

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin der
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Freie Universität Berlin und Humboldt-Universität zu Berlin
und dem
Institut für Tierpathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

**Standardisierung eines normothermen Hämoperfusionskreislaufes zur Vitalerhaltung
eines Jejunumpräparates des Schweins als Grundlage späterer
Resorptionsuntersuchungen**

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung der Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Nadine Schröder-Koch, geb. Koch
Tierärztin aus Heidelberg

Berlin 2016
Journal-Nr.: 3778

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Zentek
Erster Gutachter: Priv.- Doz. Dr. C. Große-Siestrup
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. R. Rudolph
Dritter Gutachter: Prof. Dr. J. R. Aschenbach

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

pigs, ischaemia, hemoperfusion (MeSH), jejunum, resorption, alternative
method, histology

Tag der Promotion: 23.05.2016

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-754-5

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2016

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,
vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der
Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von
jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written
authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2016

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Mutter (in Memoriam)

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Einleitung und Aufgabenstellung | 9 |
| 1.1 | Einleitung | 9 |
| 1.2 | Aufgabenstellung | 11 |
| 2 | Literaturlauswertung | 13 |
| 2.1 | Anatomischer Aufbau des Schweinedünndarms | 13 |
| 2.2 | Histologischer Aufbau des Schweinedünndarms | 15 |
| 2.3 | Physiologie des Schweinedünndarms | 18 |
| 2.3.1 | Kohlenhydratverdauung | 19 |
| 2.4 | Modelle zur Untersuchung der enteralen Resorption - historischer Überblick und Grundlagen des isoliert perfundierten Dünndarmsegments | 22 |
| 2.5 | Ischämie und Reperfusionsschäden | 24 |
| 2.5.1 | Ischämie-Reperfusionsschäden des Dünndarms | 27 |
| 3 | Tiere, Material und Methoden | 29 |
| 3.1 | Spendertiere | 29 |
| 3.2 | Organ- und Blutgewinnung | 29 |
| 3.3 | Versuchsaufbau | 32 |
| 3.3.1 | Extrakorporales Kreislaufsystem | 32 |
| 3.3.2 | Blutkreislauf | 33 |
| 3.3.3 | Dialysatkreislauf | 34 |
| 3.3.4 | Organlagerung | 35 |
| 3.3.5 | Module für Gas- und Stoffaustausch | 36 |
| 3.3.6 | Perfusor | 36 |
| 3.4 | Vorbereitungen an der Darmperfusionsapparatur | 37 |
| 3.5 | Organanschluss und normotherme Perfusion | 38 |
| 3.6 | Applikation der Maltoselösung | 40 |
| 3.7 | Probenentnahmen | 40 |
| 3.7.2 | Blutproben | 41 |
| 3.7.2.1 | Sauerstoffverbrauch | 42 |
| 3.7.3 | Dialysatproben | 42 |
| 3.7.4 | Ingestaproben | 42 |
| 3.8 | Hämodynamische Parameter | 43 |
| 3.8.2 | Organwiderstand | 43 |
| 3.9 | Organgewichte | 43 |
| 3.10 | Gewebeprobenentnahme und Bearbeitung der Gewebeproben | 44 |
| 3.11 | Darmperfusionen und Gruppeneinteilung | 44 |
| 3.12 | Histologische Auswertung | 45 |
| 3.13 | Statistische Auswertung, grafische Darstellung und Bildbearbeitung | 47 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.14 | Eingesetzte Substanzen | 48 |
| 3.14.1 | Dialysat | 48 |
| 3.14.2 | Kochsalzlösung | 49 |
| 3.14.3 | Blutgerinnungshemmer: Heparin | 49 |
| 3.14.4 | Maltoselösung | 49 |
| 3.14.5 | Noradrenalinlösung | 50 |
| 3.14.6 | Formaldehydlösung | 50 |
| 4 | Ergebnisse | 51 |
| 4.1 | Hämodynamische Parameter | 51 |
| 4.1.1 | Organwiderstand | 51 |
| 4.2 | Hämatologische Parameter | 52 |
| 4.2.1 | Hämatokrit | 52 |
| 4.2.2 | Freies Hämoglobin | 53 |
| 4.3 | Funktionsparameter | 54 |
| 4.3.1 | Sauerstoff | 54 |
| 4.3.2 | Glukose | 55 |
| 4.3.3 | Laktat | 56 |
| 4.4 | Ergebnisse der Darmgewichtsuntersuchungen | 57 |
| 4.4.1 | Nettodarmgewichte | 57 |
| 4.4.2 | Differenzen der Nettodarmgewichte | 58 |
| 4.5 | Ergebnisse der histologischen Auswertung | 59 |
| 4.5.1 | Grad der Epithelschädigung | 59 |
| 4.5.2 | Grad der Ödematisierung | 60 |
| 4.5.2.1 | Tunica serosa | 60 |
| 4.5.2.2 | Tunica muscularis | 61 |
| 4.5.2.3 | Tela submucosa | 62 |
| 4.5.2.4 | Tunica mucosa | 63 |
| 4.6 | Bilddokumentation der Histologie | 64 |
| 4.6.1 | Bilddokumentation der Epithelschädigung | 64 |
| 4.6.2 | Bilddokumentation der Ödematisierung | 68 |
| 4.6.2.1 | Tunica serosa | 68 |
| 4.6.2.2 | Tunica muscularis | 70 |
| 4.6.2.3 | Tela submucosa | 73 |
| 4.6.2.4 | Tunica mucosa | 75 |
| 5 | Diskussion | 81 |
| 5.1 | Diskussion der Methodik | 81 |
| 5.2 | Diskussion der Ergebnisse | 83 |
| 5.2.1 | Hämodynamik | 83 |
| 5.2.2 | Hämatologie | 84 |
| 5.2.3 | Funktionsparameter | 85 |

| | |
|--|------------|
| 5.2.4 Darmgewichtsuntersuchung..... | 87 |
| 5.2.5 Histologische Auswertung..... | 88 |
| 5.2.5.1 Grad der Epithelschädigung | 88 |
| 5.2.5.2 Grad der Ödematisierung | 90 |
| 6 Zusammenfassung..... | 93 |
| 7 Summary | 95 |
| 8 Literaturverzeichnis | 97 |
| 9 Anhang | 111 |
| 9.1 Abkürzungsverzeichnis..... | 111 |
| 9.2 Abbildungsverzeichnis | 113 |
| 9.3 Tabellenverzeichnis | 115 |
| 9.4 Ausgangswerte im Blut, hämodynamische Regelgrößen und Gewichte | 115 |
| 9.5 Ausgangsscores der histologischen Bewertung | 122 |
| 10 Publikationsverzeichnis | 125 |
| 11 Danksagung und Selbstständigkeitserklärung | 127 |

1 Einleitung und Aufgabenstellung

1.1 Einleitung

Experimentelle Studien mit Organen, die außerhalb des Körpers eine bestimmte Zeit am Leben erhalten werden können, sind seit über 120 Jahren Gegenstand und Methode der Forschung. Auf dem Sektor der Grundlagenforschung, der Pharmakologie, der Toxikologie und der Transplantationsmedizin besteht ein großes Interesse an der Möglichkeit, Organe in einem extrakorporalen System am Leben zu erhalten und so verschiedenste Fragestellungen *in vitro* untersuchen zu können. Wenn diese Perfusions Tierversuche ersetzen können, ist das von besonderer Bedeutung für den Tierschutz. Da der Darm, neben der Lunge und der Haut, ein Organ ist, über das Fremdstoffe in den Körper gelangen können, so kann neben physiologischen Resorptionsvorgängen von Nahrungsbestandteilen oder Lebensmittelzusatzstoffen auch die Aufnahme von pharmakologisch oder toxikologisch wirksamen Substanzen - wie schadstoffkontaminierten Bodenproben - selektiv untersucht werden. Auch auf dem Gebiet der Transplantationsmedizin besteht ein Bedarf an Modellen mit möglichst *in-vivo* nahen Verhältnissen zur Untersuchung von Ischämie-Reperfusionsschäden und von Methoden, solche Schäden zu vermeiden sowie zur Entwicklung von Konservierungslösungen speziell für Darmtransplantate, um damit Abstoßungsreaktionen zu minimieren (Roskott et al. 2011).

Für die Untersuchung von Ischämie-Reperfusionsschäden unter Verhältnissen entsprechend denen innerhalb eines lebenden Organismus ist ein Perfusionsmodell mit autologem Blut besonders geeignet.

Die bereits erhältlichen industriell hergestellten Perfusionsapparaturen sind meist auf die Verwendung blutfreier Perfusionsmedien ausgelegt. Die Weiterentwicklung von Perfusionsmodellen, die auf die Verwendung von Blut ausgelegt sind, ist daher wichtig (Lautenschläger et al. 2010).

Schweine werden in den letzten Jahren nicht nur vermehrt als Versuchstiere eingesetzt, sie eignen sich auch aufgrund ihrer Anatomie und Physiologie als Spendertiere für Organperfusionsmodelle, da sie nicht nur hinsichtlich ihres Herzkreislaufsystems und ihres Harntraktes sondern auch in ihrem gesamten Verdauungssystem dem Menschen ähnliche anatomische und physiologische Charakteristika aufweisen (Swindle et al. 2012). Auch die Stärkeverdauung, der in der vorliegenden Arbeit als Funktionstest Bedeutung zukommt, gleicht der des Menschen (Moughan et al. 1992).

In einem extrakorporalen Kreislaufsystem sind die Erythrozyten aufgrund des Kontaktes mit nicht körpereigenen Materialien sowie der Benutzung von Rollenpumpen hohen mechanischen Belastungen ausgesetzt. Beschädigungen der Erythrozytenmembran mit der

Folge von Hämoglobinfreisetzung können auftreten, wenn durch Scherkräfte die biaxialen Spannungen zu hoch werden (Leverett et al. 1972). Dazu kommt eine erhöhte Thrombozytenaggregation, welche zur Bildung von Thromben führen kann. Dies erfordert den Einsatz von gerinnungshemmenden Substanzen wie Heparin.

Die ethisch sensibilisierte Gesellschaft und der Gesetzgeber fordern die Entwicklung valider Ersatzmethoden zum Tierversuch. Bereits 1959 erarbeiteten die britischen Wissenschaftler Russel und Burch in ihrem Buch „The Principles of Humane Experimental Technique“ das 3-R-Prinzip. Dieses Prinzip basiert auf den Maßnahmen, Tierversuche zu ersetzen (replace), das Leiden der Versuchstiere zu minimieren (refine) und die Versuchstierzahlen durch statistische Optimierung und intelligentes Versuchsdesign zu reduzieren (reduce). Das Modell der isolierten Organperfusion gehört neben in vitro Untersuchungen an verschiedenen Zellkulturen zum anerkannten Ersatzverfahren für Tierversuche (BMELV 2005 und 2011) und kann diese oft ersetzen.

In der vorliegenden Arbeit soll das Modell der isolierten Hämoperfusion von Herzen (Große-Siestrup 1993, Modersohn et al. 2001), Nieren (Große-Siestrup 1993, 2002 a+d, 2003, Höchel et al. 2003, Unger et al. 2007), Extremitäten (Nogueira 1999, Große-Siestrup 2002e), Lebern (Große-Siestrup et al. 2002 b+c, Große-Siestrup et al. 2004, Nagel et al. 2005, Thewes et al. 2007), Lungen (Große-Siestrup et al. 2002a, Kamusella et al. 2009) und Eutern (Kietzmann und Löscher 1993, Kietzmann et al. 1993, Schumacher et al. 2011) modifiziert und für die Perfusion von isolierten Jejunumabschnitten etabliert werden.

Es liegen zwar eine Reihe von histologischen Untersuchungen isoliert perfundierter Darmabschnitte vor, doch beschränken sich diese Untersuchungen auf die Mukosa und deren eventuelle perfusionsbedingete Veränderung. In vorliegender Studie soll eine komplette histologische Aufarbeitung und Beurteilung aller Darmschichten erfolgen.

1.2 Aufgabenstellung

Ein vorhandener Organperfusionsaufbau für die normotherme, isolierte Organperfusion von Niere, Leber, Herz und Extremität soll für die Perfusion von Jejunumabschnitten adaptiert und soweit erforderlich umgebaut werden.

Mit diesem Aufbau sollen mindestens 10 Jejunumperfusionen über je drei Stunden durchgeführt werden mit dem Ziel der Standardisierung des Verfahrens. Die benötigten Darmabschnitte sollen möglichst schonend zunächst operativ gewonnen werden, später möglichst von Schlachtschweinen oder von Versuchsschweinen, die aus anderen Gründen getötet werden müssen.

Zur Beurteilung des Grades der Ödematisierung und damit der Perfusionsqualität sollen die Darmabschnitte vor und nach der Perfusion gewogen werden. Als Vitalitätsparameter sollen der Sauerstoffverbrauch bestimmt, der Laktatspiegel, die enzymatische Spaltung von Maltose zu Glukose sowie deren Resorption, der Hämatokrit und das freie Hämoglobin gemessen werden. Es soll eine histologische Einteilung der Schwere eventueller pathologischer Schäden an der Epithelschicht sowie des Grades der Ödematisierung in jeder einzelnen Darmwandschicht erfolgen.

Dabei ist die Gegenüberstellung von Schäden durch die Organgewinnung (Kontrollgruppen) und Schäden durch die Hämoperfusion (Versuchsgruppen) von besonderem Interesse.

2 Literaturoauswertung

2.1 Anatomischer Aufbau des Schweinedünndarms

Der Darm (Intestinum) des Schweins setzt sich, wie bei allen anderen Haussäugetieren, aus dem Dünndarm (Intestinum tenue), dem Dickdarm (Intestinum crassum) und dem distalen Afterkanal (Canalis analis) zusammen und beträgt in etwa das 15-fache der Körperlänge des Tieres (Vollmerhaus und Roos 1999). Der Dünndarm lässt sich in drei weitere Abschnitte unterteilen: den Zwölffingerdarm (Duodenum), den Leerdarm (Jejunum) und den Hüftdarm (Ileum). Die Länge des Jejunums beträgt beim adulten Schwein etwa 14-19 m, somit ist es der längste Abschnitt des Schweinedarms (Vollmerhaus und Roos 1999). Es enthält post mortem oft nur geringe Mengen an Speisebrei und wird daher meist in leerem Zustand angetroffen (daher der Name „Leerdarm“).

Der Beginn des Jejunums ist die Flexura duodenojejunalis am Ende der Plica duodenocolica. Das Ende des Jejunums bzw. der Übergang zum Ileum wird durch den Ansatz der Plica ileocaecalis gekennzeichnet. Die zahlreichen engbogigen Schlingen des Jejunums hängen an einer etwa 0,2 m langen Gekröseplatte (Mesenterium craniale), die nach innen hin zur Gekrösewurzel zusammengerafft ist (Radix mesenterii) (Abb. 1, S.12). Das somit sehr lange Gekröse verleiht dem Jejunum eine große Beweglichkeit und kann bei Laparatomien leicht nach außen verlagert werden, um so einen besseren Zugang zu anderen Abdominaleingeweiden zu erlangen. Die Schlingen des Jejunums füllen im Wesentlichen die rechte Bauchhöhlenhälfte aus, da die linke Hälfte der Bauchhöhle beim Schwein vom kegelförmigen Colon ascendens und vom Caecum beansprucht wird. Kranial kommen die Jejunalschlingen in Kontakt mit Magen und Leber, dorsal bzw. kaudal mit dem Duodenum, dem Pankreas, der rechten Niere, dem Endabschnitt des Colon descendens, der Harnblase sowie dem Uterus bei weiblichen Tieren (Salomon 2005). Bei stark gefülltem Magen wird das Jejunum etwas weiter nach kaudal gedrängt.

Die arterielle Versorgung des Jejunums übernehmen die Aa. jejunales, welche im Mesojejunum verlaufen, radiär zu den einzelnen Jejunalschlingen ziehen und untereinander durch Gefäßbögen verbunden sind (Abb. 1). Die Aa. jejunales entspringen aus der A. mesenterica cranialis. Der venöse Abfluss erfolgt über die gleichnamigen Vv. jejunales, die das aus dem Jejunum stammende Blut über die V. mesenterica cranialis der V. portae und so dem Pfortaderkreislauf der Leber zuführt (Salomon 2005).

Die Lymphknoten des Jejunums, Lnn. jejunales, liegen im Mesojejunum entlang der Aa. jejunales und gehören zum Lc. mesentericum craniale (Salomon 2005). Dieses Lymphocentrum führt die aus dem Einzugsgebiet der A. mesenterica cranialis stammende Lymphe über den Tr. intestinalis in die Cysterna chyli, dem Ursprung des unpaaren

Brustlymphgang (Ductus thoracicus). Die Lymphe aus dem Dünndarm ist von milchigem Aussehen, da hierüber die aus dem Dünndarm resorbierten Fette transportiert werden.

Die Innervation des Dünndarms erfolgt sympathisch über den Plexus mesentericus cranialis mit seinem prävertebralen Ganglion mesentericum craniale und parasympathisch über den N. vagus. Desweiteren verfügt der Darm über ein intramurales Nervensystem, das in zwei großen Komplexen angeordnet ist: dem Plexus myentericus (Auerbach) zwischen Längs- und Ringmuskulatur sowie dem Plexus submucosus (Meissner) zwischen Ringmuskulatur und Lamina muscularis mucosae (Salomon 2005). Beide Plexus versorgen sowohl die Blutgefäße und Epithelzellen als auch die glatte Muskulatur des Darms und werden afferent von sympathischen und parasympathischen Impulsen beeinflusst. Ebenso sind sie in der Lage, efferente Impulse sowohl zu den prävertebralen Ganglien als auch zum ZNS zu schicken. Vereinfacht lässt sich sagen, dass der Sympathikus hemmend und der Parasympathikus fördernd auf die Funktionen des Darmes wirkt.

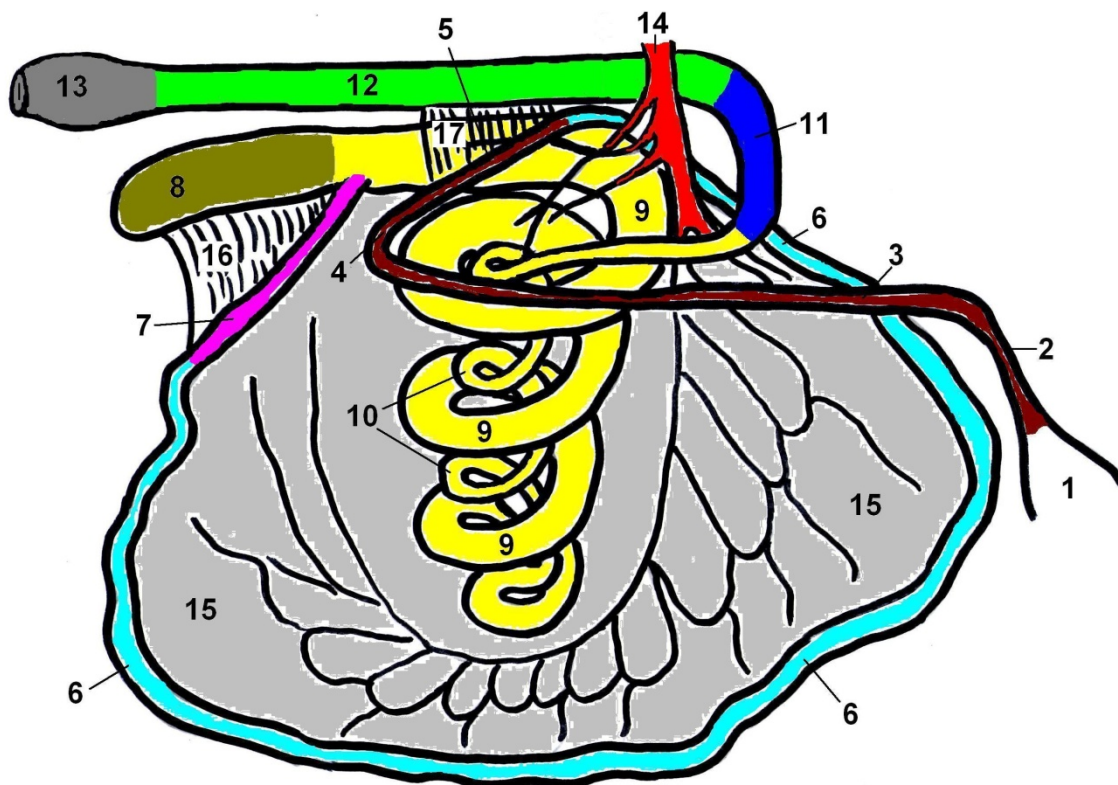


Abbildung 1: Darm des Schweines, schematisch (nach Salomon 2005)

1 Pars pylorica des Magens, 2 Pars cranialis duodeni, 3 Pars descendens duodeni, 4 Pars transversa duodeni, 5 Pars ascendens duodeni, 6 Jejunum, 7 Ileum, 8 Caecum, 9 Gyri centripetales, 10 Gyri centrifugales, 11 Colon transversum, 12 Colon descendens, 13 Rectum, 14 Radix mesenterii mit A. mesenterica cranialis, 15 Mesojejunum, 16 Plica ileocecalis, 17 Plica duodenocolica

Der Darm des Schweins ähnelt dem Darm des Menschen in anatomischem Aufbau und embryonaler Entwicklung mehr als der Darm anderer großer Säugetiere, was ihn derzeit zu einem idealen Objekt für die enterale Forschung macht (Yandaz et al. 2012).

2.2 Histologischer Aufbau des Schweinedünndarms

Der allgemeine histologische Aufbau des Verdauungstraktes aller Säugetiere basiert auf einer immer gleichen Grundstruktur. Abgesehen von lokalen funktionsbedingten Spezialisierungen, weist die Wandstruktur die folgenden grundsätzlich gleichen baulichen Merkmale auf:

Schleimhaut (Tunica mucosa), bestehend aus:

Schleimhautepithel (Epithelium mucosae)

Schleimhautbindegewebe (Lamina propria mucosae)

Schleimhautmuskulatur (Lamina muscularis mucosae)

Unterschleimhaut (Tela submucosa)

Muskulatur (Tunica muscularis), bestehend aus:

Kreismuskelschicht (Stratum circulare)

Längsmuskelschicht (Stratum longitudinale)

Serosa (Tunica serosa), bestehend aus:

Serosabindegewebe (Lamina propria serosae)

Serosaepithel (Epithelium serosae, Mesothelium)

(Liebich 2004)

Die Schleimhautschicht (Tunica mucosa) kleidet den Darm von innen aus. Sie lässt sich in drei Unterschichten einteilen:

Das mit Schleim überzogene Schleimhautepithel (Epithelium mucosae) ist zur Oberflächenvergrößerung in makroskopisch sichtbare Querfalten (Plicae circulares) gelegt und darüber hinaus mit Schleimhautzotten (Villi intestinales) ausgestattet. Diese im gesamten Dünndarm befindlichen Zotten sind beim Schwein im Jejunum am längsten. Die Grenzfläche zum Lumen wird überwiegend von einer Schicht hochprismatischer Saumzellen (Epitheliocyti columnares villi), den sogenannten resorptionsaktiven Enterozyten gebildet. Diese besitzen einen dichten Saum aus 2000-3000 Mikrovilli, der als Bürstensaum lichtmikroskopisch erkennbar ist. Die Mikrovilli sind 1-1,5 µm lang bei einem Durchmesser von 0,1 µm. Durch die auf dem Plasmalemm platzierten Enzyme, wie Dissaccharidasen,

Phosphatasen und Lipasen wird die Resorption der Spaltprodukte der Futterbestandteile gewährleistet. Des Weiteren setzt sich die Epithelschicht aus Becherzellen, endokrinen Zellen und Paneth-Zellen zusammen. Becherzellen sind sogenannte exokrin sekretorische Epithelzellen, die als monozelluläre Drüsenzellen zusammen mit den Enterozyten die epitheliale Deckschicht der Zotten und Krypten darstellen. Sie produzieren einen glykoprotein- und glykolipidhaltigen Schleim, der ekkrin, d.h. unter Abgabe kleiner Sekrettropfen, über die Zelloberfläche freigesetzt wird. Dieser Schleim dient einerseits dem Schutz vor enzymatischer Eigenverdauung andererseits verhindert er die pathogene Keimbeseidlung der Epithelzellen. Endokrine Zellen (Endocrinozyti gastrointestinales) befinden sich in den Glandulae intestinales und sondern ihr Sekret in das subepitheliale Kapillarsystem ab. Die bei anderen Tierarten, wie beispielsweise beim Pferd beschriebenen Paneth-Zellen können beim Schwein nicht eindeutig nachgewiesen werden. In Form von Krypten stülpt sich die Epithelschicht in das Schleimhautbindegewebe ein und bildet so die unverzweigten Darmdrüsen (Glandulae intestinales, Lieberkühndrüsen) (Liebich 2004).

Das Schleimhautbindegewebe (Lamina propria mucosae) liegt direkt der epithelialen Basalmembran an und dient dieser als Trägerschicht. Es besteht aus lockerem Bindegewebe und enthält zahlreiche Blut- und Lymphgefäße, Nervenfasern, Immun- und Mastzellen sowie einige glatte Muskelzellen. Das gut ausgebildete Kapillarnetz wird in jeder einzelnen Zotte von einer zentral gelegenen Arteriole gespeist. Diese Arteriole zweigt sich im Bereich der Zottenspitze in Blutkapillaren auf, die unterhalb des Epithels verlaufen und im Bereich der Zottenbasis in Venolen übergehen, welche submukös einen venösen Gefäßplexus bilden. Die Darmzotte wird zentral ebenfalls von einem Lymphgefäß durchzogen (Vas lymphaticum centrale), welches an der Zottenspitze seinen Ursprung hat und in die submukösen Sammellymphgefäße übergeht. Die in der Lamina propria mucosae enthaltenen längsverlaufenden Muskelzellen bilden mit den dazu senkrecht angeordneten Myofibroblasten die sogenannte Zottenpumpe. Diese Einrichtung dient durch wechselseitige rhythmische Kontraktion und damit verbundener Verlängerung bzw. Verkürzung der Zotte dem Weitertransport der Lymphe. In ihr enthaltene Schlauchdrüsen sind befähigt, Sekrete oder Hormone abzugeben (Liebich 2004).

Die Schleimhautmuskulatur (Lamina muscularis mucosae) begrenzt die Tunica mucosa serosaseitig und besteht aus glatten Muskelzellen, die ihr eine geringgradige lokale eigene Beweglichkeit verleihen.

Das aus lockerem Bindegewebe bestehende Unterschleimhautgewebe (Tela submucosa) enthält zahlreiche Blut- und Lymphgefäße sowie den Plexus nervorum submucosus (Meißner-Plexus), der vegetativ die Drüsenzellen der Darmschleimhaut wie auch die glatten Muskelzellen der Gefäßwände und der Muskelschicht versorgt. Ebenfalls zahlreich

vorhanden sind freie Immunzellen (Makrophagen, Lymphozyten, Plasmazellen) sowie Lymphfollikel (Liebich 2004).

Die Muskelschicht (Tunica muscularis) ist durchgehend aus glatter Muskulatur aufgebaut, die sich in eine innere Kreismuskelschicht (Stratum circulare) und eine äußere Längsmuskelschicht (Stratum longitudinale) unterteilt. Der Plexus nervorum myentericus (Auerbach Plexus) besteht aus autonomen Ganglien, die wiederum aus vegetativen Nerven zusammengesetzt sind. Gemeinsam mit Blut- und Lymphgefäßen verlaufen diese zwischen den beiden Muskelschichten. Der Auerbach Plexus wird durch Chemo- und Mechanorezeptoren aus der Submukosa gereizt und sendet über efferente Fasern Signale an die Muskelzellen der Tunica muscularis inklusive ihrer Gefäßwände sowie an sämtliche Drüsenzellen. Gleichzeitig wirken sympathische Nervenfasern hemmend auf den Auerbach Plexus, was zur Erschlaffung der Muskulatur und zu Vasokonstriktion führt. Parasympathische Nervenzellen sind direkt im Plexus lokalisiert, stimulieren die Motorik der Darmwand und erhöhen die Sekretionsleistung der Drüsen. Der Meißner'sche und der Auerbach'sche Plexus stehen auch untereinander in Verbindung und beeinflussen sich gegenseitig bei der Regulation der Darmtätigkeit. Die Aufgaben der Muskelschichten sind der Weitertransport sowie die Durchmischung der Ingesta mit Verdauungsenzymen.

Das serosale dünne Bindegewebe (Lamina propria serosae) liegt der Muskelschicht direkt auf und dient als Verschiebeschicht. Dieser Schicht liegt wiederum das Serosaepithel (Epithelium serosae, Mesothelium) auf. Es besteht aus einschichtigem Plattenepithel und hat die Aufgabe, Stoffe aus der Bauchhöhle aufzunehmen und seröse Flüssigkeiten zu sezernieren. Das Serosaepithel bildet zusammen mit dem Serosabindegewebe die Serosa (Tunica serosa), den äußeren Überzug des Dünndarms. Eine bindegewebige Tunica adventitia zwischen Muskulatur und Serosa fehlt dem Jejunum (Liebich 2004).

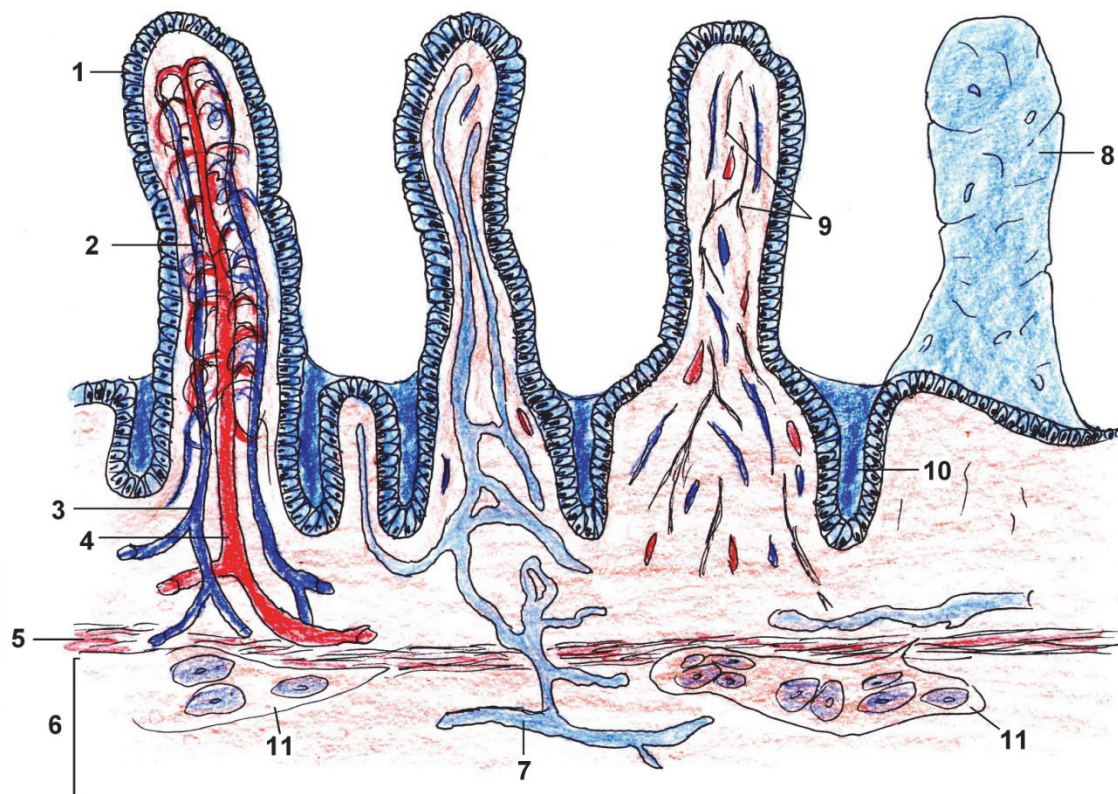


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Aufbaus einer Darmzotte (nach Liebich 2004)
 1 einschichtiges hochprismatisches Epithel inkl. Bürstensaum- u. Becherzellen, 2 subepitheliales Kapillarnetz, 3 zentrale Venole, 4 zentrale Arteriole, 5 Lamina muscularis mucosae, 6 Tela submucosa, 7 Lymphgefäßsystem, 8 Aufsicht auf eine Dünndarmzotte, 9 vegetatives Nervengeflecht u. glatte Muskelzellen, 10 Lieberkühn-Krypte, 11 Plexus nervorum submucosus (Meißner-Plexus)

In der Transplantationsforschung dient derzeit die histologische Bewertung eines Darmabschnittes als alleiniges Kriterium für eine mögliche Organdysfunktion. Ebenso gleicht das histologische Bild, welches eine Transplantatabstoßung bei Schweinen anzeigt der des Menschen (Yandaz et al. 2012).

2.3 Physiologie des Schweinedünndarms

Der Darm dient dem Weitertransport des Futterbreis aus dem Magen, der Durchmischung der Ingesta mit Verdauungsenzymen und ist Ort der Verdauung und Resorption von Nährstoffen, Wasser, Elektrolyten und Spurenelementen. Bei den zu verdauenden Nährstoffen handelt es sich um Kohlenhydrate, Fette und Proteine. Der Dünndarm des Schweins ähnelt in seiner gesamten Physiologie dem des Menschen (Yandaz et al. 2012) und ist insbesondere im Hinblick auf die Verdauung von Stärke mit dem Dünndarm des Menschen vergleichbar (Moughan et al. 1992).

2.3.1 Kohlenhydratverdauung

Als die wesentlichen Kohlenhydrate, die im Dünndarm enzymatisch verdaut werden, gelten Stärke und Glykogen sowie Laktose und Saccharose. Stärke und Glykogen sind langkettige Polysaccharide, während Laktose und Saccharose Disaccharide sind.

Das nur im Organismus von Tieren vorkommende Speicherpolysaccharid Glykogen besteht aus über α -1,4 glykosidisch verknüpften Glukoseeinheiten, die durchschnittlich alle zehn Einheiten über eine α -1,6 glykosidische Bindung verzweigt sind. Stärke, das Speicherpolysaccharid der Pflanzen, besteht aus α -1,4 und α -1,6 verknüpften Glukoseeinheiten und kommt in zwei Formen vor, die unterschiedlich verknüpft sind: Amylose und Amylopektin.

Amylose setzt sich aus 50 – 2.000 Glukoseeinheiten zusammen, die als unverzweigte spiralige Ketten vorliegen und α -1,4 glykosidisch verknüpft sind (Scharer und Wolfram 2005).

Amylopektinmoleküle sind wesentlich länger als Amylosemoleküle (2.000 – 20.0000 Glukoseeinheiten) und zudem über α -1,6 glykosidische Bindungen verzweigt (Burell 2003).

Das im Pankreassaft vorkommende Verdauungsenzym Amylase spaltet hydrolytisch Amylose in Maltotriose und Maltose und Amylopektin in Maltotriose, Maltose und α -Dextrine (siehe Abb. 3, S. 18). Dies geschieht jeweils ausschließlich an den α -1,4 glykosidischen Bindungen (Seigner et al. 1985). Diese Spaltprodukte werden von Oligo- und Disaccharidasen, die an der Bürstensaummembran des Dünndarmepithels lokalisiert sind gebunden und zu einzelnen Glukosebausteinen bzw. zu den Monosacchariden Galaktose und Fruktose gespalten. Zu diesen Enzymen zählen die Maltase (Glucoamylase, α -Glucosidase), Isomaltase (α -Dextrinase) und Saccharase (Scharer und Wolfram 2005). Während Maltase und Saccharase einzelne Glukosemoleküle hydrolytisch an der α -1,4 Bindung abspalten, trennt die Isomaltase die α -1,6 glykosidischen Bindungen der α -Dextrine auf, sodass die daraus entstehenden Bruchstücke durch die Maltase und Saccharase weiter zu Glukose aufgespalten werden können (Nichols et al. 2003).

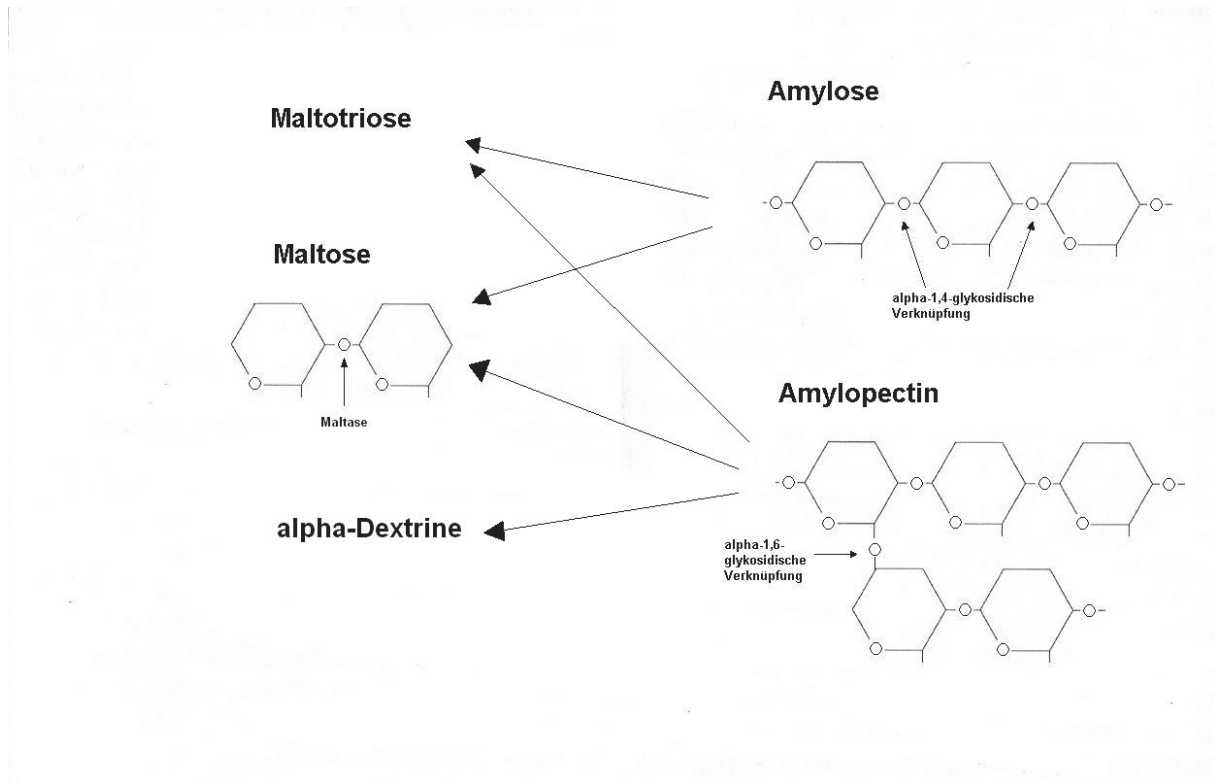


Abbildung 3: Intraluminaler Verdauung von Stärke, schematisch (nach Scharer und Wolfram 2005)

Polysaccharide, deren Glukoseeinheiten β -1,4 glykosidisch verknüpft sind (Nichtstärke Polysaccharide, NSP), wie beispielsweise Zellulose, werden weder von der Amylase noch von den Oligo- und Disaccharidasen hydrolytisch gespalten sondern im Dickdarm mikrobiell abgebaut (Metzler-Zebeli et al. 2010, Bach Knudsen 2011). Die Stärkeverdauung ebenso wie die Hydrolyse von Maltose und Maltooligosacchariden ist im Dünndarm des Schweins besonders effektiv (Günther und Heymann 1998).

Die nun vorliegenden Monosaccharide werden über einen sekundär aktiven Transport durch die Bürstensaummembran in die Epithelzellen transportiert. Dies erfolgt durch den Carrier-vermittelten Na^+ -Cotransport gegen ein Konzentrationsgefälle. Dieser Glukosecarrier besitzt neben seiner Glukosebindungsstelle zwei weitere Bindungsstellen für Natrium, welche beide besetzt sein müssen, um Glukose binden zu können. Der elektrochemische Gradient von Natrium über die Bürstensaummembran hinweg ermöglicht erst den aktiven Transport von Glukose gegen ein Konzentrationsgefälle (Scharer und Wolfram 2005).

Zur Aufrechterhaltung des Natriumgradienten wird das Elektrolyt unter ATP-Verbrauch mittels der Na^+/K^+ Pumpe wieder aus der Zelle hinaus transportiert und so eine niedrige intrazelluläre Na^+ Konzentration aufrechterhalten. Das Kalium gelangt durch K^+ Kanäle wieder in den Extrazellularraum (Crane 1961, Hediger und Rhoads 1994, Takata 1996). Dieser Na^+ -Glukose-Cotransporter (SGLT 1) befindet sich vorwiegend in für die Glukosegewinnung verantwortlichen Geweben, wie den Epithelzellen der

Dünndarmschleimhaut und den proximalen Tubuli der Nieren und stellt den wichtigsten Transportweg für Glukose aus dem Darmlumen in die Enterozyten dar (Shirazi-Beechey et al. 2011). Der Transport der Glukosemoleküle aus der Epithelzelle in das Gefäßsystem erfolgt über den sogenannten erleichterten Glukosetransporter (GLUT 2). Hierbei folgt die Glukose ihrem Konzentrationsgradienten und wird so passiv durch die Plasmamembran transportiert (Wright et al. 2003). Dieser erleichterte Glukosetransporter befindet sich im Gegensatz zum Na^+ -Glukose-Cotransporter in allen Zellen (Hediger und Rhoads 1994).

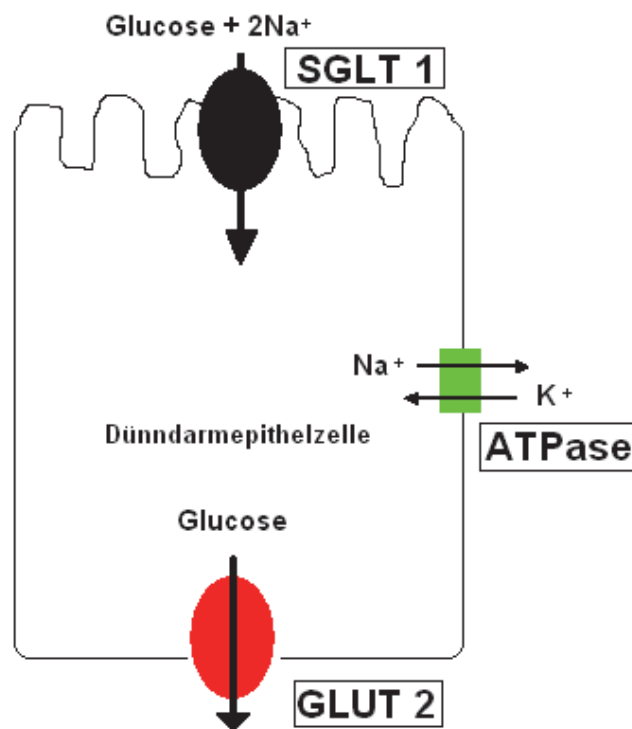


Abbildung 4: Mechanismen des transepithelialen Glukosetransportes (nach Hediger und Rhoads 1994)

Mit steigendem intraluminalen Glukoseangebot verringert sich jedoch die Glukoseabsorptionsrate, bis sie ihren Maximalwert erreicht (V_{\max}). Die Glukosekonzentration, bei der die Glukoseabsorptionsrate den halbmaximalen Wert erreicht, entspricht der Michaelis-Menten-Konstante K_m des Na-Glukosetransporters (Scharrer und Wolfram 2005). Die Michaelis-Menten-Konstante gibt also genau die Glukosekonzentration an, bei der die Hälfte der Enzyme in einem Enzym-Substrat-Komplex gebunden sind.

