

Aus der Klinik für Kinderchirurgie  
des Otto–Heubner-Centrums für Kinder- und Jugendmedizin  
der

Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin zu Berlin

# DISSERTATION

## **Postoperative Adhäsionsprophylaxe mittels Perfluorcarbon**

Eine tierexperimentelle Studie zur Evaluation der dosisabhängigen  
Wirkung und pulmonalen Nebenwirkungen von Perfluorocarbon

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité -  
Universitätsmedizin Berlin

von  
Svenja Hardwig  
aus Bochum

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. K. Rothe  
2. Prof. Dr. S. Kellnar  
3. Prof. Dr. med. H. Till

**Datum der Promotion: 08.04.2011**

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	5
1.1	Motivation und Zielsetzung der Arbeit.....	5
1.2	Aufbau der Arbeit.....	5
2.	Historischer Hintergrund und Relevanz .....	6
2.1	Historischer Hintergrund .....	6
2.2	Epidemiologie und klinische Relevanz.....	8
2.3	Wirtschaftliche Relevanz.....	11
3.	Theoretische Grundlagen.....	13
3.1	Besonderheiten der Wundheilung des Mesothels und daraus resultierende Pathogenese der Adhäsionen .....	13
3.2	Ansätze in der Adhäsionsprophylaxe.....	16
3.3	Adhäsionsprophylaxe mittels Perfluorocarbone (FC-77).....	19
4.	Material und Methoden .....	21
4.1	Perfluorocarbon als Untersuchungsmaterial .....	21
4.2	Tierversuchsaufbau .....	22
4.2.1	Tierart .....	22
4.2.1	Versuchsgruppen .....	22
4.2.2	Operatives Vorgehen .....	24
4.3	Adhäsionsscore .....	25
4.4	Histologische Bearbeitung der Adhäsionen .....	26
4.4.1	Färbungen.....	26
4.4.1.2	Haematoxylin- Eosin Färbung .....	26
4.4.2	Immunhistologische Färbung .....	28
4.4.2.1	Immunfluoreszenz der Lungen .....	28
4.4.3	Histologische Scores zur mikroskopischen Bewertung der Adhäsionen ..	29
5.	Ergebnisse.....	31
5.1	Makroskopische Ergebnisse .....	32
5.1.1	Makroskopische Ergebnisse des Abdomens.....	32
5.1.2	Bewertung der abdominalen Adhäsionen anhand des Easyscores ....	35
5.1.3	Weißliche Beläge in der FC-77-Gruppe .....	38
5.2	Mikroskopische Ergebnisse .....	38
5.2.1.	Mikroskopische Ergebnisse des Abdomens .....	38
5.2.2	Histologische Bewertung der Adhäsionen anhand des Histoscores ...	40
5.3	Ergebnisse der Untersuchung der Lungen .....	48
5.3.1	Mikroskopische Ergebnisse der Lungen .....	49
5.3.2	Immunhistochemie .....	50
5.3.2.1	Bewertung der Färbung mit Tumonekrosefaktor- alpha (TNF $\alpha$ ) .....	54

5.3.2.2 Bewertung der Färbung der Lungen mit Vascular endothelial growth factor (VEGF) .....	55
6. Diskussion .....	57
7. Zusammenfassung .....	67
8. Anhang .....	69
8.1 Abbildungsverzeichnis .....	69
8.2 Tabellenverzeichnis .....	70
8.2.1 Tabellen des T-Tests zur Auswertung TNF $\alpha$ -positiver Zellen (Kap. 5.3.1) .....	71
8.2.2 Tabellen des T-Tests zur Auswertung VEGF -positiver Zellen (Kap. 5.3.1) .....	76
8.3 Abkürzungsverzeichnis .....	81
9. Literaturverzeichnis .....	84
10. Danksagung .....	90
11. Curriculum Vitae .....	91
12. Selbstständigkeitserklärung .....	92

## **1. Einleitung**

### **1.1 Motivation und Zielsetzung der Arbeit**

Nach abdominalchirurgischen und gynäkologisch-operativen Eingriffen bilden sich im Rahmen des normalen Heilungsprozesses häufig peritoneale Verwachsungen aus. Diese können zeitlebens zu Komplikationen wie abdominellen Schmerzen, sekundärer Infertilität, Gedeihstörungen im Kindesalter und Ileus führen (1-6).

Um dies zu vermeiden, wurden bislang mehrere antiadhäsive Substanzen erforscht, bislang jedoch ohne zufriedenstellende Erfolge zu erzielen.

Ein weiterer Ansatz in der Adhäsionsprophylaxe bildet der Einsatz von FC-77, einem Perfluorocarbon, als mögliches Antiadhäsivum.

Perfluorocarbone sind aus der Flüssigkeitsbeatmung bekannt und durch ihre positiven antiinflammatorischen und antikoagulatorischen Eigenschaften aufgefallen (7-11). Degenhardt et al. testete in einer vorangegangenen Versuchsreihe das Medikament auf die Möglichkeit der peritonealen Applikation an Ratten mit positiven Ergebnissen (12). Mit dieser Arbeit wird die Wirkung von Perfluorocarbon in der Abdominalhöhle in Abhängigkeit von Applikationsmenge und Applikationszeitraum weiter untersucht um die optimale Applikationsdosis in Relation zu maximaler Unterdrückung der Adhäsionsbildung zu ermitteln. Ebenfalls Objekt der Untersuchung sind mögliche Auswirkungen auf die Lunge im Zuge der Elimination des Medikaments.

### **1.2 Aufbau der Arbeit**

Zunächst wird in Kapitel 2 die historische Grundlage gelegt und die klinische und wirtschaftliche Relevanz erläutert, in Kapitel 3 werden dann theoretische Grundlagen der Wundheilung und die bisherigen Ansätze der Adhäsionsprophylaxe erläutert. In Kapitel 4 wird der Versuchsaufbau beschrieben, ebenso die einzelnen histologischen Aufbereitungsmethoden und Färbungen. Anschließend werden in Kapitel 5 die makroskopischen und mikroskopischen Ergebnisse der Untersuchung vorgestellt und in Kapitel 6 interpretiert. Die Arbeit schließt mit einer Zusammenfassung.

## **2. Historischer Hintergrund und Relevanz**

### **2.1 Historischer Hintergrund**

Ende des 19. Jahrhunderts wusste man bereits um peritoneale Adhäsionen als Folge abdomineller und gynäkologischer Operationen. 1872 wurde erstmals in der Fachliteratur über das Auftreten von postoperativen Adhäsionen als Ursache eines Dünndarmileus berichtet (13).

Die Verbesserung der anästhesiologischen und antiseptischen Möglichkeiten Ende des 19. Jahrhunderts führte zu einem rapiden Anstieg abdominalchirurgischer Eingriffe und in dessen Folge zu rasant steigenden Zahlen an adhäsionsbedingten Problemen. Die Verwachsungen führen außer zu dem durch Bryant (13) 1872 beschriebenen letal endenden mechanischen Ileus nach vorangegangener Ovariectomie, häufig zu abdominalen Schmerzen, sekundärer Infertilität und Gedeihstörungen im Kindesalter (1-4, 14, 15). Bei dialysepflichtigen Patienten können aufgrund der Adhäsionen Peritonealdialysen nicht oder nur schwierig durchgeführt werden; gleiches gilt für peritoneal applizierte Chemotherapien (16, 17).

Im Neugeborenen- und Kindesalter stellt die Ausbildung peritonealer Adhäsionen ein Problem mit weitreichenden Folgen dar. Besonders Frühgeborene neigen aufgrund ihrer Unreife zu einer hohen Anzahl an intestinalen Komplikationen wie nekrotisierender Enterokolitis, Mekoniumtransportstörungen und fokaler intestinaler Perforation (5, 6, 16), die häufig chirurgisch therapiert werden müssen. Daraus resultierende Adhäsionen führen bei geringerer allgemeiner Belastbarkeit der Kinder und begrenzteren anatomischen Verhältnissen zu erschwerten Operationsbedingungen bei Wiederholungseingriffen mit z.T. erheblicher Verlängerung der Operationszeit.

Eine 1984 von Wilkins et al. durchgeführte retrospektive Studie stellte heraus, dass in einem Beobachtungszeitraum von 10 Jahren 8% aller primär laparotomierten Neugeborenen (Operation aufgrund unterschiedlichster Diagnosen wie Gastroschisis, diaphragmale Hernie, Nekrotisierende Enterokolitis, etc.) aufgrund von Adhäsionen relaparotomiert werden mussten (5).

Die Letalität der Eingriffe steht hier in direkt umgekehrt proportionaler Beziehung zum Alter der Patienten. Schütze et al. beobachteten bei den 4- bis 14- jährigen eine Letalität des Adhäsionsileus von 1.1%, während die Kinder im Alter von 3 Monaten bis zum 3. Lebensjahr eine Letalität von 8.2% aufwiesen. Kinder im Alter unter 3 Monaten wie-

sen eine Letalitätsrate von 40.4% auf (18). Auch liegt die Mortalitätsrate bei Adhäsionsileus höher als bei Erwachsenen (6). Zudem können die Adhäsionen Gedeihstörungen verursachen und schon im Kindesalter den Grundstein für sekundäre weibliche Infertilität durch Verlegung der Tuben darstellen.

Die Ausbildung von peritonealen Adhäsionen liegt in der besonderen Heilungsfähigkeit des Peritoneums begründet: zeitgleich bilden sich kleine Inseln mesothelialer Zellen, die später in eine einheitliche Decke aus Zellen proliferieren (19). Nach Verletzung des Peritoneums wandern Zellen der Immunabwehr ein, die durch Freisetzung zellulärer Mediatoren und der Expression von Thromboplastin einen Fibrinfilmm über dem Defekt organisieren.

Treten zwei geschädigte Oberflächen in Kontakt, können sich adhäsive Stränge zwischen den beiden Oberflächen bilden (20). Es handelt sich hierbei um eine Disbalance von Fibrinogenese und Fibrinolyse (21). Fremdkörperpartikel und Blutreste bieten dabei einen zusätzlichen proadhäsiven Faktor bei der Entstehung von Adhäsionen (22, 23).

Im Jahr 2007 wurde am Universitätsklinikum Berlin, Charité, Klinik für Kinderchirurgie, eine tierexperimentelle Studie durchgeführt, bei der eine mögliche Adhäsionsprophylaxe durch Perfluorocarbone –77 (FC-77) mit dem bekannten Antiadhäsivum Adept® verglichen wurde (12). Bei früheren tierexperimentellen Arbeiten wurde beobachtet, dass PFC die Akkumulation von Monozyten und neutrophilen Granulozyten unterdrückt und eine antikoagulatorische Wirkung besitzt (7-11, 24, 25). Anhand dieser Ergebnisse und aufgrund seiner niedrigen Oberflächenspannung, die zu einer gleichmäßigen Verteilung auf der Serosa führt, wurde FC-77 als Agens zur möglichen Prophylaxe peritonealer Adhäsionen und Bildung von Fremdkörpergranulomen ausgewählt.

Die Versuche ergaben eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Überlegenheit der FC-77 Gruppe gegenüber der Adeptgruppe. Während der Untersuchungen war auf den intraabdominellen Organen der Tiere der FC-77-Gruppe ein makroskopisch flacher weißer Belag aufgefallen, der sich auf mikroskopischer Ebene als vakuolisierte Makrophagen darstellte. Das durch die Makrophagen aufgenommene FC-77 wird auf dem Lymphweg abtransportiert, die weitere Elimination ist bisher noch unklar.

Bei intravenöser Applikation werden Perfluorocarbone von Makrophagen in Leber, Milz und andere Zellen des RES (retikuloendothelialen Systems) aufgenommen. Ausgeschieden werden Perfluorocarbone fast ausschließlich per Exhalation über die Lunge,

zu einem geringem Anteil per Transpiration über die Haut oder durch biliäre Exkretion mit dem Stuhl (26).

Der Durchmesser der den intraabdominellen Organen auflagernden vakuolisierten Makrophagen ist so groß, dass dies möglicherweise zu Komplikationen wie z.B. einer Embolie führen könnte (12).

Diese nun weiterführende tierexperimentelle Studie hat zum einen den Zweck, die mögliche Komplikation der Embolie zu erforschen, wie auch die zeit- und dosisabhängige Wirkung von FC-77 zu dokumentieren.

Hypothesen der Arbeit sind:

**H01:** FC-77 reduziert die durch Fremdkörper induzierten Adhäsionen in der Bauchhöhle nicht wesentlich.

**H02a:** Eine Wirkung des FC-77 ist nicht dosisabhängig ablesbar.

**H02b:** Eine Wirkung des FC-77 ist nicht zeitabhängig ablesbar.

**H03:** FC-77 induziert Embolien.

## **2.2 Epidemiologie und klinische Relevanz**

Die Inzidenz der postoperativen Adhäsionen liegt abhängig von verschiedenen Studien in einem Rahmen von 67% bis 93% nach allgemein abdominalchirurgischen Eingriffen (4, 6, 14, 19, 27, 28). Nach offen gynäkologischen Eingriffen ist sogar eine Rate von bis zu 97% zu verzeichnen. Ungefähr 1% aller chirurgischer Hospitalisationen und 3% aller durchgeführten Laparotomien werden aufgrund von intestinalen Obstruktionen durchgeführt; somit stellen die postoperativen Adhäsionen ein großes wirtschaftliches wie auch klinisches Problem dar (19).

Peritoneale Adhäsionen können Ursache vieler Symptomenkomplexe sein, wie chronischer Abdominalschmerzen, mechanischem Ileus, sekundärer Infertilität und kindlicher Gedeihstörungen (1-4, 14, 15, 19, 27, 29).



So werden postoperative Adhäsionen bei Darmverschluss in 40% der Fälle als auslösende Ursache angesehen, bei Dünndarmileus sogar in 60-70% der Fälle (30). Der Ileus bei pädiatrischen Patienten hat einen ebenso hohen Stellenwert: 8% der im Neugeborenenalter operierten Kinder müssen später wegen eines Bridenileus chirurgisch therapiert werden (19). Adhäsionen können zudem im Kindesalter einen insgesamt negativen Einfluss auf die normale Gewichts- und Größenzunahme bis hin zu Gedeihstörungen haben (31).

Eine 1996- 2002 durchgeführte Studie verfolgte 1581 Kinder- und Jugendliche, die einen abdominalchirurgischen Eingriff hatten; davon mussten 1.1% der unter 16-jährigen aus klar adhäsionsbedingten Gründen rehospitalisiert werden, bei 8.3% der rehospitalisierten Kindern wurde ein „möglich adhäsionsbedingter“ Einweisungsgrund genannt (31). Weiter konnte beobachtet werden, dass Adhäsionsformationen abhängig vom Initialeingriff in der Häufigkeit drastisch schwanken. So wurden nach einer Studie von Grant et al. (2007) nach Appendektomien nur 0.3 % der Kinder aus adhäsionsbedingten Gründen erneut operiert, nach chirurgischer Intervention des Duodenum waren die höchsten Raten mit 4.7% zu verzeichnen (31).

Bei Reoperationen werden Mortalität und Morbidität der Patienten durch die Adhäsionen dahingehend negativ beeinflusst, da sie meist die Operationszeit verlängern und das intraoperative Risiko aufgrund eines erhöhten Verletzungsrisikos insbesondere von Darm, Blase und Harnleitern, wie auch einer erhöhten Blutungsgefahr ansteigt.

So stellte eine 1998 von Beck et al. mit 1791 Patienten durchgeführte Studie heraus, dass sich die Operationszeit bei Auftreten von Adhäsionen im Mittel um 34 Minuten verlängert (1-240 Minuten), was insgesamt ca. 20% der gesamten Operationszeit entsprach (32). Eine andere Studie von van der Krabben et al. (2000) wiederum stellte heraus, dass durch jede zusätzliche Verlängerung der Operationszeit durch Adhäsio-lyse um 30 Minuten, der Krankenhausaufenthalt um einen Tag verlängert wird (33).

Ein weiteres Problem der postoperativen Adhäsionen ist das erhöhte Verletzungsrisiko bei Folgeoperationen. Eine Mittellinien- Vertikallaparotomie induzierte in 70% der untersuchten Studienpatienten Adhäsionen der Laparotomienarbe zu anderen peritonealen Organen und der abdominalen Wand unter Mitbeteiligung des Darms (68% der Fälle) und des Omentums (67% der Fälle) (34).

Eine Studie von Luijendijk et al. (34) wies die örtliche Verteilung in absteigender Häufigkeit der Adhäsionen bei den Patienten wie folgt aus:

- Omentum
- Dünndarm
- Bauchwand
- Weibliche Geschlechtsorgane
- Kolon
- Leber
- Magen
- Retroperitoneum
- Milz

Die Laparotomienarbe war in 71% der Fälle durch eine Bride mit einem Organ verbunden, in 53% war der Ort der Operation mit einem anderen Organ adhäsiv verbunden (35).

Die Adhäsionen können sich prinzipiell durch die gesamte Bauchhöhle aufspannen, so dass bei einer später durchgeführten Laparoskopie eine sichere und risikoarme Platzierung der Trokare gefährdet ist. So wurde bereits von Van der Voort in einem kollektiven Review mit über 29 000 Patienten die Verletzung des Darms durch den Trokar oder die Veress-Nadel als die häufigste Ursache laparoskopisch verursachter Darmverletzungen aufgeführt (42% aller Darmverletzungen, die durch laparoskopische Instrumente verursacht werden), wobei in 69% der Fälle Adhäsionen oder vorangegangene Laparotomien angeführt wurden (36).

Doch stellen Ileus und erhöhtes Operationsrisiko bei erneuter Operation nur zwei der vielen Probleme dar, die Adhäsionen auslösen können. Bei vielen Patienten treten „unklare“ chronische abdominale Schmerzen auf, bei einigen Frauen führen peritubuläre Verwachsungen zu einem gestörten Eitransport, paraovarial gelegene peritubuläre Verwachsungen stören das Follikelwachstum (37). Auffällig werden diese Frauen durch Infertilität oder durch erhöhte Zahlen ektoper Schwangerschaften. So haben mehrere Studien eine Rate von 15-20% der weiblichen Infertilität aufgrund von Adhäsionen festgestellt (20, 34). Schwangerschaftsraten konnten nach Adhäsiolelyse auf 38-52% bei den vorher infertilen Patienten gesteigert werden (20).

Betrachtet man die Mannigfaltigkeit der Symptome, die hohen Fallzahlen an Betroffenen, wie auch die Schwere der Beschwerdebilder, so wird der hohe Stellenwert deutlich, die der Behandlung und Prävention dieser Erkrankung zukommt.

### **2.3 Wirtschaftliche Relevanz**

Über die Kosten, die postoperative Adhäsionen verursachen sind bisher relativ wenige Studien durchgeführt worden. Aus den vorhandenen Daten jedoch lässt sich eindeutig ablesen, dass das Management der operationsbedingten Adhäsionen auch Jahrzehnte nach der initialen Operation noch einen immensen Kostenfaktor darstellt.

So haben z.B. Kössi et al. (2004) in einer retrospektiven Studie in Finnland die Kosten für die chirurgische Akutbehandlung des Ileus aufgrund von postoperativen Adhäsionen innerhalb eines Jahres von 205.574 USD (US Dollar) ermittelt (29). Diese Kosten verteilten sich dabei auf 101 Patienten und insgesamt 176 Operationen. Vergleichsweise beliefen sich die Kosten für die Behandlung eines adhäsionsbedingten Ileus für ein Krankenhaus eines Einzugsgebietes von ca. 450.000 Menschen auf etwa die äquivalente Kostenmenge, die der Behandlung der Krebserkrankungen des Magens dort zukommen (29).

Eine 1994 von Ray et al. (38) in den USA durchgeführte Studie hat jährliche Kosten für Krankenhausaufenthalte und Operationen von insgesamt 1.33 Milliarden USD ermittelt. Bei 303.836 adhäsionsbedingten Hospitalisationen entspricht das 4.377 USD pro Krankenhausaufenthalt. Weiter stellten diese 303.836 Krankenhausaufenthalte 1% aller Hospitalisationen insgesamt dar und ergaben 117.3 stationäre Aufenthalte pro 100.000 Einwohner.

Adhäsioolyse wurde in 19% der Fälle als Einweisungsgrund angegeben, bei 81% der Fälle wurde sie sekundär zu anderen Eingriffen durchgeführt. Insgesamt wurden 58.241 Fälle zur primären Adhäsioolyse eingewiesen und kamen mit einem durchschnittlichen Aufenthalt von 9.7 Tagen auf insgesamt 564.938 Tage Krankenhausaufenthalt. Bei Eingriffen, bei denen Adhäsioolyse als sekundärer Eingriff durchgeführt werden musste, wurden 281.477 Krankenhausaufenthaltstage gezählt, wobei die Liegedauer der Patienten

ten sich im Durchschnitt um 1-2 Tage im Vergleich zu Patienten ohne zusätzliche Adhäsionolyse verlängerte (38).

Bei den oben genannten Kosten sind die Ausgaben für Laboruntersuchungen, apparative Diagnostik, etc. nicht erfasst. Diese zusätzlichen Kosten werden im Jahr auf 881.5 Mio. USD geschätzt.

Parker et al. (39) stellten mit der SCAR Gruppe (Surgical and Clinical Adhesion Research) eine ökonomische Rechnung der Kosten für Rehospitalisationen aufgrund adhäsionsbedingter Problematiken auf. Sie hat alle Laparotomien der schottischen Bevölkerung des Jahres 1986 erfasst und in einem Zeitraum von 10 Jahren die erneuten Krankenhausaufenthalte verfolgt.

Dabei konnte beobachtet werden, dass 33% der Patienten innerhalb der folgenden 10 Jahre erneut stationär aufgenommen wurden; mit einem Mittelwert von 2.2 Wiederaufnahmen pro Patient. 54% der Patienten wurden einmal, 41% der Patienten wurden 2 bis 5 Mal, 5% der Patienten wurden mehr als 6 Mal wieder aufgenommen. Eine Patientin wurde 20-mal wieder aufgenommen. Die Kosten für die adhäsionsbedingten Wiederaufnahmen im Zeitraum von 10 Jahren beliefen sich in Großbritannien auf über £500 Millionen (39, 40).

Eine schwedische Studie von Tingstedt et al. (41) hat retrospektiv die Wiederaufnahme von Patienten aufgrund von Ileus betrachtet, die von 1987 bis 1992 abdominalchirurgisch versorgt wurden. Von den 102 Studienpatienten wurden 52% einmalig, 43.1% 2-5 Mal und 4.9% mehr als 10 Mal aufgrund von adhäsionsbedingten Problemen wieder aufgenommen. Insgesamt waren die Patienten 2.060 Tage hospitalisiert, was Krankenhauskosten von 1.588.593€ entspricht, 6.072€ pro Krankenhausaufenthalt.

Zusätzlich zu den Krankenhauskosten haben Tingstedt et al. die Kosten berechnet, die durch Krankschreibung der Patienten entstanden. 48% der Patienten konnten Krankschreibungen beanspruchen. Insgesamt wurden 1.406 Krankentage verordnet, wovon im Mittel 12 Tage während des Krankenhausaufenthaltes und 7 Tage nach Entlassung aus dem Krankenhaus genutzt wurden. Bei einer mittleren Entschädigung durch die Krankenkassen von 50€ pro Tag (Werte vom Nation Social Insurance Office) ergeben sich Kosten von 70.300€ allein für die Krankschreibungen.

Hinzu kommen noch die indirekten Kosten, die der Wirtschaft aufgrund der fehlenden Arbeitskraft entstehen. Bei einem Durchschnittslohn von 12€/h ergibt sich ein Verlust

von 134.976 €. Insgesamt belaufen sich die Kosten von Krankenhausaufenthalt, externen Arztbesuchen, Krankschreibung und Ausfall der Arbeitskraft auf 1.800.532 € für die Studiengruppe allein (41).

Bei diesen Studien sind jeweils die Kosten für die Behandlung der Patienten mit chronischen Abdominalschmerzen und Infertilität nicht aufgeführt. Ebenfalls nicht oder nur geringfügig beachtet sind viele diagnostische Vorgänge wie Laboranforderungen und radiologische Konsilien, Medikamente und Blutprodukte.

Postoperative Adhäsionen führen so zu großen wirtschaftlichen Belastungen, da ein großer Teil der Patienten rehospitalisiert werden muss, was mit erneuten Operations- und Krankenhauskosten einhergeht. Zum anderen verursachen die erneuten Hospitalisierungen Arbeitsausfälle, die ebenfalls erhebliche wirtschaftliche Ausfälle zur Folge haben. Eine Reduzierung der adhäsionsbedingten Rehospitalisierungsrate würde somit zu immensen wirtschaftlichen Einsparungen führen.

### **3. Theoretische Grundlagen**

#### **3.1 Besonderheiten der Wundheilung des Mesothels und daraus resultierende Pathogenese der Adhäsionen**

Das Peritoneum ist die größte seröse Membran im gesamten Körper und mit einer Oberfläche von  $2\text{m}^2$  entspricht sie der Größe der Oberfläche der Haut. Als Pars visceralis überzieht es viszerale und parenchymatöse Organe wie Leber, Milz, Pankreas, Gallenblase wie auch den gesamten Gastrointestinaltrakt, als Pars parietalis kleidet das Peritoneum die Bauchhöhle allseitig aus (42-44).

Aufgebaut ist das Peritoneum aus einer einzelnen Schicht mesothelialer Zellen mesenchymalem Ursprungs welche einer Schicht Submesothel aufgelagert sind (44). Diffusion und Reabsorption von Flüssigkeit kann frei über die Mesothel- und die Submesothelschicht erfolgen (45).

Nach einer Verletzung heilt das Peritoneum in einer anderen Weise als die Haut. Während die Wundheilung der Haut durch Proliferation von Epithelzellen von der Peripherie hin zur Mitte des Defektes von Statten geht, läuft die Wundheilung des Peritoneums durch zeitgleiche Bildung kleiner Inseln mesothelialer Zellen, die später in eine einheitliche Decke aus Zellen proliferiert, simultan ab (19). So dauert die

Wundheilung einer größeren Hautverletzung länger, als die einer kleineren, wobei die Wundheilungszeit mesothelialer Defekte von der Größe des Defektes unbeeinflusst bleibt.

