



# 1 Einleitung

Kolik ist nach dem Alter die zweithäufigste Todesursache bei Pferden, mit einer Gesamtmortalität von 7% (TINKER et al. 1997b, WHITE 2006). Der Tod kann aus einer Strangulationsobstruktion des Darmes, mit nachfolgender Störung der intestinalen Barrierefunktion, Endotoxämie, Hypovolämie und Schock resultieren (TINKER et al. 1997a). Durch die mechanische Obstruktion der Gefäße kommt es zu einer Minderperfusion des Gewebes mit unzureichender Oxygenierung der betroffenen Darmabschnitte (MOORE et al. 1995).

Obwohl es häufig möglich ist, den ischämisch geschädigten Teil des Dünndarms zu resezieren, ist der verbleibende Teil des proximalen Jejunums meist durch Dehnung geschädigt (DABAREINER et al. 2001). Schädigungen, wie sie beispielsweise proximal der Resektionsstelle gelegene Darmabschnitte während einer Kolikoperation erfahren, führen zu einer Infiltration verschiedener Darmwandschichten, besonders der Serosa, der Faszien um die Zirkulär- und Longitudinalmuskelfasern und dem Plexus myentericus, mit neutrophilen Granulozyten (LITTLE et al. 2005). Schäden durch Ischämie und Reperfusion können eine Endotoxämie zur Folge haben (MOORE et al. 1981). Viele Symptome der Endotoxämie (Pyrexie, frühe Leukozytopenie, späte Leukozytose, Hämokonzentration) aber auch klinische Veränderungen (Hypotension, Tachycardie) gehen mit einem Anstieg von Prostaglandinen einher (BURROWS 1981). Eine zusätzliche Gewebeschädigung erfolgt durch die Reperfusion, welche zu biochemischen und inflammatorischen Reaktionen führt (MALLICK et al. 2004) und insbesondere die Blut-Darm-Schranke schädigt (MOORE et al. 1981). Nach chirurgischer Intervention der Kolik ist der postoperative Ileus eine der häufigsten Komplikationen (MAIR u. SMITH 2005b).

Die Überlebensrate bei Pferden, die einer Kolikoperation unterzogen wurden, ist für einfache Obstruktionen des Dünndarmes höher als für ischämische Obstruktionen des Dünndarmes (MAIR u. SMITH 2005a).

Ischämische Schäden haben demnach große Auswirkungen auf die kurzzeitige Überlebensrate nach chirurgischer Kolikintervention. So sinkt die kurzzeitige



Überlebensrate bei Pferden mit Schädigungen des Intestinaltraktes durch Ischämie auf 68.9% im Vergleich zu der von Pferden mit einfachen Obstruktionen (90.5%) (MAIR u. SMITH 2005a).

Eine Studie zeigte, dass die Schädigung von proximalem Jejunum durch kurzzeitige Ischämie und Reperfusion möglicherweise zu einer Reduktion der Kontraktilität des Darmes führen kann (GUSCHLBAUER et al. 2010).

Nichtsteroidale Antiphlogistika werden häufig genutzt um equine Kolikpatienten analgetisch zu versorgen und die Symptome der Endotoxämie zu vermindern (BASKETT et al. 1997).

Verschiedene Studien mit experimentellen Ischämie- und Reperfusionsmodellen an der Tunica mucosa des equinen Jejunums, zur Untersuchung der Regeneration der Darmbarriere, zeigten, dass die Behandlung mit Flunixin-Meglumin zu einer Hemmung und Verzögerung der Wiederherstellung der transepithelialen Barrierefunktion der Darmwand führte, wohingegen die Regeneration beim Einsatz COX-2-selektiver NSAIDs nicht gehemmt wurde (CAMPBELL u. BLIKSLAGER 2000, TOMLINSON u. BLIKSLAGER 2004/2005, COOK et al. 2009). Daher wurde von mehreren Autoren ein vermehrter Einsatz von präferenziellen oder selektiven NSAIDs in der Koliktherapie vorgeschlagen.