Der Transport von Glukose, Fruktose und Galaktose durch die basolaterale Membran erfolgt durch einen Na^+ -unabhängigen Glukosecarrier nach dem Prinzip der erleichterten Diffusion (Wright et al. 2003). Für Glukose liegt der K_m -Wert hierfür bei 20 mmol/l bzw. bei 360,36 mg/dl (Scharrer und Wolfram 2005).

2.4 Modelle zur Untersuchung der enteralen Resorption - historischer Überblick und Grundlagen des isoliert perfundierten Dünndarmsegments

Zur Untersuchung der enteralen Resorption wurde eine große Anzahl experimenteller Methoden entwickelt. Neben dem klassischen Tierversuch am lebenden intakten Tier wurden sogenannte In-vivo-Modelle entwickelt. Dabei wurde mit dauerhaft isolierten Darmabschnitten (Poelma und Tukker 1987, Poelma et al. 1990), vorübergehend isolierten Darmabschnitten (Haberich et al. 1968) oder mit in-situ perfundierten Darmabschnitten (Kitazawa et al. 1976) experimentiert und versucht, genauere Kenntnisse über die Vorgänge bei der Darmpassage zu erlangen.

Besser geeignet sind allerdings in-vitro-Modelle, da die Vorgänge an der Darmmukosa unter Ausschluss extraintestinaler Einflüsse beobachtet werden können (Emmerich 2000).

Bereits im 19. Jahrhundert wurde versucht, ein isoliertes Darmsegment mittels künstlicher Perfusion am Leben zu erhalten, indem dem Darm über die Arterie eine Blutersatzlösung aus nicht oxygeniertem defibriniertem und mit Kochsalzlösung verdünntem Blut zugeführt wurde (Salvioli 1880). Es kam hierbei jedoch zu einer deutlichen Hyperämisierung sowie zu einer Abstoßung des Schleimhautepithels des Darms (Vöge 1997). Schnell wurde klar, dass eine möglichst atraumatische Entnahmetechnik, eine ausreichende Sauerstoffsättigung sowie eine adäquate Zirkulation des Perfusats von essentieller Bedeutung für die Darmperfusion ist (Vöge 1997). Aufgrund dieses Kenntnisstandes wurde versucht, die Sauerstoffversorgung durch defibriniertes sauerstoffgesättigtes Blut zu verbessern (Roese 1930). Auch gewaschene Rindererythrozyten wurden als Sauerstoffträger eingesetzt (Öhnell 1939). Doch auch hier wurde eine unphysiologische Hypermotilität beobachtet. Um eine ausreichende Oxygenierung der Darmschleimhaut zu gewährleisten und die Probleme der arteriellen Sauerstoffversorgung zu umgehen, wurde ein Modell entwickelt, bei dem der isolierte Darmabschnitt in eine Pufferlösung gehängt wird und das Lumen ebenfalls mit sauerstoffgesättigtem, substrathaltigem Puffer durchströmt wird (Fisher und Parsons 1949). Auch dem Modell des „everted sac“ (Wilson und Wiseman 1954), bei dem die Darmschleimhaut nach außen gestülpt und von einem sauerstoffhaltigen Medium umgeben wird, liegt diese Überlegung zur besseren Oxygenierung der Schleimhaut zugrunde. Anhand beider Modelle versuchten die Autoren die Passage von Substanzen zu untersuchen, die in dem sauerstoffhaltigen Puffer gelöst waren. Auch wenn das Modell von Fischer und Parson gegenüber dem Modell von Wilson und Wiseman den Vorteil der physiologischen Lage des Darms hat, kam es bei beiden Modellen zu einer unphysiologischen Gleichgewichtseinstellung zwischen der mukosalen substrathaltigen und der serosalen Flüssigkeit; bei letzterem zusätzlich zu Problemen durch Verletzung der Darmschleimhaut (Emmerich 2000).

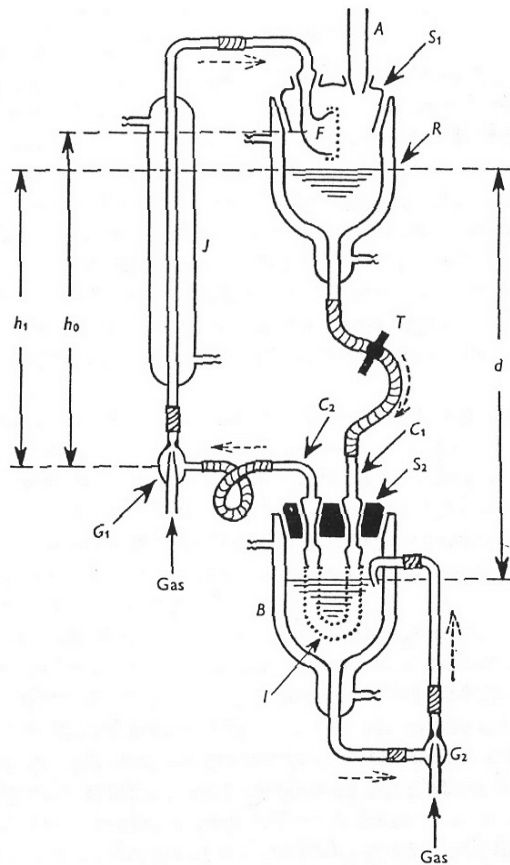


Abbildung 5: schematische Darstellung eines Kreislaufsystems zur Dünndarmperfusion (aus Fisher und Parsons 1949)

R double-walled glass reservoir, *T* screw clamp, C_{1+2} glass tube, S_2 ebonite stopper, *I* (segment of intestine) loop, G_{1+2} gas-injector, *J* jacketed vertical tube, *F* small hemispherical glass bowl (antifrothing device), *A* air condenser, S_1 glass stopper, *B* double-walled bath

Um die genannten Probleme zu umgehen wurde das von Fischer und Parson entwickelte Modell modifiziert und das isolierte Darmsegment in eine wasserdampfgesättigte Carbogen-Kammer gehängt (Rummel und Stupp 1960, Richter und Strugala 1985). Im Unterschied zu dem oben beschriebenen Versuchsaufbau, bei dem sich die resorbierten Stoffe mit dem serosalen Puffer mischen, fließt hier die Flüssigkeit mit den gelösten Substanzen durch die Darmwand, erscheint serosaseitig als Resorbat und wird tropfenweise in einem Gefäß aufgefangen. Allerdings ist auch hier mit keiner physiologischen intestinalen Resorptionsleistung zu rechnen, da das abtropfende Resorbat kein so hohes Konzentrationsgefälle erzeugen kann, wie ein normaler Blutabfluß in einem intakten Organ (Emmerich 2000).

Als Grundlage des heutzutage gängigen Modells des isolierten vaskulär perfundierten Dünndarms dient der Ende der 60er Jahre etablierte Versuchsaufbau von Dubois et al. 1968. Hierbei wurde der proximale Teil des Jejunums mit den zu- und ableitenden Gefäßen entnommen und über Katheter, die in die Gefäße eingeführt wurden sowohl die arterielle

Blutzufuhr als auch der venöse Blutabfluß gewährleistet. Als Perfusat diente eine Elektrolytmischung, der Rindererythrozyten, Albumin, Glukose sowie ein Surfactant zur Reduzierung der Oberflächenspannung und zur Minimierung der pumpenbedingten Zellschäden zugesetzt wurde. Der Blutkreislauf wurde mittels einer rotierenden Scheibe aufrechterhalten, wobei das Perfusat kontinuierlich mit Carbogen begast wurde und so die Sauerstoffsättigung des Blutersatzes erhalten werden konnte (Dubois et al. 1968). Mit diesem Modell konnte der aktive Transport von Glukosemolekülen aus dem Darmlumen in die Blutbahn nachgewiesen werden (Vöge 1997). Dieses Modell diente sowohl als Grundlage für die Weiterentwicklung verbesserter Versuchsaufbauten als auch für zahlreiche weitere Untersuchungen am isoliert perfundierten Darm, bei denen die Muskelarbeit (Johnson 1972, Holzer und Lembeck 1979) oder die Resorption von Nahrungsbestandteilen (Agar et al. 1953, Darlington und Quastel 1953, Kavin et al. 1967, Hanson und Parson 1977, Levitt et al. 1987, Copen und Davies 1988, Hutchison et al. 1991) bzw. die Resorption von Arzneimitteln untersucht wurden (Schanker et al. 1958, Sakai et al. 1980, Miyazaki et al. 1986). Ebenfalls Gegenstand wissenschaftlichen Interesses waren Fragestellungen zur Hormonausschüttung an Modellen des isolierten und vaskulär perfundierten Darms.

So wurden die Freisetzung von Sekretin aus dem Duodenum nach luminaler Infusion mit verschiedenen Nährstoffen wie auch die Glukoseaufnahme aus dem Darm und deren Hemmbarkeit durch verschiedene Pharmaka wie Qabain betrachtet (Holst et al. 1981). Ebenfalls untersucht wurden die Somatostatin-14 und Somatostatin-18 Sekretion aus dem oberen Dünndarm, dem Magen und dem Pankreas des Schweins (Baldissera et al. 1985). In neueren Versuchsaufbauten wird nahezu ausschließlich Blut als Perfusionsmedium eingesetzt, da es die Möglichkeit birgt, Transport- und Resorptionvorgänge in einem geschlossenen System unter nahezu physiologischen Bedingungen zu untersuchen (Wei et al. 2009, Lautenschläger et al. 2010).

2.5 Ischämie und Reperfusionsschäden

Das heutige Wissen über den Symptomenkomplex Ischämie/ Reperfusionsschaden resultiert überwiegend aus der Transplantationsmedizin. Üblicherweise werden benötigte Organe postmortal dem Spender entnommen und in speziellen Konservierungslösungen auf 4°C gekühlt zum Empfänger transportiert. Um die Organfunktion des Transplantats auch nach dem Transport zu gewährleisten, enthalten diese Konservierungslösungen protektive Substanzen. Das Auftreten von Reperfusionsschäden soll dadurch minimiert werden. Das maximale Zeitfenster für die kalte Konservierung liegt für das Herz bei sechs, für die Leber bei zwölf und für die Niere bei 36 Stunden (Hosseini 2002). Für den Darm bzw. den Dünndarm sind aufgrund der vergleichsweise geringen Transplantationen von 100 pro Jahr weltweit (Müller et al. 2003) wenig auswertbare Daten im Bezug auf die mögliche kalte

Konservierung vorhanden. Die durch die kalte und warme Ischämie sowie durch die anschließende Reperfusion verursachten Schäden am Organ werden als Ischämie-Reperfusionsschäden bezeichnet. Diese Schäden können bis zu einer Organdysfunktion oder sogar zu einem Organversagen führen (Braun et al. 2004).

Der Ischämie-Reperfusionsschaden ist ein komplizierter pathophysiologischer Vorgang. Durch das komplette oder teilweise Unterbinden der Blutzufuhr kommt es zu einer zellulären Dysfunktion sowie zu einer Anhäufung von Stoffwechselmetaboliten im Gewebe, welche bei anschließender Reperfusion schlagartig abtransportiert werden und so zu einem akuten oder verzögerten Zelltod führen können (Abb. 6, S. 24). Trotz kalter Konservierung und damit einhergehende Hypothermie des betreffenden Organs laufen metabolische Prozesse, wenn auch mit reduzierter Aktivität, fort. Für die Entstehung eines Ischämie-Reperfusionsschadens sind daraus resultierend mehrere Faktoren wie Azidose, ATP-Verbrauch und Sauerstoffmangel, Störungen der Ionenpumpen, Mitochondrienfunktion sowie der Transportmechanismen für Glukose und Laktat, freie Radikale und das Auftreten immunologischer und inflammatorischer Substanzen ausschlaggebend (Hosseini 2002, Troitzsch et al. 2005).

Während der Zeit der Ischämie wird durch den weiterlaufenden Stoffwechselprozess der Zellen mehr Energie verbraucht als erzeugt werden kann (Harvey et al. 1988). Der daraus resultierende Sauerstoff- und Glukosemangel führt zur Instabilität des zellulären Membranpotentials, was zur Desintegration der gesamten Zelle führen kann. Vornehmlich betrifft dies die Na^+/K^+ -ATPase, da diese für ihre Funktion große Mengen an ATP verbraucht (Silver und Erecinska 1994, Hosseini 2002). Bedingt durch den Funktionsverlust der Na^+/K^+ -ATPase kommt es zu einer Verschiebung des Membranpotenzials, was wiederum zu einem Na^+ , Ca^{2+} und Cl^- Einstrom sowie zu einem K^+ Ausstrom führt. Der daraus resultierende Wassereinstrom führt zu einem Zellödem (Martin et al. 1972). Die einzig verbleibende Möglichkeit der Zelle ATP zu gewinnen, stellt die anaerobe Glykolyse dar. Die Entstehung einer Azidose muss dabei von der Zelle in Kauf genommen werden. Der Abfall des intrazellulären pH-Wertes führt zu einer Umwandlung des Enzyms Xanthinhydrogenase. Das nun entstandene Enzym Xanthinoxidase bildet in der darauf folgenden Reperfusion mit sauerstoffreichem Blut aus Sauerstoff die Sauerstoffradikale Superoxid und Wasserstoffperoxid, die zu einer Gewebsentzündung führen (Hosseini 2002).

Bei einsetzender Reoxygenierung kommt es zu einer Erhöhung der Ca^{2+} Ionen Konzentration, welche in Kombination mit einer Anhäufung freier Fettsäuren die Mitochondrien schädigt (Siesjö 1991). Daraus resultiert eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung der Atmungskette und eine Störung des ATP/ADP-Stoffwechsels. Durch die ischämische Stoffwechsellage kommt es zu einem Absinken des transmembranalen Potentials der Mitochondrien sowie zu deren Dilatation, was bei anhaltendem Elektronentransport und gleichzeitig herabgesetzter Atmungskette zur weiteren Bildung von

Sauerstoffradikalen führt. Durch Öffnung eines Protonenkanals in der inneren Mitochondrienmembran kommt es zum Zusammenbruch des elektrochemischen Gradienten für H^+ und daraus resultierend zu Erliegen der ATP-Produktion (Kristian und Siesjö 1998, Hosseini 2002).

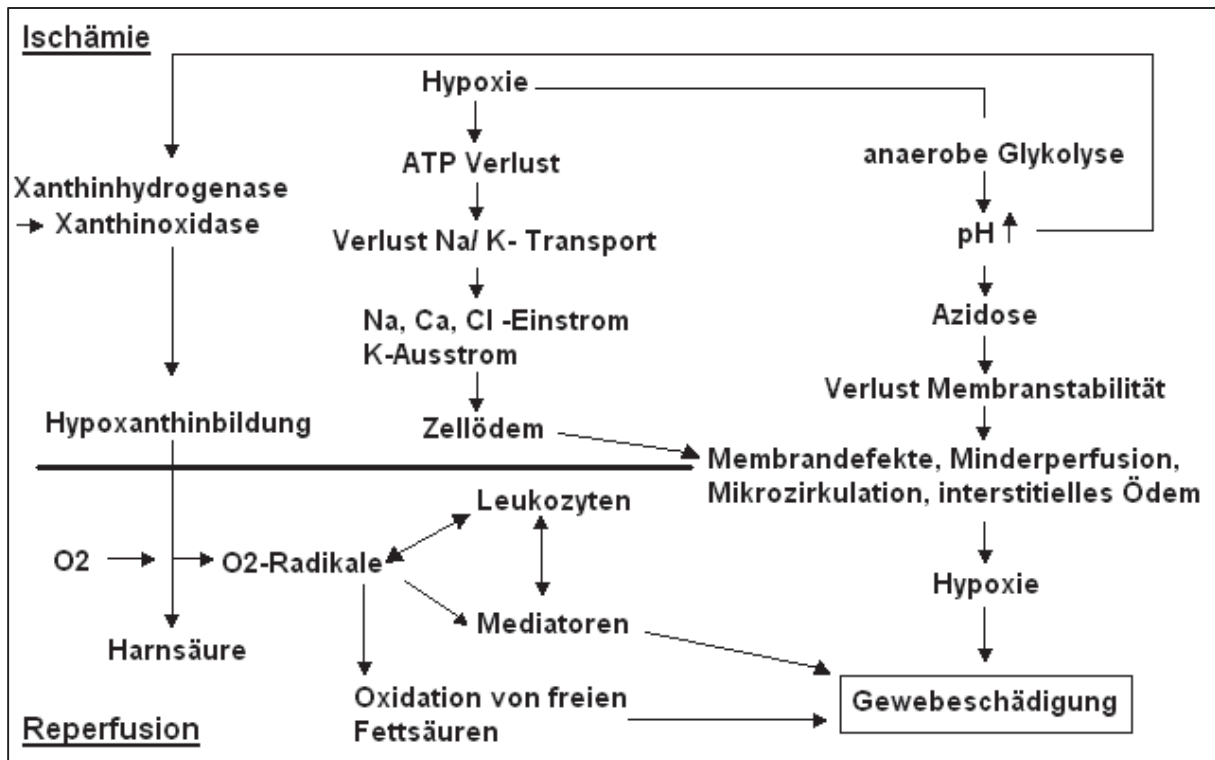


Abbildung 6:

Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens (nach Hosseini 2002)

Die entstandenen Sauerstoffradikale schädigen insbesondere die Gefäßendothelien, wodurch eine erhöhte mikrovaskuläre Permeabilität induziert wird, in deren Folge es zu einer Transsudation ins umliegende Gewebe sowie zur Bildung von Mikrothromben kommt (Stephens et al. 1988, Barie und Mullins 1988, Sigurdsson et al. 1992, Seekamp und Ward 1993, Van Griensven et al. 1999). Eine Aktivierung des Komplementsystems und zirkulierender neutrophiler Granulozyten sind ebenfalls eine Folge der Gewebsischämie.

Erfolgt nun die Reoxigenierung des betroffenen Organs, kommt es nach vorangegangener Ischämie mit zuvor beschriebenen Stoffwechselforgängen zum sogenannten Reperfusionsschaden durch Abschwemmen von Proteasen, Sauerstoffradikalen, lysosomalen Enzymen und aktivierten neutrophilen Granulozyten sowie zu sekundären Organschäden (Hosseini 2002).

2.5.1 Ischämie-Reperfusionsschäden des Dünndarms

Der Dünndarm, insbesondere die Mukosa des Dünndarms ist besonders sensibel im Bezug auf einen Ischämie-Reperfusionsschaden (Hosseini 2002). Schon 1970 konnten von Chiu und seinen Mitarbeitern anhand eines Rattenmodells die morphologischen Effekte eines Ischämie-Reperfusionsschadens auf die Dünndarmmukosa beschrieben werden. Nach Desquamation des Schleimhautepithels vom Schleimhautbindegewebe - histologisch als Grünhagen`sche Spalten zu erkennen - erfolgt die Zerstörung der Villi von der Spitze zur Basis hin und endet in der Desintegration der Schleimhaut mit Entblößung der Villi und einhergehenden Hämorrhagien (Chiu et al. 1970). Ist der Dünndarm einer Ischämie ausgesetzt, kommt es folglich zur Schädigung der Mukosa und Lamina propria sowie daraus resultierend zu einer herabgesetzten mukosalen Barrierefunktion (Illyes und Hamar 1992, Haglund 1994, Kong et al. 1998, Hosseini 2002). Durch die bereits erwähnten Sauerstoffradikale kommt es auch während der Phase der Reperfusion zur Zerstörung der Darmschleimhaut durch Ablösung des Epithels (Weixiong et al. 1994; Kong et al. 1998). Dies erfolgt in Form eines direkten Gewebeschadens durch Reaktion der Radikale mit Lipiden und Proteinen der Zellmembran sowie durch Interaktion mit Desoxyribonukleinsäuren mit nachgeschalteten DNA-Strangbrüchen (Burger et al. 1980). Als indirekte Gewebeschädigung nehmen die Radikale zusätzlich Einfluss auf das Gefäßsystem durch Vasokonstriktion und Thrombozytenaktivierung. Diese Aktivierung der Thrombozyten, die Mikrozirkulationsschäden hervorrufen kann, stellt wiederum einen unerwünschten Effekt auf das Gefäßsystem dar. Des Weiteren kommt es zur Aktivierung von Leukozyten, was zur Ausbreitung der beginnenden Entzündung (Jung et al. 2000) sowie zur gesteigerten Produktion von Adhäsionsmolekülen (Carden und Granger 2000) führt.

Der Darmmukosa kommt als Grenzschicht zu dem mit Mikroorganismen besiedelten Darmlumen eine besondere Bedeutung zu. Durch die Zerstörung dieser Grenzschicht kommt es zum Übertritt von Bakterien und Toxinen ins Gewebe und in den Blutkreislauf (Wenzel 1993), was zu einer schweren Sepsis des gesamten Organismus führt (Hosseini 2002). Es kommt zur Aktivierung der unspezifischen zellulären Immunabwehr, insbesondere der neutrophilen Granulozyten, die unter Beteiligung von Adhäsionsmolekülen am kapillären Endothel adhäreren. Diese phagozytieren und lysieren körperfremde Stoffe und es kommt zur erhöhten Freisetzung der daraus resultierenden lysosomalen Produkte sowie zur Freisetzung von Sauerstoffradikalen, was eine Rigidität der Endothelzellen zur Folge hat (Hoover et al. 1987). Die so entstandene erhöhte Endothelpermeabilität führt zur bereits erwähnten Sepsis.

Die aktuelle Forschung beschäftigt sich vorwiegend mit der Suche nach Pharmaka und Probiotika sowie anderen Stoffen mit protektiven Eigenschaften sowie mit Markern und Untersuchungsmethoden, die die Früherkennung eines Ischämie-Reperfusionsschadens

möglich machen. So reduziert Cobalt-Protoporphyrin, ebenso wie Glutamin über die Aktivierung der Hämoxxygenase eines Hitze-Schock-Proteins den intestinalen Ischämie-Reperfusionsschaden (Liao et al. 2013). Auch die Aminosäure Glycin hat sich zur Verhinderung eines Ischämie-Reperfusionsschadens am Darm im Rahmen einer isolierten Perfusion oder einer prätransplantaren Kältekonseruierung aufgrund dieses direkt zellschützenden Effektes bewährt; allerdings ist der genaue Mechanismus noch ungeklärt (Petrat et al. 2012). Eine 2013 veröffentlichte Studie zeigte eine deutlich höhere Überlebensrate mit weniger histologischen Schäden an der Darmmukosa nach experimentell induzierter Ischämie aufgrund der Gabe von Pentoxifyllin während der Reperfusion im Rattenmodell (Lloris Carsi et al. 2013).

Grootjans et al. vergleichen in einer 2012 veröffentlichten Studie an humanen Jejunumabschnitten die histologischen Ergebnisse mit den endoskopischen Bildern nach experimentell erzeugter Ischämie und anschließender Reperfusion. Die nach 60 Minuten Ischämie eingetretenen histologischen Schäden äußern sich in Form von subepithelialen Spalten und Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria. Während es nach 30 Minuten Reperfusion zu einer teilweisen Ablösung des Schleimhautepithels mit entblößten Villi und Blutungen in das Lumen kommt, zeigen sich die Villi nach 120 Minuten Reperfusion zwar deutlich verkürzt, jedoch fast wieder vollständig mit Schleimhautepithel überzogen (Grootjans et al. 2012).

Eigenen Untersuchungen zufolge hat die Dauer der Ischämie einen entscheidenden Einfluss auf die Integrität des Schleimhautepithels. So zeigten sich nach einer warmen Ischämiezeit von 22 Minuten bei einem Darm in der histologischen Auswertung deutlich verkürzte Zotten und ein Schleimhautepithel, das nur noch in den Krypten vorhanden war. Ein vergleichbares histologisches Bild konnte bei den restlichen Därrnen, deren warme Ischämiezeit immer unter 20 Minuten lag, nicht gezeigt werden (Koch et al. 2005).

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Spendertiere

Als Spendertiere dienten klinisch gesunde Schweine ($n = 16$) der Deutschen Landrasse beiderlei Geschlechts. Die Tiere stammten aus einem herkömmlichen Mastbetrieb und wurden in der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum artgerecht in Gruppen gehalten. Die Eingewöhnungszeit betrug zwei Wochen.

Durch die Verwendung des gleichen Tieres als Organ- sowie als Blutspender wurde ein in sich geschlossenes Modell für die In-vitro Perfusion geschaffen.

Die verwendeten Schweine wogen zwischen 35,0 und 51,0 kg (durchschnittlich $41,2 \pm 5,1$ kg) und blieben 24 h präoperativ nüchtern.

3.2 Organ- und Blutgewinnung

Nach Prämedikation des Spenderschweins mit 4 - 6 mg/ kg KGW Azaperon¹, 10 mg/ kg KGW Ketamin² und 0,05 mg/ kg KGW Atropin³ i.m. in der Mischspritze folgte die Narkoseeinleitung mit 0,25 - 0,5 mg/ kg KGW Etomidat⁴ i.v.

Um die für die Operation nötige periphere Muskelrelaxation zu erreichen, wurden dem Tier nach Intubation 4 mg Pancuronium⁵ i.v. injiziert. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte mittels Inhalationsnarkose mit 1,5 - 1,8 % Isofloran⁶ im Gemisch mit 40% O₂ und 60% N₂O.

Nach Bedarf wurden Repetitionsgaben von 2-4 mg Pancuronium zur weiteren Relaxation intraoperativ verabreicht.

Die angestrebten intraoperativen Beatmungswerte lagen bei 100 - 150 ml/kg KGW Atemzugvolumen, 32 - 36 mmHg ETCO₂- Druck und Beatmungsdruck $\leq 20 - 25$ cm H₂O.

Nachdem das Tier in Rückenlage fixiert und das Operationsfeld rasiert sowie desinfiziert⁷ wurde, wurde für die spätere Blutentnahme ein zentraler Venenkatheter in die Vena jugularis externa gelegt und mittels 3-Wege-Hahn⁸ verschlossen.

¹ Stresnil®, Fa. Jansen

² Ursotamin®, Fa. Serumwerk Bernburg AG

³ Atropinisulfat® Fa. B. Braun AG Melsungen/Germany

⁴ Etomidat-Lipro®, Fa. B.Braun, Melsungen

⁵ Pancuronium® Fa. DeltaSelect GmbH Deireich/Germany

⁶ Isofluran Curamed, Karlsruhe

⁷ Braunoderm®, Fa. B.Braun, Melsungen

⁸ Hahn, 3-wege, rot/ blau, Smiths Medical GmbH Deutschland, Kirchseeon

Der Zugang zum Abdomen erfolgte mittels Laparatomie über die Linea alba unter Verwendung herkömmlichen chirurgischen Instrumentariums sowie eines Elektrokauters.

Zur Organentnahme wurde zunächst ein von der Gefäßversorgung her geeignetes, möglichst proximal gelegenes und 150 cm langes Jejunumsegment ausgewählt (Abb. 7 a, S. 29). Daraufhin wurde der zugehörige Gefäßstamm, bestehend aus A. und V. jejunalis, freipräpariert und vom mesenterialen Fettgewebe befreit (Abb. 7 b).

Nach Anlegen von je zwei Darmklemmen proximal und distal der jeweiligen Inzisionsstelle, wurde der Darm durchtrennt und mittels zweier etwa 6 cm langer Silikonschläuche⁹ kanüliert (Abb. 7 c). Diese Silikonschläuche wurden mit chirurgischem Nahtmaterial¹⁰ an den beiden Lumenenden fixiert. Nun wurden unter Zuhilfenahme des Elektrokauters das Mesenterium unter Schonung der Lnn. jejunales durchtrennt und vorhandene Marginalgefäße doppelt ligiert und durchschnitten. Daraufhin wurde über den zentralen Venenkatheter Blut in einen zuvor mit 1275 I.E. Heparin¹¹ präparierten Blutbeutel¹² abgelassen. Das so gewonnene Blutvolumen I betrug im Schnitt $653,0 \pm 67,6$ g. Die zuvor in den leeren Blutbeutel gegebene Heparinmenge von 1275 I.E., wie auch die später dem Blutvolumen II zugesetzte Menge Heparin, wurde aus den Versuchsaufbauten der Organperfusionen von Niere, Schweinebein und Leber übernommen. Im Anschluss daran wurden dem Tier 300 I.E./ kg KGW Heparin i.v. injiziert. Nun wurde die freipräparierte A. jejunalis mit einer herkömmlichen Arterienklemme abgeklemmt, durchtrennt und mittels eines speziellen Gefäßschlauchs kanüliert (Abb. 7 d u. f). Dieser wurde mit chirurgischem Nahtmaterial am Gefäß fixiert. Auf dieselbe Art und Weise wurde die V. jejunalis abgeklemmt und durchtrennt sowie anschließend der so gewonnene Dünndarmabschnitt aus dem Tierkörper entnommen. Die Kanülierung der V. jejunalis fand in gleicher Weise wie die der Arterie am explantierten Organ statt (Abb. 7 e u. f). Die Gefäße wurden nach erfolgreicher Kanülierung mit körperwarmer 0,9% Natriumchloridlösung¹³ gespült.

Parallel zur Kanülierung der Vene wurde das Tier mittels Blutentzug über den geöffneten zentralen Venenzugang getötet. Die dabei gewonnene Blutmenge wurde zu einem Teil ebenfalls für die darauffolgende Perfusion des Dünndarms verwendet und die verbleibende Menge gekühlt aufbewahrt und für andere Versuchsreihen genutzt. Das in diesem Versuch zum Einsatz gekommene Blutvolumen II betrug im Durchschnitt $550,0 \pm 171,3$ g und wurde ebenfalls in einem Blutbeutel aufgefangen, dem zuvor 625 I.E. Heparin zugesetzt wurde.

⁹ Silikon Platinum Schläuche, Fa. Novodirekt

¹⁰ Vicryl®, 3,5 metric, Ethicon GmbH, Norderstedt

¹¹ Liquemin® N 25 000: Heparin-Natrium Injektionslösung, Fa. Roche AG, Grenzach-Wyhlen

¹² Biopack Compoflex, Leerbeutel m. Lueransatz 500 ml, Biotrans GmbH Dreieich/ Germany

¹³ Natriumchloridlösung 500 ml, Berlin-Chemie AG

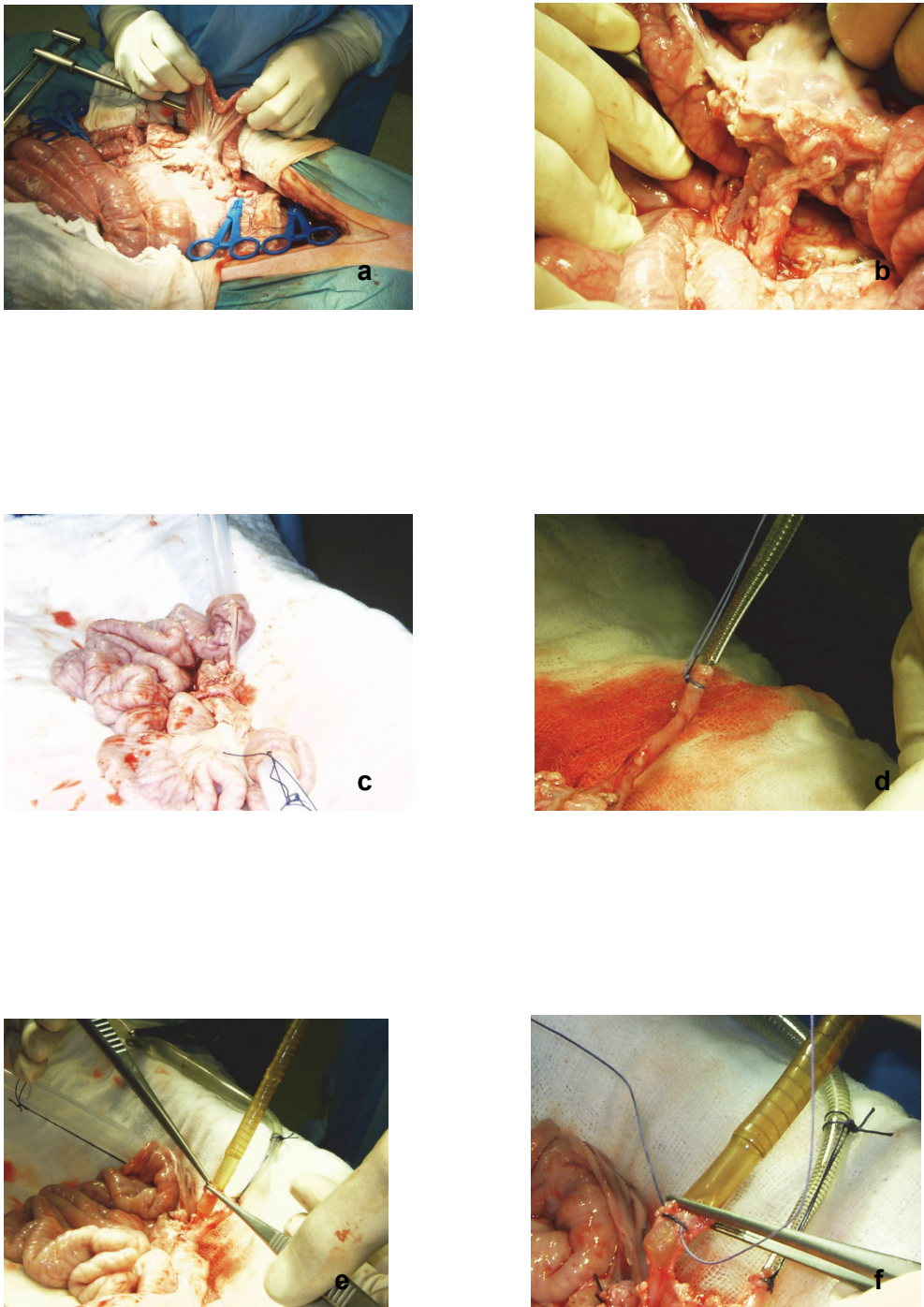


Abbildung 7: a Aufsuchen eines geeigneten Jejunumsegments; b Freipräparierter Gefäßstamm bestehend aus A. et V. jejunalis; c Kanülierte Lumennenden; d Kanülierung der A. jejunalis; e Kanülierung der V. jejunalis; f Kanülierte Vene und Arterie nebeneinander

3.3 Versuchsaufbau

3.3.1 Extrakorporales Kreislaufsystem

Die Darmperforationsapparatur bestand aus zwei Kreislaufsystemen: zum einen dem Blutkreislauf, zum anderen dem Dialysatkreislauf, die sich in ihrer Funktion voneinander unterschieden (Abb. 8 u. 9, S. 30 u. 33). Über ein System für den Gas- und Stoffaustausch standen beide Kreisläufe miteinander in Kontakt.

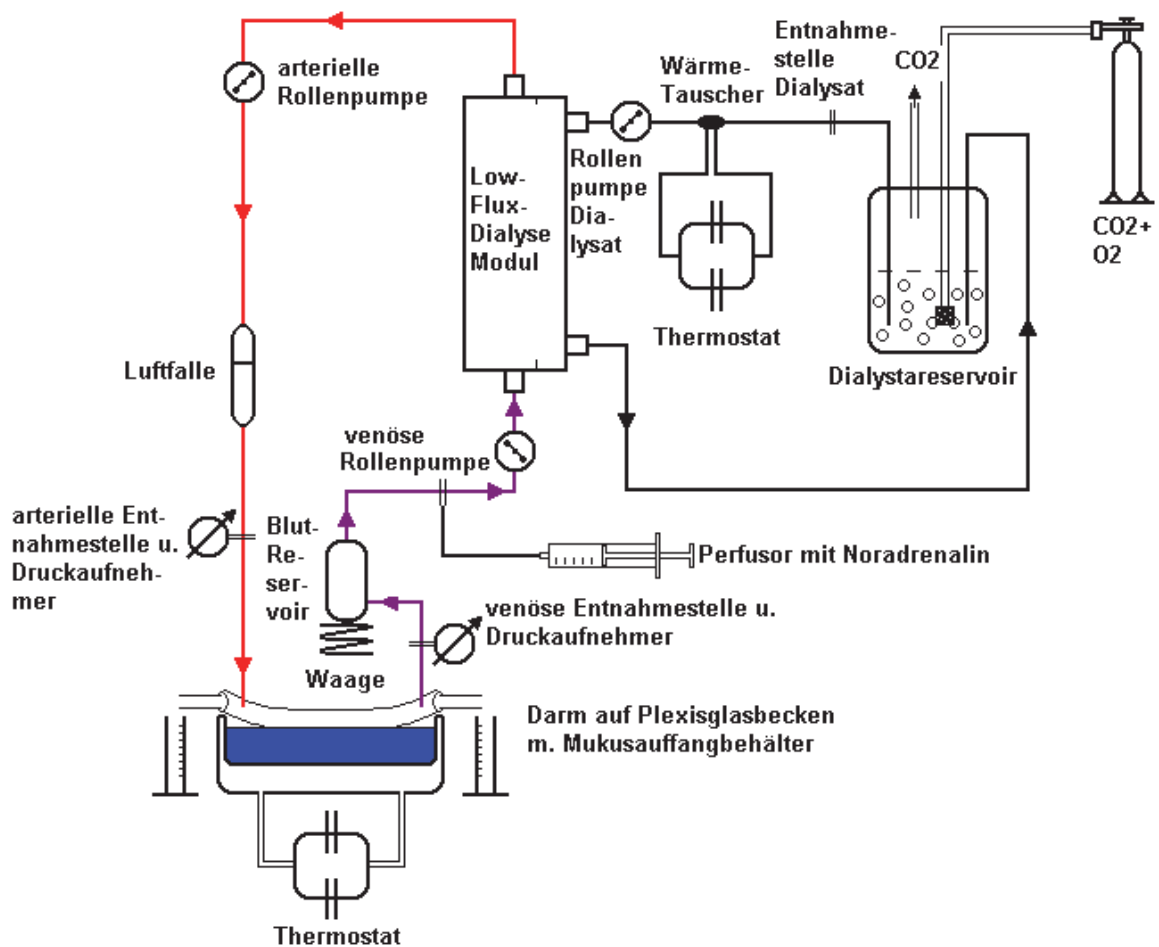


Abbildung 8: schematische Darstellung der Darmperforationsapparatur

3.3.2 Blutkreislauf

Der Blutkreislauf bestand aus einer mit durchschnittlich $1203,0 \pm 175,3$ ml Eigenblut gefüllten, mit zwei Schlauchanschlüssen versehenen Plastikflasche¹⁴, dem Blutreservoir, zwei Rollenpumpen¹⁵ mit integrierten Flussmessern, einer arteriellen und einer venösen Blutentnahmestelle¹⁶, zwei Druckaufnehmern mit angeschlossenen Druckmessern¹⁷, zwei unterschiedlichen Temperaturmessgeräten, dem Anschluss für den Perfusor¹⁸, einer Luftfalle, den Verbindungsschläuchen¹⁹ und dem Modul²⁰ für den Gas- und Stoffaustausch.

Das Blut gelangte aus dem auf einer elektronischen Waage²¹ befindlichen Reservoir, angetrieben durch die erste Rollenpumpe, über Verbindungsschläuche in den Kapillardialysator, wo es dialysiert, oxygeniert und decarboxyliert wurde. Zwischen Blutreservoir und Kapillardialysator befand sich der Anschluss für den Perfusor. Angesichts vereinzelt aufgetretener Durchflussstörungen im arteriellen und venösen System des Kapillardialysators in den Vorversuchen, wurde ein zweiter Dialysator in Reihe geschaltet und abgeklemmt. Zeigte der Darm erste Anzeichen einer Hypoxie, wie Blaufärbung und plötzlich einsetzende Hypermotilität, konnte ohne Unterbrechung der Perfusion auf den zweiten Dialysator umgeschaltet werden.

Das sauerstoffreiche Blut gelangte über eine zweite Rollenpumpe und eine Luftfalle in die kanülierte A. jejunalis. Zwischen Rollenpumpe und Luftfalle befand sich der Temperaturfühler²² zur Messung der Bluttemperatur, der über einen Y-Konnektor in das arterielle Schlauchsystem eingeführt wurde. Zwischen Luftfalle und Arterie befanden sich die arterielle Entnahmestelle und der arterielle Druckaufnehmer. Aus der kanülierten V. jejunalis gelangte das sauerstoffarme Blut aus dem Darm über Verbindungsschläuche, an die die venöse Entnahmestelle sowie der venöse Druckaufnehmer angeschlossen waren, zurück in das Blutreservoir, sodass der Blutkreislauf geschlossen war. Der arterielle und der venöse Blutdruck sowie die Temperatur des Darms und des Blutes wurden kontinuierlich aufgezeichnet und auf einem Monitor²³ dargestellt. Die Flussgeschwindigkeit des Blutes konnte jederzeit an den Rollenpumpen abgelesen werden.

¹⁴ leere Flasche Natriumchlorid Lösung 1000 ml, Berlin -Chemie AG

¹⁵ Caps Doppelpumpe, Serien -Nr.: 10H5065, V 220, 50 Hz, 2x 0,8 A, Stöckert Instrumente München

¹⁶ Hahn, 3-wege, rot/ blau, Smiths Medical GmbH Deutschland, Kirchseeon

¹⁷ Transonic Flowprobe, Transonic Systems Inc.

¹⁸ Hahn, 3-wege, rot/ blau, Smiths Medical GmbH Deutschland, Kirchseeon

¹⁹ Silikon Platinum Schläuche unterschiedlichster Innen- und Außendurchmesser und Wandstärken, Fa. Novodirekt

²⁰ Haemoflow F7, Fresenius Polysulfone®, Kapillardialysator, Fresenius Medical Care

²¹ Waage, Sartorius AG Göttingen/Germany

²² Thermometer: Fa. Hewlett-Packard, Modell 66S

²³ Hewlett Packard Modell 1094 B, Temperatur- und Druckaufnehmer Hewlett Packard Modell 66 S

3.3.3 Dialysatkreislauf

Der Dialysatkreislauf der Darmperfusionsapparatur bestand aus einem mit 5 Litern Dialysat gefüllten Glaskolben, dem Dialysatreservoir, einer Rollenpumpe²⁴, einem Thermostat²⁵, einem Wärmetauscher²⁶, einem Sprudelstein, der über ein Manometer²⁷ mit einer Sauerstoff- und einer Kohlendioxidflasche verbunden war, einer Dialysatentnahmestelle²⁸ sowie den Verbindungsschläuchen²⁹.

Im Dialysatreservoir befand sich der über ein CO₂- und O₂-Manometer mit der Sauerstoff- und Kohlendioxidflasche verbundene Sprudelstein, der das Dialysat mit einem 97,5% O₂/ 2,5% CO₂-Gasgemisch durchperlte.