Eine Verletzung des Peritoneums führt zunächst zur Desquamation der verletzten mesothelialen Zellen wie auch zu einer inflammatorischen Reaktion, die durch zelluläre Infiltration, Formation serösanginöser Exsudate und einem Proliferationsimpuls der umgebenden mesothelialen Zellen gekennzeichnet ist (46).

Eingewanderte Zellen der Immunabwehr wie auch die verletzten mesothelialen Zellen setzen zelluläre Mediatoren (vor allem IL-8, TNF $\alpha$ , IL-6, TGF- $\beta$ , PDGF) frei, die zu einer Migration weiterer Immunzellen wie Monozyten, Leukozyten und segmentkernige Granulozyten zu der verletzten Stelle führen. Die Monozyten differenzieren „vor Ort“ zu Makrophagen und binden sich dann an die Wundoberfläche.

Durch Produktion zellulärer Mediatoren, der Expression von Thromboplastin (Faktor III) durch die Makrophagen und mesothelialen Zellen, wird der extrinsische Weg der Gerinnungskaskade angestoßen, so dass sich ein zunächst löslicher Fibrinfilmm über dem Mesotheldefekt organisiert. Aus diesem löslichen Fibrinfilmm, bestehend aus Fibrinmonomeren, werden erst lösliche Fibrinpolymere und dann unlösliche Fibrinpolymere, die dann ihrerseits mit Proteinen interagieren um den Fibrinfilmm zu bilden, der sich fest über den Defekt legt. Der Fibrinfilmm beinhaltet weiter Leukozyten, Erythrozyten, Endothelzellen, Epithelzellen, Mastzellen und zellulären Debris (19, 43).

Treten nun zwei geschädigte peritoneale Oberflächen in Kontakt, während sie mit diesem Fibrinfilmm überzogen sind, bildet sich eine Adhäsion zwischen den beiden Oberflächen. Dieses geschieht nicht nur unmittelbar postoperativ, sondern kann bis zu 5 Tage postoperativ gebildet werden (20).

Physiologischerweise stehen die Prozesse der Fibrinogenese und der Fibrinolyse in einem genau balancierten Gleichgewicht, so dass Plasmin normalerweise die fibrinösen Verbindungen in ihre löslichen Bestandteile abbaut.

Diese fibrinolytische Aktivität hängt maßgeblich von der Anwesenheit und Aktivität immunkompetenter Zellen und entzündungsbeeinflussender Stimuli ab, die im entzündeten Peritoneum bzw. nach chirurgischer Manipulation vermindert sind. So werden nach chirurgischem Eingriff und bei Entzündung des Peritoneums insbesondere TNF $\alpha$ , IL1 und IL6 ausgeschüttet; diese Mediatoren wiederum führen zu einer

Erhöhung der Plasminogen-Aktivator-Inhibitoren 1 und 2. Diese Enzyme inhibieren ihrerseits den tissue-Plasminogen-Aktivator (tPA) und den urokinase-type plasminogen activator das inaktive Plasminogen zu Plasmin umzuwandeln, welches in der Lage wäre die Fibrin Gelmatrix in einzelne Fibrinmonomere zu spalten. So jedoch bleiben die Fibrinverbindungen bestehen und werden durch Umbauprozesse in bindegewebige Stränge umgebaut (21, 47-49).

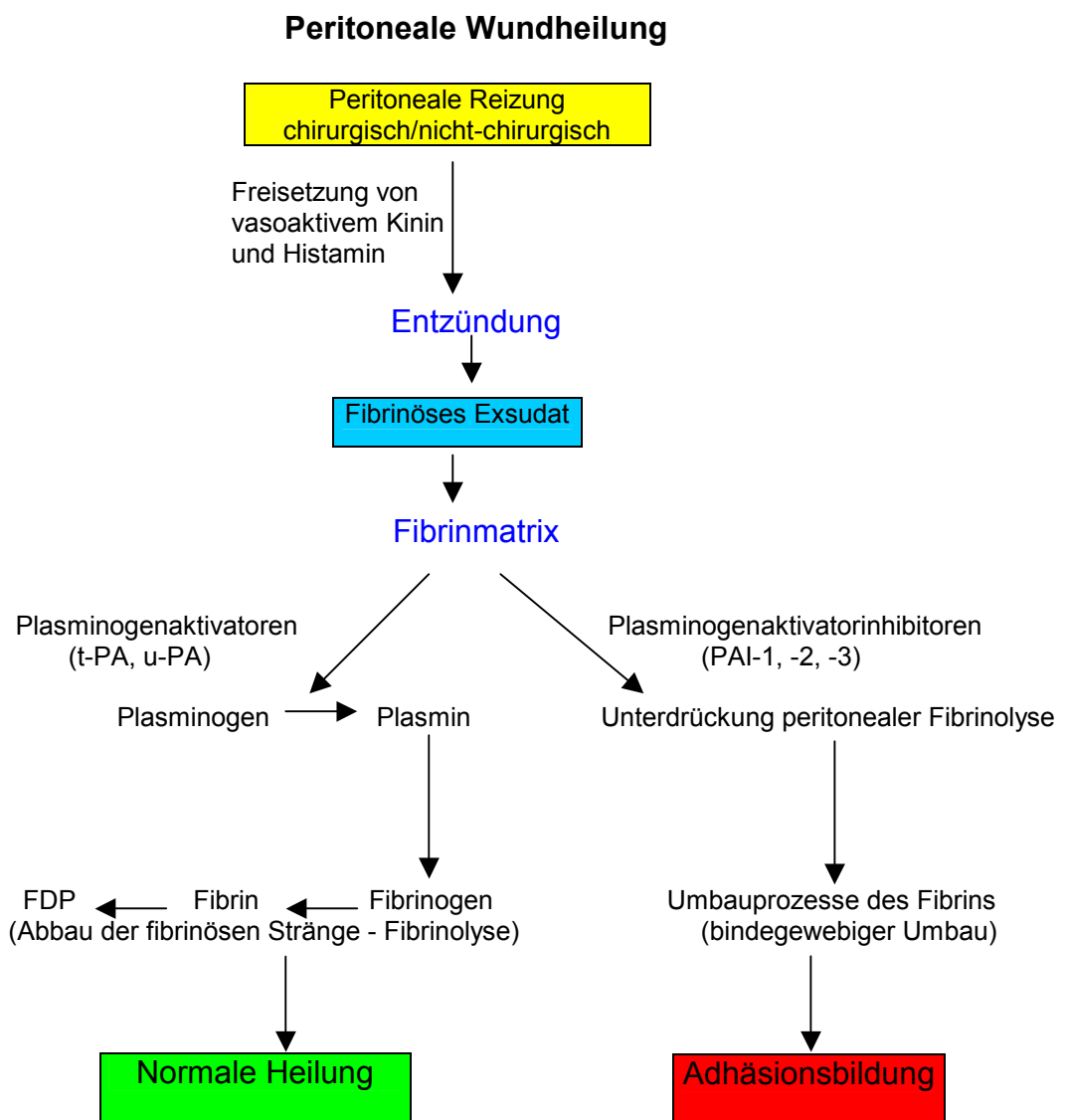


Abb 1: Peritoneale Heilungsprozesse nach Kamel,R. (21)

Wo zu Beginn die adhäsiven Stränge zum größten Teil aus Makrophagen, Fibroblasten, Fresszellen und Mastzellen bestehen nimmt die Zahl der Fibroblasten im Laufe der Zeit

ab und die Adhäsionen differenzieren zu vaskularisierten Strängen aus kollagenen Fasern. Die älteren Adhäsionen sind zudem oft mit Mesothel überzogen (35).

### **3.2 Ansätze in der Adhäsionsprophylaxe**

Ziel in der Adhäsionsprophylaxe ist die allgemeine Inzidenz, die Schwere der Ausprägung und die Schwere der Folgen zu reduzieren, während die Heilung normal und ohne Infektionen verlaufen kann. Seit Bryants Erstveröffentlichung 1872 (13) wurden viele Strategien entwickelt um die Bildung von Adhäsionen zu unterbinden. Obwohl viele unterschiedliche Möglichkeiten untersucht wurden, waren nur wenige erfolgsversprechend, so dass bis zum heutigen Tag die einzige Behandlungsmöglichkeit bei Adhäsionen die chirurgische Adhäsioolyse bleibt. Diese Methode wird allerdings auch nur bei symptomatischen Patienten als letzte Therapieoption genutzt, da sich meist chirurgisch entfernte Verwachsungen an gleicher Stelle neu formieren (2).

Um Adhäsionen verhindern zu können, musste erst die zugrundeliegende Pathologie der Adhäsionen erforscht werden. Durch die Kenntnisse um die proadhäsiven Faktoren wie lokale Ischämie, chirurgische Traumatisierung des umliegenden Gewebes, Entzündung, Blutung, Austrocknung von Gewebe und Serosaoberflächen, Hitzeschäden und Reaktionen auf Fremdmaterial wie Talk, Nahtmaterial, Abrieb von Baumwolltupfern (Lint) und irritierende Spüllösungen konnten bereits Maßnahmen getroffen werden, um auf diesem Gebiet die pathogenen Faktoren auszuschalten (21). So konnte die Zahl der Verwachsungen durch Reduzierung der intra-peritonealen Nähte, vorsichtigeres Gewebemanagement, Vermeidung von lokaler Ischämie und Austrocknung des Gewebes und durch Verabreichung einer Infektionsprophylaxe minimiert werden (38). Ein großer Rückgang an Verwachsungen konnte beobachtet werden, als die Verwendung von gepuderten Handschuhen zugunsten ungepudelter Handschuhe weitgehend eingestellt wurde (34, 38, 50).

Auch durch die Verwendung cottonfreier Tupfer und Bauchtücher kann die Anzahl der peritonealen Verwachsungen reduziert werden. So wurden in Case Reports von Tinker et al. (1974) und von Janoff et al. (1983) Lintpartikel als Auslöser schwerer granulomatöser Peritonitiden und Briden genannt (51-53). Van den Tol et al. stellten 1997 in einer Studie am Tiermodell Baumwolltupfer in Vergleich zu Tupfern aus Rayon-Polyester-



Gemisch (Fastsorb®). Dabei ergaben sich signifikant höhere Adhäsionscores in der Gruppe der mit Baumwolltupfer behandelten Tiere, als in der Fastsorb®-Gruppe (54). Eine 2004 durchgeführte Studie der Charité von Grund et al. verglich die antiadhäsive Wirkung von Gamma Wipe 120®, einem Tupfer aus 100% Polyester, mit herkömmlichen Baumwolltupfern. Auch hier ließ sich eine signifikant geringere Ausprägung der Adhäsionen in der Gamma Wipe 120® – Gruppe feststellen (55).

Ein weiterer Ansatzpunkt zur primären Adhäsionsprophylaxe ist die Reduktion des Einsatzes des Elektrokauters im peritonealen Bereich. In einer Studie von Bellina et al. konnte beobachtet werden, dass ausgedehnte Kauterisierung zu tiefgreifender submesothelialer Blutung und Nekrose führt, infolge dessen die Heilung erst mit bis zu drei Wochen Verzögerung abgeschlossen werden konnte (56, 57). So können durch Reduktion der Kauterisierung auf ein Minimum auch die Adhäsionen reduziert werden.

Allein durch sorgfältige Operationstechnik können die Verwachsungen allerdings nicht eliminiert werden, so dass viele Substanzen als Adhäsionsprophylaktika erforscht wurden.

Es gibt dabei fünf Hauptmechanismen, die die Adhäsionsbildung beeinflussen können:

- Reduzierung der peritonealen Verletzung
- Unterbindung der Fibrinogenese
- Unterstützung der Fibrinolyse
- Unterdrückung der entzündlichen Prozesse
- Räumliche Trennung der verletzten Oberflächen

Unter Reduktion der *peritonealen Verletzung* sind Maßnahmen wie laparoskopische Zugang statt Laparotomie und die peritoneale Applikation von 32% Dextran 70 zu verstehen (50). Durch geringere Traumatisierung erhoffen sich die Forscher konsekutiv geringere Adhäsionsformation.

Ein weiterer Ansatzpunkt der Forschungen liegt in der *Fibrinogenese*. Agenzien wie Heparin und Adenosin wirken durch Reduzierung der Fibrinablagerung. Allerdings gibt es hier teils kontroverse Studienergebnisse bezüglich der Effektivität der Adhäsionsreduktion; Fukasawa et al. grenzten in ihrer Studie die Applikation sehr stark ein (Applikation für 2 Tage, Start der Applikation direkt nach der Manipulation, Applikation von ma-

ximal  $7.5 \times 10$  U/kg/Tag) um einen potentiell adhäsionsmindernden Effekt zu erreichen ohne unerwünschte Nebeneffekte wie Blutungen hervorzurufen (58). Jackson et al. berichteten über gute adhäsionsmindernde Effekte, waren jedoch auch mit der Problematik der erhöhten Blutungsgefahr konfrontiert, die den Einsatz beider Agenzien im Operationsgebiet stark limitiert (58, 59).

Wenn bereits Fibrin gebildet wurde, kann es durch enzymatische Spaltung abgebaut werden. Um die *Fibrinolyse* anzuregen wurden Stoffe wie Urokinase, Streptokinase und rekombinantes tPA verwendet. Trotz vielversprechender Ergebnisse bei der Adhäsionsreduktion im Tiermodell ist die Verwendung der oben genannten Fibrinolytika dadurch eingeschränkt, dass diese Methoden zum einen immense Kosten verursachen, zum anderen wurde ein erhöhtes Risiko für z.T. schwere Blutungen beobachtet (60-62).

Durch *Modulation der lokalen entzündlichen Prozesse* mittels Kortikosteroiden, NSARs, Pentoxifyllin, Kalziumkanalblockern und Vitamin E Präparaten wird ebenfalls die Fibrinogenese beeinflusst. Durch Eingreifen in die Prostaglandinsynthese und dadurch Herunterregulierung der initialen Entzündungsreaktion wird die Fibrinexsudation reduziert. Studienergebnisse belegen jedoch, dass die Immunmodulatoren keinen antiadhäsiven Effekt gezeigt haben; in einigen Studien war der Effekt sogar proadhäsiv (63-68).

Die räumliche *Trennung der verletzten Oberflächen* mittels Applikation einer Amnionhaut, Silikon, Hyaluron-Membran (Seprafilm®), oxidierten regenerierten Zellulose (Interceed®), Polytetrafluoroethylen (Gore Tex®), 4% Icodextrinlösung (Adept®), oder Polylactid-co-glykoliden (PLGA) scheint den vielversprechendsten Ansatz zu bieten. Oxidierte Zellulose wie Interceed® zeigte bei Anwendung im operativ gynäkologischen Bereich eine Reduktion der Adhäsionen, wird jedoch bei abdominalchirurgischen Eingriffen nicht verwendet, da bei Kontakt zu Blut die antiadhäsive Wirkung von Interceed signifikant reduziert wird bzw. die Neubildung von Verwachsungen noch fördert (69-72). Eine Studie von Wallwiener et al. (2006) konnte diese unerwünschte Wirkung im Tiermodell nicht rekonstruieren und zeigte im Tierversuch eine komplette Unterdrückung der Adhäsionsformation in 50% der mit Adept®, Interceed® und Seprafilm® behandelten Tiere (73).

Polytetrafluoroethylen (Gore Tex®) stellte im Tiermodell ebenfalls eine wirksame Methode zur Reduktion von Adhäsionen dar. In der Klinik ist der Gebrauch allerdings nicht umzusetzen, da große Flächen mit dem Polytetrafluoroethylen bedeckt werden müssten. Zudem ist die Gore Tex® Membran nicht resorbierbar und muss mit Nähten befestigt werden. Das schwierige Handling (z.B. bei erneuten Eingriffen) wie auch die hohen Kosten lassen sich im klinischen Alltag nicht durchsetzen.

Die bis heute effizienteste Barrieremembran besteht aus negativ geladenen Polysacchariden Natrium-Hyaluronat und Carboxymethylzellulose (Seprafilm®). Hyaluron als natürlich vorkommendes Polysaccharid greift auf verschiedene Arten in den Heilungsprozess ein. Einige Studien beobachteten eine beschleunigte Proliferationsrate des Mesothels, andere Studien haben eine erhöhte fibrinolytische Aktivität des Mesothels in vitro feststellen können. Seprafilm® hat in allen Studien eine signifikante Reduktion der Adhäsionen herbeiführen können. Allerdings wurde bei Einsatz von Seprafilm® in der Nähe von frischen intestinalen Anastomosen eine erhöhte Zahl von Anastomoseninsuffizienz und deren Folgen wie Peritonitis, Sepsis und Fistelbildung gefunden. Obwohl der Einsatz von Seprafilm® im Peritoneum als sicher gilt, ist von einer Verwendung in Anastomosennähe abzuraten (50).

### **3.3 Adhäsionsprophylaxe mittels Perfluorocarbone (FC-77)**

Eine von Degenhardt et al. 2006 durchgeführte tierexperimentelle Studie verglich anhand eines makro- und mikroskopischen Scores im Rattenmodell eine mögliche Adhäsionsprophylaxe durch Perfluorcarbone – 77 (FC-77) mit einem bekannten Antiadhäsivum, Adept® (12).

In tierexperimentellen Arbeiten, wie auch aus Erfahrungen mit der Flüssigkeitsbeatmung von Früh- und Neugeborenen weiß man um die antikoagulatorische Wirkung von PFC. Weiter wurde beobachtet, dass PFC die Akkumulation von Monozyten und neutrophilen Granulozyten unterdrückt. Diese Erkenntnisse führten zu der Überlegung, die Barriereigenschaften und die antiinflammatorische und antikoagulatorische Wirkung von FC – 77 auch zur Prophylaxe peritonealer Adhäsionen und Bildung von Fremdkörpergranulomen einzusetzen.

Das Ergebnis der Studie zeigte, dass die FC-77- Gruppe makroskopisch zwar eine augenscheinlich geringere Anzahl an Adhäsionen bot, dennoch war der Unterschied zur Adept®- Gruppe nicht signifikant. Die FC-77- Gruppe wies nach errechnetem Mittelwert weniger Adhäsionen auf (Mittelwerte: FC-77- Gruppe = 13.5; Adept®- Gruppe = 16.7; Kontrollgruppe = 19.7); der Easyscore in der Adept®- und der Kontrollgruppe lieferten jedoch fast identische Ergebnisse.

Weiter wurden in der Kontroll- wie auch der Adept®- Gruppe ein Todesfall ungeklärter Ursache verzeichnet. In der Kontrollgruppe traten zwei, in der Adept®- Gruppe ein adhäsionsbedingter Darmverschluss auf, wohingegen bei der FC-77 Gruppe keine gleichartigen Komplikationen beobachtet wurden. Der in der Literatur beschriebene adhäsionsprophylaktische Effekt von Adept® konnte nach den makroskopischen Befunden in dieser Studie nicht bestätigt werden.

Aus mikroskopischer Sicht stellte sich FC-77 bei der erhofften Reduktion der Fremdkörpergranulombildung ebenfalls dem Antiadhäsivum Adept® überlegen dar. So fanden sich in der FC – 77-Gruppe nicht nur signifikant weniger komplett ausgebildete Fremdkörpergranulome, sondern war auch meist um die implantierten Fremdkörper keine oder maximal abortive Granulombildung zu finden.

Ausschließlich in der FC-77- Gruppe fand sich allerdings ein makroskopisch sichtbarer weißer Belag auf den intraabdominellen Organen, der histologisch aus Fibrin und vakuolisierten Makrophagen besteht. Im Abdomen kommt es nach Applikation von FC-77- haltiger Flüssigkeit wahrscheinlich durch Kohäsion zur Ablagerung auf der Serosa, zu einem Durchtritt von Fibrin und Makrophagen durch die Mesothelschicht und anschließend zur Phagozytose von FC-77 und zur Ausbildung der beschriebenen weißen Beläge. Das durch die Makrophagen aufgenommen FC-77 wird auf dem Lymphweg abtransportiert, was der Fund von vakuolisierten Makrophagen in Lymphgefäßen und vor allem die Makrophagen im Randsinus zweier mesokolischer Lymphknoten beweisen. Zusätzlich wurden FC-77 – Vakuolen auch in kleinen submukösen mesokolischen Gefäßen gefunden. Obwohl FC-77 als inert gilt, werden selbst nach Flüssigkeitsbeatmung kleinste Mengen systemisch aufgenommen. Nach den histopathologischen Untersuchungen ist sehr stark davon auszugehen, dass es nach Applikation in die Bauchhöhle zu einer gesteigerten systemischen Aufnahme kommt. Der Durchmesser der beobachteten vakuolisierten Makrophagen ist dabei so groß, dass dies möglicherweise zu

Komplikationen wie z.B. einer Embolie führen könnte, was in dieser weiterführenden Studie zu klären ist (12).

#### **4. Material und Methoden**

##### **4.1 Perfluorocarbon als Untersuchungsmaterial**

Perfluorocarbone (PFC) sind lineare oder zyklische Kohlenstoffgerüste denen zusätzlich noch Stickstoff-, Brom-, Sauerstoff- oder Fluoratome angelagert sein können (74). Die Bindungen sind mit einer Länge von 0.136nm und einer Bindungsenergie von 485,6kJ/mol in biologischen Systemen nicht angreifbar. Weiter sind sie hitzestabil und werden vom Körper nach heutigem Kenntnisstand nicht metabolisiert, sie sind also chemisch und biologisch inert. PFC besitzen ein fast doppelt so hohes spezifisches Gewicht wie Wasser und eine niedrige Viskosität; in Wasser und z.B. Blutplasma ist PFC unlöslich (26). PFC- Moleküle verfügen zudem über eine geringe und konstante Oberflächenspannung, außerdem zeichnen sie sich durch einen hohen Spreitungskoeffizienten (die Eigenschaft sich auf Oberflächen spontan auszubreiten) aus, was besonders in der Flüssigkeitsbeatmung vorteilig genutzt werden kann (74).

Bei dem in den Versuchsreihen verwendeten PFC handelt es sich um FC-77 der Firma M3 (Neuss, Deutschland), welches aus einem Grundgerüst von 2 mal 8 Kohlenstoffatomen besteht, woran 18 bzw. 16 Fluoratome und ein Sauerstoffatom gebunden sind.

Bei intrapulmonaler Anwendung wurde ein Übertritt in den Intravasalraum beobachtet. Die beobachteten Mengen sind jedoch vergleichsweise gering. Bei längerer Anwendung des FC-77 kommt es durch Aufnahme von Makrophagen zu einer Speicherung im retikuloendothelialen System mit höchsten Konzentrationen in Lunge, Leber, Thymus, Milz und Nieren.

In vorangegangenen Forschungsreihen wurde die Verwendung von Perfluorocarbonen im intensivmedizinischen Bereich bereits auf verschiedenen Gebieten erforscht. So wird der Einsatz von PFC in der partiellen Flüssigkeitsbeatmung von mehreren Gruppen erforscht und erbrachte bisher vielversprechende Ergebnisse. Mehrere Studien, unter anderem von Greenspan et al. 1990, zeigten, dass PFC eine effektive Behandlungsmöglichkeit des Respiratory Distress Syndroms sein kann (75, 76). Durch die Reduktion der

Oberflächenspannung sinkt der erforderliche Eröffnungsdruck der Alveolen und die Compliance der Lunge wird verbessert. Ein weiterer Vorteil der PFC- Applikation ist die mangelnde Mischbarkeit des PFC, wodurch wässrige Substanzen, Zellreste und entzündliche Ödemflüssigkeit der zentralen Atemwege an die Oberfläche des PFC treiben und von dort abgesaugt werden können.

Ein weiteres potentiell Einsatzgebiet der Perfluorocarbone ist das Gebiet der Blutersatzprodukte. Intravenöse Perfluorocarbone werden zurzeit als künstliche Sauerstoffträger in einer Vielzahl von unterschiedlichen Einsatzmöglichkeiten getestet. So werden PFC- Emulsionen beispielsweise als Adjuvantien zur akuten normovolämischen Hämodilution bei großen chirurgischen Blutverlusten erprobt (77).

Weitere experimentelle Ansätze für den Einsatz der PFC- Emulsionen sind in der Therapie des Myokardinfarkts durch Verbesserung der Oxygenierung des Myokards nach koronarem Gefäßverschluss zu finden. In Tierversuchen reduzierte die kleine Partikelgröße und die niedrige Viskosität der PFC- Emulsionen die Infarktgröße, verbesserte den myokardialen O<sub>2</sub>-Gehalt nach dem Verschluss des RIVA (Ramus interventricularis anterior) und verzögerte das Einsetzen ischämischer Folgeschäden (26).

## **4.2 Tierversuchsaufbau**

### **4.2.1 Tierart**

Als Versuchstiere eignen sich Ratten im Besonderen, da bereits eine Reihe von Arbeiten in der Adhäsionsforschung bestehen, die ein Rattenmodell verwenden. So ergeben sich bessere Vergleichsmöglichkeiten zwischen den Ergebnissen (12, 45, 55, 78).

Für die Untersuchungsreihen wurden Wistar Ratten der Firma Harlan Winkelmann GmbH, Borchon, Deutschland, verwendet. Sie wogen zwischen 200 und 320 Gramm.

### **4.2.1 Versuchsgruppen**

Für die Untersuchungen wurden 55 Ratten auf 5 Gruppen zu je 11 Ratten verteilt. Die Gruppeneinteilung erfolgte geblendet; d.h. die Tiere wurden erst nach dem Setzen des chirurgischen Traumas den jeweiligen Gruppen per Losverfahren zugeteilt. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich in der Art (PFC vs NaCl 0,9%) und Menge (5ml/kgKG vs 10ml/kgKG) des applizierten Agens wie auch in der Länge des postoperativen Ver-

laufs (Relaparotomie nach 7, 14 oder 21 Tagen postoperativ). Ziel einer derartigen Gruppeneinteilung war die Dokumentation eines dosisabhängigen, wie auch zeitabhängigen Wirkungsunterschieds. Die Tiere der NaCl 0,9%- Gruppe dienen als Kontrollgruppe.

