4 Diskussion

Zur Verbesserung der Lebensbedingungen im Rahmen des zivilisatorischen und kulturellen Fortschrittes der letzten Jahrhunderte hat sich eine unbedachte Ausbeutung sämtlicher dem Menschen zur Verfügung stehender natürlicher Ressourcen etabliert. Die hiermit in Verbindung stehende zunehmende Umweltverschmutzung ist als Ergebnis eigenen Handelns dringend aufzuhalten!

Die Aufnahme und die gesundheitsschädigenden Auswirkungen von Umweltschadstoffen sollten deswegen intensiviert erforscht werden. Für den Menschen spielt neben der pulmonalen vor allem die enterale Absorption dieser sich ubiqitär anhäufenden Stoffe eine große Rolle. Ihre Untersuchung kann mit Respekt für Tiere am Beispiel der isolierten autologen Hämoperfusion erfolgen. Somit kann einerseits der Tierschutz gewahrt, andererseits auch bessere Ergebnisse durch Vermeidung systemischer Wechselwirkung mit der toxischen Substanz erzielt werden.

Im vorliegenden Modell wurden Versuche mit Ingestion von 1 mg bzw. 10 mg Cadmiumchlorid eines isolierten Jejunumabschnitts ausgeführt.

4.1 Diskussion der Methodik

Verschiedene Methoden zur Untersuchung enteraler Absorption von Substanzen wurden in den letzten Jahren etabliert. Sie reichen von der Prüfung am Lebenden bis hin zur Zellkultur. (Abb. 28). Es liegen Beschreibungen bezüglich der Cadmiumabsorption beim Menschen (Mc Lellan, 1978) vor, die ethisch jedoch kontrovers diskutiert werden. Dies gilt auch für Tierexperimente, welche auch für den Nachweis der Aufnahme toxischer Substanzen wie Cadmium durchgeführt wurden. Zum Schutz des Menschen und seiner Umwelt vor dem Einfluss schädigender Wirkung beim Umgang mit Chemikalien wurde 2003 REACH (Registrierung, Evaluierung und Autorisierung von Chemikalien) von der EU-Kommission eingeführt.

Das Perfusionsmodell stellt ein valides Tierversuchsersatzmodell dar, dessen Ziel es ist, Organe zu perfundieren, die bei der Schlachtung gewonnen wurden. Somit können Experimente an lebenden Tieren eingespart werden. Die vorliegenden Versuche sind als Vorarbeiten zu dieser Methodik zu betrachten, denn die zur Absorptionsbestimmung verwendeten Jejunumabschnitte wurden unter definierten Bedingungen der experimentellen Chirurgie – wie schon früher für die Niere beschrieben(Von Baeyer et al., 1997) - entnommen.

Ein Vorteil der autologen Hämoperfusion isolierter Organe besteht in der Umgehung systemischer Wirkungen – etwa Metabolisierung durch Leber und Niere – welche die Ergebnisse verändern können. Des Weiteren sind sowohl eine exakte Kontrolle des Ingestierten möglich, als auch gleich bleibende bzw. regulierbare Testbedingungen (z. B. Blutdruck, Temperatur). Dies gestattet eine genauere Vergleichbarkeit der Versuche untereinander und bietet damit nicht nur eine Alternative zum Tierversuch, sondern auch Vorteile in der kontrollierten Testung.
Dem gegenüber steht jedoch eine gewisse Komplexität des Versuches, die durch verschiedene Faktoren (z. B. Organentnahmeprozess, Stoffwechsellage und mehr) erreicht wird und sich ebenfalls ökonomisch niederschlägt. Die Verwendung von Schlachthausorganen könnte in Zukunft aber einen großen Teil der Kosten, welche für Labortiere aufgewendet werden müssen, verringern.
In Zellkulturen (Caco-2-Zellen) liegt der entscheidende Nachteil darin, dass jeweils keine fortlaufende Perfusion des Epithels/Gewebes erfolgt. Legen et al. (2005) zeigten so z. B., dass Caco-2-Zellen in Surfactant-Absorptionsstudien gegenüber In-vivo-Präparaten übertriebene Ergebnisse erbrachten. Besonders für Absorptionsstudien ist es von entscheidender Bedeutung In-vivo-Bedingungen so gut als möglich nachzuahmen. Durch den Blutfluss wird ein Gradient erzeugt, der die kontinuierliche Diffusion von Teilchen von hoher zu niedriger Osmolarität bewirkt. Mit seiner großen Oberfläche und seiner Vielzahl epithelialer Transporter stellt der Darm das ideale Organ für die Aufnahme und Umwandlung von Substanzen (z. B. Mineralien, Elektrolyte, AS, Fette) dar und ist somit optimal als isoliertes Organ für Absorptionsstudien geeignet. Trotzdem ist es diffizil, die Organfunktion mittels autologer Hämoperfusion über einen längeren Zeitraum im physiologischen Rahmen aufrecht zu erhalten.
Alternative Methoden gewährleisten nur artifizielle, im lebenden Organismus nicht vorhandene, Bedingungen. Durch Verlust der dreidimensionalen Zellstruktur bleiben Zell-Zell-Interaktionen nicht erhalten. Sie bieten jedoch die Möglichkeit zellulärer Diagnostik, welche im vorliegenden Modell nur indirekt anhand metabolischer Parameter aufgeschlossen werden kann. In Zukunft sollten Gewebeproben post perfusionem auf zelluläre Vitalität und Akkumulation des applizierten Stoffes (hier Cadmium) untersucht werden.

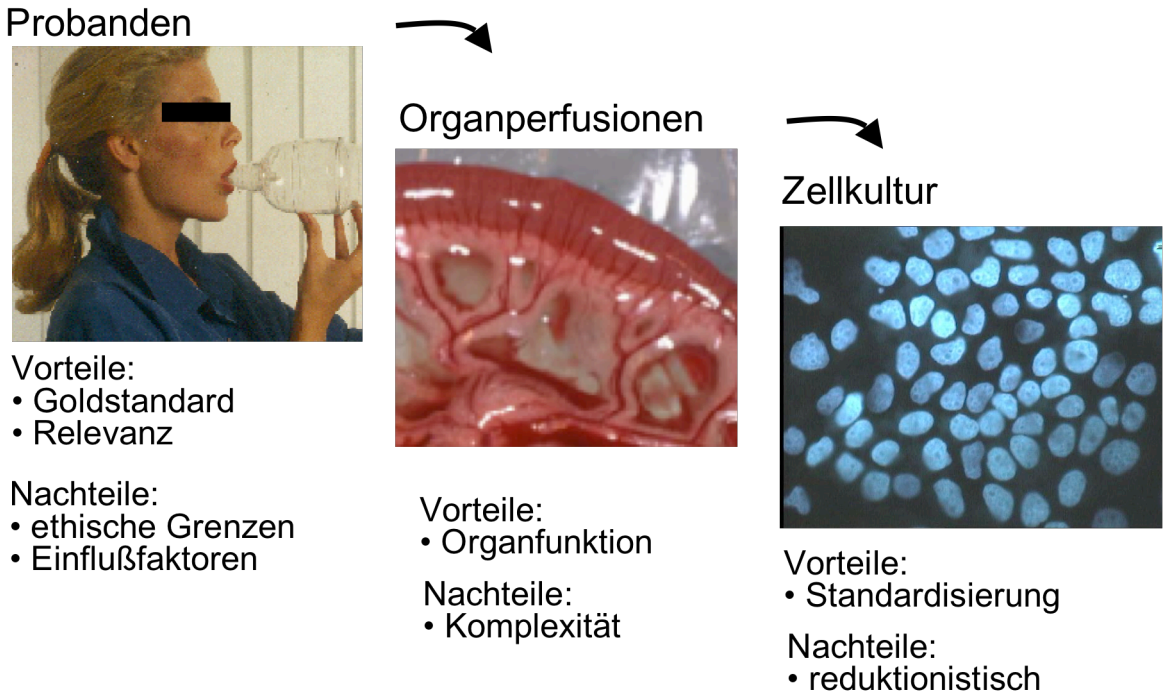

Abbildung 28: Vergleich Absorptionsstudien modifiziert Krapp (2002) und Groneberg et al. (2005)

Die Hämoperfusion ist von der FDA (Food and Drug Administration) auch zur Preservation von Spenderorganen zugelassen. Somit gewinnt das erläuterte Modell mit Zunahme der Darmtransplantation an Bedeutung. Bereits 2002 wurde ein ähnliches Modell – eine ex-vivo-Perfusion – eines Rattendarmes für diesen Zweck evaluiert (Krapp, 2002). Aufgrund der Wahl von Ratten stellt es einen Vergleich zur vorliegenden Studie dar, in der zur Wahrung möglichst ähnlicher Bedingungen zum Menschen die Spezies Schwein untersucht wurde.

Als Verbesserung ist in Zukunft in eine Leukozytendepletion intraperfusionem in Erwägung zu ziehen. Harper et al. (2006) zeigten anhand der autolog hämoperfundierten Niere mittels dieser Maßnahme eine Funktionsverbesserung.

4.1.1 Spezies

Es stellte sich anfangs dieser Studie die Frage nach der zu wählenden Spezies. Schweine eignen sich hervorragend für unsere Versuche als Spendertiere, denn sie haben sowohl den Vorteil den physiologischen und pathophysiologischen Verhältnissen des Menschen sehr zu ähneln als auch kostengünstig zu sein, weil ihre Organe in großen Zahlen aus Schlachthöfen zur Verfügung stehen (Grosse-Siestrup et al., 2002).

Seit O'Brien (1991) und Johannson (1995) die große Homologie porciner und humaner Gene erkannten und aufgrund seines ähnlichen Stoffwechsels und der vergleichsweise großen mikrobiologischen Sicherheit, stellt das Schwein auch für Xenotransplantation das Spendertier der Wahl dar (DAX, Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Xenotransplantation, 2001). In ernährungsphysiologischen und pathophysiologischen Studien wird dieses Tier benutzt, um Schlussfolgerungen auf das Intestinum des Menschen zu ziehen (Forschungsbericht des veterinärphysiologischen Instituts Leipzig, 2005). Bereits 1985 stellten auch Wang et al. die großen Ähnlichkeiten intestinaler Aktivitäten von Sucrase, Folatkonjugase, Lactase und Aminopeptidase fest. Bei neurogastroenterologischen Untersuchungen zeigte sich zusätzlich, dass das enterische Nervensystem des Schweins funktionelle und pathophysiologische Similaritäten mit dem des Menschen besitzt (Brown et al., 2004). Das Gleiche gilt für Untersuchungen vasoaktiver intestinaler Peptide (Itoh et al., 1983), so dass in der vorliegenden Arbeit die Spezies Schwein gewählt wurde.

4.1.2 Perfusat

Als Perfusate kommen für die Perfusion isolierter Organe folgende Medien in Frage:

- Blut (autolog, heterolog)
- Zellfreie Lösungen (Ringerlactat, NaCl, Tyrodelösung, Fluocarbon). Zu Beginn dieser Arbeit warf sich die Frage nach dem zu verwendenden Perfusionsmedium auf.

Blut als Perfusionslösung ist zellfreien Substanzen überlegen, da es über den Sauerstofftransporter Hämoglobin das Organ zu oxygenieren vermag. Dies können zellfreie Lösungen, z. B. Fluorcarbon nur in Hypothermie mit hohen Perfusionsraten gewährleisten. Grund hierfür ist einmal die zunehmende Löslichkeit von Sauerstoff bei geringen Temperaturen, zum anderen der geringe Sauerstoffbedarf des perfundierten Organs in Hypothermie. Da der Darm einerseits über eine hohe immunologische Kompetenz (Offner et al., 2004, Review über Darm-

transplantationen: 50 bis 80 % Abstoßungsraten, weltweit nur ca. 100/Jahr, 5-JÜR: 60 %) verfügt und andererseits extrem anfällig für Ischämie-Reperfusions-Schäden ist, spielt besonders bei ihm die Wahl des geeigneten Perfusates eine entscheidende Rolle. Aus letzterem Fakt ergibt sich, dass Blut als Perfusionsmedium zur ausreichenden Sauerstoffversorgung dieses fragilen Organs verwendet werden sollte. Die immunologischen Einschränkungen verbieten aber eine Xenoperfusion, da diese eine immunologische Kaskade auslösen würde. So konnte eine Ausschüttung von TNF α, IL-1 β, IL-6 und IFN γ bei mit Menschenblut perfundierten Rhesusaffenlebern gemessen werden (Pohlein et al., 1994).

Wir wählten also autologes Blut als Perfusionsmedium, die der Darmperfusion einzige adäquate Alternative. Sein Nachteil besteht in der zur Verfügung stehenden begrenzten Menge. Bei kleinen Versuchstieren müssten für eine Organperfusion mehrere Tiere geopfert werden. Ein Schwein hat etwa 3 Liter Blut, was für eine Jejunumperfusion (ca. 1 Liter benötigt) ausreicht. Wenn gleichzeitig andere Organe desselben Tieres perfundiert werden sollen (z. B. benötigt man für eine Leberperfusion ca. 3 Liter Blut), müsste man über eine Eigenblutspende und dessen Konservation vorab nachdenken. Der Aktivierung der Gerinnungskaskade und dem Zellschaden durch Pumpen und Schlauchsystem kann durch Gabe von Antikoagulantien Einhalt geboten werden. Ein Vergleich im Nierenperfusions-Modell zwischen Tyrodelösung und autologem Blut zeigte eine signifikant bessere Sauerstoffversorgung, bessere Funktionsparameter (Kreatininclearance) und Resorptionsleistungen (Glukose, Natrium) in der Gruppe der hämoperfundierten Organe (Hochel et al., 2003). Somit kommt eine Hämoperfusion der Organe unter physiologischen Gesichtspunkten In-vivo-Versuchsmethoden am nächsten (Groneberg et al., 2002) und diese Methode wurde aktuell gewählt.

4.1.3 Organgewinnung

Im beschriebenen Modell wurden die Jejunumabschnitte unter den Bedingungen der experimentellen Chirurgie von Tieren der tierexperimentellen Einrichtung entnommen. Direkt im Anschluss wurden die Organe an die vorbereitete Perfusionsapparatur angeschlossen. Durch die Vermeidung des Organtransportes bestand keine kalte Ischämiezeit. Da es sich um die ersten dieser Art handelt, sind die Versuche als Etablierung des Modells der autologen Hämoperfusion des Darmes anzusehen. In Zukunft könnten diese Experimente zur Reduktion der

Zahl benötigter Labortiere mit Schlachttierorganen durchgeführt werden (Grosse-Siestrup et al., 2002).

4.1.4 Ischämie und Reperfusion, Ödembildung

Die Ischämiezeit stellt einen wichtigen Parameter für die Funktion des Organs bei Perfusionen dar. Sie beschreibt den Zeitraum, in dem keine Durchblutung des Organs stattfindet und besteht aus der warmen Ischämie, die den Abschnitt vom Tod des Tieres durch Einbluten bis zur Kanülierung und Spülung des Darmes umfasst und der sich anschließenden kalten Ischämiezeit, die von der Spülung bis zum Anschluss an den Perfusionskreislauf dauert. In allen Organperfusions-Studien wird die Dauer der Ischämie so gering wie möglich gehalten. Durch die operative Organentnahme mit direkt anschließender -perfusion wurde die Ischämiezeit in der vorliegenden Arbeit auf die warme beschränkt.

Der Dünndarm zeichnet sich durch eine extreme Empfindlichkeit gegenüber Ischämie und Reperfusion aus. Die Ischämietoleranz des gesamten Intestinaltraktes beträgt 120 bis 180 Minuten (Lange, 1989), doch bereits nach zehnminütiger Ischämie treten erste Veränderungen auf zellulärer Ebene auf (MacDonald, 2002).

Durch einen Abfall des O_2-Partialdruckes in der Darmmukosa wird die anaerobe Glykolyse ausgelöst, wodurch der Lactatspiegel ansteigt. Die nun gebildete Xanthinoxidase wandelt Hypoxanthin in Harnsäure um, welche über die Produktion von O_2^- und H_2O_2 zu einer Bildung des aggressiven freien Radikals (OH) führt. Bei einem Wiederanstieg des O_2-Partialdruckes werden verstärkt H_2O_2 und freie Radikale (O_2^-, OH) gebildet, welche die vorgeschädigte Darmmukosa weiter angreifen und zum so genannten Reperfusionsschaden führen (Jungblut, 2005). Dieser Ischämie-Reperfusions-Schaden stellt auch eines der Haupthindernisse bei Dünndarmtransplantationen dar (Yu et al., 2005), weil aus ihr eine Dünndarmdysfunktion, Interruption der mukosalen Barriere (Braun et al., 2005) und erhöhte Organabstoßungsraten resultieren (Kimura et al., 2006). Des Weiteren macht sich das so genannte Postreperfusionssyndrom durch starke hämodynamische Instabilität, metabolische Veränderungen wie sinkendem pH, erhöhtem CO_2-Partialdruck und steigendem K^+ bemerkbar, was wohl auf den gesteigerten Metabolismus des Gewebes zurückzuführen ist (Siniscalchi et al., 2006). Unabhängig von der Ischämiezeit sind Gerinnungsstörungen, die sich durch Hypokoagulabilität infolge Thrombozytenaggregationshemmung auszeichnen (Siniscalchi et al., 2006). Sowohl die

Reaktionen auf Ischämie und Reperfusion, als auch die zytotoxischen Effekte des Cadmiums können an der Ausbildung eines Gewebeödems und der Erhöhung des peripheren Widerstandes beteiligt sein. Auch Cadmium induziert hochreaktive Sauerstoffspezies, welche wiederum zu DNA-Schäden führen (Filipie et al., 2004). Die Beteiligung der O_2-Spezies an dieser Reaktion ist jedoch umstritten. Hart et al (1999) beschreiben im Gegensatz zu Lag et al. (2002) einen Einfluss der Spezies auf die Toxizität von Cadmium aufgrund der Hochregulierung oxidativer Stressenzyme sowie Induktion oxidativer Transkriptionsfaktoren. In niedrigen Konzentrationen jedoch soll Cadmium die DNA-Synthese und das Zellwachstum stimulieren (Wätjen et al., 2002). Untersuchungen über das proteindenaturierende Potenzial von Cadmium und seine Apoptoseinduktion zeigen, dass Cadmium ab Konzentrationen größer 5 µmol zytotoxisch wirkt (Rämisch, 2005). Choi et al. (2002) wiesen in Myokardzellen, Zellen der glatten Muskulatur und Gliazellen Apoptoseinduktion durch Cadmium nach. Obwohl die Induktion der Apoptose durch Cadmium eindeutig ist, werden noch unterschiedliche Signalkaskaden diskutiert. So beschrieben Lopez et al. (2003) eine konzentrationsabhängige Aktivierung der Apoptose: Niedrige Konzentrationen bewirken demnach eine Apoptoseaktivierung (Translokation von Phosphatidylserin, Caspase-3-Aktivierung), wohingegen hohe Konzentrationen eine Nekrose stimulieren (LDH- und ATP-Ausschüttung). Dem gegenüber stehen Untersuchungen von Bond et al. (1998), bei denen durch 300 µmol Cd_2-Applikation in humanen Intestinalzellen T84 der Cl-Einwärtsstrom inhibiert wurde, was eine Dehydration der Zellen bewirken würde. Als Maß für die Ödembildung lässt sich die Gewichtszunahme des Jejunumabschnitts heranziehen. Diese unterlag großen Schwankungen: zwei der neun Därme zeigten einen Gewichtsverlust, was sich durch einen Substanzverlust erklären ließe. An diesem Zelluntergang könnte Cadmium eine Hauptursache tragen. Bei den anderen Därmen wurde post perfusionem ein bis zu 90 %-iger Gewichtszuwachs gegenüber dem Ausgangsgewicht vor der Perfusion gemessen. Bei Betrachtung dieser starken Schwankungen ist es schwierig sowohl auslösendes Ereignis der Organschädigung als auch individuelle Reaktion des Jejunums zu benennen. Einerseits können die durch Cadmium und ischämie-/reperfusionsliberierten reaktiven Sauerstoffspezies einen Zelltod bzw. Nekrosen induzieren und so zu Gewebeverlusten führen, andererseits können die Schädigungen zur Ödematisierung beitragen und das Darmgewicht damit erhöhen. Der Organwiderstand jedoch lag bei allen Organen im Referenzbereich von 0,4 bis 2 mmHg · min/ml. Auch Albumin und Gesamtprotein tragen als Blut-

bestandteile mit der Aufrechterhaltung des onkotischen Druckes zur Gewebehydrierung bei. Eine Hypoproteinämie kann die Ödematisierung verstärken. Die arterielle Gesamtprotein- und Albuminkonzentration lag überwiegend im physiologischen Bereich. Sie nahm gen Perfusionsende zu, was eine Flüssigkeitsretention im Perfusionskreislauf, eine Gewebeexsikkose und Gewichtsverlust bewirken würde.

4.2 Vitalitätsparameter

Das Monitoring zur Funktionskontrolle gestaltet sich für den Dünndarm schwieriger als für andere Organe wie beispielsweise Niere oder Leber, die in Form von klinischen (Urin- bzw. Galleproduktion) und laborchemischen Routineparametern (Kreatininclearance, Harnstoff bzw. Transaminasen, Gerinnungsfaktoren, Bilirubin) überprüft werden können. Einige Parameter wurden für Dünndarmtransplantationen evaluiert. Aufgrund des Fehlens geeigneter Parameter gilt dort jedoch die endoskopische Biopsie als Goldstandard (Braun et al., 2005). Resorptionsparameter, wie der D-Xylolose-Resorptionstest wurden bei einer extrakorporalen Dünndarmperfusion des Schweins etabliert. Bei ausgeprägter Mucosaschädigung kann aber eine parazelluläre Passage ein Resorportionsvermögen vortäuschen (Braun et al., 1998).
In der hiesigen Studie wurden einerseits äußerer Aspekt des Jejunums, Kontraktionsvermögen, Maltose- und Cadmiumabsorption sowie Glukose- und Sauerstoffverbrauch herangezogen, andererseits mittels Kontrolle physiologischer Einflussgrößen die Vitalität des Organs sichergestellt.

4.2.1 Hämodynamik

Der arterielle Mitteldruck verhielt sich in den Versuchen der vorliegenden Arbeit physiologischen Referenzbereichen. Der Perfusionsfluss wurde konstant zwischen 100 und 110 ml/min gehalten. Die durch das Postreperfusionssyndrom bewirkte starke hämodynamische Instabilität in vivo (Siniscalchi et al., 2006) konnte in der isolierten Organperfusion nicht reproduziert werden.

4.2.2 Stoffwechselparameter

Anhand verschiedener Parameter lässt sich die Stoffwechsellage charakterisieren. Als Indikator für die Vitalität des Gewebes dient in erster Linie der Sauerstoffverbrauch. Er wurde nach

Formel 1 im Anhang berechnet und lag in allen Versuchen zwischen 110 und 180 µmol/min. Der Normbereich für den Sauerstoffverbrauch des Splanchnikusgebietes beträgt etwa 2,5 mmol/min/kg, dies entspricht 250 µmol/min/100g (Silbernagel, 2005). Bei ex-vivo-Perfusionen von Rattendünndärmen betrug der intestinale Sauerstoffverbrauch ca. 6 ml/min · 100g Organgewicht (Krapp, 2002).

In vivo bezieht der Darm unter normalen Umständen in Ruhe ca. 20 % des HMV. Etwa 2/3 davon versorgen die Mukosa (Bradbury, 1995; Chow, 2002). Die Blutzufuhr kann während der Verdauung auf 35 % steigen oder in Stresssituationen auf 10 % der Herzauswurfleistung sinken. Diese Durchblutung wird durch muskulös und metabolisch autoregulierte Arteriolen bestimmt.

Auch durch Bestimmung des Glukoseverbrauchs lässt sich auf eine stattgehabte Stoffwechselaktivität von perfundierten Organen schließen (De Lange et al., 1992). Dem Jejunumabschnitt wurde zu Perfusionsbeginn eine Nährlösung intraluminal appliziert. Die mittels Maltoseabsorption bestimmte Funktionalität und die mittels Glukoseverbrauch bestimmte Vitalität des Organs stehen sich somit direkt gegenüber. Die Berechnung beider Größen erfolgte mit den im Anhang aufgeführten Formeln 2 und 3. In Studien betrug die intestinale Glucoseaufnahme beim Schwein nach Fütterung 0,31 mmol/min (Vaugelade et al., 1994). In der vorliegenden Studie scheinen sich Maltoseabsorption und Glukoseverbrauch gegenseitig aufzuheben. Beide Werte verhielten sich während der Perfusion konstant und bewegten sich um die Nulllinie.

4.2.3 Lactatproduktion

Lactat ist das Endprodukt des anaeroben Glukosemetabolismus. Es lässt Gewebehypoxien bereits erkennen, auch wenn der arterielle pO_2 noch im Grenzbereich liegt. Sein Anstieg lässt akute intestinale Gefäßverschlüsse erkennen (Thomas & Lothar, 1998). Außerdem dient es als unspezifischer Parameter zum Monitoring nach Dünndarmtransplantation (Braun et al., 2005). Die venösen Lactatkonzentrationen lagen im Referenzbereich von <1,8 bzw. 0,5 bis 2,2 mmol/l (Thomas & Lothar, 1998). In den isoliert perfundierten Organen fand demnach keine anaerobe Glykolyse statt, es bestand bis auf den Zeitraum der warmen Ischämie also keine Sauerstoffschuld.

4.2.4 pH-Wert

Der arterielle pH-Wert lag bis auf wenige Schwankungen im Median im Referenzbereich von 7,35 bis 7,45. Diese guten Werte sind der genauen Kontrolle während der Perfusion und der Möglichkeit zur Intervention mittels O_2, CO_2-Begasung zu verdanken. Zu Versuchsbeginn zeigten sich stärker aberrierende Werte von 7,15 bis 7,75, die sich im Versuchsverlauf aber auf physiologische Größen einpendelten.

Im Rahmen des Postreperfusionsschadens kommt es zu metabolischen Veränderungen wie sinkendem pH-Wert, erhöhtem CO_2-Partialdruck und steigendem K^+ nach Ischämie bei Reperfusion (Siniscalchi et al., 2006). Dies hängt mit dem gesteigerten Stoffwechsel des Gewebes zusammen. Die Kaliumkonzentration blieb über die gesamte Versuchslänge konstant im physiologischen Bereich. Gruppe x (10 mg Cadmiumapplikation) zeigt gegen Perfusionsende eine Tendenz zum Anstieg.

Nach Waisberg et al. (2004) hängt die Cadmiumabsorption mit dem pH-Wert zusammen. Mit dessen Zunahme soll das Schwermetall besser aufgenommen werden können. Ein solcher Zusammenhang ist in unseren Versuchen jedoch nicht zu verzeichnen.

4.2.5 Bluttemperatur

Die arterielle Bluttemperatur bewegte sich bei allen Versuchen zwischen 35 und 39 °C. Bis auf Versuch 4 ereichten alle Perfusionen zur 180. Minute ein Konstanz von ~38°C. Die Schwankungen zu Perfusionsbeginn sollten in zukünftigen Versuchen längere Einlaufphasen der Experimente ausgeglichen werden.

