

3. Literaturübersicht

3.1. Isolierte und nicht-isolierte Organperfusion

3.1.1. Einsatzmöglichkeiten von Perfusionsmodellen verschiedener Organe

Die isolierte Organperfusion ist heute als solche etabliert. *In vitro* Perfusionsmodelle verschiedener Organsysteme finden in der Grundlagenforschung bereits breite Anwendungen (von Baeyer, Stahl et al. 1997; Grosse-Siestrup, Wiemer et al. 2002; Taft 2004; Al-Ali, Hassan et al. 2005; Stadler, Nuyens et al. 2005; Richter, Bartz et al. 2006).

Gegenüber der *in vivo* Perfusion bieten *in vitro* Perfusionen eine Reihe von experimentellen Vorteilen, beispielsweise: Fokussierung auf einzelne, von systemischen Nebenwirkungen losgelöste Mechanismen, kontrollierte Eingriffsmöglichkeiten, direkte Bestimmung von Messwerten, Reduktion von Tierversuchen (Grosse-Siestrup, Fehrenberg et al. 2002).

Durch die isolierte Organperfusion ergibt sich die Möglichkeit, nicht nur physiologische und pharmakologische Mechanismen des jeweiligen Organsystems genauer zu untersuchen, sondern auch pathophysiologische Eigenschaften (Haisjackl, Luz et al. 1997), wie zum Beispiel die Entstehung von Ischämie- und Reperfusions-Schäden (Kong, Blennerhassett et al. 1998), eingehender zu analysieren.

In der Transplantationsmedizin ist zum Beispiel die Entwicklung und Eignungsprüfung von Konservierungslösungen und von Substanzen zur Verminderung der Ischämie- und Reperfusions-Schäden interessant.

So steht der Ischämie-Reperfusions-Schaden in Organen in engem Zusammenhang mit dem Organversagen nach durchgeführter Organtransplantation. Aus diesem Grund beschäftigten sich zahlreiche Arbeiten mit den Möglichkeiten der Vermeidung eines solchen Schadens durch Verbesserung der Perfusionsbedingungen. FONDEVILA et al. untersuchten dazu in einem *in vitro* Perfusionsmodell den Einfluss einer Biliverdintherapie auf den Ischämie-Reperfusions-Schaden von Rattenlebern (Fondevila, Shen et al. 2004).

Auch die Mechanismen, die nach Lungentransplantationen zu Ischämie-Reperfusions-Schäden nebst endothelialen Läsionen führen, sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Das Modell der isoliert perfundierten Lunge kleiner Labortiere wird in diesem Zusammenhang zur Untersuchung der Lungenfunktion nach Konservierung oder kalter Lagerung angewandt. Bestimmungen der Oxygenierung, des kapillären Filtrationskoeffizienten und anderer Parameter ermöglichen die genauere Analyse von Konservierungslösungen. An isoliert perfundierten Kaninchenlungen wurde der Einfluss von Substanz P auf den Ischämie-Reperfusions-Schaden untersucht (Arreola, Vargas et al. 2004).

Weiterhin werden *in vitro* Perfusionsmodelle vielfach für pharmakologische und toxikologische Studien eingesetzt (Groneberg, Grosse-Siestrup et al. 2002; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2003; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2004; Taft 2004; Agvald, Adding et al. 2005; Yokoyama, Horie et al. 2006). Es wurde nachgewiesen, dass Glykosaminoglykane wie das Heparin *in vitro* und *in vivo* das ischämische Myokard vor Reperfusionsschäden schützen (Friedrichs, Kilgore et al. 1994).

KILGORE et al. untersuchten an isoliert mit modifiziertem Krebs-Henseleit-Puffer perfundierten Kaninchenherzen, ob der kardioprotektive Effekt des Heparins durch das heparinabbauende Enzym Heparinase aufgehoben wird. Es zeigte sich, dass die Neutralisation von Heparin durch die Heparinase zu einem erhöhten Schaden des Myokards nach Reperfusion des zuvor einer Ischämie unterzogenen Myokards führt (Kilgore, Tanhehco et al. 1999).

GROSSE-SIESTRUP et al. entwickelten an isoliert hämoperfundierten Nieren von geschlachteten Schweinen ein Modell für pharmakologische Untersuchungen. Die Applikation von Furosemid nach einer Perfusionszeit von 20 Minuten führte dabei zu signifikanten Veränderungen wichtiger Nierenparameter. Bei Parametern wie dem Urinfluss, der Natriumkonzentration im Urin und der Natriumexkretion konnten mit Furosemid über einen Zeitraum von 80 Minuten konstante Normalwerte aufrechterhalten werden. Im Vergleich mit der Kontrollgruppe, bei der die Nieren nicht von Schlachttieren stammten und nicht über 4-5 Stunden konserviert wurden, zeigten die Schlachthofnieren hinsichtlich einiger Parameter, wie zum Beispiel des Sauerstoffverbrauchs, deutliche Unterschiede. Diese hatten jedoch keinen Einfluss auf die Vitalität des Organs (Grosse-Siestrup, Unger et al. 2003).

Spezies	Modell	Medium	Einsatzgebiet	Autor
Ratte	isolierte Leberperfusion	Vollblut	Intensiv- und Transplantationsmedizin	Fondevila et al. 2004
Kaninchen	isolierte Lungenperfusion	modifizierte Elektrolytlösung	Intensiv- und Transplantationsmedizin	Arreola et al. 2004
Kaninchen	isolierte Herzperfusion	modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer	Pharmakologie	Kilgore et al. 1999
Schwein	isolierte Herzperfusion	Vollblut	Physiologie	Modersohn et al. 1997
Schwein	isolierte Nierenperfusion	Vollblut	Pharmakologie	Grosse-Siestrup et al. 2003
Schwein	isolierte Leberperfusion	Vollblut	Toxikologie	Grosse-Siestrup et al. 2004

Tab. 1: Perfusionsmodelle verschiedener Organsysteme

3.1.2. Physiologie und Pathophysiologie des Darms

3.1.2.1. Physiologie des Darms, Grundlagen für Funktionsmessungen

Der Gastrointestinaltrakt ist ein wichtiges funktionelles Organ. Er unterliegt immunologischen, endokrinologischen sowie nutritiven Einflüssen und schafft eine Barriere zwischen dem keim- und endotoxinreichen Darmlumen und dem restlichen Organismus (Temmesfeld-Wollbruck, Szalay et al. 1998).

Die Hauptaufgabe des Gastrointestinaltraktes besteht in der Überführung der aufgenommenen Nahrung in resorbierbare Bestandteile. Diese Vorgänge werden zunächst durch mechanische Prozesse eingeleitet und fortgesetzt mit der Zumischung von Verdauungssäften, die Enzyme enthalten. Durch die Enzyme werden Kohlenhydrate, Fette und Eiweiße hydrolytisch gespalten und in resorbierbare Einzelteile zerlegt. Diese Endprodukte werden, ebenso wie Wasser, Elektrolyte, Spurenelemente und Vitamine, aus dem Darmlumen in das Blut und die Lymphe aufgenommen (Schmidt and Thews 1997).

Die Spaltung von Oligo- und Disacchariden erfolgt durch Oligo- und Disaccharidasen, die in der Bürstensaummembran des Dünndarmepithels verankert sind. Die Saccharase ist das

Enzym, das vor allem die Spaltung von Maltose übernimmt (von Engelhardt and Breves 2005 a)

Das Disaccharid Maltose besteht aus 2 Anteilen Glukose, die über eine α -1,4-glykosidische Bindung verknüpft sind. Intravenös zugeführte Disaccharide können nicht abgebaut werden da die zur Spaltung geeigneten Enzyme nur in der Dünndarmmukosa vorhanden sind (Löffler and Petrides 1998).