**1. Gruppe:** Laparotomie mit anschließender mechanischer Reizung und Abtupfens der peritonealen Serosablätter mit sterilen Baumwollkompressen, Applikation von **10ml/kgKG** FC-77 in die Bauchhöhle (n= 11 Tiere). Die Tiere wurden nach **21** Tagen getötet und relaparotomiert.

**2. Gruppe:** Laparotomie mit anschließender mechanischer Reizung und Abtupfens der peritonealen Serosablätter mit sterilen Baumwollkompressen, Applikation von **10ml/kgKG** FC-77 in die Bauchhöhle (n= 11 Tiere). Die Tiere wurden nach **14** Tagen getötet und relaparotomiert.

**3. Gruppe:** Laparotomie mit anschließender mechanischer Reizung und Abtupfens der peritonealen Serosablätter mit sterilen Baumwollkompressen, Applikation von **5ml/kgKG** FC-77 in die Bauchhöhle (n= 11 Tiere). Die Tiere wurden nach **7** Tagen getötet und relaparotomiert.

**4. Gruppe:** Laparotomie mit anschließender mechanischer Reizung und Abtupfens der peritonealen Serosablätter mit sterilen Baumwollkompressen, Applikation von **5ml/kgKG** FC-77 in die Bauchhöhle (n= 11 Tiere). Die Tiere wurden nach **21** Tagen getötet und relaparotomiert.

**5. Gruppe:** Laparotomie mit anschließender mechanischer Reizung und Abtupfens der peritonealen Serosablätter mit sterilen Baumwollkompressen, Applikation von **10ml/kgKG** NaCl 0,9% in die Bauchhöhle (n= 11 Tiere). Die Tiere wurden nach **21** Tagen getötet und relaparotomiert.

Tiere, die innerhalb von 24-48 Stunden in ein Koma fielen, sowie Tiere, die innerhalb von 7 Tagen 20% ihres initialen Körpergewichts verloren oder lethargisch wirkten, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

#### 4.2.2 Operatives Vorgehen

Für alle Eingriffe wurde ein standardisiertes Vorgehen angewandt, welches sich in vorangegangenen Studien bewährt hat (12, 55). Die Tiere wurden präoperativ keiner Nahrungskarenz ausgesetzt.

Es wurde in einem Team aus 2 Personen gearbeitet. Die Tiere wurden per Inhalationsanästhesie mittels Isofluran betäubt, so dass eine Spontanatmung erhalten blieb.

Nach Rasur und Desinfizierung des Abdomens wurde das Operationsgebiet mit sterilen Abdecktüchern aus baumwollfreiem Kunststoff der Firma M3 abgeklebt. Anschließend wurde eine vertikale Laparotomie vorgenommen.

Nach standardisiertem Verfahren wurde mit einer geschlossenen Gefäßklemme (Dietrich Micro Bulldog Clamp C2 der Firma Miltex) über die Serosa definierter Organe gefahren und sie so traumatisiert. Es wurde jeweils 20mal in aboral – oraler Richtung über ein je 1cm langes Stück Dünndarm, Coecum und Magen geschert. Dies erfolgte in einem 90° Winkel zum Lumen, damit es nicht zu unterschiedlichen Scherkräften kommt.



Abb. 2: Gefäßklemme (DIETRICH Micro Bulldog Clamp C2 der Firma Miltex)

Nachfolgend wurde rechts der Laparotomie das parietale Blatt des Peritoneums mit einem im rechten Winkel zum Peritoneum stehenden Skalpell geschädigt (Mesothel auf einer Fläche von ca. 3,5 \* 3,5cm). Nach der Serosareizung wurden der Darm und das Peritoneum mit Baumwollkompressen ausgetupft, um die während einer Operation übliche Manipulation zu simulieren.

Nun wurde das Tier einer Gruppe zugewiesen und entsprechend der Gruppenzugehörigkeit und dem vorher ermittelten Körpergewicht die entsprechende Menge FC-77 oder NaCl in die Bauchhöhle appliziert. Im Anschluss wurde die Bauchwand wieder verschlossen. Postoperativ erhielten alle Tiere ein subkutanes Depot physiologischer Kochsalzlösung in die Nackenfalte, wie auch eine Gabe von Carprofen (Rimadyl 5mg/kgKG s.c.) zur Analgesie. Im weiteren postoperativen Verlauf wurde, wenn erforderlich (Anzeichen von



Schmerzen bei den Versuchstieren in Form von Lautäußerung und Unruhe, Absonderung von der Gruppe, Kratz- und Knabberverhalten an der Operationswunde), eine orale Gabe von Metamizol (110mg / kgKG) über 2-3 Tage bzw. bis zum Abklingen der Beschwerden gegeben.

Je nach Gruppenzugehörigkeit wurden die Tiere 7, 14 oder 21 Tage nach der Operation zur weiteren histopathologischen Bewertung unter Einhaltung des geltenden Tierschutzgesetzes (79) und der europäischen Tierschutzrichtlinie 3.01 des schweizerischen Bundesamtes für Veterinärwesen (80) getötet. Dies geschah unter hochprozentiger CO<sub>2</sub>-Insufflation, ebenfalls nach Richtlinien des Landesamtes für Gesundheit und Soziales, Berlin (81).

Danach erfolgte eine Relaparotomie mit Verifizierung des Ausbildungsgrades der Adhäsionsbildung nach im Folgenden beschriebenen Score. Die Adhäsionen wurden inklusive der verbundenen Organe entnommen und in 4% gepufferter Formalinlösung konserviert. Ebenfalls wurden die Lungen entnommen und in der Formalinlösung konserviert, um sie der histopathologischen Aufbereitung zuzuführen.

### 4.3 Adhäsionsscore

Zwei primär unabhängige Untersucher, die gegenüber der Gruppenzugehörigkeit geblindet waren, nahmen die Untersuchung der Adhäsionen vor. Die vorhandenen Adhäsionen wurden nach einem Adhäsionsscore, angelehnt an die Bewertungssysteme von Zühlke und Moreno, bewertet (82, 83). Bei diesem System werden Anzahl, Festigkeit und Vaskularisation der Adhäsionen in einem Punkte-System bewertet:

Parameter	Vergebene Punkte
Lösung ohne Dissektion möglich	1
Lösung mittels stumpfer Dissektion	2
Lösung mittels scharfer Dissektion	3
Nicht vaskularisiert	1
Vaskularisiert	2

Tab. 1: Easyscore nach Moreno und Zühlke (82, 83)

#### 4.4 Histologische Bearbeitung der Adhäsionen

Die Adhäsionen wurden in 4 % gepufferter Formalinlösung fixiert und im Institut für Pathologie der Charité zu Berlin in Paraffin eingebettet, zugeschnitten und nach HE (Hämatoxylin–Eosin) gefärbt. In Zusammenarbeit mit Frau OÄ Dr. Sarioglu im paidopathologischen Institut der Charité wurden die Schnitte dann begutachtet.

Die Färbung von TNF $\alpha$  und VEGF der Lungenschnitte wurde im neonatologischen Forschungslabor Dresden durch Frau Dr. Dietl vorgenommen.

##### 4.4.1 Färbungen

##### 4.4.1.2 Haematoxylin- Eosin Färbung

Zur Vorbereitung der Färbungen wurden die Schnitte über Nacht im Wärmeschrank aufbewahrt. Die Schnitte wurden manuell im Institut für Paidopathologie der Charité entparafiniert und gefärbt. Dafür wurden folgende Schritte durchlaufen.

Färbeschritt Nr.	Bad	Reagenz	Zeit (min)	Bemerkungen
1.	1	Xylol	01:00	*
2.	2	Xylol	01:00	*
3.	3	Xylol	01:00	*
4.	4	Ethanol 100 %	01:00	*
5.	5	Ethanol 100 %	01:00	*
6.	6	Ethanol 100 %	01:00	*
7.	7	Ethanol 96 %	01:00	*
8.	8	Ethanol 96 %	01:00	*
9.	9	Ethanol 80 %	01:00	*
10.	10	Ethanol 70 %	01:00	*
11.	11	Ethanol 50 %	01:00	*

12.	12	Aqua dest.	01:00	**
13.	13	Hämatoxylin Mayer	10:00	* (gebrauchsfertige Lösung)
14.	14	Leitungswasser warm	05:00	
15.	15	Eosin (alkoholisch)	00:10	*
16.	16	Leitungswasser	00:03	
17.	17	Ethanol 96 %	01:00	*
18.	18	Ethanol 100 %	01:00	*
19.	19	Ethanol 100 %	01:00	*
20.	20	Ethanol 100 %	01:00	*
21.	21	Xylol	01:00	*
22.	22	Xylol	01:00	*
23.	23	Xylol	01:00	*

Tab. 2: Arbeitsschritte der HE-Färbung per Hand (\* wöchentlich zu wechselnde Lösung, \*\* täglich zu wechselnde Lösung)

Bei der HE-Färbung handelt es sich um eine Übersichtsfärbung. Das Hämatoxylin färbt basophilen Strukturen blau; in erster Linie die DNS der Zellkerne. Eosin ist ein synthetischer saurer Farbstoff und färbt alle basischen (eosinophilen) Strukturen rot, was vor allem Zytoplasma, Kollagen, Keratin und Erythrozyten umfasst. So erscheinen Zellkerne blau, übriges Gewebe rosa .

## 4.4.2 Immunhistologische Färbung

### 4.4.2.1 Immunfluoreszenz der Lungen

Vor der Färbung wurden die Schnitte nach folgendem Protokoll entparafiniert:

Arbeitsschritt	Reagenz	Zeit	Bemerkungen
1.	Xylol	10 min	
2.	Xylol	10 min	
3.	Xylol	10 min	
4.	Ethanol 96 %	5 min	
5.	Ethanol 96 %	5 min	
6.	Ethanol 80 %	5 min	
7.	Ethanol 70 %	5 min	
8.	Ethanol 50 %	5 min	
9.	Aqua dest.	5 min	
10.	PBS (Phosphate buffered saline)	10 min	

Tab.3 : Protokoll zur Entparafinierung

Um die Zellmembran für den primären Antikörper permeabel zu machen, wurden die Schnitte anschließend mit Triton 0,2% über 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert (z.B. 2µl Triton in 1ml PBS für 10 Schnitte). Im Anschluss wurden die Schnitte mit PBS für 5 Minuten gespült.

Der primäre Antikörper wurde im Verhältnis 1:100 mit PBS verdünnt und je 100 µl pro Slide aufgebracht. Die Inkubation erfolgte über Nacht in einer feuchten Kammer bei 4°C.

Nach Auswaschung des ersten Antikörpers mittels PBS über 5 Minuten erfolgt die Inkubation mit dem entsprechenden sekundären Antikörper im Verhältnis 1:800 für 1 Stunde bei Raumtemperatur.

Um die Zellkerne sichtbar zu machen wurde Dapi (4',6-Diamidino-2-phenylindol) als Fluoreszenzfarbstoff zur Markierung der DNS (Konzentration 1: 1000) für 2 Minuten bei Raumtemperatur aufgetragen.

Abschließend wurden die Schnitte dreimalig 5 Minuten mit PBS gespült und mit Fluorescent (Firma Dako) eingedeckt.

### **Antikörper**

#### TNF $\alpha$ :

Primär: TNF $\alpha$  (N-19)

Sekundär: Alexa fluor 594 donky anti goat

#### VEGF:

Primär: VEGF (rabbit)

Sekundär: Alexa fluor 594 goat anti rabbit

### **4.4.3 Histologische Scores zur mikroskopischen Bewertung der Adhäsionen**

Für die histopathologische Bewertung wurden qualitative Scores (Ausprägungen kein, gering, mäßig, viel) für mehrere Variablen (z.B. Fremdkörpergranulome, Mesothelproliferation, Fibrose, etc.) benutzt. Die Scores sind angelehnt an die Arbeitsgruppe um G. C. Zografos (84).

Zografos Bewertungssystem bewertete Entzündungszellen im Allgemeinen. Wie sich allerdings schon in der von Degenhardt et al. (12) durchgeführten vorangegangenen Studie herausstellte, schien es für die Zwecke dieser Studie sinnvoller, die unterschiedlichen Entzündungszellen differenziert zu bewerten. Der Grad der Mesothelproliferation wurde zusätzlich in die Bewertung mit aufgenommen. Die für den Score verwendeten Präparate waren alle mit HE-Färbung gefärbt. Die Präparate wurden von zwei unabhängigen und der Gruppenzugehörigkeit geblindeten Untersuchern bewertet.

Fremdkörpergranulome:	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = viele
-----------------------	--

Fremdkörperriesenzellen:	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = viele
--------------------------	--

Mastzellen	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = viele
------------	--

Lymphozyten	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = viele
-------------	--

Makrophagen	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = viele
-------------	--

Gefäßneubildung	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = stark
-----------------	--

Mesothelproliferation	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = stark
-----------------------	--

Fibrose	0 = kein 1 = gering 2 = mäßig 3 = stark
---------	--

Tab. 4: Histologische Scores

Die histologischen Scores wurden mittels PASW Statistics® ausgewertet. Dazu wurden für die oben genannten Variablen Kreuztabellen angelegt und der Chi-Quadrat-Test zum Vergleich unabhängiger Testgruppen verwandt. Der Chi-Quadrat-Test ist ein Signifikanztest für Fälle, in denen Beobachtungsmerkmale Klassen zugeordnet und als Häufigkeiten behandelt werden können. Dabei wird der Unterschied zwischen den beobachteten und erwarteten Häufigkeiten (Residuen) festgestellt und geprüft, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein solcher Unterschied rein zufällig zustande kommt.

Aufgrund der Stichprobengröße (n= 11) wurde zudem die exakte Signifikanz nach Fisher mit zweiseitigem p berechnet. Zum vorgegebenen Signifikanzniveau wird man die Nullhypothese verwerfen oder beibehalten. Die Residuen sind in den Zellen N (0; 1) – verteilt. Ein signifikantes Ergebnis ergibt sich bei  $p = 0,05$ .

Durch eine zweiseitige Berechnung ist  $p = 0,025$  je Seite. Damit ergeben sich kritische Werte zu  $+ / - 1,98$ . Liegt ein Wert der korrigierten Residuen außerhalb des Intervalls von  $- 1,98$  bis  $1,98$  so liegt in dieser Zelle Signifikanz vor, d.h. eine Abweichung von der Gruppengleichheit.

## 5. Ergebnisse

An dieser Stelle werden die Ergebnisse der Untersuchung dargelegt. Zunächst werden die makroskopischen Funde kurz vorgestellt, dann wird auf die Mikroskopie mit der immunhistochemischen Auswertung eingegangen.

## 5.1 Makroskopische Ergebnisse

### 5.1.1 Makroskopische Ergebnisse des Abdomens

Von den 55 operierten Tieren ist jeweils ein Tier aus der Gruppe 2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage postoperatives Überleben) und aus der Gruppe 6 (NaCl, 21 Tage postoperatives Überleben) am 1. postoperativen Tag aus unbekannter Ursache verstorben. Zwei Tiere der Gruppe 5 (5mlFC-77/kgKG, 21 Tage postoperatives Überleben) sind direkt intraoperativ aufgrund Narkosemittelüberdosierung verstorben. Die übrigen Tiere zeigten einen unauffälligen postoperativen Verlauf und vertrugen die applizierte Medikation gut.

Entsprechend der Gruppeneinteilung wurden die Tiere sieben, vierzehn oder einundzwanzig Tage nach der Laparotomie mittels CO<sub>2</sub> Inhalation getötet, danach relaparotomiert und auf Verwachsungen untersucht.

Dabei fanden sich Adhäsionen folgender Lokalisation in absteigender Häufigkeit:

- Gastro-hepatisch (24)
- Coeco-ileal (22)
- Coeco-coecal (16)
- Coeco-colisch (9)
- Gastro-splenisch (7)
- Coeco-genital (6)
- Genito-ilial (6)
- Gastro-duodenal (5)
- Ileo-ileal (4)
- Ileo-peritoneal (Parietales Blatt) (4)
- Coeco-peritoneal (Parietales Blatt) (3)
- Gastro – genital (3)
- Omento - splenisch (3)
- Gastro-omental (2)
- Genito - peritoneal (2)
- Hepato – peritoneal (2)
- Coeco-omental (1)



- Genito-splenisch (1)
- Hepato-diaphragmal (1)
- Hepato-ileal (1)
- Ileo-colisch (1)

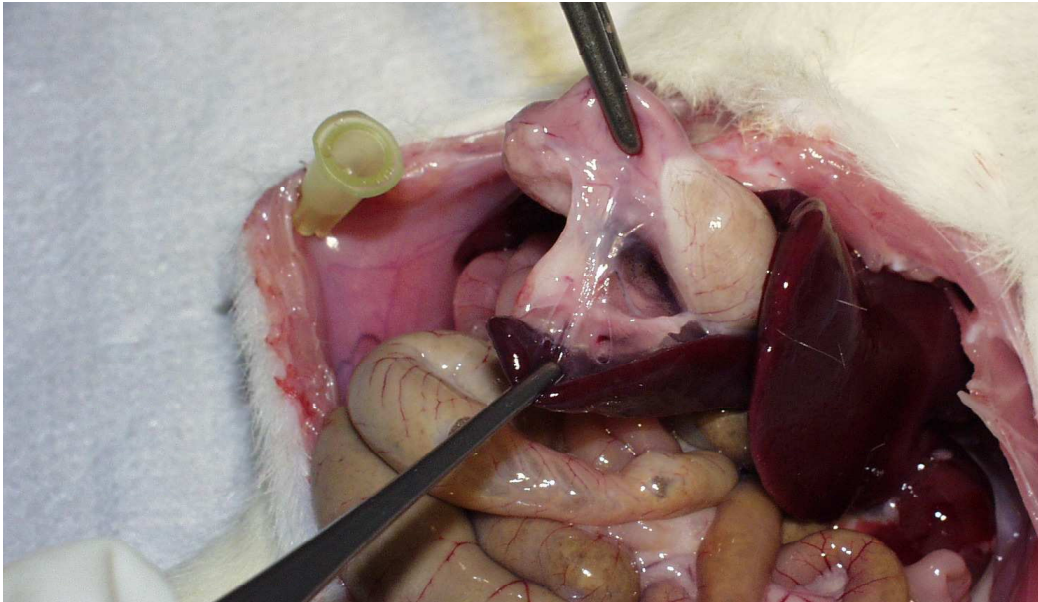


Abb. 3: flächige Gastro-jejunale Verwachsung

Die Adhäsionen fanden sich in verschiedenartiger Ausprägung: zarte spinnengewebsartige, nicht- vaskularisierte Verwachsungen konnten ebenso beobachtet werden wie bis zu ca. 5mm starke bindegewebige vaskularisierte Stränge. Auch wurden flächenhafte Verwachsungen zwischen Organen gefunden.

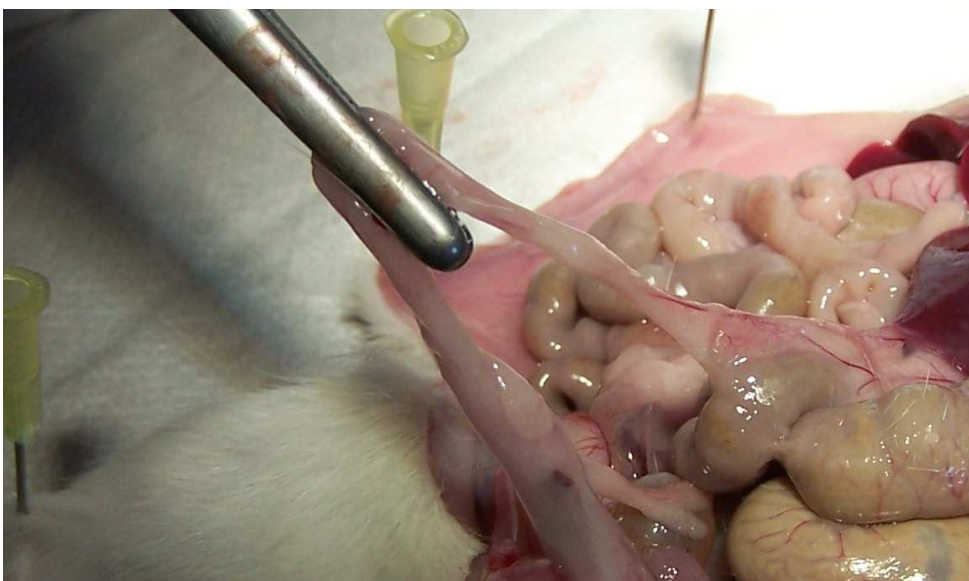


Abb. 4: stark ausgeprägter, vaskularisierter Adhäsionsstrang

Der oben aufgestellten Auflistung ist zu entnehmen, dass sich der Großteil der Adhäsionen zwischen den unterschiedlichen abdomino-pelvinen Organen befand; ein geringer Teil der Adhäsionen spannte sich auch zwischen Darm und dem viszeralem bzw. parietalem Blatt der Peritoneums oder dem Omentum majus auf.

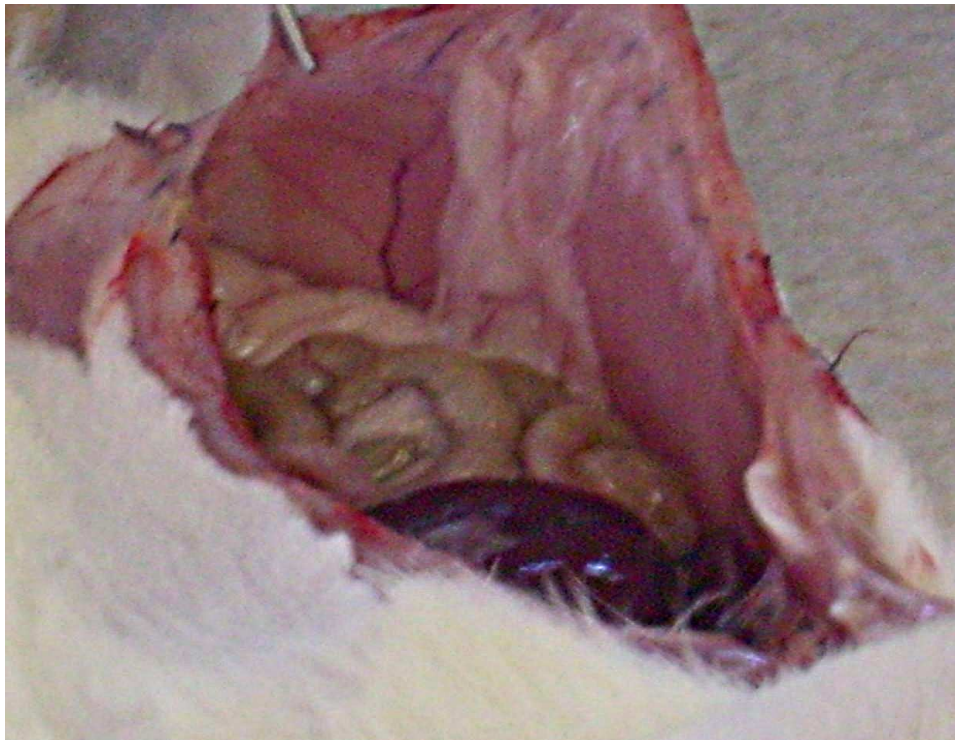


Abb. 5: breiter Adhäsionsstrang zwischen Darmabschnitten und vorderer Bauchwand; die Laparotomienarbe ist mitbeteiligt.

Die Funde der Versuchsreihe von Pelzer et al. konnten in diesen Versuchsreihen bestätigt werden: sämtlich Tiere der FC-77 Gruppen wiesen weißliche, nicht abwischbare Beläge auf den Organkapseln und dem Peritoneum auf (85).

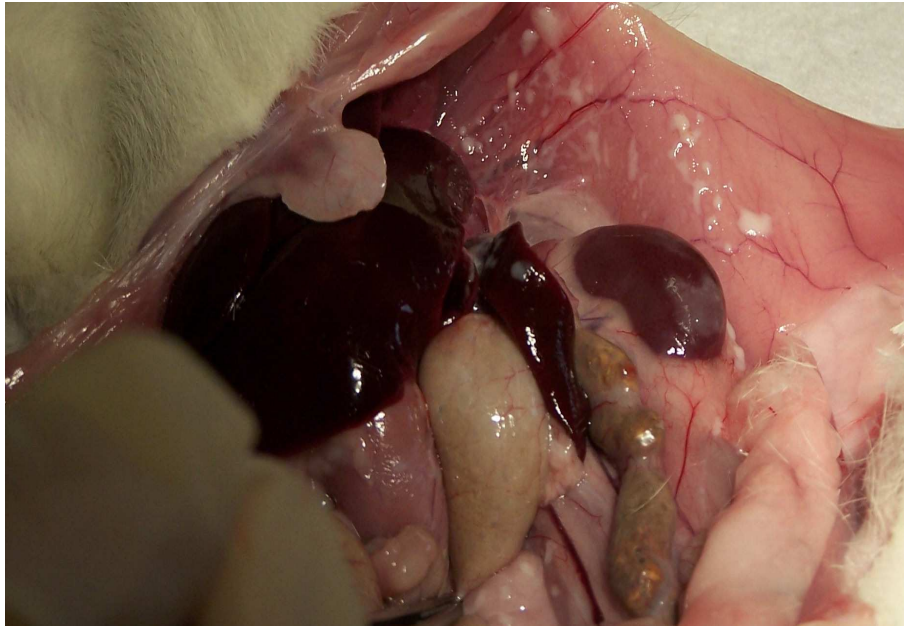


Abb. 6: weißliche Beläge auf Darm, Leber, Milz und parietalem Peritoneum der FC-77 - Gruppe

Dabei variierte die Ausprägung der Beläge von Tier zu Tier, eine Abhängigkeit zur applizierten Menge des FC-77 und der Ausprägung der Beläge lies sich makroskopisch nicht feststellen. Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen keine derartigen Beläge auf.

