

20. Spektrophotometrische Untersuchungen an der Rektumschleimhaut in vivo Spectrophotometric measurements of the rectum mucosa in vivo

Otto, A., Pocha, C., Kehrer, G., Hoyer*, H., Bosseckert, H. Eitner, K.

Klinik I für Innere Medizin der FSU Jena, 07740 Jena, Erlanger Allee 101;
Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der FSU Jena,
Jahnstraße 3, 07740 Jena

Schlüsselwörter:

endoskopische Remissionsspektrophotometrie, Hämoglobinoxigenierung, relative Hämoglobinkonzentration, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Diabetes mellitus

Zusammenfassung:

Das Ziel unserer Untersuchungen war die Erprobung des Erlanger Mikrolichtleiter Spektrophotometers (EMPHO) bei der Erfassung von Mikrozirkulationsstörungen an der Rektumschleimhaut. Ermittelt wurden die Hb-Oxygenierung (HbO₂) und die relative Hb-Konzentration (HbC) bei insgesamt 80 Personen . Dabei handelte es sich um 12 Diabetiker (D),

7 Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) und 61 Kontrollpersonen (K). Die Messung erfolgte mit einem flexiblen, auf die Schleimhaut aufsetzbarem Lichtleiter. Es zeigten sich bei Patienten mit CED signifikant höhere Hb-Oxygenierungswerte im Vergleich zu Diabetikern ($p < 0,01$) und signifikant höhere relative Hb-Konzentrationen im Vergleich

zur gesunden Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Die Oxygenierungswerte wiesen innerhalb der Gruppe der Diabetiker eine Altersabhängigkeit auf. Ein Einfluß von Geschlecht oder Nikotingenuß konnte nicht nachgewiesen werden. Korrelationen zwischen Hämoglobin im Serum bzw. kapillärem pO₂ im Blut und den Meßparametern HbC bzw. HbO₂ bestanden nicht. Das EMPHO scheint geeignet, Mikrozirkulationsstörungen an der Darmschleimhaut nachzuweisen. Es sollten daher weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen und unterschiedlichen

Erkrankungsstadien erfolgen.

Spectrophotometric measurements of rectum mucosa in vivo

Key words:

endoscopically assisted reflexion spectrophotometry, oxygenation of hemoglobin, relative concentration of hemoglobin, inflammatory bowel diseases, diabetes

Summary:

The aim of our examinations was to test the Erlanger Microlightguide Spectrophotometer (EMPHO) by measurement of microcirculation in the rectum mucosa. Therefore we examined the oxygenation of hemoglobin (HbO₂) and the relative concentration of hemoglobin (HbC) as indicators of microcirculation in 80 persons by using a flexible lightguide. We compared 12 patients with diabetes (D) and 7 patients suffering from chronic inflammatory bowel disease (CID) with 61 healthy control subjects (C). HbO₂ was significantly higher in the CID-group than in the diabetes group ($p < 0,01$) and the HbC was significant higher in the CID-group than in the diabetes group ($p < 0,05$). HbO₂ showed an age dependence in the group D. HbO₂ and HbC were found to be independent from smoking behaviour and sex. The HbC value measured by spectrophotometry did not correlate to the blood hemoglobin concentration neither did the HbO₂ and the capillary pO₂. EMPHO seems to be suitable to detect disturbances of microcirculation of colonic mucosa. Therefore further measurements with higher numbers of patients with different grades of disease should be performed.

Einleitung:

Die Nutzung spektroskopischer Verfahren zur Erfassung von Durchblutungsverhältnissen an verschiedenen Organen (Gehirn, Magen, Darm, Herz, Skelettmuskel) wurde bereits von mehreren Autoren beschrieben [4-6,8-9,11,13,15].

Das Ziel unserer Untersuchungen war die Erprobung des Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometers (EMPHO II) [3] bei der Erfassung von Durchblutungsparametern (Hb-Oxygenierung=HbO₂ und relativer Hb-Konzentration=HbC) an der Rektumschleimhaut von Gesunden und Patienten.

