

Aus der Kinderchirurgischen Klinik und Poliklinik
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dietrich von Schweinitz

Fetalchirurgischer Verschluss der Gastroschisis im Kaninchenmodell

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von Marc Müller
aus Kempten
2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Till

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Stephan Kellnar
Prof. Dr. Reinhard Roos

Mitbetreuung durch
promovierten Mitarbeiter: PD. Dr. med. O. Muensterer

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündl. Prüfung: 29.01.2009

Gewidmet meiner Frau und meinen Kindern

Inhalt:

1. Einleitung
2. Definition
 - 2.1. Epidemiologie
 - 2.2. Embryologie
 - 2.3. Pränatale Diagnostik
 - 2.4. Klinik
3. Therapie der Gastroschisis
 - 3.1. Primärverschluss
 - 3.2. Mehrzeitige Operationsverfahren
 - 3.3. Minimal Management
4. Pathophysiologie
5. Pränatale Therapie
6. Fetalchirurgische Gastroschisis-Modelle
7. Zielsetzung
8. Material und Methoden
 - 8.1. Kurzbeschreibung des Versuchsaufbaus
 - 8.2. Tierschutzaspekte
 - 8.3. Tierherkunft und Tierhaltung
 - 8.4. Versuchsprotokoll
 - 8.4.1. Versuchsablauf
 - 8.4.2. Narkose und Monitoring
 - 8.4.3. Chirurgische Technik
 - 8.4.4. Beendigung des Versuchs
 - 8.5. Auswertung und Statistik
9. Ergebnisse
 - 9.1. Herzfrequenzmessungen
 - 9.2. Effizienz der Operationstechnik
 - 9.3. Morphologische Veränderungen
10. Diskussion
 - 10.1. Allgemeine Fragestellung
 - 10.2. Mortalität

10.3. Tokolyse

10.4. Technik

10.5. Morphologische Veränderungen

10.6. Erkenntnisse

11. Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

1. Einleitung

Die Gastroschisis ist eine seltene, kongenitale Erkrankung, deren Inzidenz zuzunehmen scheint. Ihre Ätiologie ist trotz zahlreicher Studien und Erklärungsmodellen noch immer nicht definitiv geklärt. Inwieweit es sich um einen einzigen auslösenden Faktor, oder was wahrscheinlicher ist, um eine multifaktorielle Ätiologie handelt, wird sich wahrscheinlich erst mit Erfassung des gesamten Krankheitsbildes und seiner Zusammenhänge klären lassen. Möglicherweise sind dabei sogar neue fetalchirurgische Therapieansätze hilfreich, um neue Erkenntnisse zu gewinnen. Momentan kann nicht definitiv unterschieden werden, ob es sich um einen tatsächlichen Anstieg der Inzidenz handelt, oder ob die steigende Anzahl durch eine im Vergleich zu früher bessere Diagnostik und Erfassung der Krankheitsfälle bedingt ist. Unbestritten ist jedoch die Tatsache, dass ohne eine schnelle und effiziente Therapie ein Überleben der Säuglinge nicht oder nur sehr kurz möglich wäre. Die Patienten profitieren hierbei vor allem von den Fortschritten der Intensivmedizin und der raschen und angemessenen chirurgischen Therapie. Dadurch bestehen derzeit gute Überlebenschancen. Momentan lässt sich das Auftreten der Krankheit nicht verhindern. Diese Studie evaluiert die Möglichkeit, möglichst frühzeitig, nämlich intrauterin eine Therapie zu beginnen und somit die Morbidität zu verringern, da die angesprochenen Komplikationen der Gastroschisis als Folgeerscheinung der intrauterinen Schädigung der Organe zu verstehen sind. Da die Gastroschisis häufig ohne weitere Fehlbildungen oder Systemerkrankungen auftritt, führt die erfolgreiche Therapie zu einer vollständigen Heilung des Patienten. Ziel dieser Studie ist es, zu zeigen, dass eine Gastroschisis in offen chirurgischer Technik intrauterin ohne gravierende Komplikationen (z.B. das Auslösen von frühzeitigen Kontraktionen mit Abort) verschlossen werden kann. Hierzu entwickelten wir einen Versuchsaufbau zur intrauterinen Therapie einer experimentellen Gastroschisis beim Kaninchen, basierend auf dem pathophysiologischen Modell von Phillips et al (59).

2. Definition

Die vornehmlich im angelsächsischen Sprachgebrauch genannte Gastroschisis ist definiert als angeborener vorderer Bauchwanddefekt, wobei grundsätzlich alle Schichten betroffen sind. Gewöhnlich befindet sich der Defekt auf der rechten Seite des Nabels. Vereinzelt werden auch linksseitige Defekte beschrieben (3, 10, 14, 18, 64).

2.1. Epidemiologie

Die Gastroschisis ist eine seltene Anomalie, mit einer deutlichen Variation der in der Literatur angegebenen Inzidenz. Dies wird auch in Tabelle I. deutlich.

Tab. I.:

Autor		Zeitraum	Land	Häufigkeit
Rickham	1969	1956-68	England	1 : 30 000
Savage	1971	1956-69	Australien	1 : 40 000
Colombani und Cunningham	1977	1962-76	Kentucky	1 : 6 300
Brown et al.	1978	1974-77	Michigan	1 : 4 165
Lindham	1981	1965-68	Schweden	1 : 32 000
Egenaes	1982	1967-73	Norwegen	1 : 24 000
Roeper	1987	1968-69	Kalifornien	1 : 170 000
Martinez-Frias	1984	1976-81	Spanien	1 : 22 000
Palomaki	1988	1979-87	USA	1 : 36 000
Calzolari	1993	1984-89	Italien	1 : 16 666

Insgesamt scheint die Inzidenz jedoch zuzunehmen. So konnte die aktuelle Studie von Collins et al. in dem Zeitraum 1985 bis 2002 ein vermehrtes Auftreten von Patienten mit Gastroschisis und Omphalozele in Tennessee aufzeigen (15). Dabei beschreiben die meisten Autoren ein Überwiegen der Diagnose bei Jungen (5, 66).

2.2. Embryologie

Bis heute existiert zur Entstehung der Gastroschisis keine einheitliche Meinung, sondern lediglich eine Reihe von verschiedenen Theorien.

- Pathogenese der Gastroschisis nach De Vries (18): Embryonen haben am 28. Tag nach der Konzeption eine große rechte und linke Umbilikalvene, die nicht nur Plazenta und Bauchstiel drainieren, sondern auch nutritive Funktion für die in der Entwicklung befindliche Bauchdecke haben. Sie liegen an der Verbindung von Bauchstiel und schnell wachsender, dünner Somatopleura. Die Rechte der beiden Umbilikalvenen bildet sich in der weiteren Entwicklung vollständig zurück. Die linke Vene obliteriert im distalen Bereich, die proximalen Anteile bleiben erhalten. Während der Rückbildung werden die nutritiven Funktionen von Gefäßen aortalen Ursprungs übernommen. Während der Rückbildung der rechten Vene ist die Versorgung der Bauchwand nicht vollständig gewährleistet. De Vries geht davon aus, dass ein zu frühzeitiger Verschluss und ebenso eine zu lange Persistenz zur Ischämie der rechten Bauchwand führt. Dies führt zum Untergang des Gewebes, sprich einer Defektbildung. Die verlängerte Persistenz kann eine Vaskularisierung durch arterielle Ersatzgefäße verzögern und bei einem dann plötzlich eintretenden Verschluss der Vene ist die Kapazität der neuen Gefäße noch nicht ausreichend. Da am 37. Tag das ausgeprägte Wachstum des Mitteldarmes mit der anschließenden physiologischen Herniation in das extraembryonale Zölon der Nabelschnur beginnt, prolapiert nun der Mitteldarm in die Amnionhöhle und nicht in das Zölon der Nabelschnur und entwickelt sich nun außerhalb des Embryos weiter. Durch diese These würde man gut erklären können, warum der Defekt fast immer rechts auftritt.
- Pathogenese der Gastroschisis nach Hoyme: Hoyme et al. (37) vermuten, dass aufgrund eines intrauterinen Gefäßverschlusses oder einer Ruptur des distalen Anteils der rechten Arteria omphalomesenterica eine Infarzierung und Nekrose im Bereich der Nabelschnurbasis und als Folge dann die Eventration der Darmschlingen resultiert. Ursache des Substanzdefektes der Bauchwand ist das Ausbleiben der nutritiven Funktion der Arterie. Diese Theorie würde die Tatsache erklären, dass die Rektusmuskulatur nicht betroffen ist, da diese aus anderen Gefäßen versorgt wird.
- Nach Ombrédanne (58) und Duhamel/Izant (20, 39) liegt eine Differenzierungsstörung der Bauchwand der Gastroschisis zugrunde. Während nach Ombrédanne eine Störung der Somiten vorliegt, kommt es

nach Duhamel/Izant zu einer Fehlbildung der Somatopleura und somit zu dem entsprechenden Bauchwanddefekt.

- In einer weiteren Hypothese wird von einer pränatalen Ruptur der Omphalozelenmembran ausgegangen (60, 25, 65).

2.3. Pränatale Diagnostik

In der pränatalen Diagnostik gilt die Sonographie als der sicherste Weg, die strukturell-morphologischen Kriterien fetaler Pathologie und Anatomie mit einer Treffsicherheit von 90% zu erkennen (24). Dabei zeigen sich bei den Feten, die häufig eine intrauterine Wachstumsretardierung aufweisen, nahe der Bauchwand lokalisierte zystisch-tubuläre Strukturen in der Amnionflüssigkeit ohne Nachweis einer umhüllenden Membran. Die Nabelschnur verläuft und inseriert normal und orthotop (9). Die Identifizierung einer Gastroschisis, auch im Vergleich zu einer Omphalozele, stellt in der Regel kein Problem dar.

Die Ultraschalldiagnostik ermöglicht nicht nur die genaue Darstellung des Feten, sondern sie zeigt auch ein eventuelles Poly- oder Anhydramnion (34, 35) sowie weitere Fehlbildungen. So ist ein pränatal festgestellter Durchmesser der Darmschlingen von mehr als 18mm mit einer längeren Zeit bis zur oralen Ernährbarkeit sowie mit einer häufigeren Notwendigkeit einer Darmresektion assoziiert (48). Der früheste Termin, an dem eine Bauchwandfehlbildung nachweisbar ist, liegt in der 12. Schwangerschaftswoche (SSW) (56). Dann erst sind die physiologische Nabelschnurherniation und die embryonale Darmrotation vollzogen. Generell wird als geeigneter Termin zur Erkennung einer fetalen Missbildung die 16.-22. SSW angesehen. Die Organanlage ist weitestgehend abgeschlossen und einwandfrei identifizierbare anatomische Details machen eine Zuordnung möglich (26).

Als weiteres Diagnostikum dient die Alpha-Fetoprotein-Bestimmung im mütterlichen Serum (30, 69). Das Konzentrationsmaximum besteht zwischen der 13. und 26. SSW und fällt danach stetig ab. Während die AFP-Bestimmung vor allem zur Diagnose von Neuralrohrdefekten genutzt wird, können im zweiten Trimenon erhöhte Werte auch auf einen ventralen Bauchwanddefekt hinweisen. In der Literatur wird ein erhöhter AFP-Spiegel von etwa der Hälfte (63) bis zu 100 % aller Gastroschisisfälle (55) beschrieben.

Ist aufgrund einer belastenden Anamnese, z.B. einer erhöhten AFP-Bilanz eine genetische Gefährdung oder eine Embryopathie zu vermuten, so ist als effizienteres Diagnostikum die Amniozentese in der 16. SSW eine Möglichkeit der weiteren Abklärung. Hohe diagnostische Genauigkeit zusammen mit einem relativ geringen Risiko eines Spontanabortes zeichnen diese Methode aus; etwa 1 % (68, 69), 1,1 % (23), bzw. 0,3 % (44) werden als empirische Werte genannt. Wie im mütterlichen Serum kann eine erhöhte AFP-Konzentration im Fruchtwasser auf einen Bauchwanddefekt hindeuten (69).

Aufgrund der Gefährdung der Schwangerschaft ist die Chorionzottenbiopsie als weiteres diagnostisches Mittel eine der am strengsten indizierten diagnostischen Maßnahmen (24).

2.4. Klinik

Durch den bestehenden Bauchwanddefekt prolabieren meistens das distale Drittel des Magens, Duodenum, Jejunum und Ileum sowie große Anteile des Kolons in die Amnionhöhle und haben so direkten Kontakt mit der Amnionflüssigkeit (Abbildung 1). Die Kapazität der Bauchhöhle ist deutlich vermindert (38, 54). Die Gallenblase und die Leber sind nur selten betroffen (6, 4, 70).



Abb. 1: Weiblicher Säugling mit typischer Gastroschisis.

Der Defekt ist in seiner Größe im Bereich weniger Milli- bis Zentimeter zwar variabel, jedoch misst er nach Keen (41) meistens weniger als 2,5 cm, nach Wesley zwischen 2 und 3 cm (70). Dabei findet sich eine stets normal inserierende Rektusmuskulatur (42). Zusätzlich besteht immer eine Darmlageanomalie mit fehlender Fixation des Kolonrahmens und einer fehlenden Rotation (62).

Die Darmschlingen erscheinen makroskopisch massiv ödematös verquollen und verdickt. Ihre Oberflächen sind mit fibrinös-gelatinösen Schichten bedeckt, wobei teilweise einzelne Schlingen zu ganzen Konvoluten verkleben. Eine peristaltische Aktivität lässt sich primär nicht nachweisen. Die betroffenen Darmschlingen zeigten in histologischen Untersuchungen, dass von der chronischen Entzündungsreaktion hauptsächlich die Serosa und in geringerem Ausmaß auch die Submucosa und die Tunica muscularis betroffen sind (54, 67). Alle Veränderungen nehmen mit steigendem Gestationsalter zu (53, 47). Der Darm scheint massiv verkürzt zu sein, wobei es sich aber zum Teil um eine scheinbare, durch Kontraktion, Ödem und Verdickung bedingte Verkürzung handelt.

Die betroffenen Kinder haben oft wochenlang einen Ileus und müssen über lange Zeit parenteral ernährt werden. Nachdem sich allerdings die Darmfunktion normalisiert hat, weisen die Patienten in ihrem weiteren Leben nur selten Spätkomplikationen auf. In der Mehrzahl der Fälle liegt eine regelhafte Darmfunktion ohne Resorptionsstörungen vor (46).

3. Therapie der Gastroschisis

Zur Therapie der Gastroschisis hat sich nur die chirurgische Therapie bewährt. In den letzten Jahren gab es Studien, die ein Minimal-Management befürworteten (7). Es besteht zwar immer eine absolute Operationsindikation, jedoch sollte sie gut vorbereitet und nicht als Notfall-OP verstanden werden. Es stellte sich heraus, dass auch bei einer Behandlung bis zu 18 Stunden nach Geburt kein Einfluss auf Krankheitsverlauf und Mortalität bestanden (19). Direkt postnatal nach der Kontrolle der unmittelbaren Lebensfunktionen erfolgt die Primärversorgung, bestehend aus eventueller Derotation des Darmes, Wärmeschutz, seitliche Lagerung (Verhinderung eines Kinkings der großen Gefäße), Legen einer Magensonde und eines venösen Zugangs zur Infusions- und antibiotischen Therapie. Zur Wärmeerhaltung sollte das Abdomen und die unteren Extremitäten mit einem sterilen Plastikbeutel abgedeckt werden (Abbildung 2). Zusätzlich sollte eine ausführliche Abklärung auf weitere Fehlbildungen durchgeführt werden.



Abb. 2: Temporäre Versorgung der Gastroschisis mit einem sterilen Plastikbeutel.

Grundsätzlich wird zwischen dem immer angestrebtem Primärverschluss, einem mehrzeitigem Vorgehen und neuerdings einem Minimal-Management unterschieden. Die Disproportion der eventrierten Organe und der Abdominalhöhle ist dabei das entscheidende Kriterium zur Wahl der entsprechenden Therapie. Durch die Entwicklung der Organe außerhalb des Abdomens kommt es zur Hypoplasie der Bauchhöhle. Bei einer primären, kompletten Zurückverlagerung der Organe mit anatomischem Verschluss der Bauchdecken kommt es oft zu stark erhöhten Druckverhältnissen und evtl. zu lebensgefährlichen Komplikationen. Dieser auch als „overcrowding“ bezeichnete Zustand führt u. a. zu einer Komprimierung der Vena cava inferior und somit zu einer Drosselung des venösen Rückflusses zum Herzen. Es folgt eine Minderung des Herzzeitvolumens und letztendlich ein kardiogener Schock. Des Weiteren wird das Zwerchfell nach kranial gedrängt und in seiner Atemarbeit eingeschränkt. Die Kompression der Organe und ihrer Gefäße führt zu einer Minderperfusion und eventuell sogar zu Drucknekrosen. Außerdem kann dadurch die Durchblutung von Nieren und Darm kompromittiert werden, dem sogenannten "abdominellen Kompartiment Syndrom". Durch den Prolaps an sich und der Reposition können die Gefäßstiele stranguliert oder komprimiert werden und so eine Ischämie und Nekrose der Organe herbeiführen. Als weitere Komplikationen sind Peritonitis, Sepsis und Pneumonie zu nennen, die vor allem in prognostischer Hinsicht die Verläufe von Gastroschisispatienten beeinflussen (12, 27).