### 5.1.2 Bewertung der abdominalen Adhäsionen anhand des Easyscores

Die Adhäsionen wurden makroskopisch anhand eines Easyscores nach Moreno und Zühlke bewertet (82, 83). Pelzer et al. nutze in seiner Studie bereits den Easyscore zur makroskopischen Beurteilung der Versuchstiere, so dass ein einheitliches Bewertungsschema und somit eine Vergleichbarkeit der Daten erreicht wird (85).

Hierbei ergaben sich folgende Ergebnisse:

Ränge			
	Gruppe	N	Mittlerer Rang
Easyscore	1 (10ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ)	11	10,41
	2 (10 ml FC-77/ kgKG, 14 Tage poÜ)	10	16,35
	3 (5 ml FC-77/ kgKG, 7 Tage poÜ)	11	28,82
	4 (5 ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ)	9	30,83
	5 (10 ml NaCl/ kgKG, 21 Tage poÜ)	10	45,35
	Gesamt	51	

Tab. 5: Kruskal- Wallis Test zum Easyscore

Statistik für Test <sup>a,b</sup>	
	Easyscore
Chi-Quadrat	34,811
df	4
Asymptotische Signifikanz	,000

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: Gruppe

## Explorative Datenanalyse

Verarbeitete Fälle

Gruppe		Fälle					
		Gültig		Fehlend		Gesamt	
		N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
Easyscore	10ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ	11	100,0%	0	,0%	11	100,0%
	10 ml FC-77/ kgKG, 14 Tage poÜ	10	100,0%	0	,0%	10	100,0%
	5 ml FC-77/ kgKG, 7 Tage poÜ	11	100,0%	0	,0%	11	100,0%
	5 ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ	9	81,8%	2	18,2%	11	100,0%
	10 ml NaCl/ kgKG, 21 Tage poÜ	10	90,9%	1	9,1%	11	100,0%

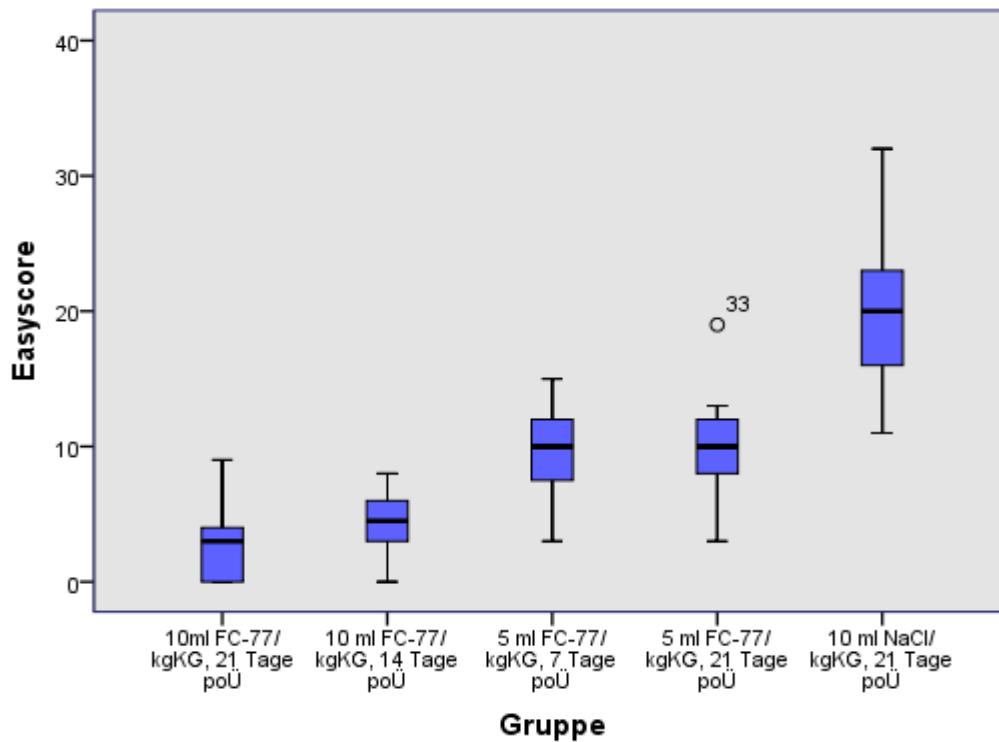


Abb. 7: Box-plot zum Easyscore

Mit  $p = 0.000$  liegt eine Signifikanz vor, die anhand der Zahlenwerte aber auch anhand der graphischen Darstellung des Box-plots abgelesen werden kann. Gruppe 1 (10ml FC-77/kgKG, 21 poÜ) zeigte einen mittleren Rang von 10.41; im Vergleich dazu wiesen

die Gruppen 4 (5ml FC-77/kgKG, 21 poÜ) und 5 (10ml NaCl/kgKG, 21 poÜ) mittlere Rangwerte von 30.83 und 45.35 auf.

Im Vergleich der Gruppen mit gleicher Applikationsmenge über einen unterschiedlichen Beobachtungszeitraum mittels Mann-Whitney-U Test ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Gruppen 1 und 2 und Gruppen 3 und 4. Es ergaben sich jedoch signifikante Unterschiede bei der Betrachtung von unterschiedlicher Applikationsmenge bei gleichem Beobachtungszeitraum :

Ränge			
Gruppe	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Easyscore <b>Gruppe 1</b> (10 ml FC-77/ kgKG, 21 poÜ)	11	7,14	78,50
<b>Gruppe 3</b> (5 ml FC-77/ kgKG, 7 poÜ)	11	15,86	174,50
Gesamt	22		

Ränge			
Gruppe	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Easyscore <b>Gruppe 1</b> (10 ml FC-77/ kgKG, 21 poÜ)	11	6,68	73,50
<b>Gruppe 4</b> (5ml FC-77/kgKG, 21 poÜ)	9	15,17	136,50
Gesamt	20		

Ränge			
Gruppe	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Easyscore <b>Gruppe 1</b> (10 ml FC-77/ kgKG, 21 poÜ)	11	6,00	66,00
<b>Gruppe 5</b> (10 ml NaCl/kgKG, 21 poÜ)	10	16,50	165,00
Gesamt	21		

Tab. 6: Rangverteilung der Gruppen nach Mann-Whitney-U Test

Mit asymptotischen Signifikanzwerten von 0.000 bis 0.001 zeigt sich ein signifikanter Unterschied im Easyscore bei unterschiedlicher Applikationsmenge und gleichem Beobachtungszeitraum. Die Gruppen 1 und 2 mit der höchsten applizierten Menge an FC-77 (10ml/kgKG) zeigten signifikant geringere Easyscore- Werte als die Vergleichsgruppen mit nur 5ml/kgKG appliziertem FC-77 oder 10ml/kgKG appliziertem NaCl. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Unterschiede applikationsmengenbedingt jedoch nicht zeitlich bedingt herausgestellt werden können. Auf diese Beobachtungen wird im Folgenden näher eingegangen.

### **5.1.3 Weißliche Beläge in der FC-77-Gruppe**

Auch in dieser Versuchsreihe fanden sich die von Pelzer et al. bereits 2006 beschriebenen Funde grau weißlicher, filmartiger Beläge auf den intraabdominellen Organen bei den Tieren der FC-77 Gruppen (85). Mikroskopisch bestehen die Beläge aus vakuolisierten Makrophagen, von Mesothel überzogen, die auf dem Peritoneum oder den Organkapseln aufliegen. Die vakuolisierten Zellen sind z.T. eingebettet in kollagene Fasern, Gefäße, Mastzellen, Granulozyten und Lymphozyten. Die Annahme, dass in den vakuolisierten Makrophagen das FC-77 aufgenommen worden sein muss, findet sich in dieser Arbeit weiter verstärkt, da sich die oben beschriebenen Funde wiederum nur in den FC-77 Gruppen, dort jedoch ausnahmslos bei sämtlichen Tieren, fanden. In der vorangegangenen Forschungsreihe von 2006 wurden vakuolisierte Makrophagen in mesokolischen Lymphknoten gefunden, so dass in der aktuellen Versuchsreihe immunhistochemische Untersuchungen mit TNF $\alpha$  und VEGF- Antikörpern durchgeführt wurden, um eine Fortleitung der lokalen Entzündungsreaktion aus dem Operationsgebiet in die Lunge festzustellen. Diese Fortleitung ließe sich anhand der Eliminationseigenschaften des FC-77 über die Lunge erklären.

## **5.2 Mikroskopische Ergebnisse**

### **5.2.1. Mikroskopische Ergebnisse des Abdomens**

Mikroskopisch bestehen die Verwachsungen aus kollagenen Fasern mit Fibroblasten und einsprossenden Kapillaren, besiedelt von Lymphozyten, Mastzellen, und einigen eosinophilen Granulozyten. Oberflächlich fanden sich Mesothelproliferationen unterschiedlicher Ausprägung. In einigen Präparaten waren Fremdkörpergranulome aus Fremdkörpern mit umgebenen Riesenzellen und Lymphozyten zu finden.

Zudem zeigten Tiere sämtlicher Gruppen flächige peritoneale Fibrosen und Adhäsionsstränge unterschiedlich starker Ausprägung. Peritoneale Fibrosen waren in den Gruppen 1 (10ml FC-77, 21 poÜ) und 2 (10ml FC-77, 14 poÜ) am geringsten ausgeprägt, in der Gruppe 5 (10ml NaCl, 21 poÜ) am stärksten ausgeprägt.

Die Adhäsionsstränge zeichneten sich durch stark unterschiedliche Ausprägung aus. Während sich einige Tiere in Gruppe 1 und 2 gänzlich adhäsionsfrei zeigten, wiesen Tiere in den restlichen Gruppen teilweise bis zu 7 unterschiedliche Verwachsungssträn-

ge auf. Auch variierte die Ausprägung der Adhäsionen erheblich. So fanden sich zarte spinnengewebartige Adhäsionsbänder ebenso wie plattenförmige Adhäsionsstränge die ganze Organe miteinander verbunden haben. Dementsprechend variabel zeigte sich die Einsprossung der Blutgefäße; es fanden sich neueingesprossene Kapillaren unterschiedlichen Durchmessers.

Des Weiteren kam es in allen Gruppen zu Mesothelproliferation, mit signifikanten Unterschieden (asymptotische Signifikanz 0.003) zwischen den Gruppen 1, 4 und 5, wobei die Mesothelproliferation in Gruppe 1 am geringsten und in Gruppe 5 am deutlichsten ausgeprägt war.

Ränge			
	Gruppe	N	Mittlerer Rang
Mesothelproliferation	1 (10ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ)	11	17,82
	2 (10 ml FC-77/ kgKG, 14 Tage poÜ)	10	20,20
	3 (5 ml FC-77/ kgKG, 7 Tage poÜ)	11	23,91
	4 (5 ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ)	9	30,89
	5 (10 ml NaCl/ kgKG, 21 Tage poÜ)	10	38,70
	Gesamt		51

Tab. 7: Kruskal Wallis Test zur Mesothelproliferation

In den Punkten Gefäßneubildung, Makrophagen und Fibroseausprägung waren ebenfalls signifikante Unterschiede zu verzeichnen. In den Ausprägungen der Lymphozyten, Mastzellen und Fremdkörpergranulomen waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

## 5.2.2 Histologische Bewertung der Adhäsionen anhand des Histoscores

Gruppe \* Fibrose Kreuztabelle

			Fibrose				Gesamt
			kein	wenig	mäßig	kein	
Gruppe 1 (10ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		5	1	4	1	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,0	4,3	2,4	11,0
	Korrigierte Residuen		3,9	-1,5	-,2	-1,1	
Gruppe 2 (10 ml FC-77/ kgKG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		1	7	1	1	10
	Erwartete Anzahl		1,2	2,7	3,9	2,2	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	3,4	-2,1	-1,0	
Gruppe 3 (5 ml FC-77/ kgKG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	2	8	1	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,0	4,3	2,4	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,4	-,8	2,6	-1,1	
Gruppe 4 (5 ml FC-77/ kgKG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	4	2	3	9
	Erwartete Anzahl		1,1	2,5	3,5	1,9	9,0
	Korrigierte Residuen		-1,2	1,3	-1,2	,9	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kgKG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	0	5	5	10
	Erwartete Anzahl		1,2	2,7	3,9	2,2	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,3	-2,2	,8	2,4	
Gesamt	Anzahl		6	14	20	11	51
	Erwartete Anzahl		6,0	14,0	20,0	11,0	51,0

Tab. 8: Chi Quadrat nach Pearson = 0.000

Bei  $p=0.000$  (exakte Signifikanz:0.000) liegen höchst signifikante Werte vor. Betrachtet man die korrigierten Residuen der einzelnen Felder der Gruppen, so erkennt man, dass diese Signifikanz in den Feldern der Gruppe 1 (10ml FC-77, 21 poÜ) und der Gruppe 5 (10ml NaCl, 21 po) begründet liegt. In Gruppen 1 liegt mit 5 mal „keine Fibrose“ eine deutlich höhere Anzahl an Ausprägungen vor als erwartet wurde (1.3). Die korrigierten Residuen in dieser Zelle liegen mit 3.9 deutlich über 1.98 und sind somit signifikant.

In Gruppe 2 liegt die Anzahl der mit „wenig“ gewerteten Ausprägungen von Fibrose ebenfalls deutlich über der erwarteten Anzahl (erwartete Anzahl: 2.7; tatsächliche Anzahl: 7; korrigierte Residuen: 3.4), wohingegen mit korrigierten Residuen von  $-2.1$  in der Ausprägung „mäßig“ die erwarteten Zahlen von 3.9 nicht erreicht wurden (1 mal „mäßig“).

In Gruppe 3 zeigt die Ausprägung „mäßig“ einen signifikanten Wert von 2.6 an (erwartete Anzahl: 4.2; tatsächliche Anzahl: 8). In Gruppe 5 übersteigt die Anzahl der tatsächli-



chen Funde in der Ausprägung „viel“ die Erwartungen (2.2 erwartete, 5 tatsächliche Funde), während in der Ausprägung „wenig“ die erwartete Anzahl die tatsächliche Anzahl deutlich übertrifft (erwartete Anzahl 2.7; tatsächliche Anzahl: 0), so dass die korrigierten Residuen hier Werte von  $-2.2$  und  $2.4$  erreichen und somit signifikant sind.

Gruppe 4 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ) zeigte sich unauffällig.

An den oben genannten Ergebnissen lässt sich ablesen, dass die Tiere der Gruppe 1 deutlich weniger Fibrose ausgebildet hatten als die Tiere der Gruppe 5.

Gruppe \* Gefäßneubildung Kreuztabelle

			Gefäßneubildung				Gesamt
			kein	wenig	mäßig	viel	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		5	3	2	1	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,7	3,7	2,4	11,0
	Korrigierte Residuen		3,9	-,5	-1,2	-1,1	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		1	5	2	2	10
	Erwartete Anzahl		1,2	3,3	3,3	2,2	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	1,2	-1,0	-,1	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	6	5	0	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,7	3,7	2,4	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,4	1,7	1,0	-2,0	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	3	4	2	9
	Erwartete Anzahl		1,1	3,0	3,0	1,9	9,0
	Korrigierte Residuen		-1,2	,0	,8	,1	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	0	4	6	10
	Erwartete Anzahl		1,2	3,3	3,3	2,2	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,3	-2,5	,5	3,3	
Gesamt	Anzahl		6	17	17	11	51
	Erwartete Anzahl		6,0	17,0	17,0	11,0	51,0

Tab. 9: Chi Quadrat nach Pearson

Der Chi Quadrat Test nach Pearson ist mit  $p= 0.002$  höchst signifikant. In Gruppe 1 zeigt sich die tatsächliche Anzahl in der Spalte „kein“ mit 5 deutlich über der erwarteten Anzahl von 1.3. Daraus ergeben sich korrigierte Residuen von 3.9; dieser Wert liegt deutlich über 1.98, somit sind diese signifikant. In Gruppe 3 hingegen wurden weniger Tiere mit der Merkmalsausprägung „viel“ beobachtet als erwartet (kein tatsächlicher Fund; 2.4 erwartete Funde; korrigierte Residuen: -2,0). Diese Zelle ist ebenfalls signifikant.

In Gruppe 5 ergeben sich signifikante Werte der korrigierten Residuen von -2.5 dadurch, dass die erwartete Anzahl von 3.3 und durch die tatsächlich beobachteten Anzahl von 0 in der Merkmalsausprägung „wenig“ bei weitem nicht erreicht wurde. In der Merkmalsausprägung „viel“ zeigten in Gruppe 5 signifikant mehr Tiere als erwartet (6 tatsächliche Funde bei 2.2 erwarteten (korrigierte Residuen: 3.3).

Gruppen 2 und 4 zeigen sich unauffällig.

Es ist abzulesen, dass die Gefäßneubildung insgesamt in Gruppe 5 am stärksten ausgeprägt ist, in Gruppen 1 und 2 am geringsten.

Gruppe \* Lymphozyten Kreuztabelle

			Lymphozyten				Gesamt
			keine	wenige	mäßig	viele	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		5	1	4	1	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,9	4,7	1,1	11,0
	Korrigierte Residuen		3,9	-2,1	-,5	-,1	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		1	5	4	0	10
	Erwartete Anzahl		1,2	3,5	4,3	1,0	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	1,1	-,2	-1,2	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	3	8	0	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,9	4,7	1,1	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,4	-,6	2,2	-1,2	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	4	3	2	9
	Erwartete Anzahl		1,1	3,2	3,9	,9	9,0
	Korrigierte Residuen		-1,2	,6	-,7	1,4	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	5	3	2	10
	Erwartete Anzahl		1,2	3,5	4,3	1,0	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,3	1,1	-,9	1,2	
Gesamt	Anzahl		6	18	22	5	51
	Erwartete Anzahl		6,0	18,0	22,0	5,0	51,0

Tab. 10: Chi Quadrat nach Pearson: 0,013

Mit  $p = 0.013$  liegen signifikante Werte vor. Es kann festgehalten werden, dass diese Signifikanz hauptsächlich in den Zellen der ersten Gruppe begründet liegen. In der Ausprägung „keine Lymphozyten“ liegt die tatsächliche Anzahl mit 5 weit über der erwarteten Anzahl von 1.3 (korrigierte Residuen 3.9), wohingegen die Ausprägung „wenige“ mit einem korrigierten Residuum von  $-2.1$  (1 mal „wenige“ bei erwarteten 3.9) weit hinter den Erwartungen zurückbleibt. Weiter findet sich in Gruppe 3 in der Merkmalsausprägung „mäßig“ mit korrigierten Residuen von 2.2 (8 Funde bei erwarteten 4.7) ein signifikanter Wert. Insgesamt kann festgestellt werden, dass sich Gruppe 1 in Bezug auf Lymphozytenproliferation von den anderen Gruppen unterscheidet, die anderen Gruppen unterscheiden sich jedoch nicht maßgeblich untereinander.

Gruppe \* Mastzellen Kreuztabelle

			Mastzellen				Gesamt
			keine	wenige	mäßig	viele	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		5	2	4	0	11
	Erwartete Anzahl		1,3	6,0	3,5	,2	11,0
	Korrigierte Residuen		3,9	-2,8	,4	-,5	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		1	6	3	0	10
	Erwartete Anzahl		1,2	5,5	3,1	,2	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	,4	-,1	-,5	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	10	1	0	11
	Erwartete Anzahl		1,3	6,0	3,5	,2	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,4	2,7	-1,8	-,5	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	4	4	1	9
	Erwartete Anzahl		1,1	4,9	2,8	,2	9,0
	Korrigierte Residuen		-1,2	-,7	,9	2,2	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	6	4	0	10
	Erwartete Anzahl		1,2	5,5	3,1	,2	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,3	,4	,7	-,5	
Gesamt	Anzahl		6	28	16	1	51
	Erwartete Anzahl		6,0	28,0	16,0	1,0	51,0

Tab. 11: Chi Quadrat nach Pearson: 0.008

Mit  $p = 0.008$  liegt statistische Signifikanz vor. In Gruppe 1 finden sich in der Ausprägung „keine“ und „wenige“ korrigierte Residuen von 3.9 bzw.  $-2.7$ , was dadurch zustande kommt, dass bei der Merkmalsausprägung „keine“ die erwartete Anzahl von 1.3 weit unter der tatsächlichen Anzahl von 5 zurückliegt. Genau gegenläufig verhalten sich die Funde in der Merkmalsausprägung „wenige“: bei erwarteten 6 Funden treten nur 2 tatsächliche Funde ein. In Gruppe 3 findet sich in der Ausprägung „wenig“ ein korrigiertes Residuum von 2.7 (tatsächliche Anzahl: 10, erwartete Anzahl: 6); in Gruppe 4 ergibt sich in der Ausprägung „viele“ ein korrigiertes Residuum von 2.2 (tatsächliche Anzahl: 1, erwartete Anzahl 0.2). Gruppen 2 und 5 zeigen sich unauffällig. Insgesamt ist zu beobachten, dass im Punkt Mastzellen Gruppe 4 die stärkste Ausprägung zeigt.

Gruppe \* Makrophagen Kreuztabelle

			Makrophagen				Gesamt
			keine	wenige	mäßig	viele	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		5	1	1	4	11
	Erwartete Anzahl		1,3	4,3	2,8	2,6	11,0
	Korrigierte Residuen		3,9	-2,3	-1,4	1,1	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		1	4	2	3	10
	Erwartete Anzahl		1,2	3,9	2,5	2,4	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	,1	-,4	,5	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	2	8	1	11
	Erwartete Anzahl		1,3	4,3	2,8	2,6	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,4	-1,6	4,1	-1,3	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	4	1	4	9
	Erwartete Anzahl		1,1	3,5	2,3	2,1	9,0
	Korrigierte Residuen		-1,2	,4	-1,1	1,6	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	9	1	0	10
	Erwartete Anzahl		1,2	3,9	2,5	2,4	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,3	3,7	-1,3	-2,0	
Gesamt	Anzahl		6	20	13	12	51
	Erwartete Anzahl		6,0	20,0	13,0	12,0	51,0

Tab. 12: Chi Quadrat nach Pearson: 0.000

Mit  $p= 0.000$  ergibt sich ein signifikanter Wert in Bezug auf Makrophagenverteilung. So zeigt Gruppe 1 korrigierte Residuen von 3.9 in der Ausprägung „keine“ (5 mal „keine“, erwartete Anzahl 1.3) und korrigierte Residuen von -2.3 in der Ausprägung „wenig“ (1 mal „wenig“, erwartete Anzahl 4.3).

In Gruppe 3 übertrifft die tatsächliche Anzahl von 8 die erwartete Anzahl von 2.8 in der Ausprägung „mäßig“ deutlich und ergeben so signifikante korrigierte Residuen von 4.1. In Gruppe 5 weichen die Ausprägungen „wenig“ und „viel“ signifikant von den Erwartungen ab. So wurden in der Ausprägung „wenig“ deutlich geringere Werte erwartet als tatsächlich eintrafen (erwartete Anzahl 3.9; beobachtete Anzahl 9; korrigierte Residuen: 3.7), in der Ausprägung „viel“ verhielt es sich gegenläufig, so dass höhere Werte erwartet wurden als letztendlich beobachtet wurden (erwartete Anzahl 2.4; beobachtete Anzahl 0; korrigierte Residuen: -2.0). Gruppen 2 und 4 zeigen sich unauffällig.

Es kann festgehalten werden, dass in Gruppe 5 deutlich weniger Makrophagen beobachtet wurden als in den FC-77 Gruppen.

Gruppe \* Mesothelproliferation Kreuztabelle

			Mesothelproliferation				Gesamt
			keine	wenig	mäßig	viel	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		5	2	3	1	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,0	3,2	3,5	11,0
	Korrigierte Residuen		3,9	-,8	-,2	-,1,8	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		1	5	2	2	10
	Erwartete Anzahl		1,2	2,7	2,9	3,1	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	1,8	-,7	-,9	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	5	3	3	11
	Erwartete Anzahl		1,3	3,0	3,2	3,5	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,4	1,5	-,2	-,3	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	2	4	3	9
	Erwartete Anzahl		1,1	2,5	2,6	2,8	9,0
	Korrigierte Residuen		-1,2	-,4	1,1	,1	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		0	0	3	7	10
	Erwartete Anzahl		1,2	2,7	2,9	3,1	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,3	-2,2	,0	2,9	
Gesamt	Anzahl		6	14	15	16	51
	Erwartete Anzahl		6,0	14,0	15,0	16,0	51,0

Tab. 13: Chi Quadrat nach Pearson = 0.005

Mit  $p = 0.005$  wurde ein signifikanter Wert bei Betrachtung der Mesothelproliferation erreicht. Diese Signifikanz liegt in Gruppen 1 und 5 jeweils in den Ausprägungen „kein“ bzw. „wenig“ und „viel“ begründet. Gruppe 1 zeigt korrigierte Residuen von 3.9 (1.3 erwartete, 5 tatsächliche Funde) in der Ausprägung „kein“. Gruppe 5 weist korrigierte Residuen von  $-2.2$  in der Ausprägung „wenig“ (kein aufgetretener Fall bei 2.7 erwarteten Fällen) und korrigierte Residuen von 2.9 bei der Ausprägung „viel“ (3.1 erwartete Fälle, 7 tatsächliche Funde) auf.

Die Mesothelproliferation ist somit in Gruppe 5 deutlich stärker ausgeprägt als in allen anderen Gruppen, insbesondere stärker als in Gruppe 1; Gruppe 3 nimmt eine Mittelposition ein.