Aus dem Dialysatreservoir gelangte das Dialysat, angetrieben von einer Rollenpumpe mit einer Pumpgeschwindigkeit von 700 ml/min über Verbindungsschläuche in den Kapillardialysator. Auf dem Weg dorthin befanden sich die Dialysatentnahmestelle sowie der mit dem auf 38 - 40 °C eingestellten Thermostat verbundene Wärmetauscher, welcher mittels Gegenstromprinzip das Dialysat erwärmte. Das erwärmte und oxygenierte Dialysat gab im Kapillardialysator die Wärme und den Sauerstoff an das Blut ab. So wurde eine möglichst konstante Temperatur zwischen 37,5 und 38,5 °C und eine physiologische Sauerstoffsättigung des Blutes sichergestellt. Des Weiteren passierten nieder- und mittelmolekulare (bis zu einer Größe von etwa 10 kD) gelöste Stoffe aufgrund des Konzentrationsgefälles die Membran des Dialysators (Dialyse) und führten so zu einem Konzentrationsausgleich. Nach Passage des Dialysators gelangte das sauerstoffarme Dialysat zurück in das Dialysatreservoir. Der als Dialysatreservoir fungierende Glaskolben war dabei oben offen, sodass kein Unterdruck entstehen konnte.

²⁴ Typ: 10-40-00, Fabr.Nr.:10 F 2272, 220 V, 50 Hz, 0,6 A, Stöckert Instrumente München

²⁵ Thermostat JULABO U3, No.: 8241613, 220 V, 50-60 Hz, Julabo Labortechnik GmbH Seelbach/ Germany

²⁶ Cardioplegia Heat exchanger CSC 14, Sorin Biomedica

²⁷ Typ: DK 47 R, Krohne Duisburg Germany

²⁸ Hahn, 3-wege, rot/ blau, Smiths Medical GmbH Deutschland, Kirchseeon

²⁹ Silikon Platinium Schläuche unterschiedlichster Inne- und Außendurchmesser und Wandstärken, Fa. Novodirekt



Abbildung 9: Versuchsaufbau für die Darmperfusion

3.3.4 Organlagerung

Der Darm war während des gesamten Versuchs auf einem eigens dafür angefertigten, im Inneren mit Leitungswasser gefüllten, etwa 4 Liter fassenden und über ein externes Thermostat³⁰ beheizten Plexiglasbecken gelagert. Das Thermostat befand sich in einem Becken, in dem das Leitungswasser erwärmt und kontinuierlich über eine im Thermostat integrierte Wasserpumpe mit angeschlossenen Silikonschläuchen in das Plexiglasbecken gepumpt wurde. Um eine möglichst physiologische Lagerung des Darms zu gewährleisten, wurde er jedoch nicht direkt auf dem konkaven Boden des Beckens platziert. Stattdessen wurde auch der Raum über dem konkaven Boden bis ca. 1 cm unter dem Beckenrand mit Leitungswasser gefüllt, darüber ein herkömmlicher Polyethylen Müllbeutel gespannt und der Darm hierauf wie auf einem „Wasserbett“ gelagert (Abb. 10, S. 34). Das Thermostat wurde auf 38 - 40 °C eingestellt, um eine möglichst konstante Temperatur des Darmes von 37,5 - 38,5 °C zu erzielen.

Um zu verhindern, dass Mukus aus den offenen Darmenden auf die saubere Lagerungsfläche gelangt, wurden die kanülierten Darmenden in zwei Auffangbehältnisse gehängt. Einer Auskühlung des Darms wurde durch Abdeckung mit einer herkömmlichen Plastiktüte vorgebeugt. Die Temperatur des Darms wurde mittels eines Temperaturfühlers³¹, der sich während des gesamten Versuchs unter dem Darm befand, gemessen.

³⁰Thermostat JULABO U3, No.: 8241613, 220 V, 50-60 Hz, Julabo Labortechnik GmbH Seelbach/ Germany

³¹ Thermometer: Fa. Hewlett-Packard, Modell 66S



Abbildung 10: Lagerung des Darms während der Perfusion

3.3.5 Module für Gas- und Stoffaustausch

Blut- und Dialysatkreislauf traten indirekt über den Kapillardialysator in Kontakt. Durch diesen flossen Blut und Dialysat in zwei durch eine dünne semipermeable Membran getrennten Kompartimenten, wobei der Stoff- und Flüssigkeitsaustausch stattfand. Auf der einen Seite wurden Abbauprodukte des Darms sowie aus dem Lumen resorbierte Substanzen über das Blut an das Dialysat abgegeben, auf der anderen Seite diffundierten Bestandteile des Dialysates in das Blut. Die treibenden Kräfte hierfür waren ein Konzentrationsgefälle in den durch die Membran getrennten Flüssigkeitskompartimenten sowie das physikalische Prinzip, nach dem Flüssigkeiten aufgrund der Braun-Molekularbewegung einen Konzentrationsausgleich anstreben. Neben dem Stoffaustausch fand hier auch der Austausch von Sauerstoff und Kohlendioxid statt.

3.3.6 Perfusor

Dem Perfusatblut wurden bei ersten Anzeichen von gesteigerter Mukussekretion, hyperämischem Aussehen, sichtbarer Hypermotilität bzw. Blutdruckabfall kontinuierlich geringe Mengen Noradrenalin (Norepinephrinhydrochlorid)³² mittels Perfusor³³ zugesetzt. So konnte der aufgehobenen Sympathikusaktivität, bedingt durch die zentrale Denervierung des Darms und dem daraus folgenden Überwiegen der intrinsischen parasymphatischen Aktivität, entgegengewirkt werden. Zur genauen Zusammensetzung der Noradrenalinlösung siehe S. 48, Tabelle 9. Die im Perfusor eingespannte Perfusorspritze³⁴ war zwischen

³² Arterenol®, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt a. Main

³³ IVAC® P 7000, Serial No.: 7001-12489, Alaris Medizintechnik GmbH Gießen

³⁴ Original-Perfusor-Spritze® OPS, 50 ml, Luer Lock, B. Braun Melsungen AG

Blutreservoir und venöser Rollenpumpe über eine an einen 3-Wege-Hahn³⁵ angeschlossene Perfusorleitung³⁶ mit dem venösen Schlauchsystem verbunden. So konnte eine kontinuierliche Noradrenalinsubstitution erfolgen.

3.4 Vorbereitungen an der Darmperfusionsapparatur

Zunächst wurde das Thermostatbecken bei eingeschaltetem Thermostat solange mit Leitungswasser befüllt, bis die im Thermostat integrierte Wasserpumpe das als Organlagerungsstätte dienende Plexiglasbecken im Inneren komplett befüllt hatte. Danach wurde der konkave Beckenboden bis 1 cm unter den Rand mit Wasser gefüllt, ein Polyethylen-Beutel locker darüber gespannt und mit Kunstseidenklebeband an den Seiten des Beckens fixiert. Auf dem Müllbeutel wurde der Temperaturfühler positioniert und das Thermostat so eingestellt (38-40 °C), dass der mit dem Monitor verbundene Temperaturfühler eine Temperatur zwischen 37 und 38 °C anzeigte.

Das Dialysat (5 l) wurde in den als Dialysatreservoir dienenden Glaskolben gefüllt, die Sauerstoff- und Kohlendioxidflaschen geöffnet und über das Manometer die entsprechende Zufuhr von 97,5% Sauerstoff und 2,5% Kohlendioxid sichergestellt. Die Dialysatpumpe wurde eingeschaltet und auf eine Durchflussgeschwindigkeit von 700 ml/min eingestellt.

Das zum Dialysatkreislauf gehörige Thermostatbecken wurde mit Leitungswasser befüllt und das Thermostat auf eine Temperatur zwischen 38 und 40 °C eingestellt, sodass über den Wärmetauscher das Dialysat erwärmt werden konnte und damit die Abgabe der Wärme an den Blutkreislauf gewährleistet war.

Bevor das Blutkreislaufsystem mit der wässrigen Phase befüllt werden konnte, wurden die beiden für den späteren Anschluss an Arterie und Vene des Darms vorgesehenen Schläuche mittels eines kurzen Silikonschlauchs verbunden und der Kreislauf damit kurzgeschlossen. Im Anschluss wurden der Blutkreislauf mit 500 ml physiologischer Kochsalzlösung³⁷ befüllt und die Rollenpumpen gestartet. Dieser Vorgang diente vorrangig dazu, vorhandene Luft aus dem Kreislaufsystem zu entfernen. Die Luft wurde hierbei mittels einer Spritze über die Luftfalle so lange abgesaugt, bis das System luftfrei war. Danach wurde der in Reihe geschaltete Ersatzdialysator abgeklemmt.

Alle bis zu diesem Punkt aufgeführten Vorbereitungen sollten eine Stunde vor Versuchsbeginn getroffen werden, um eine gleichmäßige physiologische Temperatur der sich in den verschiedenen Kreisläufen befindlichen Flüssigkeiten zu gewährleisten.

³⁵ Hahn, 3-wege, rot/ blau, Smiths Medical GmbH Deutschland, Kirchseeon

³⁶ Original-Perfusor-Leitung®, Typ N 150 cm, Anschlussstück Luer Lock, B. Braun Melsungen AG

³⁷ Natriumchlorid Lösung 0,9 %, 1000 ml, Berlin -Chemie AG

Des Weiteren wurde die Noradrenalinlösung vorbereitet, in der Perfusorspritze aufgezogen, die Perfusorleitung an die Spritze angeschlossen und durch leichten Druck auf den Spritzenkolben die Perfusorleitung ebenfalls mit Noradrenalinlösung gefüllt. Im Anschluss daran wurde die so vorbereitete Perfusorspritze in den Perfusor eingelegt und der Perfusor auf 6 ml/h eingestellt; jedoch noch nicht gestartet.

Nun erfolgte die Befüllung mit Blut I. Dazu wurden zunächst die Pumpen abgeschaltet, dann die sich im Blutreservoir befindende Kochsalzlösung vorsichtig ausgegossen und der venöse Zufluss zum Reservoir abgeklemmt. Daraufhin wurde der Blutkreislauf hinter der Luftfalle geöffnet und das offene Schlauchende in ein Auffanggefäß gehängt. Dann wurde der Blutbeutel geöffnet und das Blut in das Reservoir gefüllt. Um dabei die Hämolyse möglichst gering zu halten, ließ man das Blut vorsichtig an der Reservoirwand entlang laufen. Nun wurden beide Pumpen mit geringer Flussgeschwindigkeit gestartet. Das Blut passierte hierauf das gesamte Schlauchsystem und schob dabei die Wassersäule vor sich her. Die auslaufende Kochsalzlösung wurde im dafür vorgesehenen Gefäß aufgefangen, und nachdem Konsistenz und Farbe der austretenden Flüssigkeit auf das weitgehende Vorhandensein von unverdünntem Blut schließen ließen, das Kreislaufsystem wieder geschlossen.

Anschließend wurde das Reservoir mit dem Blut aus dem zweiten Blutbeutel (Blut II) aufgefüllt und die Klemme entfernt.

3.5 Organanschluss und normotherme Perfusion

Zunächst wurden beide Pumpen abgeschaltet, der arterielle und venöse Zufluss abgeklemmt und der Schlauch zum Kurzschließen des Systems entfernt. Dann wurde der abgeklemmte arterielle Zufluss mit der bereits kanülierten Arterie des Darms verbunden und die Klemme entfernt. Daraufhin wurden beide Pumpen mit geringer Flussgeschwindigkeit (50 ml/min) gestartet. Sobald das Blut über die kanülierte V. jejunalis zurückgeflossen war, wurde auch die kanülierte Vene mittels passendem Konnektor mit dem venösen Ende des Schlauchsystems verbunden, die Klemme entfernt und damit der Perfusionskreislauf geschlossen. Dabei war zu beachten, dass keine Luft in den Blutkreislauf gelangt und auch nach Anschluss des Darms eine luftfreie Perfusion gewährleistet ist. Die beiden Rollenpumpen wurden nun auf eine Flussgeschwindigkeit von ca. 100 ml/min eingestellt und somit die normotherme Hämoperfusion gestartet.

Für den Versuch wurden ein arterieller Druck von maximal 100 mmHg und ein venöser Druck von maximal 13 mmHg angestrebt, die während des gesamten Versuchs auf dem Monitor aufgezeichnet wurden. Zum Ausgleich gelegentlich auftretender Blutverluste durch

Sickerblutungen aus dem Mesenterium und zur Verhinderung eines in der Folge auftretenden Leerlaufens des Blutreservoirs, diente als Korrekturgröße die Flussgeschwindigkeit der Vene. Kam es zu einer deutlichen Abnahme des Blutvolumens im Reservoir, so konnte durch Drosselung des venösen Flusses und daraus folgender Hämodilution der Blutverlust ausgeglichen werden. Durch Korrekturen an der venösen und nicht der arteriellen Rollpumpe wurde eine Perfusion mit konstantem arteriellen Blutdruck gewährleistet. Der Perfusor zur Noradrenalinsubstitution wurde bei Bedarf manuell zugeschaltet.

Die Perfusionsdauer wurde bei sämtlichen Versuchen auf 180 min festgelegt, wobei die erste Messung zum Zeitpunkt Null (Baseline) erst 5 min nach Anschluss des Darms erfolgte (ab Darm 2). Diese Vorlaufzeit diente dazu, einen Stoff- und Konzentrationsausgleich zwischen den beiden Kompartimenten Dialysat und Blut zu ermöglichen. Die Gesamtzeit der Perfusion belief sich damit auf 185 min (Abb. 11).

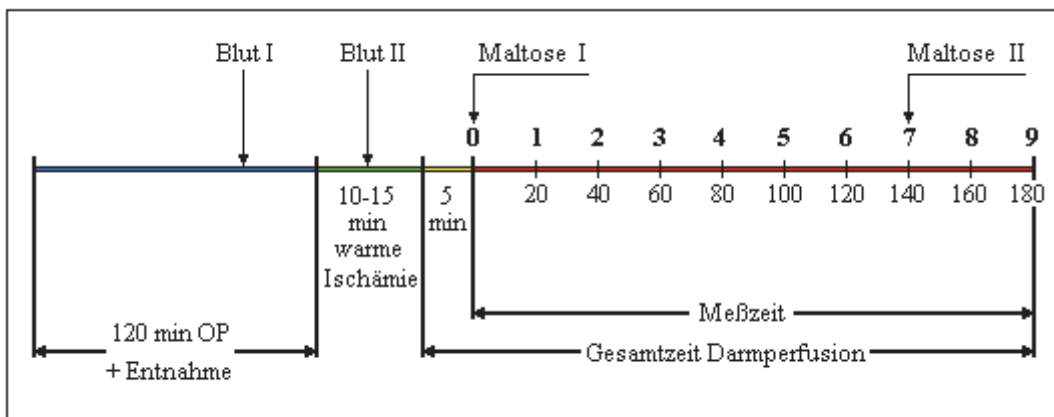


Abbildung 11: Versuchsablauf schematisch, 0 - 9 beziffern die alle 20 Minuten erfolgten Blutprobenentnahmen (siehe Tab. 1, S. 39)

3.6 Applikation der Maltoselösung

Zu den Zeitpunkten 0 und 140 Minuten wurden 70 ml körperwarme, physiologische Kochsalzlösung, versetzt mit einer Glutamin-/ Alanin-Lösung³⁸ und der darin gelösten Maltose³⁹, in das proximale Lumen injiziert, um anhand des Glukoseanstiegs im Blut die Integrität und Funktionalität der Darmmukosa, insbesondere der Mikrovilli mit den enthaltenen Bürstensaumenzymen (speziell der Maltase) belegen zu können. Die Maltose diente somit als Indikator zur Beurteilung einer funktionstüchtigen Darmmukosa. Zur genauen Zusammensetzung der Maltoselösung siehe S.47, Tabelle 8.

3.7 Probenentnahmen

Sämtliche gewonnenen Proben (Blut, Dialysat, Ingesta) wurden direkt im Anschluss an den Versuch im Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité, Campus Virchow-Klinikum der Universitätsmedizin Berlin im Routine-Analyseprogramm bearbeitet bzw. unmittelbar nach der Entnahme mittels eines Blut-Gasanalyzers⁴⁰ und eines Hemoximeters⁴¹ untersucht.

Die Erstellung des Blutbildes erfolgte mittels Durchflußzytometrie. Der Hämatokrit wurde berechnet und der Hämoglobingehalt mittels modifizierter Cyan-Hämoglobin-Methode bestimmt.

³⁸ Dipeptamin®, Fresenius Kabi Deutschland GmbH Bad Homburg

³⁹ D (+) – Maltose Monohydrat, Fluka Chemie GmbH / Buchs / Switzerland, Sigma – Aldrich Chemie GmbH / Steinheim – Germany

⁴⁰ ABL™ 505 Blutgas- und Elektrolytsystem / Radiometer Medical A/S, Kopenhagen, Dänemark

⁴¹ OSM™ 3 Hemoximeter™ / Radiometer Medical A/S, Kopenhagen, Dänemark

3.7.2 Blutproben

Die Blutprobenentnahme erfolgte alle 20 min.

| | Abnahme 0 (Baseline) | Abnahme 1 - 8 | Abnahme 9 |
|--|---|--|---|
| Arteriell Blut | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat, LDH, GLDH, Phosphor freies Hb, Leukozyten, Erythrozyten, Htk, MCH, MCHC, MCV, Thrombozyten, tlw. Diff.BB | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat, LDH, GLDH, Phosphor freies Hb, Leukozyten, Erythrozyten, Htk, MCH, MCHC, MCV, Thrombozyten, tlw. Diff.BB |
| Venöses Blut | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat |
| Blut nativ (nach Entnahme vom Schwein, vor Versuchsbeginn) | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient Hb, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat | | |

Tabelle 1: durchgeführte Messungen zu den einzelnen Blutabnahmezeitpunkten

Die Blutproben zur Bestimmung des Laktats wurden direkt nach der Entnahme bis zur Laboranalyse auf Eis gekühlt.

Der angestrebte pH-Wert des Blutes während der Perfusion lag zwischen 7,35 und 7,45. Dies wurde durch die kontinuierliche Zufuhr von Kohlendioxid in einem Gemisch mit Sauerstoff von 2,5 : 97,5 über das Dialysat gewährleistet. Für die Feineinstellung des pH-Wertes im Blut wurde je nach gemessenem Blut-pH-Wert die Menge des Kohlendioxidgases manuell erhöht oder verringert. Sank der Hämoglobinwert im Blut unter einen Wert von 8 g/dl, so wurde durch Erhöhung des venösen Flusses eine Hämokonzentration herbeigeführt und dadurch bedingt ein Anstieg des Hämoglobinwertes. Der Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut sollte 350 mmHg nicht unterschreiten.

3.7.2.1 Sauerstoffverbrauch

Der Sauerstoffverbrauch des perfundierten Darmsegmentes wurde nach folgender Formel berechnet und auf 100 g NG_{ap} bezogen:

$$O_2 \text{ Verbrauch in } \mu\text{mol/min} = \text{BFart. ml/min} * ((1,34/1000 * (\text{Hb}_{\text{art. g/dl}} * (\text{sO2}_{\text{art. \%}} - \text{sO2}_{\text{ven. \%}})) + (0,024/760 * (\text{pO2}_{\text{art. mmHg}} - \text{pO2}_{\text{ven. mmHg}}))) * 1000/22,4$$

3.7.3 Dialysatproben

Die Dialysatprobenentnahmen erfolgten ebenfalls alle 20 min. Im Anschluss an den Versuch wurde die Dialysatmenge bestimmt.

| | Abnahme 0 (Baseline) | Abnahme 1 - 8 | Abnahme 9 |
|----------|---|---|---|
| Dialysat | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat, Phosphor, Cl | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Na, K, Ca | BGA: pH, P.-Druck O ₂ u. CO ₂ , Säure-Basen-Koeffizient, Na, K, Ca Labor: Glukose, Laktat, Phosphor, Cl |

Tabelle 2: Dialysatprobenentnahmen

3.7.4 Ingestaproben

Die aus dem distalen Darmende austretende Flüssigkeit wurde aufgefangen, in ihrer Menge bestimmt und nach Beendigung des Versuchs ebenfalls im Labor analysiert. Für die ursprüngliche Zusammensetzung der zu Versuchsbeginn und nach 140 min in das Darmlumen injizierten Maltoselösung vgl. S. 47, Tab. 8.

| | nach Beendigung des Versuchs |
|---------|--|
| Ingesta | Labor: Glukose, Laktat, LDH, GLDH, Phosphor, Na, K, Ca, Cl |

Tabelle 3: Ingestaprobenentnahmen

3.8 Hämodynamische Parameter

Die hämodynamischen Parameter Blut- und Dialysatflussrate konnten zu jeder Zeit am Display der Rollenpumpen abgelesen werden und wurden in 20-minütigem Abstand parallel zur Blut- und Dialysatprobenentnahme aufgezeichnet. Der arterielle und venöse Blutdruck sowie die Temperatur von Darm und Blut wurden kontinuierlich auf dem Monitor angezeigt und ebenfalls in 20-minütigem Abstand aufgezeichnet. Der angestrebte arterielle und venöse Blutfluss lag bei 50 - 70 ml/min pro 100 g Darm, der mittlere venöse Blutdruck bei 3 - 8 mmHg, der arterielle bei 50 - 85 mmHg. Die Solltemperatur des Darms sowie des Blutes lag zwischen 37,5 und 38,5 °C. Es wurde allerdings ein Temperaturanstieg bis 39,5 °C als vertretbar eingestuft. Dank der kontinuierlichen Anzeige von Blutdruck und Temperatur konnte bei Abweichungen jederzeit korrigierend eingegriffen werden.

3.8.2 Organwiderstand

Der Organwiderstand des perfundierten Darmabschnittes wurde nach folgender Formel berechnet und auf 100 g NG_{ap} bezogen:

$$\text{Widerstand } R \text{ in mmHg} * \text{ml/min} = (P_{\text{art.mitt. mmHg}} - P_{\text{ven.mitt.mmHg}}) / \text{BF}_{\text{art.ml/min}}$$

In der vorliegenden Arbeit wurde lediglich auf die zur Vitalitätssicherung des Darmpräparates wichtigen Funktionsparameter wie die arteriovenöse Glukosedifferenz, Laktat (venös) und Sauerstoffverbrauch, die hämatologischen Parameter Hämatokrit (arteriell) und freies Hämoglobin (arteriell) sowie auf den hämodynamischen Parameter des Organwiderstandes eingegangen. Die Auswertung der anderen Blutparameter, Dialysatproben sowie der Ingestaprobe erfolgte in einer anderen Arbeit und dient hier nur zur Veranschaulichung des Umfangs der erfolgten Studie.

3.9 Organgewichte

Um eine eventuelle Gewichtsveränderung der Darmabschnitte feststellen zu können, wurden sie unmittelbar nach der Entnahme (Nettogewicht ante perfusionem, NG_{ap}), direkt nach Beendigung der Perfusion sowie einmal vor (Nettogewicht post perfusionem, NG_{pp}) und einmal nach Abtrennung des Mesenteriums (Nettogewicht post perfusionem minus Mesenterium, NG_{pp-mes}) gewogen.

3.10 Gewebeprobenentnahme und Bearbeitung der Gewebeproben

Im Anschluss an das Wiegen wurden aus jedem der Därme nach dem Zufallsprinzip drei Gewebeproben, jeweils aus dem proximalen (V prox), distalen (V dist) und mittleren (V med) Abschnitt des Darms entnommen. Bereits vor der Entnahme aus dem Tier wurde proximal (K prox) und distal (K dist) der Inzisionsstelle je eine Gewebeprobe entnommen, um sie später mit den nach dem Versuch entnommenen Gewebeproben vergleichen zu können. Die einzelnen Gewebeproben hatten eine Länge von ca. 1 cm. Nach der Entnahme wurden die Darmproben bis zur weiteren Bearbeitung einzeln in 40 ml 4-prozentigem gepufferten Formaldehyd eingelegt. Von jeder einzelnen Probe wurde ein histologischer Schnitt angefertigt. Dazu wurden die in Formaldehyd fixierten Gewebeproben nach Auswaschung des Fixationsmittels in Paraffin eingebettet. Aus den Paraffinblöcken wurden mit einem Mikrotom 5 - 7 µm dicke Schnitte angefertigt. Diese Schnitte wurden auf Objektträger gezogen, luftgetrocknet und 24 bis 36 Stunden im Brutschrank bei 60 °C aufbewahrt. Im Anschluss wurden die getrockneten Präparate 20 Minuten in Xylol entparaffiniert, in einer absteigenden Alkoholreihe (100% - 50%) rehydratisiert und in Aqua destillata überführt. Nach dieser Bearbeitung wurden die Schnitte einer HE-Färbung nach Romeis (1989) unterzogen.

3.11 Darmperfusionen und Gruppeneinteilung

Die Därme der 16 Spendertiere wurden von Darm 1 bis Darm 16 durchnummeriert. Bei der Gruppeneinteilung soll nochmals angemerkt sein, dass in jeder Gruppe jede Darmnummer (außer Darm 1, 2 und 9) entsprechend ihrem Abschnitt vertreten ist. Bei Darm 1 und 2 wurden keine Kontrollschnitte vor dem Versuch entnommen, bei Darm 9 war die Probe bei Abholung der Schnitte nicht mehr auffindbar. Die Gruppen wurden folgendermaßen eingeteilt:

| Gruppe | Anzahl der histologischen Schnitte | Entnahmestelle u. Zeitpunkt |
|---------------|---|---|
| K prox | 13 | proximal der Inzisionsstelle; vor dem Versuch |
| V prox | 16 | aus proximalem Teil des perfundierten Darmabschnittes; nach dem Versuch |
| V med | 16 | aus medialem Teil des perfundierten Darmabschnittes; nach dem Versuch |
| V dist | 16 | aus distalem Teil des perfundierten Darmabschnittes; nach dem Versuch |
| K dist | 14 | distal der Inzisionsstelle; vor dem Versuch |

Tabelle 4: Gruppeneinteilung

3.12 Histologische Auswertung

Die gefärbten Darmgewebsschnitte wurden lichtmikroskopisch untersucht. In allen Versuchsgruppen wurden histologische Kriterien wie der Grad der Ödematisierung und die Integrität des Schleimhautepithels beurteilt und anhand eines Scores von 0 bis 3 bewertet (Tab.5, S 44, Tab. 6, S. 45.). Bei der Bewertung des Schleimhautepithels wurde das Bewertungsschema von Chiu (Chiu et al. 1970) in abgewandelter Form zugrundegelegt. Jeder histologische Schnitt wurde in gleichgroße Viertel eingeteilt und im Uhrzeigersinn von 1 bis 4 durchnummeriert. Zur Bestimmung des Ödematisierungsgrades wurde eine Schleimhautquerfalte pro Viertel ausgewertet und jeder Schicht (Serosa, Muscularis, Submucosa, Mucosa) ein Score zugeordnet. Bei der Beurteilung der Integrität des Schleimhautepithels wurden ebenfalls in jedem Viertel stellvertretend 3 bis 4 nebeneinanderliegende „klassische“ Mikrovilli ausgewählt und mit einem Score bewertet.

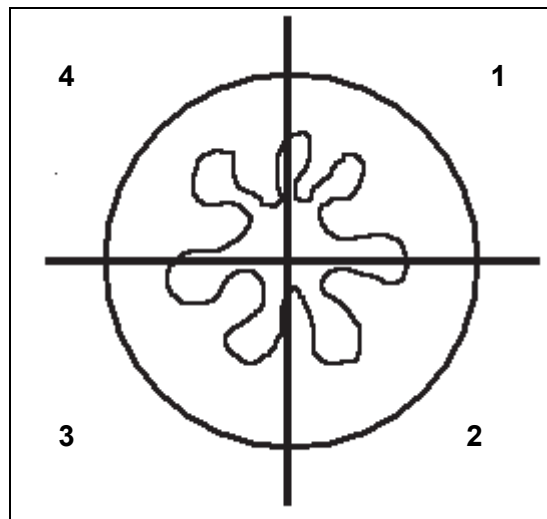


Abbildung 12: Schemazeichnung eines Darmschnittes mit durchnummerierten Vierteln

| Score | Befundbeschreibung des Grades der Schleimhautepithelschädigung |
|-------|--|
| 0 | normale Mikrovilli, Schleimhautepithel intakt |
| 1 | subepitheliale Grünhagen`sche Spalten und beginnende Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria vorwiegend an den Spitzen der Villi; Schleimhautepithel intakt; kapilläre Stauung |
| 2 | massive Ablösung des Schleimhautepithels von der Lamina propria, auch an den Seiten der Villi; teilweise „entblößte“ Villi, hochgradig dilatierte Kapillaren |
| 3 | komplette Zerstörung des Schleimhautepithels und der Lamina propria; Hämorrhagien und Ulzerationen |

Tabelle 5: Score - Schleimhautepithelschädigung

| Score | Befundbeschreibung des Ödematisierungsgrades in allen vier Schichten (Serosa, Muscularis, Submucosa, Mucosa) |
|--------------|---|
| 0 | kein Ödem |
| 1 | geringgradiges Ödem |
| 2 | mittelgradiges Ödem |
| 3 | hochgradiges Ödem |

Tabelle 6: Score - Ödematisierung

3.13 Statistische Auswertung, grafische Darstellung und Bildbearbeitung

Die Bearbeitung der Daten der histologischen Veränderungen, der Gewichte der Därme, der im Blut gemessenen Glukose-, Laktat-, Hämatokrit- und freien Hämoglobinwerte sowie der errechneten Werte des Sauerstoffverbrauches und des Organwiderstandes erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms SPSS 11,5. Die Gewichte der Därme vor und nach der Perfusion - letztere mit und ohne Mesenterium - sowie deren Differenzen wurden ermittelt und in Form von Boxplots grafisch dargestellt. In gleicher Weise erfolgte die grafische Darstellung der auf 100 g Darm bezogenen Laktatwerte, des Hämatokrits, des freien Hämoglobins, des Sauerstoffverbrauches und des Organwiderstandes. Um die Veränderungen der Blutglukose aufzuzeigen, wurden zusätzlich, nach Umrechnung der Glukosekonzentration auf 100 g Darm, die Differenzen der Konzentrationen nach der jeweiligen Maltoseapplikation berechnet und ebenfalls anhand von Boxplots grafisch dargestellt. Die Auswertung der histologischen Veränderungen erfolgte nach dem bereits beschriebenen Score-System. Aus den ermittelten vier Werten wurde der Median bestimmt und anhand dieser Medianwerte zur grafischen Darstellung ebenfalls Boxplots erstellt.

Boxplots bestehen aus einer Box, deren obere Begrenzung das 75% Perzentil und deren untere Begrenzung das 25% Perzentil darstellt. Die dicke Linie bezeichnet das 50% Perzentil bzw. den Median. Der größte sowie der kleinste Wert wurden ebenso markiert wie Ausreißer (roter Kreis) und Extremwerte (roter Stern). Als Ausreißer bezeichnet man einen Wert, der um mehr als eineinhalb Boxenlängen außerhalb liegt, als Extremwert einen Wert, der um mehr als dreieinhalb Boxenlängen außerhalb der Box liegt.

Zur Erstellung von Signifikanzen kam der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test für zwei verbundene Stichproben zum Einsatz. Es wurde angenommen, dass keine Normalverteilung vorliegt. Eine Signifikanz wurde angenommen bei $p \leq 0,05$ und ist in den entsprechenden

Grafiken mittels schwarzem Stern (*) gekennzeichnet. Die fotografische Dokumentation der histologischen Befunde erfolgte digital mittels Photomikroskop⁴², Digitalkamera⁴³ und Bildbearbeitungsprogrammen^{44,45}.

3.14 Eingesetzte Substanzen

3.14.1 Dialysat

Das Dialysat setzte sich aus den in der folgenden Tabelle (Tab. 7) genannten Bestandteilen zusammen. Es wurde vor jedem Versuch frisch angesetzt und nur kurzfristig im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

| Stoff | Molekulargewicht (g/mol) | Menge (mmol/l) | Menge (g/l) | Menge (g/5l) |
|--|--------------------------|----------------|-------------|--------------|
| NaCl | 58,44 | 110,00 | 6,43 | 32,14 |
| KCl | 74,56 | 4,00 | 0,30 | 1,49 |
| CaCl ₂ x 2H ₂ O | 147,02 | 1,50 | 0,22 | 1,19 |
| MgCl ₂ x 6 H ₂ O | 203,31 | 1,00 | 0,20 | 1,02 |
| NaHCO ₃ | 84,01 | 20,00 | 1,68 | 8,40 |
| NaH ₂ PO ₄ | 137,99 | 0,50 | 0,07 | 0,30 |
| Harnstoff | 60,06 | 5,00 | 0,30 | 1,50 |
| Kreatinin | 113,12 | 0,50 | 0,06 | 0,28 |
| D-Glucose | 180,16 | 5,56 | 1,00 | 5,00 |

Tabelle 7: Bestandteile des Dialysats

⁴² Olympus BX 41 mit Adapter U-CMAD, beides Olympus, Tokia/ Japan

⁴³ Colour View, Soft Imagine Systems GmbH

⁴⁴ analySIS[®], Soft Imagine Systems GmbH

⁴⁵ Adobe Photoshop 7.0, Microsoft

3.14.2 Kochsalzlösung

Zur Vorbereitung des Perfusionkreislaufes wurde eine handelsübliche 0,9-prozentige Natriumchlorid-Lösung⁴⁶ verwendet.

3.14.3 Blutgerinnungshemmer: Heparin

Der eingesetzte Blutgerinnungshemmer Heparin⁴⁷ wurde in Form einer handelsüblichen Injektionslösung angewendet. Eine Ampulle enthielt in 5 ml wässriger Suspension 25.000 I.E. Heparin-Natrium sowie 50 mg Benzylalkohol als antimikrobielles Konservierungsmittel. Vor der normothermen Hämoperfusion wurden dem autologen Blut 1.900 I.E. Heparin-Natrium zugefügt. Dem Tier wurden intraoperativ zusätzlich 300 I.E./ kg KGW i.v. verabreicht.

3.14.4 Maltoselösung

Die einzelnen Bestandteile der Maltoselösung sind der nachfolgenden Tabelle (Tab. 8) zu entnehmen. Die Lösung wurde kurz vor dem jeweiligen Versuch angesetzt und im Wasserbad auf 37 °C erwärmt. Zur Herstellung von 140 ml Lösung wurden folgende Zusätze benötigt:

| Stoff | Volumen (ml) | Endkonzentration (g) |
|--|--------------|---|
| NaCl 0,9 % | 126 | 1,134 |
| Dipeptamin (200 mg N(2)-L-Alanyl-L-Glutamin/ ml → entspricht 82 mg L-Alanin, 134,5 mg L-Glutamin/ ml) | 14 | 2,8 N(2)-L-Alanyl-L-Glutamin (entspricht 1,148 g L-Alanin, 1,883 g L-Glutamin) |
| Maltose Monohydrat | | 2 |
| Σ | 140 | |

Tabelle 8: Bestandteile der Maltoselösung

⁴⁶ Natriumchlorid Lösung 0,9 %, 1000 ml, Berlin -Chemie AG

⁴⁷ Liquemin® N 25 000: Heparin-Natrium Injektionslösung, Fa. Roche AG, Grenzach-Wyhlen

3.14.5 Noradrenalinlösung

Zur Herstellung von 100 ml Lösung wurde die in der nachfolgenden Tabelle (Tab. 9) beschriebene Verdünnung gewählt. Von dieser Lösung wurden 36 ml in der Perfusorspritze aufgezogen; die restliche Lösung entsorgt. Die gebrauchsfertige Lösung enthielt 1 µg/ ml Norepinephrin, sodass bei einer Perfusoreinstellung von 6 ml/ min dem Perfusat 0,1 µg Norepinephrin/ min zugefügt wurden. Die benötigte Menge Noradrenalin zur Stabilisierung des Blutdrucks und Kontrolle der Hypermotilität sowie der gesteigerten Mukussektion lag zwischen 0 und 0,4 µg pro Minute.

| Stoff | Volumen (ml) | Endkonzentration (mg) |
|---|--------------|-----------------------|
| NaCl 0,9% | 99,9 | 899,1 |
| Arterenol (1000µg Norepinephrinhydrochlorid)/ ml) | 0,1 | 0,001 |
| Σ | 100 | |

Tabelle 9: Bestandteile der Noradrenalinlösung

3.14.6 Formaldehydlösung

Die einzelnen histologischen Darmgewebeproben wurden bis zur weiteren Bearbeitung in 40 ml einer 4-prozentigen gepufferten Formaldehyd-Lösung⁴⁸ gelagert.

⁴⁸ Herbeta- Arzneimittel, Berlin

4 Ergebnisse

Es wurden sechzehn Därme über den geplanten Versuchszeitraum von 180 Minuten perfundiert. In drei Vorversuchen erfolgte die Justierung des Systems.

4.1 Hämodynamische Parameter

4.1.1 Organwiderstand

Der errechnete Organwiderstand lag zu Beginn im Median bei 0,5 mmHg*min/ml/100g und fiel innerhalb der ersten 20 Minuten auf 0,32 mmHg*min/ml/100g ab. Bis zur 100. Minute blieb der Medianwert innerhalb geringer Schwankungsbreiten konstant und sank danach bis zur 160. Minute auf einen Median von 0,26 mmHg*min/ml/100g ab. In den letzten 20 Minuten des Versuches stieg der Organwiderstand wieder minimal an und befand sich nach 180 Minuten im Median bei 0,28 mmHg*min/ml/100g. Statistisch signifikante Abfälle bzw. Anstiege ergaben sich nicht. Darm 12 stellte mit dem Maximum von 1,24 mmHg*min/ml/100g zum Zeitpunkt 60. Minute, ebenso wie Darm 13 zu den Zeitpunkten 40. und 60. Minute mit dem Maximum von 1,31 mmHg*min/ml*100g einen Ausreißer dar. Nach 80 Minuten stellte Darm 13 mit einem Maximalwert von 1,3 mmHg*min/ml*100g einen Extremwert dar. Da erst ab Darm 5 zum Zeitpunkt 0 die arteriellen und venösen Drücke aufgezeichnet wurden, gingen hier nur 12 Därme in die Auswertung ein.

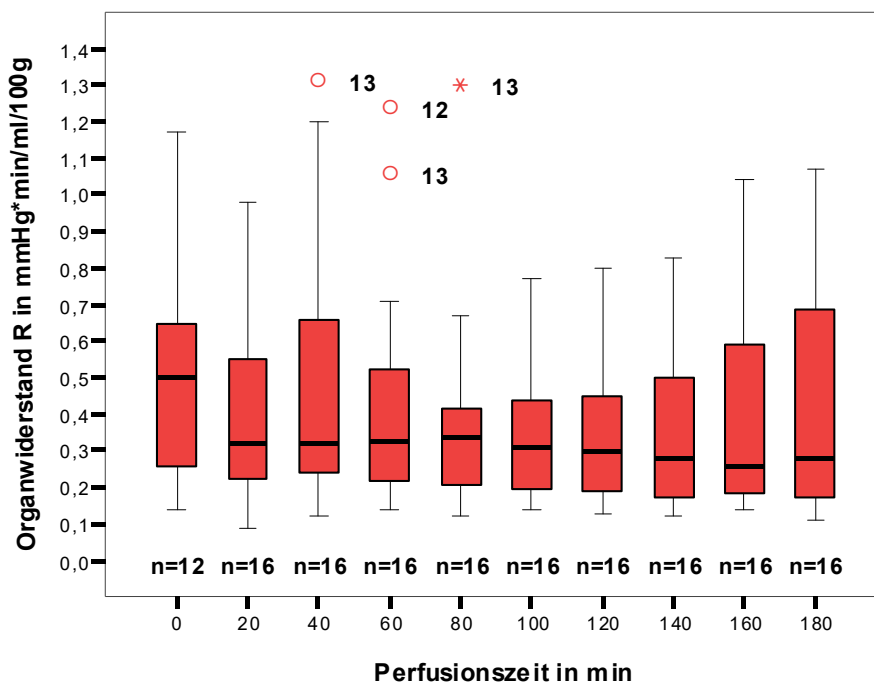


Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf Organwiderstand R in mmHg*min/ml/100g Darm über den Perfusionszeitraum

4.2 Hämatologische Parameter

4.2.1 Hämatokrit

Der grau hinterlegte Bereich markiert den physiologischen Hämatokrit Bereich für Schweine vom 100.-180. LT (Nerbas 2008). Der Hämatokrit lag zu Beginn der Perfusion im Median bei 0,29 l/l und stieg in der 180. Minute auf 0,33 l/l im Median an. Es ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

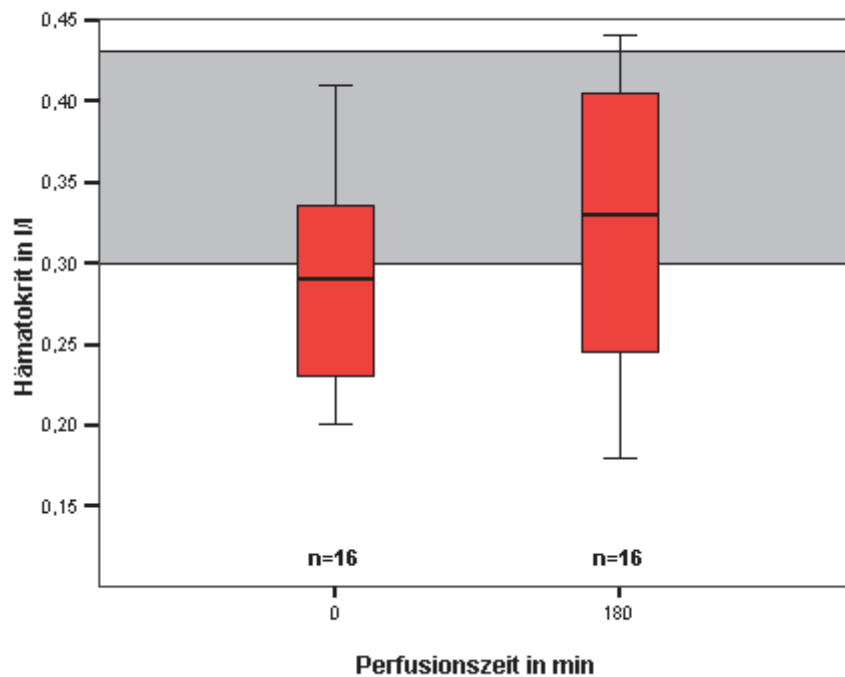


Abbildung 14: Hämatokrit im arteriellen Blut in l/l zu den Zeitpunkten 0 und 180 Minuten (grau hinterlegter Bereich = Normbereich)

4.2.2 Freies Hämoglobin

Der Median lag zu Beginn des Versuches bei 7,5 mg/dl und war zum Ende der Perfusion im Median mit 20,5 mg/dl fast dreimal so hoch wie der Median des Ausgangswertes. Dieser Anstieg ist statistisch signifikant (* $p < 0,05$). Darm 12 stellte zum Zeitpunkt 0 einen Ausreißer und Darm 13 mit einem Maximalwert von 31 mg/dl einen Extremwert dar. Nach 180 Minuten war Darm 13 ebenfalls wieder mit einem Extremwert von 85 mg/dl vertreten.

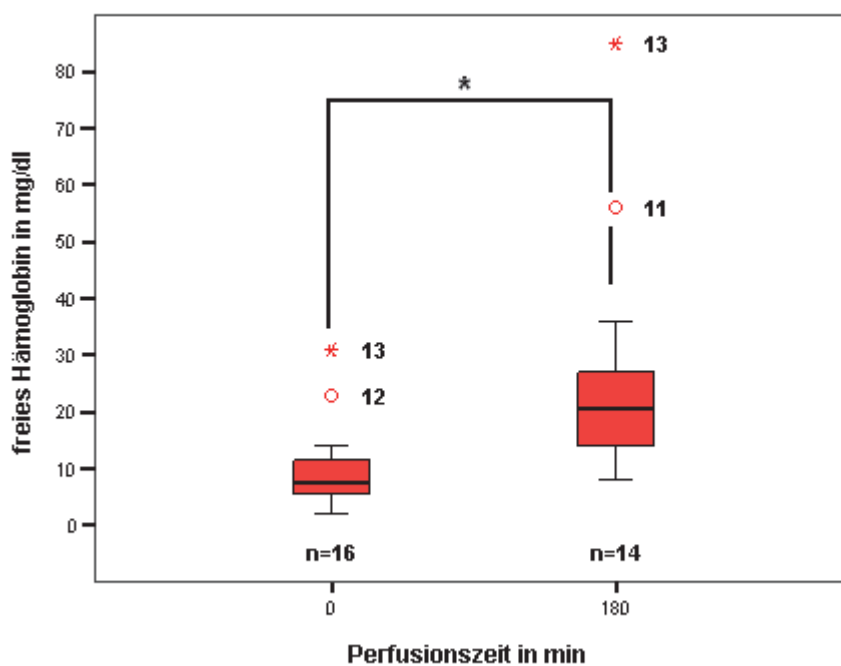


Abbildung 15: freies Hämoglobin im arteriellen Blut in mg/dl zu den Zeitpunkten 0 und 180 Minuten (* $p < 0,05$)

4.3 Funktionsparameter

4.3.1 Sauerstoff

Der Sauerstoffverbrauch, der zusammen mit den Parametern Glukoseresorption und Laktatkonzentration die Funktionalität und Vitalität des Darmes widerspiegelt, betrug zum Perfusionsbeginn im Median 74,0 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$. Im Lauf des Versuches stieg der Sauerstoffverbrauch zunächst bis zur 40. Minute auf 88,7 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ an und sank bis zur 180. Minute auf einen Median von 69,2 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ ab. Statistisch signifikante Abfälle bzw. Anstiege konnten nicht ermittelt werden. Darm 14 und 15 präsentierten sich ab der 40. Minute als Maximalwerte in Form von Ausreißern (Darm 14, 40. und 80. Minute) bzw. Extremwerten. Darm 16 wies in der 40., 80. und 100. Minute ebenfalls ausreißende Werte auf, in der 160. Minute sogar einen Extremwert, was in diesem Fall allerdings an der sehr geringen Schwankungsbreite der übrigen Därme zu diesem Zeitpunkt gelegen haben dürfte. Auch Darm 1 und Darm 13 (nur in der 160. Minute) wiesen in der 100., 120. und 160. Minute Minimalwerte in Form von Ausreißern auf. Der negative Wert von -1,6 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ resultierte aus der Tatsache, dass erst ab Darm 5 die 5-minütige Vorlaufzeit zum Konzentrationsausgleich vor dem ersten Messzeitpunkt eingehalten wurde. Daraus resultierten im Vergleich zu den übrigen Därmen bei den Därmen 1 bis 4 deutlich niedrigere Sauerstoffpartialdrücke im venösen Blut zum Zeitpunkt 0.

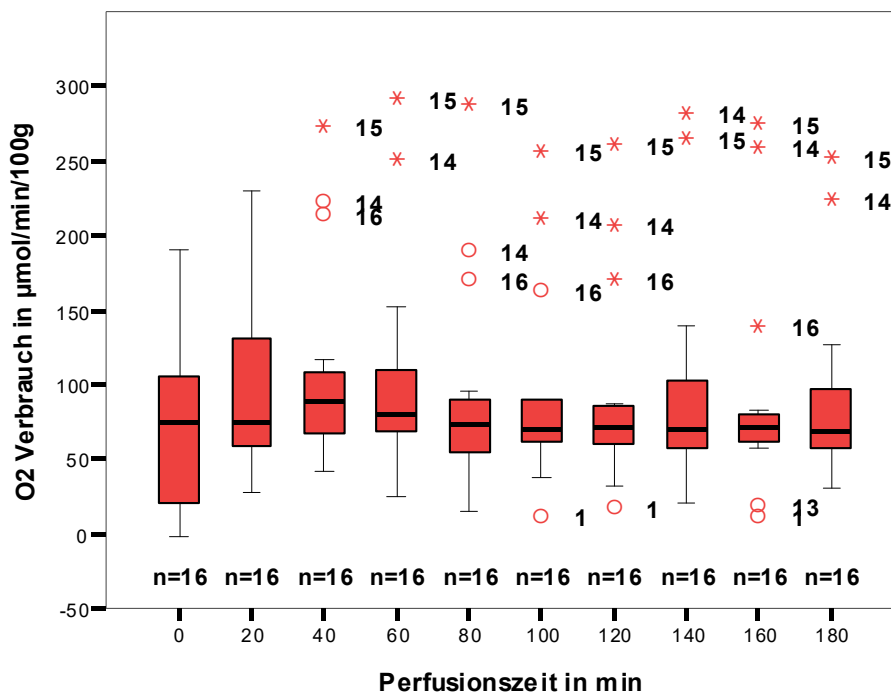


Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf des O₂-Verbrauchs in $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ Darm über den Perfusionszeitraum

4.3.2 Glukose

Ein weiterer wichtiger Funktionsparameter ist die Glukosekonzentration im Blut. Sie fungiert zum einen als Marker für die Resorption der aufgespaltenen Maltose aus dem Darmlumen und damit als Nachweis für einen funktionstüchtigen Microvillisaum, zum anderen über den Verbrauch des Darms als Nachweis für die Vitalität des perfundierten Organs. Dargestellt wurden die Differenzen der arteriovenösen Glukosedifferenz (Glu-Konz.art. - Glu-Konz.ven. in mg/dl/100g). Nach Zugabe der ersten 70 ml Maltose Lsg. kam es zu einem Abfall der Medianwerte von 2,5 mg/dl/100g auf -4,1 mg/dl/100g. Dieser Abfall war signifikant ($p^* < 0,05$). Im Lauf des Versuchs stieg der Median kontinuierlich an und lag nach der 100. Minute bei 1,6 mg/dl/100g. Auch nach der 2. Zugabe der Maltose Lsg. kam es zu einem signifikanten Abfall der Medianwertes auf -3,4 mg/dl/100g zum Zeitpunkt 160. Minute ($p^* < 0,05$). In den letzten 20 Minuten kam es zu einem erneuten Anstieg des Medians der Glukosedifferenz auf -0,3 mg/dl/100g. Darm 12 stellte zu den Zeitpunkten 0 sowie 20., 40., 60., 80. (-57,7 mg/dl/100g) und 100. Minute einen Minimalwert in Form eines Ausreißers bzw. Extremwertes dar, ebenso wie Darm 14 zum Zeitpunkt 100 Minuten. Darm 4 und Darm 16 markierten zu den Zeitpunkten 100. und 120. Minute einen Maximalwert in Form eines Ausreißers; Darm 4 und Darm 13 zu den Zeitpunkten 120. und 18. Minute ebenfalls, allerdings in Form eines Minimalwertes.

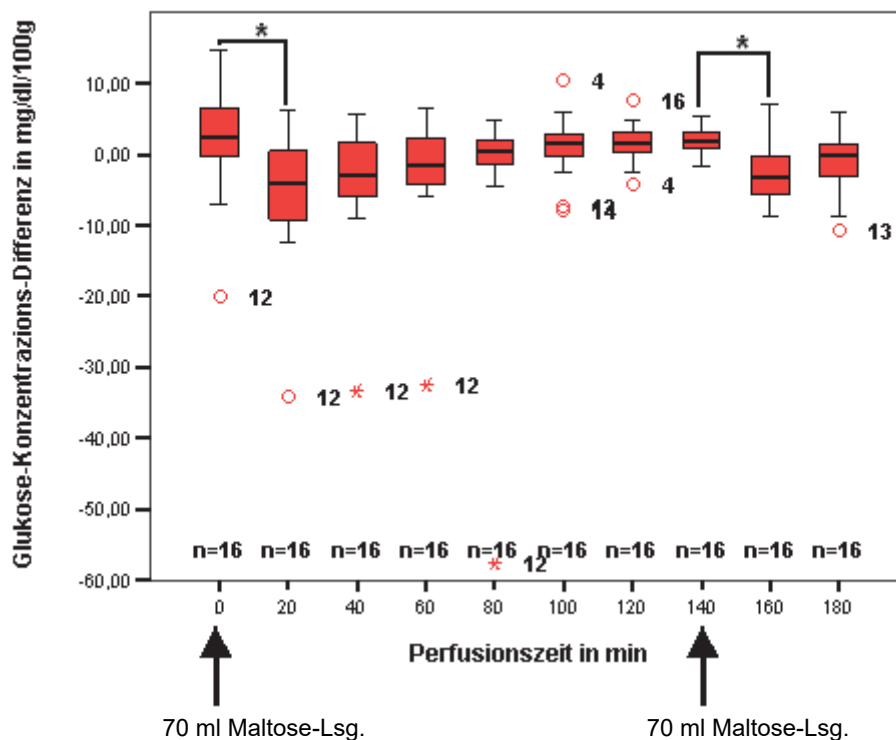


Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der arteriovenösen Glukosekonzentrationsdifferenz in mg/dl/100g Darm über den Perfusionszeitraum (Glu-Konz.art.mg/dl/100g - Glu-Konz.ven.mg/dl/100g) ($p^* < 0,05$)

4.3.3 Laktat

Die Konzentration von Laktat, dem Endprodukt der anaeroben Glykolyse, lässt einen Rückschluss auf die Stoffwechsellage des perfundierten Darms zu. Der grau unterlegte Bereich zeigt den Referenzbereich für Laktat im Blut bei Schweinen vom 100.-180. LT (Nerbas 2008). Der Medianwert der Laktatkonzentration lag zu Beginn des Versuches bei 7,4 mg/dl/100g und blieb während des Perfusionszeitraumes innerhalb geringer Schwankungsbreiten konstant. Nach 160 und 180 Minuten konnte ein Median von 8,5 mg/dl/100g ermittelt werden. Darm 15 stellt mit einem Maximalwert von 17,2 mg/dl/100g einen Ausreißer dar. Zu allen Zeitpunkten liegen die 25%-Perzentile, die Mediane und die 75%-Perzentile innerhalb des physiologischen Referenzbereiches für Laktat. Statistisch signifikante Anfälle bzw. Anstiege ergaben sich nicht.

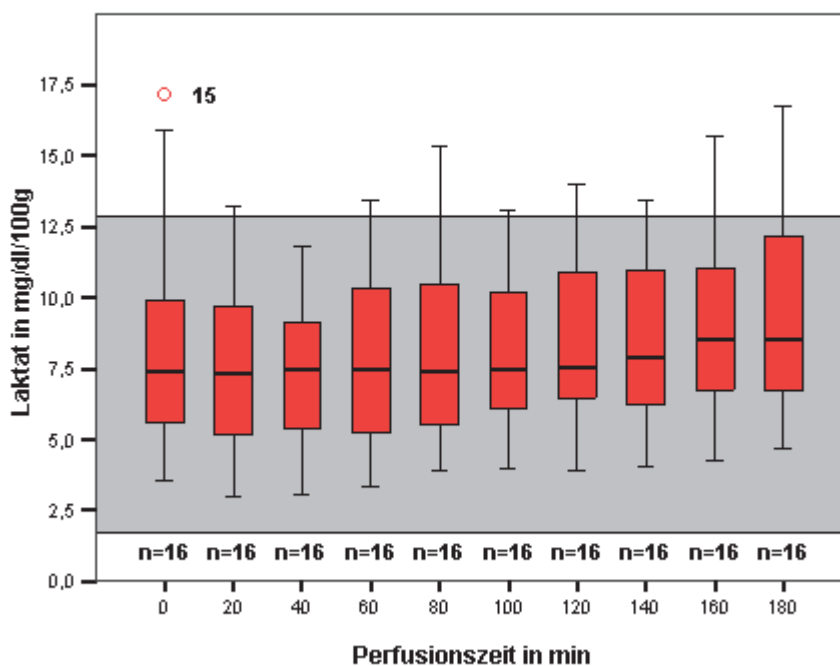


Abbildung 18: Zeitlicher Verlauf der Laktatkonzentration im venösen Blut in mg/dl/100g Darm über den Perfusionszeitraum

4.4 Ergebnisse der Darmgewichtuntersuchungen

4.4.1 Nettodarmgewichte

Jeder der 16 Versuchsdärme wurde vor der Perfusion (NG ap) sowie nach der Perfusion, mit Mesenterium (NG pp) und ohne Mesenterium (NG pp-mes), gewogen. Der Median der Nettodarmgewichte vor der Perfusion (NG ap) lag bei 160,8 g und stieg nach der Perfusion inkl. des Mesenteriums (NG pp) auf 292,7 g an. Dieser Anstieg ist statistisch signifikant ($p^* < 0,05$). Nach Abtrennung des Mesenteriums (NG pp-mes) lag der Median der Darmgewichte bei 121,5 g, was einen statistisch signifikanten Abfall sowohl im Vergleich zum Median der Darmgewichte vor der Perfusion (NG ap) als auch nach der Perfusion (NG pp) darstellt ($p^* < 0,05$).

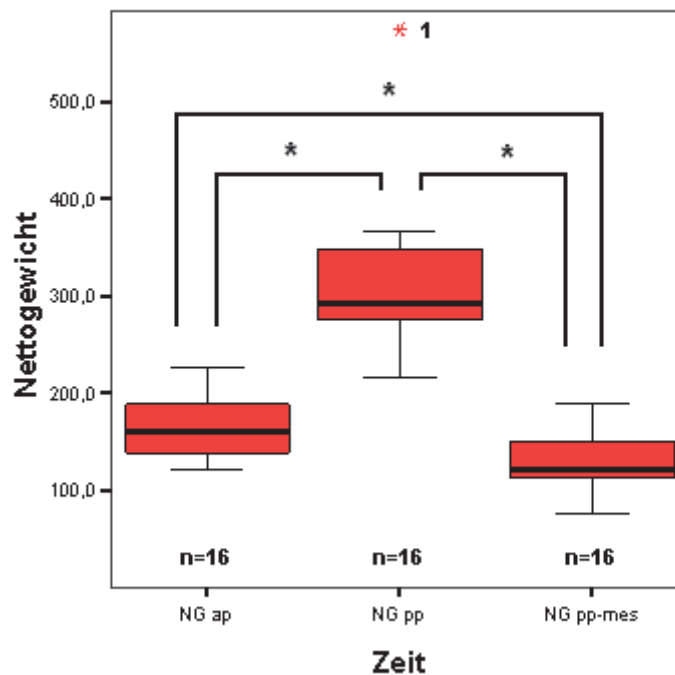


Abbildung 19: Vergleich der Darmgewichte in Gramm vor (NG ap) und nach (NG pp) der Perfusion, sowie nach Abtrennung des Mesenteriums (NG pp-mes) ($p^* < 0,05$)

4.4.2 Differenzen der Nettodarmgewichte

Aus den Nettodarmgewichten wurden zur besseren Veranschaulichung Differenzen errechnet, wobei Differenz 1 (Diff 1) = NG pp – NG ap und Differenz 2 (Diff 2) = NG pp – NG pp-mes ist. Bei der Differenz 1 stellte der Minimalwert mit 31,8 g einen Ausreißer dar und der Maximalwert mit 346,6 g gleichzeitig einen Extremwert. Das 25%-Perzentil lag bei 124,6 g, das 75%-Perzentil bei 171,4 g. Der Median betrug 146,1g. Ein weiterer Ausreißer lag bei dem Wert 76,0g.

Die bei Differenz 2 errechneten Werte lagen zwischen 47,5 g und 395,1 g. Der Maximalwert von 395,1 g stellte einen Ausreißer da. Der Wert 149,6 g beschrieb das 25%-Perzentil, der Wert 226,0 g das 75%-Perzentil. Es wurde ein Medianwert von 176,4 g ermittelt.

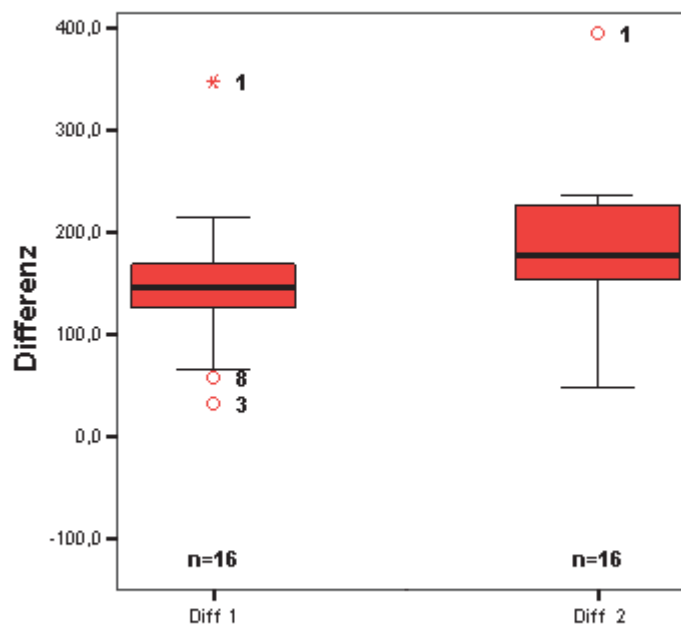


Abbildung 20: Vergleich der Differenzen der Darmgewichte in Gramm (Diff1= NG pp – NG ap, Diff 2= NG pp – NG pp-mes)

4.5 Ergebnisse der histologischen Auswertung

4.5.1 Grad der Epithelschädigung

Die anhand des Punktesystems berechneten Werte des Grades der Epithelschädigung variierten in der K prox Gruppe zwischen einem Minimum von 0,00 und einem Maximum von von 1,00. Das 25%-Perzentil lag bei 0,00, das 75%-Perzentil bei 0,50. Der ermittelte Median befand sich ebenfalls bei 0,00.

Die für die V prox Gruppe berechneten Werte schwankten zwischen den Werten 0,00 und 3,00, wobei sowohl der Maximal- als auch der Minimalwert einen Extremwert darstellten. Das 25%-Perzentil hatte einen Wert von 1,00 und beschrieb gleichzeitig den Medianwert. Der Wert 1,38 beschrieb das 75%-Perzentil. Ein ausreißender Einzelwert befand sich bei 0,50.

Die Minimal- und Maximalwerte, die Perzentile sowie der Median der V med Gruppe entsprachen denen der V prox Gruppe. Auch hier stellten die Minimal- und Maximalwerte Extremwerte dar. Zusätzlich befanden sich zwei ausreißende Einzelwerte bei 0,50 sowie ein weiterer bei 2,00. Bei der V dist Gruppe lagen die Werte zwischen 0,50 und 2,00. Der Median ebenso wie das 25%-Perzentil lagen wie bei den anderen Versuchsgruppen bei 1,00. Das 75%-Perzentil lag bei 1,50. In der K dist Gruppe variierten die Werte zwischen 0,00 und 1,00, wobei der Wert 0,00 sowohl dem Medianwert als auch dem 25%-Perzentil entsprach und somit gleich der K prox Gruppe war. Das 75%-Perzentil lag bei 1,00.

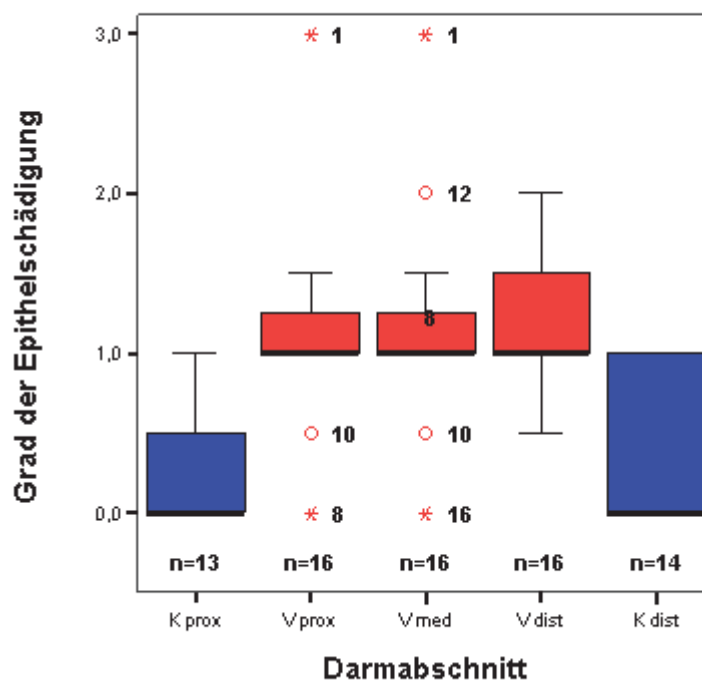


Abbildung 21: Vergleich des Grades der Epithelschädigung der einzelnen Darmabschnitte vor (Kprox, Kdist) bzw. nach der Perfusion (Vprox, Vmed, Vdist)

4.5.2 Grad der Ödematisierung

4.5.2.1 Tunica serosa

Bei der Berechnung des Grades der Ödematisierung der Tunica serosa wiesen alle ausgewerteten Därme in der K prox Gruppe einen Wert von 1,00 auf. Ausnahmen bildeten der Minimalwert bei 0,00 und der Maximalwert bei 2,00, sowie zwei weitere Extremwerte bei 0,50. Der Median, das 75%-Perzentil sowie das 25%-Perzentil lagen bei 1,00. Bei allen V Gruppen lag der Median bei 1,00, das 25%-Perzentil bei 0,50 und das 75%-Perzentil bei 1,00. In der V prox Gruppe schwankten die Werte zwischen 0,00 und 1,50, in der V med Gruppe zwischen 0,50 und 2,00 und in der V dist Gruppe zwischen 0,00 und 1,00. Der Maximalwert der V med Gruppe stellte gleichzeitig einen Ausreißer dar. Der Minimalwert in der K dist Gruppe lag bei 0,00 und stellte damit, ebenso wie der bei 2,00 liegende Maximalwert einen Extremwert dar. Drei weitere Extremwerte lagen bei 1,50 und 0,50. Der Median befand sich hier - wie bei allen anderen Gruppen - bei 1,00; ebenso das 25%- und 75%-Perzentil.

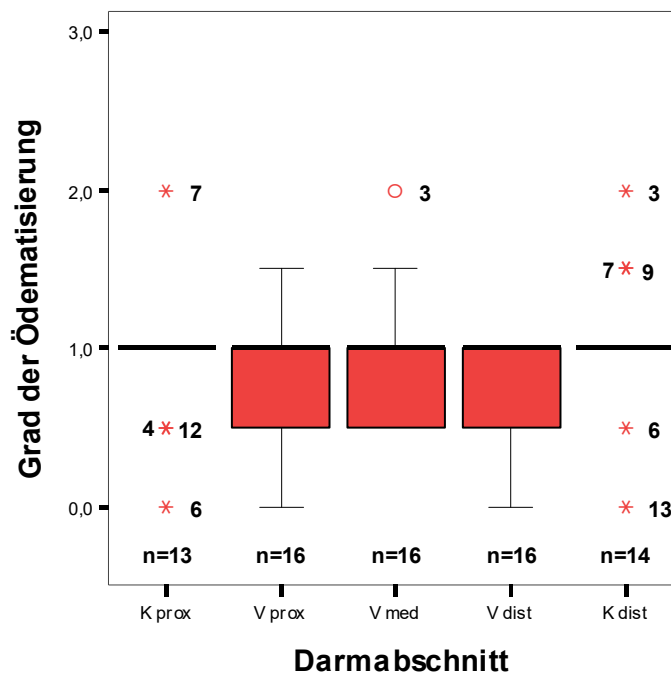


Abbildung 22: Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tunica serosa der einzelnen Darmabschnitte vor (Kprox, Kdist) sowie nach der Perfusion (Vprox, Vmed, Vdist)

4.5.2.2 Tunica muscularis

Der Grad der Ödematisierung der Tunica muscularis wies in der K prox Gruppe Werte zwischen 0,00 und 1,00 auf. Das 25%-Perzentil lag bei 0,50, das 75%-Perzentil ebenso wie der Median bei 1,00. Bei der V prox Gruppe befanden sich die Werte zwischen einem Minimum von 0,00 und einem Maximum von 1,50. Der Wert 0,00 kennzeichnete zudem das 25%-Perzentil, der Wert 1,00 das 75%-Perzentil. Der Median lag in dieser Gruppe bei 0,50. Die berechneten Werte der V med Gruppe variierten zwischen 0,00 und 1,00. Der Median wie auch die Perzentile entsprachen denen der V prox Gruppe. Der Minimalwert der V dist Gruppe befanden sich ebenfalls bei 0,00, der Maximalwert bei 1,50 und entsprach somit dem Maximalwert der V prox Gruppe. Das 25%-Perzentil lag bei 0,00, das 75%-Perzentil bei 1,00 und der Median mit 1,00 höher als bei den anderen Versuchsgruppen und gleich dem Median der Kontrollgruppen. Der Boxplot der K dist Gruppe glich in allen Werten der K prox Gruppe.

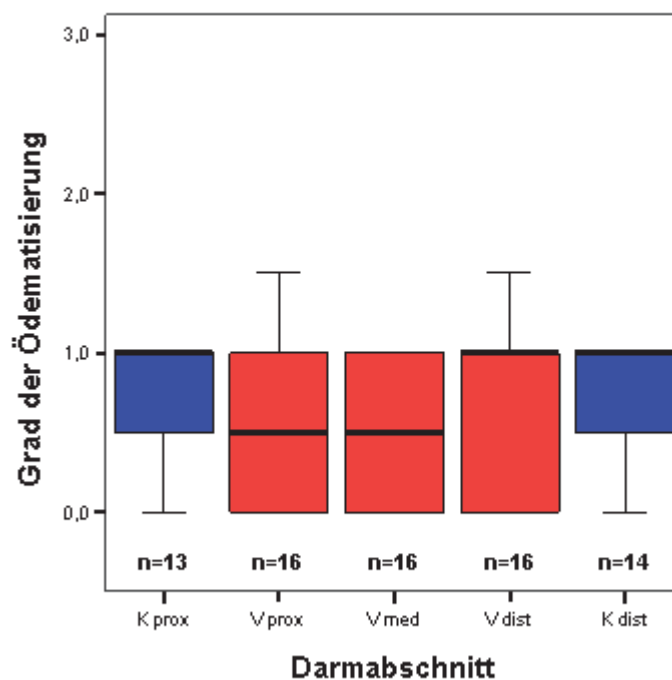


Abbildung 23: Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tunica muscularis der einzelnen Darmabschnitte vor (Kprox, Kdist) bzw. nach der Perfusion (Vprox, Vmed, Vdist)

5.2.2.3 Tela submucosa

Die Werte des Ödematisierungsgrades in der Tela submucosa lagen zwischen 0,50 und 2,50 in der K prox Gruppe. Diese beiden Werte stellten, wie zwei weitere bei 1,50 und 2,00, Extremwerte dar. Das 25%- und das 75%-Perzentil wie auch der Median lagen bei 1,00. In der V prox Gruppe variierten die berechneten Werte zwischen einem Maximum von 2,50 und einem Minimum von 0,50. Der Maximalwert wurde durch zwei ausreißende Einzelwerte charakterisiert. Der Median wie auch das 25%-Perzentil wurden durch den Wert 1,00 beschrieben. Das 75%-Perzentil hingegen lag bei 1,50. In der V med Gruppe wiesen nahezu alle ausgewerteten Därme den Wert 1,00 auf. Die Ausnahme bildeten drei Extremwerte; einer bezeichnete den Maximalwert von 2,00, zwei weitere lagen bei 1,50. Die letzte Versuchsgruppe V dist beinhaltete Werte zwischen 0,00 und 2,00. Der Median lag hierbei mit einem Wert von 1,25 höher als bei allen anderen Gruppen, während das 25%-Perzentil bei 1,00 und das 75%-Perzentil bei 2,00 lagen. Der Minimal- und Maximalwert der K dist Gruppe lag bei 1,00 und 2,00. Das 25%-Perzentil ebenso wie der Median befanden sich bei 1,0; das 75%-Perzentil bei 1,50.

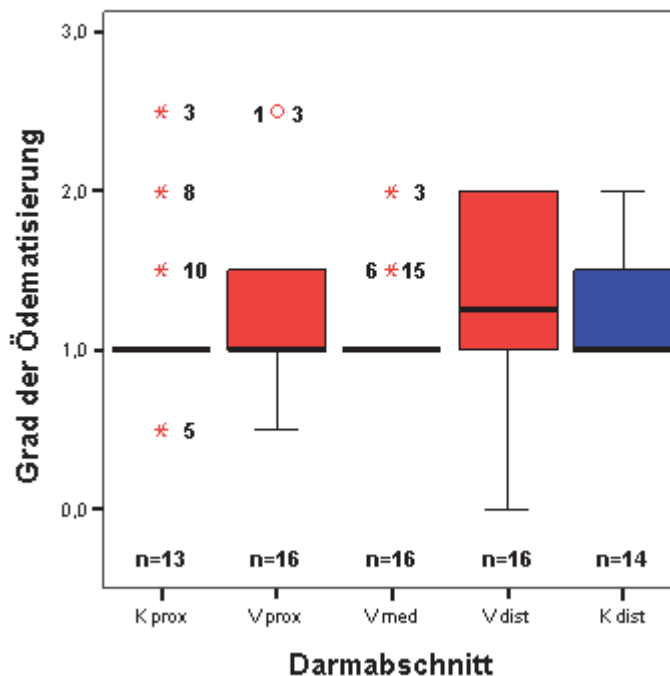


Abbildung 24: Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tela submucosa der einzelnen Darmabschnitte vor (Kprox, Kdist) bzw. nach der Perfusion (vprox, Vmed, Vdist)

4.5.2.4 Tunica mucosa

In der Tunica mucosa lagen die Werte des Ödematisierungsgrades bei der K prox Gruppe zwischen 0,00 und 1,00. Diese beiden Werte bezeichneten gleichzeitig das 25%- und 75%-Perzentil. Der Median lag bei 0,50. Das Minimum, der Median sowie das 25%-Perzentil der V prox Gruppe lagen bei 0,00, der Maximalwert, der durch einen ausreißenden Einzelwert markiert wurde, bei 1,50. Das 75%-Perzentil befand sich bei 0,50. Auch bei der V med Grupp lagen das Minimum, der Median und das 25%-Perzentil bei 0,00. Das Maximum wurde durch den Wert 1,50 beschrieben, das 75%-Perzentil durch den Wert 0,88. Die V dist Gruppe entsprachen in ihren Werten der K prox Gruppe mit Ausnahme des Maximalwertes, der bei 1,50 lag. Bis auf den Maximalwert, der mit 1,00 jedoch keinen ausreißenden Einzelwert darstellte, glich der Boxplot der Gruppe K dist dem Boxplot der Gruppe V prox.

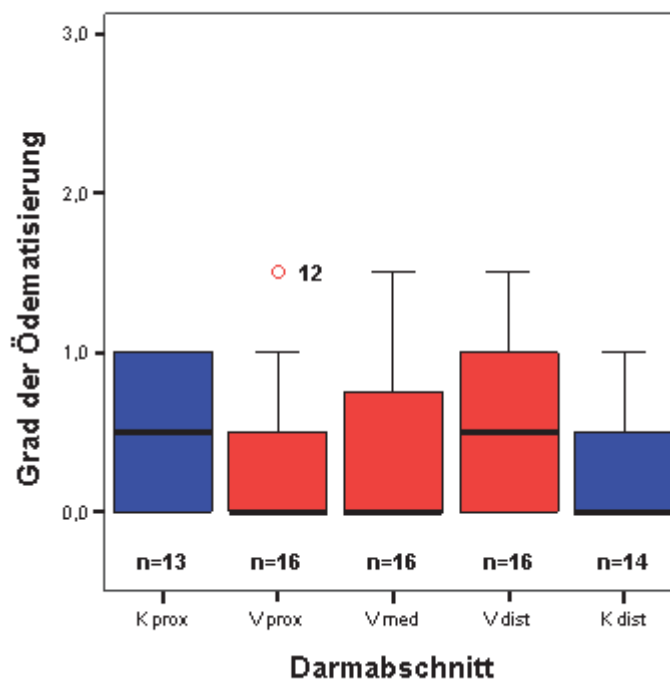


Abbildung 25: Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tunica mucosa der einzelnen Darmabschnitte vor (Kprox, Kdist) bzw. nach der Perfusion (Vprox, Vmed, Vdist)

4.6 Bilddokumentation der Histologie

4.6.1 Bilddokumentation der Epithelschädigung

In den beiden Kontrollgruppen K prox und K dist wiesen die Mehrzahl der lichtmikroskopisch untersuchten Darmschnitte normale Mikrovilli ohne Epithelschädigung auf (Score 0, Abb. 26 u. 27).

Die Versuchsgruppen V prox, V med und V dist wiesen im Gegensatz dazu eine beginnende Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria mit subepithelialen Grünhagen`schen Spalten sowie dilatierte Kapillaren und eine kapilläre Stauung auf (Score 1, Abb. 28 u. 29).

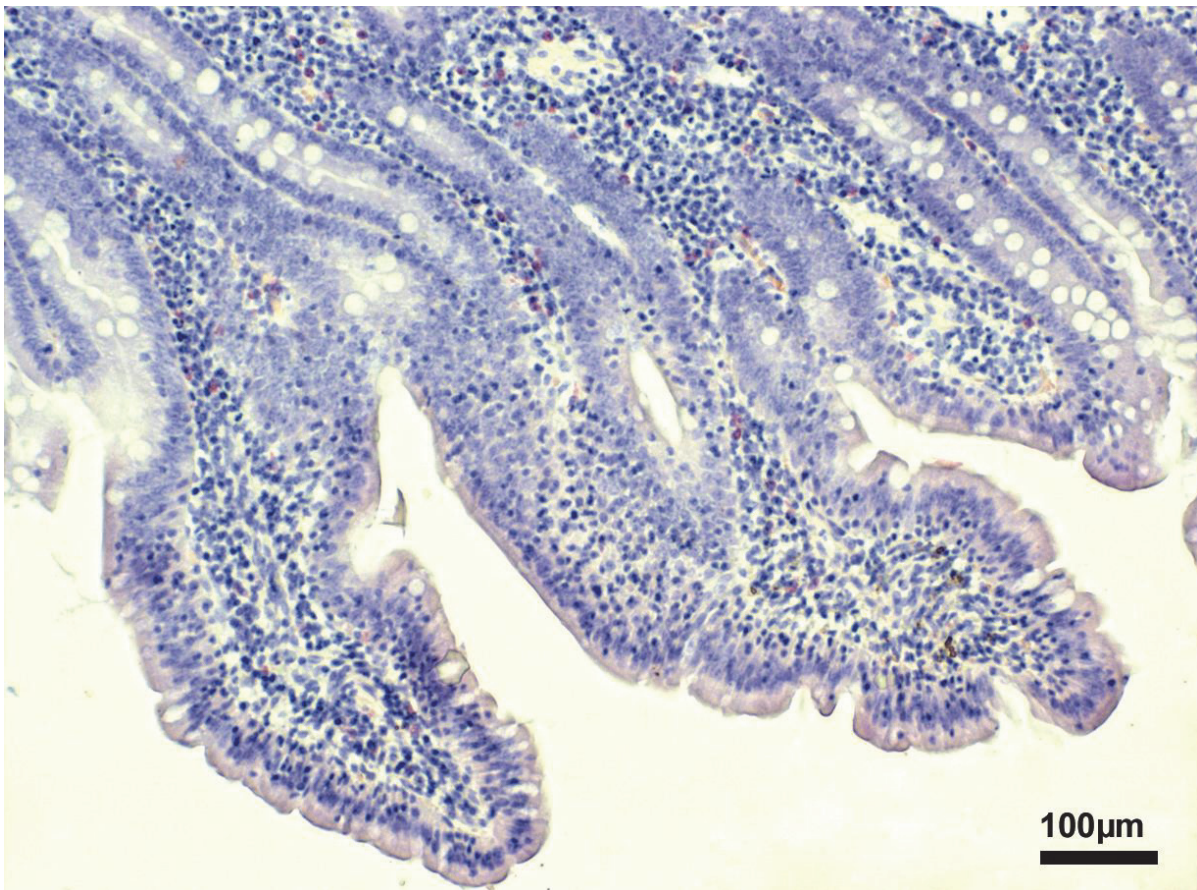


Abbildung 26: Übersicht über mehrere Schleimhautzotten der K prox Gruppe. Das Schleimhautepithel lag der Lamina propria direkt an, es zeigten sich keine Grünhagen`schen Spalten. Eine kapilläre Stauung war nicht zu erkennen (Score 0). Färbung Hämatoxylin-Eosin.

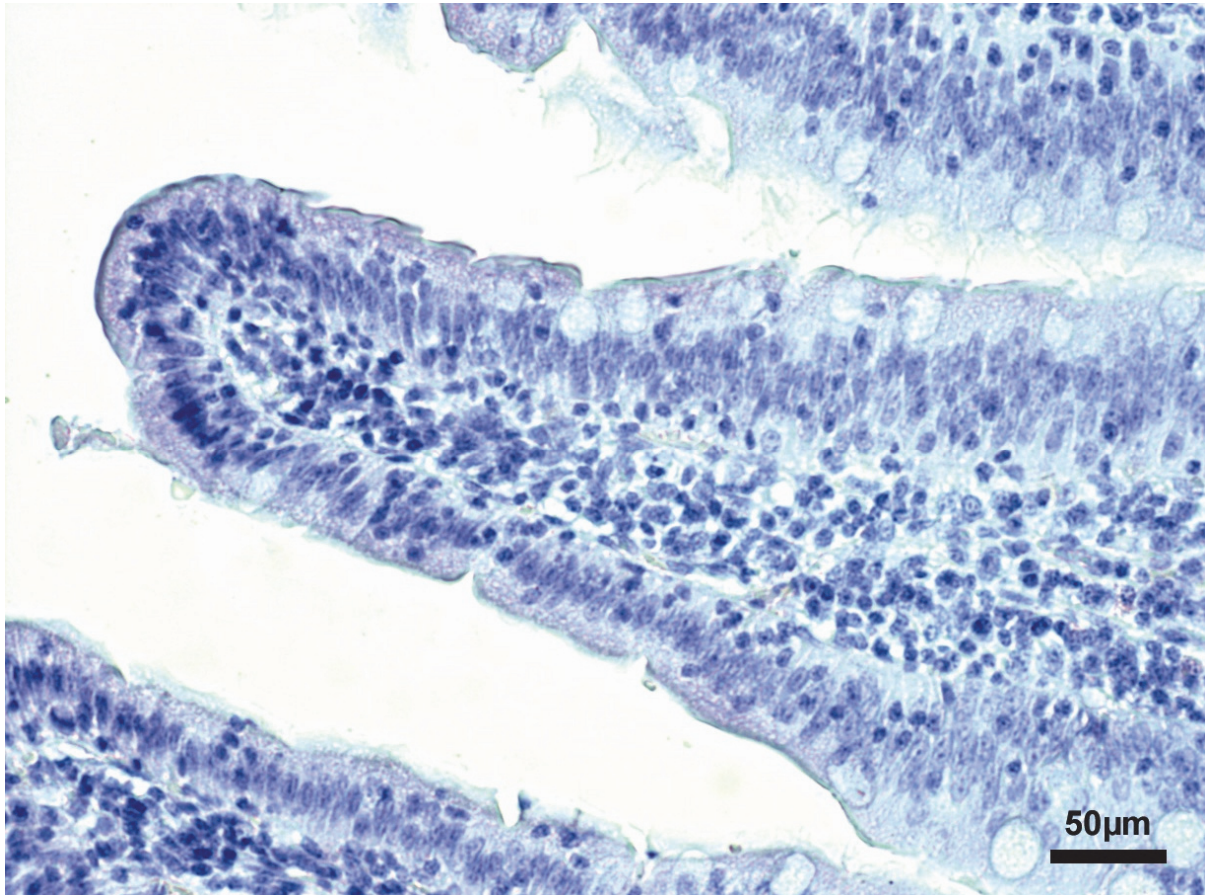


Abbildung 27: Übersicht über eine Schleimhautzotte der K prox Gruppe. Zwischen der Lamina propria und dem Schleimhautepithel waren keine Spalten zu erkennen, es zeigte sich weder eine Ablösung des Epithels von der Lamina propria noch eine kapilläre Stauung (Score 0). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

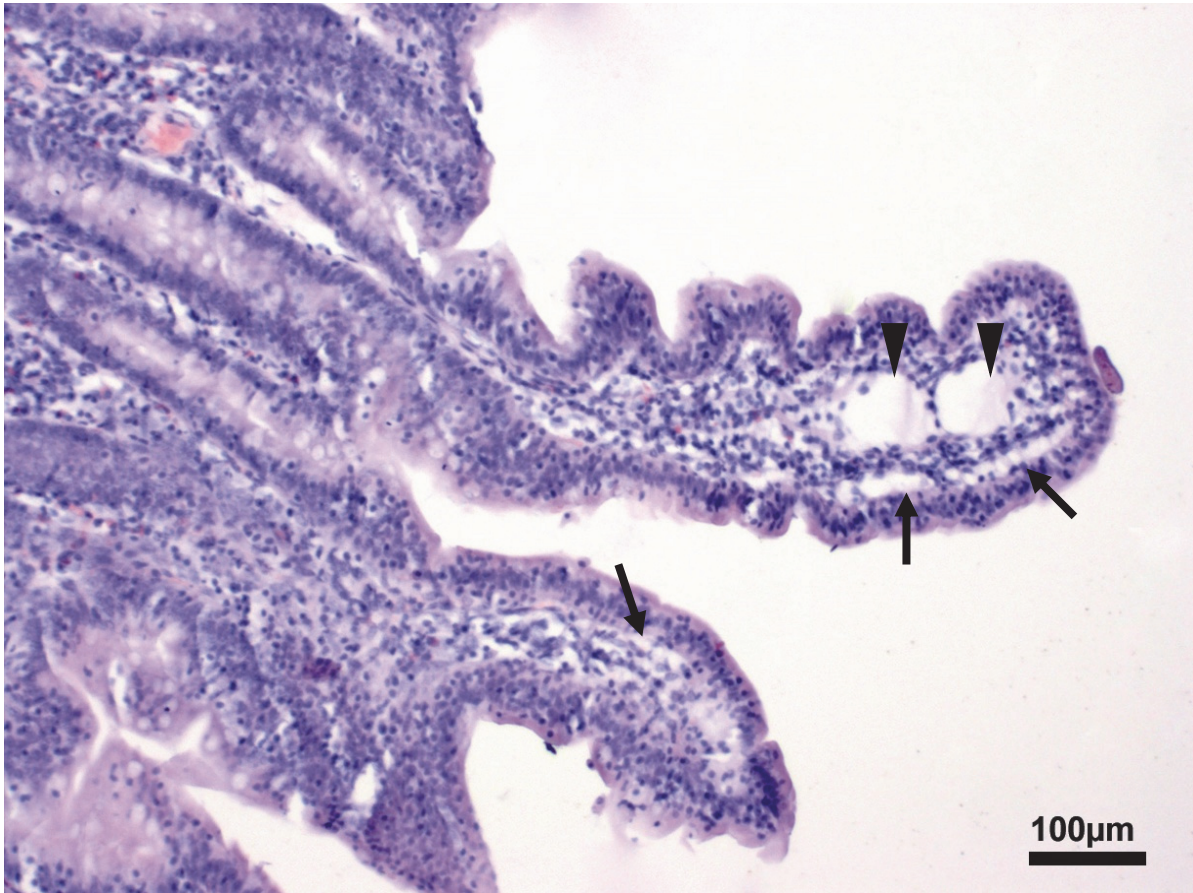


Abbildung 28: Übersicht über mehrere Schleimhautzotten der V prox Gruppe. An den Spitzen der Zotten waren deutlich Grünhagen'sche Spalten sowie eine beginnende Ablösung des Schleimhautepithels von der Lamina propria zu sehen (Pfeile). Die Lumina der Kapillaren zeigten Anzeichen einer Stauung (Pfeilköpfe), (Score 1). Färbung Hämatoxylin-Eosin.

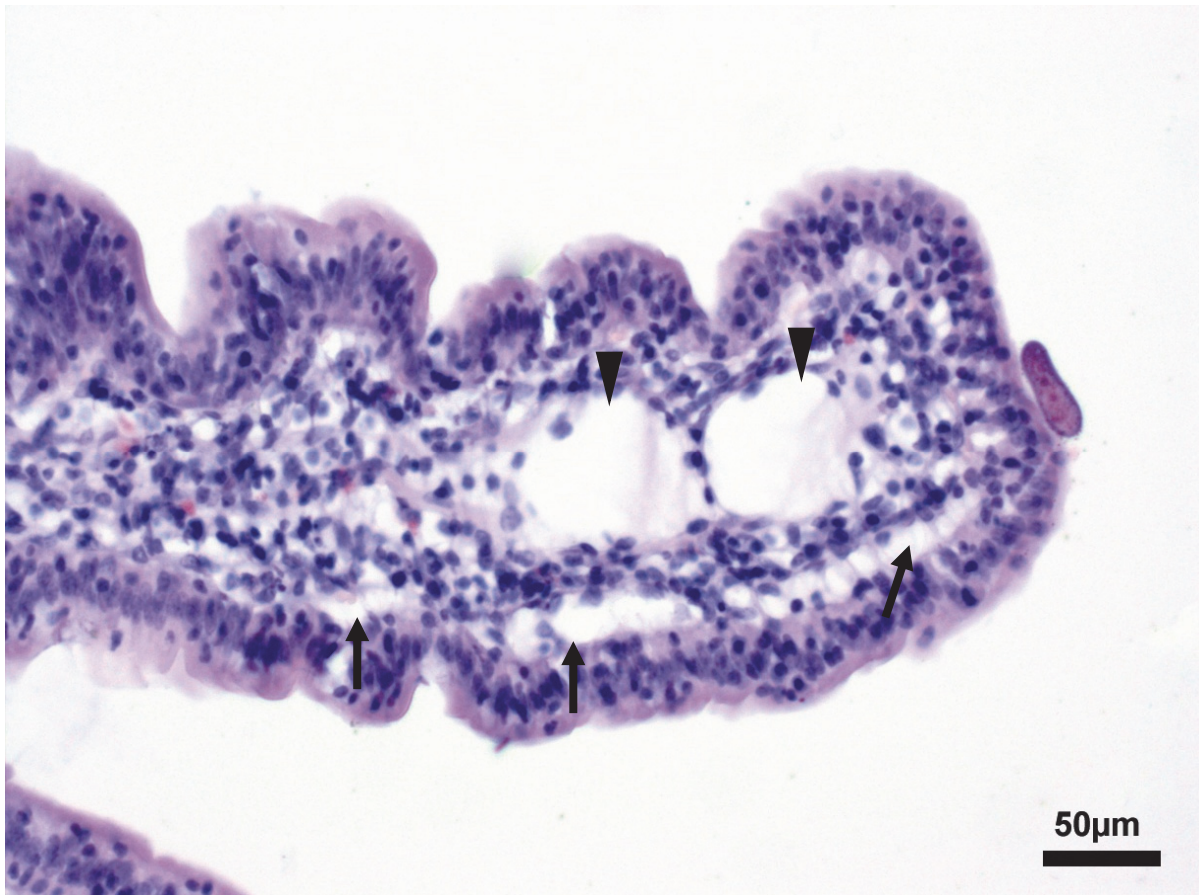


Abbildung 29: Vergrößerung einer Schleimhautzotte der V prox Gruppe aus Abb. 28. Die beginnende Ablösung des Schleimhautepithels vom Schleimhautbindegewebe war an den entstandenen Grünhagen'schen Spalten deutlich zu erkennen (Pfeile). Die Lumina der Kapillaren in den Spitzen der Zotten waren dilatiert (Pfeilköpfe), (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

4.6.2 Bilddokumentation der Ödematisierung

4.6.2.1 Tunica serosa

Bei der Beurteilung des Ödematisierungsgrades der Tunica serosa wiesen beide Kontrollgruppen K prox und K dist sowie die drei Versuchsgruppen V prox, V med und V dist in der Mehrzahl der untersuchten Darmschnitte eine geringgradige Ödematisierung auf (Score 1, Abb. 30 u. 31). Dies äußerte sich in einer Auflockerung des serosalen Bindegewebes und einem moderaten Abheben von der Längsmuskelschicht des Dünndarmes durch ein geringgradig ausgeprägtes interstitielles Ödem.

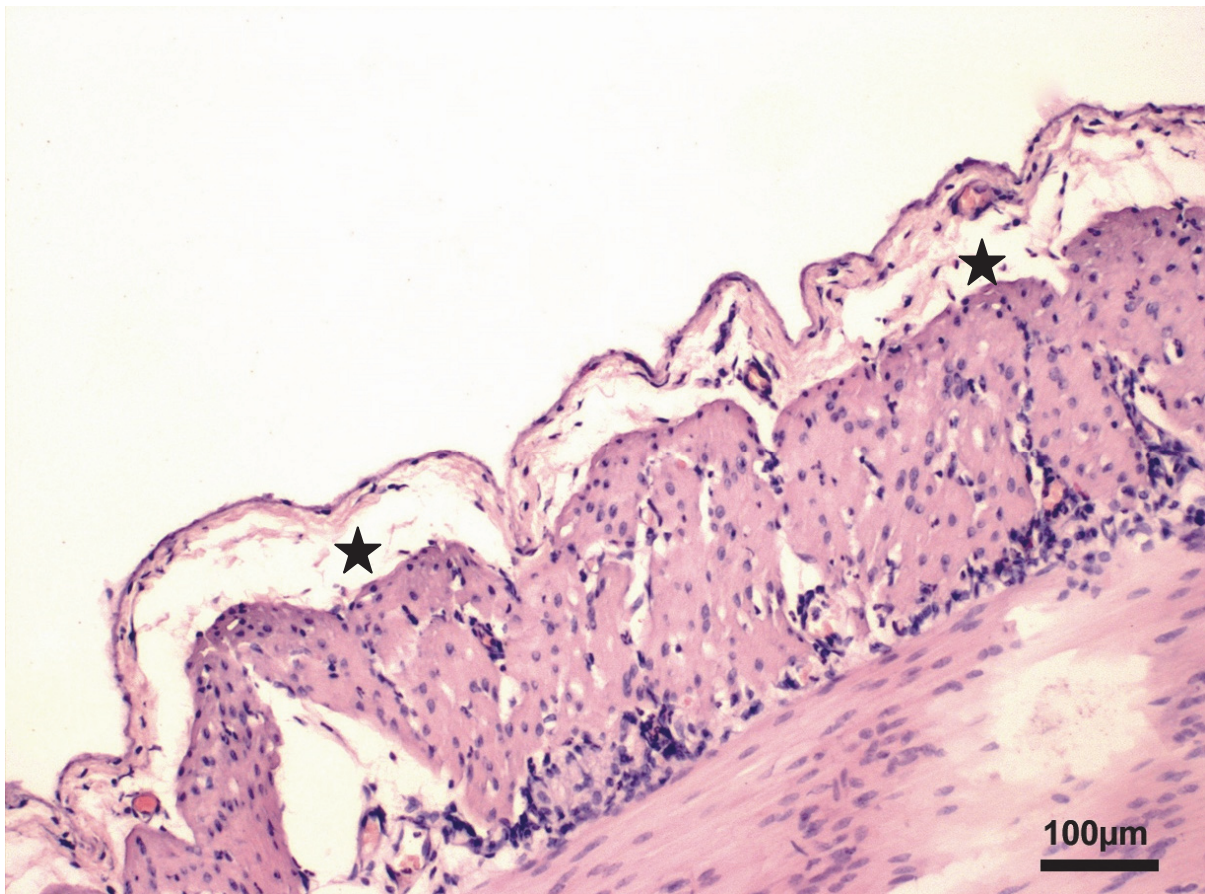


Abbildung 30: Ausschnitt aus der Tunica serosa eines Darmes der K prox Gruppe. Im serosalen Bindegewebe zeigte die Hohlraumbildung ein geringgradig ausgeprägtes Ödem (Sterne) an (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

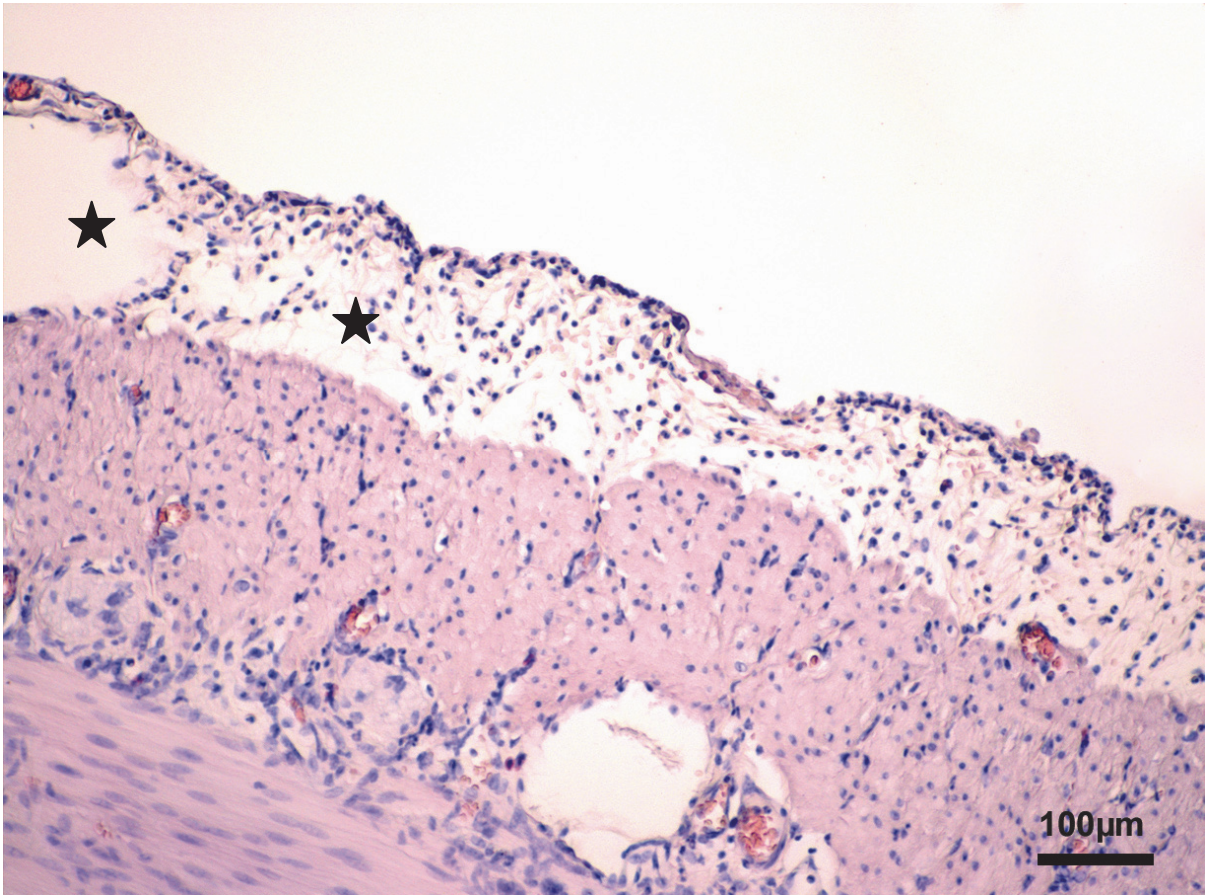


Abbildung 31: Ausschnitt aus der Tunica serosa eines Darmes der V prox Gruppe. Das auseinandergedrängte serosale Bindegewebe sowie die Abhebung von der Muskelschicht zeigte das interstitielle Ödem (Sterne) an (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

4.6.2.2 Tunica muscularis

Die Tunica muscularis wies bei der Mehrzahl der untersuchten Därme der beiden Kontrollgruppen ein geringgradig ausgeprägtes perivaskuläres Ödem auf (Score 1, Abb. 32).

Bei der Versuchsgruppe V dist waren die meisten der beurteilten Darmschnitte ebenfalls durch ein geringgradig ausgeprägtes perivaskuläres Ödem gekennzeichnet (Score 1, Abb. 34). Die Versuchsgruppen V prox und V med wiesen zu fast gleichen Anteilen Därme ohne ein erkennbares Ödem (Score 0, Abb. 33) und Därme mit einem geringgradig ausgeprägten perivaskulären Ödem auf (Score 1). Diese Art der Ödematisierung zeigte sich an der Staung der Gefäße, der Hohlrumbildung um die Gefäße sowie einem Auseinanderdrängen der Längs- und Quermuskelschicht in diesem Bereich.

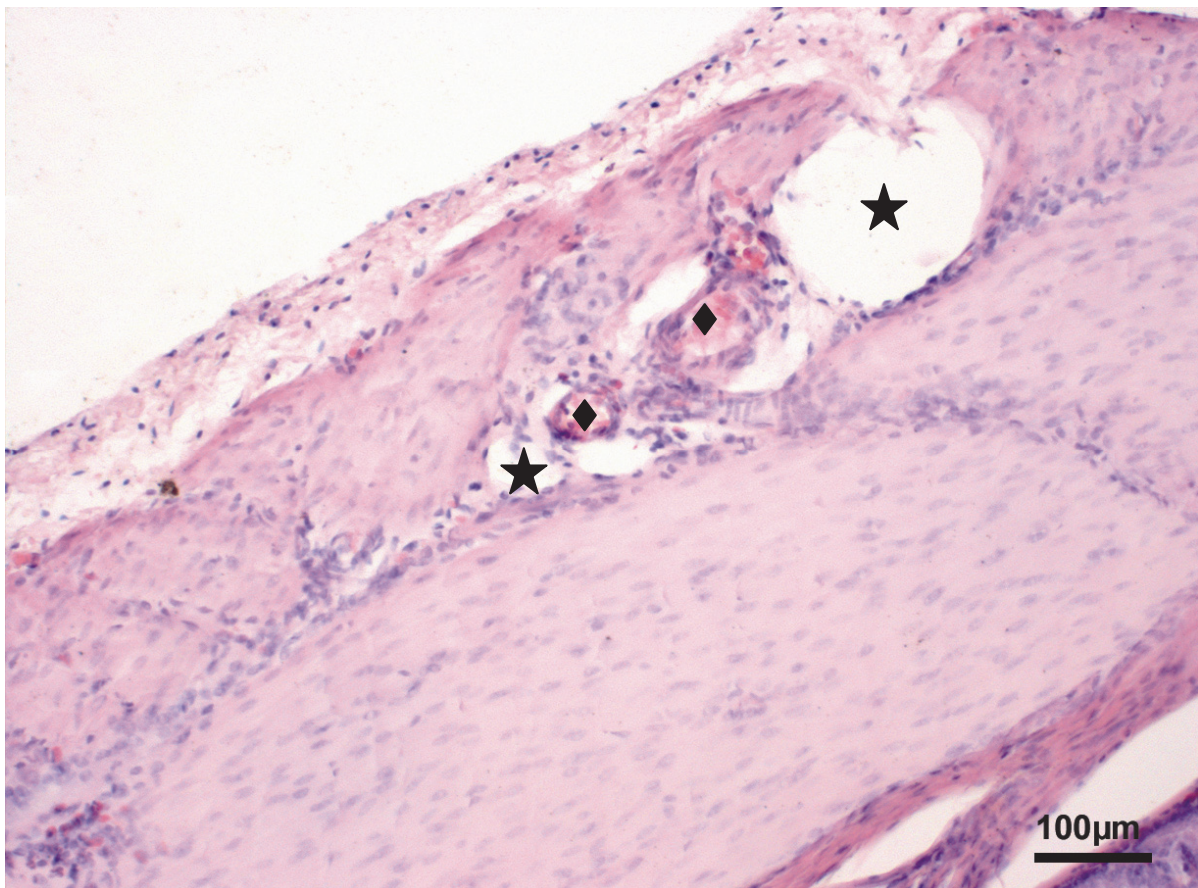


Abbildung 32: Ausschnitt aus der Tunica muscularis eines Darmes der K dist Gruppe. Die Gefäße zwischen den beiden Muskelschichten waren geringgradig gestaut (Rauten), es bildeten sich deutliche Hohlräume um die Blutgefäße, welche das perivaskuläre Ödem mit Lymphstau charakterisierten (Sterne), (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

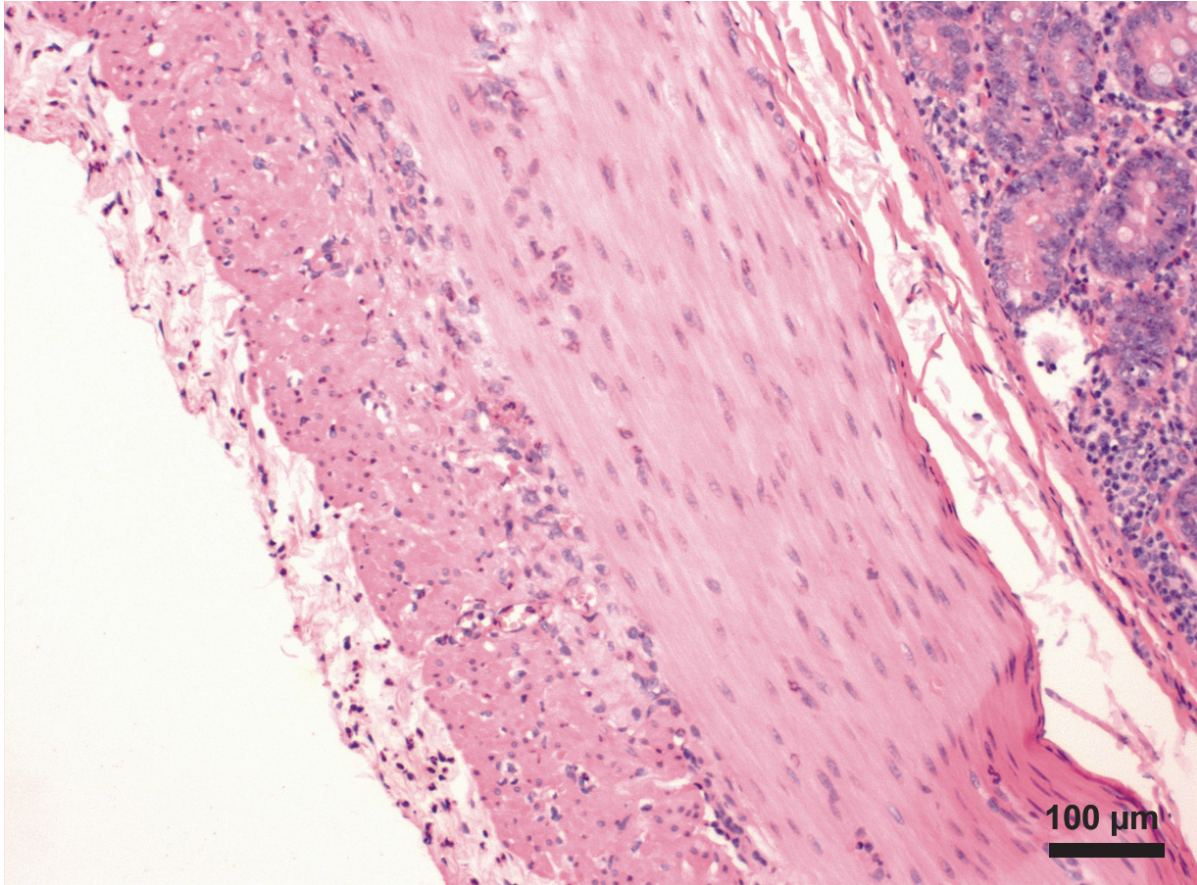


Abbildung 33: Ausschnitt aus der Tunica muscularis eines Darmes der V med Gruppe. Weder waren gestaute Gefäße noch eine Hohlrumbildung zu erkennen. Längs- und Quermuskelschicht lagen direkt aufeinander (Score 0). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

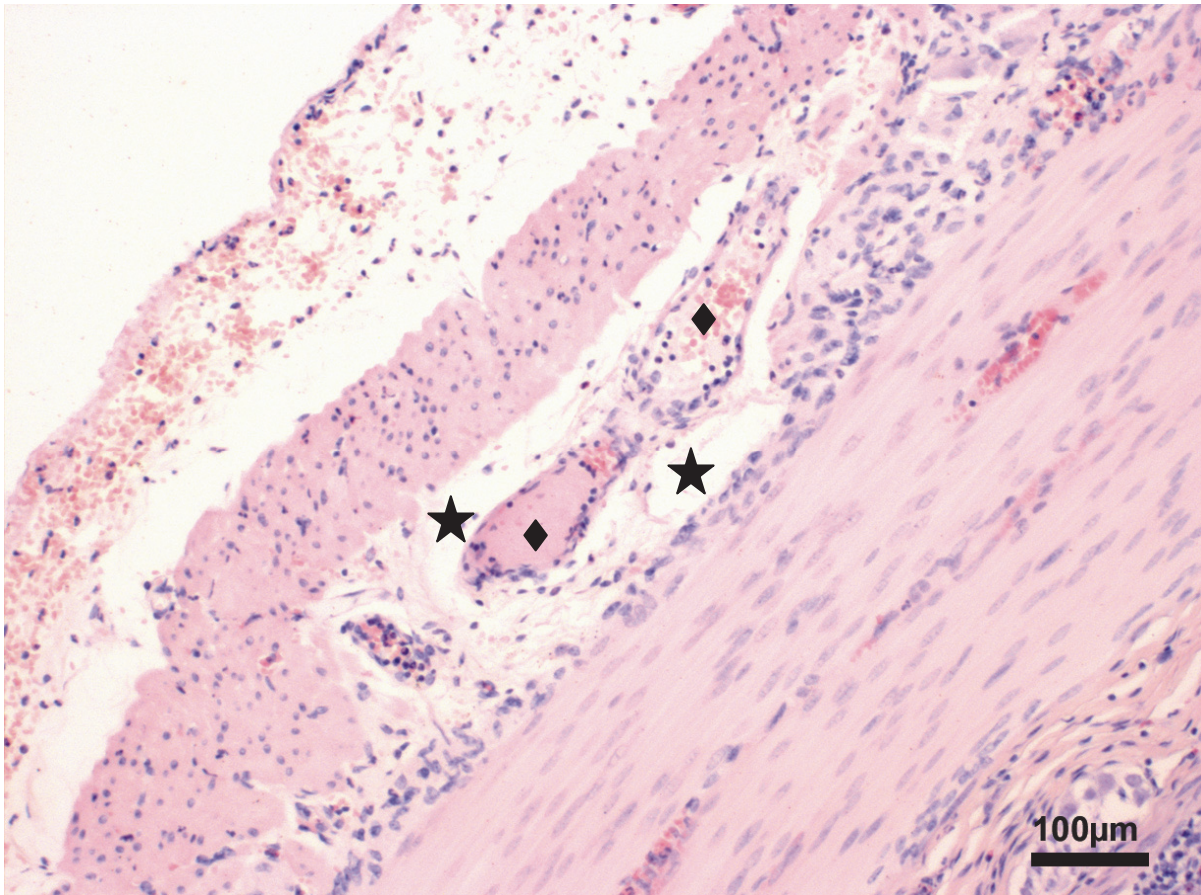


Abbildung 34: Ausschnitt aus der Tunica muscularis eines Darmes der V dist Gruppe. Die Lumina der Gefäße waren durch die Stauung geringgradig dilatiert (Rauten). Die Muskelschichten waren im Bereich der Gefäße auseinandergedrängt und es hatten sich, anhand der Hohlrumbildung zu erkennen, geringgradig ausgerägte perivaskuläre Ödeme gebildet (Sterne), (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

4.6.2.3 Tela submucosa

In der Tela submucosa der Kontrollgruppen K prox und K dist erwiesen sich eine große Anzahl der lichtmikroskopisch untersuchten Darmschnitte als geringgradig ödematisiert (Score 1, Abb. 35). Die dort verlaufenden Gefäße waren gestaut, das lockere Bindegewebe auseinandergedrängt und Hohlräume sichtbar, die, teilweise noch mit angefärbter Ödemflüssigkeit gefüllt, auf ein interstitielles Ödem verwiesen.

Die meisten der beurteilten Därme der Versuchsgruppen V prox, V med und V dist wiesen ebenfalls eine geringgradige Ödematisierung (Score 1, Abb. 36) auf, wobei in der Gruppe V dist die Anzahl der als mittelgradig ödematisiert (Score 2) beurteilten Därme geringfügig höher war als in den beiden anderen Gruppen V prox und V med.

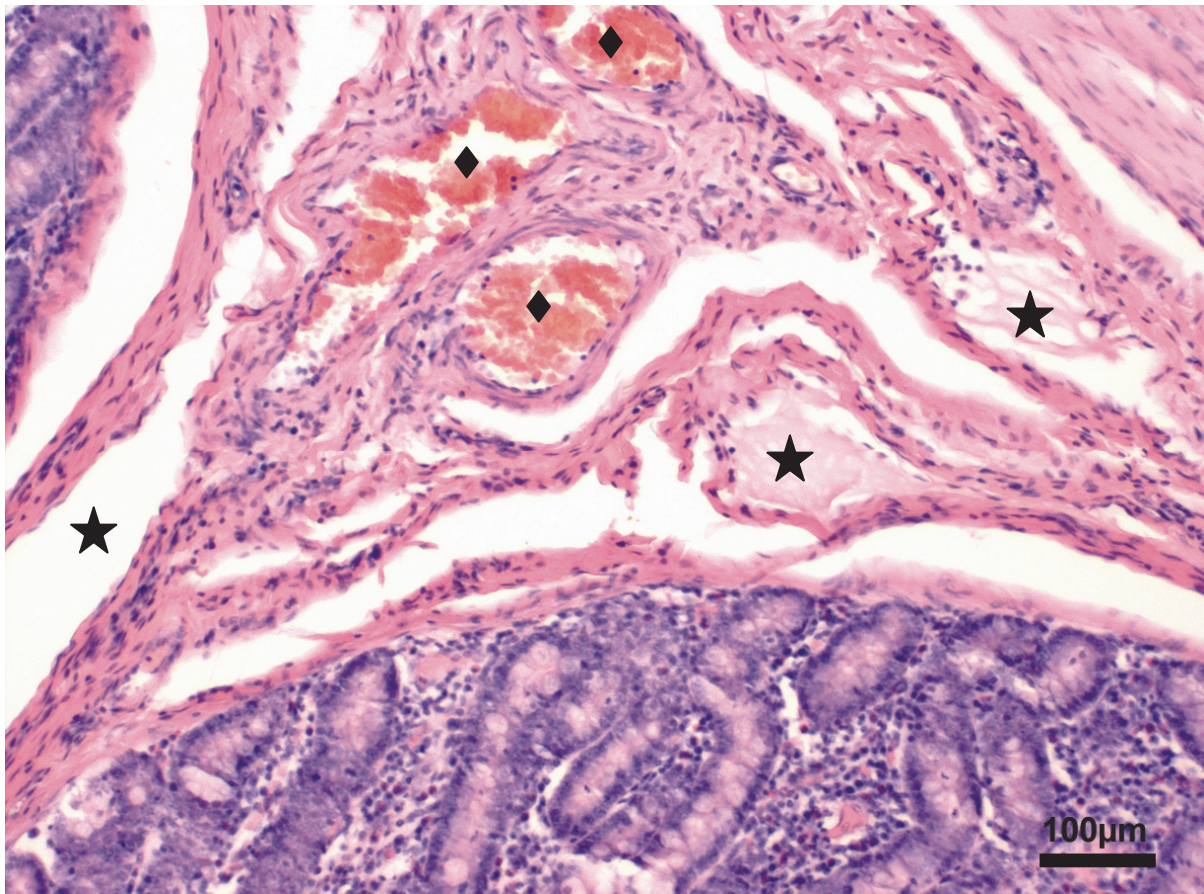


Abbildung 35: Ausschnitt aus der Tela submucosa eines Darmes der K dist Gruppe. Die Gefäße im Zentrum der in diesem Teil dreiecksförmigen Tela submucosa waren geringgradig gestaut (Rauten), das lockere Bindegewebe erschien auseinandergedrängt und die durch das geringgradige interstitielle Ödem entstandenen Hohlräume waren zum Teil noch mit Ödemflüssigkeit angefüllt (Sterne), (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

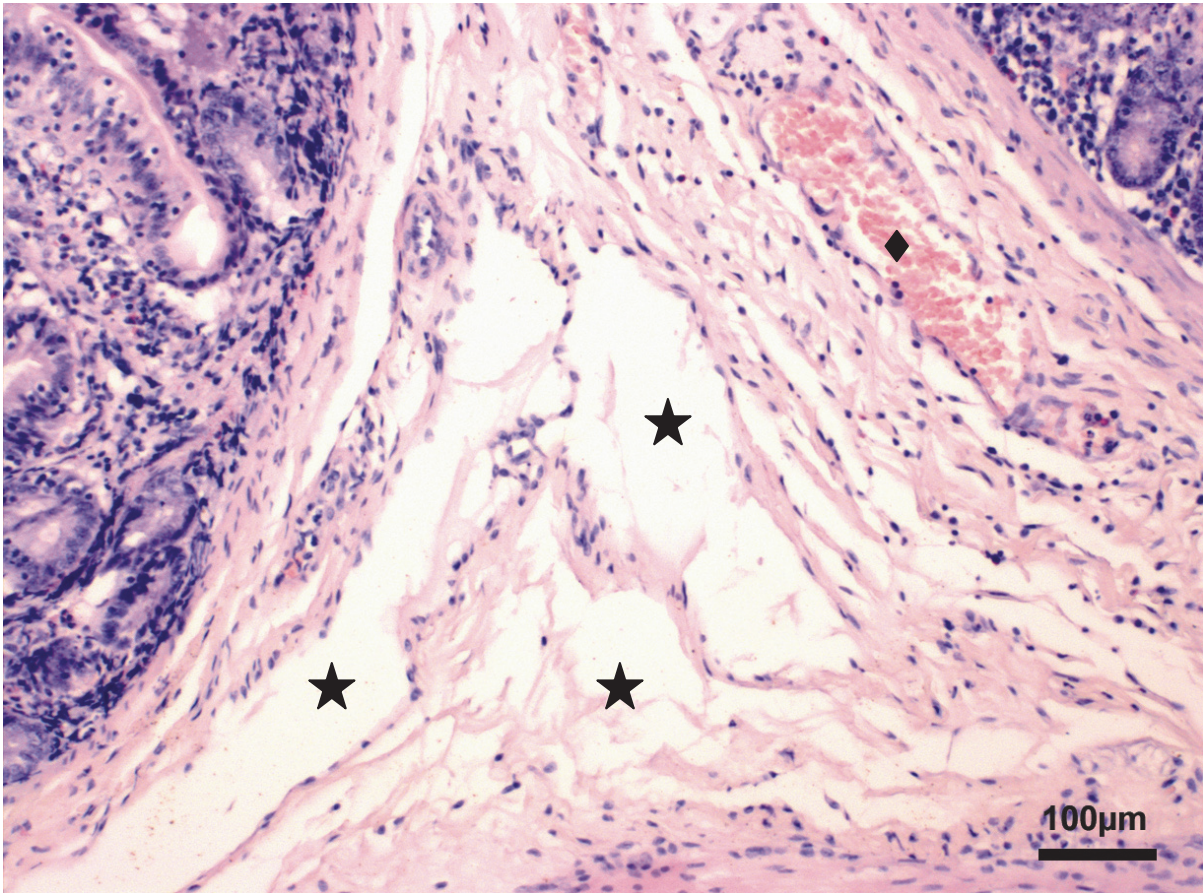


Abbildung 36: Asschnitt aus der Tela submucosa eines Darmes der V med Gruppe. Das Lumen des Gefäßes zeigte sich geringgradig gestaut (Raute). Auch hier hatten sich im Bindegewebe der Tela submucosa Hohlräume gebildet, die ein interstitielles Ödem anzeigten (Sterne), (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

4.6.2.4 Tunica mucosa

In der Tunica mucosa wiesen die untersuchten Darmschnitte der Kontrollgruppe K prox zu etwa gleichen Teilen keine erkennbare interstitielle Ödematisierung (Score 0) oder eine geringgradig ausgeprägte interstitielle Ödematisierung in Verbindung mit gestauten Lymph- bzw. Blutgefäßen (Score 1, Abb. 37 u. 38) auf. In der Kontrollgruppe K dist wiesen die meisten der untersuchten Därme weder Anzeichen einer Ödematisierung noch gestaute Gefäße in der Tunica mucosa (Score 0, Abb. 39) auf.

In den Versuchsgruppen V prox und V med konnten bei der Mehrzahl der Fälle ebenfalls keine erkennbaren Ödematisierungserscheinungen (Score 0, Abb 40 u. 41) festgestellt werden. Die Tunica mucosa der beurteilten Darmschnitte der Versuchsgruppe V dist erwies sich im Gegensatz dazu als zu etwa gleichen Teilen geringgradig ödematisiert in Verbindung mit gestauten Gefäßen (Score 1, Abb. 42) und ohne erkennbare Ödeme (Score 0).

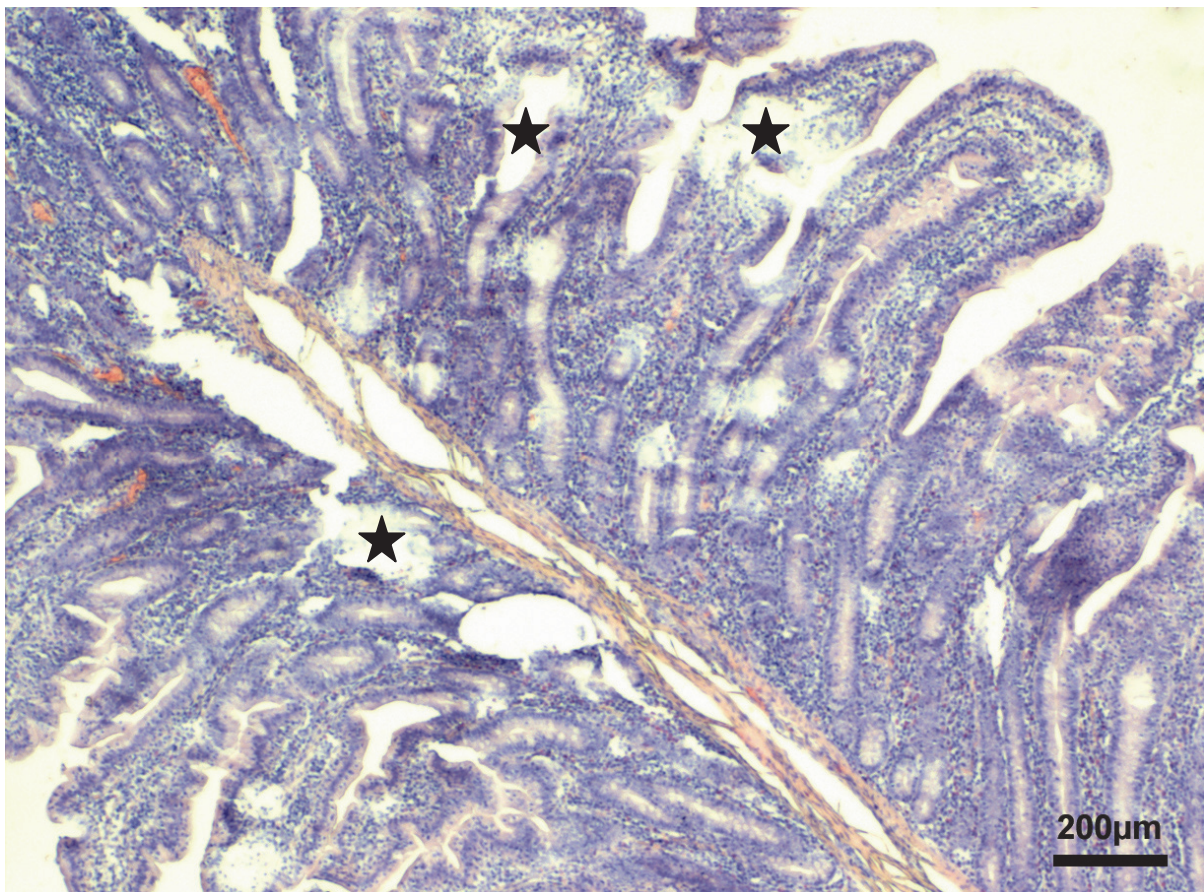


Abbildung 37: Übersicht über die Tunica mucosa eines Darmes der K prox Gruppe. Die durch das interstitielle Ödem entstandenen Hohlräume (Sterne) verliehen der Tunica mucosa ein „mottenfraß“-ähnliches Aussehen (Score 1).

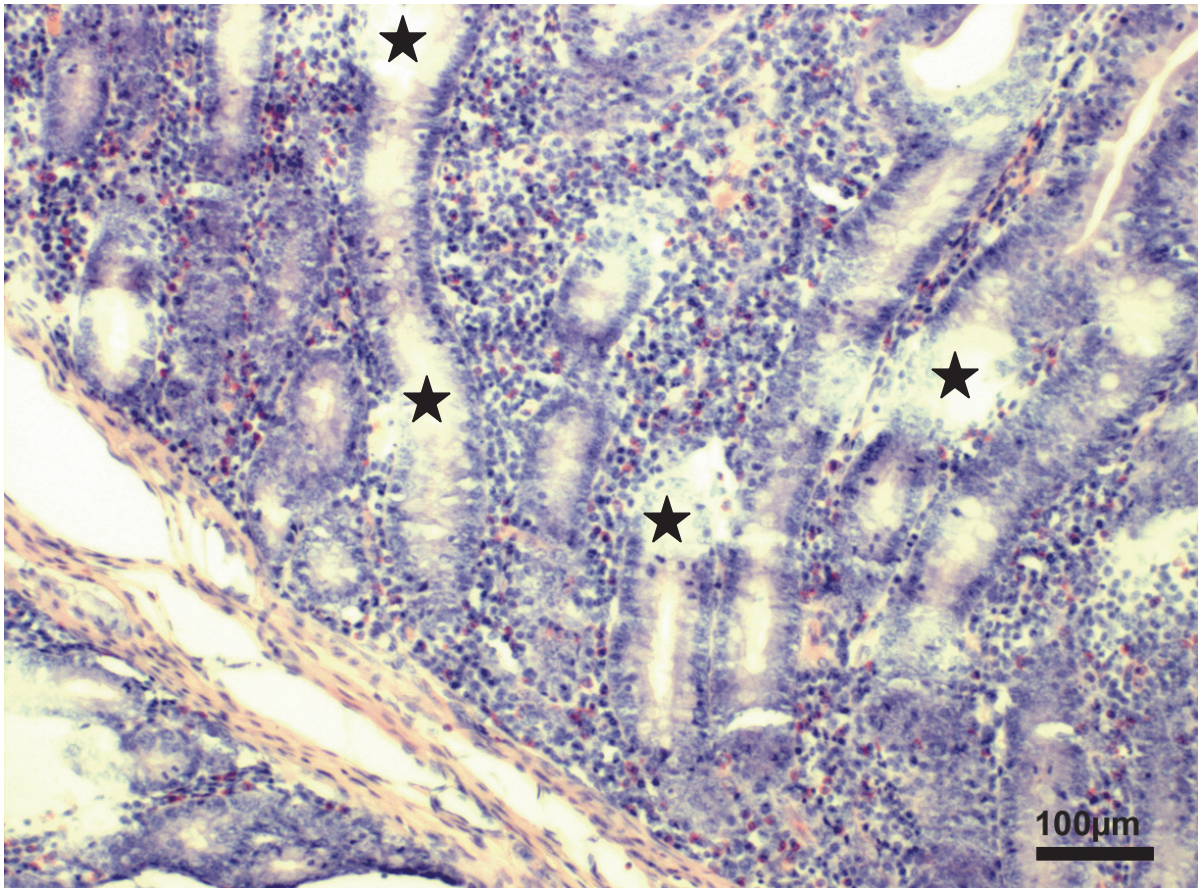


Abbildung 38: Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der K prox Gruppe. Die Tunica mucosa wies mehrere kleine Hohlräume (Sterne) auf. Diese Hohlraumbildung kennzeichnete ein geringgradiges interstitielles Ödem (Score 1). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

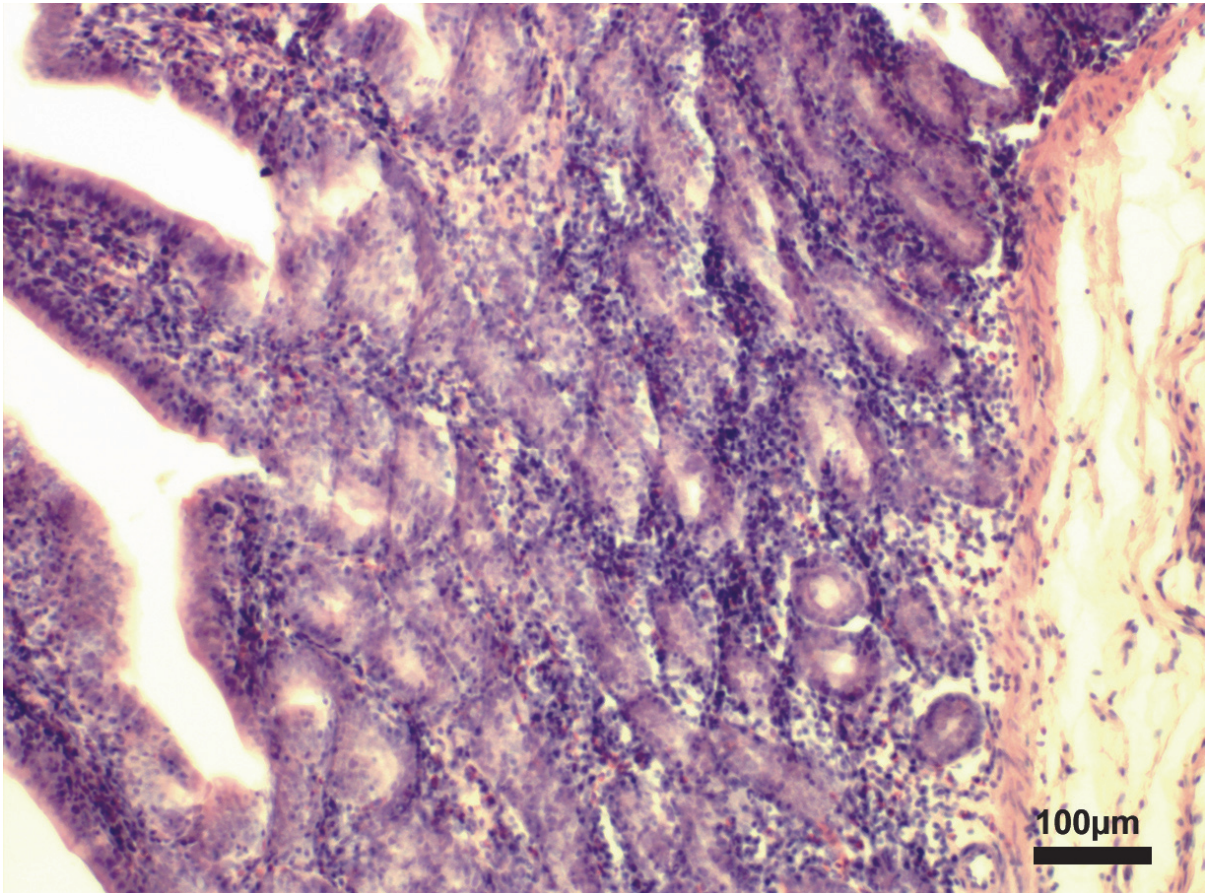


Abbildung 39: Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der K dist Gruppe. Die Tunica mucosa wies ein einheitliches Aussehen auf. Hohlräume, die auf die Bildung eines interstitiellen Ödems hätten schließen lassen können, waren nicht zu erkennen (Score 0). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

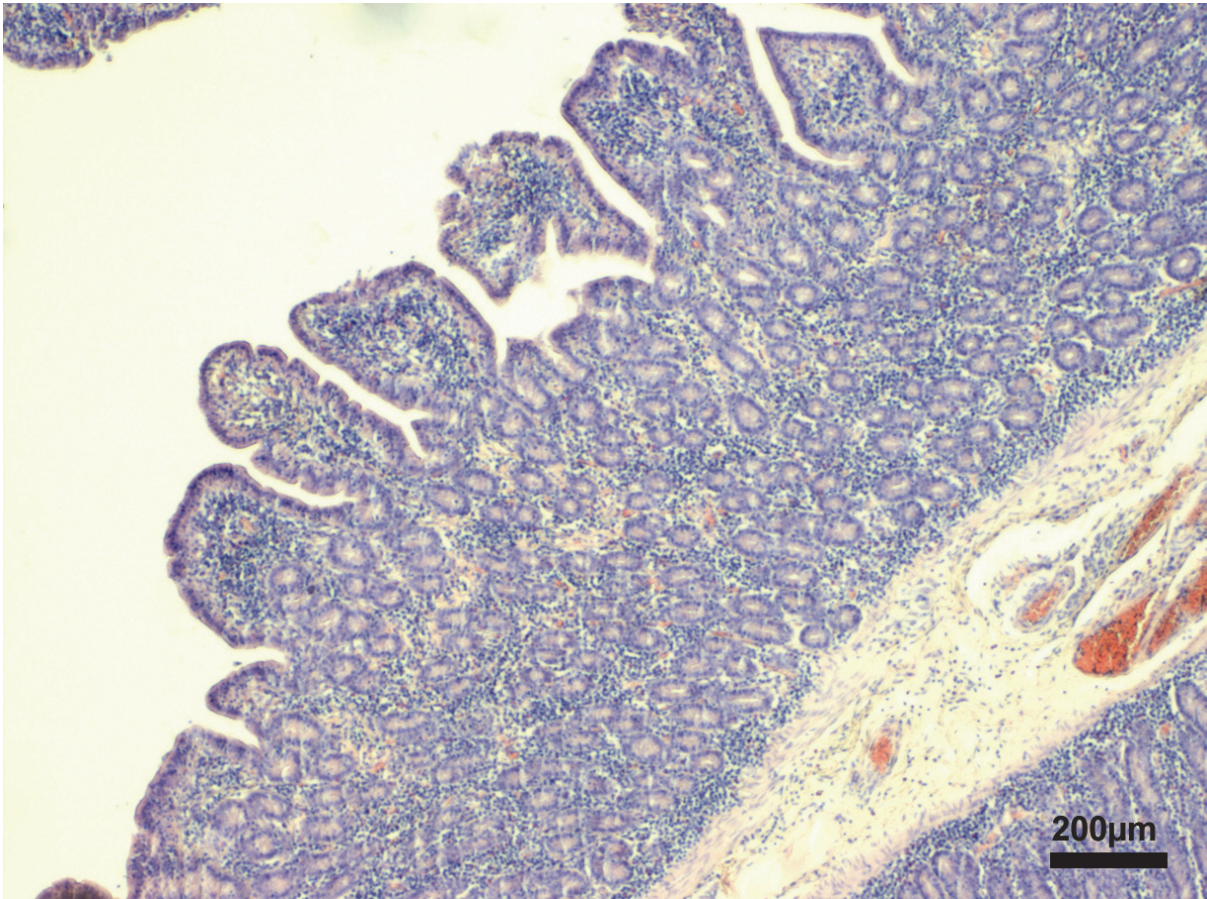


Abbildung 40: Übersicht über die Tunica mucosa eines Darmes der V med Gruppe. Auch hier erschien die Tunica mucosa einheitlich. Die Gefäße in der Zottenspitze ließen keine Stauungsanzeichen erkennen. Es fanden sich keine Anhaltspunkte für eine Ödematisierung (Score 0). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

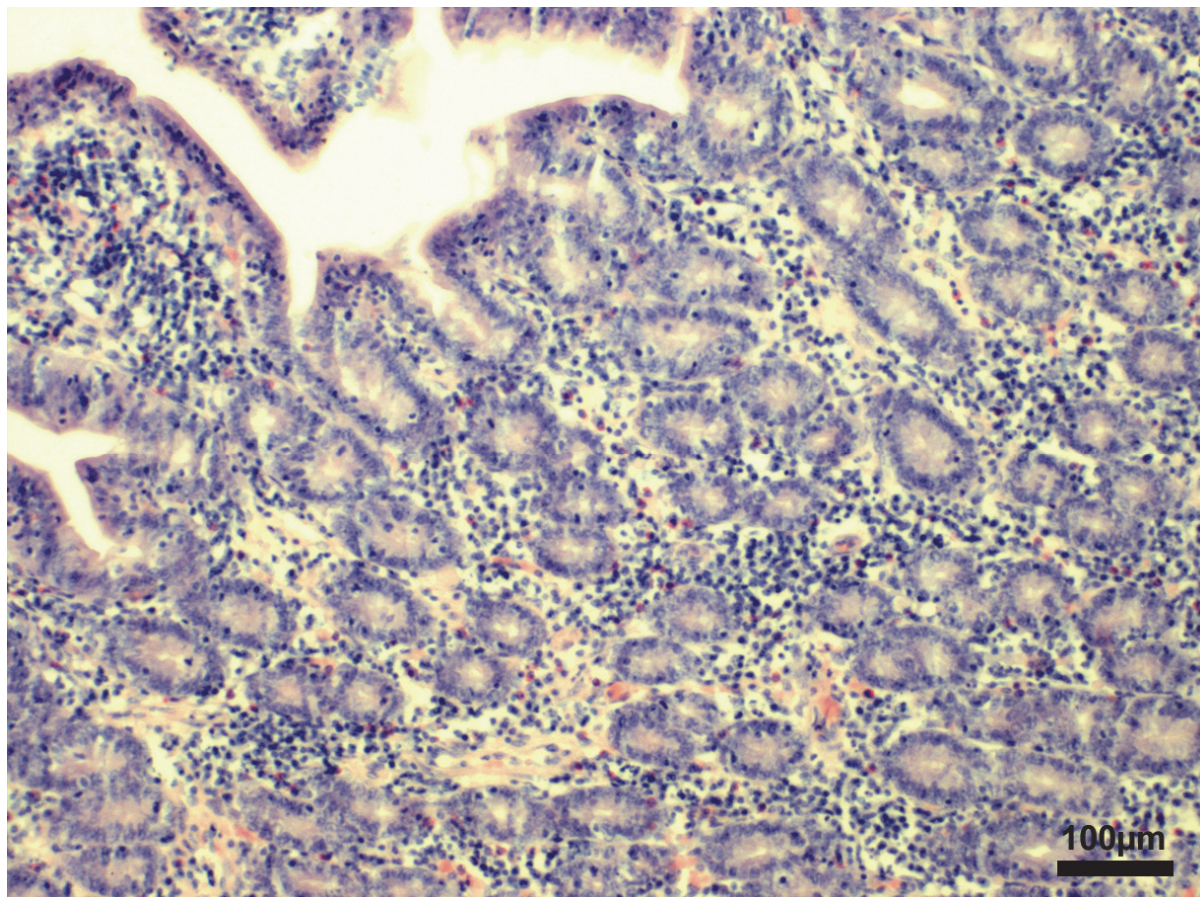


Abbildung 41: Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der V med Gruppe. Der Zellverband erschien gleichmäßig, es waren keine Hohlräume zu erkennen, die auf ein interstitielles Ödem hätten schließen lassen (Score 0). Färbung Hämatoxylin- Eosin.

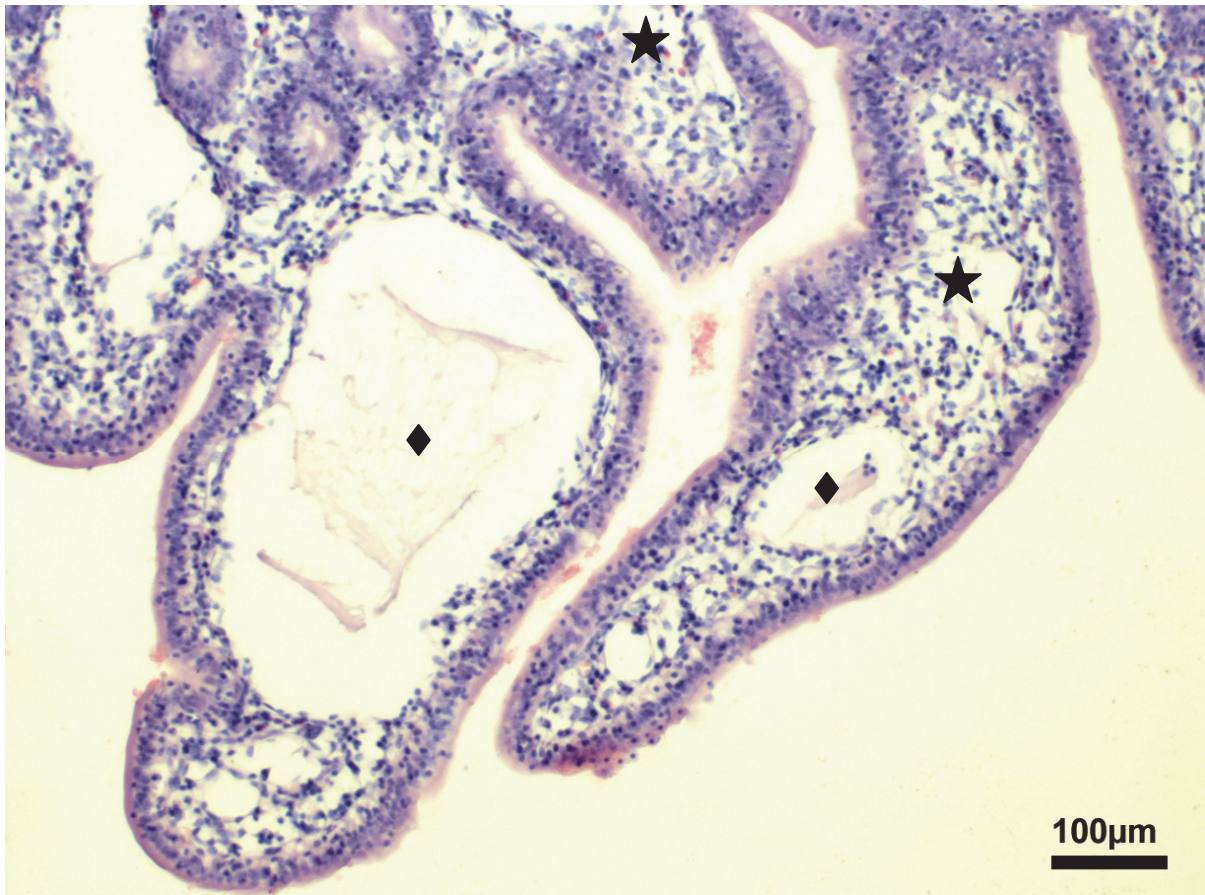


Abbildung 42: Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der V dist Gruppe. Der Zellverband erschien aufgelockert und ließ so Anzeichen einer geringgradigen interstitiellen Ödematisierung erkennen (Sterne), (Score 1). Die Gefäße in der Zottenspitze waren deutlich gestaut (Rauten).

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

Zur Vermeidung von Tierversuchen zur intestinalen Resorption von potenziell toxischen Substanzen ist es wichtig, ein in-vitro-Modell zu etablieren, welches den in-vivo Verhältnissen möglichst nahe kommt. Ziel der vorliegenden Studie war es, ein bereits vorhandenes Perfusionsmodell so zu modifizieren, dass eine dreistündige normotherme Perfusion von operativ gewonnenen Jejunumabschnitten des Schweines ohne erkennbaren Funktionsverlust möglich ist. Schweine eignen sich hier als Spendertiere aus mehreren Gründen. Zum einen ist es möglich, eine große Anzahl Organe von kommerziellen Schlachthöfen zu beziehen und so die Versuchstierzahlen zu verringern. Zum anderen weist der Schweinedarm ein hohes Maß an Homologien zum Darm des Menschen auf (Moughan et al. 1992). Daher sowie aufgrund der Tatsache, dass sowohl der Mensch als auch das Schwein omnivore Lebewesen sind, gilt der Intestinaltrakt des Schweines auch als ein anerkanntes Modell für den humanen Gastrointestinaltrakt (Varum et al. 2010). Ferner stimmen die biochemischen Parameter der Disaccharidasen dieser beiden Spezies zu einem hohen Grad überein. So liegen sowohl das Molekulargewicht der humanen Maltase (210000 Da) und der Maltase des Schweines (245000 Da) als auch das pH-Optimum der Maltase, welches bei beiden Spezies 6-7 beträgt, nah beieinander (Kelly und Alpers 1973; Danielsen et al. 1983; Sørensen et al. 1982; Günther und Heymann 1998).

Das Jejunum ist nicht nur der längste und operativ am besten zugängliche Teil des Darmes, sondern auch der Dünndarmabschnitt mit der höchsten Dichte an Carrierproteinen und der größten mukosalen Oberfläche, was ihn als in-vitro Modell zur Untersuchung von Resorptionsvorgängen am geeignetsten erscheinen lässt (Lennernäs 2007).

Um Versuchsbedingungen zu schaffen, die den in-vivo Verhältnissen möglichst vergleichbar sind, ist die Wahl des Perfusionsmediums von besonderer Bedeutung. In der Vergangenheit konnte bei der Verwendung zellfreier Perfusionsmedien für Resorptionsuntersuchungen an isolierten Darmsegmenten mangels des Sauerstoffträgers Hämoglobin der Sauerstoffbedarf der perfundierten Organe nur unzureichend gedeckt werden (Fisher und Parson 1949, Wilson und Wisemann 1954, Hohenleitner und Senior 1969, Große-Siestrup 1993). Auch der Zusatz gewaschener Erythrozyten oder die Verwendung von verdünntem Blut als Perfusionsmedium konnten das Problem der unzureichenden Sauerstoffversorgung nicht eliminieren (Roese 1930, Kavin et al. 1967; Dubois et al. 1968). Ein weiteres Problem bei der Verwendung von zellfreien Perfusionslösungen, die aufgrund der im Vergleich zu Blut schlechteren Sauerstoffbindungskapazität mit wesentlich höheren Flussraten durch das Gefäßsystem gepumpt werden müssen, stellen die durch den erhöhten Perfusionsdruck entstehenden Ödeme dar (Isselhard 1986, Große-Siestrup et al. 2003). Eine

Vergleichsstudie von autolog hämoperfundenen Nieren im Gegensatz zu mit Tyrodelösung perfundenen Nieren kam zu dem Ergebnis, dass die Gruppe der hämoperfundenen Organe nicht nur eine deutlich bessere Kreatininclearance und eine bessere Resorptionleistung von Glukose und Natrium aufwies, sondern auch eine signifikant bessere Sauerstoffversorgung verzeichnete (Höchel et al. 2003).

In der vorliegenden Studie wurde als Perfusionsmedium daher durch Gasaustausch oxygeniertes, dialysiertes und normothermiertes autologes Vollblut verwendet, dessen Menge durch den in sich geschlossenen Kreislauf begrenzt war.

Über die Lagerung des Darmes während der Perfusion machen anderen Autoren wenig Aussagen. Um eine möglichst schonende Lagerung des Darmsegmentes über den gesamten Versuchszeitraum zu gewährleisten und die vorhandene Eigenmotilität des Organs möglichst wenig zu behindern, wurde der Darm auf einem eigens dafür angefertigten „Wasserbett“ gelagert und die Temperatur konstant überwacht.

Ein wichtiges Kriterium bei Organperfusionen stellt die kalte und warme Ischämiezeit dar, also die Zeit, in der das entsprechende Organ ohne Sauerstoffzufuhr ist. Während Organe wie Leber, Niere und Herz über mehrere Stunden kalt konserviert werden können, reagiert der Dünndarm, insbesondere die Mukosa, äußerst empfindlich auf eine andauernde Ischämie. Obwohl es bereits in ersten Studien gelang, Dünndarmabschnitte über einen kurzen Zeitraum der kalten Konservierung zu unterziehen (Oner et al. 2004), wurde in der vorliegenden Arbeit auf eine kalte Konservierung verzichtet. Aufgrund eigener Ergebnisse, denen zufolge der Darm bei einer warmen Ischämie über 20 Minuten ein deutlich schlechteres histologisches Ergebnis - insbesondere bei der Integrität des Schleimhautepithels - zeigte, wurde die warme Ischämie mit durchschnittlich $12,9 \pm 3,6$ min möglichst kurz gehalten. Demzufolge hat die Dauer der Ischämie einen entscheidenden Einfluss auf die Integrität des Schleimhautepithels. So zeigten sich nach einer warmen Ischämiezeit von 22 Minuten bei Darm 1 in der histologischen Auswertung deutlich verkürzte Zotten und ein Schleimhautepithel, das in manchen Abschnitten nur noch in den Krypten vorhanden war. Allerdings gab es auch Bereiche, in denen die Zotten zwar deutlich verkürzt, jedoch fast völlig wieder mit Schleimhautepithel überzogen waren. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Grootjans et al. (2012), wonach sich im histologischen Bild nach 120 Minuten Reperfusion ebenfalls verkürzte Zotten zeigten, die wieder fast vollständig mit Schleimhautepithel überzogen waren. Ein vergleichbares histologisches Bild konnte so bei den restlichen Därmen, deren warme Ischämiezeit immer unter 20 Minuten lag, nicht gezeigt werden (Koch et al. 2005)

Ein häufig beschriebenes Problem bei der Perfusion isolierter Dünndarmsegmente ist eine Hyperämie, die sich in ausgedehnten Nekrosen der Mukosa, einer gesteigerten

Mukussekretion in das Darmlumen sowie einer deutlich sichtbaren Hypermotilität äußern kann. Eine Erklärung hierfür ergibt sich aus der zwangsläufigen Denervierung des Darmes im Rahmen einer Perfusionsstudie, wodurch die sympathischen, noradrenergen Stimuli wegfallen, infolge derer es zu einem Überwiegen der intrinsischen parasympathischen Aktivität des Darmes kommt. Dieser Vorgang führt zu einer Vasodilatation, welche sich in unphysiologisch hohen Flussraten widerspiegelt und zu der bereits angesprochenen Hypersekretion und Hypermotilität führt. (Stangl et al. 2000; Windmüller und Spaeth 1974 und 1975, Windmueller et al. 1970). In der vorliegenden Studie wurde dem Perfusat bei ersten Anzeichen der oben beschriebenen Symptome Noradrenalin mittels Perfusor zugesetzt. Die zur Stabilisierung des Blutdruckes und zur Verhinderung von Hypermotilität und Hypersekretion nötige Menge Noradrenalin lag zwischen 0,1 und 0,4 µg/ min. Die von manchen Autoren beschriebene Umverteilung des Blutvolumens von Mucosa zu Muscularis (Majno et al. 1969; Levine und Jacobsen 1995) sowie Zunahme des Shuntvolumens in den Villi (Levine und Jacobsen 1995) bei Zugabe größerer Mengen Noradrenalin, konnte histologisch nicht belegt werden.

Glutamin, eine neutrale nichtessentielle Aminosäure, stellt das bevorzugte Nährsubstrat des Dünndarms dar und wird von den Enterozyten besonders in katabolen Stoffwechsellagen oxidativ im Citrat-Zyklus abgebaut (Windmüller und Spaeth. 1977 u. 1981; Frankel et al. 1993). In tierexperimentellen Studien konnte ein erhöhter Verbrauch von Glutamin durch die Darmmukosa sowie ein schützender Effekt auf die Darmschleimhaut durch erhöhtes Angebot von Glutamin gerade in kritischen Situationen gezeigt werden (Frankel et al. 1993, Lew et. al. 1996). Neuere Untersuchungen belegen zudem eine positive Auswirkung von Glutaminsubstitution auf die Ausprägung eines Ischämie-Reperfusionsschadens (Mondello et al. 2010). Aufgrund dieser mukosa-protektiven Eigenschaften wurde dem Darm nach 20 und 140 Minuten der Perfusion eine Glutamin enthaltende Lösung intraluminal zugeführt.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Hämodynamik

Aus den Regelgrößen venöser/arterieller Mitteldruck und dem Blutfluss errechnet sich der **Organwiderstand**. In den ersten 20 Minuten des hier vorliegenden Versuchs kommt es zu einem Absinken des Organwiderstandes im Median von anfänglichen 0,5 mmHg*min/ml/100g auf 0,32 mmHg*min/ml/100g. Ursache hierfür könnte die durch die warme Ischämie bedingte Vasokonstriktion sein (Jung et al. 2000), die aufgrund der Reoxygenierung und des Überwiegens der parasympathischen intrinsischen Aktivität des Darmes aufgrund der zentralen Denervierung in den ersten 20 Minuten mit einer Vasodilatation und einem deutlich messbaren Abfall des Organwiderstandes einhergeht. Im

Verlauf der weiteren Perfusion bleibt der Median des Widerstandes innerhalb einer Schwankungsbreite von 0,26-0,34 mmHg*min/ml/100g relativ konstant; es kommt zu keinem nennenswerten Anstieg des Widerstandes im Vergleich zur Höhe des Ausgangswertes. Darm 13 weist zu den Zeitpunkten 40, 60 und 80 Minuten deutlich höhere Widerstände von 1,24-1,31 mmHg*min/ml/100g auf, was den Rückschluss zulässt, dass es hier aufgrund einer ischämischen Stoffwechsellage zu einer Vasokonstriktion gekommen ist, die sich allerdings weder beim Sauerstoffverbrauch noch bei der histologischen Auswertung bestätigen lässt. Allerdings fällt in der histologischen Auswertung auf, dass es bei diesem Darm bereits in der Kontrollgruppe K prox und somit vor Perfusionsbeginn zu Einblutungen in die Mukosa gekommen ist. Infolge eines Blutverlustes kommt es reflektorisch zu einer Vasokonstriktion, was die wahrscheinlichste Erklärung für die erhöhten Organwiderstände darstellt. Die hier gemessenen Organwiderstände sind im Vergleich zu isoliert hämoperfundierte Nieren mit 0,45-0,7 mmHg*min/ml/100g (Große-Siestrup et al. 2002d) und Schweineextremitäten (porcine skin) mit 15,5-19,1 mmHg*min/ml/100g (Große-Siestrup et al. 2002e) niedrig, liegen jedoch deutlich über dem Organwiderstand von 0,11 mmHg*min/ml/100g; gemessen an narkotisierten Schweinen in den Mesentrialgefäßen (van Waegeningh 2004). Auf den Zusammenhang zwischen Sauerstoffverbrauch und Organwiderstand soll später eingegangen werden.

5.2.2 Hämatologie

Als indirekte **Hämatokrit**-Kontrolle dient während der Perfusion der alle 20 Minuten über das BGA-Gerät bestimmte Hämoglobinwert tHb. Bei einem Abfall oder Anstieg des tHb über oder unter den angestrebten Normwert von 10,1-14,7 g/dl kann korrigierend über die Justierung des venösen Blutflusses eingegriffen werden und so eine Hämodilution oder Hämokonzentration verhindert werden. Über den Perfusionszeitraum von 180 Minuten kommt es in der vorliegenden Studie zu einer leichten Hämokonzentration mit einem Anstieg des Hämatokrits um 0,04 l/l auf einen Median von 0,33 l/l zum Ende des Versuchs. Das entspricht einem Anstieg von 13,8%. Neben der Gerinnungshemmung, in vorliegender Arbeit über den Zusatz von Heparin erfolgt, ist bei hämoperfundierte Organen eine Dilution des Blutes nötig, um dessen Fließeigenschaften zu verbessern (Dittrich et al. 2000) und damit eine möglichst optimale Gewebepfusion zu erzielen (Nogueira et al. 1999). Der Normbereich des Hämatokrits liegt bei Schweinen bei 0,30-0,43 l/l (Nerbase 2008). Der Hämatokrit der perfundierte Därme liegt im Median zu Beginn des Versuches leicht darunter; nach 180 Minuten jedoch im Normbereich. Faktoren, die zu einem Anstieg des Hämatokrits führen können, sind die Verdunstung von freiem Wasser, der Verlust von freier Flüssigkeit bzw. eine gesteigerte Mukusekretion in das Darmlumen und eine Flüssigkeitsverschiebung über das Kapillar-Dialyse-Modul in das Dialysat (Stangl et al. 2000). Es ist anzunehmen, dass die moderate Hämokonzentration aus einem

Zusammenspiel aller drei Faktoren entstanden ist. Wei et al. (2009) beschreiben einen Abfall des Hämatokrits um 4,8% bezogen auf den Ausgangswert nach 45 Minuten bei der Perfusion von humanen Jejunumabschnitten. Stangl et al. (2000) stellen je nach Versuchsaufbau bei der Perfusion von isolierten Rattenjejunum einen Abfall von 1,8 bis 21% jeweils bezogen auf den Ausgangswert fest. Auch bei der Perfusion anderer Organe wie Lebern, Nieren oder Schweineextremitäten wird eher ein Hämatokritabfall als ein Anstieg beschrieben (Große-Siestrup et al. 2002b, c, d, e und 2004). Dieses könnte durch den Verlust von Erythrozyten in den semipermeablen Membranen der Kapillar-Dialyse-Filter bedingt sein (Unger et al. 2005) oder aber durch die Schädigung der Erythrozyten durch die Rollenpumpen, auf die im Folgenden genauer eingegangen wird. Ein signifikanter Anstieg ist im Gegensatz dazu beim **freien Hämoglobin** zu verzeichnen. Zu Beginn des Versuchs liegt der Median bei 7,5 mg/dl, nach 180 Minuten bereits bei 20,5 mg/dl, was einer fast dreifachen Erhöhung entspricht. Ursächlich hierfür sind die eingesetzten Rollenpumpen. Rollenpumpen schädigen die Erythrozyten durch mechanische Belastung und führen so eine Hämolyse herbei (Leverett et al. 1972, van der Hoeven et al. 1998, Benett et al. 2004). Eine mögliche Verringerung der Hämolyseraten könnte durch die Verwendung von Pulsatil- und Wechelpumpen erreicht werden, da Untersuchungen belegen, dass die Hämolyseraten bei dieser Pumpenart bis zu 60% niedriger sind als bei der Verwendung von Rollenpumpen (van der Hoeven et al. 1998). Darm 13 fällt auch hier wieder mit extrem hohen Werten zum Beginn und Ende des Versuchs auf. Aufgrund der bereits erwähnten Einblutungen in die Mukosa in der Kontrollgruppe K prox muss davon ausgegangen werden, dass es sich hierbei entweder um intra operativ entstandene Schäden handelt, oder, dass dieses Tier an einer nicht näher zu definierenden Krankheit (beispielsweise einer angeborenen Autoimmunkrankheit oder Gerinnungsstörung) litt, die jedoch prä mortal asymptomatisch blieb.

5.2.3 Funktionsparameter

Um die Integrität und Funktionalität des Darmes während der Perfusion zu beweisen, bedarf es geeigneter Vitalitätsparameter bzw. Funktionstests. Anhand des **Glukoseverbrauchs** und der **Glukoseresorption** aus dem Darmlumen kann eine Aussage über die Vitalität und Funktionalität des Darmes getroffen werden (Kavin et al. 1967).

Die Fähigkeit des auf den Mikrovilli vorhandenen Bürstensaumenzym Maltase, Disaccharide wie Maltose - bestehend aus zwei α 1-4 glykosidisch verknüpften Glukosemolekülen - zu spalten, setzt eine funktionstüchtige unbeschädigte Darmmukosa voraus (Billiar et al. 1984; Stangl et al. 2000).

Ein Glukoseanstieg im Blut nach intraluminaler Applikation von Maltose lässt daher die Schlussfolgerung zu, dass nicht nur eine ausreichende Energieversorgung stattfindet,

sondern auch die Bürstensaumzellen in der Mukosa intakt sind, da für ungespaltene Maltosemoleküle keine Möglichkeit der Aufnahme über die Darmschleimhaut gegeben ist (Stangl et al. 2000, Nichols et al. 2003). Ansteigende beziehungsweise abfallende Werte der **arteriovenösen Glukosedifferenz** zeigen eine Glukoseresorption beziehungsweise einen Glukoseverbrauch durch den Darm an. Positive Zahlenwerte weisen darauf hin, dass zum entsprechenden Zeitpunkt mehr Glukose verbraucht als resorbiert wird, eine Differenz von 0 weist darauf hin, daß der Verbrauch gleich der Resorption ist und ein negativer Zahlenwert zeigt an, dass mehr resorbiert als zum selben Zeitpunkt verbraucht wird. Jeweils 20 Minuten nach den Maltoseapplikationen (zu Beginn des Versuchs und nach 140 Minuten) zu den Zeitpunkten 20 und 160 Minuten kommt es zu einem signifikanten Abfall des Medians der Glukosedifferenz um 6,6 mg/dl/100g innerhalb der ersten 20 Minuten und 5,1 mg/dl/100g zwischen der 140. und 160. Minute. Hier überwiegt eindeutig die Resorption gegenüber dem Verbrauch. Im Verlauf der Perfusion kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Mediane bis sich der Median der Glukosedifferenz nach 80 Minuten mit 0,3 mg/dl/100g erstmals in einem positiven Zahlenwert äußert. Dieser Verlauf zeigt, dass der Darm bis über die 60. Minute hinaus mehr Glukose resorbiert als verbraucht hat. In der 80. Minute gleicht die Resorptionsrate in etwa dem Verbrauch an Glukose. Im weiteren Verlauf steigen die Mediane bis zur 140. Minute bis auf einen Wert von 1,7 mg/dl/100g an, was einen höheren Glukoseverbrauch im Vergleich zur Glukoseresorption widerspiegelt. Darm 12 musste aufgrund mangelnder Oxygenierung im Lauf des Versuchs auf ein neues Kapillar-Dialyse-Modul umgeschaltet werden. Dies hatte aufgrund von Dialysatverschiebungen eine Hämodilution zur Folge, die die extrem abfallenden Werte in der arteriovenösen Glukosedifferenz verursachte, denen damit jedoch die Aussagekraft fehlt. Stangl et al. (2000) verzeichneten bei Versuchen mit durch verschiedene Perfusatlösungen vasa perfundierte Rattendärme 30 Minuten nach intraluminaler Maltoseapplikation Glukoseanstiege im Perfusat von 10-66,8 mg/dl/100 g. Diese liegen somit deutlich über den hier beschriebenen Glukoseanstiegen beziehungsweise Differenzen. Eine Erklärung hierfür liegt zum einen in der Tatsache begründet, dass die Maltoselösung zusätzlich mit Glukoselösung versetzt wurde und zum anderen die arteriovenösen Differenzen nicht in die Berechnung mit gingen. Ein weiteres wichtiges Kriterium für die Vitalität des perfundierten Darmes ist der **Sauerstoffverbrauch** (von Baeyer et al. 1997; Nogueira et al. 1999; Große-Siestrup et al. 2002a, b, d, e). Der Median des berechneten Sauerstoffverbrauches steigt innerhalb der ersten 40 Minuten auf 88,7 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ an und fällt im Lauf des Versuches auf einen Wert von 69,2 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ ab. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass im ersten Drittel des Versuchs tendenziell mit steigendem Sauerstoffverbrauch der Organwiderstand abnimmt. Dieses resultiert aus der Tatsache, dass nach anfänglicher Ischämie Glukose wieder vermehrt aerob verstoffwechselt werden kann, wodurch das Angebot an ATP in den

Zellen steigt und die ATP-Asen das osmotische Gleichgewicht zwischen Intra- und Extrazellularraum wiederherstellen können. Dies wiederum führt zu einer Abnahme des entstandenen Zellödems, welches für die Einengung der Kapillaren verantwortlich ist und somit auch zu einem abnehmenden Organwiderstand. Darm 14, 15 und 16 erreichen ab der 40. Perfusionsminute Spitzenwerte von 252–291 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$, was sich in vergleichsweise geringen bis nicht vorhandenen Epithelschäden in der histologischen Untersuchung zeigt. Darm 1 weist zu den Zeitpunkten 100 und 120 Minuten Minimalwerte im Sauerstoffverbrauch von 13–18 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ auf, was ebenfalls mit den vergleichsweise schlechten histologischen Ergebnissen der Ödematisierung der Submukosa wie auch dem Grad der Epithelschädigung korreliert. In einer anderen Studie zu perfundierten Dünndarmsegmenten konnte ein Sauerstoffverbrauch von 152 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ in Rattendärmen gemessen werden (Stangl et al. 2000). Der Normwert des Sauerstoffverbrauches des Splanchnikusgebietes beträgt etwa 250 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$. Lautenschläger et al. (2010) erreichten in ihrer Studie mit perfundierten Rattendünndärmen fast dreifach so hohe Werte. Die in vorliegender Arbeit ermittelten Werte sind mit den Daten anderer Autoren vergleichbar.

Während der warmen Ischämie wird in den Zellen durch die weiterhin ablaufenden Stoffwechselprozesse mehr Energie verbraucht als erzeugt (Harvey et al. 1988). Der daraus resultierende Sauerstoff- und Glukosemangel betrifft vornehmlich die Na^+/K^+ -ATPase, da diese für ihre Funktion große Mengen an ATP verbraucht (Silver und Erecinska 1994). Die einzig verbleibende Möglichkeit für die Zellen, ATP zu produzieren, stellt die anaerobe Glykolyse dar, bei der **Laktat** entsteht. Die Mediane der Laktatwerte liegen während des gesamten Perfusionszeitraums zwischen 7,4 und 8,5 $\text{mg}/\text{dl}/100\text{g}$ und damit im physiologischen Normbereich für Schweine der verwendeten Altersklasse (Nerbase 2008). Eine vermehrt, durch mangelnde Oxygenierung, auftretende Laktatproduktion kann in vorliegender Studie nicht belegt werden.

5.2.4 Darmgewichtsuntersuchung

Als Folge einer Ischämie - entweder durch die kurzfristige Unterbindung der Gefäßversorgung bei Entnahme des Organs oder durch mangelnde Sauerstoffzufuhr während des Versuches verursacht - entstehen durch die anaerobe Stoffwechsellage und dem daraus resultierenden Absinken des pH-Wertes bei Reperfusion freie Sauerstoffradikale. Diese führen zur Schädigung von Gefäßendothelien, zu erhöhter vaskulärer Permeabilität und infolgedessen zu einer Ödematisierung des umliegenden Gewebes (Isselhard 1986; Seekamp und Waard 1993; van Griensven et al. 1999). Wenngleich der Darm in der Lage ist, sich einer verminderten Sauerstoffzufuhr anzupassen, indem er die Sauerstoff-Freisetzung aus Hämoglobin erhöht (Granger und Granger 1983; Granger und Nyhof 1982), kann es am Dünndarm zu einer Desquamation mit darauffolgender Ablösung des

Schleimhautepithels kommen, was einen kompletten Verlust der Darmfunktion zur Folge hat (Arthur 1988; Weixiong et al. 1994; Kong et al. 1998). Eine Ödembildung spiegelt sich unter anderem in einer Gewichtszunahme des Darmes nach erfolgter Perfusion wieder. Das Ausgangsgewicht der untersuchten Darmabschnitte (NGap) lag im Median bei 160,8 g. Nach Perfusionsende liegt das Gewicht der perfundierten Darmabschnitte (NGpp) mit einem Median von 292,7 g (was einer Gewichtszunahme von 82% entspricht) deutlich über der von de Lange et al. (1992) tolerierten Zunahme von 10%. Betrachtet man aber das Gewicht der perfundierten Darmabschnitte nach Abtrennung des Mesenteriums (NGpp-mes), so liegt das Gewicht mit einem Median von 121,5 g deutlich unter dem Ausgangsgewicht. Dieses Ergebnis zeigt, dass das Ödem sich vorwiegend im Mesenterium und nicht im perfundierten Darmabschnitt befindet. Die Tatsache, dass NGpp-mes niedriger ist als NGap resultiert aus dem - wenn auch geringen - Eigengewicht des Mesenteriums. Zur Verdeutlichung wurden aus den ermittelten Gewichten Differenzen errechnet. Differenz 1 (NGpp - NGap) mit einem Median von 146,1 g zeigt noch einmal die gesamte Gewichtszunahme des Organs durch die Perfusion. Der Median der Differenz 2 (NGpp - NGpp-mes) liegt bei 176,4 g und beziffert das Gewicht des makroskopisch sichtbar ödematisierten Mesenteriums, dessen physiologisches Gewicht etwa bei 30 g liegt. Darm 1 stellt mit seinem NGpp und der Diff 1 einen Extremwert dar, der auf die in vorliegender Versuchsreihe längste Ischämiezeit von 22 Minuten zurückzuführen sein könnte.

Die zwangsläufig bei isolierten Organperfusionen auftretende Ischämie mit daraus resultierender Ödembildung zeigt sich in vorliegender Studie vorwiegend im Mesenterium und nicht im Darm. Die Funktion des Darmes, insbesondere die Resorptionsleistung wird dadurch nicht behindert, was mit den nachfolgenden histologischen Befunden wie auch mit den Ergebnissen der Funktionstests korreliert.

5.2.5 Histologische Auswertung

5.2.5.1 Grad der Epithelschädigung

Die Mukosa des Dünndarms ist von essentieller Bedeutung, da sie eine Barriere zwischen dem mit Mikroorganismen besiedelten Lumen und dem Gefäßsystem darstellt. Durch Verletzung der Integrität des Mukosaepithels kann es zum Übertritt von Bakterien und Toxinen aus dem Darmlumen in den Blutkreislauf kommen, was zu einer schweren systemischen Infektion (Sepsis) führt (Wenzel 1993). Eine weitere wichtige Bedeutung kommt einerseits den in den Bürstensaumzellen lokalisierten Oligo- und Disaccharidasen zu, deren Aufgabe in der Aufspaltung von Maltose, Maltotriose und α -Dextrine zu Monosacchariden besteht sowie dem ebenfalls an den Bürstensaumzellen sitzenden Na^+ -Glukose-Cotransporter (SGLT 1), der die entstandenen Monosaccharide über einen sekundär aktiven Transport durch die Bürstensaummembran in die Epithelzellen befördert.

(Hediger und Rhoads 1994; Takata 1996; Crane et al. 1961). Die Unversehrtheit der Dünndarmmukosa inklusive der Epithelschicht mit Bürstensaum gilt als wichtiges Kriterium für eine gelungene Perfusion isolierter Darmsegmente sowie für deren Vitalität (Stangl et al. 2000, Plump et al. 1987).

Eine mukosale Schädigung zeigt sich histologisch mit einer beginnenden Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria (Grünhagen`sche Spalten) vorwiegend an den Villispitzen. Dies führt im weiteren Verlauf zu einer apikobasalen Destruktion der Villi und endet in einer kompletten Desintegration der Mukosa mit Denudation der Villi sowie Hämorrhagien in das Lumen (Chiu et al. 1970).

Während einer Ischämie wurde bereits in früheren Versuchsreihen eine Schädigung des Schleimhautepithels sowie des Schleimhautbindegewebes mit Einschränkung der mukosalen Barrierefunktion beobachtet (Illyés und Hamar 1992; Haglund 1994; Kong et al. 1998). Brown et al. (1990) wiesen in einem Perfusionsmodell des Rattendünndarms zwei Stunden nach erfolgter Reperfusion eine deutliche Schädigung der Mukosa nach. Auch humane Dünndärme zeigten bereits nach einer Stunde Reperfusion erhebliche mukosale Schäden (Sisley et al. 1994).

In der vorliegenden Studie lagen die Medianwerte bei allen drei, nach dreistündiger Perfusion entnommenen Darmproben (Vprox, Vmed, Vdist) bei Score 1, was einer beginnenden Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria (Grünhagen`sche Spalten) bei ansonsten intaktem Schleimhautepithel entspricht.

Die Struktur der Mikrovilli ist wie bei den Nativpräparaten vollständig erhalten. Die proximal und distal des Darmsegmentes entnommenen Proben, die keiner Perfusion unterzogen und intra operationem entnommen worden waren (Kprox, Kdist), dienen der Kontrolle. Die Medianwerte der beiden Kontrollproben liegen bei Score 0 und weisen somit keine Schädigung der Mukosa auf.

Darm 1 hat - wahrscheinlich aufgrund der bereits angesprochenen relativ langen Ischämiezeit - seine makroskopisch sichtbare Querfaltung verloren. In der histologischen Auswertung zeigte sich dies durch eine zum Teil komplette Zerstörung des Schleimhautepithels oder deutlich abgeflachte Mikrovilli, die jedoch teilweise wieder mit Epithel überzogen waren. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer Studie an humanen Jejunumabschnitten von Grootjans et al. (2012), bei der nach 120 Minuten Reperfusion ebenfalls eine Verkürzung der Mikrovilli bei teilweiser Wiederherstellung des Schleimhautepithels gezeigt werden konnte.

In der vorliegenden Versuchsreihe entsprechen die histologischen Befunde des Grades der Epithelschädigung vorwiegend einer allenfalls als geringgradig einzustufenden und somit vollständig reversiblen Schädigung der Dünndarmmukosa.

5.2.5.2 Grad der Ödematisierung

Vorangegangene Studien zur extrakorporalen Perfusion von Dünndarmabschnitten verschiedener Spezies fokussieren sich vorwiegend auf die histologische Begutachtung der Tunica mucosa. Über den Grad der Ödematisierung von Tunica serosa, Tunica muscularis und Tela submucosa sind vergleichsweise wenig auswertbare Daten vorhanden. Stangl et al. (2000) konnten nach zweistündiger Perfusion eines Rattenjejunums mit verschiedenen Perfusionsmedien nur bei einem Hämodilutionszusatz eine geringgradige ödematöse Auflockerung der Tunica serosa bzw. der Lamina propria serosae erkennen. Die anderen Dünndarmschichten waren ohne nennenswerte histologische Veränderungen. In einer Studie über die ischämische Präkonditionierung von Dünndarmtransplantaten bei Ratten zeigten sich nach einstündiger Reperfusion Ödeme in der Tunica muscularis (Wei et al. 2009). Bei Ferkeln konnte nach einstündiger Ischämie und zweistündiger Reperfusion Hämorrhagien und Ödeme in der Tela submucosa nachgewiesen werden (Papparella et al. 1997). Im Folgenden wird die Ödemausprägung der einzelnen Dünndarmschichten diskutiert.