Der Maltoseabsorptionstest setzt neben der energieabhängigen Resorption die vorherige Spaltung von Glukose voraus (Stangl, Krapp et al. 2000). Untersuchungen an Schweinen haben ergeben, dass die Resorption einzelner Nährstoffe dabei nach einer Sättigungskinetik verläuft, die für die einzelnen Nährstoffe unterschiedlich ist. In geringem Umfang wird Glukose während der Resorption im Dünndarmepithel zu Laktat abgebaut. Die Aufnahme von Glukose durch die Bürstensaummembran erfolgt durch einen carrier-vermittelten Na-Cotransport gegen ein Konzentrationsgefälle. Mit steigender Glukosekonzentration im Darmlumen nimmt die Glukoseaufnahme ab und erreicht schließlich einen Maximalwert [V_{max}]. Die Glukosekonzentration, bei der die Glukosetransportrate den halbmaximalen Wert erreicht, entspricht dem Km-Wert (Michaelis-Menten-Konstante) des Na-Glukosetransporters. Der Km-Wert für Glukose entspricht ungefähr 0,3 mmol/l und ist somit relativ niedrig. Die Ausschleusung der Glukose aus den Epithelzellen in das Blut erfolgt durch erleichterte Diffusion. Der Km-Wert für Glukose liegt hier bei ca. 20 mmol/l (von Engelhardt and Breves 2005 a)

Die Dünndarmmotilität dient der Durchmischung des Chymus mit den Verdauungssekreten, dem Weitertransport des Darminhaltes und der Resorptionsförderung (Schmidt and Thews 1997). Unter physiologischen Bedingungen erzeugt der Dünndarm fünf verschiedene Kontraktionsformen. Im gesamten Dünndarm wird der Weitertransport des Darminhaltes überwiegend durch die peristaltischen Wellen bewirkt; das sind fortschreitende, ringförmige Kontraktionen, die infolge enterischer Reflexe mit einer aboralen Erschlaffung verbunden sind (von Engelhardt and Breves 2005 b).

Insgesamt weist der Dünndarm unter physiologischen Bedingungen ein hohes Regenerationsvermögen auf. Das Dünndarmepithel gehört zu den Geweben mit der höchsten Teilungs- und Umsatzrate. Die noch undifferenzierten Zellen wandern dabei vom Regenerationszentrum in den Krypten zu den Zottenspitzen und ersetzen dort abgeschilferte Zellen (Schmidt and Thews 1997).

3.1.2.2. Pathophysiologie des Darms, Einfluss und Entstehung von Ischämie-Reperfusionsschäden

Der Darm ist ein sehr stressempfindliches und hochimmunogenes Organ. Unter physiologischen Bedingungen übernimmt er die Funktion einer Barriere und weist eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Ischämie und Reperfusion auf. Klinische und experimentelle Studien zeigen, dass die Schädigung des Intestinums durch Ischämie und Reperfusion eine wichtige Rolle in der Pathogenese systemischer Infektionen und bei der Entstehung von Multiorganversagen spielen (Saadia, Schein et al. 1990; Wu, Wang et al. 2004). Die Ischämie-Reperfusionsschäden treten häufig in Verbindung mit Traumata und Schocks sowie bei Leber- und Dünndarmtransplantationen auf (Wilmore, Smith et al. 1988).

Sepsis und septischer Schock sind gekennzeichnet durch toxinbedingte Veränderungen der hämodynamischen Parameter und insbesondere durch mikrozirkulatorische Störungen. Ein verminderter Kapillarfluss und ungleiche Gewebepfusion sind an der Entwicklung von Zellschäden, Gewebhypoxie und Multiorganversagen beteiligt. Bedingt durch den hohen Sauerstoffanspruch und die Gefäßanordnung in den Mikrovilli, deren Spitzen einen niedrigeren Sauerstoffgehalt aufweisen, ist der Darm sehr anfällig für derartige Schäden.

Da es während des Schocks zu einer Vasokonstriktion im Splanchnikusgebiet kommt, vermindert sich die Perfusion, wodurch das Gewebe unzureichend mit Sauerstoff versorgt und folglich geschädigt wird. Aus solcher Verminderung der Perfusion kann ein Verlust der intestinalen Barriere resultieren, mit der Folge, dass Bakterien und deren Toxine über den Darm ins Blut gelangen (Fink 1991; Temmesfeld-Wollbruck, Szalay et al. 1998).

GROTZ et al. konnten nachweisen, dass eine erhöhte Permeabilität für Mikroorganismen und deren Toxine auch während experimentell hervorgerufener Ischämie-Reperfusionsschäden vorkommt (Grotz, Deitch et al. 1999).

Der Ischämie- und Reperfusionsschaden hat verschiedene zellmorphologische und zellphysiologische Veränderungen von pathologischem Charakter zur Folge. So kann es auch zu strukturellen und funktionellen Beeinträchtigungen der Mukosa kommen. Bei ischämischen und hypoxischen Schleimhautläsionen nimmt dabei die vaskuläre und mukosale Permeabilität zu, wodurch es zur Entstehung von Ödemen im Interstitium und in der Zellwand kommt.

Nicht nur die Ischämie führt zum Untergang der Zelle bzw. beeinträchtigt die Mukosa. Auch nach Behebung hypoxisch-anoxischer Zustände durch die Reperfusion, also durch Wiederaufuhr von Sauerstoff, entstehen Zellschäden infolge Freisetzung angesammelter Entzündungsprodukte und freier Sauerstoffradikale. Die Reperfusion der ischämisch geschädigten Darmmukosa wird dabei ebenfalls von einem raschen Endotoxin- und Bakterienanstieg begleitet (Kong, Blennerhassett et al. 1998). Untersuchungen an Mensch und Tier haben ge-

zeigt, dass solche Translokationen von Bakterien aus dem Gastrointestinaltrakt oft ursächlich für Infektionen nach Transplantationen des Dünndarms sind (Pascher, Klupp et al. 2005).

Es wird angenommen, dass der Mukosaschaden durch freie reaktive Sauerstoffradikale entsteht, die produziert und freigesetzt werden, wenn hypoxische Gewebe reperfundiert werden. Durch Calcium-abhängige proteolytische Prozesse wird die Xanthindehydrogenase in die Xanthinoxidase umgewandelt (Parks, Williams et al. 1988; Zimmerman, Grisham et al. 1988; Kong, Blennerhassett et al. 1998). Es entstehen dabei Superoxide und Hydroxylradikale, die wahrscheinlich Mukosaschäden bewirken.

Weitere Gewebeschäden entstehen, wenn sekundär Entzündungszellen, wie die neutrophilen Granulozyten, aktiviert werden und zusätzlich Enzyme und Radikale freisetzen (Parks and Granger 1988; Parks, Williams et al. 1988; Kong, Blennerhassett et al. 1998).

In verschiedenen Ischämie-Reperfusionen-Modellen konnte auch eine Aktivierung des Komplementsystems und von Zytokinen nachgewiesen werden (Fruchterman, Spain et al. 1998; Grotz, Deitch et al. 1999; Mizutani, Okajima et al. 2000; Yagmurdu, Colak et al. 2003).

Einige Autoren nehmen an, dass die Aktivierung des Komplementsystems eine wichtige Rolle bei der Aktivierung von Entzündungszellen spielt, besonders während kardiopulmonärer Bypassoperationen (Hammerschmidt, Harris et al. 1981; Kirklin, Westaby et al. 1983; Wan, LeClerc et al. 1997). Durch eine Hemmung der Komplementkaskade konnte der Ischämie-Reperfusionen-Schaden in einigen Geweben verringert werden (Fruchterman, Spain et al. 1998).

