966)
38. Greenfield, D.M.
Blood flow through the human forearm and digits as influenced subatmospheric pressure venous pressure.
Circ. Res. 14, 170-175 (1964)

39. Guimaraes, S., Moura, D.
Vascular adrenoceptors: An update.
Pharmacol. Rev. 53 (2), 319-356 (2001)
40. Haddy, F.J., Scott, J.B., Effects of flow rate, venous pressure, metabolites, and oxygen upon resistance to blood flow through the dog forelimb.
Phys. Rev. 48, 688-707 (1964)
41. Haines, P.C., Ranzoni, J., Longnecker, D.E., Morgan, R.F.
Effects of lidocaine concentration on distal capillary blood flow in a rabbit ear model.
Microsurg. 8(2), 54-56 (1987)
42. Harris, P.D., Longnecker, D.E., Greenwald, E.K., Miller, F.N.
Small vessel constriction in the rat cremaster muscle during the early phase of moderate hemorrhagic hypotension.
Microvasc. Res. 10, 29-37 (1975)
43. Harris, A.G., Hecht, R., Peer, F., Nolte, D., Messmer, K.
An improved intravital microscopy system.
Int. J. Microcirc. 17, 322-327 (1997)
44. Hershmann, K.M., Taylor, D.A., Fleming W.W.
Adaptive supersensitivity in the guinea pig vas deferens is associated in the abundance of the alpha 2 subunit isoform of Na⁺/K⁺-ATPase
Mol. Pharmacol. 43, 833-837 (1993)
45. Hill, M.A., Trippe, M.A., Li, Q.X., Meininger, G.A.
Altered cremaster muscle hemodynamics due to disruption of the deferential feeding vessels.
Microvasc. Res. 39, 349-363 (1990)
46. Hill, M.A., Trippe, M.A., Li, Q.X., Meininger, G.A.
Arteriolar arcades and pressure distribution in cremaster muscle microcirculation
Microvasc Res 44, 117-124 (1992)
47. Hill, M.A., Meininger, G.A.,
Skeletal muscle microcirculation.
In: Barker, J.H., G.L. Anderson und M. Menger, eds.
Clinically applied microcirculation research.
CRC Press, 297-314
Boca Raton, New York, London, Tokyo 1995
48. Homann, H.-H., Rothstein, D., Langer, S.
Akzidentielle Infusion eines Antiseptikums (Lavasept[®]) bei einem Schwerbrandverletzten.
Anästhesiologie & Intensivmedizin 43, 347-349 (2002)

49. Johns, R.A., Seyde, W.C., DiFazio, C.A., Longnecker, D.E.
Dose-dependent effects of bupivacaine on rat muscle arterioles.
Anesthesiology 65, 186-191 (1986)
50. Kallenberger, A., Kallenberger, C., Willenegger, H.
Experimentelle Untersuchungen zur lokalen Gewebeverträglichkeit von
Antiseptika
Hyg. Med. 16, 383-395 (1991)
51. Knoll, E., Köhler, E.
Lokalanästhesie in der Zahnmedizin.
Zahnärztl. Mitteil. 81, 2370-2375 (1991)
52. Kramer, A., Adrian, V., Adam, C.
Vergleich der Toxizität von Lavasept® und ausgewählten Antiseptika
Hyg. Med. 18, 9-16 (1993)
53. Kramer, A., Adrian, V., Rudolph, P., Wurster, S., Lippert, H.
Explantationstest mit Haut und Peritoneum der neonatalen Ratte als
Voaussagetest zur Verträglichkeit lokaler Antiinfektiva für Wunden und
Körperhöhlen
Der Chirurg 69, 840-845 (1998)
54. Kühl, H., Kramer, A., Moll, E.
Alternative Toxizitätsprüfung von Polihexanid und PVP-Jod im
Kresstest.
Hyg Med 19, 190-197 (1994)
55. Lähteenmäki, T.
The regeneration of adrenergic nerves in a free microvascular groin flap in
the rat.
Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 20, 183-188 (1986)
56. Lee, J.M., Peuler, J.D.
Acute vasorelaxant effects of metformin and attenuation by stimulation of
sympathetic agonist release.
Life Science 64(4), 57-63 (1999)
57. Lee J.M., Peuler, J.D.
A possible indirect sympathomimetic action of metformin in the arterial
vessel wall of spontaneously hypertensive rats.
Life Science 69, 1085-1092 (2001)
58. Leech, C.J., Faber, J.E.
Different alpha-adrenoceptor subtypes mediate constriction of arterioles
and venules.
Am. J. Physiol. 270(2 Pt 2), H710-H722 (1996)
59. Levin, E.R.
Endothelins.
New Engl. J. Med. 333, 356-362 (1995)