Untersucht wurden von uns insgesamt 80 Personen, die sich aus einer gesunden Kontrollgruppe (K), Diabetikern (D) und Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) zusammensetzten. Die Ergebnisse unserer Messungen sollten uns Aufschluß geben hinsichtlich einer einfachen Lichtleiterapplikation per Rektoskop an der Rektumschleimhaut, der notwendigen Spektrenzahl für reproduzierbare Ergebnisse, signifikanter Unterschiede zwischen den Patientengruppen und Gesunden, Geschlechts- und Altersabhängigkeit, Einfluß von Nikotin sowie der Korrelation der gemessenen Parameter zu Routinelaborwerten (Hb im Serum, kapillärer pO₂).

Materialien und Methoden:

Meßgerät:

Das EMPHO II (Erlanger Mikrolichtleiter-Spektro-Photometer II) (Abb.1) beruht auf dem Prinzip der Reflexionsspektroskopie, wobei Licht einer Xenonlampe über ein Linsensystem auf die illuminierende Faser eines flexiblen Kunststofflichtleiter fokussiert und durch Oberflächenkontakt auf das Gewebe übertragen wird. Der reflektierte Lichtanteil wird über detektierende Fasern des gleichen Lichtleiters aufgenommen. Der Lichtleiter bestand aus einer illuminierenden Faser mit einem Durchmesser von 250 µm sowie 6 konzentrisch angeordneten detektierenden Fasern des gleichen Durchmessers (Abb.2). Die vom Lichtleiter beleuchtete Gewebefläche betrug ca. 750-1000 µm im Durchmesser mit einer Gewebeeindringtiefe von max. 400 µm [2]. Eine rotierende Filterscheibe mit variabler Lichtdurchlässigkeit von 500 bis 630 nm läßt das vom Gewebe reflektierte Licht in Abständen von

2 nm passieren und über einen Positionsdetektor erfolgt die Registrierung der einzelnen Filterpositionen. Das empfangene Lichtsignal wird in einen elektrischen Impuls transformiert, verstärkt und mittels eines Computers analysiert. Der Computer nimmt alle Daten auf, speichert sie und stellt sie grafisch als Spektren dar, aus denen die Hb-Oxygenierung und die relative

Hb-Konzentration berechnet werden können [2,3,13]. Die Aufnahmegeschwindigkeit des Gerätes mit gleichzeitiger grafischer Darstellung der Spektren beträgt ca. 15 Spektren/s. Zur Konstanthaltung des Lichtleitersaufsatzdruckes benutzten wir eine spezielle Vorrichtung mit hydraulischem Druckmeßsystem. Mit dieser Apparatur konnte gleichzeitig die Schleimhautoberfläche von Sekret freigespült werden.

Patientencharakterisierung und Studiendesign:

Untersucht wurden insgesamt 80 Patienten, 41 Frauen und 39 Männer im Alter von 21 bis 79 Jahren (53,4 + 16,0 Jahre), die anhand klinischer, paraklinischer, endoskopisch-makroskopyischer und histologischer Befunde in 3 Gruppen unterteilt wurden:

gesunde Kontrollgruppe (K) (n=61); Diabetiker (D) (n=12): diätpflichtig (n=5), orale Antidiabetika (n=4), insulinpflichtig (n=3); Patienten mit chronisch entzündlicher Darm-erkrankung

(CED)(n=7): M. Crohn bzw. Colitis ulzerosa: in Remission (n=3), im Akutstadium (n=4).

Zusätzlich erfolgte die Erfassung weiterer epidemiologischer und anamnestischer Daten: Körpergröße (166,4 + 9,0 cm), Körpergewicht (70,5 + 12,3 kg), Nikotingenuß (15 Raucher, 65

Nichtraucher), Medikamenteneinnahme am Untersuchungstag (kein Patient mit Einnahme durchblutungsbeeinflussender Medikamente), abdominelle Beschwerden, Fieber, Stuhl-frequenz- und -aussehen sowie klinischer Daten:

kardiale Insuffizienzzeichen (5 Patienten), Zeichen peripherer Durchblutungsstörungen (3 Patienten), Blutdruck (126,2 + 7,6 mm Hg systolisch) und paraklinischer Daten:

BSG, CRP, Hb, Leukozyten, Thrombozyten, ThPZ, Eisen, Blutzuckertagesprofil, Astrup.