3.1.2.3. Einsatzmöglichkeiten von Darmperfusionenmodellen

Die *in vitro* Vollblutperfusion verschiedener Organe - wie zum Beispiel der Leber, der Lunge, des Herzens, der Niere - wird häufig praktiziert (Modersohn, Eddicks et al. 2001; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2002; Fondevila, Shen et al. 2004; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2004). Demgegenüber ist die isolierte Darmperfusion mit autologem Blut noch wenig erforscht und kaum angewandt worden (Van Hoogmoed, Nieto et al. 2002; Vatistas, Nieto et al. 2003). Aus den Eigenschaften des Darms ergibt sich die Möglichkeit, mit Hilfe verschiedener Darmperfusionenmodelle physiologische und pathophysiologische Probleme gründlich zu untersuchen.

Zur Untersuchung der Resorptionsfunktion des Dünndarms wurde eine Vielzahl von experimentellen Modellen entwickelt (Fisher and Parsons 1949; Bloch, Menge et al. 1971; Richter and Strugala 1985; Arnaud, Ramirez et al. 2004). Neben vorübergehend isoliert perfundierten Darmsegmenten am lebenden Tier (Haberich, Herzer et al. 1968) wurden auch Modelle

entwickelt, bei denen eine *in situ* Darmperfusion von Ratten mittels extrakorporaler Kreisläufe (Kavin, Levin et al. 1967) genaue Untersuchungen von Sekretions- und Resorptionsvorgängen ermöglichte.

In vivo und *in vitro* Perfusionssysteme des Darms werden auch in pharmakologischen und toxikologischen Studien eingesetzt (Petri, Tannergren et al. 2003; Tamura, Ohike et al. 2004). Isolierte Darmperfuisionsmodelle bieten hierbei den Vorteil, dass die am Darm ablaufenden Prozesse ohne Beeinträchtigung durch andere Gewebe untersucht werden können.

Die Anwendung von Perfusionsmodellen auf den Darm und andere Organe ist in der Intensivmedizin zur Erforschung von Sepsis und Organversagen, ebenso von zunehmendem Interesse wie in der Transplantationsmedizin. In der Intensivmedizin werden Bypassoperationen häufig unter Verwendung von extrakorporalen Kreisläufen durchgeführt. Bei solchen Operationen kann es zu einer verminderten Perfusion des Splanchnikusgebietes kommen. Die Verschlechterung der gastrointestinalen Perfusion kann bestimmte pathophysiologische Mechanismen wie Sepsis, Trauma und Schock auslösen und scheint deshalb auch als Ursache für Multiorganversagen eine bedeutende Rolle zu spielen. Es wird berichtet, dass derartige gastrointestinale Komplikationen mit einer Häufigkeit von 2 - 3 % auftreten, die Mortalitätsrate, als Konsequenz dieser Komplikationen, jedoch bei 15 - 63 % liegt (Lazar, Hudson et al. 1995; Halm 1996).

3.1.2.3.1. Darmperfuisionsmodelle: Physiologie

KAVIN et al. perfundierten isolierte Jejunumsegmente von Ratten *in situ*. Anhand von Sauerstoff- und Glukoseverbrauch, Resorption (*engl.* absorption) von Glukose, durch einen konstanten Perfusionsfluss sowie durch histologische Untersuchungen war es möglich, diese Jejunumsegmente über ein bis zwei Stunden zu perfundieren und deren Viabilität nachzuweisen (Kavin, Levin et al. 1967).

Wegen ihrer höheren Reproduzierbarkeit und leichteren Handhabung im Vergleich mit *in vivo* Modellen sind *in vitro* Modelle, bei denen am Darm ablaufende Prozesse unter Ausschluss extraintestinaler Einflüsse betrachtet werden können, von großem Vorteil.

Anfang der 1950er Jahre entwickelten WILSON und WISEMAN das Modell der „everted sacs“, bei dem ein umgestülptes, mit Flüssigkeit gefülltes Darmsegment in modifiziertem Krebs-Henseleit-Puffer inkubiert wird. Vom Duodenum bis zum Ileum wird das Darmsegment unter Vermeidung von Perforationen so umgestülpt, dass die Mukosa auf der Außenseite erscheint. Anschließend wird das Segment in eine flache Schale gelegt und werden daraus

mittels Ligaturen über Längen von 2 - 3 cm kleine Säcke gebildet. Sodann werden diese Säcke mit einer definierten Lösung und zwecks Oxygenierung mit Luft befüllt.

Die Autoren untersuchten mit ihrem Modell die Passage von Substanzen, die sich in dieser Lösung befanden. Das Problem bei der Anwendung der „everted sac“ Methode liegt in der unzureichenden Sauerstoffversorgung, so dass es infolge Anoxie am Darmsegment zu strukturellen Veränderungen kommt (Wilson and Wiseman 1954).

In modifizierter Form wurde dieses Modell, weil seine Durchführung einfach ist, vielfach eingesetzt. So wandten zum Beispiel BOLDIZSAR et al. dieses Modell an, und zwar unter Zufuhr eines O₂-CO₂-Gasgemisches in die serosaseitige Flüssigkeit, um den bidirektionalen Transport von Glycin im Schweinedarm zu untersuchen (Boldizsar, Laklia et al. 1985).

Bei FISHER und GARDNER wurde ein isoliertes Darmsegment in einen sauerstoffgesättigten Krebs-Henseleit-Puffer gehängt und das Lumen mit demselben Puffer bei einer Flussrate von 2 - 4 ml/min durchströmt (Fisher and Gardner 1974). Dieses Modell hat gegenüber dem „everted sac“ Modell den Vorteil, dass das Darmsegment einer geringeren Manipulation ausgesetzt ist und eine physiologische Position einnehmen kann.

Es ist anzunehmen, dass es bei derartigen Modellen zu unphysiologischen Gleichgewichtseinstellungen zwischen der substrathaltigen mukosalen und der serosalen Flüssigkeit kommt. Um dies zu verhindern, hängten RUMMEL und STUPP sowie RICHTER und STRUGALA das isolierte Darmsegment in eine feuchte Kammer. Die im Darmlumen enthaltene Flüssigkeit einschließlich der darin gelösten Substanzen erscheint auf der Serosaseite als Resorbat und wird über einen Behälter aufgefangen. Die Serosa wird dabei durch wasserdampfgesättigtes Carbogen mit Sauerstoff versorgt (Rummel and Stupp 1960 a; Rummel and Stupp 1960 b; Richter and Strugala 1985). Es findet also keine Vermischung der resorbierten Substrate mit dem auf der Serosaseite befindlichen Puffer statt.

Ein entscheidender Nachteil all dieser Modelle ist zwar, dass der Nettotransport der Substanzen über die gesamte Fläche des Dünndarms, also Substratverschiebungen von der Mukosa zur Serosa gemessen werden können, nicht aber solche Verschiebungen von der Mukosa in die Blutgefäße. Ein weiterer limitierender Faktor ist, dass nur eine Gesamtprobe der Serosaflüssigkeit entnommen und untersucht werden kann (Kavin, Levin et al. 1967).

Um derartigen Begrenzungen vorzubeugen und um eine Annäherung an *in vivo* Verhältnisse zu schaffen, wurden Modelle mit erhaltenem Blutfluss (Windmueller, Spaeth et al. 1970; Windmueller and Spaeth 1981), künstlichem Blutkreislauf (Kavin, Levin et al. 1967) oder arterieller Infusionstechnik entwickelt.

