

5. Ergebnisse

5.1. Praktische Umsetzbarkeit

In den vier Versuchsgruppen wurden insgesamt 18 Därme über die geplante Dauer von 180 Minuten perfundiert. Es traten dabei nach den Vorversuchen gruppenspezifische Besonderheiten auf, die im Folgenden dargestellt werden:

Vorversuche (hHep mP):

Es kam zu Komplikationen in Form von Einblutungen in das Darmlumen und Leckagen nach außen, so dass bei den Vorversuchen jeweils das Blutreservoir während der Perfusion aufgefüllt werden musste. Daraus resultierte die Entwicklung verschiedener Heparinisierungskonzepte.

Gruppe 1 (hHep oP):

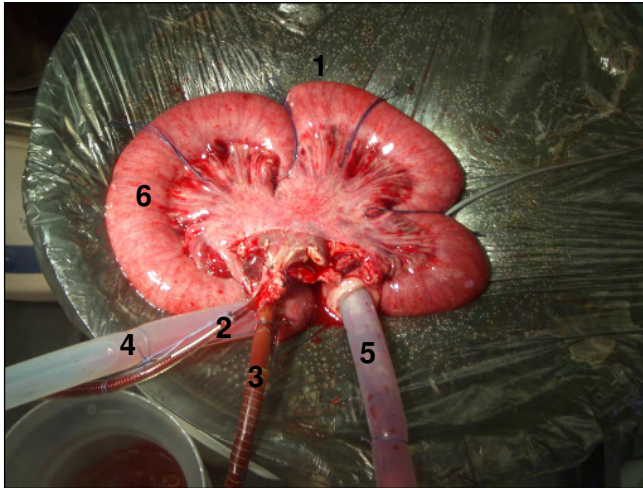
In dieser Gruppe gab es keine massiven Blutungen nach außen. Deshalb brauchte das Blutreservoir nicht aufgefüllt zu werden. Bei 3 von 4 Darmperfusionen kam es zu Blutungen in das Darmlumen, im Gegensatz zu den Vorversuchen (hHep mP) traten jedoch keine Leckagen nach außen auf. Wegen des Einsatzes sehr hoher Heparinkonzentrationen in dieser Gruppe erfolgte keine Bestimmung der Gerinnungsparameter. Denn die Dauer der funktionalen Tests, wie die Ermittlung der Activated Clotting Time (ACT), ging bei ersten Analysen stets über die testspezifisch messbare Zeit weit hinaus.

Gruppe 2 (nHep oP):

Es konnten in 2 von 5 Darmperfusionen Blutbeimengungen nachgewiesen werden. Auch kam es in 2 von 5 Darmperfusionen zu untragbaren hohen Widerständen vor dem Kapillar-Dialyse-Modul, was einherging mit einer unzureichenden Oxygenierung des Blutes, so dass das Blut auf parallel geschaltete Kapillar-Dialyse-Module umgeleitet werden musste. Dadurch kam es zur Hämodilution. Die genauen Zeitpunkte des Umschaltens und die Häufigkeit des Umschaltens auf weitere Kapillar-Dialyse-Module werden im Anhang in der Einzelfalldarstellung (s. Abb. 39) dargestellt.

Es waren zum Teil sehr hohe arterielle Mitteldrücke und Perfusionswiderstande zu verzeichnen. Weiterhin ist diese Gruppe dadurch gekennzeichnet, dass keine konstanten Druckverläufe erzielt werden konnten.

Da die Gruppe 2 sehr niedrige Heparinkonzentrationen erhalten hat, konnten die in Betracht gezogenen Gerinnungsparameter planmäßig bestimmt werden.



- 1: Darmsegment,
- 2: Arterienkatheter,
- 3: Venenkatheter,
- 4: kanüliertes proximales Darmlumen,
- 5: kanüliertes distales Darmlumen,
- 6: Ekchymosen auf der Serosa
- 7: Blutbeimengungen in der Ingesta

Abb. 2: Isoliert hämoperfundiertes Darmsegment aus der Gruppe 2 (nHep oP)

Gruppe 3 (nHep mP):

In der Gruppe 3 kam es während 1 von 5 Darmperfusionen erst gegen Ende der Perfusion zu leichten Blutungen in das Darmlumen. Aufgrund niedriger Heparinkonzentrationen in den Blutbeuteln und im Tier konnten alle geplanten Gerinnungsparameter erhoben werden.

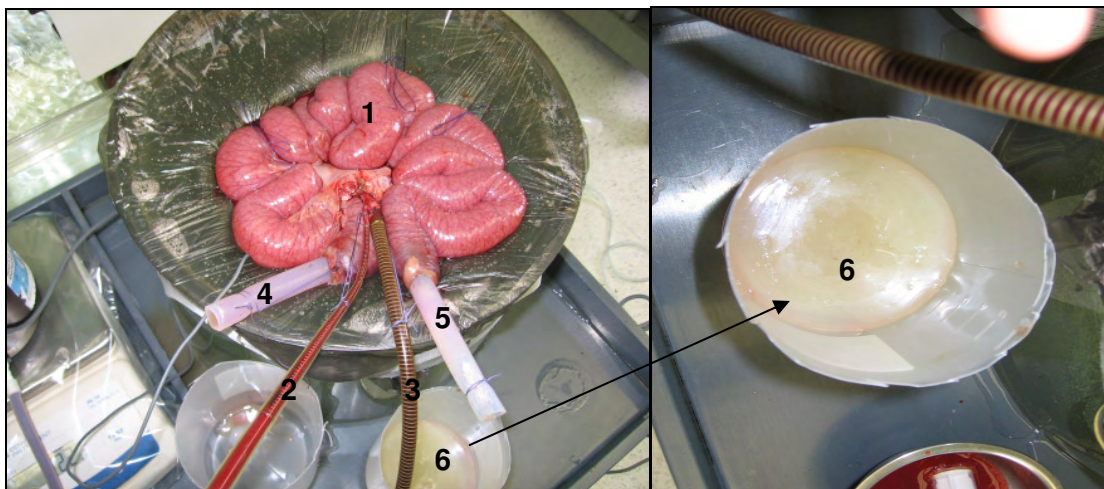


Abb. 3: Isoliert hämoperfundiertes Darmsegment aus der Gruppe 3 (nHep mP)

- 1: Darmsegment,
- 2: Arterienkatheter,
- 3: Venenkatheter,
- 4: kanüliertes proximales Darmlumen,
- 5: kanüliertes distales Darmlumen,
- 6: gesammelte, durch und vom Darmabschnitt transportierte Ingesta ohne Blutbeimengungen

Gruppe 4 (nHep mP mCd):

In der Gruppe 4 kam es in 1 von 4 Darmperfusionen zu Blutungen ins Darmlumen. Auch in dieser Gruppe konnten alle Gerinnungsparameter bestimmt werden.

5.2. Darmgewichte und hämodynamische Parameter

5.2.1. Darmgewichte

In der Übersichtstabelle sind die Darmgewichte vor und nach der Perfusion mit Mesenterium sowie das Darmgewicht nach der Perfusion mit Mesenterium dargestellt.

Heparin-Gruppe	Darm #	Darmgewicht vor Perfusi- on mit Mesenterium [g]	Darmgewicht nach Perfusi- on mit Mesenterium [g]
Vorversuche	5	184,6	346,5
	7	184,6	216,4
	8	211,5	346,2
	9	171,5	280,8
1 hHep oP	12	164,0	221,5
	13	219,3	347,5
	15	202,0	352,0
	27	272,0	391,0
2 nHep oP	16	141,2	289,4
	17	135,2	288,0
	18	172,0	335,0
	31	240,0	350,0
	32	155,0	210,0
3 nHep mP	19	152,0	206,0
	20	205,6	268,0
	21	183,0	249,0
	29	136,0	173,8
	30	255,5	297,0
4 nHep mP mCd	23	175,5	348,0
	24	133,0	164,0
	25	255,0	338,0
	26	202,4	290,0

Tab. 7: Übersichtstabelle der Darmgewichte in [g]

In der Gruppe 1 liegt die niedrigste relative Gewichtszunahme bei 35,1 % und die höchste bei 74,3 %. Die Gewichtszunahmen in der Gruppe 3 liegen zwischen 16,2 und 36,1 %. Im Vergleich mit den übrigen Gruppen weist die Gruppe 3 dabei die kleinste interquartile Range (IQR) und den niedrigsten Median auf.

In der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 liegen die Werte der relativen Gewichtszunahme zwischen 35,4 und 113,0 %. Bei den Därmen #16 und #17 ist in dieser Gruppe nach der Perfusion eine über 100 %ige Gewichtszunahme zu verzeichnen.

Die Gewichtszunahmen in der Gruppe 4 unterliegen mit Werten zwischen 23,3 und 98,3 % ebenfalls starken Schwankungen.

In der Gruppe 2 ist die relative Gewichtszunahme signifikant höher (* $p < 0,05$) als in der Gruppe 3.

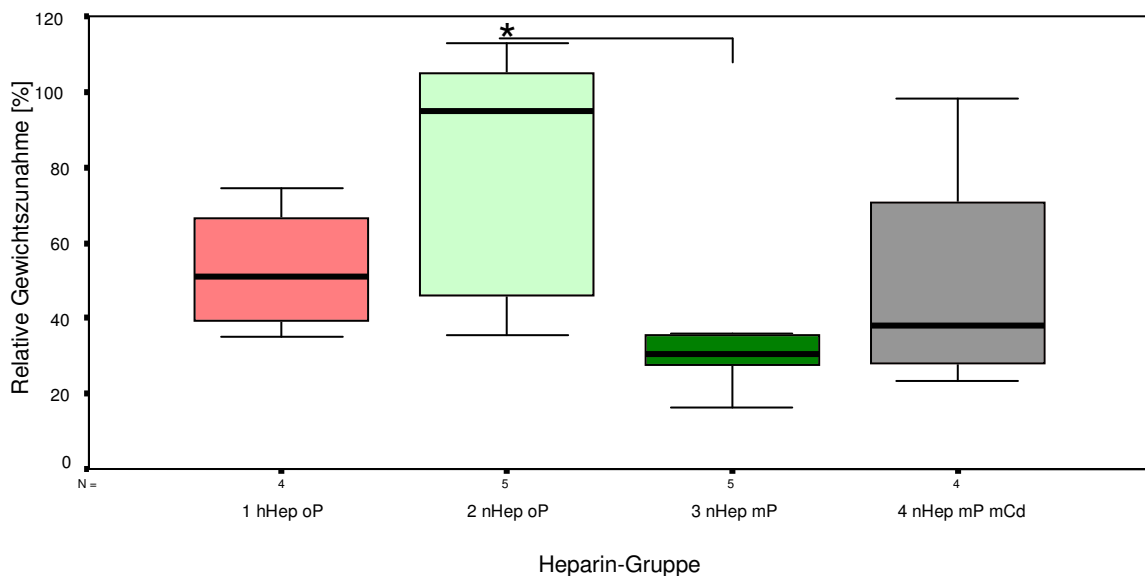


Abb. 4: Relative Gewichtszunahme mit Mesenterium in [%]

N = Anzahl der Tiere

* $p < 0,05$

5.2.2. Arterieller Blutfluss

Ziel war es, einen konstanten arteriellen Blutfluss von 100 ml/min aufrechtzuerhalten. Beim Vorliegen zu hoher arterieller Mitteldrücke musste eine Gegenregulation erfolgen, indem der arterielle Blutfluss über die Pumpen reduziert wurde. Im Mittel lag der arterielle Blutfluss bei 103 ± 10 ml/min.