3.1. Primärverschluss

Um die Möglichkeit des Primärverschlusses abzuklären, bedarf es einer präzisen Einschätzung des intraabdominellen Druckes, zum Beispiel mit Drucksonden, die im Bereich der Blase, dem Magen oder in der Vena cava liegen. Nach allgemeiner Lehrmeinung darf der maximal tolerable Druck im Abdomen 20 cm Wassersäule (72) nicht übersteigen. Dieser Druck kann perioperativ zum Beispiel über eine nasogastrale Sonde oder einen Blasenkatheter kontinuierlich gemessen werden.

Nach Spülung und Ausschluss von weiteren abdominellen Fehlbildungen, sowie Zwerchfelldefekten erfolgt die Reposition. Die fibrinösen Beläge werden wegen der eventuellen Blutungsgefahr größtenteils belassen (6). Eine Erweiterung der Bauchwandlücke zur besseren Reposition wird nicht empfohlen. Nun erfolgt die

Anlage von mehreren ausstülpenden U-Nähten durch Faszie, Muskulatur und Peritoneum, die parallel unter Sicht angezogen und geknotet werden (Abbildung 3).

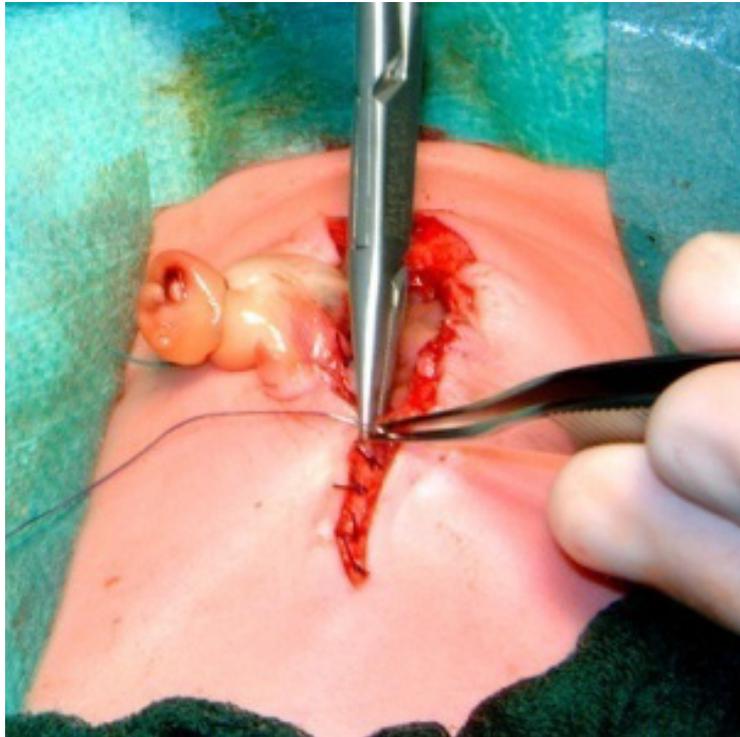


Abb. 3: Anlage der U-Nähte durch Faszie, Muskulatur und Peritoneum.

Die nach außen gestülpten Muskelränder werden beidseits etwas angefrischt und zusammen mit der vorderen Rektusscheide durch eine zweite Einzelknopfnahntreihe adaptiert (Abbildung 4). Vor dem Hautverschluss kann bei Bedarf zwischen Subkutis und Faszie eine Redon-Drainage eingelegt werden.



Abb. 4: Zustand nach primärem Bauchdeckenverschluss

3.2. Mehrzeitige Operationsverfahren

Mehrzeitige Verfahren werden dann angewandt, wenn bei Reposition ein zu hoher Druck im Abdomen und so ein letales Risiko mit Hochdrängen des Zwerchfells, Cava- und Darmkompression, Querverlagerung des Herzens, Persistenz oder Entstehen eines Ileus, einer Peritonitis, und weiteren Komplikationen besteht (21, 51, 36, 61). Bei der zunächst 1948 von Gross entwickelten Methode, bei der lediglich die Haut adaptiert wurde, konnten nur unzufriedene Ergebnisse mit der Entstehung von riesigen Hernien und massiven Adhäsionen erzielt werden und wird daher nicht mehr angewandt (6, 71). Daraufhin entwickelte Schuster 1967 die Methode des mehrzeitigen Verschlusses mit alloplastischen Materialien. Die Grundidee besteht darin, einen mit einem Draconnetz verstärkten Silasticbeutel an der Bauchwandlücke so zu fixieren, dass er vorübergehend die Organe aufnehmen, bedecken und schützen kann. Dieser Beutel wird nun zunehmend verkleinert, so dass der Darm langsam ins Abdomen zurückgedrängt wird. Durch diese graduelle Reposition ist es der Peritonealhöhle möglich, sich dem Inhalt anzupassen, ohne dass es zu einer übermäßigen Drucksteigerung kommt. Nach vollständiger Reposition erfolgt der komplette Bauchdeckenverschluss. Als schwer zu vermeidende Komplikation erwies

sich die Infektionsgefahr der Nähte mit denen die Folie an den Hauträndern befestigt ist. Daher wurde versucht, den Silasticbeutel durch biologische Materialien zu ersetzen. Diese konnten sich jedoch auch nicht durchsetzen, da sie entweder schwer zu beschaffen, nicht stabil genug waren oder zu starken Verwachsungen führten. Daher ist bei den mehrzeitigen Verfahren die Spring-Loaded-Silo-Technik der momentane „Standard of Care“. Dabei verhindert eine zirkuläre Feder am offenen Ende des Silo's, welche unter der Bauchwand innerhalb des Abdomens platziert wird, das Herausrutschen des Silo's aus dem Abdomen (Abbildung 5). In weiteren täglichen Einzelschritten erfolgt nun wieder die schrittweise Verkleinerung des Silolumens.



Abb. 5: Spring-Loaded-Silo.

3.3. Minimal Management

Bianchi und Dickson (8) behandelten ab 1993 bis 2002 von insgesamt 35 Gastroschisispatienten 25 erfolgreich mit ihrer Methode. Dabei wird der Säugling auf der rechten Seite gelagert, seine eventrierten Organe in einen sterilen Plastiksack eingehüllt und im Mittel länger als vier Stunden belassen. Es wird so lange gewartet, bis sich der Kreislauf vollkommen stabilisiert hat und der Patient sich in optimaler

Verfassung befindet. Bei stabilen Kreislaufverhältnissen wird der Säugling in Rückenlage gebracht und das Abdomen durch konsequenten, aber vorsichtigen Zug der Nabelschnur nach oben geöffnet. Während des Zurückgleitens der einzelnen Schlingen werden Magen und Pharynx ständig abgesaugt. Die Geschwindigkeit des Vorgehens wird dabei von der Reaktion des nicht sedierten Kindes, der Atmung und der vaskulären Versorgung der unteren Extremitäten bestimmt. Der „umbilikale Eingang“ wird nun durch Anheften der Nabelschnur an das Rektusblatt verschlossen. Bianchi und Dickson haben nach ihren ersten Erfahrungen klare Kontraindikationen zu diesem Verfahren aufgestellt (8). Ein schlechter Allgemeinzustand, andere schwere Anomalien oder Anzeichen einer Ateminsuffizienz sind generelle Ausschlusskriterien. Ein zu großes Verhältnis von Darm zu Abdominalhöhle, eine zu enge Öffnung, ein hypoplastisches Mesenterium und eine komprimierte Blutzirkulation des Darmes sind ebenfalls Kontraindikationen für ein Minimal-Management.

4. Pathophysiologie

Aufgrund des intrauterinen Kontaktes der eventrierten abdominalen Organe mit der Amnionflüssigkeit kommt es im Bereich der Kontaktflächen zu einer ausgeprägten Entzündungsreaktion. Es konnten mikroskopisch vermehrt Makrophagen in der Fibrinschicht nachgewiesen werden (28). Zusätzlich wurde eine erhöhte Produktion von Interleukin-6 und -8 sowie erhöhte Ferritin- und Proteinspiegel als Zeichen einer Entzündungsreaktion in der Darmwand festgestellt. Durch Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles gelangen diese Metaboliten vermehrt in die Amnionflüssigkeit (50). Dies bewirkt zum einen die weitere Triggerung der Entzündungsreaktion sowie einen Proteinverlust für den Feten. Die Entzündungsreaktion mit der postpartal sichtbaren Fibrin- und Ödembildung beruht auf der erhöhten Konzentration von Verdauungsenzymen in der Amnionflüssigkeit (13). Diese gelangen zum kleinen Teil über den normalen Weg der Ausscheidung per Anus sowie v. a. durch Diffusion über die eventrierten Darmwände in die Amnionflüssigkeit. Nachdem man zunächst Urin als das schädigende Agens gehalten hatte (43), führten weitere Untersuchungen zu der Erkenntnis, dass Mekonium bzw. die darin enthaltenen Verdauungsenzyme die Entzündungsreaktion der Serosa bedingen (40). Dadurch kommt es zu einer Fehl- und Minderfunktion mukosaler Enzyme (2). Zusätzlich triggert Interleukin 8 die Chemotaxis der Neutrophilen und steigert so die Entzündungsreaktion. In weiteren Untersuchungen konnte aktuell festgestellt werden, dass Urin die Entzündungsreaktion sogar reduzieren könnte. Urin enthält hohe Konzentrationen von Urinary Trypsin Inhibitor, welcher IL-8 hemmt (57).

Der Verlauf wird hauptsächlich durch einen prolongierten Ileus beeinflusst. In Anbetracht der bisherigen Erkenntnisse geht man davon aus, dass dieser Ileus durch eine entzündliche Genese verursacht wird und nicht, wie früher angenommen einer neuronalen, bzw. einer Innervationsstörung zugrunde liegt. Dadurch ist in aller Regel eine lange parenterale Ernährung nötig, die v. a. von der Darmmotilität und weniger von Resorptionsstörungen abhängig ist. Stellt sich eine suffiziente Peristaltik ein, ist meistens ein vorsichtiger Nahrungsaufbau möglich und es kann die lange parenterale Ernährung mit seinen vielfachen Komplikationen reduziert und abgesetzt werden.

Ein weiteres postpartales Problem besteht in der Infektionsgefahr. Die Neugeborenen sind vermehrt für die Entwicklung einer Peritonitis, Pneumonie oder dem Vollbild einer Sepsis anfällig. Dies resultiert durch den Defekt aus einer erhöhten Kontaminationsgefahr sowie einer Abwehrschwäche. Aufgrund der ausgeprägten Diffusion von Proteinen über die eventrierte Darmwand in die Amnionflüssigkeit sowie eines deutlichen Verbrauchs aufgrund der Entzündungs- und damit Abwehrfunktion, kommt es zu einer Hypoproteinämie. Diese und der hohe intrauterine Verbrauch der Abwehrfaktoren führen zu einer Immuninsuffizienz. Dadurch besteht eine erhöhte Infektionsgefahr der Neugeborenen. Die Ursache all dieser Komplikationen liegt in dem intrauterinen Kontakt der eventrierten Organe, dabei vor allem des Dünndarmes mit der Amnionflüssigkeit.

5. Pränatale Therapie

Da die Mortalität und der Krankheitsverlauf primär durch den intrauterinen Kontakt der Organe mit der Amnionflüssigkeit beeinflusst werden, erscheint eine pränatale Therapie der Gastroschisis sinnvoll. Bezüglich der fetalen Chirurgie bestehen feste Einschlusskriterien. Die Entstehung und die Pathophysiologie der Erkrankung müssen vollständig geklärt sein. Neben einer exakten pränatalen Diagnostik muss die Durchführbarkeit bei niedriger Mortalität sowie Effektivität der fetalchirurgischen Operationsmethode im Tiermodell bewiesen sein. Die Mutter darf nur einem vertretbarem Risiko ausgesetzt sein. Harrison bezeichnet als Grundprinzip der fetalen Chirurgie die Aussage „all or none“, d.h. die Korrektur muss vollständig und eine hohe Chance des fetalen Überlebens beinhalten (32). Als erste fetalchirurgisch durchgeführte Operation erfolgte 1981 in San Francisco die offen chirurgische Anlage einer Ureterostomie von MD Harrison zur Behandlung einer Hydronephrose. Es folgten Eingriffe zur Behandlung von kongenitalen Zwerchfellhernien 1983 sowie Operationen bei Chylothoraces, sacrococcygealer Teratome, zystisch-adenomoider Lungenveränderungen und bei obstruktivem Hydrocephalus. Ein weiterer Schritt erfolgte mit der plastischen Deckung einer lumbalen Myelomeningozele durch einen Latissimus-dorsi-Lappen (11), da es sich nicht mehr um ein definitiv lebensbedrohliches Krankheitsbild handelte. Als einer der limitierenden Faktoren der fetalen Chirurgie wird die vorzeitige Wehentätigkeit von Harrison als Achillesferse der Fetalchirurgie bezeichnet. Es ist daher eine effiziente Tokolyse unabdingbar. Als weitere Risiken sind Blutungen der Plazenta, des Uterus und des Feten sowie Nahtinsuffizienz des Uterus mit Leckage und daraus folgender Auslösung von Wehen zu nennen. Daher hat sich die minimalinvasive, die fetoskopische Vorgehensweise (auch FETENDO genannt), zu einer möglichen Alternative entwickelt, wobei ähnliche Komplikationen hervorgerufen werden können (22). An der Bauchwand beschränken sich die pränatalen Eingriffe auf die Behandlung von Uropathien, sprich das Anlegen eines Shunts oder einer Vesikostomie. Ein Bauchdeckenverschluss oder ähnlich aufwendige Operationen im abdominellen Bereich wurden jedoch noch nicht angegangen. Als ein möglicher Therapieansatz wurde der Austausch der Amnionflüssigkeit diskutiert, um dadurch die Exposition des Darmes mit der aggressiven Amnionflüssigkeit und der begleitenden

Entzündungsreaktion zu vermindern (40, 45, 50). Es bestehen auch schon erfolgreiche klinische Modelle mit Austausch der Amnionflüssigkeit am Menschen (49). Dabei scheint es nicht ausreichend zu sein, den Austausch nur einmalig durchzuführen. Allerdings besteht so mit der gehäuften Durchführung der Infusion ein erhöhtes und nicht zu verachtendes Infektionsrisiko sowie die Gefahr, vorzeitige Wehen auszulösen. Auch deshalb ist aktuell laut der Studie von Midrio et al. (52) der Amnionaustausch kritisch zu bewerten. Dabei wurde nachgewiesen, dass trotz wiederholten Austausches der Amnionflüssigkeit die Entzündungszeichen am eventrierten Darm sowie die Konzentration von biologischen Entzündungsmarkern in der Amnionflüssigkeit nicht reduziert werden konnten. So erscheint ein fetalchirurgischer Verschluss der Bauchwand sinnvoll, um die Mortalität, die Morbidität und den weiteren Verlauf entscheidend zu verbessern.

6. Fetalchirurgische Gastroschisis-Modelle

Bislang gibt es einige Tiermodelle zur Anlage einer experimentellen Gastroschisis. Phillips et al. zeigte schon vor Jahren, dass in seinem Modell eine Technik verwendet wird, die es erlaubt, einen Defekt der fetalen abdominalen Wand zu setzen und damit eine Reaktion an den eventrierten Organen zu provozieren, die dem Krankheitsbild der Gastroschisis entspricht (59). Es existiert jedoch noch kein Modell zum fetalchirurgischen Verschluss. Dies ist nötig, um die Therapie der Gastroschisis zu evaluieren und eventuell zu verbessern.

7. Zielsetzung

Ziel dieser Studie ist die Entwicklung eines Tiermodells der intrauterinen Korrektur einer experimentell angelegten Gastroschisis.

Dabei sollen die pathophysiologischen Verhältnisse der Gastroschisis möglichst gut emuliert werden. Die Herausforderung dabei besteht darin, die dazu nötigen chirurgischen Eingriffe durchzuführen ohne die Vitalität der Feten zu kompromittieren.

8. Material und Methoden

8.1. Kurzbeschreibung des Versuchsaufbaus

Bei insgesamt 18 Kaninchenfeten wurde am 27. Schwangerschaftstag in offener chirurgischer Technik eine experimentelle Gastroschisis angelegt. Danach wurden die Feten 5 Stunden lang echokardiographisch überwacht. Die Feten wurden in 3 Gruppen randomisiert: 1) Gastroschisisanlage und Verschluss nach 2h, 2) Gastroschisisanlage ohne Verschluss, 3) Kontrollgruppe ohne chirurgische Intervention.

Die Herzfrequenzen wurden über den Beobachtungszeitraum überwacht und dokumentiert. Anschließend wurden die Vitalparameter der experimentellen Gruppen miteinander verglichen. Außerdem wurde der Erfolg des Verschlusses bei der ersten Versuchsgruppe evaluiert.

8.2. Tierschutzaspekte

Die Studie wurde von der Regierung von Oberbayern genehmigt und nach den europäischen Richtlinien für Tierschutz durchgeführt. (AZ: 211-2531-56/01)

8.3. Tierherkunft und Tierhaltung

Die verwendeten „New Zealand White“-Kaninchen wurden zwei bis drei Tage vor geplantem OP-Termin geliefert (Harlan Winkelmann, Borcheln, BR Deutschland), damit sie sich an ihre neue Umgebung gewöhnen konnten. Sie wurden in Einzelkäfigen bei einer Temperatur von 20° C und bei einem 12 Stunden Rhythmus von abwechselnd Licht und Dunkelheit gehalten.