VATISTAS et al. entwickelten zum Beispiel ein Perfusionsmodell zur isolierten Organperfusion unter Verwendung von zwei Kreisläufen. Der eine Kreislauf diente der Oxygenierung des

Blutes, während über den zweiten Kreislauf dem (Pferde-)Jejunum das oxygenierte Blut zugeführt wurde (Vatistas, Nieto et al. 2003). Anders als in unserem Perfusionsmodell mit (Schweine-)Jejunum wurde in diesem Modell das Blut über den ersten Kreislauf nur mit Gasen, nicht aber mit Nährstoffen, angereichert.

3.1.2.3.2. Darmperfusionsmodelle: Pharmakologie und Toxikologie

Mittels Intravitalmikroskopie untersuchten SACK et al. an Schweinen den Effekt von Dopexaminen auf die gastrointestinale Perfusion während einer Bypassoperation *in vivo*. Dabei konnte der durch extrakorporaler Zirkulation hervorgerufene Perfusionschaden am Jejunum durch Dopexamingabe vermindert werden (Sack, Reidenbach et al. 2002). Nach Entwicklung isolierter Organperfusionsmodelle kann die lokale Wirksamkeit derartiger Substanzen noch besser untersucht werden.

PETRI et al. führten pharmakologische Untersuchungen am Jejunum des Menschen *in vivo* durch. Es gelang ihnen, den Metabolismus der Phytochemikalien Sulforaphan und Quercetin-3,4'-Glukosid sowie die Regulation von Phase-II-Enzymen erstmals genauer zu untersuchen (Petri, Tannergren et al. 2003).

Durch *in vitro* Perfusion des Jejunums von Ratten untersuchten TAMURA et al. den Effekt von experimentell hervorgerufenem Nieren- und Leberversagen auf die Absorption von Tacrolimus (Tamura, Ohike et al. 2004). Hierbei wurde zunächst ein akutes Nieren- oder Leberversagen erzeugt, sodann ein Darmsegment isoliert und die Absorption von Tacrolimus untersucht. Infolge der verminderten Aufnahme in die Enterozyten war die jejunale Absorption von Tacrolimus in die Blutgefäße bei den Darmisolaten von Tieren mit erzeugtem Nierenversagen vermindert (Tamura, Ohike et al. 2004). Tacrolimus wirkt immunmodulatorisch durch Inhibition der Transkription von Zytokinen, wie Interleukin-12, als auch der T-Zell-Proliferation. Des Weiteren führt es zu einer Hemmung der Histaminaktivierung. Die Substanz wird daher zur initialen Immunsuppression nach Dünndarmtransplantation angewandt (Pascher, Klupp et al. 2005).

VATISTAS et al. entwickelten einen Perfusionskreislauf, mit dem sie den Einfluss von Ischämie und Reperfusion auf die Mukosapermeabilität von isolierten Jejunumsegmenten bei Pferden untersuchten. Als Perfusionsmedium wurde Vollblut eingesetzt. Dieses Modell half die Pathogenese von Ischämie und Reperfusion besser zu verstehen und den möglichen Effekt von protektiven Therapeutika zu analysieren (Vatistas, Nieto et al. 2003).

Zur *in vitro* Untersuchung einer Ringer-Laktat-Lösung, angereichert mit essentiellen Elektrolyten, Energielieferanten und freien Radikalfängern, verwendeten VAN HOOGMOED et al. ebenfalls ein Vollblutperfusionsmodell. Es zeigte sich, dass sich der Einsatz derartiger Lösungen hinsichtlich prophylaktischer und therapeutischer Maßnahmen von Ischämie- und Reperfusionsschäden positiv auswirken kann (Van Hoogmoed, Snyder et al. 2001; Van Hoogmoed, Nieto et al. 2002; Vatistas, Nieto et al. 2003).

3.1.2.3.3. Darmperfusionsmodelle: Sepsis, Schock und Multiorganversagen

Sepsisbedingte Zirkulationsstörungen sind gekennzeichnet durch einen verminderten Kapillarfluss und ungleiche mikrovaskuläre Perfusion. Um diese Mechanismen besser zu verstehen, untersuchten MAYER et al. an isoliert perfundiertem Ileum von Kaninchen den Einfluss von *Escherichia coli* Hämolysin (HlyA), einem porenbildenden bakteriellen Toxin. Als Perfusionsmedium wurde ein modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer, angereichert mit gewaschenen Erythrozyten und Hydroxyethylstärke, verwendet. Die Zufuhr von HlyA über die *A. mesenterialis superficialis* führte zu einer vorübergehenden Vasokonstriktion. Weiterhin kam es zu einem dosisabhängigen Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration und Ödembildung. MAYER et al. vermuteten, dass dies auf eine postkapilläre Vasokonstriktion und erhöhte kapilläre Durchlässigkeit zurückzuführen ist (Mayer, Temmesfeld-Wollbruck et al. 1999).

3.1.2.3.4. Darmperfusionsmodelle: Transplantationsmedizin

Die Mukosa scheint besonders empfindlich auf Ischämie und Reperfusion zu reagieren, so dass bereits eine kurze Ischämiezeit zu einem erheblichen Schaden führen kann, der durch die Reperfusion noch verstärkt wird. Aus diesem Grund ist eine optimale Organkonservierung essentiell für den Erfolg von Dünndarmtransplantationen. Die Bereitstellung von Energie ist dabei besonders wichtig für die Aufrechterhaltung des Zellmetabolismus und damit für die Lebensfähigkeit ischämischer Gewebe.

Es wird noch immer kontrovers diskutiert, welche der ursprünglich für die Konservierung anderer Organparenchyme entwickelten Lösungen - University of Wisconsin (UW), Bretschneider's-HTK, Euro-Collins (EC) oder einfache Ringer-Laktat-Lösung (RL) - für ein Dünndarmtransplantat die beste Konservierung gewährleistet.

POHLAND et al. verwendeten 1995 ein *in vitro* Reperusionsmodell mit Rattendärmen, um die Konservierungslösungen und deren Effekte miteinander zu vergleichen. Dabei durchspülten sie die *A. mesenterica superficialis* und das Darmlumen mit der entsprechenden Konser-

vierungslösung (UW, EC, RL), lagerten das Darmsegment für zwei Stunden bei 2 °C und reperfundierten es anschließend über 30 Minuten mit modifiziertem Krebs-Henseleit-Puffer (Pohland, Toennies et al. 1995).

BURGMANN et al. führten einen Vergleich zwischen Bretschneider's-HTK und der Euro-Collins-Lösung durch. Dafür lagerten sie Colonsegmente von Ratten für sieben Stunden bei 4 °C und reperfundierten die Segmente anschließend für 60 Minuten mit modifiziertem Krebs-Henseleit-Puffer (Burgmann, Reckendorfer et al. 1996).

Verbesserte Perfusionsmodelle sollen dazu beitragen, geeignete Konservierungslösungen zu entwickeln, die einen Mukosaschaden während kalter Konservierung vermindern. Für solche Untersuchungen ist es von Bedeutung, bessere *in vitro* Perfusionssysteme zu entwickeln und Blut als Perfusionsmedium einzusetzen, um somit physiologische Voraussetzungen zu schaffen.