60. Liu, W., Varner, K.J., Kapusta, D.R., Petersen, J.S.
Metformin decreases renal, but not adrenal sympathetic nerve discharge.
FASEB J. 10, A700 (1996)
61. Majno, G., Palade, G.E.
Studies on Inflammation. I. The effect of histamine and serotonin on
vascular permeability: An electron microscopic study.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 11, 571-605 (1961a)
62. Majno, G., Palade, G.E., Schaeffl, G.I.
Studies on Inflammation. II. The site of action of histamine and serotonin
on along the vascular tree: A topographic study.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 11, 607-626 (1961b)
63. McDermott, T.P., Hagen, P.O., Seaber, A.V., Urbaniak, J.R.
Endothelium dependent relaxation of vasospasm in the rat cremaster
muscle.
Transactions of the 37th Annual ORS Meeting 16(1), 63 (1991)
64. McLennan I.S., MacDonald, R.E.
Prostaglandin synthase and prostacyclin synthase in mature rat skeletal
muscle: immunohistochemical localisation to arterioles, tendons and
connective tissue.
J. Anat. 178, 243-53 (1991)
65. Meininger, G.A., Fehr, K., Yates, M.B.
Anatomic and hemodynamic characteristics of the blood vessels feeding
the cremaster skeletal muscle in the rat.
Microvasc. Res. 33, 81-97 (1987)
66. Messing, M.W., van Essen, H., Struyker Boudier, H.A.
Effects of alpha-adrenoceptor antagonists on striated muscle
microcirculation of conscious rats.
Drugs 40 Suppl. 4(5 Pt 2), 31-33 (1990)
67. Miliam, S.B., Giovannitti, J.A.
Local anaesthetics in dental practice.
Dent. Clin. North Am. 28, 493-508 (1984)
68. Miller, J.A., Peuler, J.D.
Rapid vasorelaxation by high levels of metformin.
FASEB J, A700 (1996)
69. Midrio, M., Corsi, A., Granata, A.L.
Early effects of nerve section on the blood flow of skeletal muscle.
Am. J. Physiol. 214, 287-293 (1968)
70. Muntzel, M.S., Abe, A., Petersen, J.S.
Effects of adrenergic, cholinergic and ganglionic blockade on acute
depressor responses to metformin in spontaneously hypertensive rats.
J. Pharmacol. Experimental. Therapeutics 281(2), 618-623 (1997)

71. Mutschler, E., Schäfer-Korting, M.
Arzneimittelwirkungen
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH
Stuttgart 1997
72. Nishigaki, K., Faber, J.E., Ohyanagi, M.
Occlusion of cremaster collateral circulation alters microvascular reactivity.
Microvasc. Res. 41(2), 173-183 (1991)
73. Nolte, D., Zeintl, D., Steinbauer, M., Pickelmann, S., Messmer, K.,
Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion?
Int. J. Microcirc. Clin. Exp. 15, 244-249 (1995)
74. Pearl, R.M.
A unifying theory of the delay phenomenon: Recovery from the hyperadrenergic state.
Ann. Plast. Surg. 7, 102 (1981)
75. Peter, F.W.
Untersuchungen zum Einfluss pharmakologisch modulierter Thrombozyten und Leukozyten auf Durchblutung, Thrombogenese und Immunantwort in der terminalen Strombahn und an mikrovasculären Anastomosen.
Medizinische Habilitation an der medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität-Bochum (1997)
76. Peter, F.W., Li-Peuser, H., Vogt, P.M., Mühlberger, T., Homann, H.H., Steinau, H.U.
The effect of wound ointments on tissue microcirculation and leucocyte behavior.
Clin. Exp. Dermatol. 27(1), 51 (2002)
77. Petersen, J.S., DiBona, G.F.
Acute sympathoinhibitory actions of metformin in spontaneously hypertensive rats.
Hypertension 27, 619-625 (1996)
78. Piascik, M.T., Guarino, R.D., Smith, M.S., Soltis, E.E., Saussy, D.L., Perez, D.M.
The specific contribution of the novel α_{1D} -adrenoceptor to the contraction of vascular smooth muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 275, 1583-1589 (1995)
79. Richard, V., Tanner, F.C., Tschudi, M., Luscher, T.F.
Different activation of L-arginine pathway by bradikinin, serotonin, and clonidine in coronary arteries.
Am. J. Physiol. 259, H1433-H1439 (1990)