8.4. Versuchsprotokoll

8.4.1. Versuchsablauf

Es wurden insgesamt 18 „New Zealand White“- Kaninchenfeten in die Studie eingeschlossen.

Diese wurden per Losverfahren in eine von 3 Versuchsgruppen zu je 6 Feten randomisiert:

- 1) Gastroschisisanlage und Verschluss nach 2h (GSR – Gastroschisis and Repair)
- 2) Gastroschisisanlage ohne Verschluss (GS – Gastroschisis)
- 3) Kontrollgruppe ohne chirurgische Intervention. (C- Control)

An den Gruppen wurden am 27. Schwangerschaftstag (Termingeburt 31. Tag) jeweils folgende Interventionen durchgeführt

- Experimentelle Anlage einer Gastroschisis in Anlehnung an das Modell von Philipps (59) in den Gruppen 1 und 2
- Verschluss der Gastroschisis nach 2h in Gruppe 1
- Überwachung ohne Intervention in Gruppe 3

Nach diesen Manipulationen wurden alle Feten über einen Zeitraum von insgesamt 5h nach Laparotomie des Muttertieres mittels regelmäßiger transuteriner Echokardiographie evaluiert.

Am Versuchsende wurden die Feten getötet. In der Gruppe 1 wurde der Bauchwandverschluss auf Insuffizienz überprüft. Außerdem wurde der Dünndarm auf Schädigung makroskopisch und histologisch untersucht.

8.4.2. Narkose und Monitoring

Zunächst wurden die schwangeren Kaninchen katalogisiert und gewogen (mittleres Gewicht 4,5 kg). Als Prämedikation erhielten sie 10mg Diazepam subcutan (s.c.), bevor die Anästhesie eingeleitet wurde. Diese bestand aus 2mg Atropin s.c., 0,4mg Medetomidin intramuskulär (i.m.), 100mg Metamizol i.m., 20mg Midazolam s.c., 40mg Ketamin i.m. und abschließend 0,5mg Terbutalin s.c. als Tokolytikum. Nach einigen Minuten, bei beginnender Eintrübung, wurde das Kaninchen in Rückenlage auf dem OP-Tisch an allen vier Extremitäten fixiert, wobei sich unter dem sterilen Abdecktuch eine Heizdecke mit mittlerer Stufe (35°C) gegen drohende Auskühlung befand. Nun erfolgte die Intubation mittels eines Laryngoskopes und Tubus Größe 3,5mm in Rückenlage. Um das erforderliche Blickfeld zu gewährleisten, war eine zweite Person nötig, die den Oberkiefer mittels einer Mullbinde nach dorsal streckte. Der Tubus wurde mit einem 2,0 Vicryl-Faden und Durchstichnaht am Mundwinkel fixiert. Die Beatmung (Beatmungsgerät Seacrist, Infant Ventilator Modell IV-100B) erfolgte zu Beginn mit einer Frequenz von 40/min, einer inspiratorischen Zeit von 0,40 und expiratorischen Zeit von 0,80. FiO₂ betrug bei PEEP 2 anfangs 100%, nach Stabilisierung des Kreislaufs nur noch 50% und wurde im weiteren Verlauf je nach Oxygenierung angepasst. Nun wurde zirkulär ein Abschnitt einer oberen Extremität, die Ventralseite einer Ohrmuschel und der Abdominalbereich rasiert. An der Ohrmuschel legten wir einen arteriellen und einen venösen Zugang in die Arteria und Vena auricularis (22 gauge, Johnson&Johnson). An den venösen Zugang schlossen wir eine 50ml Spritze mit Natriumchloridlösung 0,9%, die über einen Perfusor (Braun) mit einer Volumenmenge von 7ml/h lief. An den arteriellen Zugang wurden über einen Drei-Wege-Hahn zwei Perfusoren (Braun) angeschlossen. Der erste enthielt jeweils 200mg Ketamin sowie Propofol, und 10mg Midazolam, insgesamt auf 50 ml Vollelektrolytlösung aufgezogen. Ketamin und Propofol wurden in einer Dosis von

80µg/kgKG/min und Midazolam mit 4µg/kgKG/min verabreicht. In der zweiten Perfusorspritze befanden sich 14,5mg Atosiban und 2mg Terbutalin auf 50ml Natriumchloridlösung 0,9% als Tokolytikum. Atosiban wurde mit 7,5µg/kgKG/min, Terbutalin mit 1µg/kgKG/min verabreicht. Es wurde eine Blutgasanalyse durchgeführt, welche in regelmäßigen Abständen über den gesamten Zeitraum zur Stoffwechselkontrolle wiederholt wurde. An den rasierten Extremitätenabschnitt befestigten wir eine Pulsoxymetriesonde. Zur weiteren Überwachung wurden außerdem noch die EKG-Elektroden und eine rektale Temperatursonde angebracht, die an einen Mehrkanalmonitor (Siemens) angeschlossen wurden. Anschließend erfolgte die Desinfektion des rasierten Abdomens mittels Kodan Tinktur forte. Nach Trocknung wurde unter sterilen Bedingungen ein zweiteiliges Lochtuch (Foliodrape) platziert.

8.4.3. Chirurgische Technik

Unter Berücksichtigung der Sterilität wurde nun eine Mittellinienlaparotomie mittels eines ca. 10cm langen Schnittes (Skalpell 15/Feather) durchgeführt, wobei der bei den Kaninchen physiologische Uterus bicornis exponiert wurde (Abbildung 6).

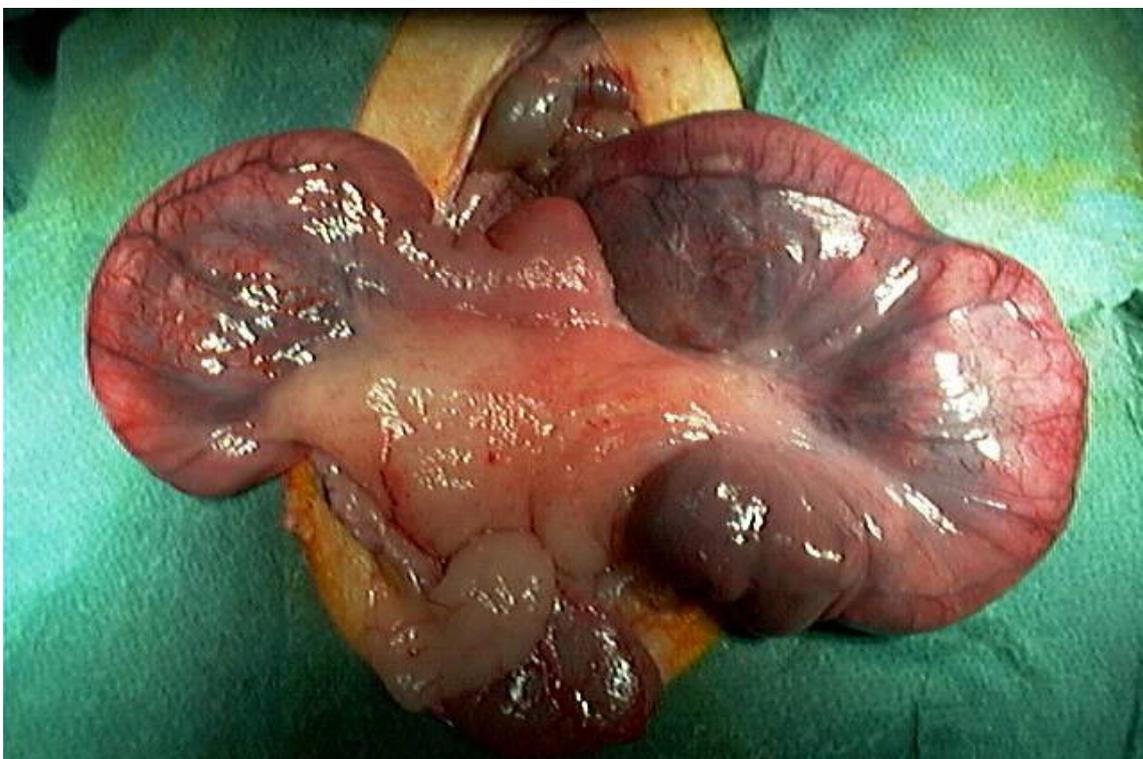


Abb. 6: Uterus bicornis nach Laparotomie des Muttertieres.

Dabei fixierten Backhausklemmen die Haut- und Muskelschichten zur Außenseite hin. Größere Gefäße wurden hierbei mit dem Elektrokauter versorgt. Für die Dokumentation und die Bestimmung der fetalen Herzfrequenzen mittels Ultraschall (Siemens, Sonoline AC, Erlangen, BR Deutschland) wurde der gesamte Uterus kurzfristig vor die Bauchdecke luxiert, wobei fetale Herzfrequenzen über 100/min als vital definiert wurden (Normalwerte von 150-230/min). Nun erfolgte die randomisierte Zuordnung der Feten auf die verschiedenen Versuchsgruppen (C, GS, GSR) durch ein Losverfahren mit Zufallszahlen. Bis auf den momentan zu manipulierenden Feten wurde der restliche Uterus wieder in die Abdominalhöhle zurückverlagert. Um eine mögliche Austrocknung zu vermeiden, wurden mit Ausnahme des unmittelbar zu manipulierenden Feldes die eröffneten Gebiete mit sterilen in warmer Vollelektrolytlösung getränkten Bauchtüchern, bzw. Kompressen abgedeckt (Abbildung 7). Die Wärmeerhaltung war durch die Heizdecke gesichert, die so geregelt wurde, dass sich bei dem Muttertier eine rektale Temperatur um 35°C ergab.



Abb. 7: Vorbereitung zur chirurgischen Intervention.

Der zu operierende Fetus wurde nun so platziert, dass der Kopf palpatorisch auf der linken Seite zu liegen kam. Auf Höhe des fetalen Abdomens erfolgte eine 1cm lange Hysterotomie, wobei die drei Schichten (Myometrium, Chorionmembran und Amnionmembran) sorgsam differenziert und während der gesamten Prozedur mit jeweils einer atraumatischen Pinzette auf jeder Seite gehalten wurden (Abbildungen 8 bis 10). Um das Einreißen des Schnittes zu vermeiden, setzte man an jedes Ende eine Haltenaht, die wiederum mit einer Klemme gesichert wurde.



Abb. 8: Verhältnisse nach Eröffnung des Myometriums. Die Chorionmembran ist an den Gefäßen zu erkennen und wird mit der Kanüle von der Amnionmembran abgehoben.



Abb. 9: Nach Eröffnen der Chorionmembran wölbt sich die Amnionmembran ohne Gefäßzeichnung in die Wunde vor.

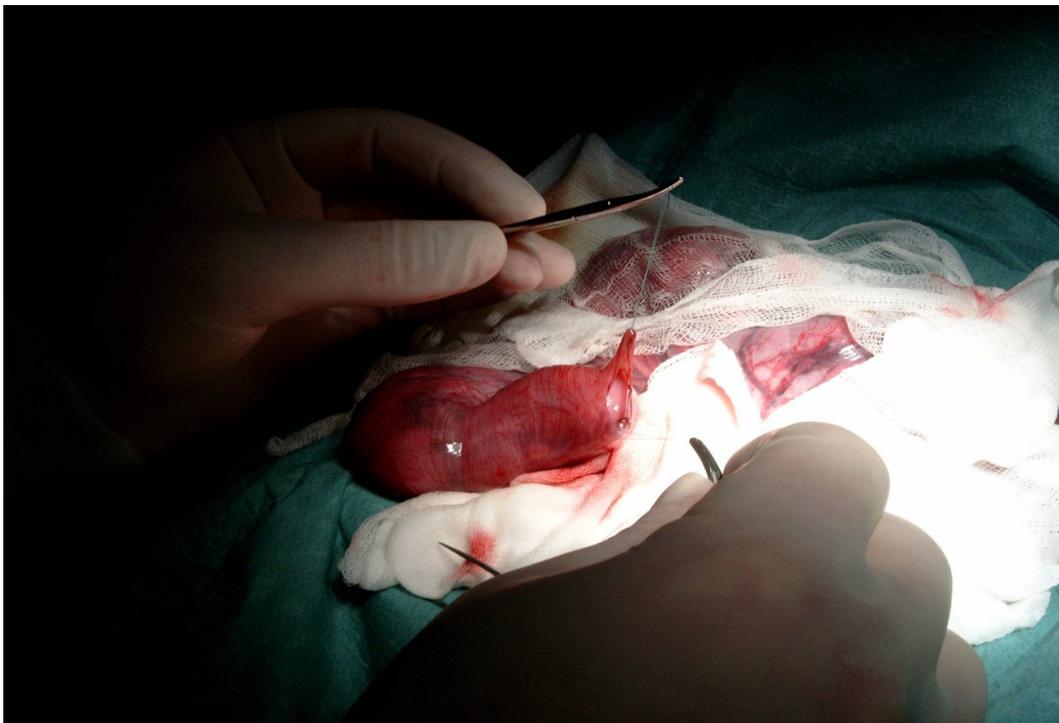


Abb. 10: Komplette Eröffnung des Uterus bis in die Amnionhöhle. Um die Membranen für den Verschluss zu erhalten werden an den Wundrändern allschichtige Haltefäden platziert.

Nach Eröffnen der Amnionhöhle luxierten wir das linke Bein und den linken unteren Quadranten aus der Wunde heraus (Abbildung 11 und 12). Der restliche fetale Körper wurde mit Hilfe eines angefeuchteten Wattestäbchens zurückgehalten.



Abb. 11: Herausluxieren der linken unteren Extremität und des unteren Quadranten.

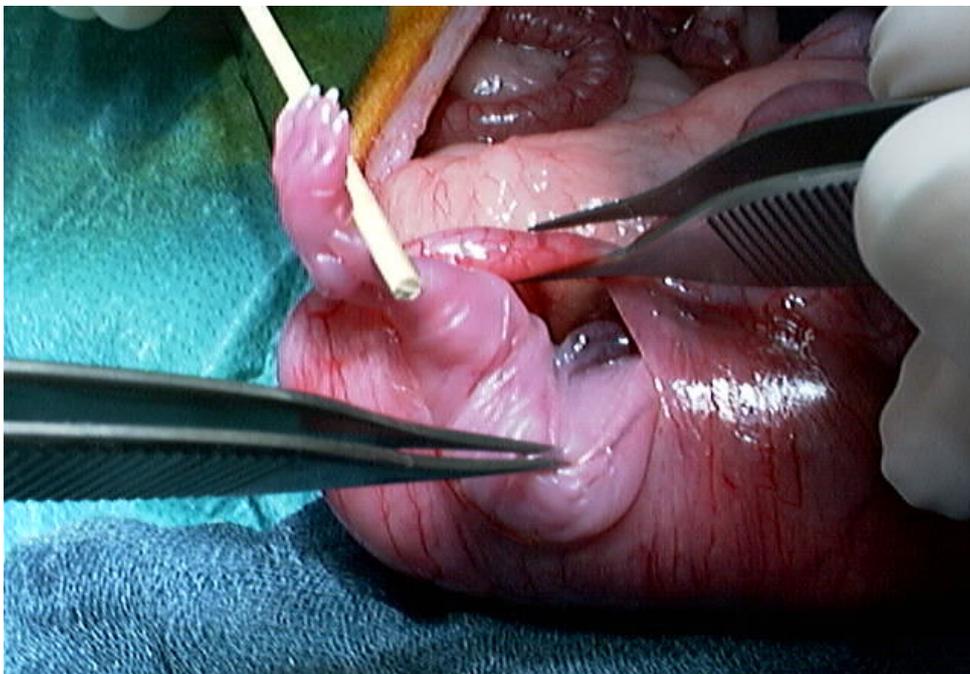


Abb. 12: Darstellung der Insertion der Nabelschnur (dunkle Struktur in der Mitte des fetalen Abdomens knapp oberhalb der linken Pinzette).

Nun erfolgte mit einer stumpfen Schere und Pinzette ein maximal 5mm langer longitudinaler, paraumbilicaler Schnitt im unteren linken Quadranten, wobei besondere Vorsicht auf die Unversehrtheit der Nabelschnur gelegt wurde (Abbildung 13). Durch sanften Druck von dorsal und kranial prolabierten ausreichend Darmanteile, ohne jedoch Leber oder Milz zu quetschen oder prolabieren zu lassen (Abbildung 14). Es wurde darauf geachtet, dass die Darmanteile nicht berührt wurden.