Spezies	Darmsegment	Medium	Modell	Anwendung	Autor(en)
Ratte	Jejunum	modifizierte Ringer-Lösung mit gewaschenen Erythrozyten	<i>in situ</i> Perfusion	Resorption: Glukose	Kavin et al. 1967
Ratte und Hamster	Dünndarm	Krebs-Henseleit-Puffer	<i>in vitro</i> „everted sac“ Diffusion	Resorption: Glukose und L-Methionin	Wilson und Wiseman 1954
Schwein	Jejunum	Kowarski's-Chlorid-Lösung	<i>in vitro</i> „everted sac“ Diffusion	Resorption: Glycin	Boldizsar et al. 1985
Ratte	Jejunum	Krebs-Henseleit-Puffer	<i>in vitro</i> luminale Infusion	Resorption: Glukose	Fisher und Gardner 1974
Schwein	Ileum	Vollblut	<i>in vivo</i> Perfusion	Bypassoperation; Pharmakologie: Dopexamin	Sack et al. 2002
Mensch	Jejunum	Vollblut	<i>in vivo</i> Perfusion	Pharmakologie: Phytochemikalien	Petri et al. 2003
Ratte	Jejunum	modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer	<i>in vitro</i> Perfusion	Pharmakologie: Tacrolimus	Tamura et al. 2004
Pferd	Jejunum	Vollblut	<i>in vitro</i> Perfusion	Pharmakologie und Sepsis	Vatistas et al. 2003
Pferd	Jejunum	Vollblut	<i>in vitro</i> Perfusion	Pharmakologie und Sepsis	Van Hoogmoed et al. 2001
Kaninchen	Ileum	Krebs-Henseleit-Puffer angereichert mit Erythrozyten	<i>in vitro</i> Perfusion	Sepsis: Hly A	Mayer et al. 1999
Ratte	Dünndarm	modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer	<i>in vitro</i> Perfusion	Transplantation: Konservierungslösungen	Pohland et al. 1995
Ratte	Colon	modifizierter Krebs-Henseleit-Puffer	<i>in vitro</i> Perfusion	Transplantation: Konservierungslösungen	Burgmann et al. 1996

Tab. 2: Anwendungsgebiete von Darmmodellen

3.2. Perfusionsmedien

Ein häufiges Problem bei der Verwendung von Perfusionssystemen isolierter Organe ist die unzureichende Oxygenierung. Aus diesem Grund kommt dem Perfusionsmedium eine entscheidende Bedeutung zu.

Das Spektrum an verwendeten Perfusionsmedien reicht von zellfreien Elektrolytlösungen (Brezis, Shina et al. 1988; Gabbai, Peterson et al. 1994) über modifizierte Pufferlösungen (Minor, Klauke et al. 1997; Mayer, Temmesfeld-Wollbruck et al. 1999) bis hin zum Vollblut (Grosse-Siestrup, Wiemer et al. 2002; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2003; Hochel, Lehmann et al. 2003; Vastistas, Nieto et al. 2003; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2004).

Der Einsatz zellfreier Lösungen bietet den Vorteil der leichten Verfügbarkeit. Ein entscheidender Nachteil ist allerdings, dass durch das Fehlen korpuskulärer Sauerstoffträger die Sauerstoffkapazität des Mediums schneller erschöpft ist und sich das Modell von *in vivo* Bedingungen entfernt.

Eine Zwischenstellung nehmen Perfusionsmedien mit Blutbestandteilen ein. So wurden für pharmakologische Resorptionsstudien am Darm Perfusionsmedien mit gewaschenen Erythrozyten (Kavin, Levin et al. 1967) oder mit künstlichen Sauerstofftransportern angereichert.

Ein Vorteil der Vollblutperfusionsen, die vor allem bei der Anwendung von *in vitro* Modellen nur selten durchgeführt werden, ist, dass bei ihnen die Erythrozyten eine hohe Sauerstoffkapazität aufweisen; ein weiterer Vorteil ist ihre Ähnlichkeit mit den entsprechenden normalerweise im Körper ablaufenden Prozessen. Demgegenüber wirkt sich bei der Vollblutperfusion der Kontakt von Blut und Blutzellen mit den fremdartigen Oberflächenstrukturen in künstlichen Schlauchsystemen nachteilig aus. Ein weiterer Nachteil ist, dass es durch die Pumpsysteme zu einer erhöhten mechanischen Beanspruchung der Blutzellen kommt (Leverett, Hellums et al. 1972). Beim Kontakt zwischen dem Medium Blut und dem Material der extrakorporalen Kreisläufe, konnte auch während der Hämodialyse gezeigt werden, dass es zu einer vorübergehenden Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und demzufolge zu einer Anreicherung dieser Zellen in der Lunge kommt. Die Dialysemembran induziert die Aktivierung der Leukozyten. Der Grad der Aktivierung wird dabei häufig als Index der Biokompatibilität solcher Membranen herangezogen (Gutierrez, Alvestrand et al. 1994). Die mögliche Folge einer derartigen Aktivierung ist, dass die neutrophilen Granulozyten die Gefäße verlassen und das Interstitium infiltrieren und dort pathophysiologische Veränderungen hervorrufen, indem sie Sauerstoffradikale freisetzen und mikrovaskuläre Schäden verursachen (Nyhlen, Hultkvist-Bengtsson et al. 2000).

NYHLEN et al. konnten nachweisen, dass es bei der isoliert hämoperfundenen Lunge von Schweinen zwar zu einer Aktivierung von neutrophilen Granulozyten durch fremde Oberflächenstrukturen kommt, jedoch ohne eine gesteigerte Permeabilität der Gefäßwände in der Lunge selbst und ohne eine Produktion von Sauerstoffradikalen herbeizurufen (Nyhlen, Hultkvist-Bengtsson et al. 2000).

Extrakorporale Kreisläufe unter Verwendung von Blut ermöglichen es auch, den Einfluss von fremden Oberflächenstrukturen auf das Perfusionsmedium Blut zu untersuchen und besser zu verstehen.

Beim Vergleich der Effekte verschiedener Perfusionsmedien auf funktionelle Parameter der isoliert perfundenen Hundeniere konnten HOECHEL et al. zeigen, dass die Nierenfunktion durch Vollblutperfusion deutlich besser erhalten werden konnte als durch Perfusionen mit unterschiedlich zusammengesetzten blutfreien Tyrodelösungen. Die Aufrechterhaltung physiologischer Konditionen und physiologischer funktioneller Parameter war auf ein erhöhtes Sauerstoffangebot in den mit Blut perfundenen Gruppen zurückzuführen, das durch hämoglobingebundene Sauerstofftransporter in Erythrozyten ermöglicht wurde (Hochel, Lehmann et al. 2003).

Auf Vollblut basierende Perfusionssysteme haben den Vorteil, dass sie unter physiologischen Bedingungen - das heißt hier: mit Blut und normotherm - durchgeführt werden können. Ein weiterer Vorteil ist, dass eine Eliminierung biologisch aktiver Substanzen durch andere Organe nicht stattfinden kann, so dass die organspezifische Wirksamkeit spezifischer Medikamente untersucht werden kann.

Durch die isoliert hämoperfundenen Organe ergibt sich vor allem die Möglichkeit, pharmakologische und toxikologische Untersuchungen durchzuführen sowie organspezifische pathophysiologische Prozesse zu erforschen und dadurch Tierversuche zu minimieren.

Perfusionsmedium	Vorteil	Nachteil
zellfrei	uneingeschränkt vorhanden, keine immunologische Beeinflussung	limitierte Sauerstoffkapazität, limitierte physiologische Aussage
Erythrozytenkonzentrate	keine immunologische Beeinflussung	limitierte Sauerstoffkapazität, keine Eiweißbindung von Prüfsubstanzen, limitierte physiologische Aussage
Blut	physiologisch	immunologischer Einfluss, mögliche Häm-/Bioinkompatibilitäten

Tab. 3: Vor- und Nachteile von Perfusionsmedien

3.3. Kriterien für die Auswahl geeigneter Organspender

Der Einsatz von Labortieren in Perfusionsmodellen, speziell der Einsatz von Nagetieren, ist häufig. Da die Organe kleiner Labortiere teilweise große physiologisch-anatomische Abweichungen vom Menschen aufweisen, ist es von besonderem Interesse, Tiermodelle zu entwickeln, bei denen solche Abweichungen geringer ausfallen.

Bei der isolierten Perfusion der Rattenniere zeigte sich zum Beispiel, dass sich das Organ hinsichtlich der pharmakologischen Wirkung und der renalen Architektur von den menschlichen Nieren wesentlich unterscheidet (Maack 1980).

Demgegenüber ist die Niere des Schweins der Niere des Menschen nach Größe und Funktionsweise viel ähnlicher und deshalb auch besser vergleichbar (Nielsen and Maaske 1966). Entsprechendes gilt für den Verdauungstrakt, was für das hier in Betracht gezogene Modell von herausragender Bedeutung ist.

Die Verwendung kleiner Nagetiere bei der isolierten Organperfusion mit Vollblut als Perfusionsmedium ist auch eben wegen ihrer Größe problematisch. Denn es bedarf einer Vielzahl solcher Tiere, um zu einem Blutvolumen zu gelangen, das zu einer Befüllung des Systems ausreicht. Außerdem sind die Manipulationen am Organ kleiner Nagetiere, wie unter anderem die Kanülierung der Gefäße wegen der sehr feinen Struktur der Gefäße schwierig.

Es empfiehlt sich also, alternative Perfusionsmodelle unter Verwendung von Schweinen zu etablieren, weil diese in den hier belangvollen Hinsichten dem Menschen ähneln. Das Schwein besitzt gegenüber anderen pflanzenfressenden Nutztieren, wie zum Beispiel dem Rind, auch Vorteile hinsichtlich der Blutzusammensetzung. Das Rinderblut weist niedrige Glukosekonzentrationen, aber einen hohen Gehalt an flüchtigen Fettsäuren auf, die normalerweise nicht im Plasma des Menschen zu finden sind (Unger, Haltern et al. 2003). Auch überwiegen beim Rind die Lymphozyten im weißen Blutbild, während beim Menschen ein granulozytäres und beim Schwein ein lympho-granulozytäres Blutbild vorliegt. Das weiße Blutbild des Schweins ist dem des Menschen also ähnlicher. Durch den Vergleich unterschiedlicher Spezies von Tieren bezüglich Hämolyse und Koagulation während Blutperfusionen haben MUELLER et al. herausgefunden, dass das Schwein eher als das Rind mit dem Menschen vergleichbar ist (Mueller, Tevaeearai et al. 2001 a; Mueller, Tevaeearai et al. 2001 b).

Von entscheidendem Vorteil bei der Verwendung von Organen des Schweins ist außerdem die Möglichkeit, diese Organe ebenso wie autologes Blut in großen Mengen von kommerziellen Schlachthöfen zu beziehen und auf diese Weise Tierversuche drastisch zu minimieren

(Modersohn, Eddicks et al. 2001; Grosse-Siestrup, Pfeffer et al. 2002; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2002; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2003).

Durch die Etablierung solcher und ähnlicher Perfusionsmodelle ist es bereits gelungen, physiologische und pharmakologische Studien an Organen von Schlachthoftieren durchzuführen (Modersohn, Eddicks et al. 2001; Grosse-Siestrup, Unger et al. 2003; Date, McMahon et al. 2005).

3.4. Antikoagulantien

3.4.1. Antikoagulantien und deren Wirkungsweise

Die Verwendung von gerinnungshemmenden Mitteln (Antikoagulantien) ist dann angezeigt, wenn der Bildung von Blutgerinnseln (Thromben) innerhalb der nicht-eröffneten Gefäßbahn vorgebeugt werden soll. Zwei Gruppen der gerinnungshemmenden Mittel haben sich bewährt:

Die Gruppe der Cumarinderivate ¹(Vitamin-K-Antagonisten) wirkt in der Leber dem Vitamin-K entgegen. Vitamin-K katalysiert die Übertragung der Carboxylgruppen an die Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X sowie Protein C und Protein S. Cumarinderivate hemmen die Vitamin-K-Reduktase, was die vollständige Ausbildung der Gerinnungsfaktoren hindert. Dadurch wird ihre Wirkung im Ablauf der Gerinnung geschwächt, so dass die Gerinnung insgesamt verzögert abläuft (Prohaska 2004).

Die Gruppe der Heparine bzw. heparinähnlichen Substanzen führt dagegen nicht zu veränderten Gerinnungsfaktoren in der Zirkulation, sondern verstärkt die Wirkung eines natürlichen Gerinnungshemmstoffes im Blut, des Glykoproteins Antithrombin III. Antithrombin III inaktiviert verschiedene Gerinnungsfaktoren, wie zum Beispiel das Thrombin und den Faktor X (Prohaska 2004).

Das Molekulargewicht der Heparine liegt zwischen 3 000 bis 30 000 Dalton. Der besondere Vorteile von Heparin liegt in der Schnelligkeit seiner Wirkung und darin, dass die Wirkung durch Verabreichung von heparinbindenden organischen Proteinkationen (z.B. Protamin) auch schnell wieder aufgehoben werden kann (Abramson and Niles 1999).

Indikationen für Heparin liegen in der Prophylaxe postoperativer venöser Thrombosen sowie in der Therapie der tiefen Venenthrombose, der Lungenembolie, des akuten Myokardinfarktes. Außerdem wird Heparin als Antikoagulans bei extrakorporaler Zirkulation verwendet (Prohaska 2004).

Da isoliert hämoperfundierte Organe über keine Leber verfügen und Heparin seine Wirkung direkt im Blut entfaltet, ist es, anders als die Gruppe der Cumarinderivate, in extrakorporalen Kreisläufen einsetzbar.

¹ Marcumar®= Phenprocoumon, Cumarine

Neuere und noch selten eingesetzte Präparate sind zum Beispiel das Hirudin² und Ca²⁺-Komplexbildner wie das Zitrat. Hirudin ist ein Polypeptid, das die Wirkung des Thrombins blockiert, indem es sich an das aktive Zentrum bindet. Es kommt vor allem bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie Typ II zum Einsatz (Abramson and Niles 1999).

3.4.2. Einsätze von Antikoagulantien in extrakorporalen Systemen

Hämoperfusionsmodelle schaffen *in vivo* nahe Verhältnisse, sind aber in verschiedener Hinsicht empfindlich und müssen deshalb sorgsam aufgebaut und angewandt werden. Da die extrakorporalen Schlauchsysteme aus nichtendothelialisierten Oberflächen bestehen, muss man davon ausgehen, dass es zu einer Interaktion zwischen dem Medium Blut und den Oberflächenstrukturen der Plastik- und Silikonmaterialien kommt. Die Entwicklung eines geeigneten Konzepts zur Antikoagulation sowie die Verwendung geeigneter Materialien ist deshalb sehr wichtig. Dabei erfordert der Einsatz extrakorporaler Systeme ein sicheres Regime der Antikoagulation, um einerseits eine exzessive Aktivierung des Gerinnungssystems und andererseits massive Blutungen zu vermeiden.

Zitrat, Hirudin und Heparin sind die am häufigsten untersuchten Antikoagulantien bei der Verwendung extrakorporaler Kreislaufsysteme. Im Zusammenhang mit der Behandlung von chronischem Nierenversagen mittels Hämodialyse wurden diese und weitere Antikoagulantien häufig im Hinblick auf Blutungskomplikationen und Hämokompatibilität untersucht (Janssen, Deegens et al. 1996; Janssen and van der Meulen 1996; Abramson and Niles 1999; Hofbauer, Moser et al. 1999).