Die Patienten hatten für die spektroskopischen Messungen keine Abführmaßnahmen erhalten, um eine Irritation der Schleimhaut zu verhindern. Die Lagerung der Patienten erfolgte in Knie-Ellenbogenlage. Per Rektoskop wurde die Schleimhaut inspiziert und in Höhe von 6-10 cm der Lichtleiter aufgesetzt. Es erfolgte an insgesamt 3 Meßorten (zirkulär in gleicher Höhe) die Registrierung von jeweils 120 Spektren, wobei pro Meßregion der Lichtleiter 3 mal neu aufgesetzt wurde (340 Spektren).

Von den Patienten wurden insgesamt 360 Spektren und die entsprechenden Oxigenierungswerte registriert, bei 8 Patienten war wegen starker Stuhlverunreinigung des Darmes die

Aufzeichnung von nur max. 80-240 Spektren möglich. Aus den Spektren erfolgte die Ermittlung des Integrals zwischen dem gemessenen Hb- und dem Dunkelspektrum als Ausdruck für

die relative Hb-Konzentration mit umgekehrt proportionalem Verhalten von Integralwert und relativer Hb-Konzentration. Sichere Artefaktwerte (HbO₂-Werte <0 bzw. >100% und Integralwerte <0) bezogen wir nicht mit in unsere Berechnungen ein.

Statistische Auswertverfahren:

Zur Analyse unserer Daten kamen zur Anwendung: Mittelwerts-, Maximalwerts- und Standardabweichungsberechnungen für alle Patienten- bzw. Meßdaten, Reliabilitätsanalyse, t-Test

für abhängige und unabhängige Stichproben (einschließlich F-test) sowie die bivariate Korrelationsanalyse. Von einer statistischen Signifikanz wurde ausgegangen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$.

Ergebnisse:

Die Reliabilitätsanalyse zur Untersuchung der Meßwertverläßlichkeit der jeweils 360 Meßwerte ergab hinsichtlich der Integralwerte eine Reliabilität von 65% und bezüglich der HbO₂-Werte eine Reliabilität von 47%. d.h. die Meßwerte wiesen eine 65 bzw. 47 %-ige Reproduzierbarkeit auf. Für eine ausreichende Meßwertverläßlichkeit von 90% waren somit bereits 5 (HbC) bzw. 11 (HbO₂) Meßwiederholungen ausreichend und repräsentativ für jeden Patienten. Aufgrund dieses Ergebnisses war der Vergleich der ersten 40 gewonnenen Meßwerte pro Proband zur statistischen Ergebnisanalyse ausreichend.

Für den Vergleich der Integralmittelwerte zeigten sich signifikant niedrigere Werte bei CED (23,5+16,9) im Vergleich zur Kontrollgruppe (44,2+22,3), ($p < 0,05$), was einer höheren Hb-Konzentration bei CED entspricht. Im Vergleich zwischen der Kontrollgruppe (44,2+22,3) und Diabetikern (39,8+20,7) war kein Unterschied nachzuweisen. Zwischen Diabetikern (39,8+20,7) und Patienten mit CED (23,5+16,9) ergaben sich deutlich niedrigere Integralwerte und damit höhere Hb-Konzentrationswerte für die CED-Patienten, eine Signifikanz konnte jedoch bei den geringen Fallzahlen nicht erreicht werden, bei größeren Stichprobenumfängen besteht jedoch die Tendenz zur Signifikanz (Abb. 3 und 4).

Beim Vergleich der Oxigenierungsmittelwerte zwischen den 3 Gruppen zeigte sich eine signifikante Differenz zwischen Diabetikern (39,8+20,7%) und CED-Patienten (69,6+5,6%), ($p < 0,05$), aber nicht zwischen Normalpersonen (62,5+12,3) und CED-Patienten (69,6+5,6) bzw. Diabetikern (57,5+14,2) (Abb.5).

Eine Unterteilung der Patienten in 2 Altersgruppen: 50 bzw. 50 Jahre zeigten sich bei der Betrachtung der Oxigenierungsmittelwerte bei den Diabetikern ($p < 0,05$) höhere Meßwerte für die jüngere Gruppe (Abb.6). Für die relativen Hb-Konzentrationen existierten keinerlei Altersunterschiede. Zwischen den Geschlechtern, zwischen Rauchern und Nichtrauchern, zwischen den 3 Meßorten und den einzelnen Lichtleiteraufsätzen ließen sich keine Differenzen analysieren. Korrelationen zwischen Hb-Werten im Blut und Spektralkurvenintegral bzw. pO₂-Werten im Kapillarblut und Hb-Oxigenierungswert existierten nicht.

Diskussion:

Hinsichtlich der anatomischen Besonderheiten der Mikrozirkulation im Bereich der Darmschleimhaut beschreibt Kaley [1] das Vorliegen eines kapillären Netzwerkes in einer Darmzotte, welches sowohl von einer Zottenarterie als auch von einem submukösen Plexus gespeist wird. Die die Zottenbasis penetrierende Arteriole (Durchmesser ca. 12-18 μ m) teilt sich in ihrem Verlauf in Richtung Spitze in ca. 8-10 kapilläre Äste. Da die von unserem Lichtleiter beleuchtete Schleimhautoberfläche ca. 750-1000 μ m betrug, wurden mehrere Zotten mit einer Vielzahl von Kapillaren erfaßt. Um Veränderungen in noch kleineren Gewebearealen der Mukosa zu analysieren, müßte der Lichtleiterdurchmesser geringer gewählt werden, was jedoch eine verminderte reflektierte Lichtintensität und damit meßtechnische Probleme zur Folge hätte.

Unsere Vermutung, daß bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eine Störung der Mikrozirkulation vorliegt, basierte auf zahlreichen mikroskopischen Untersuchungsergebnissen, die eine Schädigung und Ruptur der Mukosakapillaren [10], eine fokale Arteriitis, Gefäßokklusionen mit Gewebeinfarkten, Neovaskularisationen [16] und eine intrakapilläre Stase der Erythrozyten [7] beschreiben.

Den Einfluß von ulzerativer Kolitis und Nikotingenuß auf die Mikroblut-zirkulation analysierte bereits Sriva-stava [14] mittels Laserdopplerflowmessungen an der Rektumschleimhaut.

Kolitispatienten wiesen signifikant höhere Blutflußwerte im Vergleich zu Gesunden auf, ein Unterschied des Mukosablutflusses zwischen Rauchern und Nichtrauchern existierte nicht, beides korreliert mit unseren Ergebnissen. Auch Sekizuka [12] wies bei experimentell induzierter Kolitis im Tierversuch einen erhöhten Kolonmukosa-blutfluß nach.

Die von uns ermittelte verminderte Hb-Oxigenierung der Rektummukosa bei Diabetikern könnte ein Hinweis dafür sein, daß bei dieser Patientengruppe auch Mikrozirkulationsstörungen bzw. Angiopathien (neben den bereits bekannten Veränderungen an Extremitäten, Augenhintergrund, Nieren) im Bereich der Schleimhäute vorliegen.

Von großer Bedeutung für unsere Untersuchungen war die Lösung der Problematik des Lichtleitersaufsatzes auf die Mukosaoberfläche, welches bereits von anderen Autoren als vorrangig beschrieben [4,5,11] und meist nur ungenügend gelöst wurde. Kamada [4] und Panes [9], die per Gastroskop Messungen an der Magenmukosa durchführten, bildet den Mittelwert von mehreren Meßwerten pro Meßort, an dem der Lichtleiter mehrfach aufgesetzt wurde. Wir verwendeten zusätzlich zu den gleichfalls durchgeführten Meßwiederholungen eine spezielle Aufsatzdruckmeßvorrichtung, die uns gleichzeitig zur Gewebeoberflächen-reinigung diente.

Im Unterschied zu Panes [8], der bei seinen spektrophotometrischen Untersuchungen an der Magen-schleimhaut von Zirrhosepatienten einen Zusammen-hang zwischen dem gemessenen Hb-Gehalt der Mukosa und der Bluthämoglobinkonzentration fand, konnten wir eine solche Korrelation nicht feststellen.

Literatur:

- [1] Kaley G., B.M. Altura: Microcirculation I. Baltimore, University Park Press 1977
- [2] Dümmler, W.: Bestimmung von Hämoglobinoxigenierung und relativer Hämoglobinkonzentration in biologischen Systemen durch Auswertung von Remissionsspektren mit Hilfe der Kubelka-Munk Theorie. Dissertationsschrift der FAU Erlangen-Nürnberg (1988), 8-11.
- [3] Frank K., M. Kessler, K. Appelbaum, W. Dümmler: The Erlanger microlighthguide spectrophotometer EMPHO I. *Phys Med Biol* 34 (1989), 1883-900.
- [4] Kamada, T., S. Kawano, N. Sato, M. Fukuda, H. Fusamoto, H. Abe: Gastric mucosal blood distribution and its changes in the healing process of gastric ulcer. *Gastroenterology* 84 (1983), 1641-6.
- [5] Kamada, T., N. Sato, S. Kawano, H. Fusamoto, H. Abe: Gastric mucosal hemodynamics after thermal or head injury. *Gastroenterology* 83 (1982), 535-40.
- [6] Kessler, M., J. Höper: Spatial distribution of oxigen supply units in heart and skeletal muscle nd their regulatory significance. *Oxygen Transport to Tissue XIV*, New York, Plenum Press (1992), 593-8.
- [7] Leung ,F.W., A. Koo: Mucosal vascular stasis precedes loss of viability of endothelial cells in rat acetic acid colitis. *Dig Dis Sci* 36 (1991), 727-32.
- [8] Panes, J., J.M. Bordas, J.M. Pique, J. Bosch, J.C. Garcia-Pagan, F. Feu, M. Casadevall, J. Tere, J. Rodes: Increased gastric mucosal perfusion in cirrhotic patients with portal hypertensive gastropathie. *Gastroenterology* 103 (1992), 1875-1882.
- [9] Panes, J., J.M. Pique, J.M. Bordas, M. Casadevall, J. Teres, J. Bosch, J. Rodes: Effect of bolus injection and continuous infusion of somatostatin on gastric perfusion in cirrhotic patients with portal-hypertensive gastropathy. *Hepatology* 20 (1994), 336-41.
- [10] Sankey, E.A., A.P. Dhillon, A.J. Wakefield, R. Sim, L. More, M. Hudson, A.M. Sawyerr, R.E. Pounder: Early mucosal changes in Crohn's disease. *Gut* 34 (1993), 375-81.
- [11] Sato, N., S. Kawano, M. Fukuda, S. Tsuji, T. Kamada: Misoprostol induced changes in gastric mucosal hämodynamics. *Am J Med* 83 (1987), 15-21.
- [12] Sekizuka, E., M.B. Grisham, M. Li, E.A. Deitch, D.N. Granger: Inflammation induced intestinal hyperemia in the rat: role of neutrophiles. *Gastroenterology* 95: (1988), 1528-34.
- [13] Siedler, M.: Mikrolichtleiter-Spektrophotometrie als intraoperatives Testverfahren für Darmanastomosen. Dissertationsschrift der FAU Erlangen-Nürnberg (1992), 7-45.
- [14] Srivastava, E.D., M.A.H. Russel, C. Feyerabend, J. Rhodes: Effect of ulcerative colitis and smoking on rectal blood flow. *Gut* 31 (1990), 1021-24.

[15] Tauschek, D., J. Höper, M.R. Gaab, M. Kessler: Monitoring of cortical intracapillary hemoglobin oxygenation in patients during brain surgery - first results. Oxygen Transport to tissue XIV, New York, Plenum Press (1992), 737-42.

[16] Wakefield, A.J., A.P. Dhillon, P.M. Rowles, A.M. Sawyerr, R.M. Pittilo, A.A.M. Lewis: Pathogenesis of Crohn's disease: multifocal gastrointestinal infarction. The Lancet I (1989), 57-62.