Eine Studie von MENOZZI et al. (2009) untersuchte den Effekt selektiver und nicht-selektiver COX-Hemmer auf die Dünndarmkontraktilität bei Pferden und konnte nachweisen, dass selektive und nicht selektive COX-Inhibitoren unterschiedliche inhibitorische Effekte auf die Kontraktilität des equinen Darmes hatten. Dabei schienen insbesondere selektive NSAIDs einen stärker inhibitorischen Effekt auf die Kontraktilität zu haben, als nicht selektive. Andere Studien der Arbeitsgruppe um VAN HOOGMOED (1999, 2000, 2002) konnten inhibitorische Effekte verschiedener NSAIDs auf die in vitro Kontraktilität des equinen Dickdarms nachweisen.

Eine Beeinflussung der Dünndarmmotorik durch NSAIDs könnte daher bei postoperativen Komplikationen wie dem POI eine große Bedeutung haben.

Zusammenfassend lassen vorangegangene Untersuchungen vermuten, dass selektive NSAIDs zwar einen positiven Effekt auf die Regeneration der Dünndarmschleimhaut haben, sich jedoch negativ auf die Darmmotilität auswirken



könnten. Allerdings wurde die Auswirkung selektiver NSAIDs auf die Kontraktilität von zuvor geschädigtem und damit regenerationsbedürftigem Dünndarm noch nicht untersucht.

Ziel dieser Studie ist es daher, die Auswirkungen von Ischämie und Reperfusion und den Einfluss verschiedener NSAIDs auf die Kontraktilität des equinen Jejunums zu untersuchen.

Die Ergebnisse sollen dazu beitragen, den Einfluss selektiver und nichtselektiver COX-Inhibitoren auf die Kontraktilität geschädigter Darmanteile besser zu verstehen und so gegebenenfalls die medikamentöse Therapie betroffener Patienten zu verbessern.



## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Intestinale Motilität

#### 2.1.1 Die myogene Kontrolle der gastrointestinalen Motilität

Es lassen sich zwei Grundformen der myoelektrischen Aktivität des Gastrointestinaltraktes unterscheiden, die „Slow waves“ oder Schrittmacherpotential und die „spike potentials“ als Aktionspotentiale der myoelektrischen Aktivität (NAVARRE u. ROUSSEL 1996).

Die „Slow waves“ entstehen durch zyklische Schwankungen im Membranpotential der interstitiellen Cajalzellen (interstitial cells of Cajal, ICC) des Darmes, welche dann über „gap junctions“ an die Muskelzellen weiter gegeben werden. Hervorgerufen werden die Schwankungen durch einen Einstrom von den Natriumionen in die Muskelzellen (JENSEN 1980). EHRLEIN 2000 hingegen führte die Entstehung der langsamen Wellen auf die elektromechanische Kopplung infolge eines extrazellulären Kalziumeinstromes, da die Kalziumspeicher glatter Muskelzellen begrenzt sind, zurück. Die Depolarisation dieses basalen Rhythmus ist unterschwellig, jedoch kommt es zu einer Verschiebung des Ruhepotentials in Richtung Schwellenpotential. Um eine Kontraktion auszulösen, wird, wie in anderer Muskulatur auch, ein überschwelliger elektrischer Impuls benötigt (FENGER et al. 1998). Diese erregende Depolarisation muss zeitgleich zu den „Slow waves“ eintreffen, um eine Kontraktion auslösen zu können (CLARK 1990). Daraus folgt, dass die ICC durch die „Slow waves“ die Frequenz der Kontraktionen kontrollieren; den ICC obliegt also die Aufgabe des Schrittmacherpotentials (RUCKEBUSCH 1981).

Um eine gerichtete Peristaltik zu erreichen und so einen aboralen Weitertransport der Ingesta zu sichern, ist die Frequenz der Schwankungen des Membranpotentials in den proximalen Darmmuskelzellen am höchsten. Es kommt zu einer oralen Initiation der „Slow waves“, welche sich nach aboral ausbreiten (RAKESTRAW 2002).



Dieses Motilitätsmuster ist charakteristisch für Magen und Dünndarm. Die Aktivität des Kolons weicht jedoch davon ab; hier besteht kein ständig messbarer basaler elektrischer Rhythmus (DAVIES 1989).