PALSSON und NILES gelang eine erfolgreiche regionale Antikoagulation mit Zitrat während kontinuierlicher venovenöser Hämodialyse in kritisch kranken Patienten vor dem Hintergrund eines hohen Risikos von Blutungskomplikationen. Sie berichteten auch über zwei Patienten, die Symptome einer Zitratintoxikation aufwiesen (Palsson and Niles 1999). Ähnliche Ergebnisse erzielten TOLWANI et al. bei 29 kritisch kranken Patienten, die ebenfalls einer venovenösen Hämodialyse unterzogen wurden (Tolwani, Campbell et al. 2001).

Der Vorteil der Antikoagulation mit Zitrat *in vivo* besteht darin, dass es zu einer ausreichenden Antikoagulation des extrakorporalen Kreislaufes kommt, eine systemische Antikoagulation aufgrund der Metabolisierung von Zitrat in Bikarbonat aber ausbleibt und damit das Risiko einer Blutung entfällt.

² Refludan®= Lepirudin; gentechnisch hergestelltes Hirudin

Bei der Verwendung von Zitrat müssen nach ABRAMSON und NILES jedoch mehrere Probleme beachtet werden (Abramson and Niles 1999):

Zitrat ist ein Ion und wird regelmäßig in Form von Trinatriumzitrat verwendet. Wenn das Trisodiumzitrat in konzentrierter Form infundiert wird, besteht die Gefahr der Entstehung einer Hypernatriämie. Deshalb darf Zitrat nur in Verbindung einer ausreichend hypotonen Lösung oder als Teil einer isotonen Lösung verabreicht werden.

Auch kann es durch die rasche Metabolisierung von Zitrat in Bikarbonat in der Leber zur Entstehung einer Alkalose kommen.

Zitrat entfaltet seine antikoagulatorische Wirkung nur, wenn es an ionisiertes Calcium gebunden ist. Diese Wirkung ist abhängig von den Konzentrationsverhältnissen. Bei zu hoher Konzentration von Calcium sinkt die Affinität von Zitrat (Abramson and Niles 1999).

Hirudin wirkt über die direkte Hemmung von Thrombin, wodurch es das Heparin in seiner Wirkung auf das Thrombin nicht beeinträchtigt. Hirudin wird über die Niere ausgeschieden, so dass bei Nierenerkrankungen die Gefahr der Akkumulation in der Niere besteht (Abramson and Niles 1999).

Auch bei der Plasmapherese werden Antikoagulantien eingesetzt (Omokawa, Malchesky et al. 1988; Reimann and Mason 1990). Wie bei der Hämodialyse hat sich auch hier Heparin durchgesetzt (Schinzel, Berghoff et al. 2006), obwohl immer wieder versucht wurde, die Vorteile von Zitrat (Wirguin, Brenner et al. 1990) und Hirudin (Willey, de Denuis et al. 2002) zu nutzen.

Untersuchungen zur Plasmaseparation mittels Kapillarmembranen ergaben, dass höhere Heparinkonzentrationen die rheologischen Eigenschaften des Blutes stabilisieren und verlässlichere Daten im Hinblick auf die *in vitro* Plasmafiltration liefern (Unger, Haltern et al. 2003).

3.4.3. Kapillar-Dialyse-Module

Kapillar-Dialyse-Module sind für die einmalige Anwendung bei der chronischen Hämodialyse bestimmt; sie dienen dazu, harnpflichtige Substanzen aus dem Blut zu eliminieren. Aufgrund ihrer Funktionsweise sind sie auch besonders gut für Perfusionsmodelle geeignet. Sie bewirken den Abtransport kataboler Stoffe sowie die Oxygenierung des Blutes und erfüllen somit eine Filterfunktion. Kapillar-Dialyse-Module³ bestehen aus feinsten Kapillarmembranen, die eine Porengröße von 5 000 Dalton mit einer effektiven Gesamtoberfläche von 1,6 m² aufwei-

³ Fresenius Polysulfone® Kapillardialysatoren: Fresenius Medical Care AG, Bad Homburg

sen. Material und Struktur der Kapillaren kann unerwünschte Reaktionen des Mediums Blut hervorrufen.

Einige Marker, so die Aktivierung der Thrombo-/Leukozyten und des Komplementsystems und die Entwicklung von Hämolyse, sind für die Beurteilung der Biokompatibilität verfügbar (Salzman 1971). Der Kontakt von Blut mit fremden Oberflächen kann dabei zu einer Aktivierung des Gerinnungs- und Komplementsystems führen (Colton, Ward et al. 1994).

Auch der Einsatz von Oxygenatoren bei Eingriffen am offenen Herzen erfordert eine Antikoagulation, obwohl die dadurch erhöhte Blutungsneigung unerwünscht ist (Addonizio 1990). In den letzten Jahren wurde versucht, mit Heparin beschichtete Kreisläufe für kardiopulmonäre Bypassoperationen zu entwickeln, damit die Antikoagulation reduziert und deren Biokompatibilität verbessert werden kann (te Velthuis, Jansen et al. 1996; Lazar, Zhang et al. 1997).

Viele Faktoren, wie materialabhängige Bioinkompatibilität, materialunabhängige Ischämie-Reperfusion oder Hypothermie, sind für die Induzierung von Entzündungen vor allem während kardiopulmonärer Bypassoperationen bekannt. Es kommt zur hämostatischen Aktivierung, zur gesteigerten vaskulären Permeabilität, zur Aktivierung des Komplementsystems und zum Übertritt von Endotoxinen in die Blutbahn (Wan, LeClerc et al. 1997).

LINDHOLM et al. verglichen die Gerinnung, die Fibrinolyse und die Aktivierung von Entzündungsmediatoren zwischen zwei verschiedenen extrakorporalen Perfusionssystemen, die in kardiopulmonären Bypassoperationen eingesetzt wurden.

Das eine Perfusionssystem bestand aus einem geschlossenen, über Zentrifugalpumpen angetriebenen Kreislauf, in welchem die Schläuche mit Heparin beschichtet waren. Demgegenüber bestand das konventionelle Perfusionssystem aus einem über Rollenpumpen angetriebenen Kreislauf, zu dem ein Blutreservoir gehörte und in dem die Schläuche unbeschichtet waren.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Verwendung von geschlossenen vollständig heparinisierten Perfusionskreisläufen zu einer Verringerung der Komplementaktivierung und Fibrinolyse sowie zu einer verminderten Freisetzung von Zytokinen und neutrophilen Granulozyten führt. Eine bessere Biokompatibilität war gegenüber dem konventionellen Perfusionssystem ebenfalls nachweisbar (Lindholm, Westerberg et al. 2004).

In einem anderen *in vivo* Perfusionsmodell wurde an Ratten untersucht, welchen spezifischen Effekt Heparin auf den renalen Ischämie-Reperfusionsschaden hat. Hierbei konnte demonstriert werden, dass Heparin einen antiinflammatorischen Effekt auf das Komplementsystem hat. Bei den mit Heparin injizierten Ratten konnte gegenüber den Ratten bei denen

eine renale Ischämie-Reperfusion ohne Heparininjektion durchgeführt wurde, kein Immunglobulin M (IgM) und C3 im Gewebe nachgewiesen werden. Des weiteren erschienen die proximalen sowie distalen Tubuli histologisch intakt (Yagmurdu, Colak et al. 2003).

YAGMURDUR et al. untersuchten auch den dosisabhängigen Effekt von Heparin auf die bakterielle Translokation, die Apoptose von Epithelzellen im Darm und die Komplementaktivierung nach Verbrennungen. Sie konnten zeigen, dass mit zunehmender Heparinkonzentration die bakterielle Translokation und die Komplementaktivierung sanken. In Korrelation dazu zeigte sich mit höherer bakterieller Translokation ein stärker ausgeprägter Apoptosegrad der Epithelzellen (Yagmurdu, Turk et al. 2005).

Auch andere experimentelle Studien ergaben, dass durch den Einsatz von Heparin die Aktivierung des Komplementsystems reduziert wird. Die Blockade des Komplementsystems durch Heparin scheint dabei unabhängig vom Antikoagulationseffekt des Heparins zu sein (Kazatchkine, Fearon et al. 1979). Heparin wirkt über den „Alternativen Weg“ der Komplementkaskade, indem es die Convertase, ein wichtiges Enzym des Komplementsystems, hemmt (Weiler, Yurt et al. 1978; Kazatchkine, Fearon et al. 1979).

Die antiinflammatorische Wirkung durch Hemmung des Komplementsystems macht im Hinblick auf den Ischämie-Reperfusionsschaden (Austen, Kyriakides et al. 1999) einen weiteren Vorteil des Heparins gegenüber anderen Antikoagulantien aus.

3.5. Vermeidung von Ischämie-Reperfusionsschäden

Die hier in Rede stehenden Perfusionmodelle sind auch geeignet, Radikalfänger und Protektiva auf ihre Eignung zur Eindämmung von Ischämie-Reperfusionsschäden zu prüfen. Die Verwendung von Heparin scheint es möglich zu machen, den Ischämie-Reperfusionsschaden so zu minimieren, dass die Vitalität des Gewebes länger aufrechterhalten werden kann.

SCHEPPACH et al. verglichen den Effekt von freiem Glutamin mit dem Dipeptid Alanyl-Glutamin hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Proliferation der Mukosa im Ileum und im Colon des Menschen. Bei parenteraler Applikation ist Alanyl-Glutamin stabiler als Glutamin. Mit der Studie sollte herausgefunden werden, ob Glutamin oder das Alanyl-Glutamin eine lokale Wirkung auf die Zellproliferation der Mukosa des Ileums und des Colons besitzen. Es wurden endoskopisch Biopsien normaler Mukosa entnommen und dann auf Filterpapier in Zellkulturplatten mit Medium angereichert, das Glutamin oder Alanyl-Glutamin enthielt. Nach einer Inkubationszeit von zwei Stunden erfolgte die immunhistochemische Aufarbeitung der Proben. Beide Formen bewirkten gleichermaßen eine Stimulation der Zellproliferation im Ileum und Colon (Scheppach, Loges et al. 1994).

AGUILAR-NASCIMENTO et al. untersuchten den Effekt einer intraluminalen Glutamin-Gabe auf die intestinale Mukosa während der Ischämiephase. Sie führten eine *in situ* Perfusion durch, bei der in Narkose sechs Kompartimente gebildet wurden. Alle 2 cm wurde das Darmlumen in einem gefäßfreien Abschnitt des Mesenteriums ligiert. Die äußeren Kompartimente der beiden Darmregionen (Jejunum und Ileum) wurden durch Abklemmen der zuführenden Gefäße für 30 Minuten einer Ischämie ausgesetzt; unterdessen blieb bei den mittleren Kompartimenten die Blutzufuhr ununterbrochen. In die beiden äußeren Kompartimente des Ileums und Jejunums wurden dann direkt zum Ischämiebeginn je 2 ml einer Elektrolyt + 4% Glutamin-Lösung oder eine reine Elektrolytlösung ohne Glutamin eingeführt. Die mittleren Kompartimente erhielten keine Flüssigkeit. Sowohl im Jejunum als auch im Ileum ist ein größerer mukosaler Schaden in den Kompartimenten entstanden, die mit reiner Elektrolytlösung behandelt wurden. In den Kompartimenten mit Glutamin war weiterhin eine kleinere Anzahl an neutrophilen Granulozyten nachweisbar.

Daraus wurde geschlossen, dass Glutamin in Verbindung mit dem Ischämie-Reperfusionsschaden eine die Mukosa schützende Funktion übernimmt und zu einer verminderten Akkumulation von neutrophilen Granulozyten in der Lamina propria mucosae des Darms führt (de Aguilar-Nascimento, Gurgel Marques et al. 2003).

Glutamin ist eine der im Blut am häufigsten vorkommenden Aminosäure. Während Glutamin unter normalen Umständen zu den nicht-essentiellen Aminosäuren zählt, wird es während kritischer Erkrankungen und bei Fehl- bzw. Unterversorgung essentiell (Lacey and Wilmore 1990). Nach operativen Eingriffen, Traumata oder Sepsis ist ein deutlicher Abfall der intrazellulären Glutaminkonzentration bis hin zur völligen Erschöpfung der Glutaminreserven zu verzeichnen (Vinnars, Bergstrom et al. 1975). Infolgedessen kommt es zur Atrophie der Epithelzellen im Dünndarm, was zu einer Aufhebung der Darmbarriere mit nachfolgender bakterieller Translokation führen kann (Souba 1991).

Das Vorhandensein von Glutamin kann dabei die Glutathionkonzentration während experimentell hervorgerufenem Ischämie-Reperfusionsschaden aufrechterhalten. Glutathion ist ein Tripeptid, das aus den Aminosäuren Glutamin, Cystein und Glycin besteht. Es ist Bestandteil wichtiger enzymatischer Reaktionen und dient als Radikalfänger sowie zur Entgiftung von Stoffen (Harward, Coe et al. 1994).

Da es noch keine spezielle Konservierungslösung für den Dünndarm gibt, sollte bis auf weiteres hilfsweise Glutamin eingesetzt werden.

Das Modell der isolierten Darmperfusion erscheint als gut geeignet unter *in vivo* nahen Verhältnissen wichtige Fragen der Intensivmedizin- und der Transplantationsmedizin zu untersuchen und Methoden ausfindig zu machen, mit denen Ischämie-Reperfusionsschäden vermindert und Transplantationen verbessert werden können.

3.6. Cadmium

Die Cadmiumresorption findet über die Nahrung, die Atmung und die Haut statt. Ein Mangel an Calcium, Vitamin-D und Spurenelementen wie Zink und Kupfer erhöht die intestinale Cadmiumaufnahme ebenso wie Eisenmangel. Der DCT-1 Metallionentransportkomplex, der bei Eisenmangel verstärkt zu finden ist, ist die Haupteintrittspforte für Cadmium aus dem Darm in das Blut (Gunshin 1997).

FOULKES nimmt an, dass verschiedene Metallionen mit Cadmium intestinal um die Resorption konkurrieren, weil die Anwesenheit von Blei, Nickel und Magnesium im Darm die Cadmiumresorption erniedrigt (Foulkes 1985).

Einmal in die Blutbahn gelangt, wird Cadmium an Plasmaproteine wie Metallothioneine (MT), und Albumin gebunden transportiert. Nur ein kleiner Teil liegt frei in Ionenform vor (Nordberg 2004).

Die Cadmiumkonzentration im Blut ist ein guter Indikator für die aktuelle Cadmiumbelastung. Zur Beurteilung der Gesamtkörperlast wird der Quotient aus Urin- und Blutkonzentration hinzugezogen (Jin 2002).

Da Untersuchungen ergeben haben, dass Cadmium über die Aktivierung von Phospholipiden zu einer Freisetzung des Gerinnungsfaktors-III (Gewebefaktor) führt (Carson and Königsberg 1980), kann dieser Stoff als potentieller Interaktionsfaktor der Gerinnung angesehen werden.