Darm #17 weist in der 40. Minute kurzzeitig einen starken Abfall des arteriellen Perfusionsflusses auf. Dies ist darauf zurückzuführen, dass zu diesem Zeitpunkt der arterielle Mitteldruck stark anstieg (siehe Abbildung 44 im Anhang). Um einem weiteren Anstieg des arteriellen Mitteldruckes entgegenzuwirken, wurde der arterielle Perfusionsfluss zu diesem Zeitpunkt über die Pumpe deutlich reduziert und dann langsam wieder erhöht. Dies ist ebenfalls auf eine methodikkorrelierte Gegenregulation des ansteigenden arteriellen Mitteldruckes zurückzuführen.

5.2.3. Arterieller Mitteldruck

Die Mediane des arteriellen Blutdrucks, dargestellt als arterieller Mitteldruck, weisen zum Perfusionsbeginn (baseline) Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen mit Medianwerten von 62,0 bis maximal 124,0 mmHg auf. Innerhalb der ersten Stunde fallen die Mediane in den Gruppen 1, 3 und 4 ab.

Diese Gruppen weisen bis zum Perfusionsende mit geringen Schwankungen relativ konstante Verläufe auf, wie aus der Einzelfalldarstellung im Anhang (s. Abb. 42) zu entnehmen ist. Demgegenüber treten in der Gruppe 2 (nHep oP) sehr große Schwankungen und kaum konstante Verläufe auf.

In der Gruppe 2 bleibt während der ersten Stunde der hohe Medianwert des arteriellen Mitteldrucks erhalten; fällt bis zur 120. Minute von 126,0 auf 76,0 mmHg ab und steigt in der letzten Stunde wieder auf 93,0 mmHg an.

Die am niedrigsten heparinisierte Gruppe 2 weist zu jedem Zeitpunkt signifikant höhere Medianwerte gegenüber der Gruppe 3 auf, ab der 60. Perfusionsminute gegenüber der Gruppe 1 und zur 60. und 120. Perfusionsminute gegenüber der Gruppe 4 (* $p < 0,05$).

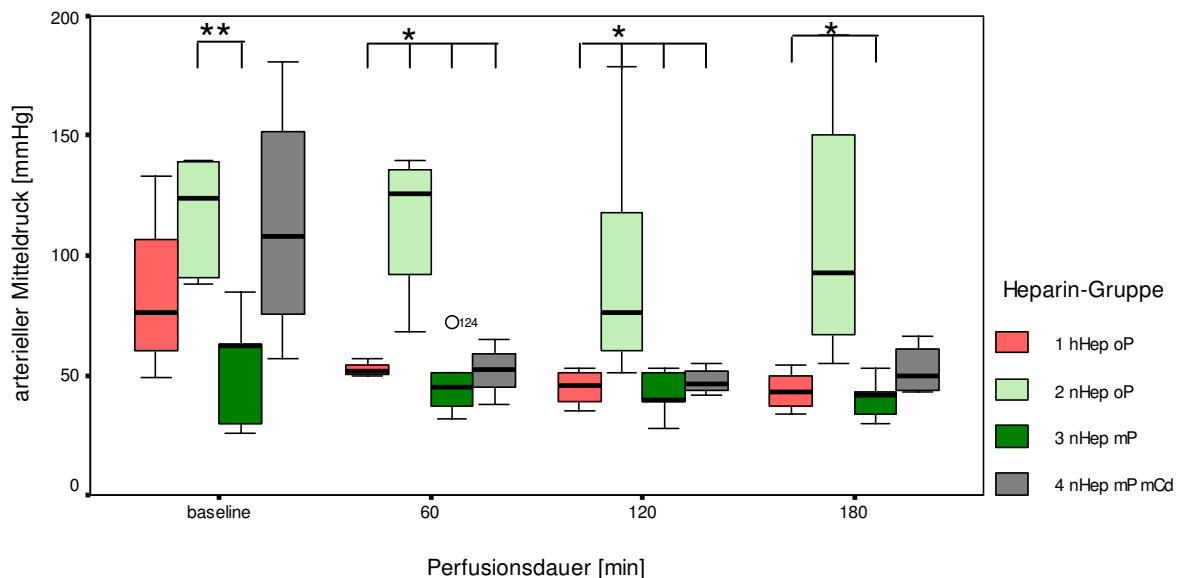


Abb. 5: Arterieller Mitteldruck in [mmHg] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

5.2.4. Druck vor dem Kapillar-Dialyse-Modul

Der hier dargestellte Filterdruck wurde direkt vor dem Kapillar-Dialyse-Modul gemessen. Er soll einen Hinweis auf die Funktionsfähigkeit und Durchlässigkeit des Filters geben.

Die Gruppe 3 weist schon ab Perfusionsbeginn einen weitgehend konstanten Verlauf auf, die Gruppen 1 und 4 erst ab der 60. Minute. Der Medianwert der Gruppe 4 liegt dabei durchschnittlich um $22,5 \pm 2$ mmHg höher als die entsprechenden Werte der Gruppen 2 und 3.

Im Vergleich damit - siehe auch Abb. 43 im Anhang - treten in der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 mit Medianwerten zwischen 41,0 und 62,0 mmHg wieder größere Schwankungen auf. Auch ist in dieser Gruppe zur 60. und zur 180. Perfusionsminute eine größere interquartile Range (IQR) erkennbar.

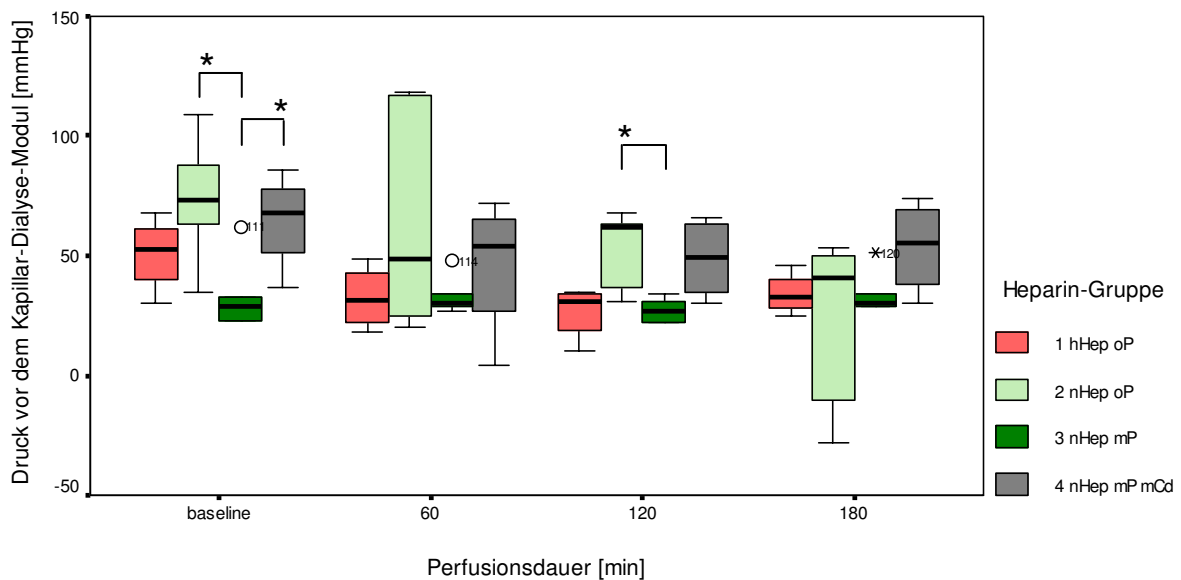


Abb. 6: Druck vor dem Kapillar-Dialyse-Modul in [mmHg] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

*
p < 0,05

5.2.5. Perfusionswiderstand des Darmsegmentes

Die baseline-Werte des Perfusionswiderstandes weisen teilweise große Unterschiede zwischen den Gruppen auf. An der baseline zeigt die Gruppe 2 (nHep oP) mit 0,75 mmHg*min/ml*100 g einen signifikant höheren Median auf (* $p < 0,05$), als die Gruppe 3 (nHep mP) mit 0,21 mmHg*min/ml*100 g.

Es kommt innerhalb der ersten Stunde in allen Gruppen zu einem Abfall des Perfusionswiderstandes (Mediane). In Gruppe 4 fällt dieser mit 0,35 mmHg*min/ml*100 g (von 0,65 auf 0,30 mmHg*min/ml*100 g) am größten aus.

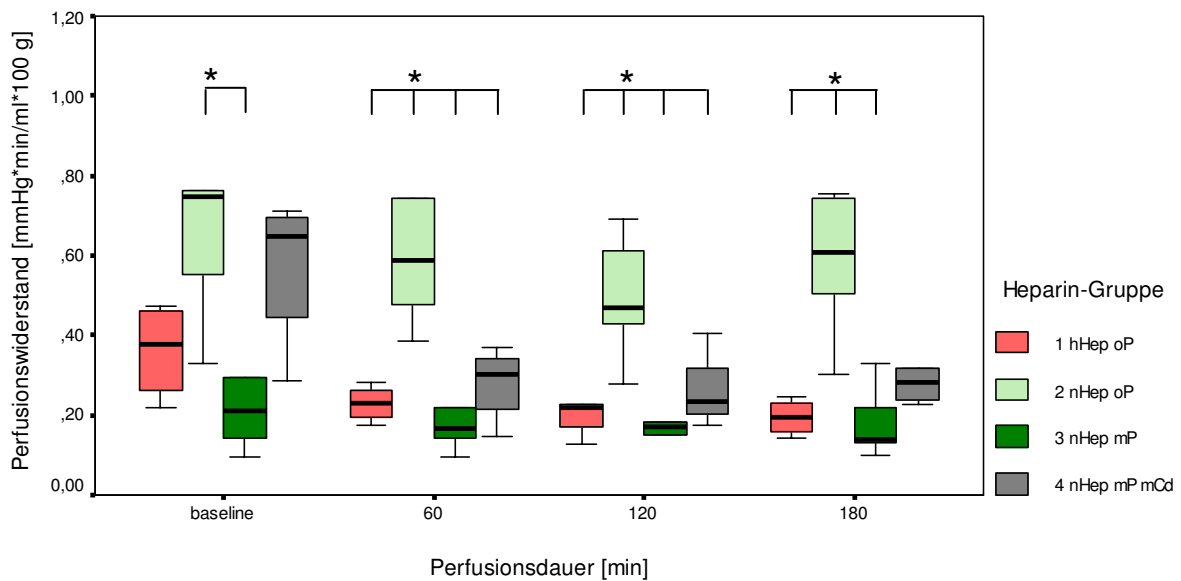


Abb. 7: Perfusionswiderstand in [mmHg*min/ml*100 g] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

Während der Medianverlauf des Perfusionswiderstandes ab der 60. Perfusionsminute innerhalb der Gruppen 1, 3 und 4 annähernd konstant ist, steigt der Medianwert des Perfusionswiderstandes in der Gruppe 2 bis zur 180. Perfusionsminute deutlich von 0,47 auf 0,61 mmHg*min/ml*100 g an.

In der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 liegen ab der 60. Perfusionsminute gegenüber den übrigen Gruppen signifikant höhere Perfusionswiderstände vor (* $p < 0,05$). Weiterhin treten in dieser Gruppe die größten Schwankungen auf. Dies gilt auch hinsichtlich des arteriellen Mitteldrucks.

5.3. Hämatologische Parameter

5.3.1. Leukozyten

Die Bestimmung der Leukozyten kann einen Hinweis auf deren Adhäsion an fremde Oberflächenstrukturen geben.

Der Medianwert der Leukozytenzahl (baseline) liegt in der Gruppe 2 mit 22,2 höher als in den Gruppen 1, 3 und 4.

Am Perfusionsende ist in allen Gruppen ein Abfall der Leukozytenzahl zu verzeichnen. Den größten Abfall des Medians von 22,2 auf 9,1 Leukozyten/nl erfährt die am niedrigsten heparinisierte Gruppe 2. Diese Verminderung ist statistisch signifikant (* $p=0,031$).

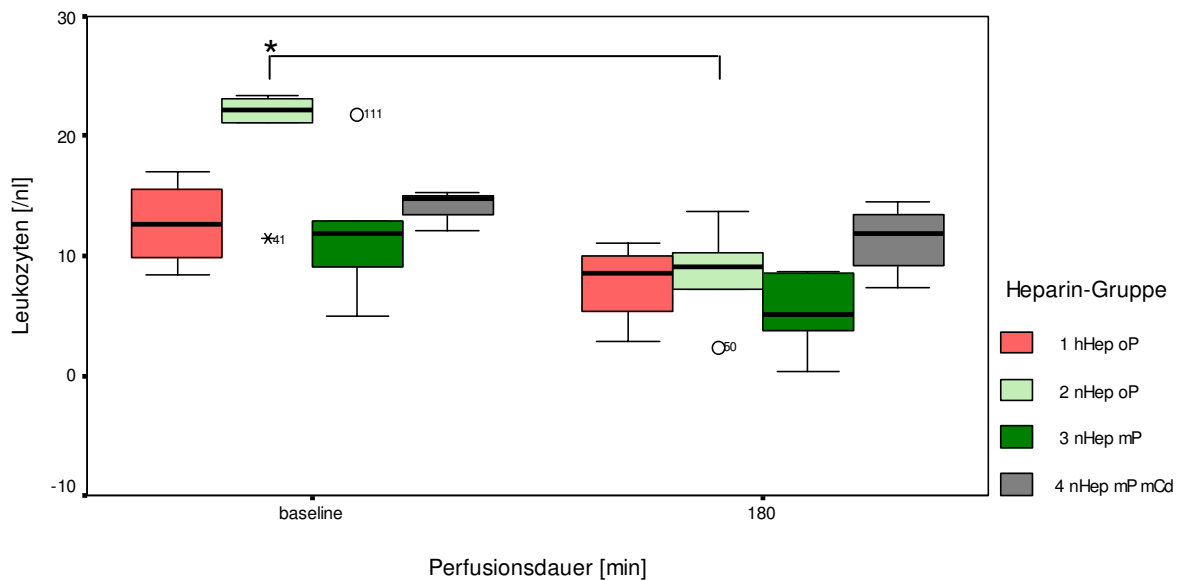


Abb. 8: Leukozytenkonzentration in [Leukozyten/nl] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.3.2. Erythrozyten

Die Zahl der Erythrozyten im Perfusionsmedium wurde ebenfalls zu Beginn und am Ende der Darmperfusion bestimmt.

Der Median der Gruppe 3 weist zu Beginn der Perfusion mit 4,77 Erythrozyten/pl den niedrigsten Wert auf.

Die Gruppe 4 mit einem Median von 7,11 Erythrozyten/pl hat hierbei nur gegenüber der Gruppe 3 einen signifikant höheren baseline-Wert.

Es kommt in allen Gruppen nach 180 Perfusionsminuten zu einem leichten Anstieg der Medianwerte der Erythrozytenzahl: Gruppe 1 um 0,88, Gruppe 2 um 1,48, Gruppe 3 um 1,24 und Gruppe 4 um 0,9 Erythrozyten/pl.

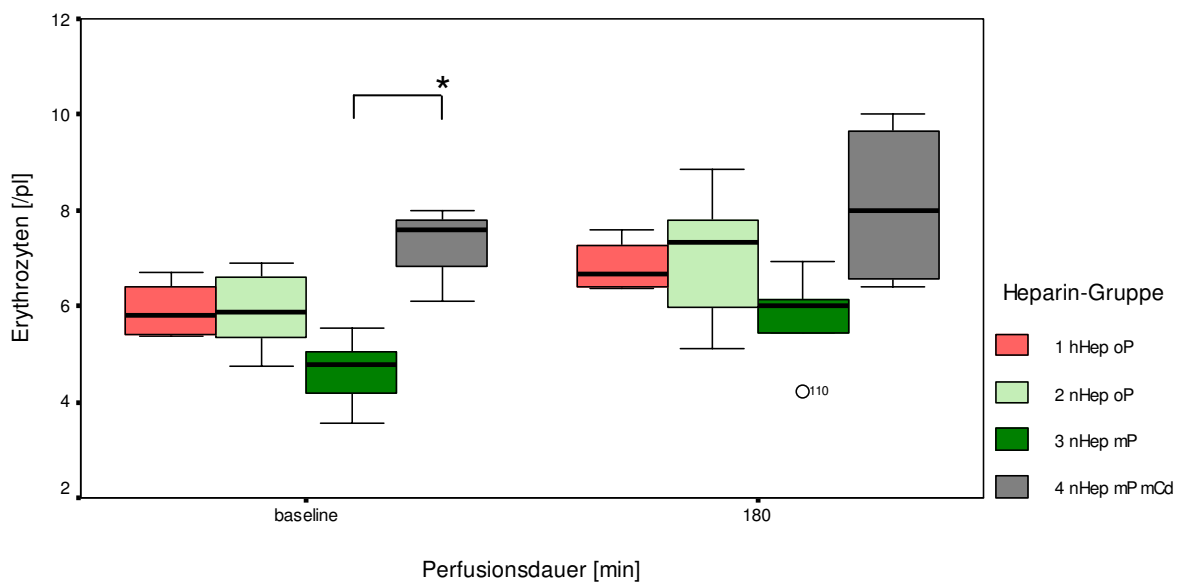


Abb. 9: Erythrozytenkonzentration in [Erythrozyten/pl] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.3.3. Hämoglobin

Während es zur Bestimmung der Erythrozyten eines Blutbildes bedarf, das aus Kostengründen nur am Anfang und am Ende der jeweiligen Perfusion bestimmt wurde, kann das Hämoglobin jederzeit direkt über das BGA-Gerät bestimmt werden. Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes dient als indirekte Hämatokrit-Kontrolle. Es muß jedoch bedacht werden, dass das freie Hämoglobin hier nicht mit eingeht.

Der baseline-Wert des Hämoglobingehaltes - wie auch der der Erythrozyten - ist in der Gruppe 4 höher als in den übrigen Gruppen. Er beträgt 7,11 mg/dl.

Darm #17 aus der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 weist an der baseline einen extrem hohen Wert [*51] auf.

Während die Mediane der Gruppen 1, 3 und 4 nur geringfügig ansteigen, treten in den Gruppen 2 größere Schwankungen in der Hämoglobinkonzentration auf. Es kommt dabei in diesen drei Gruppen vor allem in der ersten Perfusionsstunde zu einem Anstieg der Medianwerte.

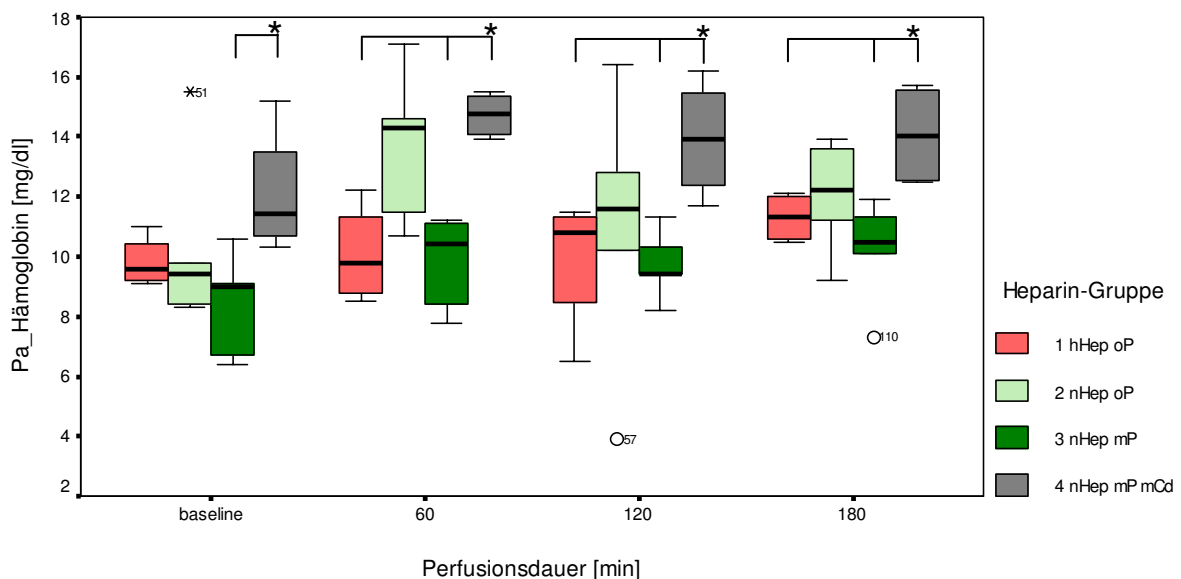


Abb. 10: Hämoglobinkonzentration in [g/dl] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

Die starken Schwankungen in der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 erklären sich daraus, dass bei den Därmen #16 und #17 während der Perfusion die Notwendigkeit bestand, das Blut auf parallel geschaltete Kapillar-Dialyse-Module umzuleiten, wodurch kurzzeitig eine Hämodilution des Blutes herbeigeführt wurde. Hinzukommt, dass Darm #17 in der

120. Perfusionsminute mit dem sehr niedrigen Wert von 3,9 mg/dl einen Ausreißer [°57] darstellt. Hier wurde unmittelbar vor der Abnahme der Blutproben auf ein weiteres Kapillardialyse-Modul (s. Anhang Abb. 45) umgeschaltet.

Die Mediane der Hämoglobinkonzentration liegen in der Gruppe 4 über den gesamten Perfusionszeitraum höher als in den übrigen Gruppen (* $p < 0,05$).

5.3.4. Freies Hämoglobin

Das freie Hämoglobin resultiert aus der Schädigung von Erythrozyten.

Der baseline-Wert des freien Hämoglobins der Gruppe 4 (Median 12 mg/dl) ist nahezu doppelt so hoch wie die der übrigen Gruppen (Mediane zwischen 6 und 7 mg/dl).

Es kommt während der Perfusionsdauer von 180 Minuten in allen Gruppen zu einem Anstieg der Medianwerte. Die Zunahme der freien Hämoglobinkonzentration fällt dabei in den Gruppen 2 und 4 am deutlichsten aus und zeigt somit eine stärker ausgeprägte Hämolyse.

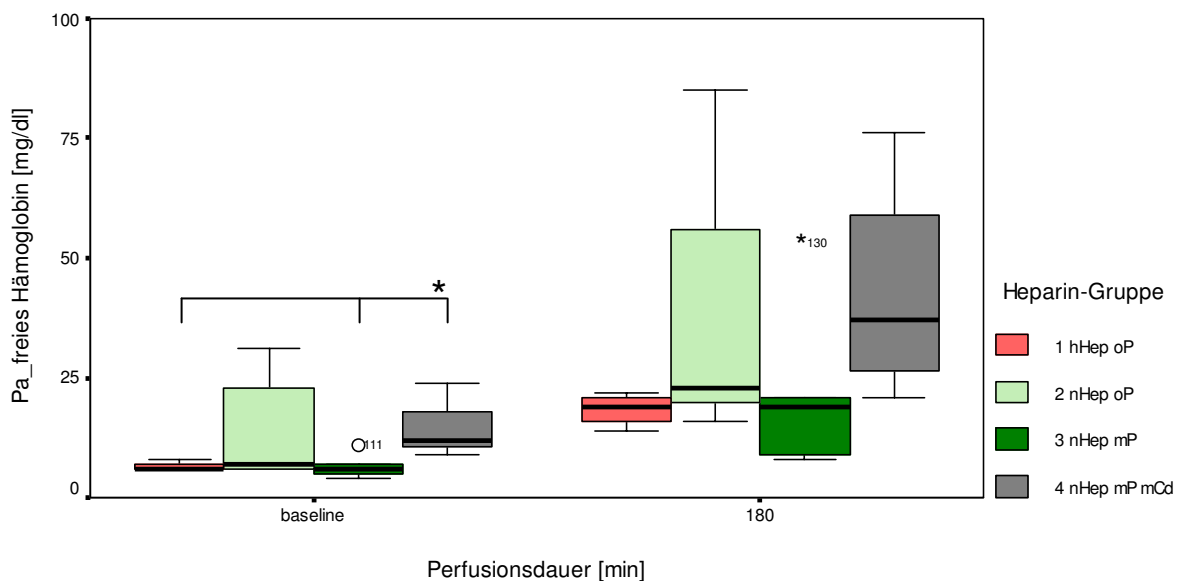


Abb. 11: Freie Hämoglobinkonzentration in [mg/dl] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.3.5. Thrombozyten

Durch die Bestimmung der Thrombozytenkonzentration gewinnt man einen Marker der Gerinnungsaktivierung.

Die Medianwerte der Thrombozytenzahl liegen zu Perfusionsbeginn in der Gruppe 1 mit 354, in der Gruppe 2 mit 302 und in der Gruppe 3 mit 345 Thrombozyten/nl relativ dicht zusammen. Demgegenüber weist die Gruppe 4 mit 461,5 Thrombozyten/nl einen höheren baseline-Wert auf, der sich aber noch im physiologischen Bereich (175 - 580 Thrombozyten/nl) befindet.

Am Perfusionsende steigen die Medianwerte in den Gruppen, bei denen ein Priming des Schlauchsystems durchgeführt wurde um 145 Thrombozyten/nl in der Gruppe 3 und um 64 Thrombozyten/nl in der Gruppe 4 an. Dagegen fallen die Medianwerte der Thrombozytenzahl in den Gruppen ohne Priming um 61 Thrombozyten/nl in der Gruppe 1 und um 64 Thrombozyten/nl in der Gruppe 2 ab.

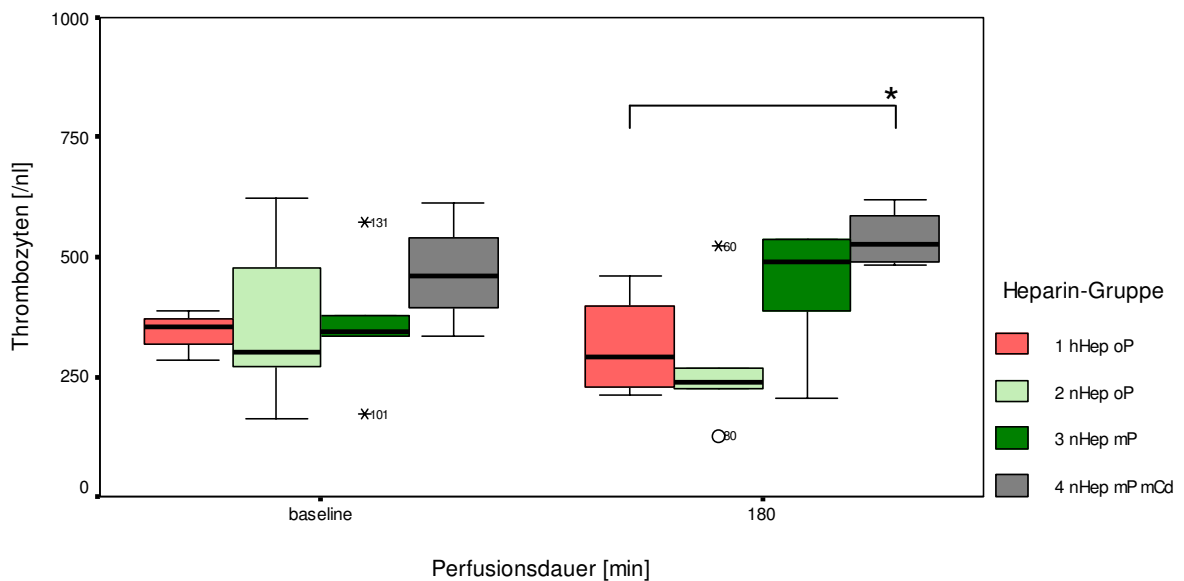


Abb. 12: Thrombozytenkonzentration in [Thrombozyten/nl] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

*
p<0,05

5.4. Klinisch-chemische Parameter

5.4.1. Protein

Ein Anstieg der Proteinkonzentration weist auf eine mögliche Hämokonzentration hin, ein Abfall auf eine mögliche Hämodilution oder Adhäsion an fremde Oberflächenstrukturen.

Die baseline-Werte zeigen hinsichtlich der Mediane der Proteinkonzentration deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Gruppe 4 weist einen signifikant höheren baseline-Wert als die Gruppen 1 und 3 auf (* $p < 0,05$). Im Vergleich damit bleibt die Proteinkonzentration in den Gruppen 1 und 3 innerhalb ihrer Schwankungsbreite einigermaßen konstant.

In der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 fällt der Medianwert nach 180 Minuten um 1,2 g/dl ab, während er in der Gruppe 4 um 1,0 g/dl ansteigt, was im Modell ausschließlich auf eine Hämokonzentration im Hämofilter zurückzuführen ist und somit ein Artefakt darstellt.

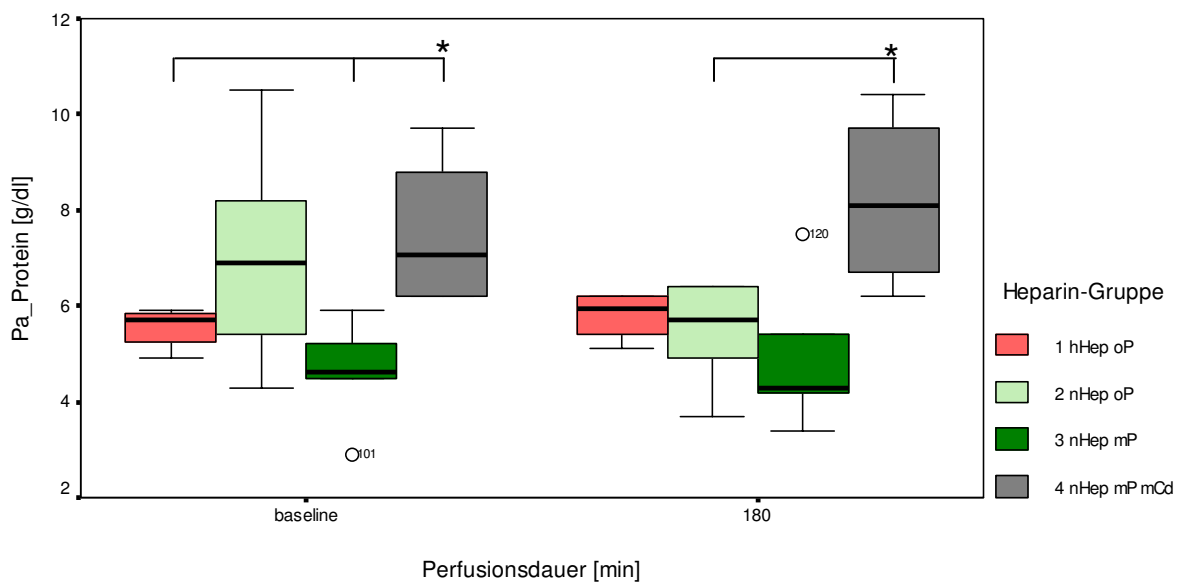


Abb. 13: Proteinkonzentration in [g/dl] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

*
p < 0,05

5.4.2. Albumin

Albumin dient der Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes. Ein Abfall der Albuminkonzentration kann zur Ausbildung von Ödemen führen.

Die Gruppen 2 und 3 weisen mit Medianen von 2,6 und 2,5 g/dl nahezu gleiche Ausgangswerte auf, während diese in der Gruppe 1 mit 3,1 g/dl und in der Gruppe 4 mit 4,0 g/dl etwas höher liegen.

Die Albuminkonzentration (Median) bleibt über den Perfusionsverlauf in den Gruppen 1 und 3 weitgehend konstant, während in der Gruppe 2 ein leichter Abfall zu verzeichnen ist. Im Gegensatz dazu steigt der Medianwert in der Gruppe 4 auf 4,8 g/dl an.

In der Gruppe 3 treten in der 180. Perfusionsminute ein Extremwert [*120] und ein Ausreißer [°100] auf. Bereits an der baseline weisen die jeweiligen Darmsegmente den höchsten bzw. niedrigsten Wert in dieser Gruppe auf, so dass der Anstieg der Proteinkonzentration insgesamt gering ausfällt.

Am Perfusionsende haben die Gruppen 1 und 4 signifikant höhere Werte als die Gruppe 2 (* $p < 0,05$).

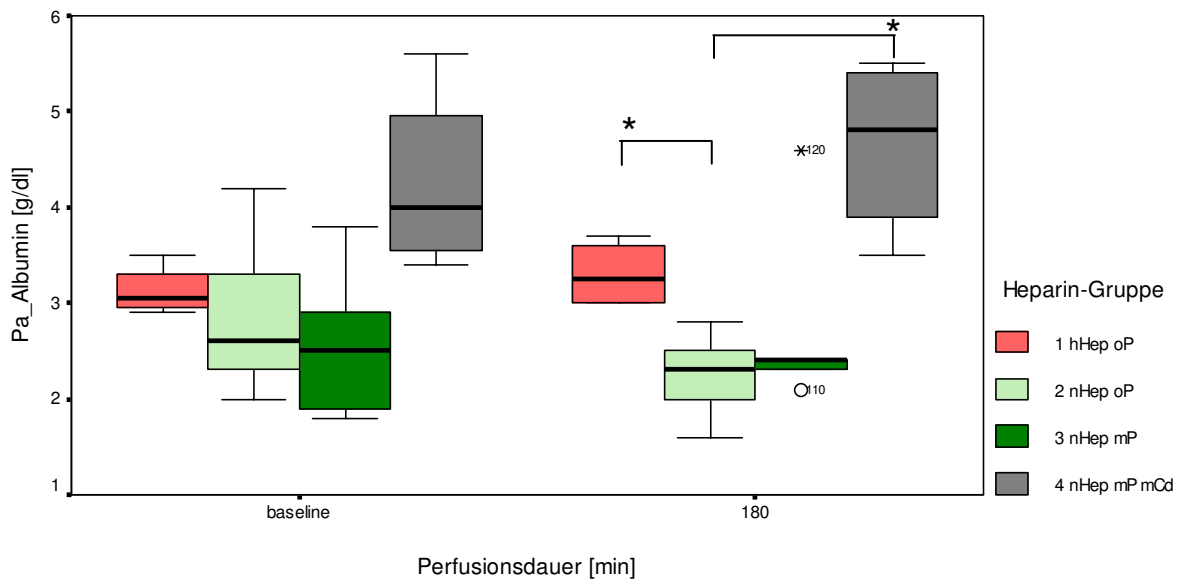


Abb. 14: Albuminkonzentration in [g/dl] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.5. Spezielle Parameter der Zellschädigung

5.5.1. Laktatdehydrogenase

Die LDH-Konzentration im arteriellen Blut wurde zu Beginn der Perfusion und am Perfusionsende bestimmt, während die Gesamtmenge der LDH in der produzierten Ingesta nur am Perfusionsende dargestellt wird. Der Grund dafür ist, dass in der zugeführten Ausgangslösung, Maltose-Lsg. (Gruppen 1 bis 3) bzw. Maltose-Cd-Lsg. (Gruppe 4), kein LDH nachweisbar war. Bei der Berechnung der Gesamtmenge der LDH im produzierten Ingestavolumen wird auf 100 g Darmgewicht Bezug genommen, um vergleichbare Werte zu erhalten.

5.5.1.1. LDH im Blut

Während die Mediane der LDH-Konzentration in den Gruppen 1, 2 und 3 tendenziell einen konstanten Verlauf aufweisen, steigt dieser in der Gruppe 4 deutlich an. Die Gruppe 4 besitzt dabei mit 333 U/l*100 g bereits an der baseline den höchsten Wert.

Die IQR wird in den niedriger heparinisierten Gruppen 2 und 3 zur 180. Perfusionsminute größer.

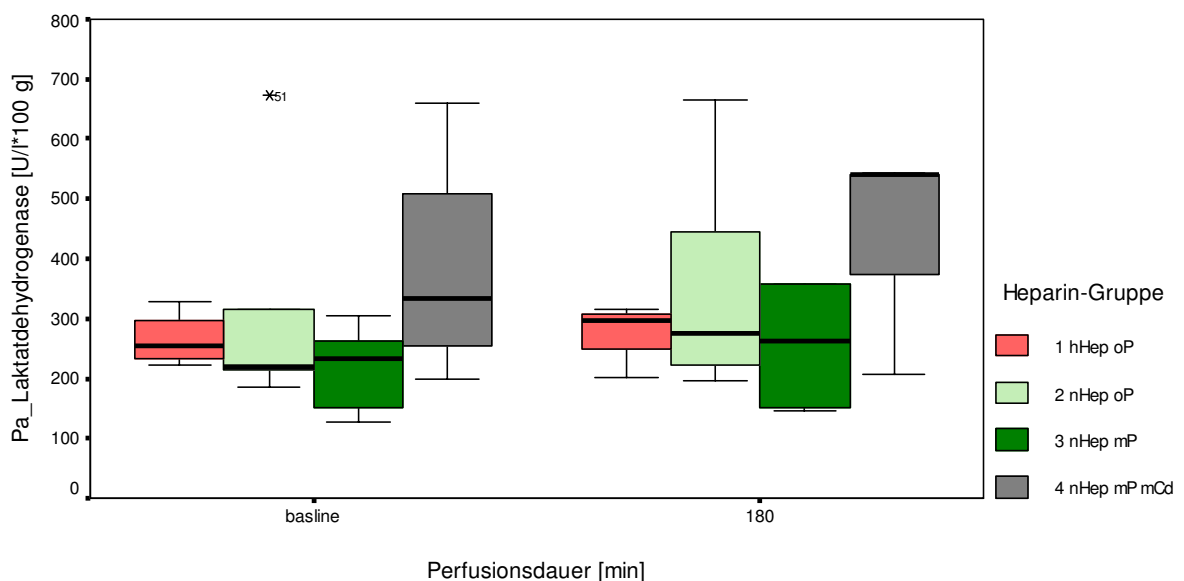


Abb. 15: Laktatdehydrogenase arteriell [U/l*100 g] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

5.5.1.2. LDH in der Ingesta

Die niedrigsten Werte der Gesamtmenge der LDH in der Ingesta (Median) werden in den Gruppen erreicht, bei denen wenig Heparin verwendet und ein Priming des Schlauchsystems durchgeführt wurde (Gruppe 3: 561,9 U*100 g und Gruppe 4: 555,2 U*100 g).

Die am höchsten heparinisierte Gruppe 1 erreicht Medianwerte um 631,2 U*100 g und die am niedrigsten heparinisierte Gruppe 2 um 692,7 U*100 g.

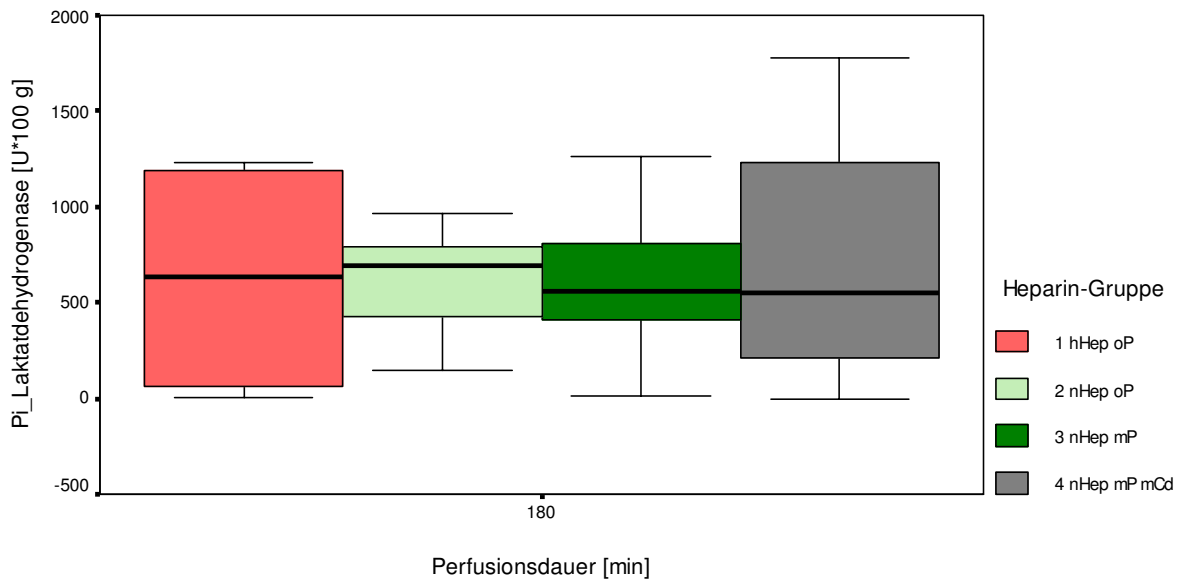


Abb. 16: Gesamtmenge der Laktatdehydrogenase in der Ingesta in [U*100 g] nach 180 Perfusionsminuten

5.5.1. Glutamatdehydrogenase

Bei der GLDH wird, wie auch die bei der LDH, die Konzentration im arteriellen Blut zu Beginn der Perfusion (baseline) und nach 180 Perfusionsminuten angegeben. In der 180. Minute wird in der Ingesta die Gesamtmenge an GLDH im produzierten Ingestavolumen bestimmt. Zwecks besserer Vergleichbarkeit werden auch hier die Werte auf 100 g Darmgewicht (DG) umgerechnet.

5.5.2.1. GLDH im Blut

Die Gruppen 1, 3 und 4 weisen mit Mediane zwischen 0,48 und 0,55 U/l*100 g nahezu gleiche baseline-Werte auf, während dieser in der Gruppe 2 fast doppelt so hoch ist.

In der Gruppe 3 liegt an der baseline [*121] und zur 180. Perfusionsminute [*130] ein Extremwert vor. Hierbei handelt es sich um ein Darmsegment, das im Vergleich mit den übrigen in dieser Gruppe etwas höhere Werte aufweist. Die GLDH-Konzentration bleibt in dieser Gruppe insgesamt relativ konstant.

In den Gruppen 1, 2 und 4 ist hingegen ein Anstieg der Medianwerte zu erkennen.

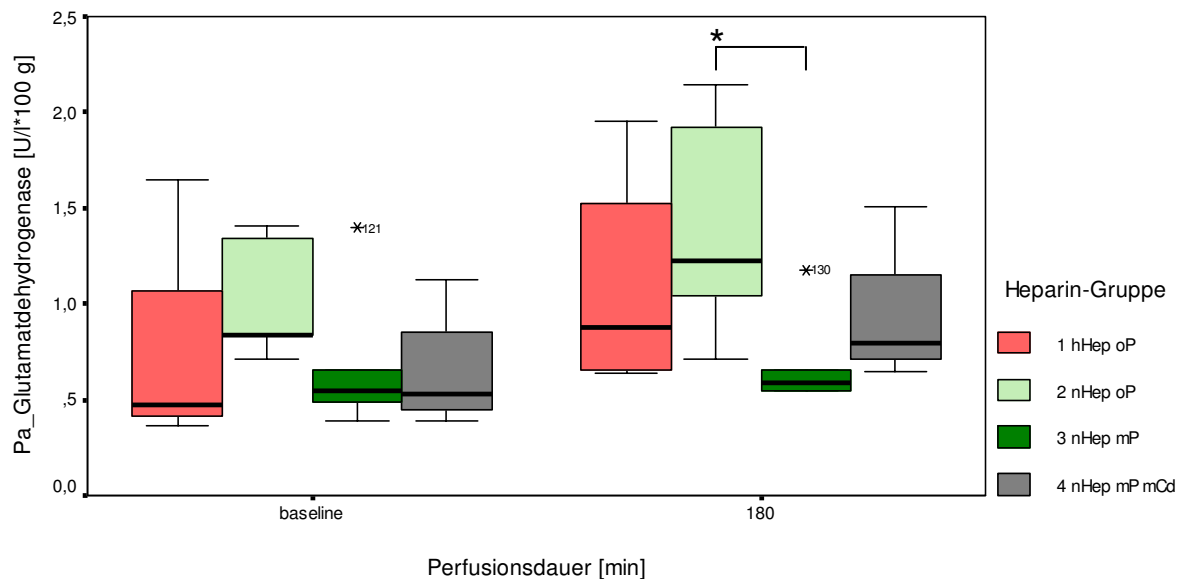


Abb. 17: Glutamatdehydrogenasekonzentration arteriell in [U/l*100 g] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.5.2.2. GLDH in der Ingesta

Der Medianwert der Gruppe 1 liegt bei 2 U*100 g. Ein Ausreißer tritt sowohl in der Gruppe 2 [°50] auf wie auch in der Gruppe 3 [°120].

Die Gesamtmenge an GLDH in der Ingesta liegt in der Gruppe 3 bei 4 U*100 g, während die Gruppen 2 und 4 Werte von 6 bzw. 7 U*100 g aufweisen.

Es treten keine statistisch signifikanten Unterschiede auf.

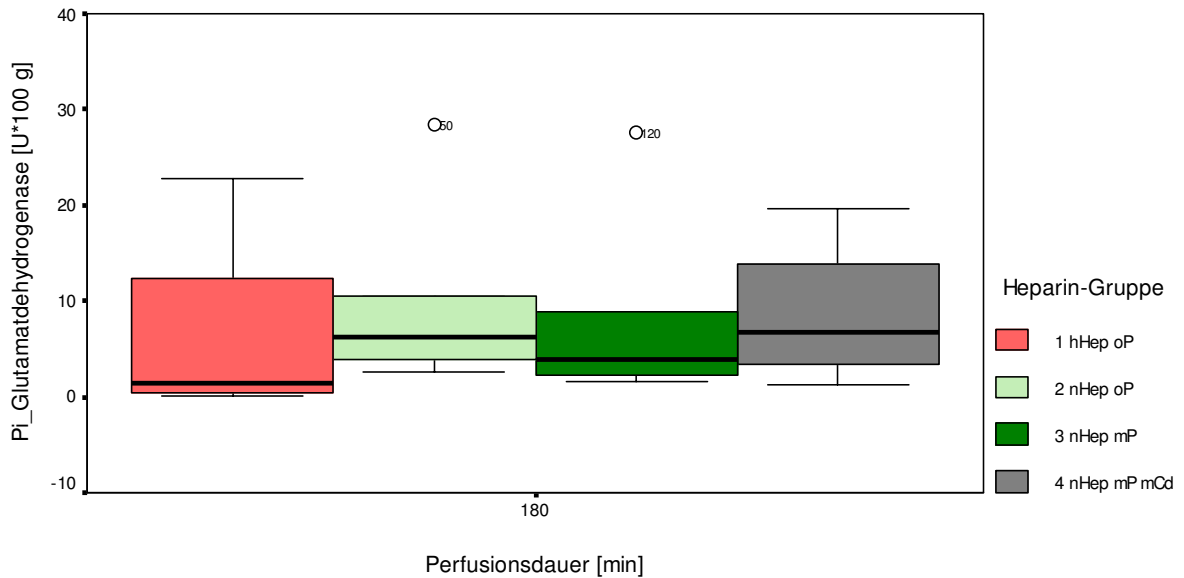


Abb. 18: Gesamtmenge der Glutamatdehydrogenase in der Ingesta in [U*100 g] nach 180 Perfusionsminuten

5.6. Funktionelle Parameter

5.6.1. Kontraktionsmessungen

Die Kontraktionsmessungen dienen als Nachweis der Funktion des enterischen Nervensystems und werden als Parameter für die Beurteilung der Vitalität der Darmsegmente herangezogen.

5.6.1.1. Frequenz der Kontraktionen proximal und distal

Die höher heparinisierte Gruppe 1 weist im proximalen Abschnitt zu den Messzeitpunkten mit 13 bis 14 Kontraktionen/min fast identische Mediane auf. Demgegenüber fallen sie distal kontinuierlich von 13 auf 9 Kontraktionen/min ab. Die am niedrigsten heparinisierte Gruppe 2 hat proximal mit 10 bis 12 Kontraktionen/min zu jedem Messzeitpunkt niedrigere Medianwerte als die übrigen Gruppen. Der Median fällt in dieser Gruppe zur 100. Perfusionsminute deutlich um 3 Kontraktionen/min ab und steigt in der 160. Perfusionsminute wieder an. Nicht anders ist der Verlauf im distalen Abschnitt.

Die Mediane der Gruppe 3 fallen im proximalen und distalen Abschnitt des Darmsegmentes zwischen der 40. und der 100. Perfusionsminute um eine (proximal) bzw. zwei (distal) Kontraktion/en/min ab. Danach bleiben sie proximal mit 14 Kontraktionen/min konstant bzw. steigen distal um eine Kontraktion auf 13 Kontraktionen/min an.

Bei der Gruppe 4 (nHep mP mCd) ist ein Abfall von 15 Kontraktionen/min auf 11 (proximal) bzw. 13 (distal) Kontraktionen/min zu erkennen.

Insgesamt betrachtet, haben die Kontraktionsfrequenzen im proximalen Abschnitt der Darmsegmente nahezu die gleiche Höhe wie im distalen Abschnitt.

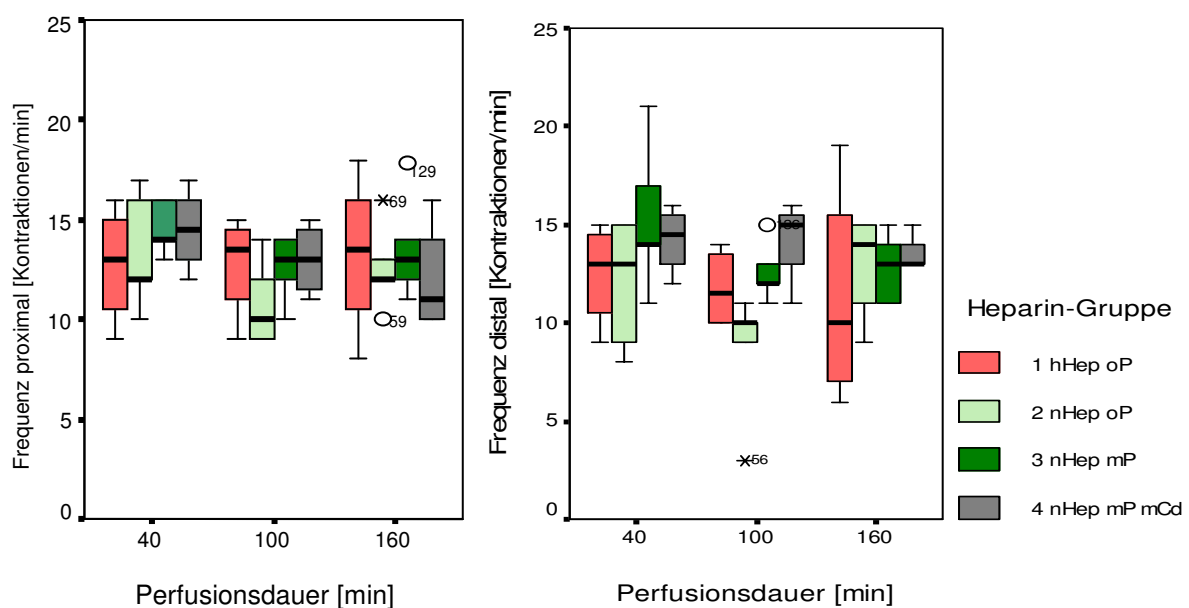


Abb. 19 Frequenz proximal und distal in [Kontraktionen/min] nach 40, 100 und 160 Perfusionsminuten

5.6.1.2. Kontraktionsgeschwindigkeit proximal und distal pro 15 cm

Zwischen der 40. und der 100. Perfusionsminute steigt die Kontraktionsgeschwindigkeit proximal in allen Gruppen an. Im distalen Abschnitt fällt sie in diesem Zeitraum nur in der Gruppe 4 von 5,1 auf 4 sec/15 cm ab.

Während die Medianwerte in den Gruppen 1 und 4 ab der 100. Perfusionsminute proximal (Gruppe 1 von 5,5 auf 7,4 bzw. Gruppe 4 von 5,6 auf 7,2 sec/15 cm) und distal (Gruppe 1 von 5,9 auf 6,5 bzw. Gruppe 4 von 4 auf 6,6 sec/15 cm) weiter ansteigen, fallen sie in der Gruppe 2 (proximal um 1,6 sec/15 cm und distal um 0,7 sec/15 cm) und in der Gruppe 3 (proximal um 0,9 sec/15 cm und distal um 0,3 sec/15 cm) ab.

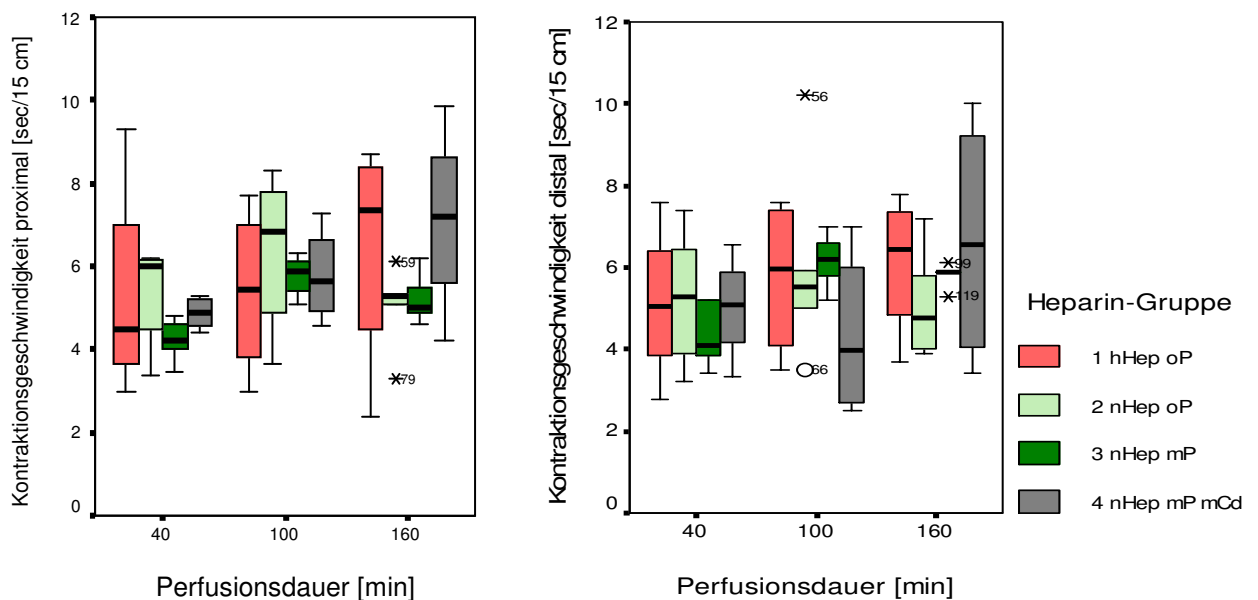


Abb. 20: Kontraktionsgeschwindigkeit proximal und distal in [sec/15 cm] nach 40, 100 und 160 Perfusionsminuten

5.6.2. Glukose

Im Folgenden werden die venösarterielle (va_) Glukosedifferenz und die Gesamtmenge an Glukose in der Ingesta (jeweils bezogen auf 100 g Darmgewicht) sowie die Gesamtmenge an Glukose im Dialysat dargestellt. Die Glukosespiegel dienen hier als Marker für die Glukoseresorption aus der gespaltenen Maltose und damit als Funktionsnachweis der dafür notwendigen Enzyme und Glukosetransporter.

5.6.2.1. Glukose im Blut

In den Abbildungen der va_Glukosedifferenz sind die Zeitpunkte der luminalen Zugabe der Maltose-Lsg. dargestellt. Nach Gabe der ersten 60 ml Maltose-Lsg. ist in den ersten 20 Minuten ein Anstieg des Medians der va_ Glukosedifferenz in der Gruppe 1 um 0,025 mmol/min*100 g, in der Gruppe 2 um 0,044 mmol/min*100 g und in der Gruppe 3 um 0,087 mmol/min*100 g zu verzeichnen. Der extrem hohe Wert [*12] in der Gruppe 2 ist durch eine Hämodilution bedingt, deren Ursache das Umschalten auf weitere Kapillar-Dialyse-Module beim Darm #17 war.

Im Vergleich mit der hoch heparinisierten Gruppe 1 und der Kontrollgruppe 4 ist der Anstieg in der Gruppe 2 (nHep oP) und in der Gruppe 3 (nHep mP) signifikant (*p<0,05).

In der funktionellen Kontrollgruppe 4 erfolgt in den ersten 20 Minuten nach der einmaligen Gabe von 120 ml Maltose-Cd-Lsg. ein Anstieg des Medians der Glukose im venösen Blut, um 0,151 mmol/min*100 g.

Nach der 20. Perfusionsminute sinkt der Median der va_Glukosedifferenz in allen Gruppen ab. Nur in der Gruppe 2 fällt dieser unter die baseline-Werte ab.

Zwischen der 140. und der 160. Perfusionsminute, nach Gabe weiterer 60 ml Maltose-Lsg., steigt in den Gruppen 1 bis 3 wiederum der Median der va_Glukosedifferenz an. Es wird hierbei in der Gruppe 1 ein Anstieg um 0,025 mmol/min*100 g, in der Gruppe 2 um 0,028 mmol/min*100 g und in der Gruppe 3 um 0,057 mmol/min*100 g erreicht. Der deutliche Anstieg in der Gruppe 3 weist darauf hin, dass mehr Glukose resorbiert wurde. Die Zunahme ist zur 160. Perfusionsminute ebenfalls signifikant (*p<0,05). In der Gruppe 2 ist zu diesem Zeitpunkt keine Signifikanz gegeben. In der Gruppe 4, bei der in der 140. Perfusionsminute keine weitere Maltose-Cd-Lsg. zugeführt wird, ist kein Anstieg zu verzeichnen.

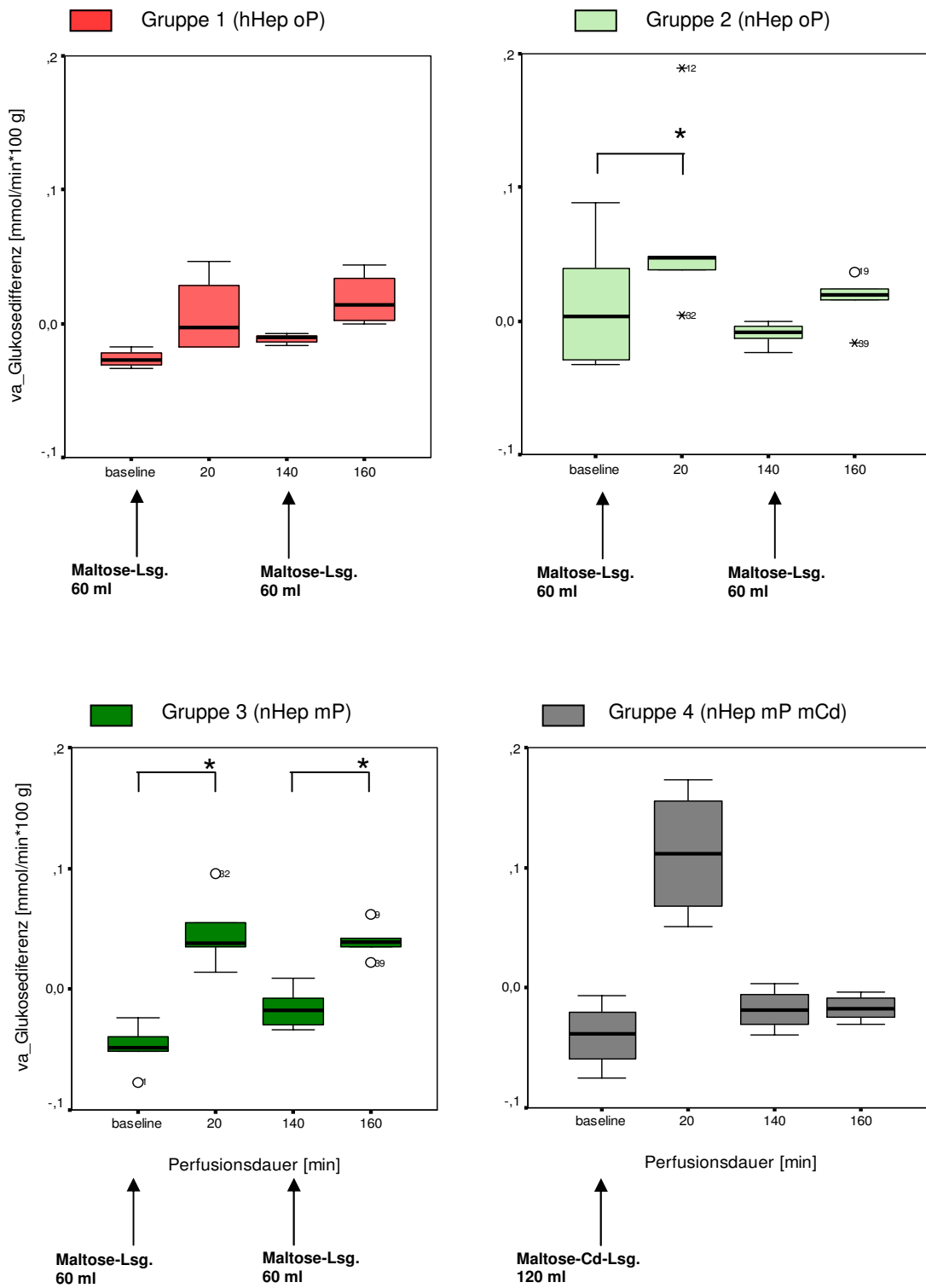


Abb. 21: Venösarterielle (va) Glukosediferenz in [mmol/min*100 g] baseline, nach 20, 140 und 160 Perfusionsminuten

* p < 0,05

5.6.2.2. Glukose in der Ingesta

Die Gesamtmenge an Glukose in der Ingesta wurde bestimmt, um einen Hinweis auf die Resorptionsleistung zu erhalten.

Die Gruppe 2 hat mit 1,98 mmol*100 g mehr Glukose in der Ingesta als die übrigen Gruppen. Demgegenüber weist die Gruppe 3 (nHep mP) einen niedrigeren Medianwert auf, und zwar einen solchen von 0,43 mmol*100 g.

Die Gruppe 4 hat in der 180. Minute einen Medianwert von 1,20 mmol*100 g.

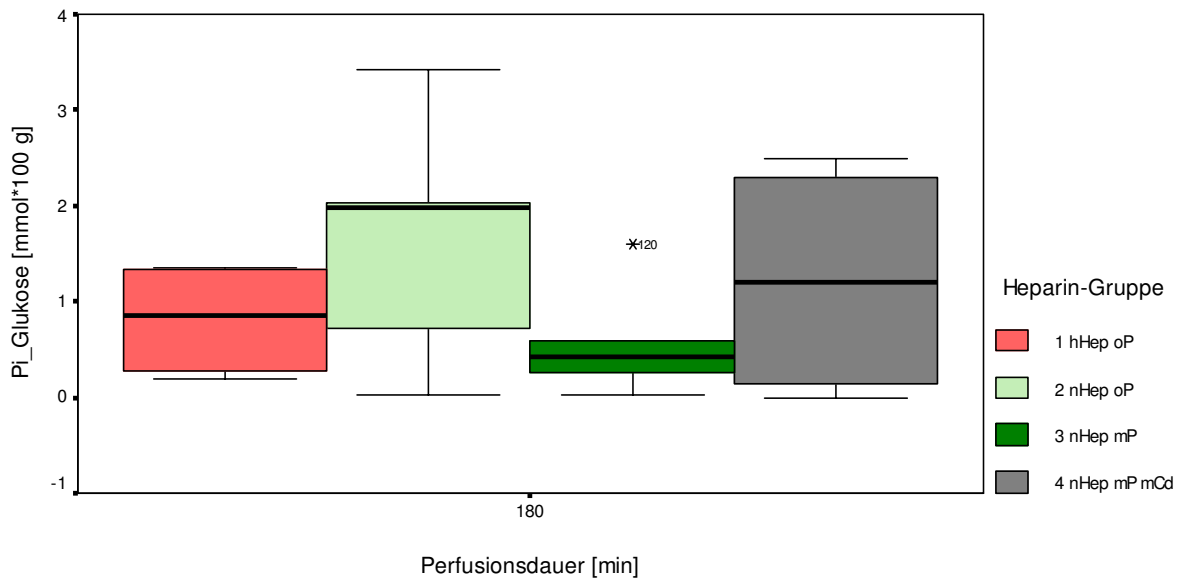


Abb. 22: Gesamtmenge an Glukose in der Ingesta in [mmol*100 g] nach 180 Perfusionsminuten

5.6.2.3. Glukose im Dialysat

Die Bestimmung der Glukose im Dialysat wurde durchgeführt, um den Glukoseverbrauch zu kontrollieren.

Während in der hoch heparinisierten Gruppe 1 ein Abfall der Glukose im Dialysat von 24,1 auf 20,9 mmol (Mediane) zu verzeichnen ist, verlaufen die Mediane der Gruppen 2 und 3 tendenziell konstant.

Bei der Kontrollgruppe 4 ist ein Anstieg von der Glukose im Dialysat um 1,9 mmol zu erkennen. Die interquartile Range (IQR) nimmt gegen Perfusionsende in allen Gruppen zu.