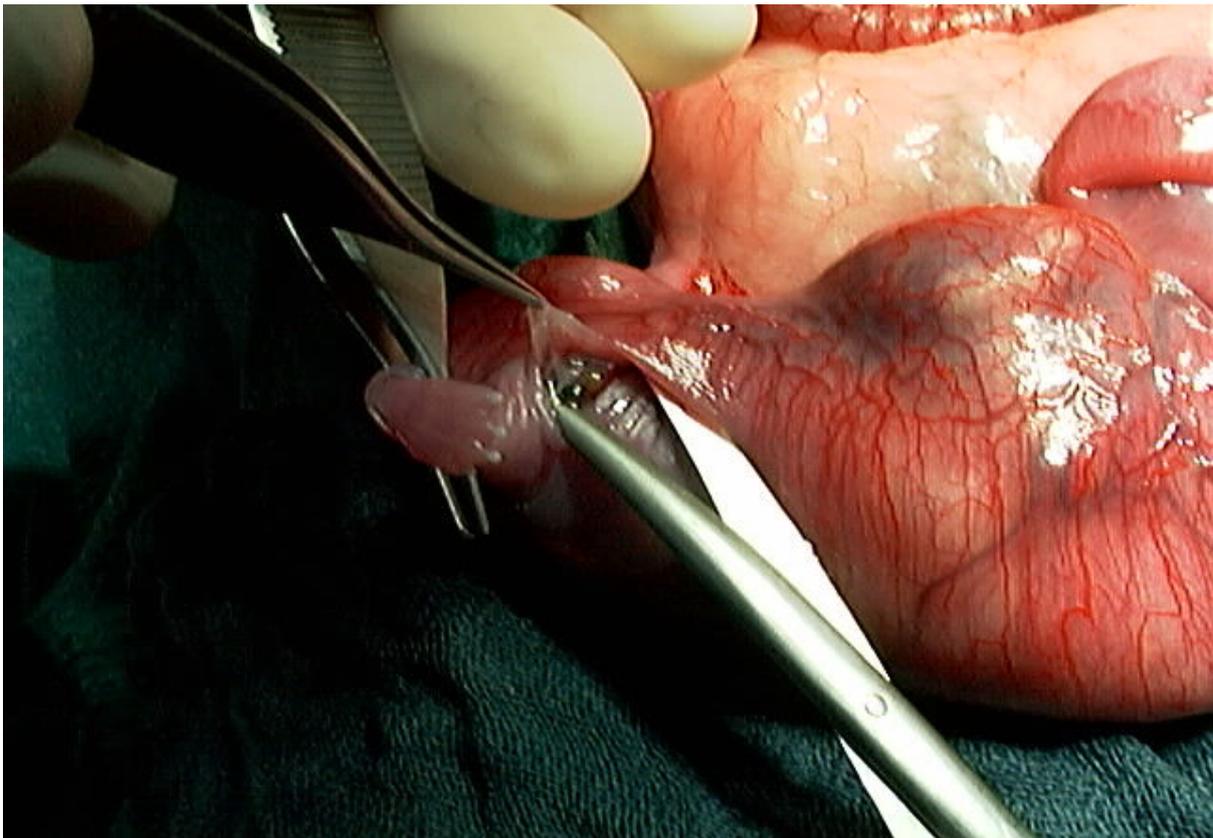


Abb. 13: Anlage der Gastroschisis mit der Präparierschere.

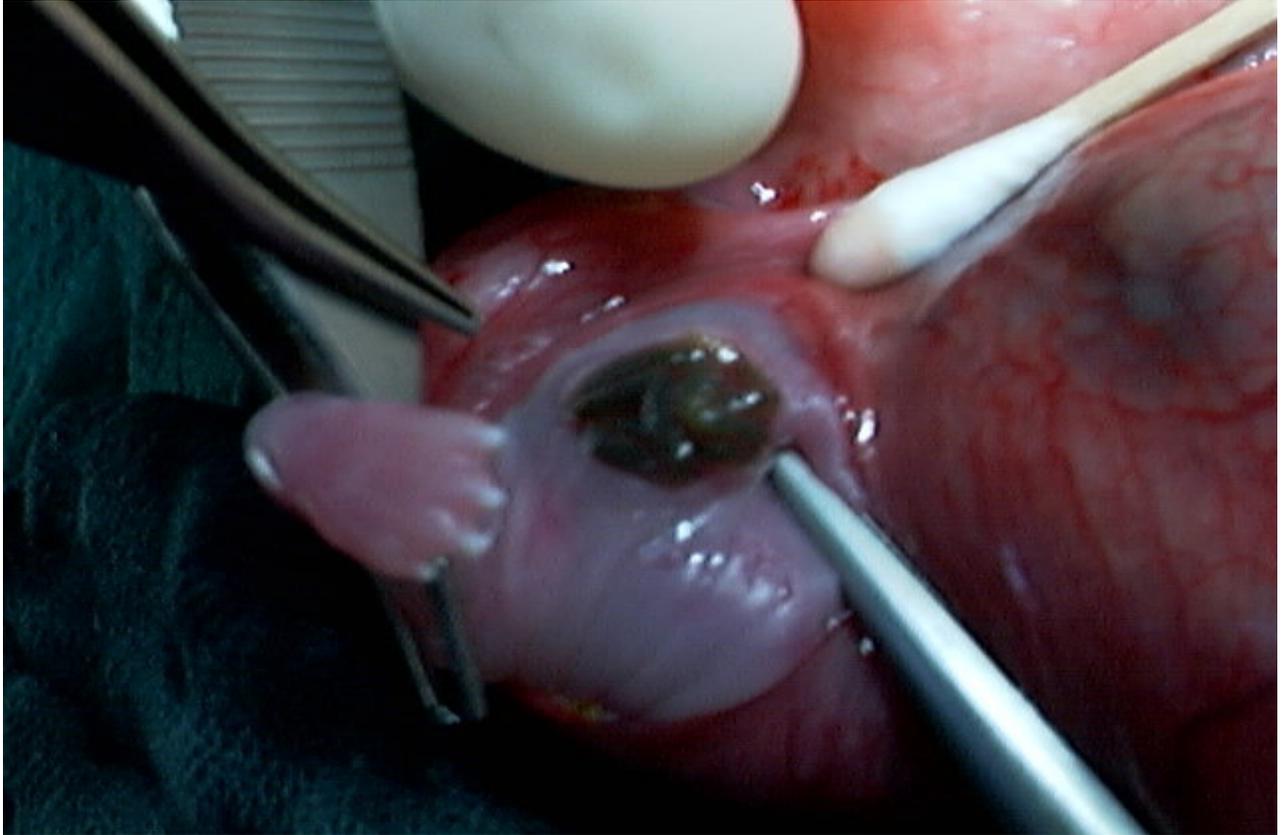


Abb. 14: Prolaps der intraabdominellen Organe durch dorsalen Druck auf den Feten.

Danach wurde der Fetus wieder in die Amnionhöhle zurückverlagert. Die Hysterotomie wurde mit einer fortlaufenden Naht mit 5,0 Polypropylen (Ethicon, Eppendorf, BR Deutschland) allschichtig verschlossen. Dabei wurde explizit auf die differenzierte Auffädung der Amnio- und Chorionmembran sowie der uterinen Muskulatur geachtet (Abbildung 15).

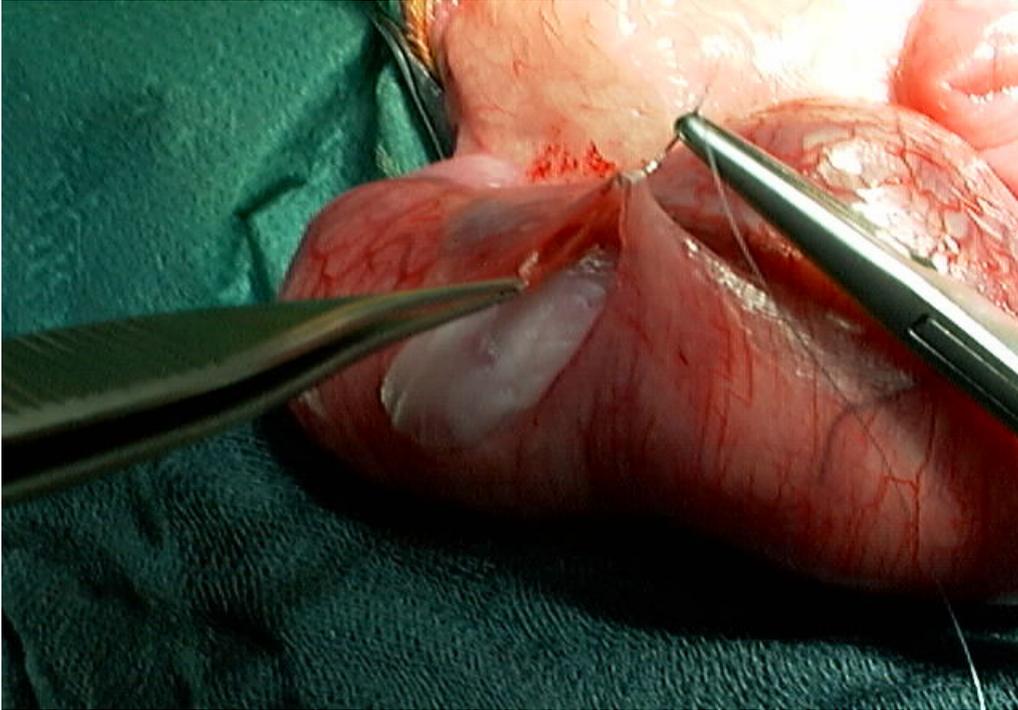


Abbildung 15: Allschichtiger Verschluss des Uterus.

Gleichzeitig ersetzte man verlorene Amnionflüssigkeit durch 3ml Vollelektrolytlösung. Diese wurden mittels einer 24g intravenösen Kanüle vor dem definitiven Zuziehen der Nähte injiziert (Abbildung 16).

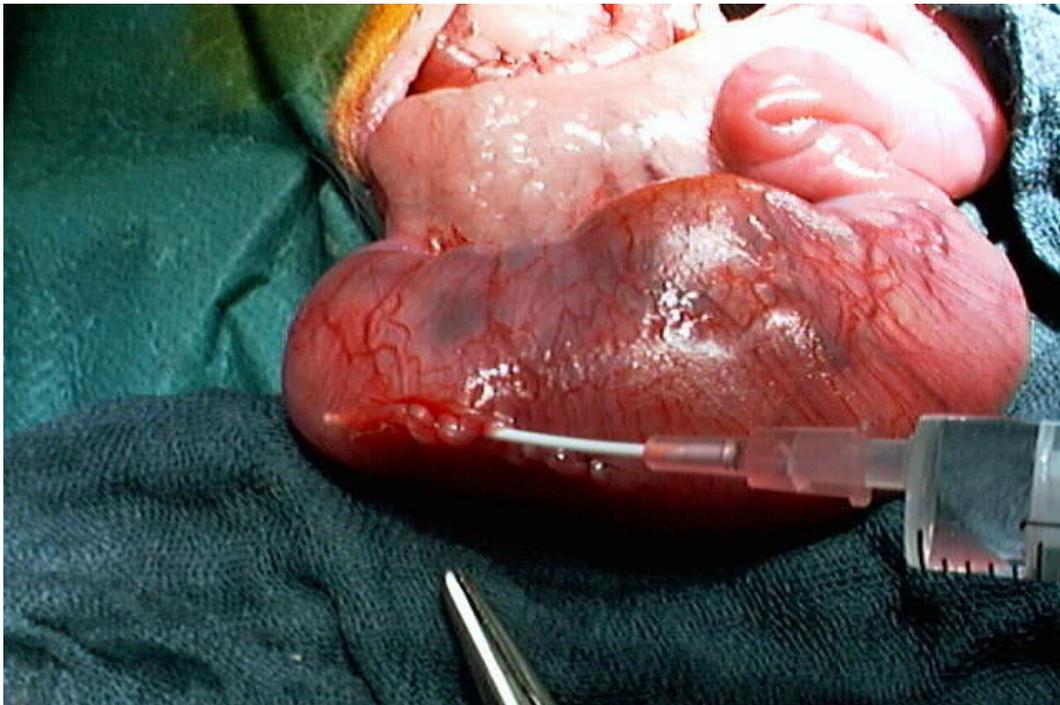


Abb. 16: Ersatz der Amnionflüssigkeit.

Vor Reposition des Uterusabschnittes wurde nochmals die fetale Frequenz mittels Ultraschall kontrolliert. Während des ganzen Vorgangs wurden schnell austrocknende Gewebereiche von Uterus und Fetus immer wieder bei Bedarf mit vorgewärmter Vollelektrolytlösung befeuchtet (Abbildung 17).

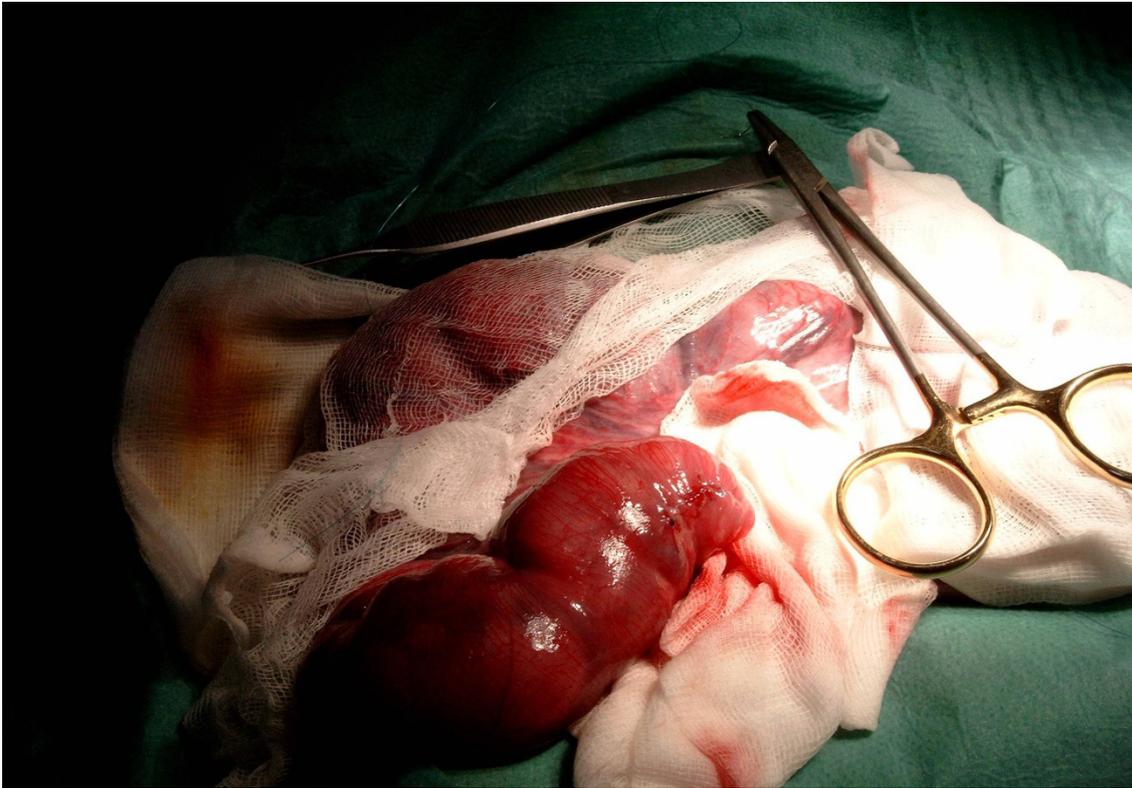


Abb. 17: Kompletter Verschluss der Uterotomie.

Bis auf die Kontrollfeten, die keiner Manipulation unterliefen, wurde bei allen anderen Feten (GS, GSR) in gleicher Weise verfahren. Im weiteren Verlauf wurden die Herzfrequenzen aller Feten halbstündlich kontrolliert. Bis auf diesen Vorgang wurde die Laparotomie mittels der Backhausklemmen provisorisch wieder verschlossen. Zwei Stunden nach Versuchsbeginn wurde die Gastroschisis bei den entsprechenden Feten (GSR) in folgender Technik wieder verschlossen: Nach Positionierung des Uterusabschnittes wie oben beschrieben, eröffnete man die Hysterotomienäht mittels Durchtrennung der Fäden, wobei die drei Schichten wieder mit einer atraumatischen Pinzette gehalten wurden. Nun schob man die prolabierte Darmanteile (Abbildung 18) mit einem angefeuchteten Wattestäbchen vorsichtig in die Abdominalhöhle zurück (Abbildung 19).

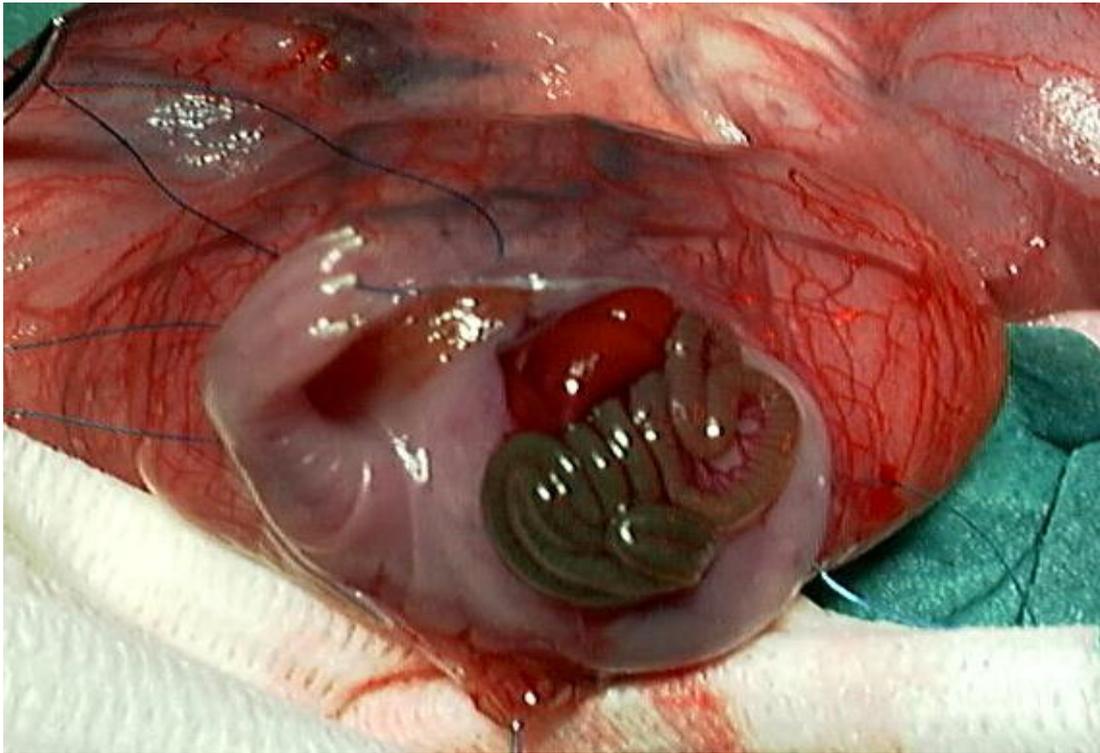


Abb. 18: Experimentelle Gastroschisis nach erneuter Eröffnung der Amnionhöhle, in diesem Fall mit Prolaps von Dünndarm und Leber.

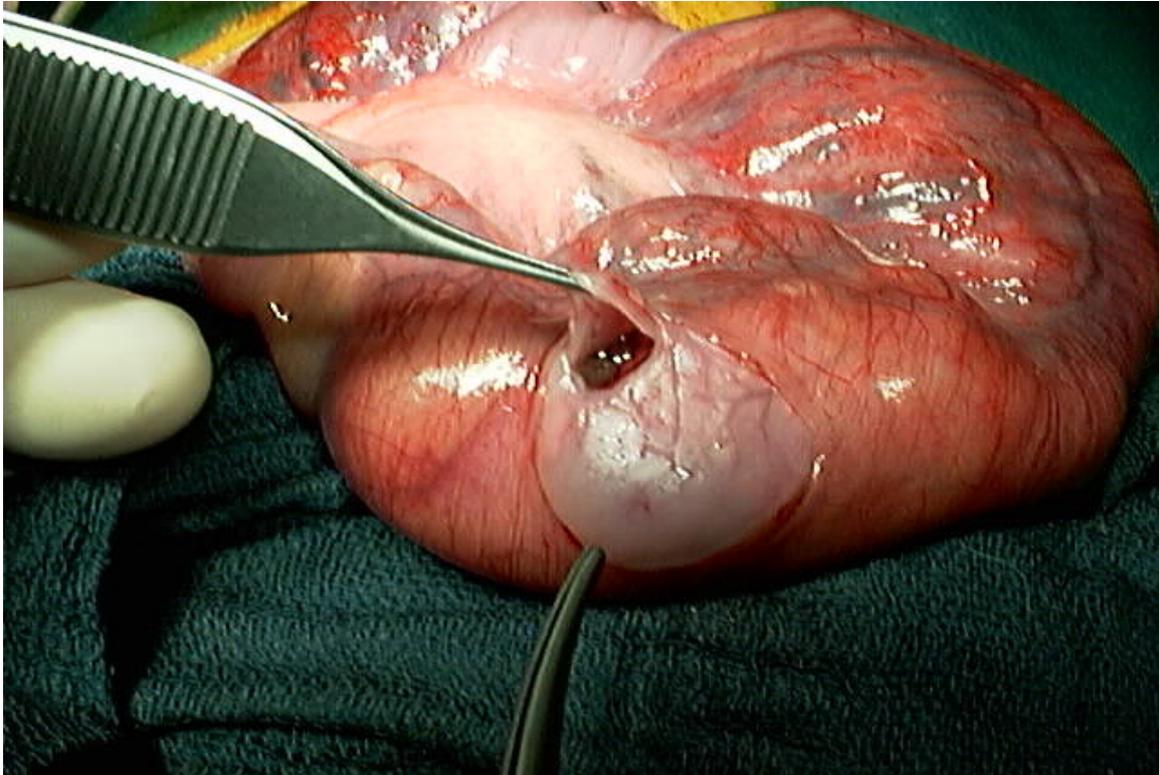


Abb. 19: Zustand nach Reposition der prolapierten Darmanteile in die Abdominalhöhle des Feten.

Nach vollständiger Reposition erfolgte der allschichtige fetale Abdomenverschluss mit einer fortlaufenden Naht mit 7-0 Polypropylen, wobei sorgfältig darauf geachtet wurde, die Nabelschnur nicht zu perforieren (Abbildung 20).

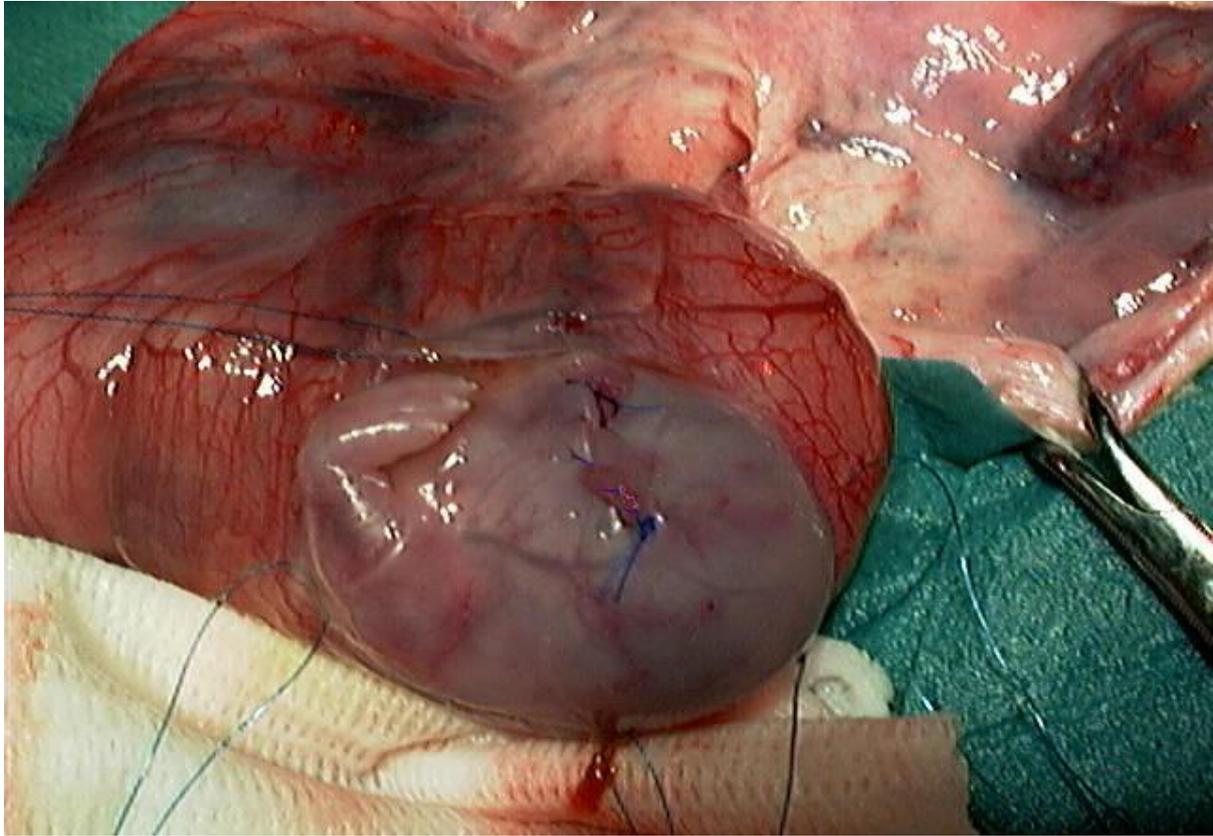


Abb. 20: Zustand nach Verschluss der experimentellen Gastroschisis.

Der anschließende Verschluss der Hysterotomie erfolgte wie bereits oben beschrieben mit zusätzlichem Ersatz der Amnionflüssigkeit (Abbildung 21).

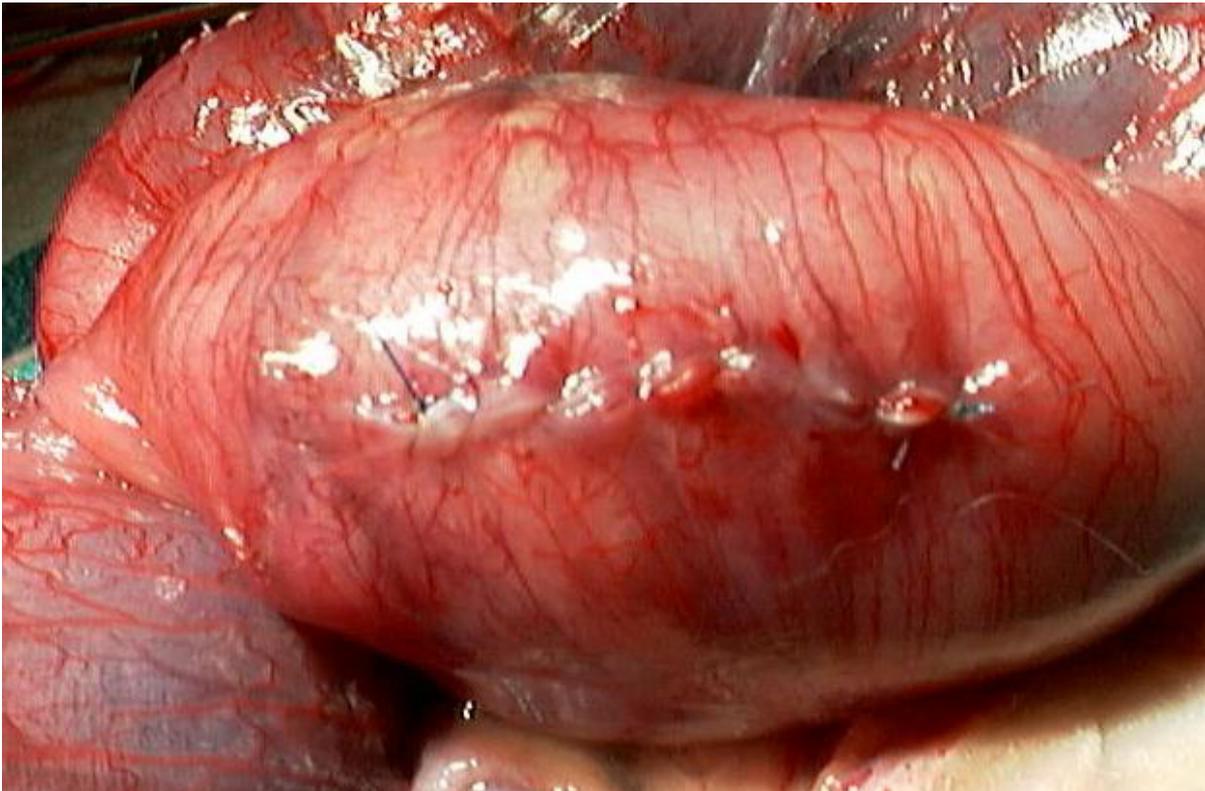


Abb. 21: Zustand nach erneutem Verschluss des Uterus.

Abschließend wurden die Herzfrequenzen aller Feten, einschließlich der Kontrollfeten überprüft. Um die intermittierenden Ultraschallkontrollen zu ermöglichen, wurde die Laparotomie wieder mit Backhausklemmen temporär verschlossen.

8.4.4. Beendigung des Versuchs

Nach weiteren drei Stunden wurden Mutter und Feten durch eine intravenöse Injektion von 20ml Kaliumchlorid getötet. Die Feten wurden entnommen und auf Insuffizienz nach Gastroschisisverschluss untersucht. Danach wurde der fetale Darm ab Pylorus bis Rektum entnommen und nach Wiegen für histologische Begutachtung in flüssigem Stickstoff schockgefroren und asserviert. Die makroskopischen Beobachtungen, speziell auf Schädigungen des fetalen Darmes, wurden dokumentiert (Abbildung 22).

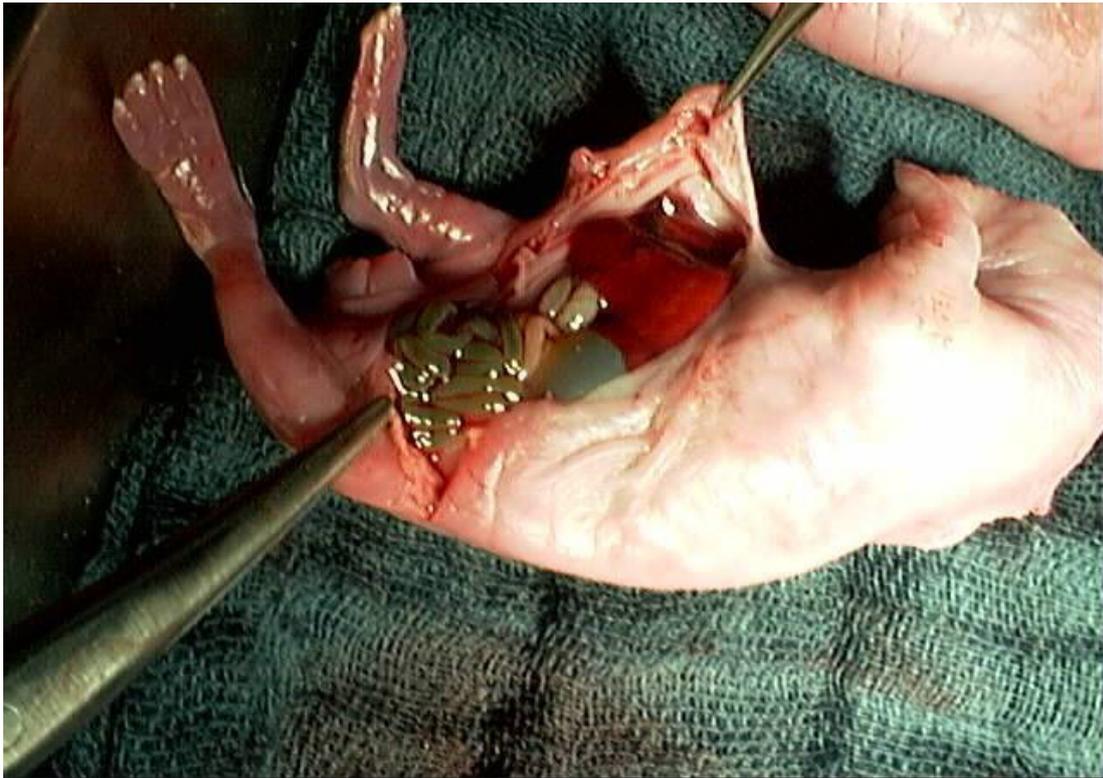


Abb. 22: Eröffnung der fetalen Abdominalhöhle zur Inspektion und Entnahme des Darmes.

8.5. Auswertung und Statistik

Die Feten wurden im Anschluss makroskopisch und histologisch auf Folgen des Kontaktes mit der Amnionflüssigkeit und des operativen Eingriffes untersucht. Makroskopisch wurde nach Fibrinbelägen, Ischämiezeichen, Verklebungen und nach Verletzungen wie Perforationen gesucht. Histologisch suchte man nach einer serösen Fibrose, einer Schwellung der intestinalen Muscularis und der Mukosa, einem Serosa-Ödem, Entzündungszeichen und Kollagenablagerungen. Dazu wurden Gefrierschnitte unternommen und am Lichtmikroskop untersucht. Es erfolgte eine Dickenmessung des Darmes.

Die echokardiographischen Verläufe der Herzfrequenz wurden in einer Graphik zusammengefasst.

9. Ergebnisse

9.1. Herzfrequenzmessungen

Abbildung 23 zeigt den Verlauf der individuellen Herzfrequenzen über den Versuchszeitraum. Man erkennt, dass in den Gruppen GS und GSR im Zeitraum des Versuchs kein Fetus verstorben ist. Im Gegenteil, sie zeigten im Durchschnitt über die ganze Zeit, inklusive im Zeitraum der Manipulationen stabile Kreislaufverhältnisse. Jedoch verstarben in der Kontrollgruppe C zwei Feten während des Versuches. Grund hierfür war bei einem Fetus eine vorzeitige Wehentätigkeit. Im anderen Fall blieb die Ursache ungeklärt. Betrachtet man wiederum alle Herzfrequenzen, so sieht man, dass innerhalb der ersten Stunde nach Initiierung der Gastroschisis bei allen Feten ein leichter Frequenzabfall stattgefunden hat. Dieser erholte sich jedoch spontan sowie ohne entsprechende Intervention und erreichte nach kurzer Zeit wieder Ausgangswerte. Nach dem Verschluss der Gastroschisis in der zweiten Stunde konnte erneut ein leichtes Absinken der Herzfrequenzen beobachtet werden, wobei diese wie vorher rasch und spontan wieder anstiegen. Danach blieben die Frequenzen nahezu unverändert und wiesen mit Ausnahme der beiden Verstorbenen auf stabile Kreislaufverhältnisse hin. Der Bereich, in dem die einzelnen Pulsraten angesiedelt waren, war bei Versuchende mit dem bei Beginn nahezu identisch.

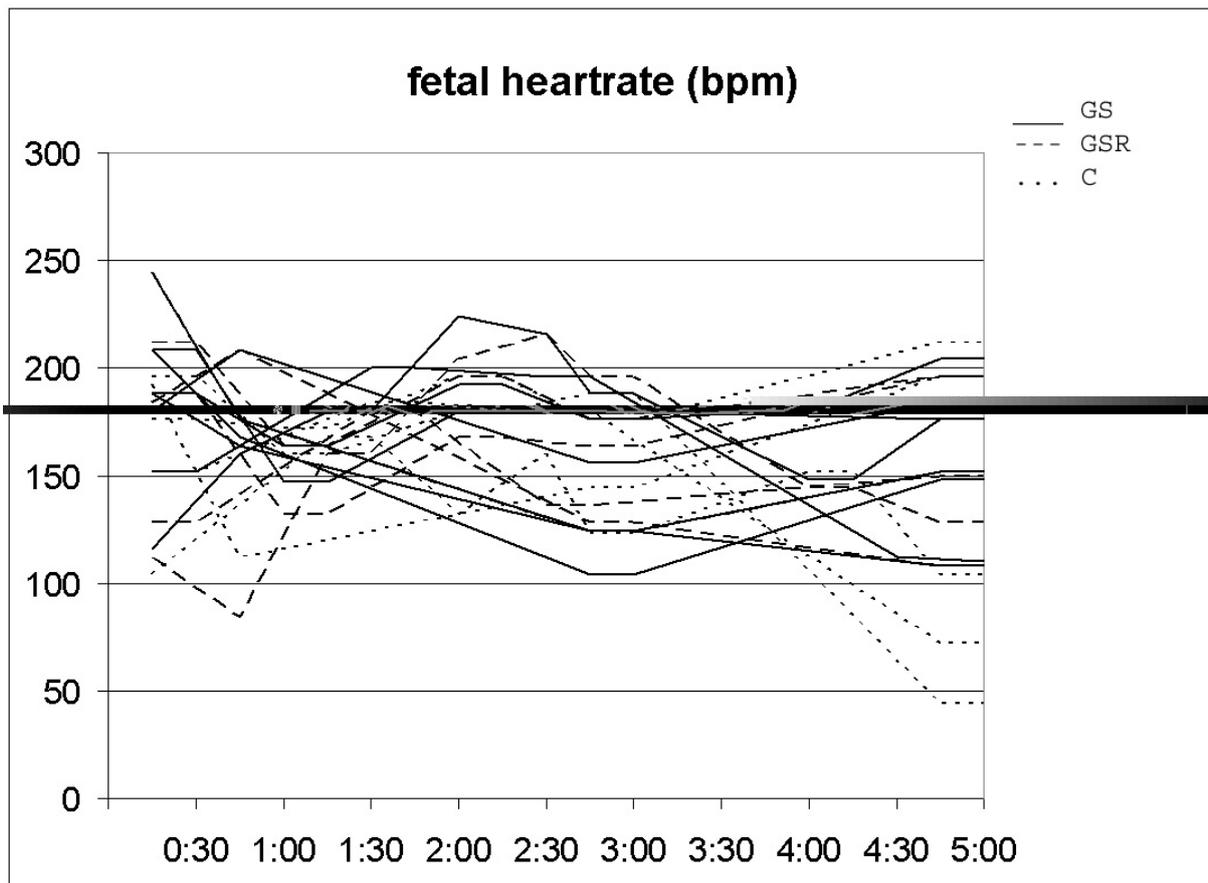


Abb. 23: Herzfrequenzen der Feten über den gesamten Zeitraum des Versuches.

Neben der Herzfrequenz wurden zusätzlich auch die Temperatur und die Sauerstoffsättigung der Mutter aufgezeichnet. Diese zeigten für beide Werte über den gesamten Versuch jeweils konstante Verläufe. Daraus lässt sich folgern, dass für die Feten zumindest vom Sauerstoffangebot über die Mutter optimale Voraussetzungen bestanden. Ebenfalls ist es zu keiner Unterkühlung gekommen, da die Feten für den kurzen Zeitraum der Manipulation mit warmen Bauchtüchern abgedeckt und so ausreichend gewärmt wurden. Die konstante Erhaltung der Körperkerntemperatur konnte mit einer Heizdecke erreicht werden. Die hohe Überlebensrate konnte auch durch eine effiziente Tokolyse erreicht werden. Dies konnte mit einer kontinuierlichen, parallelen Infusion von Terbutalin und Atosiban erreicht werden konnte. Von 18 Feten kam es lediglich in nur einem Fall zu vorzeitigen Wehen. Dabei handelte es sich um einen Feten in der Kontrollgruppe, d.h. ohne Manipulation. Bei den beiden anderen Feten vom gleichen Muttertier,

jeweils in Gruppe GS und GSR wurde keine Wehenaktivität festgestellt. Insgesamt mussten keine weiteren tokolytisch wirkenden Medikamente als Bolus, oder per Dauerinfusion ergänzt werden. Die Kombination aus Terbutalin und Atosiban war ausreichend. Der Erfolg der fetalen Chirurgie ist zum großen Teil von einer effizienten Tokolyse abhängig. Es können jedoch aufgrund der Nebenwirkungen nicht bedenkenlos unzählige Tokolytika gleichzeitig verabreicht werden. Mit der verwendeten Kombination aus Terbutalin und Atosiban kam es, bis auf die vorzeitige Wehentätigkeit bei dem erwähnten Kontrollfeten, zu keinerlei Problemen oder Nebenwirkungen.

9.2. Effizienz der Operationstechnik

Die makroskopischen Untersuchungen der Feten in der GSR Gruppe zeigten in allen Fällen einen suffizienten Verschluss der Gastroschisis (Abbildung 24).



Abb. 24: Gegenüberstellung eines Feten aus der GS-Gruppe (links) und aus der GSR-Gruppe (rechts).

In der GS Gruppe zeigte sich, dass die manuell herausluxierten abdominellen Organe weiterhin eventriert waren. Dabei waren bei allen sechs Feten (100%) Anteile des Dünndarms eventriert. Bei zweien (33%) hatten zusätzlich Leber und Magen (Abbildung 25) Kontakt mit der Amnionflüssigkeit.



Abb. 25: GS Fetus mit gleichzeitiger Exposition von Leber und Magen.

Es hatte also keine spontane Reposition stattgefunden und es sind keine Fälle von Inkarzeration aufgetreten.



Abb. 26: Suffizienter Verschluss des Abdominaldefektes.

Zum einen bestand keine sichtbare Dehiszenz sowie konnte die Naht manuell nicht auseinandergedrängt werden (Abbildung 26). Zum anderen entleerten sich nach Eröffnung der Wunden entsprechende Mengen an Amnion- bzw. Peritonealflüssigkeit. In diesem Rahmen ist darauf hinzuweisen, dass der jeweilige Verschluss mit einer fortlaufenden allschichtigen Naht erfolgte. Bereits in den Vorversuchen zeigte sich, dass es für einen suffizienten Verschluss unabdingbar ist, alle drei Schichten (Amnio-, Chorionmembran und Myometrium) zu verschließen. Führt man dies sorgfältig aus, ist die Stabilität einer fortlaufenden Naht völlig ausreichend. Als Nahtmaterial hat sich 5-0, bzw. 7-0 Polypropylen als sehr gut bewiesen. Damit kam es zu keiner weiteren Gewebetraumatisierung und der Verschluss konnte problemlos durchgeführt werden.

9.3. Morphologische Veränderungen

In der Gruppe GS fanden sich bei allen Feten deutlich auffällige makroskopische Veränderungen der eventrierten Organe. Neben einer ausgeprägt lividen Verfärbung bestand zudem eine bereits makroskopisch sichtbare Verdickung der Darmwand (Abbildungen 27-29). Es wurden keine Fibrinbeläge beobachtet.



Abb. 27: Die prolabierte Darmanteile (in der Wunde links) sind im Vergleich zu den erst postmortem Hervorluxierten (rechts) livide und verdickt.



Abb. 28: Verdickte Darmanteile in der GS Gruppe.

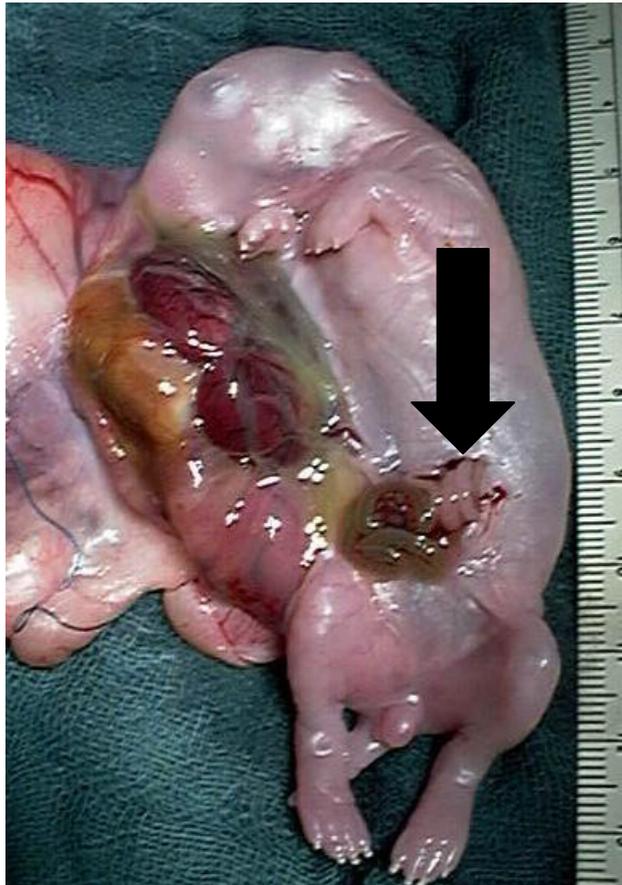


Abb. 29: Die Organe, die in der Gruppe GS in der Bauchhöhle verblieben waren (schwarzer Pfeil), zeigten makroskopisch keine Veränderungen.

Inwieweit sich die Veränderungen auch auf die Peristaltik des Darmes ausgewirkt haben, konnte in dieser Studie nicht bestimmt werden. Im Gegensatz dazu wiesen die abdominalen Organe aller Feten der Gruppe GSR keine livide Verfärbung oder Schwellung auf.

In der GSR Gruppe fanden sich bereits bei dem Zweiteingriff (Verschluss) Veränderungen wie oben beschrieben. Diese waren postmortem nach Eröffnung der Bauchhöhle jedoch nicht mehr zu verzeichnen.

Bei der anschließend durchgeführten histologischen Untersuchung konnten bei den Präparaten der Gruppen GS und GSR keine Unterschiede bezüglich Serosaödem, Wanddicke oder anderen, bereits oben beschriebenen für eine Gastroschisis typischen pathologischen Veränderungen nachgewiesen werden.

10. Diskussion

10.1. Allgemeine Fragestellungen

Kinder mit Gastroschisis leiden postnatal an einer Reihe von gastrointestinalen Problemen. Durch die Verbesserung der pränatalen Diagnostik werden heute so gut wie alle Kinder mit diesen Defekten bereits intrauterin diagnostiziert. Diese Tatsache ermöglicht prinzipiell eine fetalchirurgische Intervention, die möglicherweise die Folgen für den Gastrointestinaltrakt reduzieren könnte. Voraussetzung für eine pränatale Intervention ist die Evaluation der Techniken und der Ergebnisse in einem Tierversuch. In dieser Studie wurde ein entsprechendes Modell erarbeitet und vorgestellt.

Neu an dieser Studie ist im Vergleich zum Philipps-Modell, dass es möglich ist, im Kaninchenmodell eine Gastroschisis nicht nur zu initiieren, sondern nach einem vorbestimmten Zeitraum wieder fetalchirurgisch zu verschließen. Dies wurde so durchgeführt, dass bei allen manipulierten Feten über den gesamten Zeitraum des Versuches stabile Kreislaufverhältnisse bestanden. Voraussetzung dafür ist wiederum unter anderem eine effiziente Tokolyse durch die gleichzeitige Dauerinfusion von Atosiban und Terbutalin. Mit der dabei entwickelten Operationstechnik konnte verlässlich eine Gastroschisis initiiert sowie wieder verschlossen werden, wobei in keinem Feten eine Dehiszenz der Wunde auftrat. Nach Beendigung des Versuches konnten an den eventrierten Organen makroskopisch sichtbare Veränderungen wie eine livide Verfärbung und eine ödematöse Schwellung festgestellt werden. In den histologischen Untersuchungen der Darmwand konnten wiederum keine Unterschiede zwischen den Gruppen GS und GSR beobachtet werden.

10.2. Mortalität

Im Vergleich mit anderen entsprechenden Studien im Tiermodell zur Initiierung einer Gastroschisis konnte in diesem Modell eine deutlich höhere Überlebensrate (100%) erreicht werden. Während in dem Modell von Aoki (3) zur Initiierung einer Gastroschisis noch eine Überlebensrate von nur 64% erreicht werden konnte, erhöhte Phillips in seinem Modell die Überlebensrate auf 78% für alle Feten. Es ist jedoch zu beachten, dass der Eingriff an einem früheren Gestationstag (21.

Gestationstag) stattfand und somit ein erhöhtes Risiko für die Operation bestand. Zusätzlich lief der Versuch mit 7 Tagen über einen längeren Zeitraum, d.h. die Wahrscheinlichkeit für ein vorzeitiges Versterben der Feten war höher. Dem entgegensetzen ist die Tatsache, dass in dem Modell von Phillips nur die Anlage einer Gastroschisis erfolgte und eine weitere Traumatisierung durch die zweite Operation, dem Verschluss der Gastroschisis ausblieb. In aktuell einem ähnlichen Tiermodell mit Schaf-Feten von P. de Lagausie (45) kam es zu einer Mortalität von 32% der Feten. Es wurde dabei jedoch weder die exakte Medikation zur Tokolyse erklärt sowohl zwischen Tod durch Frühgeburtlichkeit oder anderen Ursachen genau differenziert. In gleicher Weise sind die Zahlen in der Studie von Correia-Pinto (16) mit einer Mortalität von 11% bei Rattenfeten und von J.M. Guys (29) mit einer Mortalität von 46% bei Schaf-Feten zu werten. Ein exakter Vergleich bezüglich der verschiedenen Versuchsaufbauten und dem Problem der vorzeitigen Wehentätigkeit kann somit nicht stattfinden. Zusammenfassend kann man sagen, dass zwar bei nicht gleicher, jedoch ähnlicher Belastung für die Feten die Tendenz der Überlebensrate ansteigend ist. Da hierzu mehrere Modelle betrachtet wurden, kann man von einer eindeutigen Tendenz und nicht nur von einer zufälligen Konstellation sprechen. Es stellt sich nun die Frage, worauf diese Entwicklung begründet ist. Dabei spielen sicherlich mehrere der oben diskutierten Faktoren gleichzeitig eine Rolle.

10.3. Tokolyse

Mit Entwicklung der fetalen Chirurgie hat sich gezeigt, dass der Erfolg der fetalchirurgischen Operationen entscheidend von einer guten Tokolyse abhängt. Sie wurde dementsprechend auch als Achillesferse der fetalen Chirurgie bezeichnet (31). In unserem Modell kam es bis auf einen vereinzelt Fall zu keiner vorzeitigen Wehentätigkeit. Die Kombination aus Terbutalin und Atosiban war somit sehr erfolgreich. Harrison beschrieb bereits 1982 (33) die inhalative Gabe von Fluothan als Anästhetikum, aber auch als potentes Tokolytikum. Als Zusatz verwendete er Indomethazin. Sie erzielten damit beim Rhesusaffen in zahlreichen fetalchirurgischen Eingriffen eine effiziente Tokolyse. Diese Kombination wurde von anderen Autoren in verschiedenen Tierversuchen erfolgreich wieder verwendet (1). Auf diesen Erfahrungen basierend setzte Harrison dies auf den Menschen um. Er betont 1991

(32) nochmals folgendes Vorgehen zur Tokolyse beim Menschen: präoperativ Indomethazin 100mg supp., intraoperativ Halothan-Inhalation, postoperativ Ritodrin, Magnesium-Sulfat und Indomethazin. Er hatte damit weiterhin sehr gute Erfahrungen. Da die Tokolyse ein entscheidender Faktor zum Gelingen eines fetalchirurgischen Vorgehens bedeutet ist jedoch auch darauf zu achten, dass, je mehr tokolytisch wirkende Medikamente verwendet werden, auch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Nebenwirkungen steigt (17). In unserem Modell konnten mit der Kombination aus Terbutalin und Atosiban eine gute Tokolyse ohne Nebenwirkungen erzielt werden. Theoretisch würde man bei der Gabe des beta-Mimetikums Terbutalin einen Anstieg der mütterlichen und fetalen Herzfrequenz erwarten. Diese blieben jedoch in unserer Versuchsreihe im für Kaninchen typischen Normbereich. Wir konnten auch keine Interaktionen zwischen diesen beiden Medikamenten oder den anderen verwendeten Medikamenten feststellen.