**Gruppe \* Fremdkörperriesenzellen Kreuztabelle**

			Fremdkörperriesenzellen			Gesamt
			keine	wenige	mäßig	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		7	2	2	11
	Erwartete Anzahl		2,6	5,2	3,2	11,0
	Korrigierte Residuen		3,5	-2,2	-,9	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		2	6	2	10
	Erwartete Anzahl		2,4	4,7	2,9	10,0
	Korrigierte Residuen		-,3	,9	-,7	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		0	8	3	11
	Erwartete Anzahl		2,6	5,2	3,2	11,0
	Korrigierte Residuen		-2,1	1,9	-,2	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		2	4	3	9
	Erwartete Anzahl		2,1	4,2	2,6	9,0
	Korrigierte Residuen		-,1	-,2	,3	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		1	4	5	10
	Erwartete Anzahl		2,4	4,7	2,9	10,0
	Korrigierte Residuen		-1,1	-,5	1,6	
Gesamt	Anzahl		12	24	15	51
	Erwartete Anzahl		12,0	24,0	15,0	51,0

Tab. 14: Chi Quadrat nach Pearson: 0.028

Mit  $p = 0.028$  zeigt sich ein signifikanter Wert für die Ausbildung der Fremdkörperriesenzellen. Insbesondere die korrigierten Residuen von 3.5 und  $-2.2$  der Gruppe 1 (7 mal keine Fremdkörperriesenzellen und 2 mal wenig Fremdkörperriesenzellen) ergeben in Bezug zu den anderen Gruppen und zu den erwarteten Werten signifikante Unterschiede.

In Gruppe 3 zeigt das korrigierte Residuum von  $-2.1$  die Diskrepanz zwischen erwarteter Anzahl und tatsächlicher Anzahl (0 mal keine Fremdkörperriesenzelle bei erwarteten 2.6) in der Ausprägung „kein“ auf; in der Ausprägung „wenig“ dieser Gruppe wird ein korrigiertes Residuum von 1.9 angegeben (8 mal „wenig“ bei erwarteten 5.2).

Der geringe Fund von Fremdkörperriesenzellen in Gruppe 1 wird gegenüber sämtlichen anderen Gruppen gestellt.

**Gruppe \* Fremdkörpergranulom Kreuztabelle**

			Fremdkörpergranulom			Gesamt
			keine	wenige	mäßig	
Gruppe 1 (10 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		9	2	0	11
	Erwartete Anzahl		5,8	4,5	,6	11,0
	Korrigierte Residuen		2,2	-1,7	-,9	
Gruppe 2 (10 ml PFC/ kg KG, 14 Tage poÜ)	Anzahl		5	5	0	10
	Erwartete Anzahl		5,3	4,1	,6	10,0
	Korrigierte Residuen		-,2	,6	-,9	
Gruppe 3 (5 ml PFC/ kg KG, 7 Tage poÜ)	Anzahl		3	7	1	11
	Erwartete Anzahl		5,8	4,5	,6	11,0
	Korrigierte Residuen		-1,9	1,7	,5	
Gruppe 4 (5 ml PFC/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		6	3	0	9
	Erwartete Anzahl		4,8	3,7	,5	9,0
	Korrigierte Residuen		,9	-,5	-,8	
Gruppe 5 (10 ml NaCl/ kg KG, 21 Tage poÜ)	Anzahl		4	4	2	10
	Erwartete Anzahl		5,3	4,1	,6	10,0
	Korrigierte Residuen		-,9	-,1	2,1	
Gesamt	Anzahl		27	21	3	51
	Erwartete Anzahl		27,0	21,0	3,0	51,0

Tab. 15: Chi Quadrat nach Pearson: 0.143

Mit  $p = 0.143$  ist in Bezug auf Fremdkörpergranulome kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen. Dennoch ist zu bemerken, dass in Gruppe 1 in der Merkmalsausprägung „keine“ Fremdkörpergranulome ein signifikanter Wert mit korrigierten Residuen von 2.2 erreicht wird (erwartete Anzahl: 5.8; tatsächliche Funde: 9). Auch in Gruppe 3 lässt sich ein signifikanter Wert durch das korrigierte Residuum von  $-1.9$  ablesen; hier bleibt die Ausprägung von Fremdkörpergranulomen mit 3 hinter den Erwartungen von 5.8 zurück.

### 5.3 Ergebnisse der Untersuchung der Lungen

Bei Entnahme der Lungen waren keine Auffälligkeiten zu beobachten. Die Lungen waren makroskopisch unauffällig, von hellroter Farbe, elastischer Konsistenz, mit glatter Oberfläche. Es gab bei keinem der Tiere makroskopisch einen Anhalt für eine Infektion, Blutung oder ein embolisches Ereignis der Lunge, daher wird gleich auf die mikroskopische Beurteilung der Lungen eingegangen.



### 5.3.1 Mikroskopische Ergebnisse der Lungen

Ebenso wie makroskopisch ergab sich mikroskopisch in der HE-Färbung der Lungen kein Anhalt für ein embolisches Ereignis, Infektion oder Blutung der Lungen. Die Lungen stellten sich mikroskopisch homogen dar, es gab keinen augenscheinlich unterversorgten bzw. nekrotischen Bereich.

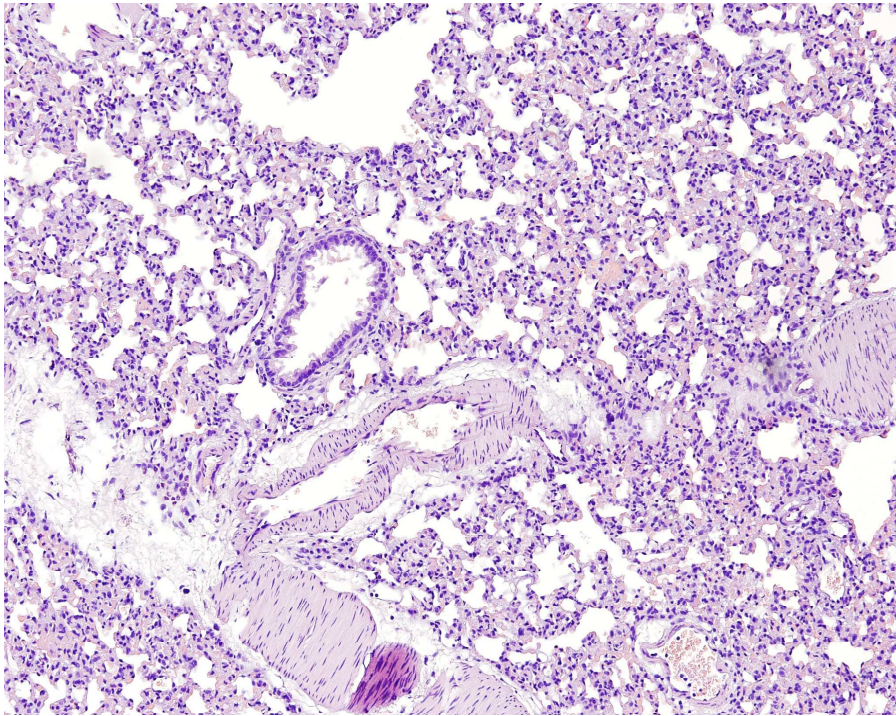


Abb. 8: HE- Färbung Lungengewebe, 10-fache Vergrößerung

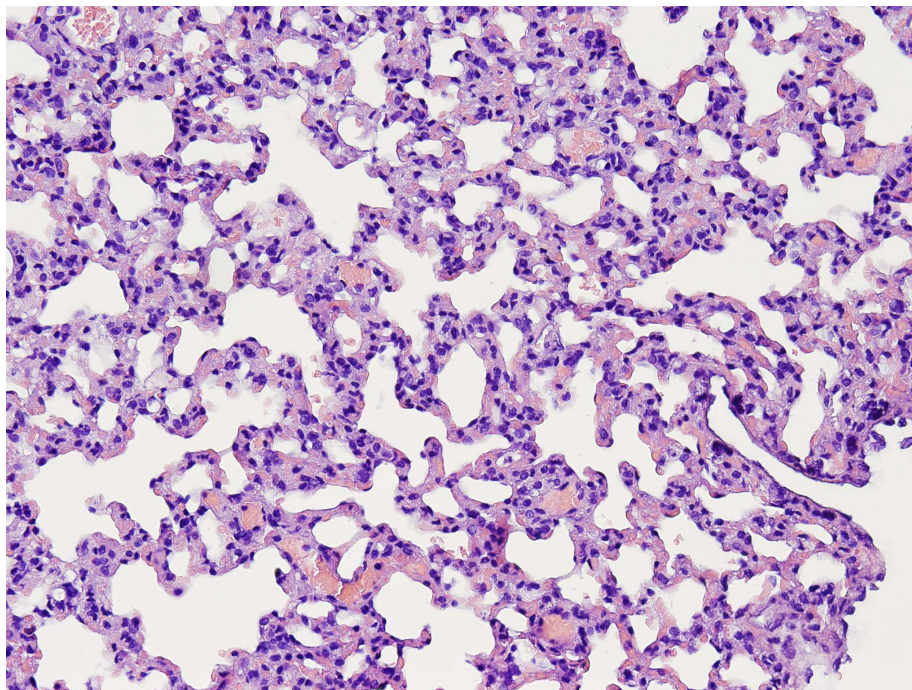


Abb. 9: HE-Färbung Lungengewebe, 20-fache Vergrößerung

Aufgrund des Versuchsaufbaus in Bezug auf die Entnahmemethode der Lunge kann nicht sicher über atelektatische Bereiche der Lungen befunden werden: die Lungen wurden in diesem Versuchsaufbau nicht von Innen heraus parafiniert, was ein Kollabieren der Lungen verhindert hätte und somit eine deutlichere Unterscheidung zwischen atelektatischen Bereichen und nicht-atelektatischen Bereichen erlaubt hätte. Somit kann nur eine grobe mikroskopische Beurteilung vorgenommen werden.

### 5.3.2 Immunhistochemie

Alle immunhistochemisch gefärbten Schnitte wurden von einem unabhängigen Beobachter beurteilt. Mit einem Fluoreszenzmikroskop (Eclipse 80i, Nikon) wurden zunächst Bilder erstellt, die dann mithilfe des newCast Programms (Visiopharm Integrator System, Version 2.16.1.0) ausgewertet werden konnten.

So wurden pro Präparat 5% der Gesamtfläche abfotografiert und zusätzlich ein DAPI-Bild (4',6-Diamidin-2-phenylindol) derselben Stelle aufgenommen, um in einer weiteren Nachbearbeitung die Bilder übereinander zu legen.

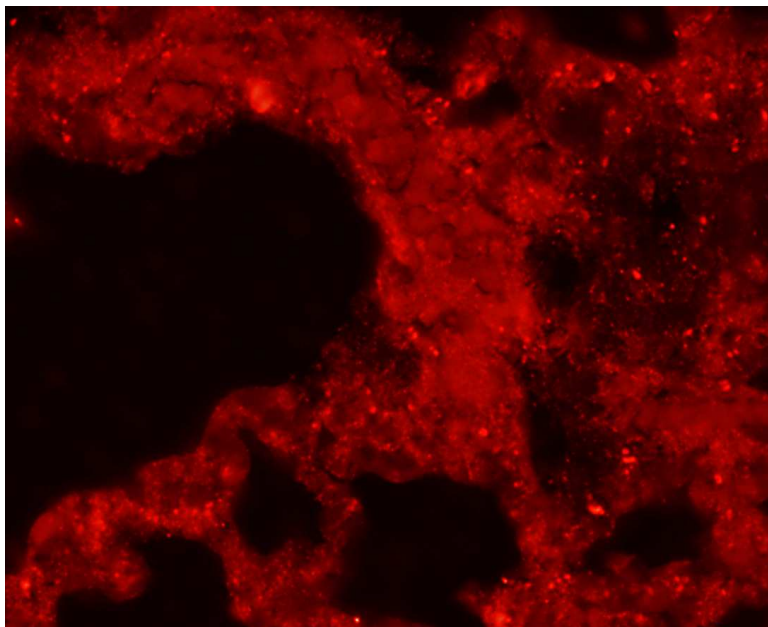


Abb. 9: TNF $\alpha$  – Antikörper- Bild

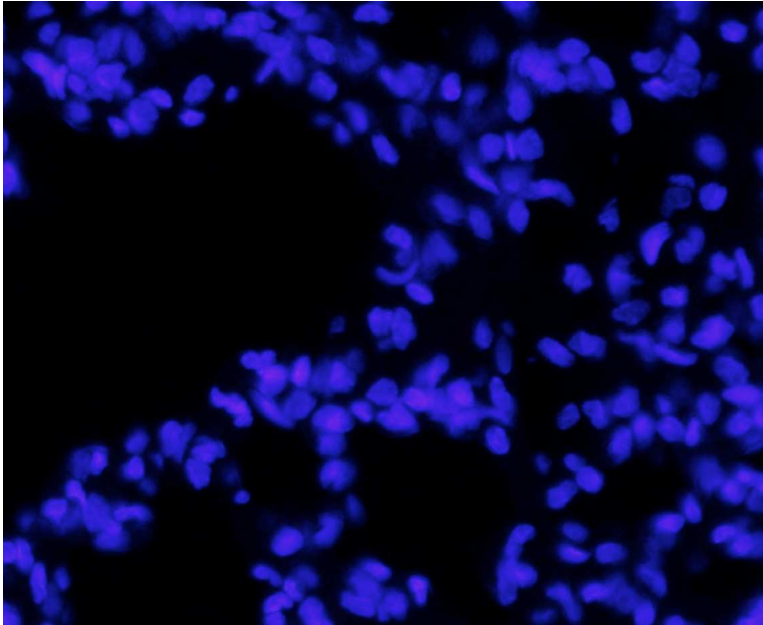


Abb. 10 :DAPI- Bild

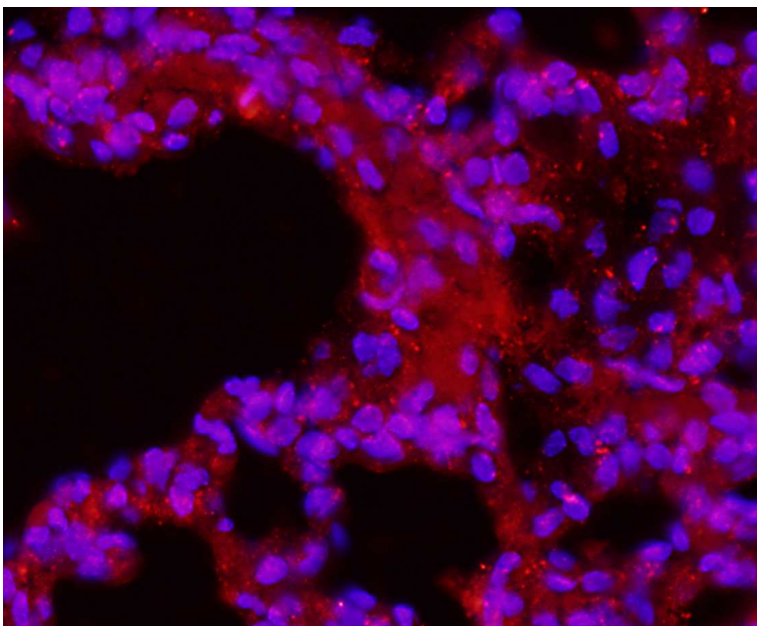


Abb.11: zur Auswertung übereinandergelegte Bilder (TNF $\alpha$ /DAPI)

Bei 4',6-Diamidin-2-phenylindol handelt es sich um einen Fluoreszenzfarbstoff, der bevorzugt zur Markierung von DNA und RNA benutzt wird. Bei Beleuchtung mit ultraviolettem Licht fluoresziert DAPI im sichtbaren Bereich im blauen Farbspektrum. In Verbindung mit doppelsträngiger DNA liegt das Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 358 nm, das Emissionsmaximum bei 461 nm; bei RNA liegt das Emissionsmaximum bei 500nm. Die Emissionsmaxima von DNA- und RNA-gebundenem DAPI un-

terscheiden sich damit genügend, um sie mit Hilfe von optischen Filtern und Farbteilern trennen zu können. DAPI wurde hier eingesetzt, um Zellkerne anzufärben (86, 87).

Die Auszählung der Zellen erfolgte durch die Anwendung von vier Zählfenstern (4x4cm), die randomisiert über die abfotografierten Bilder gelegt wurden.

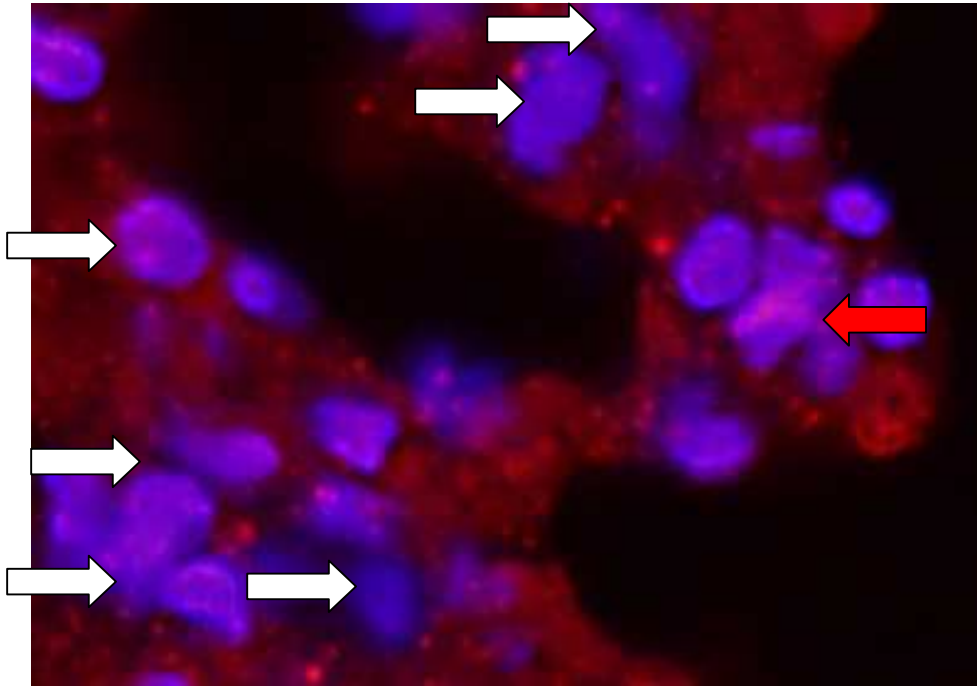


Abb.12: TNF $\alpha$ -positive Zellen (roter Pfeil) inmitten negativer Zellen (weiße Pfeile)

Als positiv wurde eine Zelle gewertet, wenn mehr als die Hälfte der Zelle von spezifischen Granula eindeutig umsäumt wurde.

Positive und negative Zellen wurden pro Zählfenster ausgezählt.

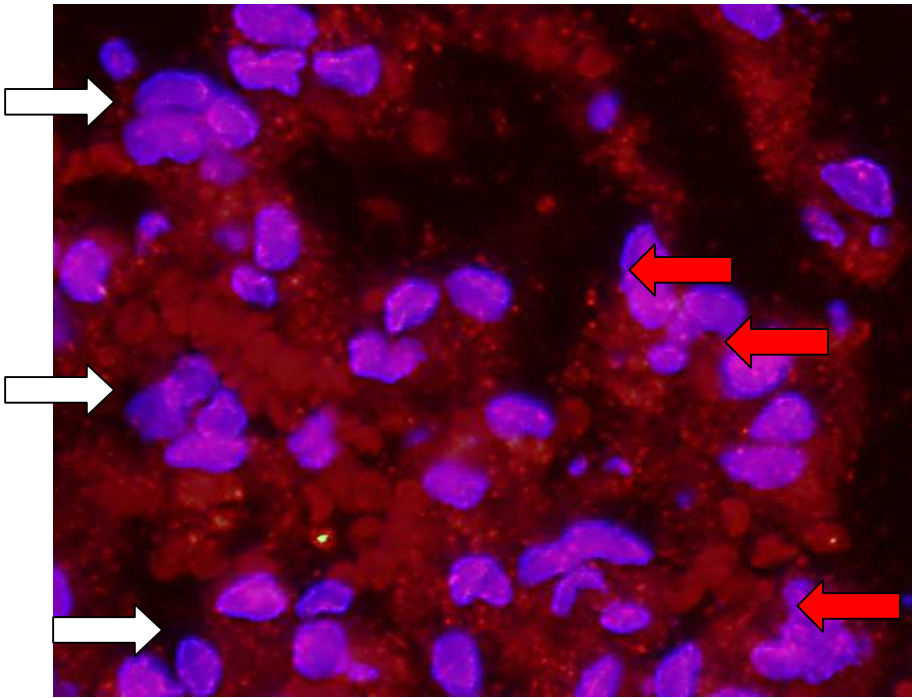


Abb.13: VEGF-positive Zellen (rote Pfeile) und negative Zellen (weiße Pfeile)

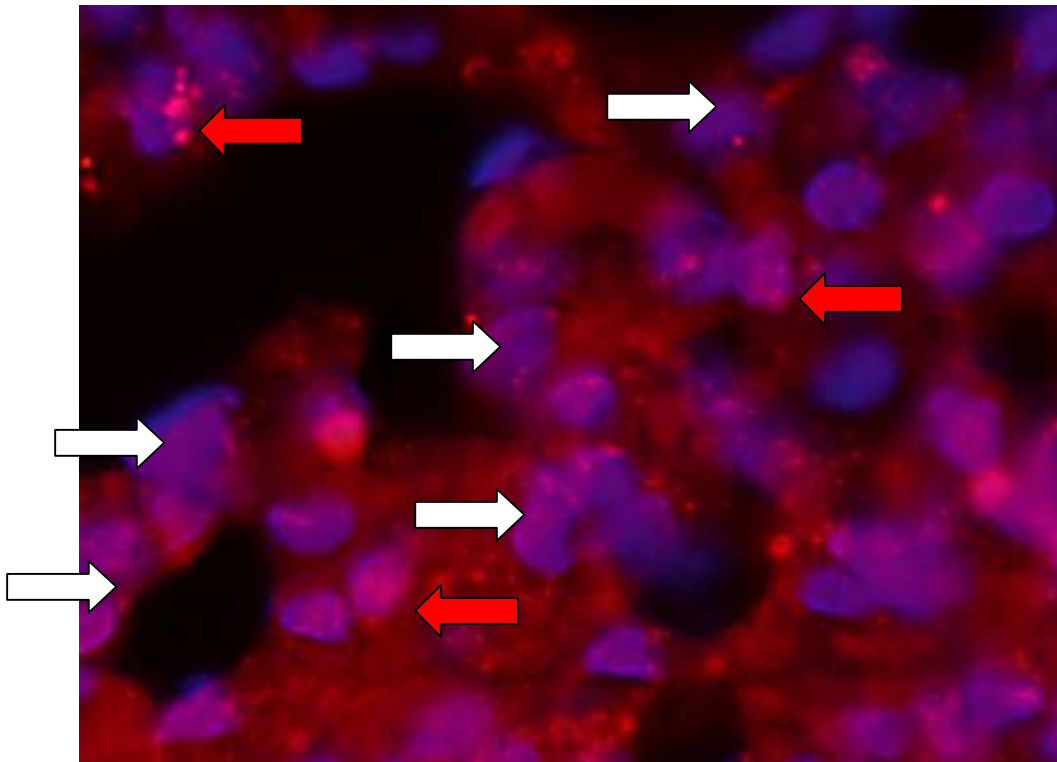


Abb.14: VEGF-positive Zellen (rote Pfeile) und negative Zellen (weiße Pfeile)

### 5.3.2.1 Bewertung der Färbung mit Tumornekrosefaktor- alpha (TNF $\alpha$ )

TNF $\alpha$  (Tumornekrosefaktor Alpha) ist ein pleiotropes Zytokin das von aktivierten Makrophagen und Lymphozyten exprimiert wird und eine zentrale Rolle in der Induktion und Aufrechterhaltung lokaler und systemischer Entzündungsreaktionen, Zellproliferation und –differenzierung, Nekrose und Apoptose einnimmt. Durch Aktivierung verschiedener Rezeptoren und somit Induktion unterschiedlicher Mediatoren kommt es z.B. durch Caspasen vermittelten zur Apoptose, eine andere Kaskade löst durch NF- $\kappa$ B vermittelt ein Zellüberleben und löst somit einen proinflammatorischen Reiz aus (88).

Nach der oben genannten Methode wurden die Schnitte einzeln bearbeitet und ausgewertet. Zunächst wurden die Daten mit dem Test nach Kolmogoroff-Smirnoff auf Normalverteilung geprüft. Mit  $p= 0.962$  liegt keine signifikante Abweichung von der Normalverteilung vor, so dass nun der T-Test angewandt werden kann, um die Gruppen untereinander zu vergleichen und Unterschiede aufzudecken.

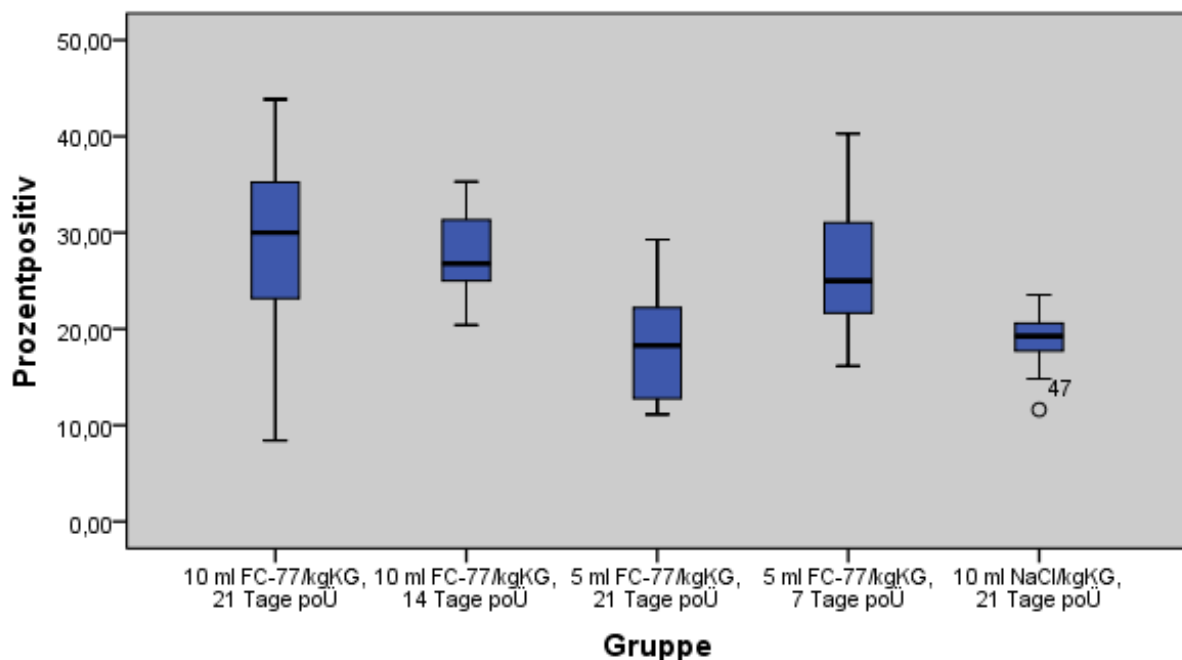


Abb. 15: Box-plot zur Auswertung TNF $\alpha$ -positiver Zellen

Was schon dem graphischen Boxplot zu entnehmen ist, bestätigt die statistische Analyse durch den T-Test : Zwischen Gruppen 1, 2 und 4 lässt sich kein statistischer Unter-

schied feststellen, während zu Gruppen 3 und 5 durchaus ein statistisch relevanter Unterschied zu messen ist.