80. Roth, B., Bienz, R., Dora, C.
Lokale antiseptische Therapie des diabetischen Fußes.
In: Wassel, P., Gerngroß
Moderne Wundbehandlung, Kap. 26
Springer Verlag
Berlin 1998.
81. Sakanashi, M., Hiraki, I.
Effects of vasodilators on microcirculation of the rat cremaster muscle: a
microscopic method for screening drugs.
Jpn. J. Pharmacol. 29(1), 125-131 (1979)
82. Schäfer, G.
Interactions of biguanids with mitochondrial and synthetic membranes.
Eur. J. Biochem. 45, 57 (1974)
83. Schmit-Neuerburg, K.P., Bettag, C., Schlickewei, W., Fabry, W., Hanke,
J., Renzing-Köhler, K., Hirche, H., Kock, H.-J.
Wirksamkeit eines neuartigen Antisepticums in der Behandlung
kontaminierter Weichteilwunden
Der Chirurg 72, 61-71 (2001)
84. Seller, H.
Neurovegetative Regulation
In: Klinke, R., Silbernagel, S. (Hrsg.)
Lehrbuch der Physiologie
Georg Thieme Verlag, 2. Auflage
Stuttgart, New York 1996
85. Siemionow, M., Andreasen, T., Chick, L., Lister, G.
Effect of muscle flap denervation on flow hemodynamics: a new model
for chronic in vivo studies.
Microsurg. 15(12), 891-894 (1994)
86. Skripitz, R., Werner, H.P.
Bakterizide Langzeitwirkung ausgewählter Antiseptika.
Hyg. Med. 17, 51 (1994)
87. Stroinska-Kusiowa, B.
Microangiographic studies of denervated, reinnervated and hypertrophic
muscles of rats.
J. Neurol. 220(1), 65-70 (1979)
88. Strosberg, A.D.
Structure and function of the β_3 -adrenoceptor.
Adv. Pharmacol. 42, 511-513 (1998)
89. Trochu, J.N., Leblais, V., Rautureau, Y.
 β_3 -adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially
by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta.
Br. J. Pharmacol. 128(1), 69-76 (1999)

90. Vane, J.R., Aenggard, E.E., Botting, R.M.
Regulatory functions of the vascular endothelium.
N. Engl. J. Med. 323, 27-36 (1990)
91. Vanhoutte, P.M., Miller, V.M.
 α_2 -adrenoceptors and endothelium-derived relaxing factor.
Am. J. Med. 87, 1S-5S (1989)
92. Velaquez, E.M., Mendoza, S., Hamer, T., Sosa, F., Glueck, C.J.
Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces
hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic
blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy.
Metabolism 43, 647-654 (1994)
93. Verma, S., Bhanot, S., McNeill, J.H.
Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed, hyperinsulinemic,
hypertensive rats.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 217, 1334-1337 (1994a)
94. Verma, S., Bhanot, S., McNeill, J.H.
Metformin decreases plasma insulin levels and systolic blood pressure in
spontaneously hypertensive rats.
Am. J. Physiol. 267, III250-III253 (1994b)
95. Werner, H.P.
Die mikrobiozide Wirksamkeit ausgewählter Antiseptika
Hyg. Med. 17, 51-59 (1992)
96. Wiedemann, B., Bagel, S.
Gutachterliche Stellungnahme zur in-vitro Wirksamkeit von Lavasept®
Pharmazeutische Mikrobiologie, Bonn (1999)
97. Wiegmann, D.L., Miller, F.N., Harris, P.D.
Modification of α -adrenergic responses of small arteries by altered pCO₂
and pH.
Eur. J. Pharmacol. 57, 307-315 (1979)
98. Willenegger H.
Lokale Antiseptika in der Chirurgie – Wiedergeburt und
Weiterentwicklung
Unfallchirurgie 20, 94-110 (1994a)
99. Willenegger H.
Klinische Erfahrungen mit einem neuen Antiinfectivum
Hyg. Med. 19, 227 (1994b)
100. Yu, J., Tyml, K.,
Capillary adrenoceptors in rat skeletal muscle.
Microvasc. Res. 53(3), 235-244 (1997)

8. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen:

- Abbildung 1: Schematische Darstellung der kompletten Meßapparatur:
1. Versuchstier mit präpariertem Cremaster unter dem Meßmikroskop; 2. Videokamera; 3. Monitor; 4. Videorecorder; 5. Temperaturmeßgerät; 6. Blutdruckmeßgerät
- Abbildung 2: Präparierter, entfalteter und an seinem Gefäßstiel isolierter M. cremaster
- Abbildung 3: Versuchstier mit präpariertem und aufgespanntem M. cremaster unter dem Intravitalmikroskop mit sämtlichen Meßapparaturen (Durchlichtmikroskop, Videokamera, Monitor, Blutdruck- und Temperaturmeßgerät). Auf dem Monitor ist eine Arteriole 2. Ordnung mit dem Abgang einer A₃-Arteriole sichtbar.
- Abbildung 4: Erfasste Parameter der Untersuchung der Mikrozirkulation. Oben: Funktionelle Kapillardichte mit neun Gesichtsfeldern. Unten: Durchmesser der Arteriolen (hier am Beispiel der A₃-Arteriole).
- Abbildung 5: Arteriolendurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Denervation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n = 15, D = Denervation
- Abbildung 6: Arteriolendurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Bupivacain-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n = 12, B = Bupivacain-Applikation
- Abbildung 7: Arteriolendurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Phentolamin-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n = 12, P = Phentolamin-Applikation
- Abbildung 8: Arteriolendurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Metoprolol-Applikation im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, n = 12, M = Metoprolol-Applikation (p < 0,05 bei *)
- Abbildung 9: Änderung der funktionellen Kapillardichte (FKD) nach Phentolamin-, Metoprolol-, und Bupivacain-Applikation sowie nach Denervation im Vergleich zur Kontrollgruppe,

P = Pretreatment ($p < 0,05$ bei *)

- Abbildung 10: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Denervation und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 9 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 11: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Denervation und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 9 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 12: Arterioldurchmesser 3. Ordnung nach Denervation und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 9
- Abbildung 13: Funktionelle Kapillardichte nach Denervation und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und Lavasept[®]-Gruppe, n = 9 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 14: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Bupivacain- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 15: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Bupivacain- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 16: Arterioldurchmesser 3. Ordnung nach Bupivacain- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und Lavasept[®]-Gruppe, n = 6
- Abbildung 17: Funktionelle Kapillardichte nach Bupivacain- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und Lavasept[®]-Gruppe, n = 6
- Abbildung 18: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe und vs. Lavasept[®]-Gruppe)
- Abbildung 19: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 ($p < 0,05$ bei * vs. Kontroll-Gruppe und vs. Lavasept[®]-Gruppe)
- Abbildung 20: Arterioldurchmesser 3. Ordnung nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-

- Gruppe, n = 6 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe und vs. Lavasept[®]-Gruppe)
- Abbildung 21: Funktionelle Kapillardichte nach Phentolamin- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6
- Abbildung 22: Arterioldurchmesser 1. Ordnung nach Metoprolol- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 23: Arterioldurchmesser 2. Ordnung nach Metoprolol- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6
- Abbildung 24: Arterioldurchmesser 3. Ordnung nach Metoprolol- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p<0,05 bei * vs. Kontroll-Gruppe)
- Abbildung 25: Funktionelle Kapillardichte nach Metoprolol- und Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll- und zur Lavasept[®]-Gruppe, n = 6 (p<0,05 bei * vs. Lavasept[®]-Gruppe)
- Abbildung 26: Schematisierte Anatomie der Inguinalregion der Ratte (in Anlehnung an Meininger 1987)
- Abbildung 27: Arterioldurchmesser 1. bis 3. Ordnung nach Lavasept[®]-Gabe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (p<0,05 bei *)
- Abbildung 28: Strukturformel von Polihexanid
- Abbildung 29: Strukturformel Metformin
- Abbildung 30: Adrenerge Übertragung
- Abbildung 31: Signaltransduktion der α - und β -Rezeptoren
- Abbildung 32: Relative Rezeptorselektivität von Adrenozeptor-Agonisten und Antagonisten