10.4. Technik

Bezüglich der technischen Durchführung der Anlage der Gastroschisis gibt es in unserem Modell eine Besonderheit. Obwohl es bei der sich spontan entwickelnden Gastroschisis fast immer zu einem rechtsseitigen Defekt kommt, wurde in unserem Modell die Gastroschisis links der Nabelschnur angelegt. Auch Phillips, dessen Modell wir als Vorlage benutzten, setzte den Defekt rechtsseitig. Da in unserem Modell die Feten einer häufigeren und aufwendigeren Manipulation unterzogen werden sollten, erschien es uns weniger risikoreich den Defekt auf der linken Seite zu setzen, denn somit bestand eine geringere Gefahr der Verletzung von (rechtsseitig gelegenen und bei Kaninchenfeten sehr großen) Leber. Zum anderen konnte so aufgrund der Lage der Feten ein direkterer Zugang bei der Uterotomie gewählt werden. Die Feten mussten nicht intrauterin auf die andere Seite gedreht werden, wobei eine nicht unerhebliche Gefahr des Abreißen bzw. Einreißen der Nabelschnur oder ihrer plazentaren Insertion bestanden hätte. In dem Modell von Albert (1) wurde der Defekt ebenfalls links der Nabelschnur gesetzt und die für eine Gastroschisis typischen Veränderungen beobachtet. Mit den Ergebnissen und Erfahrungen nach Durchführung dieser Versuchsreihe gibt es jedoch keinen Grund, den Defekt nicht links zu setzen, da pathophysiologischerweise im Sinne der Fragestellung kein wesentlicher Unterschied besteht. Demnach können in unserem

Modell gleichwertige Beobachtungen bezüglich der Pathophysiologie und den morphologischen Veränderungen gemacht werden, ungeachtet ob der Defekt rechts oder links der Nabelschnur gesetzt wird.

Des Weiteren ist festzustellen, dass die Initiierung der Gastroschisis und dessen Verschluss zu 100% erfolgreich waren. Dagegen stellte Phillips bei dem ersten Feten der Versuchsreihe eine Reposition der ehemals eventrierten Organe in der Gastroschisis-Gruppe fest. Andere Autoren machen hierzu keine konkreten Angaben. Sie erwähnen lediglich eine hohe Lernkurve in den Vorversuchen. Dies ist deshalb erwähnenswert, da im Vergleich mit der sich spontan entwickelnden Gastroschisis die Bauchhöhle nicht verkleinert ist und dementsprechend alle abdominalen Organe ohne Widerstand zurückgleiten könnten. Zusätzlich wurde in unserer Studie der Defekt so groß gesetzt, dass es zu keiner Inkarzeration kam. Die eventrierten Organe wurden also auch nicht durch eine zu kleine Öffnung am Zurückgleiten gehindert. Dies zeigt, dass in diesem Versuch ein effizientes Modell der Gastroschisis entworfen werden konnte. Weiter differenzierte Phillips zwischen den eventrierten Organen. Bei Phillips kam es in 94%, in unserem Versuch zu 100% zu einem Vorfall von Dünndarmanteilen. Während in unserem Modell lediglich zu 33% ein Vorfall von Leber und Magen bestand, kam es bei Phillips in 61% bzw. in 67% der Fälle vor. Dies mag auch darauf zurückzuführen sein, dass Phillips den Defekt auf der rechten Seite gesetzt hat. Einen Vorfall von Harnblase, Niere und Dickdarm konnten wir in unserem Modell nicht beobachten. Der Vorfall von Dünndarm ist aufgrund seiner Lage und seiner Mobilität am wahrscheinlichsten. Die Tatsache, dass in dem Versuch von Phillips mehr Organe prolabierten, lässt sich am wahrscheinlichsten durch die Größe der Inzision erklären. Er beschreibt eine Inzision von 5 bis 21 Millimeter, während wir eine Inzision von 5 Millimeter durchführten. Obwohl unsere Inzision teilweise nur ein Viertel der Inzisionslänge von Phillips betrug, kam es zu keinen Komplikationen. Wir konnten keine spontane Reposition oder eine Inkarzeration feststellen.

Bezüglich des erfolgreichen fetalchirurgischen Verschlusses der Gastroschisis lässt sich kein Vergleich mit anderen Studien herstellen, da dieser erstmalig in unserem Modell an Kaninchenfeten durchgeführt wurde. Es sind jedoch nochmals folgende Einzelheiten hervorzuheben, die in 100% zu einem effizienten Verschluss geführt haben. Dabei ist vor allem die fortlaufende Naht aller drei Schichten (Amnio-,

Chorionmembran und Myometrium) mit 5-0 Polypropylen als Nahtmaterial zu nennen. Des Weiteren ist zu erwähnen, dass darauf geachtet wurde, soweit wie möglich nicht den Elektrokauter zu verwenden. Somit konnte eine zusätzliche Gewebetraumatisierung mit der anschließenden Gefahr der Nahtinsuffizienz und verzögerter Wundheilung vermieden werden. Die Schnittführung wurde jeweils so gewählt, dass größere, sichtbare Gefäße nicht verletzt wurden. Bei Durchtrennung kleinerer Uterusgefäße kam es lediglich zu minimalen Blutungen, die spontan und rasch zum Stillstand kamen. Um ein weiteres Einreißen der Uterusschichten zu verhindern, hatte es sich als nützlich erwiesen, an den Schnittenden Haltenähte zu setzen.

Auch in unserer Studie hat sich gezeigt, dass bezüglich der Vorgehensweise eine rasche und intensive Entwicklung stattgefunden hat. Bereits andere Autoren berichteten über eine hohe Lernkurve im Rahmen Ihrer Studien mit fetaler Chirurgie (16). Dies hängt damit zusammen, dass die Entwicklung in dem Bereich der fetalen Chirurgie noch in den Anfängen steckt. In unserer Studie handelte es sich zum einen um die Erhaltung der für Mutter und Fetus nötigen vorgegebenen Bedingungen, wie Wärmeerhaltung und Vermeidung von vorzeitigem Wehen. Zum anderen galt es ein bereits bestehendes Modell zur Initiierung einer Gastroschisis umzusetzen und dessen Verschluss zu entwickeln. Beides musste möglichst schonend und effizient erfolgen, d.h. die Feten durften außer dem Bauchwanddefekt keine weiteren Schäden erleiden und der Verschluss sollte beständig sein. Es gelang beides in wenigen Vorversuchen so zu realisieren, dass im Anschluss die Versuche problemlos erfolgen konnten. Es hat sich hiermit jedoch nicht nur die Methode bewiesen, sondern auch die Frage geklärt, ob der fetalchirurgische Verschluss nicht nur technisch machbar, sondern auch bezüglich der Belastung für Mutter und Fetus realistisch durchführbar ist. Im Rahmen des Verschlusses konnten die prolabierte Organe problemlos reponiert werden und die Bauchdecke ohne Schwierigkeiten verschlossen werden.

Phillips beschrieb zusätzlich Probleme mit der Anästhesie, bzw. Analgesie. Durch Überdosierung kam es vermehrt zu vorzeitigem Versterben der mütterlichen Kaninchen bzw. der Feten. In unserem Modell kam es weder zu einem anästhesiologischen Zwischenfall durch Überdosierung, noch durch eine unzureichende Anästhesie. Es konnte sichergestellt werden, dass bei stabilen

Kreislaufverhältnissen eine effiziente Analgesie, bzw. Anästhesie bestand. Anzeichen von bestehenden Schmerzen, wie eine erhöhte Pulsfrequenz wurden nicht beobachtet. Gleichzeitig bestanden bis auf zwei Fälle in der Kontrollgruppe über den gesamten Zeitraum des Versuches stabile Kreislaufverhältnisse, wobei bei einem der beiden definitiv vorzeitige Wehentätigkeit die Ursache war.

Ein weiterer Faktor zur Durchführung fetaler Chirurgie ist die Aufrechterhaltung der Körpertemperatur von Mutter und Fetus. Dies gilt vor allem für den Zeitraum der Operation. Bereits Aoki berichtete 1980 über eine hohe Vulnerabilität der Feten auf einen Temperaturabfall (3). Auch in unserem Modell achteten wir auf die möglichst exakte Erhaltung der physiologischen Körpertemperatur von Kaninchenmutter und den Feten. Um dies zu erreichen, tauschten wir die in den Vorversuchen verwendete Wärmelampe gegen eine Wärmedecke aus, da durch die Lampe eine zu ungezielte Erwärmung auftrat. Bei Verwendung der Wärmelampe trat eine zu starke Temperaturerhöhung an der Oberfläche auf. Dies führte schnell zu Austrocknung des uterinen und fetalen Gewebes, welches durch Feuchthalten mit Kochsalzlösung nur unzureichend verhindert werden konnte. Unter Verwendung der Wärmedecke wurde eine kontinuierliche und gleichmäßig verteilte Wärmeerhaltung, auch während der Operation für Muttertier und die Feten erreicht.

10.5. Morphologische Veränderungen

Weiterhin auffällig waren die bereits nach kurzer Zeit makroskopisch sichtbaren Veränderungen der eventrierten Organe. Es bestand eine livide Verfärbung, sowie eine sichtbare Verdickung der Darmwand, bzw. eine Schwellung von Leber und Magen. Die bei Gastroschisispatienten beschriebenen Fibrinbeläge hatten sich in der kurzen Zeit natürlich noch nicht ausbilden können. Im Gegensatz dazu fanden sich bei den in der Bauchhöhle verbliebenen Organen keine makroskopisch sichtbaren Veränderungen. Da der Schnitt großzügig genug ausgeführt wurde, und die Organe sich nach Abschluss des Versuches manuell problemlos reponieren und herausluxieren ließen, ist eine Inkarzeration als Ursache sicher auszuschließen. Daher ist als Ursache der makroskopischen Veränderungen der Kontakt mit der Amnionflüssigkeit offensichtlich. Aufgrund des kleinen Zeitraumes konnten die Auswirkungen auf die Peristaltik des Darmes nicht untersucht werden. Aus zahlreichen Studien am Tiermodell und Untersuchungen am menschlichen Gewebe

ist jedoch bekannt, dass die entzündlichen Veränderungen an den eventrierten Organen umso ausgeprägter sind, je später der Zeitpunkt in der Gestation besteht (47). Genauer gesagt ist der entscheidende Faktor die Kontaktzeit mit der Amnionflüssigkeit. Dadurch kommt es, wie bereits oben erklärt, zu einer erhöhten Konzentration an Interleukin 6 und 8 sowie erhöhten Ferritin- und Amnionproteinspiegeln. Dies sind Zeichen einer entzündlichen Reaktion sowie eines gestörten Diffusionsverhältnisses durch die Darmwand. Wodurch diese Veränderungen genau hervorgerufen werden, ist immer noch nicht exakt bekannt. Zunächst nahm man an, dass Urin in der Amnionflüssigkeit für die Reaktion verantwortlich sei (43). In weiteren Untersuchungen kam man jedoch zu der Erkenntnis, dass Mekonium bzw. die darin enthaltenen Verdauungsenzyme die Entzündungsreaktion der Serosa bedingen (40, 13). Zusätzlich kommt es zu einer Fehl- und Minderfunktion mukosaler Enzyme (2). Dabei wird die entzündliche Reaktion teilweise durch sich selber unterhalten, da Interleukin 8 die Chemotaxis der Neutrophilen triggert. Letztlich wurde festgestellt, dass Urin hohe Konzentrationen von „Urinary Trypsin Inhibitor“ enthält, welcher Interleukin-8 hemmt und damit die entzündliche Reaktion vermindern sollte (57).

In unserem Modell ist es nun umso mehr verwunderlich, dass die beschriebenen Veränderungen nach so kurzer Zeit beobachtet werden konnten. Neben dem geringen Zeitraum wurde zusätzlich nach jeder Manipulation die abgelaufene Amnionflüssigkeit durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Damit müssten die Konzentrationen der entsprechenden schädigenden Faktoren nochmals reduziert worden sein. Fraglich ist nun, ob durch den erhöhten körperlichen Stress, ausgelöst durch die Manipulationen, auch eine erhöhte Ausscheidung von Mekonium bzw. eine vermehrte Diffusion durch die Darmwand stattgefunden hat und somit den Verdünnungseffekt durch die Kochsalzlösung nicht nur aufgehoben, sondern sogar die entzündliche Reaktion beschleunigt hat. Die Beobachtungen aus den entsprechenden Studien mit gleichen oder ähnlichen Tiermodellen sind diesbezüglich nicht vergleichbar, da in diesen die Feten jeweils über einen deutlich größeren Zeitraum intrauterin verblieben. Andersrum ist es höchst unwahrscheinlich, dass der Austausch der Amnionflüssigkeit in unserem Versuch die Veränderungen verursacht hat. In mehreren Versuchen hat sich nach Austausch der Amnionflüssigkeit mit physiologischer Kochsalzlösung eine deutliche Verminderung

der entzündlichen Reaktionen an den eventrierten Organen mit verbessertem postpartalen Verlauf gezeigt (13, 40, 45, 50). Im Konsens mit den obigen Beobachtungen ist die Tatsache, dass die abdominellen Organe aller Feten der Gruppe GSR keine lividen Verfärbungen oder Schwellungen aufwiesen. Dies bestätigt zum einen die Bedeutung des Kontaktes mit der Amnionflüssigkeit sowie die Effizienz des fetalchirurgischen Verschlusses der Gastroschisis. Dabei sei auch nochmals erwähnt, dass es zu keiner Herniation gekommen war. Nachdem die prolabierte Organe wieder in die geschlossene Bauchhöhle zurückverlagert wurden, zeigten sie in Farbe und Form das gleiche Aussehen wie zu Beginn des Versuches bzw. der Initiierung der Gastroschisis. Die bereits leicht beginnende Verfärbung und Schwellung der eventrierten Organe zum Zeitpunkt des Verschlusses des Bauchwanddefektes hatte sich zum Ende des Versuches vollständig zurückgebildet. Damit hatte sich die allschichtige, fortlaufende Naht als effizienter Verschluss erwiesen. Da der Versuch jedoch nur über einen kurzen Zeitraum erfolgte, sind diese Aussagen in Modellen mit einem längeren Beobachtungszeitraum zu überprüfen.

Bei der anschließend durchgeführten histologischen Untersuchung fanden sich bei den Präparaten der Gruppen GS und GSR keine Unterschiede bezüglich Serosaödem, Wanddicke oder anderen, bereits oben beschriebenen für eine Gastroschisis typischen pathologischen Veränderungen. Dies könnte jedoch wiederum mit dem kurzen Zeitraum des Versuches zusammenhängen.

Es bestanden auch keine Probleme bezüglich eines „overcrowdings“, wie die anschließenden makroskopischen und histologischen Untersuchungen zeigen konnten. Aufgrund des nur sehr kurzen zeitlichen Versuchablaufes, ist jedoch bezüglich eines abdominellen Kompartmentsyndroms ein realistischer Vergleich mit einem postpartalen Verschluss nicht möglich. Es kam zu keinem Missverhältnis zwischen vermindert entwickelter Abdominalhöhle und ödematösen abdominellen Organen. Ein entsprechend realistisches Versuchsmodell müsste über einen deutlich längeren Anteil des Gestationszeitraumes angelegt sein. Inwieweit ein fetalchirurgischer Verschluss durch die Problematik des „overcrowdings“ beeinflusst wird, ist mit diesem Modell nicht zu klären. Es stellt sich aber die Frage, ob der intrauterine Verschluss bei einer länger bestehenden Gastroschisis aufgrund des früheren Zeitpunktes und der damit möglich bestehenden höheren Elastizität der Bauchwand (schwächere Muskulatur) ohne die Gefahr eines „overcrowdings“

erfolgen kann. Eine mögliche Verletzungsgefahr während der Reposition aufgrund von bereits bestehenden Verwachsungen oder Verklebungen, ähnlich wie bei der Zwerchfellhernie, erscheint unwahrscheinlich, da dies bei einer Gastroschisis generell sehr selten vorkommt. Auch inwieweit Komplikationen durch Verwachsungen intraabdominell oder intrauterin nach fetalchirurgischem Verschluss entstehen, können nur langfristig angelegte Versuche zeigen.

Da die Pathophysiologie noch immer nicht vollständig geklärt ist, benötigt man unweigerlich ein realistisches Modell einer Gastroschisis um Klarheit zu schaffen. In einem weiteren Schritt sind die Möglichkeiten zur Verbesserung der Therapie zu entwickeln und zu testen. Dies muss natürlich zunächst am Tiermodell erfolgen, wobei mit unserer Studie der erste Schritt getan ist.

10.6. Erkenntnisse dieser experimentellen Studie

- Die Anlage und der Verschluss einer Gastroschisis sind möglich, ohne ungeplanten Schaden am Feten, am Muttertier oder am Darm zu verursachen.
- Die Feten überleben zu einem hohen Anteil die gesamte Manipulation.
- Nach 5 Stunden weist der exponierte Darm bereits Veränderungen im Sinne des klinisch typischen Befundes auf.

11. Schlussfolgerung und Ausblick

Als nächsten Schritt sehen wir die Entwicklung eines intrauterinen Verschlusses durch fetal-endoskopische Techniken. Dadurch kann unter Umständen die Morbidität der Uterotomie, insbesondere das Auslösen von vorzeitiger Wehentätigkeit vermindert werden. Unser Modell erlaubt die Entwicklung und die Evaluation einer solchen Technik. Daran würde sich ein Vergleich von pränataler- und postnataler Intervention anschließen. Sollte sich die intrauterine Therapie als vorteilhaft erweisen, so ist eine Übertragung auf die klinische Situation in der Zukunft zumindest denkbar.

Zusammenfassung:

In dieser Dissertation wird der fetalchirurgische Verschluss der Gastroschisis im Kaninchenmodell erläutert. Damit werden zum einen ein innovatives Prinzip der operativen Behandlung der Gastroschisis, sowie Aspekte der Pathophysiologie vorgestellt. Die Gastroschisis ist definiert als vorderer angeborener Bauchwanddefekt, wobei grundsätzlich alle Schichten betroffen sind und dabei gewöhnlich auf der rechten Seite des Nabels lokalisiert ist. Es handelt sich um eine seltene, kongenitale Erkrankung, deren Inzidenz zuzunehmen scheint. Ihre Ätiologie ist trotz zahlreicher Studien und Erklärungsmodellen noch immer nicht definitiv geklärt. Kinder mit Gastroschisis leiden postnatal an einer Reihe von gastrointestinalen Problemen. Durch die Verbesserung der pränatalen Diagnostik werden heute so gut wie alle Kinder mit diesen Defekten bereits intrauterin diagnostiziert. Diese Tatsache ermöglicht prinzipiell eine fetalchirurgische Intervention, die möglicherweise die gastrointestinalen Folgen reduzieren könnte. Unbestritten ist jedoch die Tatsache, dass ohne eine schnelle und effiziente Therapie ein Überleben der Säuglinge nicht, oder nur sehr kurz möglich wäre. Die Patienten profitieren hierbei vor allem von den Fortschritten der Intensivmedizin und der raschen und angemessenen chirurgischen Therapie. Dadurch bestehen derzeit gute Überlebenschancen. Das Auftreten der Krankheit lässt sich jedoch nicht verhindern. Diese Studie evaluiert die Möglichkeit, möglichst frühzeitig, nämlich intrauterin, eine Therapie zu beginnen und somit die Morbidität zu verringern, da die angesprochenen Komplikationen der Gastroschisis als Folgeerscheinung der intrauterinen Schädigung der Organe zu verstehen sind. Da die Gastroschisis häufig ohne weitere Fehlbildungen oder Systemerkrankungen auftritt, führt die erfolgreiche chirurgische Therapie zu einer vollständigen Heilung des Patienten.

Voraussetzung für eine pränatale Intervention ist die Evaluation der Techniken und der Ergebnisse in einem Tierversuch. In dieser Studie wurde ein entsprechendes Modell erarbeitet und vorgestellt. Ziel dieser Studie ist es, zu zeigen, dass eine Gastroschisis in offener chirurgischer Technik intrauterin ohne gravierende Komplikationen (z.B. das Auslösen von frühzeitigen Kontraktionen mit Abort) verschlossen werden kann. Hierzu entwickelten wir einen Versuchsaufbau zur

intrauterinen Therapie einer experimentellen Gastroschisis beim Kaninchen, basierend auf einem bereits bestehenden pathophysiologischen Modell.

Neu an dieser Studie ist die Tatsache, im Kaninchenmodell eine Gastroschisis nicht nur zu initiieren, sondern nach einem vorbestimmten Zeitraum wieder fetalchirurgisch zu verschließen. Dies wurde so durchgeführt, dass bei allen manipulierten Feten über den gesamten Zeitraum des Versuches stabile Kreislaufverhältnisse bestanden. Voraussetzung dafür ist wiederum unter anderem eine effiziente Tokolyse. Mit der dabei entwickelten Operationstechnik konnte verlässlich eine Gastroschisis initiiert sowie wieder verschlossen werden, wobei in keinem Feten eine Dehiszenz der Wunde auftrat. Nach Beendigung des Versuches konnten an den eventrierten Organen makroskopisch sichtbare Veränderungen wie eine livide Verfärbung und eine ödematöse Schwellung festgestellt werden. In den histologischen Untersuchungen der Darmwand konnten wiederum keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen beobachtet werden.

Mit dem hier vorgestellten Modell als Grundlage, können weitere Studien erfolgen, so dass die Pathophysiologie vollständig geklärt und eine optimale intrauterine Therapie auch am Menschen entwickelt werden kann.

Literatur:

1. Albert A, J.M., Morales L, Parri FJ, *Gastroschisis in the partially extraamniotic fetus: experimental study*. J Pediatr Surg., 1993 May. **28**(5): p. 656-9.
2. Albert A. , J.M., V. Julia, *Morphology and mucosal biochemistry of gastroschisis intestine in urine-free amniotic fluid*. J Pediatr Surg, 2003. **38**(8): p. 1217-1220.
3. Aoki Y., O.T., Komi N., *An experimental study on gastroschisis using fetal surgery*. J Pediatr Surg, 1980. **15**: p. 252-256.
4. Ashcraft, H., *Neonatal Surgery*. 1990.
5. Baird PA., M.D.E., *An epidemiologic study of congenital malformations of the anterior abdominal wall in more than half a million consecutive live births*. Am J Hum Genet, 1981. **33**: p. 470-478.
6. Betex, G., Stockmann, *Kinderchirurgie*. 1982.
7. Bianchi A., D.A., *Elective delayed reduction and no anesthesia: minimal intervention management for gastroschisis*. J Pediatr Surg, 1998. **33**: p. 1338-1340.
8. Bianchi A., D.A., Alizai NK., *Elective delayed midgut reduction - no anesthesia for gastroschisis: selection and conversion criteria*. J Pediatr Surg, 2002. **37**: p. 1334-1336.
9. Björnstahl H., K.C., Westgren M., *Gastroschisis diagnosed in utero by ultrasound*. Acta Obstet Gynecol Scand, 1983. **62**: p. 283-284.
10. Blair GK., M.R., *Case report of a left-sided gastroschisis*. J Pediatr Surg, 1994. **29**: p. 1636.
11. Bruner JP, T.N., Paschall RL, Boehm FH, Walsh WF, Silva SR, Hernanz-Schulman M, Lowe LH, Reed GW., *Fetal surgery for myelomeningocele and the incidence of shunt-dependent hydrocephalus*. JAMA, 1999 Nov. **282**(19):(19): p. 1873-4.
12. Bryant LR., B.R., Segnitz RH., Trinkle JK., *Surgical management of gastroschisis*. Ann Surg, 1970. **171**: p. 752-763.

13. Burc L, V.J., de Lagausie P, Guibourdenche J, Oury JF, Vuillard E, Sibony O, Blot P, Saizou C, Luton D., *Amniotic fluid inflammatory proteins and digestive compounds profile in fetuses with gastroschisis undergoing amnioexchange*. *BJOG*. BJOG, 2004 Apr. **111**(4): p. 292-7.
14. Caniano DA., B.B., Ginn-Pease ME., *An individualized approach to the management of gastroschisis*. *J Pediatr Surg*, 1990. **3**: p. 297-300.
15. Collins SR, G.M., Arbogast PG, Walsh WF, Rush MR, Carter BS, Dudley J, Cooper WO, *The rising prevalence of gastroschisis and omphalocele in Tennessee*. *J Pediatr Surg.*, 2007 Jul. **42**((7)): p. 1221-4.
16. Correia-Pinto J., M.L.T., M. J. Baptista, *Meconium dependence of bowel damage in gastroschisis*. *J Pediatr Surg*, 2002. **37**(1): p. 31-35.
17. Cortes RA, F.D., *Recent advances in fetal surgery*. *Semin Perinatol.*, 2004 Jun. **28**(3): p. 199-211.
18. deVries, P., *The pathogenesis of gastroschisis and omphalocele*. *J Pediatr Surg*, 1980. **15**: p. 245-251.
19. Driver CP., B.J., Doig CM., Bianchi A., Dickson AP., *The influence of delay in closure of the abdominal wall on outcome in gastroschisis*. *Ped Surg Int*, 2001. **17**: p. 32-34.
20. Duhamel, B., *Embryology of exomphalos and allied malformations*. *Arch Dis Childhood*, 1963. **38**: p. 142.
21. Firor, H., *Management of congenital defects of the anterior abdominal wall*. *Illinois Med J*, 1972. **1**: p. 71-74.
22. Flake, A., *Surgery in the human fetus: the future*. *J Physiol.*, 2003 Feb. **547**(1): p. 45-51.
23. Forschungsgemeinschaft, D., *Pränatale Diagnostik genetisch bedingter Defekte*, in *Abschlußbericht*. 1992: Bonn.
24. Fuhrmann W., R.R., Jovanovic V., *Pränatale Diagnostik. Aufgaben und Methoden*. *Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe*. Vol. 4. 1992, München: KH. Wulf u. H. Schmidt-Mathiesen.
25. Glick PL., H.M., Adzick NS., Filly RA., De Lorimier a., Callen PW., *The missing link in the pathogenesis of gastroschisis*. *J Pediatr Surg*, 1985. **20**: p. 406-409.
26. Gray DL., M.C., Crane JP., *Differential diagnosis of first trimester ventral wall defect*. *J Ultrasound Med*, 1989. **8**: p. 255-258.

27. Grosfeld JL., D.L., Weber TR., *Congenital abdominal wall defects: current management and survival*. Surg Clin North Am, 1981. **61**: p. 1037-1049.
28. Guibourdenche J, B.D., Vuillard E, de Lagausie P, Aigrain Y, Oury JF, Luton D, *Biochemical investigations of bowel inflammation in gastroschisis*. Pediatr Res., 2006 Nov. **60**(5): p. 565-8.
29. Guys J. M., C.E., J. Simeoni, *An experimental model of gastroschisis using fetoscopy*. Surg Endosc, 2002. **16**: p. 317-319.
30. Hansmann M., G.U., *Gezielte sonographische Ausschlussdiagnostik fetaler Fehlbildungen in Risikogruppen*. Gynäkologie, 1984. **17**: p. 19-32.
31. Harrison, M., *Fetal surgery*. Am J Obstet Gynecol., 1997 Jan. **176**(1): p. 256-7.
32. Harrison MR, A.N., *The fetus as a patient. Surgical considerations*. Ann Surg., 1991 Apr. **213**(4): p. 279-91, discussion 277-8.
33. Harrison MR., A.J., Rosen MA., Ross Ma., *Fetal surgery in the primate I. Anesthetic, surgical and tocolytic management to maximize fetal-neonatal survival*. J Pediatr Surg, 1982. **17**: p. 115-122.
34. Hinrichsen, K., *Humanembryologie. Lehrbuch und Atlas der vorgeburtlichen Entwicklung des Menschen*. 1993, Berlin/Heidelberg/New York.
35. Holländer, H., *Die Ultraschalldiagnostik in der Schwangerschaft*. 1972, München/Berlin/Wien.
36. Horcher E., H.F., Gherardini R., Mohl W., Rosenkranz A., Zweymüller E., *Omphalozele und Gastroschisis: Klinische Unterschiede und chirurgische Konsequenzen. Ein 10-Jahresrückblick*. Wien Klin Wochenschr, 1979. **91**: p. 81-84.
37. Hoyme HE., H.M., Jones KL, *The vascular pathogenesis of gastroschisis: intrauterine interruption of omphalomesenteric artery*. J Pediatr, 1981. **98**: p. 228.
38. Hutchin, P., *Somatic anomalies of the umbilicus and anterior abdominal wall*. Surg Gynecol Obstet, 1965. **120**: p. 1075-1090.
39. Izant R.J., B.F., Rothmann BF., *Current embryology and treatment of gastroschisis and omphalocele*. Arch Surg, 1966. **93**: p. 49-53.
40. Kanmaz T., A.Y., T. Aktug, *The effect of amnio-allantoic fluid pH on the intestines: an experimental study in the chick embryo gastroschisis model*. J Pediatr Surg, 2001. **36**(9): p. 1341-1345.

41. Keen, OP. *Surgery and Management*. 1981.
42. Klein MD., H.J., *Congenital defects of the abdominal wall*. Surg Gynecol Obstet, 1981. **152**: p. 805-808.
43. Kluck P., T., *The effect of fetal urine on the development of the bowel in gastroschisis*. J Pediatr Surg., 1983 Feb. **18**(1): p. 47-50.
44. Knörr K., J.W., Tettenborn U., *Gynäkologische Aspekte der pränatalen Diagnostik angeborener Anomalie*, in *Pränatale Diagnostik*. 1978, JD. Murken u. S. Stengel-Rutkowski: Stuttgart. p. 8-16.
45. Lagausie P. de, J.G., A. de Buis, *Esophageal ligature in experimental gastroschisis*. J Pediatr Surg, 2002. **37**(8): p. 1160-1164.
46. Langer, J., *Gastroschisis and omphalocele*. Semin Pediatr Surg., 1996 May. **5**(2): p. 124-8.
47. Langer, J., *Abdominal Wall Defects*. World J. Surg., 2003. **27**: p. 117-124.
48. Langer JC., K.J., Caco C., Dykes EH., Nicolaidis KH., *Prenatal diagnosis of gastroschisis: development of objective sonographic criteria for predicting outcome*. Obstet Gynecol, 1993. **81**: p. 53-56.
49. Luton D., L.P., Guibourdenche J., Peuchmaur M., *Effect of amnioinfusion on the outcome of prenatally diagnosed gastroschisis*. Fetal Diagn Ther, 1999. **14**: p. 152-155.
50. Luton D., L.P., Guibourdenche J., Peuchmaur M., *Influence of amnioinfusion in a model of in utero created gastroschisis in the pregnant ewe*. Fetal Diagn Ther, 2000. **15**: p. 224-228.
51. Mahour, G., *Omphalocele*. Surg Gynecol Obstet, 1976. **143**: p. 823-827.
52. Midrio P, S.G., Mussap M, D'Antona D, Zolpi E, Gamba P., *Amnioexchange for fetuses with gastroschisis: is it effective?* J Pediatr Surg., 2007 May. **45**(5): p. 777-82.
53. Moore, T., *Elective preterm section for improved primary repair of gastroschisis*. Ped Surg Int, 1988. **4**: p. 25-26.
54. Moore TC., S.G., *Gastroschisis: Report of two cases treated by a modification of the GROSS operation for omphalocele*. Surgery, 1953. **33**: p. 112-120.
55. Morrow RJ., W.M., McNay MB., Raine PA., Gibson AA., Crossley J., *Prenatal diagnosis and management of anterior abdominal wall defects in the west of Scotland*. Prenat Diagn, 1993. **13**: p. 111-115.

56. Mühlhaus K., W.H., Schneider J., *Pränatale Diagnostik von Neuralrohr- und Bauchwanddefekten im III. Trimenon*. Geburtshilfe Frauenheilkd, 1985. **45**: p. 98-100.
57. Olguner M, H.G., Ates O, Caglar M, Ozer E, Akgür FM., *Urinary trypsin inhibitor present in fetal urine prevents intraamniotic meconium-induced intestinal damage in gastroschisis*. J Pediatr Surg., 2006 Aug. **41**(8): p. 1407-12.
58. Ombrédanne, L., *Précis clinique et opératoire de chirurgie infantile*. 1944.
59. Phillips JD., K.R., Fonkalsrud EW., Mirzayan A., *An improved model of experimental gastroschisis in fetal rabbits*. J Pediatr Surg, 1991. **26**: p. 784-787.
60. Rickham, P., *Rupture of exomphalos and gastroschisis*. Arch Dis Childhood, 1963. **38**: p. 138.
61. Römer KH., R.G., Schwenke M., *Omphalozelen, ihre Behandlung und Spätkorrekturen*. Zentralbl Chir, 1981. **106**: p. 609-617.
62. Sabiston, *Textbook of surgery*. 1991.
63. Schulte FJ., R.R., Fuhrmann W., *Entwicklung fetaler Organe. Spezielle Diagnostik und Therapie*. Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe. Vol. 4. 1992, München: KH. Wulf u. H. Schmidt-Mathiesen.
64. Shah R., W.M., *Gastroschisis and intestinal atresia*. J Pediatr Surg, 1991. **26**: p. 788-790.
65. Shaw, A., *The myth of gastroschisis*. J Pediatr Surg, 1975. **10**: p. 235-244.
66. Swartz KR., H.M., Campbell JR., *Selective management of gastroschisis*. Ann Surg, 1986. **203**: p. 214-218.
67. Thomas DF., A.J., *The embryology and surgical management of gastroschisis*. Br J Surg, 1976. **63**: p. 893-897.
68. Tolksdorf, M., *Pränatale Diagnostik*, in *Lehrbuch der Kinderheilkunde*. 1980, G. Joppich u. J. Schulte: Stuttgart. p. 136-139.
69. Weitzel, H., *Die pränatale Diagnostik neuraler Dysraphien durch die alpha-Fetobestimmung*. Pränatale Diagnostik. 1978, Stuttgart: JD. Murken u. S. Stengel-Rutkowski.
70. Wesley, J., *Surgery: Scientific principles and practice*. 1997.

71. Willberg, B., *Omphalozele und Gastroschisis, in Komplikationen in der Kinderchirurgie*, Schärli, Editor. 1991.
72. Willital GH., L., *Bauchdeckenchirurgie, in Chirurgie im Kindesalter*. 2000.

Lebenslauf:

Angaben zur Ausbildung

- 1996: Abitur: Finsterwalder Gymnasium Rosenheim
- SS 1998: Beginn Studium der Humanmedizin an der LMU München
- April 2000: Physikum
- April 2001: I. Staatsexamen Medizin
- April 2003: II. Staatsexamen Medizin
- April – Sept. `03: Entwicklungshilfeprojekt in Togo (Westafrika) im
Rahmen der Bayrischen Apothekerstiftung in
Zusammenarbeit mit der Alfons-Goppel-Stiftung
- Nov. 2004: III. Staatsexamen Medizin und Erhalt der Approbationsurkunde

Klinische Ausbildung

- 2005: Assistenzarzt Chirurgische Klinik Bogenhausen
- 2006-`07: Assistenzarzt Kinderchirurgie im Dr. von Haunerschen Kinderspital
- Seit 2008: Assistenzarzt Allgemeinchirurgie im Klinikum Rosenheim
-
- 2001-2009: Doktorarbeit an der Haunerschen Kinderklinik in der Kinderchirurgie
bei Prof. Dr. med. H. Till, Betreuer: PD Dr. med. Oliver J. Muensterer:
Fetalchirurgischer Verschluss der Gastroschisis im Kaninchenmodell