Den Berechnungen durch den T-Test (siehe Anhang, Kapitel 8.2.1, Seite 69 - 73) kann man entnehmen, dass zwischen Gruppen 1 und 3 mit  $p=0.012$  wie auch zwischen Gruppen 1 und 5 ( $p=0.008$ ) ein signifikanter Unterschied in der prozentualen Verteilung der positiven und negativen Zellen der TNF $\alpha$ - Färbung gibt.

Weiter zeigt sich mit  $p=0.001$  ein höchst signifikanter Unterschied im Vergleich der Gruppen 2 mit 3 wie auch 2 mit 5 ( $p=0.000$ ). Im Vergleich der Gruppe 4 mit 3 und mit Gruppe 5 zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede ( $p=0.017$  bzw.  $p=0.008$ ). Die pulmonalen Zellen der Gruppen 3 und 5 zeigen prozentual an der Gesamtzahl der ausgezählten Zellen die am geringsten ausgeprägte Expression von TNF $\alpha$ . Im Vergleich dazu ist der prozentuale Anteil an TNF $\alpha$ - positiven Zellen in Gruppen 1 und 2 am stärksten ausgeprägt.

Gruppe 4 nimmt hier eine Mittelstellung ein, da sie nur mittelstarke Ausprägungen an TNF $\alpha$ - positiven Zellen zeigt.

### **5.3.2.2 Bewertung der Färbung der Lungen mit Vascular endothelial growth factor (VEGF)**

VEGF (vascular endothelial growth factor) ist ein dimeres Glykoprotein, das durch seine mitogene Wirkung auf endotheliale Zellen deren Wachstum und somit Neovaskularisation von Geweben fördert (89).

Im Falle eines embolischen Ereignisses in der Lunge werden über verschiedene Mediatoren fünf große pathophysiologische Prozesse angestoßen: Zellschämie und –hypoxie, Reperfusion mit nachfolgender Aktivierung von Proteasen, Lipasen, Phospholipasen und Freisetzung von freien Radikalen, die alle eine erhöhte Zellmembranpermeabilität bedingen und den Zelltod zur Folge haben, Phagozytenstimulation durch Spaltprodukte des Komplementsystems und anderen proinflammatorischen Faktoren, Aktivierung der endothelialen Zellen mit erhöhter Oberflächenexpression von Adhäsionsmolekülen und Erhöhung der Leukozyten- Endothel- Interaktion (90).

Dieser Ablauf führt zu einer lokalen Entzündungsreaktion mit anschließender Vernarbung und Funktionsverlust des unterversorgten Gewebes. Bisher ist nicht vollständig geklärt, welche Rolle VEGF in der Regulation der vaskulären Permeabilität und der

Verhinderung der epithelialen Apoptose zukommt. In Studien ist belegt worden, dass die Unterdrückung von VEGF in der Lunge zu Apoptose und Ausbildung eines Lungenemphysems führt (91-93).

In dieser Versuchsreihe wurde VEGF als Marker für stattgefundenene Neoangiogenese und Alveolarisation als Folge eines embolisch-hypoxischen Schadens genutzt.

Die gesammelten Daten wurden mit dem Test nach Kolmogoroff-Smirnoff auf Normalverteilung geprüft. Mit  $p=0.982$  liegt ein deutlich nicht signifikanter p-Wert vor; die Werte sind hinreichend normalverteilt, so dass nun der T-Test angewandt werden kann um die Gruppen untereinander zu vergleichen.

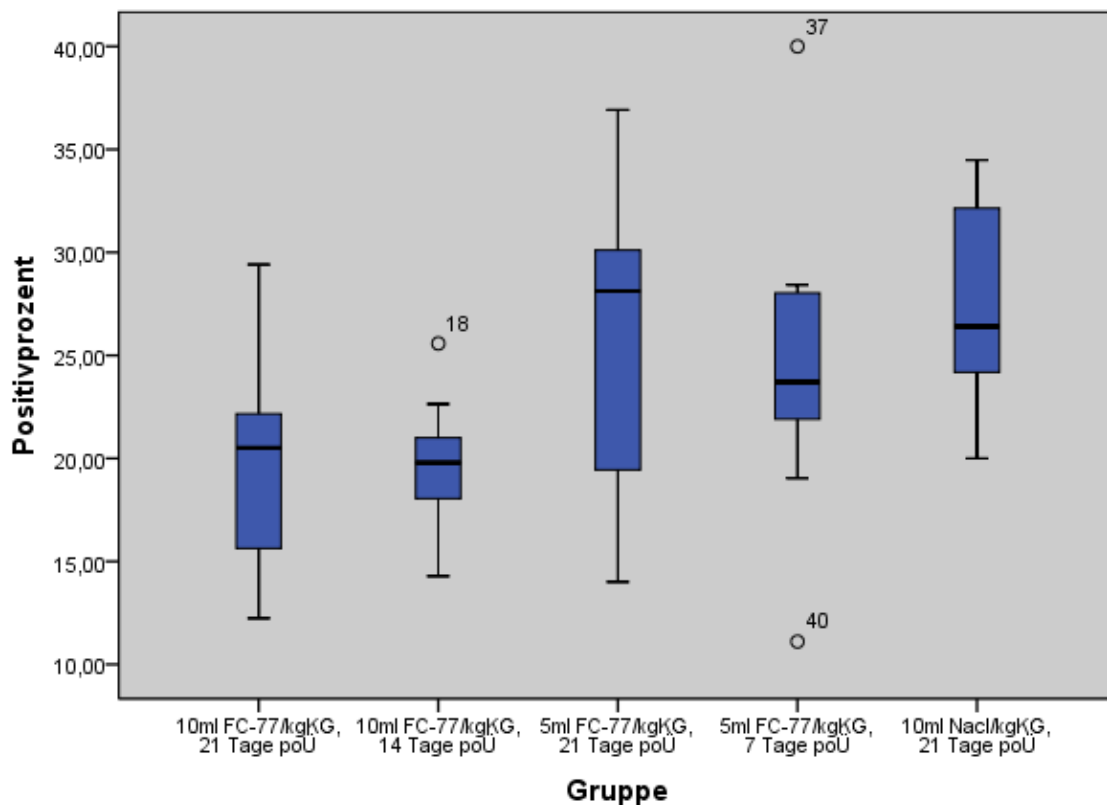


Abb. 16: Box-plot zur Auswertung VEGF-positiver Zellen

Dem Boxplot ist eine deutliche Unterscheidung der Gruppen anzunehmen, die durch den T-Test verifiziert werden kann. Den Berechnungen durch den T-Test (siehe Anhang, Kapitel 8.2.2, Seite 74 - 78) kann man entnehmen, dass zwischen Gruppen 1 und 3 mit  $p=0.030$  wie auch zwischen Gruppen 1 und 5 ( $p=0.001$ ) ein signifikanter Unter-



schied in der prozentualen Verteilung der positiven und negativen Zellen der VEGF-Färbung besteht.

Weitere signifikante Unterschiede zeigten die Vergleiche zwischen Gruppen 2 und 3 ( $p=0.023$ ). Der signifikant größte Unterschied jedoch ließ sich zwischen Gruppen 2 und 5 mit einem  $p= 0.000$  beobachten. Im Vergleich der Gruppe 3 mit 4 und 3 mit 5 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ( $p= 0.704$  bzw.  $0.458$ ).

Ebenso wiesen die Gruppen 1 und 2 ( $p= 0.981$ ) wie auch Gruppen 4 und 5 ( $0.276$ ) keine signifikanten Unterschiede in der Expression der VEGF-positiven Zellen auf.

Insgesamt wiesen Gruppen 1 und 2 gemessen an der Gesamtzahl der ausgezählten Zellen prozentual die geringste Anzahl an VEGF-positiven Zellen. Im Vergleich dazu ist der prozentuale Anteil an VEGF-positiven Zellen in Gruppen 4 und 5 am stärksten ausgeprägt; in Gruppe 5 noch stärker als in Gruppe 4. Gruppe 3 nimmt hier eine Mittelstellung ein.

## **6. Diskussion**

Nach chirurgischer Eröffnung der Bauchdecke kommt es in nahezu 100% der Fälle im postoperativen Verlauf zur Ausbildung von Adhäsionen (1, 2, 14, 15, 18, 19, 31, 94, 95). Die Ausbildung der Adhäsionen lässt sich pathophysiologisch anhand der besonderen Heilungsmechanismen des Peritoneums und einer bei Verletzung entstehenden Disbalance von Fibrinogenese und Fibrinolyse erklären (19, 21, 46-48, 96-98), wobei das Ausmaß der Adhäsionsbildung maßgeblich von den eingangs beschriebenen Faktoren wie lokaler Ischämie, Inflammationsreaktion aufgrund von Blutresten oder Fremdkörperpartikeln, mechanischer und thermischer Reizung, Austrocknung und allergischer Reaktion abhängt (15, 22, 23, 34, 50-56, 99).

Bisher verwendete Maßnahmen zur Adhäsionsprophylaxe können die Ausbildung der Adhäsionen zwar nicht vollständig unterbinden, sie jedoch teilweise reduzieren (50, 58-72).

Degenhardt et al. konnte in ihrer Forschungsreihe keine signifikant adhäsionsprophylaktische Wirkung des FC-77 belegen, beobachtete aber tendenziell bessere Ergebnisse in der FC-77 Gruppe im Vergleich zu den anderen Gruppen (Adept und Kontrollgruppe)

(12). In der hier vorgestellten Forschungsreihe konnte jedoch ein signifikant adhäsionsmindernder Effekt gezeigt werden. So konnte nach dem makroskopischen Easyscore nach Zühlke und Moreno (82, 83) eine **signifikante Reduktion der Adhäsionen aller FC-77-Gruppen im Vergleich zu der NaCl- Gruppe festgestellt werden (siehe Kap. 5.1.2, Seiten 33-35)**.

Des Weiteren wurde beobachtet, dass eine höhere applizierte Dosis zu signifikant besseren Ergebnissen führte als eine niedrigere Dosis in einem vergleichbaren Zeitraum. So zeigten sich einige Tiere der Gruppen 1 und 2 ( 10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ und 14 Tage poÜ) gänzlich adhäsionsfrei, was sich in den niedrigeren Easyscore- Werten widerspiegelt (Mittelwerte des Easyscores Gruppe 1: 11.32; Gruppe 4: 31.83; Gruppe 5: 46.35). Zur Ermittlung des Mittelwertes wurden die Easyscorewerte aller Tiere einer Gruppe addiert und durch die Tieranzahl geteilt.

Die besten Ergebnisse erzielte die Gruppe mit der höchsten applizierten Menge, die den längsten Zeitraum beobachtet wurde, gefolgt von der Gruppe mit identischer Applikationsmenge über einen kürzeren Beobachtungszeitraum. Beide Gruppen der geringeren Applikationsmenge an FC-77 erzielten fast identische Ergebnisse, so dass dort kein Vorteil durch den längeren Beobachtungszeitraum festgestellt werden konnte. Die schlechtesten Ergebnisse erzielte die NaCl- Gruppe. Der hohe Easyscore- Wert der NaCl- Gruppe kommt vor allem dadurch zustande, dass die Anzahl der Adhäsionen pro Tier besonders hoch war; die Tiere der NaCl- Gruppe wiesen im Durchschnitt 5.4 Adhäsionen auf (Anzahl der Adhäsionen variierte von 4 – 7).

Bezieht man nun die Ergebnisse der direkt vorangegangenen Forschungsreihe von Pelzer et al. (85) in die Ergebnisse dieser Forschungsreihe mit ein, so unterstreichen sie die oben getroffenen Aussagen zusätzlich: in der vorangegangenen Forschungsreihe wurde den Versuchstieren 10ml FC-77/kgKG appliziert und diese am 7. postoperativen Tag relaparotomiert. Vergleicht man nun diese Gruppe mit der Gruppe, die über den gleichen Zeitraum beobachtet wurde, jedoch nur 5ml FC-77/kgKG appliziert bekam, so kann für die 10ml FC-77/kgKG- Gruppe ein signifikant besseres Ergebnis im Sinne geringerer Adhäsionen festgestellt werden, als für die 5ml FC-77/kgKG-Gruppe.

Im Vergleich der 10ml FC-77/kgKG- Gruppen ergab sich kein klarer Vorteil in Bezug auf den Beobachtungszeitraum. Hier ergab sich die geringste Adhäsionsausprägung für den längsten Beobachtungszeitraum (21 Tage) gefolgt vom kürzesten Beobachtungs-

zeitraum (7 Tage). Der mittlere Beobachtungszeitraum nimmt eine Mittelstellung ein (14 Tage).

Zur qualitativen histologischen Beurteilung fand der Histoscore nach G.C. Zografos et al. Anwendung (84).

Nach Anwendung des Histoscores konnte die antiadhäsive Wirkung von FC-77, die makroskopisch schon gesehen wurde auch in den mikroskopischen Funden bestätigt werden.

So fand sich in der Gruppe mit der hohen FC-77-Applikationsmenge und dem längsten Beobachtungszeitraum (21 Tage) 5 mal die Ausprägung „keine“ **Fibrose**, was auf die Tiere zurückzuführen ist, die gänzlich adhäsionsfrei waren. In der Gruppe mit ebenfalls hoher FC-77-Applikationsmenge, jedoch kürzerem Beobachtungszeitraum (14 Tage) ließ sich ebenfalls ein geringer Adhäsionsgrad feststellen.

Im Gegensatz dazu präsentierte die NaCl- Gruppe 5 mal die Ausprägung „viel“ und kein mal die Ausprägungen „kein“ oder „wenig“, so dass man von einem höchst signifikanten Ergebnis sprechen kann ( $p=0.000$ ). Die Gruppen mit der höchsten FC-77-Applikationsmenge weisen dabei die geringsten Fibrosegrade auf, die Gruppe mit NaCl-Applikation den höchsten Fibrosegrad.

Die Gruppen mit reduzierter FC-77-Applikationsmenge haben zwar im Vergleich zur NaCl- Gruppe einen deutlich reduzierten Fibrosegrad, im Vergleich zur höheren FC-77-Applikationsmenge jedoch einen deutlich erhöhten Fibrosegrad.

Im Vergleich mit den Ergebnissen von Degenhardt et al. von 10ml FC-77- Applikationsmenge über einen Beobachtungszeitraum von 7 Tagen kann gesagt werden, dass die Ergebnisse in Bezug auf den Histoscore mit denen der niedrigeren Applikationsmenge des gleichen Beobachtungszeitraums (5ml FC-77, 7 Tage poÜ) fast identisch sind. Somit konnte insgesamt ein signifikant geringeres Ausmaß der Fibrose, das schon von Degenhardt et al. beschrieben wurde, bestätigt werden (12), jedoch zeigt sich kein klarer Zusammenhang zwischen Beobachtungszeitraum und Applikationsmenge.

Der Grund für die signifikant geringeren Fibrosegrade in den FC-77-Gruppen kann auf den in der Literatur beschriebenen antiinflammatorische Wirkung zurückzuführen sein (7-11, 24, 25, 100-102). Es kann weiter angenommen werden, dass die höhere Applikationsmenge sich dahingehend positiv auf den Fibrosegrad auswirkt, dass mit größe-

rer Menge an FC-77 auch eine größere Oberfläche und somit auch alle potentiell verletzten Gebiete bedeckt werden können und voneinander getrennt werden.

NaCl hingegen wird von der Mesothel- und der Submesothelschicht direkt absorbiert und verbleibt nicht in der Bauchhöhle. Somit kann NaCl nicht zur Adhäsionsprophylaxe beitragen und die Adhäsionsbildung nicht vermindern. Dieses wird bei Betrachtung der Easyscorewerte der NaCl- Gruppe deutlich, die deutlich höher ausfallen als die Werte sämtlicher mit FC-77 behandelten Tiere: Gruppe 5, in der die Tiere mit NaCl behandelt wurden, weist einen mittleren Easyscore von 40,35 auf, Gruppe 4 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ) einen von 30,83 und Gruppe 3 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ) einen mittleren Rang von 28,82. Die Gruppen 1 und 2 (10ml FC-77/kgKG, 21 und 14 Tage poÜ) zeigen weitaus bessere Easyscorewerte von 10,41 und 16,35.

Neben der signifikant geringer entwickelten Fibrose besteht ein weiterer Unterschied in der signifikant geringer ausgeprägten **Gefäßneubildung** in den FC-77 – Gruppen. Während in Gruppe 1 und 2 der überwiegende Teil der Tiere „kein“ oder „wenig“ Gefäßneubildung zeigte, wiesen die Tiere in Gruppe 5 in 4 Fällen „mäßig“ und in 6 Fällen „viel“ Gefäßneubildung auf; kein Tier jedoch zeigte die Merkmalsausprägung „kein“ oder „wenig“.

Der Histoscore für die **Lymphozyten** ergab ebenfalls signifikante Unterschiede. So waren die Lymphozyten in den 10ml FC-77- Gruppen deutlich geringer nachweisbar als in den 5ml FC-77- Gruppen oder der NaCl- Gruppe. Zwischen der 5ml FC-77-Gruppe über 21 Tage und der NaCl- Gruppe bestand kein messbarer Unterschied.

Die auf die mechanische Reizung folgende **reaktive Mesothelproliferation** war bei der NaCl-Gruppe signifikant stärker ausgeprägt als bei den FC-77- Gruppen. Innerhalb der FC-77- Gruppen jedoch verteilte sich die Mesothelproliferation homogen; es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Applikationsmengen oder Beobachtungszeiträumen.

Bei der histologischen Untersuchung der Präparate konnte kein signifikanter Unterschied in der **Fremdkörpergranulombildung** zwischen den FC-77-Gruppen und der NaCl- Gruppe festgestellt werden. Ein positiver Trend zugunsten der FC-77-Gruppen ist jedoch erkennbar, da in der NaCl- Gruppe mal „mäßig“ viele Fremdkörpergranulome

aufgetreten sind, während in den Gruppen 1, 2 und 4 keine und in Gruppe 3 nur einmalig „mäßig“ viele Fremdkörpergranulome gefunden wurden.

Im Punkt **Fremdkörperriesenzellen** zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den FC-77-Gruppen und der NaCl- Gruppe. Innerhalb der FC-77- Gruppen gleichen sich die Häufigkeiten der Fremdkörperriesenzellen, der Unterschied zu der NaCl- Gruppe jedoch ist evident.

Als mögliche Ursachen für die geringe Zahl der Fremdkörperriesenzellen in den FC – 77-Gruppe könnte die in der Literatur beschriebene nachgewiesene antiinflammatorische und antikoagulatorische Wirkung durch Suppression der neutrophilen Granulozyten und der Monozyten sein (7-9, 101, 102).

Diese Kenntnisse beziehen sich allerdings auf Studien zur „Liquid Ventilation“. Neutrophile Granulozyten sind Zellen der akuten unspezifischen Infektionsabwehr und Monozyten sind phagozytosefähige Universalzellen, die in den ersten 4 – 6 Stunden in das Entzündungsgebiet wandern und bei Erlöschen des Entzündungs-reizes bereits nach zwei Tagen nicht mehr nachzuweisen sind. Bei persistierender Entzündung werden Zytokine freigesetzt (IL-1, IL-8, IL-12, INF  $\alpha/\beta$ , TNF $\alpha$ ), die auf verschiedene Zielzellen wirken. Rodgers, DiZerega sowie Koch et al. konnten nachweisen, dass die Applikation von PFC die Zytokeratinfreisetzung aus den Granulozyten supprimieren kann (20, 24, 103, 104). Das wäre eine Erklärung für die deutlich geringere Anzahl an Fremdkörperriesenzellen in den FC – 77-Gruppe. Eine weitere Erklärung für die geringere Fremdkörpergranulombildung in der FC–77- Gruppe könnte der massive Makrophagenverbrauch durch die FC -77 Einschlüsse sein. Möglicherweise stehen dadurch nicht mehr genug Makrophagen zur Verfügung, die benötigt würden, um sich zu Epitheloidzellen, Fremdkörperriesenzellen und letztlich zu Fremdkörpergranulomen zu organisieren.

Wie schon 2009 von Degenhardt et al. beschrieben, fanden sich auch in dieser Versuchsreihe in den FC-77-Gruppen makroskopisch auffällige **weißliche Beläge auf dem Peritoneum und den serösen Organkapseln** (12), die bei mikroskopischer Untersuchung vorwiegend aus Fibrin und vakuolisierten Makrophagen bestehen.

Die Beläge aus Fibrin und vakuolisierten Makrophagen mit dazwischen liegenden kollagenen Fasern, Gefäßen, Mastzellen und einzelnen Lymphozyten führen folglich in den FC-77-Gruppen zu signifikant erhöhten **Mastzellzahlen** im Vergleich zur NaCl-Gruppe ( $p=0,000$ ). So ergeben sich in den 10ml FC-77-Gruppen 4 bzw. 3 Ausprägungen mit „viel“, wie auch in der 5ml FC-77 Gruppe über den 21 Tage-Beobachtungszeitraum. Demgegenüber zeigen sich keine Mastzellen in der NaCl-Gruppe.

In einer anderen vorangegangenen Versuchsreihe von Grund et al. (55) fand man ebenfalls die weißlichen Beläge, untersuchte diese jedoch nicht näher, da davon ausgegangen wurde, dass es sich um nach peritonealen Schäden entstehende Fibrinbeläge handelte, wie sie von Dizerega beschrieben wurden (96). Bei dem damals verwendeten Perfluorocarbon handelte es sich um PF 5080. Die histologischen Untersuchungen der Schnitte zeigte dieselben Funde wie bei Degenhardt et al. und dieser Versuchsreihe: vakuolisierte Makrophagen und Entzündungszellen.

Mit dem Nachweis von Abwehrzellen ist somit abzuleiten, dass es sich um eine Abwehrreaktion auf das Perfluorocarbon handelt, unabhängig davon welches Perfluorocarbon appliziert wurde.

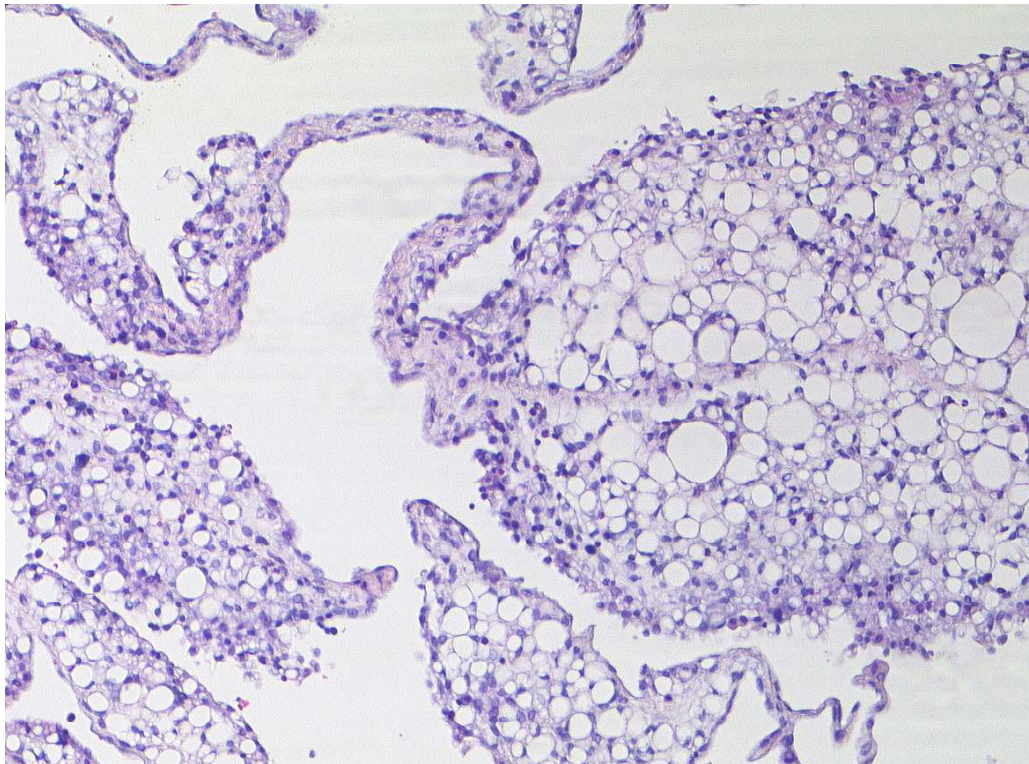


Abb. 17: vakuolisierte Makrophagen mit eingestreuten Entzündungszellen und kollagenen Fasern (HE, 20fache Vergrößerung)

Wie sich PFC nach Applikation in die Bauchhöhle verhält, war bis jetzt weitgehend unklar. Es wird angenommen, dass sich nach Applikation im Abdomen das PFC wahrscheinlich durch Kohäsion zunächst auf der Serosa anlagert. Anschließend kommt es zu einem Durchtritt von Fibrin und Makrophagen durch die Mesothelschicht und anschließend zur Phagozytose von PFC durch die Makrophagen und zur Ausbildung der beschriebenen weißen Beläge.