Tabellen:

- Tabelle 1: Gruppeneinteilung Denervation und Lavasept[®] (LS)
- Tabelle 2: Gruppeneinteilung Bupivacain (B) und Lavasept[®] (LS), Phentolamin (P) und LS, Metoprolol (M) und LS

9. Anhang

9.1 Aufzeichnungsblatt zur Datenerfassung

| Datum: | | | | | Gruppe: | | | | | |
|--|--------------|------------------|----------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|--|--|--|-------------|
| OP-Beginn: | | | | | Tier (#): | | | | | |
| Beginn 1. Messung: | | | | | Gewicht: | | | | | |
| Ende des Versuchs: | | | | | Initialdosis (Narcoren®): | | | | | |
| Zeit (min) | RR (mmHg) | T(°C) gastral | T(°C) crem. | Ø A1 (in cm) | Ø A3 (in cm) | Ø A3 (in cm) | Funktionelle Kapillardichte (in Kap./mm ²) | | | (MW) FKD |
| 0 | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| Graphische Darstellung des Gefäßverlaufs: | | | | | | | | | | |

10. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. H.-U. Steinau, meinem verehrtem Chef, danke ich für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Arbeit an seiner Klinik und die Vergabe der Thematik dieser Arbeit sowie seine wertvollen Anregungen und Hinweise, die zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

Herrn Dr. med. H.-H. Homann danke ich für seine Unterstützung und Betreuung, die das Gelingen dieser Arbeit ermöglichten. Er brachte mir mikrochirurgische Operationstechniken bei und wies mich in die wissenschaftliche Arbeit ein. Für seine Mühe und Geduld sowie die mir entgegengebrachte freundschaftliche Verbundenheit danke ich Ihm besonders.

Frau Dr. med. C. Benkovic danke ich Ihre Unterstützung bei der praktischen und theoretischen Umsetzung und Durchführung dieser Arbeit.

Frau Hüsing und **Herrn Holland-Letz** vom Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie der Ruhr-Universität Bochum (Leiter: Prof. H.J.Trampisch) danke ich für die Beratung und die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Dem Leiter der BGFA, **Herrn Prof. Brüning**, danke ich für die Bereitstellung der Räumlichkeiten.

Herrn P. Wieskämper und **Herrn S. Schuchard**, den Tierpflegern der BGFA, gilt mein Dank der Pflege der für diese Arbeit benötigten Tiere.

Der **Alma Vogelsang Stiftung** und **Philoktet e.V.** danke ich für die finanzielle Unterstützung des Projektes.

Meinen Eltern danke ich besonders für Ihre Unterstützung und wiederholten Motivationen, die mir die Ausbildung zur Ärztin und die Anfertigung dieser Arbeit ermöglichten.

11. Lebenslauf:

Name: Wibke Stephanie Moll

Geburtsdatum,-ort: 18.10.1976, Wuppertal

Eltern: Christa Moll, geborene Schmidt (Disponentin)
Harald Moll (Techniker für Lacke und Farben)

Familienstand: ledig

Konfession: evangelisch

Schulbildung: 1983-87: Grundschule (Köln-Porz-Wahnheide)
1987-93: Gymnasium (Maximilian-Kolbe-Gymnasium,
Köln-Porz-Wahn)
1993-94: High-school, USA (Camp Verde High School,
Camp Verde, Az, USA)
1994-96: Gymnasium (Lessing-Gymnasium, Köln-Porz-
Zündorf)

Hochschulbildung: 1996-2002: Studium der Humanmedizin (Ruhr-
Universität-Bochum)
1998: Ärztliche Vorprüfung
1999: 1. Staatsexamen
2001: 2. Staatsexamen
2001-02: Praktisches Jahr
2002: 3. Staatsexamen

Ärztin im Praktikum: seit dem 01.01.2003 in der
Klinik für Plastische Chirurgie und
Schwerbrandverletzte, Handchirurgie-Zentrum,
operatives Referenzzentrum für Gliedmassentumoren
der BG-Kliniken Bergmannsheil – Universitätsklinik –
der Ruhr-Universität Bochum
Direktor: Prof. Dr. med. H.–U. Steinau