4.2.6 Kontraktionen

Die Funktion des Dünndarms und damit seine Vitalität zu überprüfen stellt eine schwierige Aufgabe dar. Neben laborchemischen, unspezifischen Parametern (z. B. Maltoseabsorption, Lactatproduktion) gibt die Auszählung der Kontraktionen eine klinische Möglichkeit hierzu. Die Kontraktionsgeschwindigkeit beträgt physiologischerweise beim Menschen zwischen 11,9/min im Duodenum und 7/min im terminalen Ileum (Fuchs et al., 1997). Bei den Experimenten am porcinen Jejunumabschnitt lag sie zwischen 2/min und 10/min und nahm gegen Ende der Perfusion zu. Dies könnte darin begründet liegen, dass bei der Perfusion isolierter Organe der auf die intestinale Motilität hemmend wirkende sympathische Grenzstrang weg-

fällt, hingegen der intramurale parasympathische Plexus weiter aktivierend agiert. Einen weiteren Einfluss auf die Motilität könnte eine starke Manipulation während der Organgewinnung nehmen. So wurde bei Transplantationen eine massive Inflammationsreaktion in der Muskularis, die sich bei Reperfusion weiter verstärkt durch Manipulation initiiert. Diese makrophagozytäre Infiltration der Muskularis führte bei Untersuchungen zu Motilitätsdysfunktionen der glatten Muskulatur (Schaefer et al., 2006). Des Weiteren fanden Taha et al. (2006) heraus, dass eine kalte Ischämie schwere Läsionen im autonomen enterischen Nervensystem verursacht, die zu Motilitätsverlust führt. Diese autonome Dysfunktion konnte durch Antioxydanzien und Heparin abgeschwächt werden. Diese Problematik sollte bei zukünftigen Studien mit Schlachthausorganen, deren Konservation eine kalte Ischämie notwendig macht, beachtet werden.

4.3 Cadmiumabsorption

Ein großer Teil des zu Perfusionsbeginn instillierten Cadmiums wird nicht wieder ausgeschieden. Von dieser Menge jedoch erreichen nur wenige Prozent tatsächlich die Blutbahn des Perfusionskreislaufes. Daraus lässt sich schließen, dass das Schwermetall hauptsächlich im Gewebe akkumuliert. In-vitro-Experimente zeigten folgende Effekte von Cadmium auf Darmgewebszellen: Die apikale Cadmiumexposition auf Caco-2-Zellen entfachte eine strukturelle Disruption der parazellulären Barriere des intestinalen Epithels. Caco-2- und IEC-18-Zellen zeigten zeit- und konzentrationsabhängige Effekte von Cadmium auf den transepithelialen elektrischen Widerstand und die Mannitol- und PEG-4000-Permeabilität. In beiden Zelllinien wirkten auch nach Cadmiumexpostion dessen Effekte weiter, was auf intrazelluläre Cadmiumretention schließen lässt. Die durch Cadmium ausgelöste Tightjunctiondisruption erhöht die parazelluläre Permeabilität. Somit gelingt es Cadmium seine eigene Bioverfügbarkeit zu erhöhen (Duizer et al., 1999). Aufgrund seiner hohen Bindungskapazität ist dieser Effekt bei Kurzzeitexposition jedoch noch nicht voll ausgeprägt. In einer Studie über die intestinale Cadmiumabsorption durch den DMT-1 bei Ratten entdeckte man, dass sich der Großteil des aufgenommenen Cadmiums im Darmgewebe und nur sehr wenig im Blut befindet (Park et al., 2002). Das bedeutet, dass der Dünndarm als Speicherorgan fungieren kann. Jumarie et al. fanden 2001 heraus, dass Cadmium als Ion 26-mal schneller aufgenommen wird als in einem CdCl-Komplex, die sich in Magensäure bildet. Da bei den vorliegenden Studien Cadmium im

Chlorid-Komplex appliziert wurde, entsprechen sie also keiner Worst-Case-Abschätzung. Nahrungsmittelchemische Studien aus Kananda zeigten eine Zeitabhängigkeit der Darmpassage für das Aufnahmevermögen von Cadmium. Die Absorptionsbedingungen sind in unseren Untersuchungen erschwert, da wenig Kontaktzeit zwischen dem Schwermetall und dem kurzen Stück Dünndarm besteht. Jeder der oben genannten Schlüsse muss vorsichtig erfolgen, da die Anzahl der durchgeführten Versuche aufgrund ihrer Komplexität, Versuchsdauer und Materialaufwendung sehr klein ($n = 4$ bzw. $n = 5$) ist. Ein Vergleich mit ähnlichen Studien bietet sich jedoch an.