Histologische Funde von intralymphatischen vakuolisierten Makrophagen beweisen, dass das durch die Makrophagen aufgenommene FC-77 auf dem Lymphweg abtransportiert wird. Über den weiteren Verbleib im Körper bzw. die Elimination kann nur spekuliert werden, da die abdominellen Lymphknoten und Speicherorgane wie Leber und Milz, sowie Lunge, Nieren und Hirn bisher nicht untersucht worden sind.

Bereits 1972 wurde über vakuolisiertes PFC berichtet, als Holaday et al. nach intrapulmonaler Anwendung von PFC-Residuen in Alveolarmakrophagen berichtete (105). Auch Meany und Smith et al. berichteten von phagozytiertem PFC, das sich in Lymphknoten und extralymphatischen Geweben wie Fett und entlang Muskelfaszien wiederfand (106, 107). Diese Residuen zeigten jedoch keine pathogenen Tendenzen.

Die PFC-Residuen, die die Case-Reports von Hagerty, Servaes und Lyburn et al. beschreiben scheinen ebenfalls für den Patienten bislang kein erhöhtes gesundheitliches Risiko darzustellen (108-110). Der Case-Report von Hagerty et al. beschreibt einen radiologischen Zufallsfund von Perflubron-Residuen im Mediastinum und Abdomen einer 17-jährigen, die im Alter von 8 Jahren aufgrund eines akuten Atemnotsyndroms flüssigkeitsbeatmet wurde (108). Die Verteilung der Perflubron-Residuen fand sich entlang der Faszien, mit Speicherung in Fett und Lymphknoten des Mediastinums, retroperitoneal bis in die Leistengegend und entlang des Femoralkanals. Bei Perflubron handelt es sich um ein weiteres PFC; der Unterschied zu FC-77 besteht in den Bromatomen, die an den Stellen an dem Kohlenstoffgerüst angelagert sind, an denen bei FC-77 Fluoratome gebunden sind.

In einem weiteren Fallbericht von Servaes et al. wird von einem 13-jährigen berichtet, der bei Aufnahme zu einer Laryngoplastik auffällige thorakale Röntgenbilder mit multiplen runden Verschattungen aufwies (110). Bei dem Jungen wurde im Alter von 11 Monaten nach Rauchgasvergiftung eine Flüssigkeitsbeatmung mit Perflubron durchgeführt.

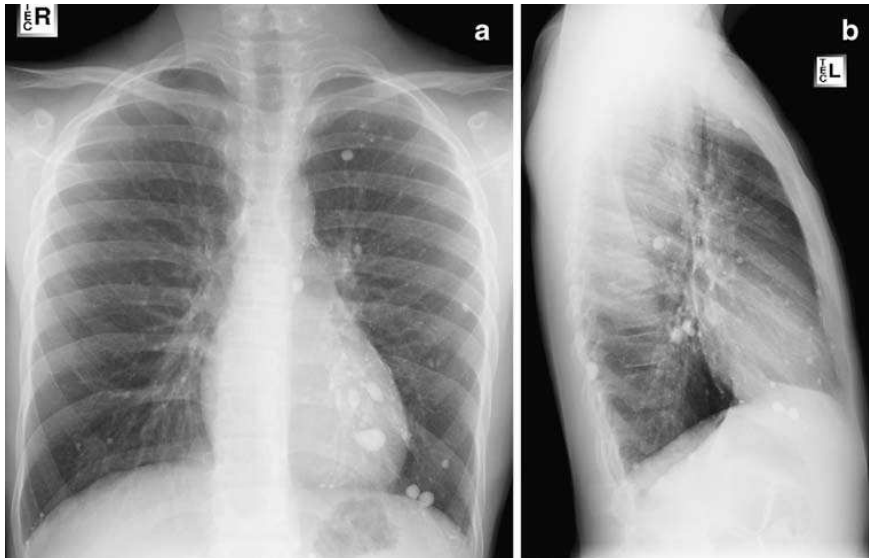


Abb. 18 : ap und laterale Thoraxröntgenaufnahme eines 13-jährigen Jungen mit multiplen runden Verschattungen, nachweislich Perflubron-Residua nach Flüssigkeitsbeatmung (nach Servaes et al. (110))

Die im Tierversuch wiederholt beobachteten Vakuolen jedoch sind bis 20µm groß, in ihrer Konfluenz sogar noch größer, so dass von einem nicht zu unterschätzenden Risiko für Embolien auszugehen ist. Um diese näher abzuklären wurde in dieser Versuchsreihe eine immunhistologische Färbung der Lungen mit VEGF durchgeführt.

In dieser Versuchsreihe wurde VEGF als Marker für stattgefundene Neoangiogenese und Alveolarisation als Folge eines embolisch-hypoxischen Schadens genutzt.

Die statistische Analyse der immunhistochemischen Funde ergab eine signifikant geringere Expression von VEGF in den Gruppen 1 und 2 (10ml FC-77 über 21 und 14 Tage) im Vergleich zur NaCl- Gruppe. Zieht man nun lediglich die 21-Tage-Beobachtungsraum-Gruppen in Betracht, so kann festgestellt werden, dass die Tiere mit der höchsten Applikationsmenge an FC-77 die geringste prozentuale VEGF-Expression aufweisen. Somit kann weiter auf eine geringere Rate an Neoangiogenese und Alveolarisation in den FC-77 Gruppen geschlossen werden. **Diese Beobachtung spricht gegen eine embologene Wirkung des FC-77.** Allerdings muss auch bedacht werden, dass das zeitliche Fenster der Up-Regulation der Expression von VEGF als Reaktion auf ein akutes hypoxisches Ereignis relativ kürzer ist und somit der optimale Messzeitpunkt für VEGF als Marker nicht miterfasst wurde. Es würde sich hier anbieten die Zeitabstände der Probenentnahmen nach Applikation des FC-77 kürzer zu gestalten um Veränderungen der VEGF- Expression beobachten zu können.

Das in den Abdominalraum applizierte FC-77 wird dort von Makrophagen aufgenommen und auf dem Lymphweg abtransportiert. Der weitere Eliminationsweg ist bisher



ungeklärt, eine Theorie jedoch ist, dass – wie nach intravenöser Applikation – FC-77 größtenteils über die Lunge abgeatmet wird. Dieser Eliminationsweg könnte jedoch auch eine Verschleppung der abdominalen Entzündungsreaktion über die Makrophagen in die Lunge bedeuten. Um dieses zu untersuchen wurde TNF $\alpha$  als Marker für eine lokale Entzündungsreaktion der Lunge gewählt.

Die Auswertung der TNF $\alpha$ -Färbung zeigte signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die Gruppen mit der höchsten FC-77-Applikationsmenge, Gruppen 1 und 2 mit je 10ml (über 21 und 14 Tage) zeigten dabei die höchste prozentuale Verteilung von TNF $\alpha$ -positiven Zellen, Gruppe 3 (5ml, 21Tage) und Gruppe 5 (10ml NaCl, 21Tage) die geringste prozentuale Verteilung.

Die Interpretation der Ergebnisse ist dahingehend schwierig, da sich **weder ein klarer dosis- noch ein zeitabhängiger Zusammenhang erkennen lässt**. TNF $\alpha$  als Akutphasezytokin wird in den zwei Gruppen des längsten Beobachtungszeitraums Gruppe 3 und Gruppe 5 (5ml FC-77/kgKG und 10ml NaCl, 21Tage poÜ) in geringster Verteilung exprimiert. Dieses Verteilungsmuster ist dennoch nicht konstant in allen Langzeitbeobachtungsgruppen zu finden; Gruppe 1 unterscheidet sich signifikant sowohl von Gruppe 3 ( $p=0,012$ ), als auch von Gruppe 5 ( $p=0,008$ ).

Auch ist kein Trend in der Höhe der Applikationsdosis zu erkennen: die NaCl-Kontrollgruppe (Gruppe 5) und die 5ml-Langzeitgruppe (Gruppe 3) erzielten annähernd gleiche Ergebnisse, wohingegen die 5ml-Kurzzeitgruppe (Gruppe 4) signifikant höhere TNF $\alpha$ -Werte zeigte als Gruppe 3 ( $p=0,021$ ). Die signifikant höhere Expression von TNF $\alpha$  in den 10ml-FC-77-Gruppen könnte für eine fortgeleitete Inflammationsreaktion in die Lunge sprechen. Dieses müsste jedoch noch eingehender untersucht werden.

Nach den Ergebnissen dieser Studie lauten:

Hypothese H01: FC-77 reduziert die durch Fremdkörper induzierten Adhäsionen in der Bauchhöhle nicht wesentlich.

Nach makroskopischem Easyscore kann eine signifikante Reduktion der Adhäsionen in den Gruppen mit FC-77- Applikation beobachtet werden.

Auch nach mikroskopisch-histologischer Bewertung kann ein signifikanter Rückgang in der Ausprägung der Adhäsionen durch die Punkte Fibrose und Gefäßproliferation befundet werden. Fremdkörpergranulome zeigten sich in den FC-77 Gruppen in geringe-

rer Anzahl und zum großen Teil nur in abortiver Ausbildung, während in der Kontrollgruppe vergleichbar höhere Anzahlen an Granulomen zu beobachten waren.

Die **Hypothese H01** kann folglich **widerlegt** werden.

Hypothese H02a: Eine Wirkung des FC-77 ist dosisabhängig nicht ablesbar.

Bei Vergleich des Easyscores in Bezug auf die applizierte Menge des FC-77 kann festgestellt werden, dass die Gruppe mit der höchsten Applikationsmenge signifikant geringere Adhäsionsbildung zeigt, als die Tiere mit geringerer Applikationsmenge und vergleichbarem Beobachtungszeitraum.

Die **Hypothese H02a** kann dahingehend **widerlegt** werden, dass sich ein dosisabhängiger Unterschied in der Wirkung des FC-77 anhand der Studienergebnisse ableiten lässt.

Hypothese H02b: Eine Wirkung des FC-77 ist zeitabhängig nicht ablesbar.

Bei Vergleich des Easyscores in Bezug auf den Beobachtungszeitraum ist kein signifikanter Unterschied ablesbar. Die Ausprägung der Adhäsionen unterscheidet sich nicht signifikant bei unterschiedlichem Beobachtungszeitraum und gleicher Applikationsmenge. Eine zeitabhängige Wirkung lässt sich nicht ermitteln.

Folglich kann die **Hypothese H02b nicht widerlegt** werden.

Hypothese H03: FC-77 induziert Embolien.

Makroskopische wie auch mikroskopische Bewertung der HE-gefärbten Lungen ergab keinen Anhalt für ein embolisches Ereignis. Auswertung der VEGF-Färbung ergab signifikant geringere Ausprägungen von VEGF-positiven Zellen in den FC-77-Gruppen; ein Anhalt für eine Embolie lässt sich somit nicht ermitteln.

Die **Hypothese H03** kann **widerlegt** werden.

## 7. Zusammenfassung

Peritoneale Adhäsionen sind eine bekannte und häufige postoperative Komplikation. Sie können zu Problematiken wie chronischen abdominellen Schmerzen, mechanischem Ileus und Infertilität führen.

Die Ausbildung der Adhäsionen liegt im besonderen Heilungsmechanismus des Peritoneums mitbegründet. Zudem wird die Adhäsionsbildung von Faktoren wie lokale Ischämie, chirurgische Traumatisierung, Entzündung, Blutung, Austrocknung von Gewebe, Hitzeschäden und Reaktionen auf Fremdmaterial wie Nahtmaterial, Talk, Abrieb von Baumwolltupfern (Lint) unterstützt, bzw. unterhalten. Anhand der proadhäsiven Faktoren sind bereits Maßnahmen zur primären Adhäsionsprophylaxe vorgenommen worden (z.B. Verwendung von ungepuderten Handschuhen).

Zur sekundären Adhäsionsprophylaxe wurden bereits viele unterschiedliche Medikamente und Materialien mit unterschiedlichen Ansatzpunkten getestet; hierbei hat sich Seprafilm®, eine Hyaluronmembran, als derzeitig wirkungsvollstes Antiadhäsivum herausgestellt.

Diese tierexperimentelle, am Rattenmodell durchgeführte, Arbeit vergleicht anhand eines makro- und mikroskopischen Scores eine mögliche Adhäsionsprophylaxe durch Perfluorcarbone – 77 (FC-77) in ihrer zeit- und dosisabhängigen Wirkung.

Aus Erfahrungen mit der Flüssigkeitsbeatmung von Früh- und Neugeborenen, aber vor allem aus tierexperimentellen Arbeiten, weiß man, dass PFC die Akkumulation von Monozyten und neutrophilen Granulozyten unterdrückt und eine antikoagulatorische Wirkung besitzt. Diese Erkenntnisse führten zur Überlegung, die Barriereigenschaften und die antiinflammatorische und antikoagulatorische Wirkung von FC – 77 auch zur Prophylaxe peritonealer Adhäsionen und Bildung von Fremdkörpergranulomen einzusetzen. Die adhäsionsreduzierenden Eigenschaften des FC-77 zeigten sich bereits in einer experimentellen Vorarbeit; hierbei fielen makroskopische Beläge auf den intraabdominellen Organen auf, die sich als vakuolisierte Makrophagen von bis zu 20 µm Größe herausstellten.

Bei bisher unklarem Eliminationsverhalten des FC-77 aus der Bauchhöhle und Annahme der normalen Elimination des Pharmakons über die Lungen, wurden die Lungen mittels immunhistochemischer Verfahren auf Expression von TNFα und VEGF als Marker für ein embolisches Ereignis oder eine fortgeleitete systemische Infektion hin untersucht.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten im Versuch mit VEGF keine erhöhte Expression von VEGF bei den Tieren mit FC-77-Applikation. Die Tiere der höchsten Applikationsdosis zeigten sogar im Vergleich die geringste Expression von VEGF, was gegen eine stattgehabte Embolie sprechen würde.

In Bezug auf die Untersuchung der TNF $\alpha$  positiven Zellen ergaben sich nicht eindeutig interpretierbare Ergebnisse; es ist weder ein klarer dosis- noch zeitabhängiger Zusammenhang zu erkennen. TNF $\alpha$  als Akutphasezytokin wird erwartungsgemäß in zwei Gruppen (Gruppe 4 und 5) des längsten Beobachtungszeitraums (21 Tage) in geringster Verteilung exprimiert, jedoch weicht die Langzeitgruppe der höchsten Applikationsmenge signifikant von diesen Ergebnissen ab. Auch ist kein Trend in der Höhe der Applikationsdosis zu erkennen: die NaCl- Kontrollgruppe und die 5ml-Langzeitgruppe erzielten annähernd gleiche Ergebnisse, wohingegen die 5ml-Kurzzeitgruppe signifikant höhere TNF $\alpha$ - Werte zeigte als die Langzeitgruppe der gleichen Applikationsmenge. Die signifikant höhere Expression von TNF $\alpha$  in den 10ml-FC-77-Gruppen könnte für eine fortgeleitete Inflammationsreaktion in die Lunge sprechen. Dieses müsste jedoch noch eingehender untersucht werden. Daher ist momentan noch von einer Anwendung abzuraten.

## **8. Anhang**

### **8.1 Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Peritoneale Heilungsprozesse nach Kamel

Abbildung 2: Gefäßklemme DIETRICH Micro Bulldog Clamp C2 der Firma Miltex

Abbildung 3: Verwachsung zwischen Gastrum und Jejunum

Abbildung 4: stark ausgeprägter Adhäsionsstrang, vaskularisiert

Abbildung 5: Verwachsung zwischen Darmabschnitten und vorderer Bauchwand

Abbildung 6: weißliche Beläge auf Darm und Leber

Abbildung 7: Box-plot zum Easyscore

Abbildung 8: HE- Färbung Lungengewebe, 10fache Vergrößerung

Abbildung 9: HE-Färbung Lungengewebe, 20fache Vergrößerung

Abbildung 10 : TNF $\alpha$  – Antikörper- Bild

Abbildung 11: DAPI- Bild

Abbildung 12: zur Auswertung übereinandergelegte Bilder (TNF $\alpha$ /DAPI)

Abbildung 13: TNF $\alpha$ -positive Zellen

Abbildung 14: VEGF-positive Zellen

Abbildung 15: VEGF-positive Zellen

Abbildung 16: Box-plot zur Auswertung TNF $\alpha$ -positiver Zellen

Abbildung 17: Box-plot zur Auswertung VEGF-positiver Zellen

Abbildung 18: vakuolisierte Makrophagen (HE, 20fache Vergrößerung)

Abbildung 19 : ap und laterale Thoraxröntgenaufnahme mit Perflubron-Residua

## **8.2 Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Easyscore nach Moreno und Zühlke

Tabelle 2: Arbeitsschritte der HE-Färbung

Tabelle 3: Protokoll zur Entparafinierung

Tabelle 4: Histologische Scores

Tabelle 5: Kruskal- Wallis Test zum Easyscore

Tabelle 6: Rangverteilung der Gruppen des Easyscores

Tabelle 7: Kruskal – Wallis Test zur Mesothelproliferation

Tabelle 8: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 9: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 10: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 11: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 12: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 13: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 14: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 15: Chi Quadrat nach Pearson

Tabelle 16: T-Test zur Auswertung TNF $\alpha$ - positiver Zellen

Tabelle 17: T-Test zur Auswertung VEGF- positiver Zellen

## 8.2.1 Tabellen des T-Tests zur Auswertung TNF $\alpha$ -positiver Zellen (Kap. 5.3.1)

### T-Test Gruppe 1 und 2

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	28,5964	10,50530	3,16747
2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	27,7780	4,12572	1,30467

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	,230	19	,820	,81836	3,55362	-6,61945	8,25618
	Varianzen sind nicht gleich	,239	13,257	,815	,81836	3,42564	-6,56773	8,20445

### T-Test Gruppen 1 und 3

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	28,5964	10,50530	3,16747
3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	18,4936	6,21431	1,87369

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sign. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	2,745	20	,012	10,10273	3,68016	2,42605	17,77940
	Varianzen sind nicht gleich	2,745	16,235	,014	10,10273	3,68016	2,31031	17,89514

### T-Test Gruppen 1 und 4

#### Gruppenstatistiken

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	28,5964	10,50530	3,16747
	4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	26,4722	7,33938	2,44646

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	,512	18	,615	2,12414	4,15003	-6,59475	10,84303
	Varianzen sind nicht gleich	,531	17,642	,602	2,12414	4,00225	-6,29653	10,54481

### T-Test Gruppen 1 und 5

#### Gruppenstatistiken

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	28,5964	10,50530	3,16747
	5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	17,3050	5,95048	1,88171

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	2,987	19	,008	11,29136	3,78034	3,37903	19,20370
	Varianzen sind nicht gleich	3,065	16,079	,007	11,29136	3,68425	3,48422	19,09851



### T-Test Gruppen 2 und 3

#### Gruppenstatistiken

Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	27,7780	4,12572	1,30467
3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	18,4936	6,21431	1,87369

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	3,988	19	,001	9,28436	2,32799	4,41183	14,15689
	Varianzen sind nicht gleich	4,066	17,482	,001	9,28436	2,28317	4,47739	14,09134

### T-Test Gruppen 2 und 4

#### Gruppenstatistiken

Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	27,7780	4,12572	1,30467
4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	26,4722	7,33938	2,44646

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	0,485	17	,634	1,30578	2,69330	-4,37658	6,98814
	Varianzen sind nicht gleich	0,471	12,312	,646	1,30578	2,77260	-4,71826	7,32981

T-Test Gruppen 2 und 5

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	27,7780	4,12572	1,30467
5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	17,3050	5,95048	1,88171

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Prozentpositiv	Varianzen sind gleich	4,574	18	,000	10,47300	2,28976	5,66240	15,28360
	Varianzen sind nicht gleich	4,574	16,029	,000	10,47300	2,28976	5,61964	15,32636

T-Test Gruppen 3 und 4

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	18,4936	6,21431	1,87369
4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	26,4722	7,33938	2,44646

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Prozentpositiv	Varianzen sind gleich	-2,635	18	,017	-7,97859	3,02831	-14,34084	-1,61633
	Varianzen sind nicht gleich	-2,589	15,791	,020	-7,97859	3,08154	-14,51818	-1,43899

T-Test Gruppen 3 und 5

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	18,4936	6,21431	1,87369
5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	17,3050	5,95048	1,88171

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	,447	19	,660	1,18864	2,66125	-4,38142	6,75869
	Varianzen sind nicht gleich	,448	18,939	,660	1,18864	2,65547	-4,37055	6,74782

T-Test Gruppen 4 und 5

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	26,4722	7,33938	2,44646
5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	17,3050	5,95048	1,88171

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	3,005	17	,008	9,16722	3,05104	2,73010	15,60435
	Varianzen sind nicht gleich	2,970	15,457	,009	9,16722	3,08642	2,60557	15,72887

Tab. 16: T-Test zur Auswertung TNF $\alpha$

## 8.2.2 Tabellen des T-Tests zur Auswertung VEGF -positiver Zellen (Kap. 5.3.1)

T-Test Gruppen 1 und 2

**Gruppenstatistiken**

Gruppe		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	19,5609	5,00503	1,50907
	2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	19,6050	3,30589	1,04542

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-0,024	19	,981	-0,04409	1,87225	-3,96276	3,87458
	Varianzen sind nicht gleich	-0,024	17,439	,981	-0,04409	1,83581	-3,90990	3,82172

T-Test Gruppen 1 und 3

**Gruppenstatistiken**

Gruppe		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	19,5609	5,00503	1,50907
	3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	25,6536	7,07661	2,13368

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-2,331	20	,030	-6,09273	2,61340	-11,54419	-,64126
	Varianzen sind nicht gleich	-2,331	18,002	,032	-6,09273	2,61340	-11,58324	-,60222

### T-Test Gruppen 1 und 4

#### Gruppenstatistiken

Gruppe		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	19,5609	5,00503	1,50907
	4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	24,3678	7,79616	2,59872

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-1,672	18	,112	-4,80687	2,87554	-10,84816	1,23442
	Varianzen sind nicht gleich	-1,600	13,112	,134	-4,80687	3,00510	-11,29336	1,67962

### T-Test Gruppen 1 und 5

#### Gruppenstatistiken

Gruppe		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	1 (10ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	19,5609	5,00503	1,50907
	5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	27,6800	4,84323	1,53156

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-3,770	19	,001	-8,11909	2,15366	-12,62675	-3,61143
	Varianzen sind nicht gleich	-3,776	18,914	,001	-8,11909	2,15011	-12,62072	-3,61746

### T-Test Gruppen 2 und 3

#### Gruppenstatistiken

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	19,6050	3,30589	1,04542
	3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	25,6536	7,07661	2,13368

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-2,465	19	,023	-6,04864	2,45359	-11,18406	-,91321
	Varianzen sind nicht gleich	-2,546	14,452	,023	-6,04864	2,37602	-11,12978	-,96749

### T-Test Gruppen 2 und 4

#### Gruppenstatistiken

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	19,6050	3,30589	1,04542
	4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	24,3678	7,79616	2,59872

#### Test bei unabhängigen Stichproben

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-1,768	17	,095	-4,76278	2,69439	-10,44745	,92190
	Varianzen sind nicht gleich	-1,700	10,553	,118	-4,76278	2,80111	-10,95999	1,43444

T-Test Gruppen 2 und 5

**Gruppenstatistiken**

Gruppe		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	2 (10ml FC-77/kgKG, 14 Tage poÜ)	10	19,6050	3,30589	1,04542
	5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	27,6800	4,84323	1,53156

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-4,355	18	,000	-8,07500	1,85434	-11,97083	-4,17917
	Varianzen sind nicht gleich	-4,355	15,891	,000	-8,07500	1,85434	-12,00823	-4,14177

T-Test Gruppen 3 und 4

**Gruppenstatistiken**

Gruppe		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent	3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	25,6536	7,07661	2,13368
	4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	24,3678	7,79616	2,59872

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	,386	18	,704	1,28586	3,32832	-5,70668	8,27840
	Varianzen sind nicht gleich	,382	16,443	,704	1,28586	3,36243	-5,82658	8,39830

T-Test Gruppen 3 und 5

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 3 (5ml FC-77/kgKG, 21 Tage poÜ)	11	25,6536	7,07661	2,13368
5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	27,6800	4,84323	1,53156

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-,758	19	,458	-2,02636	2,67451	-7,62418	3,57146
	Varianzen sind nicht gleich	-,772	17,730	,451	-2,02636	2,62646	-7,55038	3,49765

T-Test Gruppen 4 und 5

**Gruppenstatistiken**

Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Positivprozent 4 (5ml FC-77/kgKG, 7 Tage poÜ)	9	24,3678	7,79616	2,59872
5 (10ml NaCl, 21 Tage poÜ)	10	27,6800	4,84323	1,53156

**Test bei unabhängigen Stichproben**

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. (2- seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
Positivprozent	Varianzen sind gleich	-1,126	17	,276	-3,31222	2,94278	-9,52094	2,89650
	Varianzen sind nicht gleich	-1,098	13,116	,292	-3,31222	3,01646	-9,82304	3,19859