Das Schrittmacherpotential wird durch ICC initiiert, die zwischen der zirkulären und der longitudinalen Muskelschicht angeordnet sind. Das führt dazu, dass die Amplitude der „Slow waves“ in der Grenzschicht zwischen zirkulärer und longitudinaler Muskelschicht am größten ist (KOBAYASHI et al. 1996). Die ICC stellen damit die unterste Kontrollinstanz der Steuerung der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltraktes dar (TAKAKI 2003). Der Zellkontakt ist unterschiedlich ausgeprägt und somit bestehen Unterschiede in der Verbreitung des basalen elektrischen Rhythmus (GERRING 1992). Muskelzellen, die durch „gap-junctions“ verbunden sind, verfügen zusätzlich noch über ein geringeres negatives Membranpotential, sodass die „Slow waves“ hier häufiger gebildet werden können. Diese Gebiete werden demnach als Schrittmacherareale (pacemakers) bezeichnet (GERRING 1992) und sind essentiell für die Koordination von Kontraktion und Relaxation umliegender Darmabschnitte.

Schrittmacherareale liegen laut DAVIES (1989) beim Pferd im Corpus caeci und in der Flexura pelvina des Kolons, zusätzlich noch in der großen Krümmung des Magens (KING u. GERRING 1988a), am gastroduodenalen Übergang, im Bereich des Ileum/Zäkum/Kolon (GERRING 1992) und im Kolon ventrale dextrum vor (ROSS et al. 1990).

Durch Versuche mit Tetrodotoxin, welches die Natriumkanäle der Neuronen des Plexus myentericus hemmt, konnte gezeigt werden, dass der basale elektrische Rhythmus myogenen Ursprungs ist (KOBAYASHI et al. 1996, PROSSER u. MANGEL 1982, MALONE et al. 1996), jedoch durch neurale und humorale Faktoren beeinflusst werden kann (DAVIES 1989).

### 2.1.2 Das enterische Nervensystem

Die differenzierteste Kontrolle der gastrointestinalen Motorik übernimmt das enterische Nervensystem (PFANNKUCHE u. GÄBEL 2007). Neben dem zentralen



Nervensystem stellt es die größte Ansammlung von Nervenzellen im Körper dar und umfasst die gleiche Anzahl an Neuronen wie das Rückenmark (WOOD 1987). Anatomisch liegt das enterische Nervensystem in der Wand des gesamten gastrointestinalen Kanals (BROOKES u. COSTA 2006) und lässt sich in zwei Einheiten mit funktionellen und anatomischen Unterschieden gliedern. Zum einen der Plexus myentericus (Auerbach Plexus), welcher zwischen Longitudinal- und Zirkulärmuskelschicht als Nervengeflecht liegt und zum anderen der Plexus submucosus (Meißner Plexus), der lumenorientiert zwischen Zirkulärmuskulatur und Submukosa zu finden ist. Ersterer steuert primär die Aktivität der Muskulatur und zweiterer ist für die Kontrolle der Mukosafunktionen verantwortlich, wozu auch Sekretion und Resorption gehören (SCHEMANN 2000). Das Ileum, die Beckenflexur, die linke dorsale Kolonlage und das Kolon transversum des Pferdes weisen eine besonders hohe Neuronendichte im Plexus myentericus auf (BURNS u. CUMMINGS 1991, SCHUSSER u. WHITE 1997). Unterschiedliche funktionelle Einheiten stellen sensorische Neurone, Interneurone und Motoneurone dar. Motoneurone innervieren dabei die glatte Muskulatur direkt (SCHEMANN 2000, BROOKES u. COSTA 2006).

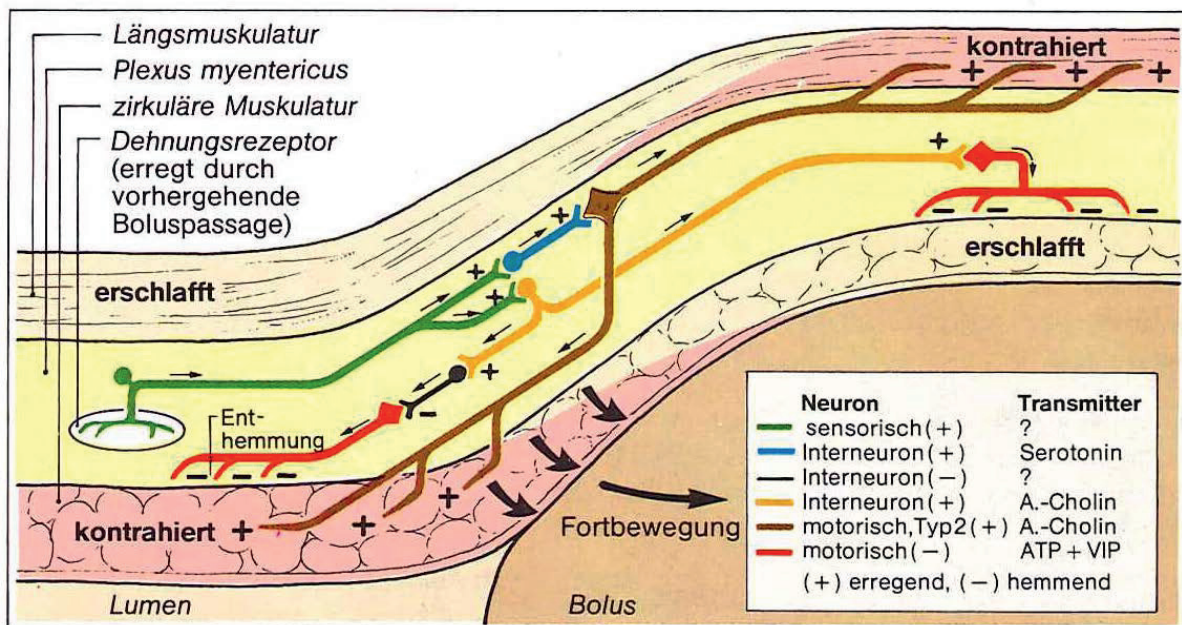


Abb. 1: Die neuronale Steuerung der Peristaltik modifiziert nach WOOD (1987)

Die Informationsübertragung geschieht via erregender und hemmender Neurotransmitter, welche in der glatten Muskulatur zu Kontraktionen und





Relaxationen führen (BROOKES u. COSTA 2006). Die Basis des peristaltischen Reflexes beruht auf enterischen Schaltkreisen und der Beeinflussung durch Sympathikus und Parasympathikus (WOOD 1987), dargestellt in der Abb.1 ist die neuronale Peristaltiksteuerung. Die neuroanatomische Grundlage wird durch eine spezielle Anordnung erregender und hemmender motorischer Neurone in Verbindung mit sensorischen Neuronen und Interneuronen im Plexus myentericus gebildet (BROOKES 2001). Die propulsive Peristaltik läuft reflektorisch ab und wird initial durch die Erregung sensorischer Nervenzellen ausgelöst. Die nervale Erregung wird durch passive Dehnung der Darmwand durch Ingesta oder chemisch aufgrund spezifischer Inhaltsstoffe (vor allem Elektrolyte, zum Beispiel Kalzium) der Ingesta verursacht. Aus diesen Reizen resultiert eine Aktivierung von erregenden oder hemmenden Motoneuronen (BROOKES 2001). Exzitatorische Motoneuronen ziehen oralwärts und schütten Acetylcholin und Substanz P aus, inhibitorische Motoneurone projizieren dagegen aboralwärts und setzen Stickstoffmonoxid, vasoaktives intestinales Peptid (VIP) und Adenosintriphosphat (ATP) frei (SCHEMANN 2000). Dem folgt ein entsprechendes Motilitätsmuster mit einer Kontraktion der Zirkulärmuskulatur oral eines Ingestabulus und mit einer Relaxation aboral des Bolus. Dadurch kommt es zu einem Weitertransport der Ingesta in aborale Richtung (BROOKES u. COSTA 2006). Dieses Motilitätsmuster stellt mit anderen Motilitätsmustern zusammen die generelle Basis der propulsiven Peristaltik dar.

### 2.1.3 Der Einfluss des vegetativen Nervensystems

Generell wirkt der Parasympathikus im Gastrointestinaltrakt motilitätssteigernd und der Sympathikus hemmend (PFANNKUCHE u. GÄBEL 2007). Der Kontakt mit den glatten Muskelzellen findet indirekt über nikotinerge Rezeptoren statt. Einen indirekten Einfluss auf die glatte Muskulatur übt der Parasympathikus über muskarinerge Rezeptoren der Neurone des enterischen Nervensystems bei der Erregungsübertragung aus (BROOKES u. COSTA 2006). Bei Erregung schütten efferente, motorische Vagusfasern den erregenden Transmitter Acetylcholin aus, der dann alle nachgeschalteten enterischen Neurone aktiviert. Enterische Nervenzellen schütten dann wiederum an den synaptischen Auftreibungen verschiedene



Transmitter, unter anderem Acetylcholin, aus und aktivieren somit die Muskelzelle (MALONE et al. 1999).

Im Vergleich zu der Anzahl der enterischen Neurone, welche den Gastrointestinaltrakt innervieren, sind es nur wenige efferente Vagusfasern. Der Ausgleich wird durch die Nutzung des enterischen Nervensystems als sogenannter Zwischenverstärker des Parasympathikus geschaffen (SCHEMANN 2000).

Parasympathische Wirkungen auf die Muskelaktivität können sowohl hemmend, durch die Ausschüttung der Transmitter Stickstoffmonoxid und vasoaktives intestinales Peptid, als auch erregend sein (SCHEMANN 2000). Diese Wirkungen erfolgen über die Erregung inhibitorischer oder exzitatorischer Motoneuronen (TACK 2006, HASLER 2006). Einer Studie von BROOKES und COSTA (2006) zur Folge ist der Parasympathikus eher für eine Erhöhung des Aktivitätslevels der enterischen Neurone verantwortlich als für die Induktion einzelner Kontraktionen.

Der Sympathikus ist der Gegenspieler des Parasympathikus und setzt das Aktivitätslevel des enterischen Nervensystems und damit der glatten Muskulatur herab. Dieses erfolgt direkt durch Einfluss auf die Muskelzellen durch eine Vertiefung des Ruhepotentials oder indirekt über eine Modulation des enterischen Nervensystems und der Parasympathikusaktivität (BROOKES u. COSTA 2006).

Eine direkte Innervation durch den Sympathikus erfährt das Blutgefäßsystem des Gastrointestinaltraktes, wohingegen die Muskel- und Mukosaaktivität hauptsächlich indirekt beeinflusst wird (SCHEMANN 2000).

Sympathisch ausgeschüttetes Noradrenalin hemmt indirekt Motorik und Sekretion des gesamten Gastrointestinaltraktes (SCHEMANN 2000). Eine Hemmung erfolgt über, aus der Nebenniere, ausgeschüttetes Adrenalin direkt an  $\beta_2$ -Rezeptoren in den glatten Muskelzellen und indirekt an enterischen Nervenzellen und parasympathischen Endigungen enterischer Neuronen (WOOD 1987, YAMAMOTO et al. 1999, LESTER 2004, BROOKES u. COSTA 2006). Eine exzitatorische Wirkung hat Noradrenalin hingegen über die  $\alpha_1$ -Rezeptoren der Muskulatur der Sphincteren, was funktionell eine Hemmung der Propulsion darstellt, da die Entleerung verlangsamt wird (SCHEMANN 2000).

In Ruhephasen überwiegt der parasympathische Einfluss, in Zeiten erhöhter Anstrengung oder Stress gewinnt der Sympathikus an Einfluss und überwiegt.





Stresssituationen stellen beim Pferd auch Belastungen wie Schmerzen oder Operationen dar (GERRING u. HUNT 1986).

#### 2.1.4 Physiologische gastrointestinale Motilität

FENGER und BERTONE definierten 1998 gastrointestinale Motilität als jede Art von motorischer Aktivität des Gastrointestinaltraktes, inklusive antero- oder retrograde peristaltische Wellen, Mischbewegungen und vorübergehend stagnierendem Ingestafluss.

Die Motorik spielt eine essentielle Rolle bei der mechanischen Digestion, der Zerkleinerung und Durchmischung der Nahrung, aber auch beim Transport in aborale Richtung und schließlich bei der Ausscheidung als Fäzes (SASAKI et al. 2003).

Die Funktion aller Motilitätsmuster dient den gleichen Zielen: Der Durchmischung des Chymus, dem aboralen Weitertransport und der Speicherung der Ingesta. Unterschiede der Motilitätsmuster bestehen in Funktion und Lokalisation im Gastrointestinaltrakt und ihrer Ausprägung (PFANNKUCHE u. GÄBEL 2007).

#### 2.1.5 Die Motorik des Dünndarms

Der Dünndarm hat zum einen die Durchmischung der Nahrung zur Gewährleistung der enzymatischen Aufbereitung und der Resorption der Nährstoffe, zum anderen den Weitertransport des Chymus, Richtung Dickdarm, zur Aufgabe (PFANNKUCHE u. GÄBEL 2007).

Im Dünndarm gibt es, wie auch im Magen, einen stetigen basalen elektrischen Rhythmus (DAVIES 1989). Der basale elektrische Rhythmus folgt einem koordinierten Impulsmuster, dem „migrating myoelectric complex“ (MMC). Der MMC ist mit der kontraktile Aktivität des Magens koordiniert und beginnt am Duodenum, um dann in aboraler Richtung zum terminalen Ileum zu wandern (FENGER et al. 1998). Damit kommt es zu dem gleichen zyklischen Kontraktionsmuster in Magen und Dünndarm (GERRING u. HUNT 1986).



Der MMC besteht aus vier zyklisch wiederkehrenden Phasen (GERRING u. HUNT 1986):

**Phase 1: „nil spiking activity“ (NSA) ohne Muskelkontraktionen**

**Phase 2: „irregular spiking activity“ (ISA)**

**Phase 3: „regular spiking activity“ (RSA)**

**Phase 4: schnell abnehmende elektrische Aktivität**

Die NSA ist eine Ruhephase in der es zu einer Füllung des Darmabschnittes kommt. Unter hemmendem Vagus Einfluss wird die Muskulatur passiv gedehnt (DAVIES 1989). Die Phase der ISA löst peristaltische Wellen aus und induziert eine aboral gerichtete progressive Motilität (SARNA 1985). Schließlich folgt eine längere Phase mit regelmäßigen Spikes, die RSA, in der es aufgrund der Kontraktionen zu einer Durchmischung kommt (GERRING u. HUNT 1986). Die ringförmige Kontraktion der Zirkulär- und Longitudinalmuskulatur über mehrere Zentimeter Darm, während der RSA-Phase, bewirkt einen aboralen Weitertransport des Chymus (SARNA 1985, DAVIES 1989) und stellt den größtmöglichen Kontakt zu den Darmzotten her (SARNA 1985).

Im Dünndarm sind die Phasen 1-3 charakteristisch. Im Ileum kommt noch ein typisches Motilitätsmuster hinzu: der „migrating action-potential complex“ (MAPC) (ROSS et al. 1990, LESTER et al. 1998a). Dieser Komplex führt zu aboral gerichteten, starken Kontraktionen der Ringmuskulatur. Vermutet wird, dass dieses Muster einer gezielten und zügigen Beförderung des Chymus in das Zaekum dient (KOENIG u. COTE 2006).

### 2.1.6 Methoden zur Kontraktilitäts- und Motilitätsbestimmung

Neben den in vitro Messungen der Kontraktilität in speziellen Gewebekammern mit Kopplung an Kraftaufnehmer oder Aufzeichnung über Videoaufnahmen, gibt es auch mehrere Ansätze die Motilität bereits in vivo zu bestimmen. Eine genaue Beschreibung der Messung der Kontraktilität in Gewebekammern erfolgt im Material und Methoden Teil dieser Dissertation.