Der Ödematisierungsgrad der **Tunica serosa** weist in beiden Kontrollgruppen (Kprox, Kdist), wie auch in den drei Versuchsgruppen (Vprox, Vmed, Vdist) einen Median von Score 1 auf, was einem geringgradig ausgeprägten Ödem, vorwiegend zwischen der Lamina propria serosa und der Tunica muskularis, entspricht. Da die Aufgabe der Tunica serosa bzw. des Mesothels in der Phago- und Pinozytose von Stoffen aus der Körperhöhle bzw. der Sekretion von Flüssigkeiten besteht, und keine Veränderung der Ödemausprägung nach Ablauf der Perfusion festzustellen ist, kann davon ausgegangen werden, dass die vorhandene Ödematisierung intra operationem stattgefunden hat und keine Beeinträchtigung der Darmfunktion darstellt. Dieses Ergebnis korreliert mit der Studie von Stangl, der die geringgradige Ödematisierung der Tunica serosa ebenfalls als bedeutungslos für die Qualität der vorangegangenen Perfusion einstuft (Stangl et al. 2000).

In der **Tunica muscularis** zeigt sich bei den Kontrollgruppen Kprox und Kdist ein Median der Ödemausprägung von Score 1; bei der Versuchsgruppe Vdist ebenfalls. Lediglich die Gruppen Vprox und Vmed weisen einen nach der Perfusion im Median geringeren Ödematisierungsgrad von Score 0,5 auf. Auch hier zeigt sich hinsichtlich der Ödembildung histologisch keine Verschlechterung durch die Darmperfusion. Die Ödeme zeigen sich ausschließlich perivaskulär rund um die sich zwischen dem Stratum circulare und Stratum longitudinale befindlichen Blut- und Lymphgefäße. Die ausgetretene Ödemflüssigkeit ist aller Wahrscheinlichkeit nach vorwiegend auf den Lymphstau zurückzuführen, da bei vorliegender Studie lediglich die Blut- nicht jedoch die Lymphgefäße kanüliert wurden. Bei einer Nutzung des hier vorgestellten Perfusionssystems, bei dem die Resorption von Lipiden bzw. lipophilen Stoffen aus dem Jejunum untersucht werden soll, müsste daher eine Kanülierung des Truncus intestinalis vorgenommen werden.

Die **Tela submucosa** weist in beiden Kontrollgruppen Kprox und Kdist einen Median des Ödematisierungsgrades von Score 1 auf. Die Versuchsgruppen Vprox und Vmed verzeichnen ebenfalls einen Median von Score 1, was einem geringgradigen interstitiellen Ödem entspricht. Die Gefäße erscheinen geringgradig gestaut. Vdist weist als einzige Gruppe mit einem Median von Score 1,25 eine geringgradig vermehrte Ödematisierung durch die Perfusion auf. Hämorrhagien, wie bei Papparell et al. (1997) beschrieben, zeigen sich in keinem der Präparate. Die Tatsache, dass die Tela submucosa ähnlich der Tunica muscularis reich an Blut- und Lymphgefäßen ist, lässt vermuten, dass die Ödemflüssigkeit vorwiegend aus den nicht kanülierten und somit gestauten Lymphgefäßen ausgetreten ist. Zu beachten ist zudem, dass auf die Tela submucosa und die Tunica mucosa 90% der gesamten Dünndarmurchblutung entfallen, sodass ein eventueller Austritt von Flüssigkeit aus den geringgradig gestauten Blutgefäßen am ehesten in einer dieser beiden Schichten zu erwarten ist (Takata 1996).

Auch hier kann davon ausgegangen werden, dass die Ödematisierung bereits intra operationem stattgefunden hat und für die Funktion des perfundierten Dünndarmabschnittes nicht von Bedeutung ist.

Der Median des Grades der Ödematisierung der **Tunica mucosa** liegt bei der Kontrollgruppe Kprox bei Score 0,5, was einer geringen bis nicht vorhandenen Ödematisierung der Darmschleimhaut entspricht. Bei der Kontrollgruppe Kdist liegt der Median bei 0, was einer nicht vorhandenen Ödematisierung der entsprechenden Darmschicht vor dem Versuchsbeginn entspricht (Score 0). Nach Versuchsende zeigt sich bei den Versuchsgruppen Vprox und Vmed ein Median, der einem Ödematisierungsgrad zwischen Score 1 und Score 0 entspricht. Der Median der Versuchsgruppe Vdist liegt beim Score 0 (kein Ödem). Es lässt sich somit keine vermehrte Ödemausbildung in der Darmschleimhaut nach Ablauf des Versuchs erkennen. In der histologischen Auswertung zeigt sich die teilweise vorhandene Ödematisierung vor und nach der Perfusion vorwiegend im interstitiellen Bindegewebe der Lamina propria mucosae. Die Gefäße in den Zottenspitzen erscheinen teilweise gestaut. Da die Tunica mucosa von einem engmaschigen Kapillarnetz und von zahlreichen Lymphgefäßen durchzogen ist, kann auch hier davon ausgegangen werden, dass ein Flüssigkeitsaustritt zum einen aus den geringgradig gestauten Kapillaren (Takala 1996) sowie aus den nicht kanülierten und daher gestauten Lymphgefäßen erfolgte. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit korrelieren ebenfalls mit den Studien von Chiu et. al 1970. Demnach muss dem Beginn der Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria (Grünhagen'sche Spalten) nicht zwangsläufig eine Stauung der Kapillaren in Verbindung mit einem interstitiellen Ödem vorangehen. Die nur teilweise und allenfalls geringgradig vorhandene Ödembildung in der Tunica mucosa hat zum einen bereits intra

operationem stattgefunden, zum anderen scheint sie keinen nennenswerten Einfluss auf die Funktionstüchtigkeit der Darmschleimhaut zu haben.

Zum Abschluss lässt sich sagen, dass der vorhandene Organperfusionsaufbau erfolgreich an die normotherm isolierte Hämoperfusion von Jejunumabschnitten des Schweins angepasst werden konnte. Es ist gelungen, 16 Därme über einen Zeitraum von 180 Minuten zu perfundieren und anhand der ermittelten Blutergebnisse sowie der histologischen Auswertung, den Beweis der Vitalität der Darmabschnitte zu erbringen. Die möglichst schonende Gewinnung der Darmabschnitte sollte mit dem Ziel verbessert werden, diese Organe von einem Schlachthof beziehen zu können und somit zur Einsparung von Tierversuchen beizutragen. Das hier beschriebene Modell stellt einerseits eine vielversprechende Möglichkeit für weitere Resorptionsuntersuchungen mit physiologischen, pharmakologischen und toxikologischen Fragestellungen dar; ferner auch in Bezug auf Fragestellungen zum Ischämie-Reperfusionsschaden in der Transplantationsmedizin.

6 Zusammenfassung

Als Ergänzungsmethode zum Tierversuch ist die isolierte Organperfusion ein wichtiges Modell, um im Bereich der Grundlagenforschung, der Toxikologie und Pharmakologie sowie in der Transplantationsmedizin verschiedenste Fragestellungen in vitro untersuchen zu können. Der Darm, als ein Hauptorgan zur Aufnahme körperfremder Substanzen, ist mit seinen komplexen Resorptionsvorgängen wie auch seiner Beteiligung an einer Sepsis, aufgrund seiner Anfälligkeit bezüglich eines Ischämie-Reperfusionsschadens, ein bedeutendes Forschungsobjekt. Um physiologische und pathologische Mechanismen am Darm singular untersuchen zu können, wurde in vorliegender Arbeit eine etablierte Perfusionsapparatur für die isolierte Darmperfusion modifiziert und standardisiert. Ziel der Studie war eine dreistündige Perfusion der Darmabschnitte, möglichst ohne Funktionsverlust und histologisch erkennbaren Schaden. Für vorliegende Studie wurde 16 narkotisierten Schweinen ein jeweils 150 cm langes, proximal gelegenes Stück Jejunum entnommen und an ein extrakorporales Kreislaufsystem angeschlossen. Die Zeit der warmen Ischämie wurde mit $12,9 \pm 3,6$ Minuten möglichst kurz gehalten. Als Perfusionsmedium diente autologes Blut. Im Anschluss an die Organentnahme wurden die Tiere mittels Blutentzug getötet.

Das perfundierte Blut war einem ständigen Gasaustausch sowie einer Dialyse unterworfen. Zudem wurde aufgrund der zentralen Denervierung des Darms kontinuierlich eine geringe Menge Noradrenalin mittels Perfusor zugefügt. Die hämodynamischen Parameter konnten permanent abgelesen werden und wurden alle 20 Minuten aufgezeichnet. Der Darm wurde vor und nach der Perfusion gewogen, nach der Perfusion einmal mit und einmal ohne Mesenterium. Nach Beendigung des Versuchs wurden jeweils aus dem proximalen, mittleren und distalen Abschnitt des Jejunums Gewebeproben entnommen (V prox, Vmed, Vdist). Die daraus angefertigten histologischen Schnitte wurden mit zuvor entnommenen Nativgewebeproben (Kprox, Kdist) des nicht perfundierten Jejunums desselben Tieres verglichen. Histologisch beurteilt wurden die Ödematisierung der einzelnen Darmschichten sowie die Integrität der Mukosa. Bei der statistischen Auswertung kam der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test als nichtparametrischer Test für zwei verbundene Stichproben zum Einsatz.

Der Organwiderstand fiel von seinem anfänglich hohen Wert im Median von 0,5 mmHg/ml/100g auf einen Median von 0,26 – 0,34 mmHg/ml/100g im Lauf des Versuches ab. Dies korrelierte mit dem Sauerstoffverbrauch, der tendenziell in den ersten 40 Minuten des Versuches auf einen Median von 88,7 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ anstieg; bei gleichzeitig abnehmendem Organwiderstand. Einzelne Därme erreichten Spitzenwerte von 252 – 291 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$, was sich auch in den Ergebnissen der histologischen Untersuchung in Form einer nahezu unbeschädigten Mukosa widerspiegelte. Die Integrität und Funktionalität der

Darmmukosa zeigte sich auch anhand der beiden signifikanten Anstiege der Glukose-resorption nach Applikation der Maltoselösung und korrelierte mit den histologischen Ergebnissen der perfundierten Därme (Vprox, Vmed, Vdist). Diese zeigten im Vergleich zu den Kontrollgruppen (Kprox, Kdist) ohne Schädigung der Mukosa (Score 0) nur eine minimale Abhebung des Schleimhautepithels von der Lamina propria bei intaktem Mikrovillisaum (Score 1). Die Mediane der Laktatwerte lagen während des gesamten Versuchsablaufes bei Werten zwischen 7,4 und 8,5 mg/dl/100g und spiegelten zusammen mit dem Sauerstoff- und Glukoseverbrauch ebenfalls die Vitalität des Organs wider. Die Gewichtuntersuchungen ergaben, dass sich das aus dem Versuch resultierende Ödem vorwiegend im Mesenterium befand (Mediane: Nettogewicht ante perfusionem 160,8 g, Nettogewicht post perfusionem 292,7 g, Nettogewicht post perfusionem nach Abtrennung des Mesentriums 121,5 g). Dies spiegelten auch die histologischen Untersuchungen wider, wobei die Ödematisierung der Serosa in den Kontrollgruppen (Kprox, Kdist) wie auch in den Versuchsgruppen (Vprox, Vmed, Vdist) im Median einem geringgradigen Ödem entsprach (Score1) und bereits intraoperativ entstanden war. Die Tunica muscularis wies nach Beendigung des Versuches in den Gruppen Vmed und Vprox sogar eine geringere Ödematisierung auf (Median Score 0,5) als in den beiden Kontrollgruppen Kprox und Kdist (Median Score 1). Auch der Ödematisierungsgrad des Tela submucosa war ausschließlich in der Vdist Gruppe mit einem Median von Score 1,25 gegenüber den Kontrollgruppen Kprox und Kdist mit einem Median von Score 1 erhöht und stand somit ebenfalls nicht im Zusammenhang mit der durchgeführten Perfusion. Da die Ödeme ausschließlich perivaskulär auftraten, ist anzunehmen, dass die Ödemflüssigkeit vornehmlich aus den nicht kanülierten Lymphgefäßen ausgetreten war. Die Tunica mucosa zeigte bei den Kontrollgruppen Kprox und Kdist eine Ödemausprägung im Median von Score 0 und Score 0,5, die sich während der Perfusion ebenfalls nicht verschlechterte (Mediane: Vprox Score 0, Vmed Score 0, Vdist Score 0,5). Das hier etablierte, isoliert hämoperfundierte Jejunummodell stellt eine vielversprechende Basis für eine Vielzahl weiterer Untersuchungen zu intestinalen Resorptionsvorgängen sowie für Fragestellungen zum Ischämie-Reperfusionsschaden insbesondere in der Transplantationsmedizin dar.

7 Summary

Standardisation of a normothermic hemoperfusion circulation for the maintenance of vitality of a porcine jejunum preparation as a basis for further research of resorption processes

The isolated organ perfusion is an important method to support in vitro investigations regarding fundamental research, toxicology and pharmacology as well as transplantation when looking for a supplemental procedure to bioassays. Being the main organ of the body to absorb foreign substances, the intestine becomes an important research object.

Besides being the site of complex resorption procedures, it is also involved in sepsis due to its vulnerability in terms of an ischemia - reperfusion injury.

In order to study unique physiological and pathological mechanisms of the intestine an established perfusion equipment has been modified and standardised for this study. The aim of the study was a three-hour perfusion of intestinal segments as possible without loss of function and histologically visible damage.

For the present study, from 16 anesthetized pigs sections of its proximal jejunum of 150 cm length were extracted and connected to an extracorporeal circulatory system. The period of warm ischemia was kept as short as possible with 12.9 ± 3.6 minutes. Blood was used as autologous perfusion medium. The animals were sacrificed by exsanguination immediately following organ removal.

Due to the central denervation of the intestine small amounts of norepinephrine were added continuously with a syringe pump. The hemodynamic parameters could be read continuously and were recorded every 20 minutes. The intestine was weighed before and after the perfusion period; the post weighing was done with and without mesenterium. After termination of the experiment tissue samples from the proximal, middle and distal section of the jejunum (V_{prox} , V_{med} , V_{dist}) were taken for histological evaluation.

These were compared to native tissue samples of the jejunum (K_{prox} , K_{dist}) of the same animal which had not been perfused and were taken beforehand. Histological evaluation was performed regarding edemas of the intestine sections as well as the integrity of mucosa. To achieve statistic data, Wilcoxon test as non-parametrical method was chosen for two related random samples.

The organ resistance declined from its initially high value at a median of 0.5 mmHg/ml/100g to a median value with ranges from 0.26 to 0.34 mmHg/ml/100g in the course of the experiment. This was correlated to oxygen consumption which in tendency increased within the first 40 minutes of the experiment to a median of 88,7 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ with decreasing organ resistance at the same time. Individual intestines reached peak values of 252 - 291 $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ which was reflected in form of an almost undamaged mucosa in the results of

the histological evaluation. The integrity and functionality of the intestine mucosa also showed up in the two significant increases of the glucose absorption after an application of the maltose solution and correlates to the histological results of the perfused intestines (Vprox, Vmed, Vdist) which in comparison to the control groups (Kprox, Kdist) - without damage of the mucosa (Score 0) - only showed a minimal lifting of the mucosa epithelium from the lamina propria, by intact brushborder (Score 1). During the course of the essay the median of the lactate values ranged between 7,4 und 8,5 mg/dl/100g. In combination with the consumption of oxygen and glucose these values do also mirror the vitality of the organs. The weight examinations showed that the resulting edema was located predominantly in the mesentery (median: net weight ante perfusionem 160,8 g, net weight post perfusionem 292,7 g, net weight post perfusionem after separation of the mesentery 121,5 g). This was also reflected in the histological studies where it was found that the formation of edema of the serosa in the control groups (Kprox, Kdist) as well as in the experimental groups (Vprox, Vmed, Vdist) in median corresponded to a low level edema (score 1) and had already occurred intraoperatively. After termination of the experiment the tunica muscularis in the groups Vmed and Vprox showed an even lower formation of edema (median score 0,5) than the two control groups Kprox and Kdist (median score 2).

In addition the level of edema formation of the tela submucosa was exclusively increased in the group Vdist with a median score of 1,25 in opposition to the control groups Kprox and Kdist with a median score of 1; hence this also showed no conjunction to the executed perfusion. Since edemas occur solely perivascular it can be assumed that the fluidity of the edema especially has leaked from the non cannulated lymphatic vessels. In the control groups Kprox and Kdist, the tunica mucosa showed an edema with a median score of 0 and 0,5 and did not deteriorate because of the perfusion (Mediane: Vprox Score 0, Vmed Score 0, Vdist Score 0,5). The haemoperfused jejunum-modell established hereby is a promising basis for further research regarding intestinal resorption procedures as well as for questions concerning ischaemia- reperfusion damage particularly in terms of organ transplantation.

8 Literaturverzeichnis

Agar, W. T., Hird, F. J., Sidhu, G. S. (1953):

The active absorption of amino-acids by the intestine.
J Physiol 121(2): 255-263.

Arthur, M. J. (1988):

Reactive oxygen intermediates and liver injury.
J Hepatol 6(1): 125-31.

Bach Knudsen, K. E. (2011):

Triennial Growth Symposium: effects of polymeric carbohydrates on growth and development in pigs.
J Anim Sci 89(7): 1965-1980.

Baldissera, F. G., Nielsen, O. V., Holst, J. J. (1985):

The intestinal mucosa preferentially releases somatostatin-28 in pigs.
Regul Pept 11(3): 251-262.

Barie, P. S., Mullins, R. J. (1988):

Experimental methods in the pathogenesis of limb ischemia.
J Surg Res 44(3): 284-307.

Bennett, M., Horton, S., Thuys, C., Augustin, S., Rosenberg, M., Brizard, C. (2004):

Pump-induced haemolysis: a comparison of short-term ventricular assist devices
Perfusion 19(2): 107-111

Billiar, T. R., Garberoglio, C., Schraut, W. H. (1984):

Maltose absorption as an indicator of small-intestinal allograft rejection.
J Surg Res 37(1): 75-82.

BMELV, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (2005 und 2011) :

Tierschutzbericht 2005 und Tierschutzbericht 2011
URL : www.bmelv.de

Braun, F., Hosseini, M., Wieland, E., Sattler, B., Laabs, S., Lorf, T., Müller, A. R., Fändrich, F., Kremer, B., Ringe, B. (2004):

Expression of E-selectin and its transcripts during intestinal ischemia-reperfusion injury in pigs.
Transplant Proc 36(2): 265-266.

Brown, M. F., Ross, A. J., 3rd, Dasher, J., Turley, D. L., Ziegler, M. M., O'Neill, J. A. Jr. (1990):

The role of leukocytes in mediating mucosal injury of intestinal ischemia/reperfusion.
J Pediatr Surg 25(2): 214-217.

Burger, R. M., Berkowitz, A. R., Peisach, J., Horwitz, S. B. (1980):
Origin of Malodialdehyde from DNA degraded by Fe(II) x belomycin.
J. Biol. Chem 255: 11832-11838.

Burrell, M. M. (2003):
Starch: the need for improved quality or quantity--an overview.
J Exp Bot 54(382): 451-456.

Carden, D. L., Granger, D. N. (2000):
Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury.
J Pathol 190(3): 255-266.

Chiu, C. J., McArdle, A. H., Brown, R., Scott, H. J., Gurd, F. N. (1970):
Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal.
Arch Surg 101(4): 478-483.

Coppen, D. E., Davies, N. T. (1988):
Glucose uptake and iron absorption by an isolated, vascularly and luminally perfused preparation of rat small intestine.
Q J Exp Physiol 73(4): 595-608.

Crane, R. K. (1961):
An effect of alloxan-diabetes on the active transport of sugars by rat small intestine, in vitro.
Biochem Biophys Res Commun 4: 436-440.

Danielsen, E. M., Sjöström, H., Noren, O. (1983):
Biosynthesis of intestinal microvillar proteins. Pulse-chase labelling studies on maltase-glucoamylase, aminopeptidase A and dipeptidyl peptidase IV.
Biochem J 210(2): 389-393.

Darlington, W. A., Quastel, J. H. (1953):
Absorption of sugars from isolated surviving intestine.
Arch Biochem Biophys 43(1): 194-207.

de Lange, J., van Eck, P., Elliott, G. R., de Kort, W. L., Wolthuis, O. L. (1992)
The isolated blood-perfused pig ear: an inexpensive and animal-saving model for skin penetration studies.
J Pharmacol Toxicol Methods. 27(2): 71-7

Dittrich, S., Schuth, A., Aurich, H., von Loeper, J., Grosse-Siestrup, C., Lange, P.E. (2000):
Haemodilution improves organ function during normothermic cardiopulmonary bypass: investigations in isolated perfused pig kidneys
Perfusion 15(3): 225-229

Dubois, R. S., Vaughan, G. D., Roy, C. C. (1968):
Isolated rat small intestine with intact circulation.
In: Organ perfusion and preservation. J. C. Ed Norman
Appelton-Century Crofts, New York: 863-875.

Emmerich, I. U. (2000):

Neue Aspekte zur Sicherheitsbewertung von Arzneimittelrückständen - Der Einfluß von Verdauungsprozessen auf ihre chemische Struktur und Bioverfügbarkeit
Med. Vet. Diss. Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Fisher, R. B., Parsons, D. S. (1949):

A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption.
J Physiol 110(1-2): 36-46, pl.

Frankel, W. L., Zhang, W., Afonso, J., Klurfeld, D. M., Don, S. H., Laitin, E., Deaton, D., Furth, E. E., Pietra, G. G., Naji, A., Rombeau, J. L. (1993):

Glutamine enhancement of structure and function in transplanted small intestine in the rat.
JPEN J Parenter Enteral Nutr 17(1): 47-55.

Granger, D. N., Granger, H. J. (1983):

Systems analysis of intestinal hemodynamics and oxygenation.
Am J Physiol 245(6): G786-796.

Granger, H. J., Nyhof, R. A. (1982):

Dynamics of intestinal oxygenation: interactions between oxygen supply and uptake.
Am J Physiol 243(2): G91-96.

Grootjans, J., Hameeteman, W., Masclee, A. A., van Dam, R. M., Buurman, W. A. Dejong, C. H. (2012):

Real-time in vivo imaging of early mucosal changes during ischemia-reperfusion in human jejunum
PLoS One 7(6): e39638

Grosse-Siestrup, C. (1993):

Funktionserhaltende warme Hämoperfusion von isolierten Organen
Tierlaboratorium Bd. 16, Hrsgb. Zentrales Tierlaboratorium, Freie Universität Berlin

Grosse-Siestrup, C., Fehrenberg, C., von Baeyer, H., Groneberg, D. A. (2002a):

Multiple-organ harvesting for models of isolated hemoperfused organs of slaughtered pigs.
Altex 19(1): 9-13.

Grosse-Siestrup, C., Nagel, S., Unger, V., Meissler, M., Pfeffer, J., Fischer, A., Groneberg, D. A. (2002b):

The isolated perfused liver. a new model using autologous blood and porcine slaughterhouse organs.
J Pharmacol Toxicol Methods 46(3): 163-168.

Grosse-Siestrup, C., Pfeffer, J., Unger, V., Nagel, S., Witt, C., Fischer, A., Groneberg, D. A. (2002c):

Isolated hemoperfused slaughterhouse livers as a valid model to study hepatotoxicity.
Toxicol Pathol 30(6): 749-754.

Grosse-Siestrup, C., Unger, V., Fehrenberg, C., von Baeyer, H., Fischer, A., Schaper, F., Groneberg, D. A. (2002d):

A model of isolated autologously hemoperfused porcine slaughterhouse kidneys.
Nephron 92(2): 414-421.

Grosse-Siestrup, C., Unger, V., Meissler, M., Nagel, S., Wussow, A., Peiser, C., Fischer, A., Schmitt, R., Groneberg, D. A. (2003):

Hemoperfused isolated porcine slaughterhouse kidneys as a valid model for pharmacological studies.
J Pharm Sci 92(6): 1147-1154.

Grosse-Siestrup, C., Unger, V., Pfeffer, J., Dinh, Q.T., Nagel, S., Springer, J., Witt, C., Wussow, A., Groneberg, D. A. (2004):

Hepatotoxic effects of polidocanol in a model of autologously perfused porcine livers.
Arch Toxicol 78(12): 697-705.

Grosse-Siestrup, C., Wiemer, P.M., Fischer, T.C., Fehrenberg, C., Unger, V., Fischer, A., Groneberg, D. A. (2002e):

Isolated hemoperfused porcine skin as a valid model to assess percutaneous absorption
J Invest Dermatol 119(1): 197-199

Günther, S., Heymann, H. (1998):

Di- and oligosaccharide substrate specificities and subsite binding energies of pig intestinal glucoamylase-maltase.
Arch Biochem Biophys 354(1): 111-116.

Haberich, F. J., Herzer, R., Aziz, O., Dennhardt, R. (1968):

Intestinal resorption and secretion study. I. Technic of extracorporeal perfusion of a temporarily isolated intestinal segment in the unanesthetized rat.
Z Gesamte Exp Med 148(3): 223-237.

Haglund, U. (1994):

Gut ischaemia.
Gut 35(1 Suppl): S73-76.

Hanson, P. J., Parsons, S. (1977):

Metabolism and transport of glutamine and glucose in vascularly perfused small intestine rat.
Biochem J 166(3): 509-519.

Harvey, P. R., Iu, S., McKeown, C. M., Petrunka, C. N., Ilson, R. G., Strasberg, S. M. (1988):

Adenine nucleotide tissue concentrations and liver allograft viability after cold preservation and warm ischemia.
Transplantation 45(6): 1016-1020.

Hediger, M. A., Rhoads, D. B (1994):

Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters.
Physiol Rev 74(4): 993-1026.

Höchel, J., Lehmann, D., Fehrenberg, C., Unger, V., Groneberg, D. A., Grosse-Siestrup, C. (2003):

Effects of different perfusates on functional parameters of isolated perfused dog kidneys.
Nephrol Dial Transplant 18(9): 1748-1754.

Hohenleitner, F. J., Senior, J. R. (1969):

Metabolism of canine small intestine vascularly perfused in vitro.
J Appl Physiol 26(1): 119-128.

Holst, J. J., Lauritsen, K., Jensen, S. L., Nielsen, O. V., Schaffalitzky de Muckadell, O. B. (1981):

Secretin release from the isolated, vascularly perfused pig duodenum.
J Physiol 318: 327-337.

Holzer, P., Lembeck, F. (1979):

Effect of neuropeptides on the efficiency of the peristaltic reflex.
Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 307(3): 257-264.

Hoover, R. L., Robinson, J. M., Karnovsky, M. J. (1987):

Adhesion of polymorphonuclear leukocytes to endothelium enhances the efficiency of detoxification of oxygen-free radicals.
Am J Pathol 126(2): 258-268.

Hosseini, S. M. (2002):

Differentielle Genexpression während Ischämie und Reperfusion im Modell der extrakorporalen Dünndarmperfusion am Schwein
Rer. Nat. Diss. Göttingen, Georg-August-Universität

Hutchison, J. D., Undrill, V. J., Porteous, J. W. (1991):

The vascularly and lumenally perfused small intestine in vitro: dissection technique and model system.
Lab Anim 25(2): 168-183.

Illyes, G., Hamar, J. (1992):

Sequence of morphological alterations in a small intestinal ischaemia/reperfusion model of the anesthetized rat. A light microscopy study.
Int J Exp Pathol 73(2): 161-172.

Isselhard, W. (1986):

Organkonservierung: Grundlagen, Entwicklungen, Perspektiven.
In: Stand und Gegenstand Chirurgischer Forschung, F.W. Eigler, H.J. Peiper
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 171 – 187.

Johnson, L. (1972):

Propulsive motility and intraluminal pressure variations in isolated, homologously perfused small intestine.
Acta Chir Scand 138(8): 834-843.

Jung, M., Drapier, J. C., Renia, L., Olivera, L., Wang, A., Berger, H. G., Nussler, A. K. (2000):

Effects of intracellular iron imbalance on nitric oxide and reactive oxygen intermediates in a model of sepsis

J. Hepatol. 33: 387-394.

Kamusella, P. C., Wissgott, C., Grosse-Siestrup, C., Dittrich, S., Hegemann, O., Koios, D., von Massenbach, J., Meissler, M., Unger, V., Quarcoo, D., Groneberg, D. A. (2009):

A model of isolated, autologously hemoperfused porcine slaughterhouse lungs.

Altex 26(4): 279-284.

Kavin, H., Levin, N. W., Stanley, M. M. (1967):

Isolated perfused rat small bowel--technic, studies of viability, glucose absorption.

J Appl Physiol 22(3): 604-611.

Kelly, J. J., Alpers, D. H. (1973):

Properties of human intestinal glucoamylase.

Biochim Biophys Acta 315(1): 113-122.

Kietzmann, M., Löscher, W. (1993):

The use of the organs of slaughtered animals for the testing of drugs: suitability of the bovine udder for the study of substances active through the skin.

Dtsch Tierarztl Wochenschr 100(2): 54-57.

Kietzmann, M., Löscher, W., Arens, D., Maass, P., Lubach, D. (1993):

The isolated perfused bovine udder as an in vitro model of percutaneous drug absorption.

Skin viability and percutaneous absorption of dexamethasone, benzoyl peroxide, and etofenamate.

J Pharmacol Toxicol Methods 30(2): 75-84.

Kitazawa, S., Ishizu, M., Arakawa, E. (1976):

Effects of perfusate constituents on transmucosal fluid movement and drug absorption in rat small intestine.

Chem Pharm Bull (Tokyo) 24(12): 3169-3177.

Koch, N., Grosse-Siestrup, C., Rudolph, R., Meissler, M., Unger, V. (2005)

Standardisierung eines normothermen Perfusionskreislaufes zur Vitalerhaltung eines Jejunumpräparates des Schweins.

Poster, ausgehängt in der Tierexperimentellen Einrichtung, Charité, Campus Virchow Klinikum 2005-2015

Kong, S. E., Blennerhassett, L.R., Heel, K.A., McCauley, R.D., Hall, J.C. (1998):

Ischaemia-reperfusion injury to the intestine.

Aust N Z J Surg 68(8): 554-561.

Kristian, T., Siesjö, B.K. (1998):

Calcium in ischemic cell death.

Stroke 29(3): 705-718.

Lautenschläger, I., Dombrowsky, H., Frerichs, I., Kuchenbecker, S. C., Bade, S., Schultz, H., Zabel, P., Scholz, J., Weiler, N., Uhlig, S. (2010):
A model of the isolated perfused rat small intestine.
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 298(2): G304-313.

Lennernäs, H. (2007):
Intestinal permeability and its relevance for absorption and elimination.
Xenobiotica 37(10-11): 1015-1051.

Leverett, L. B., Hellums, J.D., Alfrey, C.P., Lynch, E.C. (1972):
Red blood cell damage by shear stress.
Biophys J 12(3): 257-273.

Levine, J. S., Jacobson, E.D. (1995):
Intestinal ischemic disorders.
Dig Dis 13(1): 3-24.

Levitt, M. D., Fetzer, C. A., Kneip, J. M., Bond, J. H., Levitt, D. G. (1987):
Quantitative assessment of luminal stirring in the perfused small intestine of the rat.
Am J Physiol 252(3 Pt 1): G325-332.

Lew, J. I., Zhang, W., Koide, S., Smith, R. J., Rombeau, J. L. (1996):
Glutamine improves cold-preserved small bowel graft structure and function following ischemia and reperfusion.
Transplant Proc 28(5): 2605-2606.

Liao, Y. F., Zhu, W., Li, D. P., Zhu, X. (2013):
Heme oxygenase-1 and gut ischemia/reperfusion injury: A short review.
World J Gastroenterol 19 (23): 3555-3561.

Liebich, H. G. (2004):
Verdauungsapparat (Apparatus digestorius)
In: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis.
4. Aufl., Schattauer GmbH, Stuttgart, 2004: 187-236

Lloris Carsi, J. M., Cejalvo Lapena, D., Toledo, A. H., Zaragoza Fernandez, C., Toledo Pereyra, L. H. (2013):
Pentoxifylline protects the small intestine after severe ischemia and reperfusion
Exp Clin Transplant 11(3): 250-258.

Majno, G., Shea, S. M., Leventhal, M. (1969):
Endothelial contraction induced by histamine-type mediators: an electron microscopic study.
J Cell Biol 42(3): 647-672.

Martin, D. R., Scott, D. F., Downes, G. L., Belzer, F. O. (1972):
Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system.
Ann Surg 175(1): 111-117.

Metzler-Zebeli, B. U., Hooda, S., Mosenthin, R., Gänzle, M. G., Zijlstra, R. T. (2010):
Bacterial fermentation affects net mineral flux in the large intestine of pigs fed diets with viscous and fermentable nonstarch polysaccharides.
J Anim Sci 88(10): 3351-3362.

Miyazaki, K., Sunada, K., Iseki, K., Arita, T. (1986):
Simultaneous vascular and luminal perfusion of rat small intestine.
Chem Pharm Bull (Tokyo) 34(9): 3830-3835.

Modersohn, D., Eddicks, S., Grosse-Siestrup, C., Ast, I., Holinski, S., Konertz, W. (2001):
Isolated hemoperfused heart model of slaughterhouse pigs.
Int J Artif Organs 24(4): 215-221.

Mondello, S., Galuppo, M., Mazzon, E., Domenico, I., Mondello, P., Carmela, A., Cuzzocrea, S. (2010):
Glutamine treatment attenuates the development of ischaemia/reperfusion injury of the gut.
Eur J Pharmacol 643(2-3): 304-315.

Moughan, P. J., Birtles, M. J., Cranwell, P. D., Smith, W. C., Pedraza, M. (1992):
The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milk-fed human infants.
World Rev Nutr Diet 67: 40-113.

Müller, A. R., Pascher, A., Platz, K. P., Neuhaus, P. (2003):
Small bowel transplantation - current status and initial results.
Zentralbl Chir 128(10): 849-855.

Nagel, S., Hegemann, O., Groneberg, D. A., Grosse-Siestrup, C. (2005):
An improved model of isolated hemoperfused porcine livers using pneumatically driven pulsating blood pumps.
Toxicol Pathol 33(4): 434-440.

Nerbas, E. (2008):
Aktualisierung von Blutparametern beim Schwein
Med. Vet. Diss. Hannover, Tierärztliche Hochschule

Nichols, B. L., Avery, S., Swallow, D. M., Hahn, D., Sterchi, E. (2003):
The maltase-glucoamylase gene: common ancestry to sucrase-isomaltase with complementary starch digestion activities.
Proc Natl Acad Sci USA 100(3): 1432-1437.

Nogueira, A. C., Wagner, S., Riebeling, I. I., Klug, S. (1999):
The isolated normothermic hemoperfused porcine leg as model for pharmacological and toxicological investigations.
Altex 16(2): 90-94.

Öhnell, R. (1939)
The artificially perfused mammalian intestine as a useful preparation for studying intestinal absorption
J. Cell Comp. Physiol. 13, 155-158.

Oner, S., Ercan, F., Arbak, S. (2004):

Time-dependent morphological alterations of cold-stored small bowel in Euro-Collins and Ringer's lactate solutions.
Acta Histochem 106(3): 207-217.

Papparella, A., DeLuca, F. G., Oyer, C. E., Pinar, H., Stonestreet, B. S. (1997):

Ischemia-reperfusion injury in the intestines of newborn pigs.
Pediatr Res 42(2): 180-188.

Petrat, F., Boengler, K., Schulz, R., de Groot, H. (2012) :

Glycine, a simple physiological compound protecting by yet puzzling mechanism(s) against ischaemia-reperfusion injury: current knowledge.
Br J Pharmacol 165(7): 2059-2072.

Plumb, J. A., Burston, D., Baker, T. G., Gardner, M. L. (1987):

A comparison of the structural integrity of several commonly used preparations of rat small intestine in vitro.
Clin Sci (Lond) 73(1): 53-59.

Poelma, F. G., Breäs, R., Tukker, J. J. (1990):

Intestinal absorption of drugs. III. The influence of taurocholate on the disappearance kinetics of hydrophilic and lipophilic drugs from the small intestine of the rat.
Pharm Res 7(4): 392-397.

Poelma, F. G., Tukker, J. J. (1987):

Evaluation of a chronically isolated internal loop in the rat for the study of drug absorption kinetics.
J Pharm Sci 76(6): 433-436.

Richter, E., Strugala, G. J. (1985):

An all-glass perfusator for investigation of the intestinal transport and metabolism of foreign compounds in vitro.
J Pharmacol Methods 14(4): 297-304.

Roese, H. F. (1930):

Methoden zum Studium der Physiologie und Pharmakologie des künstlich durchbluteten Säugetierdarms.
Pflügers Arch. Ges. 226, 184-197.

Romeis, B. (1989)

Mikroskopische Technik
17. Auflage, Verlag Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore

Roskott, A. M., Nieuwenhuijs, V. B., Dijkstra, G., Koudstaal, L. G., Leuvenink, H. G., Ploeg, R. J. (2011):

Small bowel preservation for intestinal transplantation: a review.
Transpl Int 24(2): 107-131.

Rummel, W., Stupp, H. F. (1960):

The effect of potassium and calcium on salt, glucose and water absorption by the isolated small intestine.

Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol 240: 79-92.

Russel, W. M. S., Burch, R. L. (1959):

The Principles of Humane Experimental Technique

URL: http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-doc, Universities Federation for Animal Welfare (UFAW).

Sakai, K., Akima, M., Hinohara, Y., Sasaki, M., Niki, R. (1980):

Vascularly perfused rat small intestine: a research model for drug absorption.

Jpn J Pharmacol 30(2): 231-241.

Salomon, F.V. (2005):

Verdauungsapparat, Apparatus digestorius.

In: Anatomie für die Tiermedizin, F.V. Salomon, H. Geyer, U. Gille
Enke Verlag, Stuttgart: 235-321.

Salvioli, G. (1880):

Eine neue Methode für die Untersuchung der Funktionen des Dünndarms.

Arch. Physiol. Leipzig 85: 97-112.

Schanker, L. S., Tocco, D. J., Brodie, B. B., Hogben, C. A. (1958):

Absorption of drugs from the rat small intestine.

J Pharmacol Exp Ther 123(1): 81-88.

Scharrer, E., Wolfram, S. (2005):

Funktionen des Dünndarms und seiner Anhangsdrüsen

In: Physiologie der Haustiere, W. von Engelhardt, G. Breves
2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, 380-421

Schumacher, S., Stahl, J., Bäumer, W., Seitz, J. M., Bach, F. W., Petersen, L. J., Kietzmann, M. (2011):

Ex vivo examination of the biocompatibility of biodegradable magnesium via microdialysis in the isolated perfused bovine udder model.

Int J Artif Organs 34(1): 34-43.

Seekamp, A., Ward, P. A. (1993):

Ischemia-reperfusion injury.

Agents Actions Suppl 41: 137-152.

Seigner, C., Prodanov, E., Marchis-Mouren, G. (1985):

On porcine pancreatic alpha-amylase action: kinetic evidence for the binding of two maltooligosaccharide molecules (maltose, maltotriose and o-nitrophenylmaltoside) by inhibition studies. Correlation with the five-subsite energy profile.

Eur J Biochem 148(1): 161-168.

Shirazi-Beechey, S. P., Moran, A. W., Bravo, D., Al-Rammahi, M. (2011):
Nonruminant Nutrition Symposium: intestinal glucose sensing and regulation of glucose absorption: implications for swine nutrition.
J Anim Sci 89(6): 1854-1862.

Siesjö, B. K. (1991):
The role of calcium in cell death.
In: Neurodegenerative Disorders: Mechanisms and prospects for Therapy, Price D.L., Thoenen H., Aguayo Aj. (eds.)
John Wiley & Sons Ltd.: 35-59.

Sigurdsson, G. H., Christenson, J. T., el-Rakshy, M. B., Sadek, S. (1992):
Intestinal platelet trapping after traumatic and septic shock. An early sign of sepsis and multiorgan failure in critically ill patients?
Crit Care Med 20(4): 458-467.

Silver, I. A., Erecinska, M. (1994):
Extracellular glucose concentration in mammalian brain: continuous monitoring of changes during increased neuronal activity and upon limitation in oxygen supply in normo-, hypo-, and hyperglycemic animals.
J Neurosci 14(8): 5068-5076.

Sisley, A. C., Desai, T., Harig, J. M., Gewertz, B. L. (1994):
Neutrophil depletion attenuates human intestinal reperfusion injury.
J Surg Res 57(1): 192-196.

Sørensen, S. H., Noren, O., Sjöström, H., Danielsen, E. M. (1982):
Amphiphilic pig intestinal microvillus maltase/glucoamylase. Structure and specificity.
Eur J Biochem 126(3): 559-68.

Stangl, M. J., Krapp, J., Theodorou, D., Eder, M., Hammer, C., Land, W., Schildberg, F. W. (2000):
Computer-assisted ex vivo, normothermic small bowel perfusion.
Eur Surg Res 32(2): 100-106.

Stephens, K. E., Ishizaka, A., Larrick, J. W., Raffin, T. A. (1988):
Tumor necrosis factor causes increased pulmonary permeability and edema. Comparison to septic acute lung injury.
Am Rev Respir Dis 137(6): 1364-1370.

Swindle, M. M., Makin, A., Herron, A. J., Clubb, F. J. Jr., Frazier, K. S. (2012):
Swine as models in biomedical research and toxicology testing.
Vet Pathol 49(2): 344-356.

Takata, K. (1996):
Glucose transporters in the transepithelial transport of glucose.
J Electron Microsc (Tokyo) 45(4): 275-284.

Thewes, S., H., Reed, H. K., Grosse-Siestrup, C., Groneberg, D. A., Meissler, M., Schaller, M., Hube, B. (2007):
Haemoperfused liver as an ex vivo model for organ invasion of Candida albicans.
J Med Microbiol 56(Pt 2): 266-270.

Troitsch, D., Vogt, S., Abdul-Khaliq, H., Moosdorf, R. (2005):
Muscle tissue oxygen tension and oxidative metabolism during ischemia and reperfusion.
J Surg Res 128(1): 9-14.

Unger, J. K., Haltern, C., Dohmen, B., Gressner, A., Grosse-Siestrup, C., Groneberg, D. A., Rossaint, R. (2005):
Albumin and hydroxyethyl starch 130 kDa/0.4 improve filter clearance and haemocompatibility in haemo- and plasmafiltration--an in vitro study.
Nephrol Dial Transplant 20(9): 1922-1931

Unger, V., Grosse-Siestrup, C., Fehrenberg, C., Fischer, A., Meissler, M., Groneberg, D.A. (2007):
Reference values and physiological characterization of a specific isolated pig kidney perfusion model.
J Occup Med Toxicol 2: 1.

van Griensven, M., Stalp, M., Seekamp, A. (1999):
Ischemia-reperfusion directly increases pulmonary endothelial permeability in vitro.
Shock 11(4): 259-263.

Varum, F. J., Veiga, F., Sousa, J. S., Basit, A. W. (2010):
An investigation into the role of mucus thickness on mucoadhesion in the gastrointestinal tract of pig.
Eur J Pharm Sci. 40(4): 335-341

van der Hoeven, T., Kilic, A., Vogel, P., Loudovici, D. A., Grosse-Siestrup, C., Affeld, K. (1998):
Vergleichende Untersuchungen der Hämolyse von Blutpumpen verschiedener Bauart.
Biomed Tech (Berl). Band 43, Ergänzungsband 1:332-334

van Waegeningh, S. (2004):
Effekte einer regionalen Sympathikolyse mittels thorakaler Periduralanästhesie sowie einer kontinuierlichen Dopamininfusion zur Aufrechterhaltung des mittleren arteriellen Blutdruckes auf die Perfusion und Oxygenierung der Splanchnikusorgane
Med. Diss. Freiburg i. Br., Medizinische Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität

Vöge, A. (1997):
Etablierung eines Modells des isolierten, in vitro perfundierten Rattenileums zur Untersuchung der luminalen und vaskulären Regulation der Glukagon-like peptide-1 (GLP-1)-Sekretion
Med. Diss. Marburg, Fachbereich Humanmedizin der Phillips Universität

Vollmerhaus, B., Roos, H. (1999):

Speiseröhre, Magen, Darm, Darmanhangsdrüsen.

In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band II Eingeweide, R. Nickel, A. Schummer, E. Seiferle

8. Auflage, Parey Buchverlag, Berlin: 103-195

von Baeyer, H., Stahl, K., Häusler, M., Meissler, M., Unger, V., Frank, J., Grosse-Siestrup, C., Kaczmarczyk, G., Affeld, K., Flaig, H. J., Steinbach, B. (1997):

A new method of ex vivo whole blood perfusion of isolated mammalian organs, exemplified by the kidney of swine.

Biomed Tech (Berl) 42(3): 61-68.

Wei, Y., Neves, L. A., Franklin, T., Klyuchnikova, N., Placzek, B., Hughes, H. M., Curtis, C. G. (2009):

Vascular perfused segments of human intestine as a tool for drug absorption.

Drug Metab Dispos 37(4): 731-736.

Weixiong, H., Aneman, A., Nilsson, U., Lundgren, O. (1994):

Quantification of tissue damage in the feline small intestine during ischaemia-reperfusion: the importance of free radicals.

Acta Physiol Scand 150(3): 241-250.

Wenzel, R. P. (1993):

Prevention and control of nosocomial infection

2nd edition. Williams and Wilkins. Baltimore, Hong-Kong, London, Munich, Philadelphia, Sydney, Tokyo.

Wilson, T. H., Wiseman, G. (1954):

The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface.

J Physiol 123(1): 116-125.

Windmueller, H. G., Spaeth, A. E. (1974):

Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine.

J Biol Chem 249(16): 5070-5079.

Windmueller, H. G., Spaeth, A. E. (1975):

Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood.

Arch Biochem Biophys 171(2): 662-672.

Windmueller, H. G., Spaeth, A. E. (1977):

Vascular perfusion of rat small intestine: metabolic studies with isolated and in situ preparations.

Fed Proc 36(2): 177-181.

Windmueller, H. G., Spaeth, A. E. (1981):

Vascular autoperfusion of rat small intestine in situ.

Methods Enzymol 77: 120-129.

Windmueller, H. G., Spaeth, A. E., Ganote, C. E. (1970):
Vascular perfusion of isolated rat gut: norepinephrine and glucocorticoid requirement.
Am J Physiol 218(1): 197-204.

Wright, E. M., Martin, M. G., Turk, E. (2003):
Intestinal absorption in health and disease--sugars.
Best Pract Res Clin Gastroenterol 17(6): 943-956.

Yandza, T., Tauc, M., Saint-Paul, M. C., Ouaisi, M., Gugenheim, J., Hebuterne, X. (2012):
The pig as a preclinical model for intestinal ischemia-reperfusion and transplantation studies
J Surg Res 178(2): 807-819.

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|---|
| A. | Arteria |
| Aa. | Arteriae |
| Abb. | Abbildung |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| art. | arteriell |
| ATP | Adenosintri-phosphat |
| BF | Blutfluss (ml/min) |
| BGA | Blutgas-Analysator |
| BMELV | Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz |
| bzw. | beziehungsweise |
| Da | Dalton |
| Diff. | Differenz |
| Diff.BB | Differentialblutbild |
| DNA | deoxyribonucleic acid |
| et al. | et alii, et aliae, et alia (lateinisch) = und andere |
| ETCO ₂ | Kohlendioxidkonzentration im endexpiratorischen Gasgemisch |
| GLDH | Glutamatdehydrogenase |
| Glu | Glukose |
| Fa. | Firma |
| GLUT2 | glucose transporter 2 (erleichterter Glukosetransporter) |
| H ⁺ | Wasserstoff-Anion |
| Hb | Hämoglobin (g/dl) |
| HE | Hämatoxylin- Eosin |
| H ₂ O | Wassermolekül |
| Htk | Hämatokrit (l/l) |
| I.E. | Internationale Einheit |
| i.m. | intramuskulär |
| i.v. | intravenös |
| K | Kontrolle |
| K ⁺ | Kalium-Kation |
| kD | Kilo-Dalton |
| KGW | Körpergewicht (kg) |

| | |
|-----------------------------|---|
| Kdist | Kontrollgruppe, Entnahme proximal des perfundierten Jejunums |
| Konz. | Konzentration |
| Kprox | Kontrollgruppe, Entnahme proximal des perfundierten Jejunums |
| Lc. | Lymphocentrum |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| Lnn. | Lympho noduli |
| LT | Lebenstag |
| Lsg. | Lösung |
| MCH | mittlere Hämoglobinkonzentration |
| MCHC | mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration |
| MCV | mittleres korpuskuläres Volumen |
| Mg | Magnesium |
| N. | Nervus |
| NG _{ap} | Nettogewicht ante perfusionem (g) |
| NG _{pp} | Nettogewicht post perfusionem (g) |
| NG _{pp-mes} | Nettogewicht post perfusionem minus Mesenterium (g) |
| OP | Operation |
| P _{art./ven.mitt.} | mittlerer arterieller/venöser Blutdruck (mmHg) |
| P.-Druck | Partialdruck |
| pO ₂ | Sauerstoffpartialdruck (mmHg) |
| R | (Organ)Widerstand (mmHg*ml/min) |
| S. | Seite |
| SGLT1 | sodium dependent glucose transporter 1 (Na-Glukose Cotransporter) |
| sO ₂ | Sauerstoffsättigung (%) |
| Tab. | Tabelle |
| Tr. | Truncus |
| V | Versuch |
| V. | Vena |
| ven. | Venös |
| vgl. | vergleiche |
| Vdist | Versuchsgruppe, Entnahme aus distalem Teil des Jejunums |
| Vmed | Versuchsgruppe, Entnahme aus medialem Teil des Jejunums |
| Vprox | Versuchsgruppe, Entnahme aus proximaler Teil des Jejunums |
| Vv. | Venae |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

9.2 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Darmkanal des Schweines, schematisch (nach Salomon 2005)
- Abb. 2:** Schematische Darstellung des Aufbaus einer Darmzotte unter Berücksichtigung der Lieberkühn-Drüsen, der Vaskularisation, des Lymphgefäßsystems, der nervalen Versorgung und der Abspaltung der glatten Muskelzellen aus der Lamina muscularis mucosae (nach Liebich 2004)
- Abb. 3:** Intraluminale Verdauung von Stärke durch Amylase (nach Scharrer und Wolfram 2005)
- Abb. 4:** Mechanismen des transepithelialen Glukosetransportes (nach Hediger und Rhoads 1994)
- Abb. 5:** schematische Darstellung eines Kreislaufsystems zur Dünndarmperfusion (aus Fisher und Parsons 1949)
- Abb. 6:** Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens (nach Hosseini 2002)
- Abb. 7:** *a* Aufsuchen eines geeigneten Jejunumsegments; *b* Freipräparierter Gefäßstamm bestehend aus A. et V. jejunalis; *c* Kanülierte Lumennenden; *d* Kanülierung der A. jejunalis; *e* Kanülierung der V. jejunalis; *f* Kanülierte Vene und Arterie nebeneinander
- Abb. 8:** schematische Darstellung der Darmperfuionsapparatur
- Abb. 9:** Versuchsaufbau für die Darmperfusion
- Abb. 10:** Lagerung des Darms während der Perfusion
- Abb. 11:** Versuchsablauf schematisch, 0 - 9 beziffern die alle 20 Minuten erfolgten Blutprobenentnahmen
- Abb. 12:** Schemazeichnung eines Darmschnittes mit durchnummerierten Vierteln
- Abb. 13:** Zeitlicher Verlauf Organwiderstand R in mmHg*min/ml/100g Darm über den Perfusionszeitraum
- Abb. 14:** Hämatokrit im arteriellen Blut in l/l zu den Zeitpunkten 0 und 180 Minuten
- Abb. 15:** freies Hämoglobin im arteriellen Blut in mg/dl zu den Zeitpunkten 0 und 180 Minuten (*p<0,05)
- Abb. 16:** Zeitlicher Verlauf des O₂-Verbrauchs in µmol/min/100g Darm über den Perfusionszeitraum
- Abb.17:** Zeitlicher Verlauf der arteriovenösen Glukosekonzentrationsdifferenz in mg/dl/100g Darm über den Perfusionszeitraum (Glu-Konz.art.mg/dl/100g – Glu-Konz.ven.mg/dl/100g) (*p<0,05)
- Abb. 18:** Zeitlicher Verlauf der Laktatkonzentration im venösen Blut in mg/dl/100g Darm über den Perfusionszeitraum

- Abb. 19:** Vergleich der Darmgewichte in Gramm vor (NG ap) und nach (NG pp) der Perfusion sowie nach Abtrennung des Mesenteriums (NG pp-mes) ($p^* < 0,05$)
- Abb. 20:** Vergleich der Differenzen der Darmgewichte in Gramm (Diff1= NG pp – NG ap, Diff 2= NG pp – NG pp-mes)
- Abb. 21:** Vergleich des Grades der Epithelschädigung der einzelnen Darmabschnitte
- Abb. 22:** Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tunica serosa der einzelnen Darmabschnitte
- Abb. 23:** Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tunica muscularis der einzelnen Darmabschnitte
- Abb. 24:** Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tela submucosa der einzelnen Darmabschnitte
- Abb. 25:** Vergleich des Grades der Ödematisierung der Tunica mucosa der einzelnen Darmabschnitte
- Abb. 26:** Übersicht über mehrere Schleimhautzotten der K prox Gruppe
- Abb. 27:** Übersicht über eine Schleimhautzotte der K prox Gruppe
- Abb. 28:** Übersicht über mehrere Schleimhautzotten der V prox Gruppe
- Abb. 29:** Übersicht über eine Schleimhautzotte der V prox Gruppe
- Abb. 30:** Ausschnitt aus der Tunica serosa eines Darmes der K prox Gruppe
- Abb. 31:** Ausschnitt aus der Tunica serosa eines Darmes der V prox Gruppe
- Abb. 32:** Ausschnitt aus der Tunica muscularis eines Darmes der K dist Gruppe
- Abb. 33:** Ausschnitt aus der Tunica muscularis eines Darmes der V med Gruppe
- Abb. 34:** Ausschnitt aus der Tunica muscularis eines Darmes der V dist Gruppe
- Abb. 35:** Ausschnitt aus der Tela submucosa eines Darmes der K dist Gruppe
- Abb. 36:** Ausschnitt aus der Tela submucosa eines Darmes der V med Gruppe
- Abb. 37:** Übersicht über die Tunica mucosa eines Darmes der K prox Gruppe
- Abb. 38:** Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der K prox Gruppe
- Abb. 39:** Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der K dist Gruppe
- Abb. 40:** Übersicht über die Tunica mucosa eines Darmes der V med Gruppe
- Abb. 41:** Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der V med Gruppe
- Abb. 42:** Ausschnitt aus der Tunica mucosa eines Darmes der V dist Gruppe

9.3 Tabellenverzeichnis

- Tab. 1:** durchgeführte Messungen zu den einzelnen Blutabnahmezeitpunkten
Tab. 2: Dialysatprobenentnahmen
Tab. 3: Ingestaprobenentnahmen
Tab. 4: Gruppeneinteilung
Tab. 5: Score – Schleimhautepithelschädigung
Tab. 6: Score – Ödematisierung
Tab. 7: Bestandteile des Dialysats
Tab. 8: Bestandteile der Maltoselösung
Tab. 9: Bestandteile der Noradrenalinlösung

9.4 Ausgangswerte im Blut, hämodynamische Regelgrößen und Gewichte

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Darm# 1 | | 61 | 60 | 52 | 46 | 61 | 53 | 42 | 48 | 56 |
| Darm# 2 | | 63 | 97 | 74 | 73 | 66 | 68 | 133 | 108 | 79 |
| Darm# 3 | | 47 | 68 | 80 | 67 | 65 | 69 | 88 | 107 | 123 |
| Darm# 4 | | 48 | 53 | 55 | 71 | 62 | 68 | 64 | 50 | 43 |
| Darm# 5 | 84 | 85 | 87 | 100 | 86 | 109 | 111 | 84 | 101 | 98 |
| Darm# 6 | 98 | 80 | 67 | 63 | 62 | 62 | 62 | 54 | 55 | 64 |
| Darm# 7 | 90 | 66 | 68 | 75 | 67 | 76 | 73 | 62 | 49 | 56 |
| Darm# 8 | 80 | 76 | 59 | 52 | 46 | 39 | 43 | 34 | 40 | 34 |
| Darm# 9 | 49 | 50 | 53 | 57 | 55 | 54 | 53 | 58 | 54 | 54 |
| Darm# 10 | 72 | 59 | 67 | 51 | 44 | 46 | 49 | 51 | 49 | 46 |
| Darm# 11 | 91 | 100 | 145 | 92 | 92 | 105 | 76 | 97 | 114 | 93 |
| Darm# 12 | 139 | 138 | 79 | 136 | 55 | 60 | 60 | 59 | 65 | 67 |
| Darm# 13 | 140 | 96 | 172 | 140 | 170 | 82 | 118 | 56 | 72 | 150 |
| Darm# 14 | 30 | 27 | 33 | 37 | 32 | 35 | 39 | 38 | 36 | 34 |
| Darm# 15 | 26 | 28 | 27 | 32 | 33 | 29 | 28 | 28 | 28 | 30 |
| Darm# 16 | 62 | 49 | 51 | 45 | 47 | 48 | 40 | 37 | 39 | 42 |

Tabelle 10: mittlerer arterieller Blutdruck in mmHg (P_art.mitt.)

Anhang

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Darm# 1 | | -1 | 2 | -1 | -1 | -1 | -1 | 0 | 0 | -1 |
| Darm# 2 | | -5 | -6 | -6 | -7 | -7 | -8 | -5 | -7 | -7 |
| Darm# 3 | | 10 | 15 | 8 | 4 | 6 | 0 | 3 | 4 | -4 |
| Darm# 4 | | -2 | -8 | 4 | 8 | 5 | 20 | 25 | 18 | 22 |
| Darm# 5 | 8 | 6 | 5 | 5 | 5 | 6 | 4 | 3 | 1 | 0 |
| Darm# 6 | 7 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 4 |
| Darm# 7 | 4 | 5 | 5 | 5 | 4 | 6 | 5 | 4 | 5 | 7 |
| Darm# 8 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 |
| Darm# 9 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 0 |
| Darm# 10 | 10 | 9 | 9 | 8 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 |
| Darm# 11 | 13 | 13 | 12 | 9 | 12 | 11 | 10 | 7 | 6 | 7 |
| Darm# 12 | 12 | 10 | -2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | -1 |
| Darm# 13 | 9 | 8 | 13 | 12 | 13 | 14 | 13 | 13 | 14 | 20 |
| Darm# 14 | 8 | 9 | 9 | 9 | 9 | 8 | 9 | 8 | 8 | 8 |
| Darm# 15 | 8 | 7 | 8 | 6 | 6 | 5 | 5 | 4 | 4 | 3 |
| Darm# 16 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |

Tabelle 11: mittlerer venöser Blutdruck in mmHg (P_{ven.mitt.})

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Darm# 1 | 70 | 100 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Darm# 2 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 120 | 90 | 60 | 50 |
| Darm# 3 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 80 | 80 | 80 | 90 |
| Darm# 4 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 5 | 80 | 60 | 80 | 100 | 90 | 100 | 100 | 90 | 90 | 90 |
| Darm# 6 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 7 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 9 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 11 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 12 | 80 | 100 | 50 | 80 | 100 | 100 | 110 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 13 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 130 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 14 | 100 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 |
| Darm# 15 | 90 | 100 | 120 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 |
| Darm# 16 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 120 | 110 | 100 | 100 |

Tabelle 12: arterieller Blutfluss in ml/min (BF_{art.ml/min})

Anhang

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Darm# 1 | 5,7 | 5,3 | 6,8 | 10,5 | 3,2 | 9,9 | 10,4 | 6,7 | 3,4 | 5,2 |
| Darm# 2 | 7,3 | 3,9 | 7,6 | 6,4 | 4,1 | 3,4 | 3,1 | 11,1 | 15,9 | 13,8 |
| Darm# 3 | 7,1 | 6,0 | 4,9 | 7,2 | 7,2 | 6,4 | 7,0 | 10,4 | 11,1 | 7,0 |
| Darm# 4 | 8,4 | 6,7 | 9,3 | 10,0 | 11,2 | 11,0 | 10,2 | 10,2 | 8,8 | 7,3 |
| Darm# 5 | 10,9 | 14,3 | 12,3 | 10,2 | 9,2 | 8,1 | 10,5 | 10,3 | 11,6 | 13,2 |
| Darm# 6 | 9,4 | 13,3 | 11,9 | 10,4 | 9,1 | 7,9 | 7,4 | 6,9 | 6,7 | 8,4 |
| Darm# 7 | 10,7 | 7,5 | 7,9 | 8,0 | 7,8 | 6,5 | 7,5 | 7,8 | 6,3 | 7,6 |
| Darm# 8 | 9,3 | 11,2 | 10,6 | 10,5 | 10,4 | 10,1 | 10,4 | 10,3 | 10,8 | 10,7 |
| Darm# 9 | 11,0 | 9,8 | 9,5 | 8,5 | 8,6 | 7,3 | 6,5 | 6,2 | 10,0 | 10,5 |
| Darm# 10 | 9,1 | 9,0 | 8,8 | 9,1 | 9,6 | 10,5 | 11,2 | 11,7 | 12,0 | 11,9 |
| Darm# 11 | 8,3 | 11,4 | 15,7 | 11,5 | 7,1 | 9,9 | 10,2 | 13,8 | 11,8 | 9,2 |
| Darm# 12 | 15,5 | 16,3 | 15,4 | 17,1 | 3,1 | 7,5 | 3,9 | 8,8 | 10,0 | 11,2 |
| Darm# 13 | 8,4 | 11,5 | 14,0 | 14,3 | 17,2 | 11,9 | 16,4 | 14,6 | 11,4 | 13,6 |
| Darm# 14 | 6,7 | 7,1 | 7,4 | 7,8 | 8,5 | 7,8 | 9,4 | 10,0 | 10,4 | 10,5 |
| Darm# 15 | 6,4 | 8,1 | 8,1 | 8,4 | 8,7 | 8,2 | | 7,3 | 7,1 | 7,3 |
| Darm# 16 | 10,6 | 7,5 | 12,3 | 11,2 | 12,0 | 12,4 | 9,4 | 11,2 | 10,0 | 11,9 |

Tabelle 13: arterielle Hämoglobinkonzentration in g/dl

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|
| Darm# 1 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 2 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 99,9 | 100 | 100 |
| Darm# 3 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 4 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 5 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 6 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 7 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 9 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 11 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 12 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 13 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 14 | 100 | 100 | 100 | 100 | 99,7 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 15 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 16 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Tabelle 14: arterielle Sauerstoffsättigung in % (sO₂art. %)

Anhang

| Perf.dauer in min | | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Darm# 1 | 1 | 100 | 90,0 | 95,0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Darm# 2 | 2 | 100 | 78,1 | 71,6 | 77,3 | 71,1 | 68,4 | 72,9 | 65,9 | 77,9 | 77,8 |
| Darm# 3 | 3 | 100 | 82,3 | 81,5 | 82,8 | 80,8 | 83,2 | 76,1 | 87,4 | 87,8 | 88,4 |
| Darm# 4 | 4 | 100 | 76,6 | 78,6 | 82,1 | 83,2 | 84,8 | 80,1 | 84,9 | 81,7 | 74,1 |
| Darm# 5 | 5 | 84,4 | 86,6 | 89,5 | 91,6 | 86,0 | 86,2 | 96,0 | 93,7 | 91,9 | 93,6 |
| Darm# 6 | 6 | 81,5 | 93,6 | 94,9 | 93,3 | 93,0 | 89,7 | 87,4 | 85,2 | 82,6 | 92,1 |
| Darm# 7 | 7 | 87,6 | 87,6 | 80,8 | 86,2 | 87,4 | 88,0 | 81,9 | 87,8 | 84,1 | 82,7 |
| Darm# 8 | 8 | 92,9 | 97,5 | 94,0 | 96,9 | 97,3 | 98,7 | 99,6 | 96,8 | 93,3 | 95,0 |
| Darm# 9 | 9 | 74,3 | 73,9 | 63,4 | 74,2 | 74,4 | 65,1 | 75,3 | 73,8 | 77,8 | 79,0 |
| Darm# 10 | 10 | 85,4 | 62,4 | 76,8 | 79,4 | 84,2 | 87,6 | 83,7 | 83,3 | 85,6 | 86,8 |
| Darm# 11 | 11 | 91,6 | 86,6 | 91,2 | 89,1 | 77,4 | 99,0 | 86,6 | 92,4 | 93,5 | 91,0 |
| Darm# 12 | 12 | 84,5 | 87,0 | 79,1 | 84,9 | 77,1 | 87,5 | 95,5 | 94,2 | 94,4 | 86,1 |
| Darm# 13 | 13 | 99,3 | 97,5 | 92,0 | 92,9 | 97,7 | 94,3 | 97,1 | 91,1 | 98,4 | 95,2 |
| Darm# 14 | 14 | 61,8 | 48,7 | 51,0 | 47,8 | 62,1 | 57,0 | 64,6 | 52,9 | 59,6 | 66,0 |
| Darm# 15 | 15 | 62,2 | 45,1 | 44,5 | 47,0 | 49,3 | 53,6 | 52,7 | 45,7 | 41,9 | 48,7 |
| Darm# 16 | 16 | 50,1 | 51,3 | 52,1 | 65,8 | 63,5 | 65,6 | 58,5 | 69,1 | 61,9 | 71,5 |

Tabelle 15: venöse Sauerstoffsättigung in % (sO₂ven. %)

| Perf.dauer in min | | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Darm# 1 | 1 | 448,7 | 347,4 | 395,8 | 404,1 | 355,4 | 384,9 | 335 | 448,2 | 346,6 | 437,1 |
| Darm# 2 | 2 | 295,4 | 383,6 | 298,5 | 363,4 | 319,3 | 300,6 | 420,2 | 96,9 | 357,7 | 315,2 |
| Darm# 3 | 3 | 457,4 | 381 | 373,5 | 394,9 | 377,5 | 378,8 | 370,6 | 409,5 | 417,2 | 364,4 |
| Darm# 4 | 4 | 334,7 | 421,3 | 406,4 | 382,6 | 368,8 | 349,6 | 338,1 | 338,2 | 354,1 | 373,7 |
| Darm# 5 | 5 | 376,2 | 424,1 | 404,7 | 396 | 413,8 | 411,4 | 430,6 | 402,2 | 376,4 | 279,8 |
| Darm# 6 | 6 | 413,9 | 457,5 | 471 | 474,6 | 457,3 | 444 | 426,1 | 446,6 | 426,4 | 468,1 |
| Darm# 7 | 7 | 406,7 | 431,6 | 429 | 464,3 | 464,9 | 441,5 | 440,2 | 424,6 | 425,2 | 361,2 |
| Darm# 8 | 8 | 430,2 | 404,4 | 434 | 461,3 | 443,8 | 461,5 | 440,8 | 424,4 | 459,7 | 338,2 |
| Darm# 9 | 9 | 406,7 | 392,9 | 388,5 | 406,2 | 371,5 | 369,6 | 394,2 | 285,1 | 272,4 | 252,8 |
| Darm# 10 | 10 | 439,5 | 429,8 | 462,8 | 439,1 | 466,3 | 420,7 | 417,8 | 404,8 | 447 | 375,9 |
| Darm# 11 | 11 | 170,9 | 282,1 | 335,8 | 251,4 | 330,2 | 352,3 | 290,4 | 354,9 | 369,3 | 392,1 |
| Darm# 12 | 12 | 384,5 | 474 | 438,8 | 450,8 | 231,8 | 401,6 | 357,7 | 466,8 | 478,9 | 456,7 |
| Darm# 13 | 13 | 90,8 | 455,6 | 459,4 | 434,9 | 383,5 | 348,5 | 363,2 | 311,4 | 169,3 | 393,3 |
| Darm# 14 | 14 | 421,7 | 399,3 | 345,8 | 383,2 | 255 | 369,8 | 352,7 | 370,8 | 410,8 | 391 |
| Darm# 15 | 15 | 337,7 | 316,1 | 319,8 | 299,4 | 288,8 | 318,4 | | 315,1 | 312,8 | 310,1 |
| Darm# 16 | 16 | 300,8 | 315,6 | 326,5 | 407 | 408 | 379,7 | 232 | 222,7 | 246,5 | 249,5 |

Tabelle 16: arterieller Sauerstoffpartialdruck in mmHg (pO₂art. mmHg)

Anhang

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| Darm# 1 | 430,6 | 119 | 91,8 | 135 | 183,3 | 244,5 | 142 | 218,3 | 207,9 | 112,5 |
| Darm# 2 | 316,2 | 43,2 | 117,5 | 46,4 | 38,4 | 37,4 | 40,9 | 41,3 | 48,4 | 48,1 |
| Darm# 3 | 447,9 | 45,5 | 40,7 | 47,1 | 45,7 | 49,9 | 45,7 | 60,3 | 59,5 | 59,5 |
| Darm# 4 | 337,5 | 57,9 | 53,2 | 50,1 | 46,8 | 49,4 | 50,5 | 54,5 | 50,2 | 45 |
| Darm# 5 | 61,8 | 57,1 | 54,2 | 59 | 54,9 | 55,1 | 70,2 | 63,4 | 59,6 | 64 |
| Darm# 6 | 49,9 | 70,3 | 68,8 | 59,8 | 63,4 | 58,8 | 55,8 | 52,5 | 51,2 | 62,8 |
| Darm# 7 | 56,7 | 146,8 | 52,9 | 56,2 | 56,8 | 54 | 50,6 | 58,3 | 56,2 | 51,9 |
| Darm# 8 | 73,4 | 83,6 | 70,7 | 73,7 | 76,5 | 76,5 | 78,2 | 82,4 | 73,2 | 72,3 |
| Darm# 9 | 53,9 | 54,6 | 42,2 | 44,8 | 42,9 | 40,2 | 48,6 | 72,3 | 53,1 | 52,6 |
| Darm# 10 | 59,3 | 43,8 | 49,8 | 50,9 | 56,1 | 56,3 | 54,1 | 55 | 57,1 | 57,9 |
| Darm# 11 | 49,3 | 43,5 | 44,5 | 63,8 | 56,6 | 82,5 | 66,4 | 81,6 | 57,6 | 61,5 |
| Darm# 12 | 63,6 | 66,5 | 52,2 | 55,9 | 47,3 | 46,8 | 66,1 | 72,6 | 71,4 | 59,6 |
| Darm# 13 | 434,1 | 81,6 | 69 | 57,4 | 117,5 | 55,4 | 74,5 | 65,7 | 82,4 | 71,9 |
| Darm# 14 | 46,4 | 37 | 37,9 | 34 | 35,9 | 38,4 | 41,9 | 35,5 | 40,2 | 43,8 |
| Darm# 15 | 49,7 | 34,3 | 32,8 | 31,7 | 32,3 | 36 | 39,4 | 35,5 | 30,8 | 33,4 |
| Darm# 16 | 65,4 | 41,2 | 40,4 | 49,2 | 44,2 | 63 | 40 | 40,8 | 42,7 | 46,8 |

Tabelle 17: venöser Sauerstoffpartialdruck in mmHg (pO₂ven. mmHg)

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Darm# 1 | 70 | 52 | 56 | 55 | 58 | 48 | 50 | 57 | 62 | 58 |
| Darm# 2 | 59 | 72 | 45 | 54 | 55 | 59 | 58 | 54 | 44 | 49 |
| Darm# 3 | 79 | 89 | 89 | 86 | 82 | 79 | 78 | 71 | 77 | 71 |
| Darm# 4 | 192 | 202 | 204 | 203 | 200 | 180 | 202 | 197 | 204 | 206 |
| Darm# 5 | 55 | 71 | 68 | 69 | 70 | 74 | 70 | 71 | 78 | 77 |
| Darm# 6 | 72 | 83 | 88 | 89 | 92 | 93 | 91 | 91 | 93 | 92 |
| Darm# 7 | 70 | 87 | 85 | 84 | 81 | 80 | 77 | 76 | 83 | 85 |
| Darm# 8 | 74 | 72 | 71 | 71 | 66 | 67 | 66 | 67 | 85 | 79 |
| Darm# 9 | 63 | 68 | 67 | 70 | 69 | 68 | 68 | 65 | 80 | 72 |
| Darm# 10 | 72 | 101 | 92 | 89 | 90 | 80 | 76 | 75 | 83 | 80 |
| Darm# 11 | 92 | 89 | 85 | 78 | 81 | 75 | 76 | 69 | 85 | 79 |
| Darm# 12 | 85 | 109 | 118 | 121 | 87 | 100 | 90 | 90 | 99 | 105 |
| Darm# 13 | 79 | 99 | 98 | 97 | 96 | 99 | 88 | 94 | 103 | 112 |
| Darm# 14 | 78 | 108 | 108 | 109 | 110 | 115 | 104 | 102 | 114 | 110 |
| Darm# 15 | 62 | 85 | 86 | 88 | 86 | 84 | 81 | 78 | 95 | 96 |
| Darm# 16 | 56 | 92 | 85 | 81 | 75 | 65 | 60 | 63 | 74 | 76 |

Tabelle 18: venöse Glukosekonzentration in mg/dl

Anhang

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Darm# 1 | 71 | 66 | 69 | 70 | 64 | 48 | 54 | 62 | 67 | 64 |
| Darm# 2 | 60 | 75 | 51 | 62 | 64 | 68 | 67 | 57 | 46 | 60 |
| Darm# 3 | 80 | 84 | 86 | 83 | 84 | 83 | 83 | 77 | 76 | 80 |
| Darm# 4 | 189 | 197 | 194 | 194 | 197 | 200 | 194 | 194 | 199 | 205 |
| Darm# 5 | 49 | 43 | 49 | 50 | 54 | 56 | 53 | 54 | 54 | 55 |
| Darm# 6 | 75 | 72 | 81 | 86 | 91 | 92 | 92 | 93 | 93 | 93 |
| Darm# 7 | 79 | 86 | 85 | 85 | 82 | 83 | 81 | 81 | 82 | 81 |
| Darm# 8 | 79 | 77 | 77 | 78 | 72 | 72 | 70 | 70 | 72 | 74 |
| Darm# 9 | 74 | 75 | 74 | 74 | 72 | 71 | 70 | 68 | 71 | 73 |
| Darm# 10 | 82 | 84 | 88 | 88 | 89 | 84 | 83 | 81 | 81 | 82 |
| Darm# 11 | 82 | 77 | 74 | 82 | 87 | 79 | 81 | 75 | 79 | 82 |
| Darm# 12 | 58 | 63 | 73 | 77 | 9 | 90 | 90 | 91 | 90 | 94 |
| Darm# 13 | 78 | 84 | 87 | 90 | 91 | 96 | 88 | 94 | 98 | 99 |
| Darm# 14 | 99 | 100 | 101 | 102 | 103 | 103 | 100 | 100 | 101 | 105 |
| Darm# 15 | 82 | 81 | 81 | 83 | 84 | 85 | 83 | 83 | 83 | 84 |
| Darm# 16 | 69 | 74 | 73 | 76 | 75 | 76 | 74 | 73 | 87 | 76 |

Tabelle 19: arterielle Glukosekonzentration in mg/dl

| Perf.dauer in min | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 |
|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Darm# 1 | 9 | 21,6 | 21,8 | 22,9 | 25,5 | 24 | 27,6 | 28,4 | 30 | 32,2 |
| Darm# 2 | 6,5 | 18,9 | 19,4 | 19,6 | 22,8 | 23,9 | 25,8 | 24,8 | 29 | 30,9 |
| Darm# 3 | 9,1 | 10,7 | 15,2 | 15,2 | 14,4 | 16,6 | 18,5 | 21,5 | 20,1 | 25 |
| Darm# 4 | 14,1 | 12,1 | 11,9 | 14,5 | 18,6 | 15,9 | 15,1 | 18,1 | 17,1 | 15,3 |
| Darm# 5 | 9,9 | 12,4 | 10 | 10,5 | 9,5 | 9,7 | 9,5 | 10,5 | 11,1 | 11,6 |
| Darm# 6 | 12,2 | 10,7 | 10,1 | 10,1 | 10,7 | 11,1 | 11,3 | 12,2 | 12,1 | 12,7 |
| Darm# 7 | 8,3 | 7,2 | 6,6 | 6,7 | 7,2 | 7,5 | 8,1 | 7,8 | 8,2 | 9,1 |
| Darm# 8 | 10,9 | 7,5 | 7,8 | 8 | 8,8 | 8,9 | 9,8 | 9,2 | 9,5 | 10,8 |
| Darm# 9 | 16,8 | 6,5 | 6,7 | 7,3 | 8,6 | 8,7 | 8,6 | 8,9 | 9,4 | 10,3 |
| Darm# 10 | 11,9 | 8,7 | 8,6 | 9 | 9,1 | 11,4 | 12,2 | 12,3 | 16 | 13,8 |
| Darm# 11 | 12,6 | 12,1 | 11,9 | 15,4 | 18,7 | 14,2 | 16,7 | 16 | 18,8 | 21,8 |
| Darm# 12 | 15,3 | 13,8 | 16 | 18,2 | 20,7 | 17,7 | 16,4 | 14,4 | 15,1 | 14,6 |
| Darm# 13 | 7,5 | 8,1 | 9,1 | 8,9 | 9,3 | 9,3 | 11,5 | 10 | 10,3 | 12,1 |
| Darm# 14 | 24,2 | 15 | 13,2 | 10,8 | 10,4 | 9,9 | 10,5 | 10,9 | 12,9 | 12,8 |
| Darm# 15 | 23,3 | 17,9 | 15,7 | 14,7 | 12,6 | 9,6 | 9,8 | 10,7 | 14,6 | 13,9 |
| Darm# 16 | 20 | 14,5 | 11,1 | 10,3 | 10,4 | 18,9 | 16,2 | 11,7 | 10,2 | 12 |

Tabelle 20: venöse Laktatkonzentration in mg/dl

| Perf.dauer in min | 0 | 180 |
|-------------------|----|-----|
| Darm# 1 | 2 | 36 |
| Darm# 2 | 11 | 27 |
| Darm# 3 | 3 | |
| Darm# 4 | 14 | 15 |
| Darm# 5 | 12 | 26 |
| Darm# 6 | 3 | |
| Darm# 7 | 9 | 10 |
| Darm# 8 | 6 | 22 |
| Darm# 9 | 6 | 14 |
| Darm# 10 | 8 | 20 |
| Darm# 11 | 6 | 56 |
| Darm# 12 | 23 | 20 |
| Darm# 13 | 31 | 85 |
| Darm# 14 | 7 | 9 |
| Darm# 15 | 5 | 8 |
| Darm# 16 | 11 | 21 |

Tabelle 21: Hämoglobin-Konzentration (Hkt) arteriell in mg/dl

| Perf.dauer in min | 0 | 180 |
|-------------------|------|------|
| Darm# 1 | 0,20 | 0,18 |
| Darm# 2 | 0,24 | 0,42 |
| Darm# 3 | 0,22 | 0,23 |
| Darm# 4 | 0,29 | 0,24 |
| Darm# 5 | 0,35 | 0,41 |
| Darm# 6 | 0,31 | 0,27 |
| Darm# 7 | 0,33 | 0,22 |
| Darm# 8 | 0,28 | 0,36 |
| Darm# 9 | 0,34 | 0,33 |
| Darm# 10 | 0,29 | 0,40 |
| Darm# 11 | 0,26 | 0,29 |
| Darm# 12 | 0,41 | 0,36 |
| Darm# 13 | 0,36 | 0,44 |
| Darm# 14 | 0,22 | 0,33 |
| Darm# 15 | 0,22 | 0,25 |
| Darm# 16 | 0,33 | 0,41 |

Tabelle 22: Hämatokrit arteriell in l/l

| Darmgewichte | NGap | NGpp | NGpp-mes |
|--------------|-------|-------|----------|
| Darm# 1 | 227,0 | 573,6 | 178,5 |
| Darm# 2 | 184,6 | 346,5 | 120,6 |
| Darm# 3 | 184,6 | 216,4 | 168,9 |
| Darm# 4 | 191,6 | 366,1 | 136,0 |
| Darm# 5 | 134,0 | 348,3 | 112,5 |
| Darm# 6 | 157,6 | 281,0 | 119,2 |
| Darm# 7 | 156,8 | 286,6 | 109,9 |
| Darm# 8 | 164,0 | 221,5 | 76,0 |
| Darm# 9 | 219,3 | 347,5 | 148,0 |
| Darm# 10 | 202,0 | 352,0 | 153,0 |
| Darm# 11 | 141,2 | 289,4 | 121,0 |
| Darm# 12 | 135,2 | 288,0 | 112,0 |
| Darm# 13 | 121,0 | 335,0 | 109,0 |
| Darm# 14 | 152,0 | 296,0 | 122,0 |
| Darm# 15 | 135,6 | 268,0 | 188,0 |
| Darm# 16 | 183,0 | 249,0 | 127,0 |

Tabelle 23: Darmgewichte gewogen vor der Perfusion (NGap), nach der Perfusion (NGpp) und nach der Perfusion und Abtrennung des Mesenteriums (NGpp-mes)

9.5 Ausgangsscores der histologischen Bewertung

| Darm | Gruppe | Darmviertel | | | |
|------|----------|-------------|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| D1 | K prox | | | | |
| | K distal | | | | |
| | Vprox | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | Vmed | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | Vdistal | 1 | 2 | 2 | 2 |
| D2 | K prox | | | | |
| | K distal | | | | |
| | Vprox | 1 | 1 | 2 | 2 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 2 | 2 | 2 | 2 |
| D3 | K prox | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Vprox | 1 | 1 | 2 | 2 |
| | Vmed | 2 | 2 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 2 | 1 |
| D4 | K prox | 1 | 2 | 1 | 1 |
| | K distal | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | Vmed | 2 | 2 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 2 | 1 | 2 |
| D5 | K prox | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | K distal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vprox | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D6 | K prox | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 2 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D7 | K prox | | 0 | 0 | |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 2 | 2 | 1 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 2 | 2 | 1 |
| D8 | K prox | 1 | 0 | | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |

| Darm | Gruppe | Darmviertel | | | |
|------|----------|-------------|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| D9 | K prox | | | | |
| | K distal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 2 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D10 | K prox | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | Vmed | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D11 | K prox | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D12 | K prox | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 2 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 2 | 2 | 2 | 1 |
| | Vdistal | 2 | 1 | 1 | 2 |
| D13 | K prox | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | K distal | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D14 | K prox | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D15 | K prox | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdistal | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D16 | K prox | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | K distal | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | Vmed | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Vdistal | 0 | 1 | 0 | 1 |

Tabelle 24: Score-Bewertung – Epithelschädigung

Anhang

| Darm | Gruppe | Serosa | | | | Muscularis | | | | Submucosa | | | | Mucosa | | | |
|------|--------|-------------|---|---|---|-------------|---|---|---|-------------|---|---|---|-------------|---|---|---|
| | | Darmviertel | | | | Darmviertel | | | | Darmviertel | | | | Darmviertel | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| D1 | K prox | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | K dist | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Vprox | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdist | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| D2 | K prox | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | K dist | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Vprox | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| D3 | K prox | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | K dist | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 3 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| | Vdist | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| D4 | K prox | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | K dist | 0 | 1 | 2 | | 1 | 1 | 2 | | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| D5 | K prox | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K dist | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | Vprox | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | Vmed | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Vdist | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| D6 | K prox | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K dist | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Vmed | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| | Vdist | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| D7 | K prox | | 2 | 2 | | | 0 | 1 | | | 1 | 1 | | | 0 | 0 | |
| | K dist | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | Vmed | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D8 | K prox | 1 | 1 | | 1 | 1 | 1 | | 1 | 2 | 2 | | 2 | 1 | 1 | | 1 |
| | K dist | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 |

Anhang

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| D9 | K prox | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | K dist | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Vprox | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| D10 | K prox | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | K dist | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Vdist | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| D11 | K prox | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | K dist | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Vprox | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | Vdist | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| D12 | K prox | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K dist | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| | Vmed | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | Vdist | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| D13 | K prox | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | K dist | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Vprox | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | Vmed | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| D14 | K prox | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | K dist | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | Vprox | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | Vmed | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | Vdist | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| D15 | K prox | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| | K dist | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vmed | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vdist | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| D16 | K prox | 1 | 1 | | | 1 | 1 | 0 | | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | K dist | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | Vprox | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | Vmed | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Vdist | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |

Tabelle 25: Score-Bewertung - Ödematisierung

10 Publikationsverzeichnis

Poster:

Koch, N., Grosse-Siestrup, C., Rudolph, R., Meissler, M., Unger, V. (2005)
Standardisierung eines normothermen Perfusionskreislaufes zur Vitalerhaltung eines Jejunumpräparates des Schweins.
Poster, aufgehängt in der Tierexperimentellen Einrichtung, Charité, Campus Virchow
Klinikum 2005-2015

11 Danksagung und Selbstständigkeitserklärung

Ich danke Herrn PD Dr. Christian Große-Siestrup herzlich für die Überlassung des Themas, die Anleitung und die Geduld bei der Abfassung dieser Dissertation.

Für die angenehme Zusammenarbeit und die Unterstützung bedanke ich mich bei allen MitarbeiterInnen der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité Universitätsmedizin Berlin, insbesondere bei Herrn Dr. Michael Meisler † und den OP-Schwestern für die Durchführung der Operationen sowie bei den TierpflegerInnen für ihre Hilfsbereitschaft.

Herrn Dipl. Ing. Volker Unger, Charité Universitätsmedizin Berlin sowie Frau Schmitz vom Insitut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der FU Berlin möchte ich für die Hilfe und Beratung bei der statistischen Analyse des Datenmaterials danken. Ebenfalls herzlich danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Roland Rudolph und den Mitarbeitern des Institutes für Tierpathologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der FU-Berlin für die Anfertigung der histologischen Schnitte und die Hilfe bei der Beurteilung.

Meinen Kolleginnen und Mitstreiterinnen Ira Maschmann sowie Andrea Reich gebührt ebenso Dank für den freundschaftlichen Material- und Informationsaustausch zwischen den Tischen.

Besonders herzlich danken möchte ich Babett Berger für Ihre aufmunternden Worte, Jan Osterloh für seine Korrekturen, Matthias Wege für die Hilfe bei der Erstellung von Grafiken, Eva Windfeld und Kirsten Zander ebenfalls für ihre Korrekturen und ihre Freundschaft, Stefanie Hillmers für ihr stets offenes Ohr, ihre Zeit und die tausend Liter Kaffee und last but not least meiner Frau Andrea, meinem Bruder Michael, Yalla, Lumpi, Fido und Elli für ihre Liebe und ihren unerschütterlichen Glauben an mich und meine Fähigkeiten!

Und allen Freunden und sonstigen guten Geistern, die ich jetzt noch vergessen habe: Dankeschön!

Hiermit bestätige ich, dass ich vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Brandenburg, den 04.12.2014

Nadine Schröder-Koch