Tab. 17: T-Test zur Auswertung VEGF-positiver Zellen



### 8.3 Abkürzungsverzeichnis

a.d.= a. dest= Aqua dest.= destilliertes Wasser

Abb. = Abbildung

Bzw.= beziehungsweise

C= Kohlenstoff

C°= Celsius

ca. = circa

cm = Centimeter

CO<sub>2</sub> = Kohlendioxid

Dapi = 4',6-Diamidin-2-phenylindol

DNS = Desoxyribonukleinsäure

DRG= Diagnosis related group

Et al. = und andere

etc. = Et cetera

d.h. = das heisst

F= Flur

FC-77= Perfluorcarbon 77

g = gramm

h = Stunden

h 0 = 0 Hypothese

H<sub>2</sub>O = Wasser

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = Wasserstoffperoxyd

ICD = Internationale Klassifikation der Krankheiten

IL 1, 6, 8, 12 = Interleukin 1, 6, 8, 12

INFα/β = Interferon α/β

Kg = Kilogramm

KgKG= Kilogramm Körpergewicht

konz. = Konzentriert

Lsg.= Lösung

m<sup>2</sup> = Quadratmeter

Min = Minute

mg = Miligramm

ml= Mililiter

mm = Millimeter  
mmol/L = Millimol pro Liter  
mN/m<sup>2</sup> = Millinewton auf dem Quadratmeter  
Mol.= Molekular  
MSC = multipotente subseröse Zelle  
n = Anzahl  
NaCl = Natriumchlorid  
NFκB = Nuklearfaktor-kappa B  
nm = Nanometer  
NSAR = Nichtsteroidales Antirheumatikum  
O<sub>2</sub> = Sauerstoff  
OÄ = Oberärztin  
PASW = Statistikprogramm  
PBS = Phosphate buffered saline  
PDGF = Platelet Derived Growth Factor  
PF 5080 = Perfluorooctane  
PFC = Perfluorcarbon  
PGM 1 = Phosphoglukomutase 1  
poÜ = postoperatives Überleben  
RES = Retikuloendotheliales System  
RIVA = Ramus interventricularis anterior  
RNS = Ribonukleinsäure  
Rt = Millipascal  
S. = Seite  
s.= siehe  
s.c. = subkutan  
SCAR = Surgical and Clinical Adhesion Research  
Std. = Stunde  
Tab. = Tabelle  
TNF<sub>α</sub> = Tumornekrosefaktor Alpha  
TGF- β =Transforming Growth Factor- beta  
Torr= Millimeter Quecksilbersäule  
tPA = Tissue – Plasminogen – Aktivator  
US\$= USD = US-Dollar

USA= United States of America

V 9 = Vimentin 9

VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor

vs. = versus

z. B. = zum Beispiel

z.T. = zum Teil

µm = Micrometer

## 9. Literaturverzeichnis

1. van Goor H. Consequences and complications of peritoneal adhesions. *Colorectal Dis.* 2007 Oct;9 Suppl 2:25-34.
2. Parker MC, Wilson MS, van Goor H, Moran BJ, Jeekel J, Duron JJ, et al. Adhesions and colorectal surgery - call for action. *Colorectal Dis.* 2007 Oct;9 Suppl 2:66-72.
3. Ellis H. The clinical significance of adhesions: focus on intestinal obstruction. *Eur J Surg Suppl.* 1997(577):5-9.
4. Menzies D. Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice. *Ann R Coll Surg Engl.* 1993 May;75(3):147-53.
5. Wilkins BM, Spitz L. Incidence of postoperative adhesion obstruction following neonatal laparotomy. *Br J Surg.* 1986 Sep;73(9):762-4.
6. van Eijck FC, Wijnen RM, van Goor H. The incidence and morbidity of adhesions after treatment of neonates with gastroschisis and omphalocele: a 30-year review. *J Pediatr Surg.* 2008 Mar;43(3):479-83.
7. Babbitt DG, Forman MB, Jones R, Bajaj AK, Hoover RL. Prevention of neutrophil-mediated injury to endothelial cells by perfluorochemical. *Am J Pathol.* 1990 Feb;136(2):451-9.
8. Colton DM, Till GO, Johnson KJ, Dean SB, Bartlett RH, Hirschl RB. Neutrophil accumulation is reduced during partial liquid ventilation. *Crit Care Med.* 1998 Oct;26(10):1716-24.
9. Rossman JE, Caty MG, Rich GA, Karamanoukian HL, Azizkhan RG. Neutrophil activation and chemotaxis after in vitro treatment with perfluorocarbon. *J Pediatr Surg.* 1996 Aug;31(8):1147-50; discussion 50-1.
10. Rotta AT, Gunnarsson B, Hernan LJ, Fuhrman BP, Steinhorn DM. Partial liquid ventilation with perflubron attenuates in vivo oxidative damage to proteins and lipids. *Crit Care Med.* 2000 Jan;28(1):202-8.
11. Varani J, Hirschl RB, Dame M, Johnson K. Perfluorocarbon protects lung epithelial cells from neutrophil-mediated injury in an in vitro model of liquid ventilation therapy. *Shock.* 1996 Nov;6(5):339-44.
12. Degenhardt P, Pelzer M, Fischer B, Kraft S, Sarioglu N, Mau H, et al. Reduction of postoperative adhesions by perfluorocarbons: an experimental study in a rat model. *Eur J Pediatr Surg.* 2009 Aug;19(4):211-5.
13. Bryant. Clinical lectures on intestinal obstruction. *Medical Times and Gazette.* 1872;1(1135):363-65.
14. Ellis H, Moran BJ, Thompson JN, Parker MC, Wilson MS, Menzies D, et al. Adhesion-related hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. *Lancet.* 1999 May 1;353(9163):1476-80.
15. Tingstedt B, Isaksson K, Andersson E, Andersson R. Prevention of abdominal adhesions--present state and what's beyond the horizon? *Eur Surg Res.* 2007;39(5):259-68.
16. Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, Reijnen MM, van Goor H. Recent clinical developments in pathophysiology, epidemiology, diagnosis and treatment of intra-abdominal adhesions. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 2000(232):52-9.
17. Monk BJ, Berman ML, Montz FJ. Adhesions after extensive gynecologic surgery: clinical significance, etiology, and prevention. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 May;170(5 Pt 1):1396-403.
18. Schütze B. Adhäsionsbedingter postoperativer Darmverschluss. *Therapiewoche.* 1983(33):4706-13.

19. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Dervenis C, Young RL. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dig Surg*. 2001;18(4):260-73.
20. diZerega GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg Suppl*. 1997(577):10-6.
21. Kamel RM. Prevention of postoperative peritoneal adhesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. Jun;150(2):111-8.
22. Birkenfeld A, Schenker JG. The effect of urokinase in the prevention of intraperitoneal adhesions; role of blood in their formation. *Ann Chir Gynaecol*. 1983;72(5):246-9.
23. Nisell H, Larsson B. Role of blood and fibrinogen in development of intraperitoneal adhesions in rats. *Fertil Steril*. 1978 Oct;30(4):470-3.
24. Koch T, Ragaller M, Haufe D, Hofer A, Grosser M, Albrecht DM, et al. Perfluorohexane attenuates proinflammatory and procoagulatory response of activated monocytes and alveolar macrophages. *Anesthesiology*. 2001 Jan;94(1):101-9.
25. Woods CM, Neslund G, Kornbrust E, Flaim SF. Perflubron attenuates neutrophil adhesion to activated endothelial cells in vitro. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000 May;278(5):L1008-17.
26. Frietsch T, Lenz C, Waschke KF. [Intravenous perfluorocarbons. Artificial oxygen carriers and their medical applications]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2000 Apr 14;125(15):465-72.
27. Wilson MS, Hawkswell J, McCloy RF. Natural history of adhesional small bowel obstruction: counting the cost. *Br J Surg*. 1998 Sep;85(9):1294-8.
28. Kossi J, Salminen P, Rantala A, Laato M. Population-based study of the surgical workload and economic impact of bowel obstruction caused by postoperative adhesions. *Br J Surg*. 2003 Nov;90(11):1441-4.
29. Kossi JA, Salminen PT, Laato MK. Surgical workload and cost of postoperative adhesion-related intestinal obstruction: importance of previous surgery. *World J Surg*. 2004 Jul;28(7):666-70.
30. Cheong YC, Laird SM, Li TC, Shelton JB, Ledger WL, Cooke ID. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update*. 2001 Nov-Dec;7(6):556-66.
31. Grant HW, Parker MC, Wilson MS, Menzies D, Sunderland G, Thompson JN, et al. Adhesions after abdominal surgery in children. *J Pediatr Surg*. 2008 Jan;43(1):152-6; discussion 6-7.
32. Beck DE, Ferguson MA, Opelka FG et al. Effect of previous surgery on abdominal opening time. *Dis Colon Rectum*. 2000 Dec;43(12):1749-53.
33. Van Der Krabben AA, Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, Reijnen MM, Schaapveld M, Van Goor H. Morbidity and mortality of inadvertent enterotomy during adhesiotomy. *Br J Surg*. 2000 Apr;87(4):467-71.
34. Luijendijk RW, de Lange DC, Wauters CC, Hop WC, Duron JJ, Paillet JL, et al. Foreign material in postoperative adhesions. *Ann Surg*. 1996 Mar;223(3):242-8.
35. Duron JJ. Postoperative intraperitoneal adhesion pathophysiology. *Colorectal Dis*. 2007 Oct;9 Suppl 2:14-24.
36. van der Voort M, Heijnsdijk EA, Gouma DJ. Bowel injury as a complication of laparoscopy. *Br J Surg*. 2004 Oct;91(10):1253-8.
37. Mahadevan MM, Wiseman D, Leader A, Taylor PJ. The effects of ovarian adhesive disease upon follicular development in cycles of controlled stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1985 Oct;44(4):489-92.
38. Ray NF, Denton WG, Thamer M, Henderson SC, Perry S. Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditures in the United States in 1994. *J Am Coll Surg*. 1998 Jan;186(1):1-9.

39. Parker MC, Wilson MS, Menzies D, Sunderland G, Clark DN, Knight AD, et al. The SCAR-3 study: 5-year adhesion-related readmission risk following lower abdominal surgical procedures. *Colorectal Dis.* 2005 Nov;7(6):551-8.
40. Menzies D, Parker M, Hoare R, Knight A. Small bowel obstruction due to postoperative adhesions: treatment patterns and associated costs in 110 hospital admissions. *Ann R Coll Surg Engl.* 2001 Jan;83(1):40-6.
41. Tingstedt B, Isaksson J, Andersson R. Long-term follow-up and cost analysis following surgery for small bowel obstruction caused by intra-abdominal adhesions. *Br J Surg.* 2007 Jun;94(6):743-8.
42. Schiebler S. *Anatomie.* 2002 ed.: Springer; 2002.
43. van der Wal JB, Jeekel J. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. *Colorectal Dis.* 2007 Oct;9 Suppl 2:9-13.
44. Dobbie. Ultrastructure and pathology of the peritoneum in peritoneal dialysis. In: Gokal, editor. *The textbook of peritoneal dialysis* Dordrecht: Kluwer Academic; 1994. p. 38-106.
45. Rafferty AT. Effect of peritoneal trauma on peritoneal fibrinolytic activity and intraperitoneal adhesion formation. An experimental study in the rat. *Eur Surg Res.* 1981;13(6):397-401.
46. Thompson JN, Whawell SA. Pathogenesis and prevention of adhesion formation. *Br J Surg.* 1995 Jan;82(1):3-5.
47. Thompson JN, Paterson-Brown S, Harbourne T, Whawell SA, Kalodiki E, Dudley HA. Reduced human peritoneal plasminogen activating activity: possible mechanism of adhesion formation. *Br J Surg.* 1989 Apr;76(4):382-4.
48. Vipond MN, Whawell SA, Thompson JN, Dudley HA. Peritoneal fibrinolytic activity and intra-abdominal adhesions. *Lancet.* 1990 May 12;335(8698):1120-2.
49. Thompson J. Pathogenesis and prevention of adhesion formation. *Dig Surg.* 1998;15(2):153-7.
50. Attard JA, MacLean AR. Adhesive small bowel obstruction: epidemiology, biology and prevention. *Can J Surg.* 2007 Aug;50(4):291-300.
51. Brittan RF, Studley JG, Parkin JV, Rowles PM, Le Quesne LP. Cellulose granulomatous peritonitis. *Br J Surg.* 1984 Jun;71(6):452-3.
52. Janoff K, Wayne R, Huntwork B, Kelley H, Alberty R. Foreign body reactions secondary to cellulose lint fibers. *Am J Surg.* 1984 May;147(5):598-600.
53. Tinker MA, Burdman D, Deysine M, Teicher I, Platt N, Aufses AH, Jr. Granulomatous peritonitis due to cellulose fibers from disposable surgical fabrics: laboratory investigation and clinical implications. *Ann Surg.* 1974 Dec;180(6):831-5.
54. van den Tol MP, van Stijn I, Bonthuis F, Marquet RL, Jeekel J. Reduction of intraperitoneal adhesion formation by use of non-abrasive gauze. *Br J Surg.* 1997 Oct;84(10):1410-5.
55. Grund D. Neue Möglichkeiten zur Reduzierung von postoperativen Adhäsionen - Eine vergleichende tierexperimentelle Studie mit abriebarmen Bauchtüchern und Perfluorcarbon PF5080  
Berlin: Charité Universitätsmedizin Berlin; 2004.
56. Bellina JH, Hemmings R, Voros JI, Ross LF. Carbon dioxide laser and electrosurgical wound study with an animal model: a comparison of tissue damage and healing patterns in peritoneal tissue. *Am J Obstet Gynecol.* 1984 Feb 1;148(3):327-34.
57. Elkins TE, Stovall TG, Warren J, Ling FW, Meyer NL. A histologic evaluation of peritoneal injury and repair: implications for adhesion formation. *Obstet Gynecol.* 1987 Aug;70(2):225-8.

58. Fukasawa M, Girgis W, diZerega GS. Inhibition of postsurgical adhesions in a standardized rabbit model: II. Intraperitoneal treatment with heparin. *Int J Fertil.* 1991 Sep-Oct;36(5):296-301.
59. Jackson EK. Intraperitoneal administration of adenosine inhibits formation of abdominal adhesions. *Dis Colon Rectum.* 2004 Aug;47(8):1390-6.
60. Hellebrekers BW, Trimpos-Kemper TC, Trimpos JB, Emeis JJ, Kooistra T. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril.* 2000 Aug;74(2):203-12.
61. Montz FJ, Fowler JM, Wolff AJ, Lacey SM, Mohler M. The ability of recombinant tissue plasminogen activator to inhibit post-radical pelvic surgery adhesions in the dog model. *Am J Obstet Gynecol.* 1991 Nov;165(5 Pt 1):1539-42.
62. Montz FJ, Monk BJ, Lacy SM, Fowler JM. Ketorolac tromethamine, a nonsteroidal anti-inflammatory drug: ability to inhibit post-radical pelvic surgery adhesions in a porcine model. *Gynecol Oncol.* 1993 Jan;48(1):76-9.
63. Grosfeld JL, Berman IR, Schiller M, Morse TS. Excessive morbidity resulting from the prevention of intestinal adhesions with steroids and antihistamines. *J Pediatr Surg.* 1973 Apr;8(2):221-6.
64. de la Portilla F, Ynfante I, Bejarano D, Conde J, Fernandez A, Ortega JM, et al. Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal administration of vitamin E: an experimental study in rats. *Dis Colon Rectum.* 2004 Dec;47(12):2157-61.
65. Replogle RL, Johnson R, Gross RE. Prevention of postoperative intestinal adhesions with combined promethazine and dexamethasone therapy: experimental and clinical studies. *Ann Surg.* 1966 Apr;163(4):580-8.
66. Siegler AM, Kontopoulos V, Wang CF. Prevention of postoperative adhesions in rabbits with ibuprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory agent. *Fertil Steril.* 1980 Jul;34(1):46-9.
67. Steinleitner A, Kazensky C, Lambert H. Calcium channel blockade prevents postsurgical reformation of adnexal adhesions in rabbits. *Obstet Gynecol.* 1989 Nov;74(5):796-8.
68. Steinleitner A, Lambert H, Kazensky C, Danks P, Roy S. Pentoxifylline, a methylxanthine derivative, prevents postsurgical adhesion reformation in rabbits. *Obstet Gynecol.* 1990 Jun;75(6):926-8.
69. Prevention of postsurgical adhesions by INTERCEED(TC7), an absorbable adhesion barrier: a prospective randomized multicenter clinical study. INTERCEED(TC7) Adhesion Barrier Study Group. *Fertil Steril.* 1989 Jun;51(6):933-8.
70. Bellon JM, Bujan J, Contreras LA, Jurado F. Use of nonporous polytetrafluoroethylene prosthesis in combination with polypropylene prosthetic abdominal wall implants in prevention of peritoneal adhesions. *J Biomed Mater Res.* 1997 Fall;38(3):197-202.
71. Zong X, Li S, Chen E, Garlick B, Kim KS, Fang D, et al. Prevention of postsurgery-induced abdominal adhesions by electrospun bioabsorbable nanofibrous poly(lactide-co-glycolide)-based membranes. *Ann Surg.* 2004 Nov;240(5):910-5.
72. Alpay Z, Saed GM, Diamond MP. Postoperative adhesions: from formation to prevention. *Semin Reprod Med.* 2008 Jul;26(4):313-21.
73. Wallwiener M, Brucker S, Hierlemann H, Brochhausen C, Solomayer E, Wallwiener C. Innovative barriers for peritoneal adhesion prevention: liquid or solid? A rat uterine horn model. *Fertil Steril.* 2006 Oct;86(4 Suppl):1266-76.
74. Proquitté H RM, Krause S, Wauer RR. Liquid Ventilation - mehr als eine Spielwiese für Forscher? *Med im Dialog.* 2000(3):35-41.

75. Greenspan JS, Wolfson MR, Rubenstein SD, Shaffer TH. Liquid ventilation of human preterm neonates. *J Pediatr.* 1990 Jul;117(1 Pt 1):106-11.
76. Cox C, Stavis RL, Wolfson MR, Shaffer TH. Long-term tidal liquid ventilation in premature lambs: physiologic, biochemical and histological correlates. *Biol Neonate.* 2003;84(3):232-42.
77. Keipert PE, Faithfull NS, Roth DJ, Bradley JD, Batra S, Jochelson P, et al. Supporting tissue oxygenation during acute surgical bleeding using a perfluorochemical-based oxygen carrier. *Adv Exp Med Biol.* 1996;388:603-9.
78. Kutlay J, Ozer Y, Isik B, Kargici H. Comparative effectiveness of several agents for preventing postoperative adhesions. *World J Surg.* 2004 Jul;28(7):662-5.
79. Tierschutzgesetz (in der Fassung vom 18.05.06), BGBl. IS. 1207. (2006).
80. Richtlinien über das fachgerechte und tierschutzkonforme Töten von Versuchstieren. (1993).
81. Herrmann K. CO<sub>2</sub>-Tötung aus Sicht des Tierschutzes. In: Berlin LfGuS, editor. Berlin Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin 2009. p. 4.
82. Moreno A, Aguayo JL, Zambudio G, Ramirez P, Canteras M, Parrilla P. Influence of abdominal incision on the formation of postoperative peritoneal adhesions: an experimental study in rats. *Eur J Surg.* 1996 Mar;162(3):181-5.
83. Zuhlke HV, Lorenz EM, Straub EM, Savvas V. [Pathophysiology and classification of adhesions]. *Langenbecks Arch Chir Suppl II Verh Dtsch Ges Chir.* 1990:1009-16.
84. Zografos GC, Simeonidis KM, Messaris EG, Parasi AS, Sotiriou HG, Dontas IA. Adhesion formation and intraperitoneal catheters: histologic findings in a rat model. *Fertil Steril.* 2005 Feb;83(2):516-8.
85. Pelzer M. Möglichkeit einer postoperativen Adhäsionsprophylaxe durch Perfluorcarbon - Eine tierexperimentelle Studie mit Perfluorcarbon. Berlin: Charité Universitätsmedizin Berlin; 2006.
86. Krishan A, Dandekar PD. DAPI fluorescence in nuclei isolated from tumors. *J Histochem Cytochem.* 2005 Aug;53(8):1033-6.
87. Tanious FA, Veal JM, Buczak H, Ratmeyer LS, Wilson WD. DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) binds differently to DNA and RNA: minor-groove binding at AT sites and intercalation at AU sites. *Biochemistry.* 1992 Mar 31;31(12):3103-12.
88. Rahman MM, McFadden G. Modulation of tumor necrosis factor by microbial pathogens. *PLoS Pathog.* 2006 Feb;2(2):e4.
89. Faller DV. Endothelial cell responses to hypoxic stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1999 Jan;26(1):74-84.
90. Campbell B, Chuhran C, Lefer AM. Vascular endothelial growth factor attenuates trauma-induced injury in rats. *Br J Pharmacol.* 2000 Jan;129(1):71-6.
91. Zhang J, Zheng L, Bai M. Dynamic expression of tumor necrosis factor-alpha and vascular endothelial growth factor in rat model of pulmonary emphysema induced by smoke exposure. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2007 Oct;27(5):505-7.
92. Mura M, Han B, Andrade CF, Seth R, Hwang D, Waddell TK, et al. The early responses of VEGF and its receptors during acute lung injury: implication of VEGF in alveolar epithelial cell survival. *Crit Care.* 2006;10(5):R130.
93. Becker PM, Alcasabas A, Yu AY, Semenza GL, Bunton TE. Oxygen-independent upregulation of vascular endothelial growth factor and vascular barrier dysfunction during ventilated pulmonary ischemia in isolated ferret lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000 Mar;22(3):272-9.
94. Parker MC, Ellis H, Moran BJ, Thompson JN, Wilson MS, Menzies D, et al. Postoperative adhesions: ten-year follow-up of 12,584 patients undergoing lower abdominal surgery. *Dis Colon Rectum.* 2001 Jun;44(6):822-29; discussion 9-30.



95. Treutner KH, Bertram P, Loser S, Winkeltau G, Schumpelick V. [Prevention and therapy of intra-abdominal adhesions. A survey of 1,200 clinics in Germany]. *Chirurg*. 1995 Apr;66(4):398-403.
96. diZerega GS, Campeau JD. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. *Hum Reprod Update*. 2001 Nov-Dec;7(6):547-55.
97. Gomel V, Urman B, Gurgan T. Pathophysiology of adhesion formation and strategies for prevention. *J Reprod Med*. 1996 Jan;41(1):35-41.
98. Holmdahl L, Eriksson E, Eriksson BI, Risberg B. Depression of peritoneal fibrinolysis during operation is a local response to trauma. *Surgery*. 1998 May;123(5):539-44.
99. Schwemmle K. [Causes for adhesions in the abdomen]. *Langenbecks Arch Chir Suppl II Verh Dtsch Ges Chir*. 1990:1017-21.
100. Smith TM, Steinhorn DM, Thusu K, Fuhrman BP, Dandona P. A liquid perfluorochemical decreases the in vitro production of reactive oxygen species by alveolar macrophages. *Crit Care Med*. 1995 Sep;23(9):1533-9.
101. Hirayama Y, Hirasawa H, Oda S, Shiga H, Matsuda K, Ueno H, et al. Partial liquid ventilation with FC-77 suppresses the release of lipid mediators in rat acute lung injury model. *Crit Care Med*. 2004 Oct;32(10):2085-9.
102. Nakstad B, Wolfson MR, Shaffer TH, Kahler H, Lindemann R, Fugelseth D, et al. Perfluorochemical liquids modulate cell-mediated inflammatory responses. *Crit Care Med*. 2001 Sep;29(9):1731-7.
103. Rodgers KE, diZerega GS. Function of peritoneal exudate cells after abdominal surgery. *J Invest Surg*. 1993 Jan-Feb;6(1):9-23.
104. diZerega GS, Verco SJ, Young P, Kettel M, Kobak W, Martin D, et al. A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4% icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery. *Hum Reprod*. 2002 Apr;17(4):1031-8.
105. Holaday DA, Fiserova-Bergerova V, Modell JH. Uptake, distribution, and excretion of fluorocarbon FX-80 (perfluorobutyl perfluorotetrahydrofuran) during liquid breathing in the dog. *Anesthesiology*. 1972 Oct;37(4):387-94.
106. Meaney JF, Kazerooni EA, Garver KA, Hirschl RB. Acute respiratory distress syndrome: CT findings during partial liquid ventilation. *Radiology*. 1997 Feb;202(2):570-3.
107. Smith DJ, Kornbrust ES, Lane TA. Phagocytosis of a fluorescently labeled perflubron emulsion by a human monocyte cell line. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 1994;22(4):1215-21.
108. Hagerty RD, Phelan MP, Morrison SC, Hatem SF. Radiographic detection of perflubron fluoromediastinum and fluororetroperitoneum 9 years after partial liquid ventilation. *Emerg Radiol*. 2008 Jan;15(1):71-5.
109. Lyburn ID, Torreggiani WC, Harris AC, Zwirewich CV. The white chest. *Chest*. 2001 Aug;120(2):649-51.
110. Servaes S, Epelman M. Perflubron residua: 12 years following therapy. *Pediatr Radiol*. 2009 Apr;39(4):393-5.

## 10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Beteiligten bedanken, die zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein Dank geht an meinen Doktorvater Prof. Dr. med. Harald Mau für Vergabe des Dissertationsthemas und an Prof. Dr. med. Karin Rothe für die Weiterführung der Betreuung nach Ausscheiden von Herrn Professor Mau. Meiner akademischen Betreuerin Frau Dr. med. Petra Degenhardt danke ich für die kompetente und wertvolle Hilfe bei allen anfallenden Fragen zur Fertigstellung und Planung dieser Arbeit. Mein Dank geht weiter an Dr. med. Berit Fischer und Dr. med. Max Pelzer für die freundliche Zusammenarbeit bei den Operationen und an Frau Dr. med. Sarioglu für ihre Hilfe bei histologischen Fragen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. Mario Rüdiger des neonatologischen Forschungslabors der Universitätsklinik Carl Gustav Carus, Dresden, für die zur Verfügungstellung der Instrumentarien, zur Fertigstellung und Auswertung des immunhistologischen Teils in seinem Institut, an Frau Dr. med. Sabrina Dietl für die freundliche Hilfe und Unterstützung bei der Auswertung der immunhistologischen Schnitte.

Darüber hinaus möchte ich mich besonders herzlich bei meinen Eltern und meiner Schwester Saskia für ihre immerwährende Unterstützung bedanken. Sie haben mich während meiner gesamten Ausbildung gefördert und mir motivierend zur Seite gestanden.

## **11. Curriculum Vitae**

Der Lebenslauf wird an dieser Stelle aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht angezeigt.

## 12. Selbstständigkeitserklärung

„Ich, Svenja Hardwig, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Postoperative Adhäsionsprophylaxe mittels Perfluorocarbon – Eine tierexperimentelle Studie zur Evaluation der dosisabhängigen Wirkung und pulmonalen Nebenwirkungen von Perfluorocarbon“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift