

1. Einleitung

Das Interesse daran, in der biologischen und medizinischen Forschung Alternativmethoden zu Tierversuchen zu etablieren, nimmt erkennbar zu.

Modelle der *in vitro* Perfusion verschiedener Organsysteme werden in der Grundlagenforschung bereits vielfach angewandt. Deshalb soll hier in Betracht gezogen werden, dass die isolierte Darmperfusion - als eine Ergänzungsmethode zu Tierversuchen - ideale Voraussetzungen dafür bieten könnte,

- physiologische und pharmako-/toxikologische Untersuchungen durchzuführen sowie biomedizinischen Fragen nachzugehen.

Auch besteht ein großer Bedarf daran,

- im Bereich der Intensivmedizin Antworten auf offene Fragen - insbesondere zur Sepsis - unter *in vivo* nahen Verhältnissen zu finden,
- den Ischämie-Reperfusionsschaden zu verringern
- Konservierungslösungen speziell für den Darm zu testen,

und somit Transplantationen zu verbessern.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein Modell des isoliert normothermen hämoperfundierten Schweinejejunums etabliert. Um die Funktion und die Stabilität des Systems eingehender zu analysieren, wurden unterschiedliche Heparinisierungskonzepte untersucht. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob sich das System dazu eignet, den Einfluß von Schwermetallen zu erforschen.

Die Organe des Schweins erscheinen besonders gut geeignet für Perfusionsmodelle, weil sie physiologisch-anatomisch den Organen des Menschen ähneln. Untersuchungen haben ergeben, dass das Schwein auch hinsichtlich Hämolyse und Koagulation seines Blutes dem Menschen vergleichbar ist (Mueller, Tevaeearai et al. 2001 a; Mueller, Tevaeearai et al. 2001 b).

Für die *in vitro* Situation ist aber auch der artifizielle Einfluß des benötigten extrakorporalen Kreislaufsystems beachtlich, das aus körperfremden Materialien besteht. Die Blutbestandteile, insbesondere die Erythrozyten, werden dabei einer hohen mechanischen Belastung ausgesetzt. Wenn durch fremde Oberflächenstrukturen oder durch Scherkräfte die biaxialen Spannungen überschritten werden, kann es zu einer Schädigung der Erythrozyten kommen

(Leverett, Hellums et al. 1972). Hinzu kommt ein für die Biokompatibilität spezifisches Maß an Gerinnungs-, Leukozyten- und Thrombozytenaktivierung.

Deshalb ist bei der Verwendung extrakorporaler Kreisläufe wie bei der Hämodialyse der Einsatz von gerinnungshemmenden Mitteln nötig (Tolwani, Campbell et al. 2001; Grosse-Siestrup, Fehrenberg et al. 2002; Svenmarker, Haggmark et al. 2002), um der Bildung von Thromben vorzubeugen. Der Einsatz von Heparin scheint es auch möglich zu machen, den Ischämie-Reperfusionsschaden zu verringern und dadurch die Vitalität des Gewebes länger aufrechtzuerhalten (Yagmurdur, Colak et al. 2003).

Die hämoperfundierte Organe werden im hier entwickelten System mittels eines Kapillar-Dialyse-Moduls im Gegenstromprinzip über das Dialysat mit Sauerstoff versorgt. Im Rahmen der Modelletablierung des isoliert hämoperfundierte Schweinejejunums soll Heparin als Antikoagulans geprüft werden, wobei einerseits die Thrombenbildung im Kapillar-Dialyse-Modul und andererseits exzessive Blutungen, wie sie aus den Vorversuchen bekannt sind, vermieden werden sollen.

Der Ischämie-Reperfusionsschaden tritt häufig auf in Verbindung mit pathologischen Prozessen wie zum Beispiel Traumata und septischen Schocks, auch bei Leber- und Dünndarmtransplantationen (Wilmore, Smith et al. 1988). Durch die Entwicklung eines neuen Modells des isoliert hämoperfundierte Schweinejejunums kann die Mikrozirkulation ebenso wie die Funktion der Darmbarriere genauer erforscht werden. Weiterhin ergibt sich die Möglichkeit, immunologische Reaktionen, die Motilität sowie die Resorption von Nähr- und Schadstoffen zu untersuchen.

Es erscheint lohnend, Perfusionsmodelle weiter zu entwickeln, insbesondere Perfusionsmedien und Konservierungslösungen zu verbessern, um die Ischämie-Reperfusionsschäden mit dem Ziel ihrer Minimierung genauer untersuchen zu können. Dabei kommt es darauf an, möglichst *in vivo* nahe Verhältnisse zu schaffen, weshalb vor allem die Verwendung von Blut als Perfusionsmedium in Betracht zu ziehen ist.

Um die Schäden durch die Reperfusion und damit durch die Reoxygenierung einzudämmen, ist nach geeigneten Radikalfängern und Protektiva zu suchen; solche sind in derartigen Perfusionsmodellen zu testen und möglichst einzusetzen. Aufgrund des protektiven Effektes von Glutamin und Alanyl-Glutamin auf die Darmmukosa (de Aguilar-Nascimento, Gurgel Marques et al. 2003) haben wir uns entschieden, in unserem Modell Alanyl-Glutamin einzusetzen.

Die Entwicklung eines geeigneten Heparinisierungskonzeptes soll dazu beitragen, ein stabiles Modell des isoliert hämoperfundierte Schweinejejunums zu etablieren. Dies soll es ermöglichen, physiologische und pathologische Fragen genauer zu untersuchen. Mit einem

solchen Modell können selektive Funktionsmanipulationen vorgenommen und die Reaktionen des Dünndarms darauf - losgelöst von der Komplexität der *in vivo* Situation - untersucht werden.