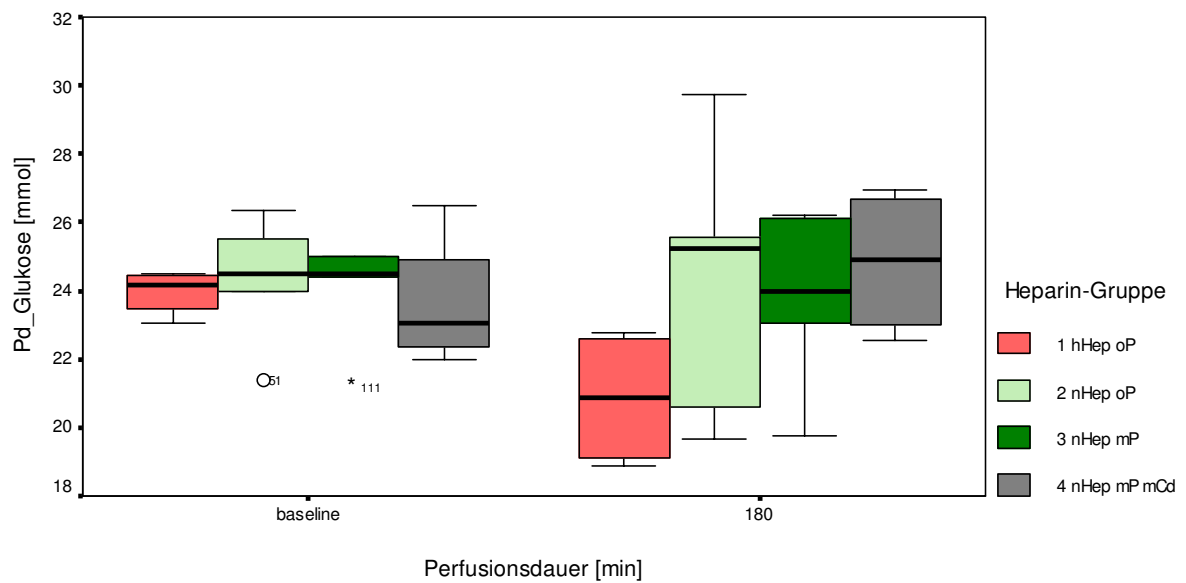


Abb. 23: Gesamtmenge an Glukose im Dialysat in [mmol] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.6.3. Laktat

Im Folgenden werden die venösarterielle (va_{L}) Laktatdifferenz und die Gesamtmenge an Laktat in der Ingesta (jeweils bezogen auf 100 g Darmgewicht) sowie die Gesamtmenge an Laktat im Dialysat dargestellt. Die Bestimmung von Laktat in den einzelnen Kompartimenten des Systems soll einen Hinweis auf die Laktatproduktion geben.

5.6.3.1. Laktat im Blut

Aus der Abbildung 24 ist zu entnehmen, dass bei den Gruppen 1 bis 3 innerhalb der ersten 140 Perfusionsminuten und bei der Gruppe 4 bis zur 160. Perfusionsminute Laktat gebildet wird.

Nach Gabe der zweiten 60 ml Maltose-Lsg. in der 140. Perfusionsminute steigt der Median der va_{L} -Laktatdifferenz an, in der Gruppe 1 um $0,004 \text{ mmol/min} \cdot 100 \text{ g}$, in der Gruppe 2 um $0,010 \text{ mmol/min} \cdot 100 \text{ g}$ und in der Gruppe 3 um $0,012 \text{ mmol/min} \cdot 100 \text{ g}$. Ansteigende Werte der va_{L} -Laktatdifferenz repräsentieren eine effektive Laktataufnahme des Gastrointestinaltraktes. Zwischen der 140. und 160. Perfusionsminute wird in diesen drei Gruppen tendenziell mehr Laktat resorbiert.

In der funktionellen Kontrollgruppe 4 fällt der Median der va_{L} -Laktatdifferenz zwischen der 140. und der 160. Perfusionsminute um $0,008 \text{ mmol/min} \cdot 100 \text{ g}$ ab. In dieser Gruppe überwiegt auch in dieser Zeitspanne die Laktatproduktion.

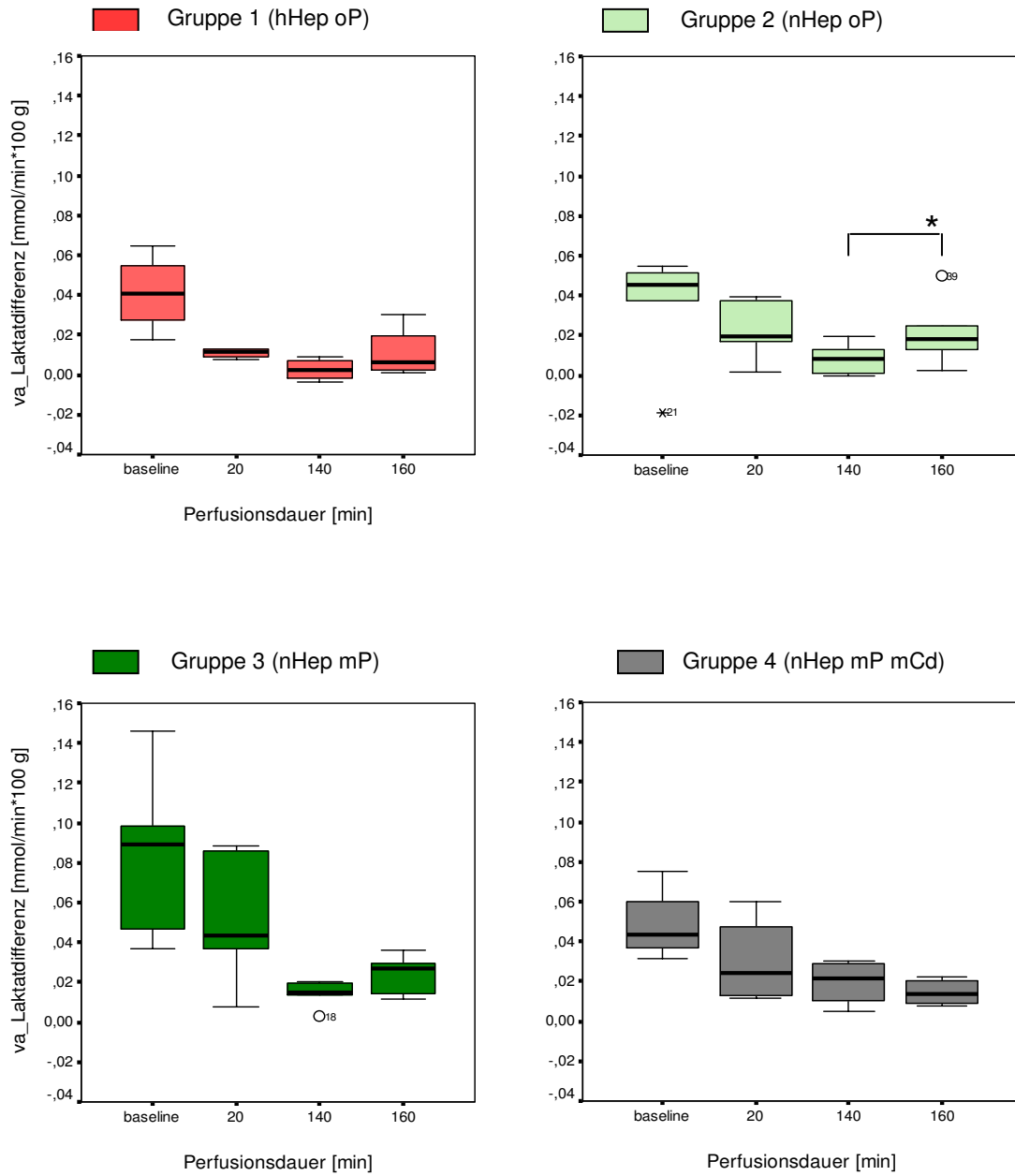


Abb. 24: Venösarterielle (va) Laktatdifferenz in [mmol/min*100 g] baseline, nach 20, 140 und 160 Perfusionsminuten

* p<0,05

5.6.3.2. Laktat in der Ingesta

Die Gruppe 3 besitzt mit 0,04 mmol*100 g den niedrigsten Medianwert, während dieser in der Gruppe 4 mit 0,31 mmol*100 g am höchsten ist.

In den Gruppen 1 und 2 liegen die Mediane der Gesamtmenge an Laktat mit Werten zwischen 0,11 und 0,15 mmol*100 g relativ dicht zusammen.

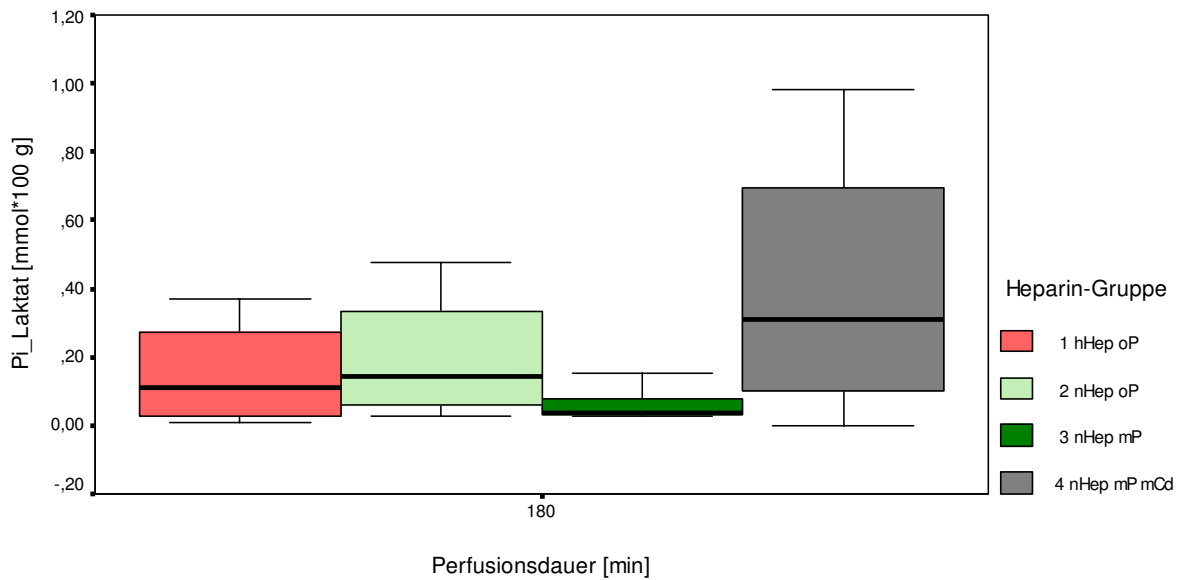


Abb. 25: Gesamtmenge Laktat in der Ingesta in [mmol*100 g] nach 180 Perfusionsminuten

5.6.3.3. Laktat im Dialysat

Die baseline-Werte zeigen in allen Gruppen, dass zu Perfusionsbeginn nur geringe Mengen an Laktat im Dialysat enthalten sind. Der höchste Medianwert von 3,16 mmol wird in der Gruppe 3 erreicht.

Insgesamt ist in allen Gruppen nach 180 Perfusionsminuten ein Anstieg der Gesamtmenge an Laktat (Mediane) im Dialysat zu verzeichnen, der in der Gruppe 3 am niedrigsten ausfällt. Ausgehend von den Medianwerten an der baseline ist der Anstieg in den Gruppen 2 und 3 statistisch signifikant (* $p < 0,05$). Die Gruppe 2 besitzt zum Perfusionsende mit 7,91 mmol den höchsten Laktatgehalt im Dialysat (Median).

Der Anstieg der Mediane in den Gruppen 1 und 4 ist aufgrund der kleinen Fallzahl ($n=4$) statistisch nicht signifikant.

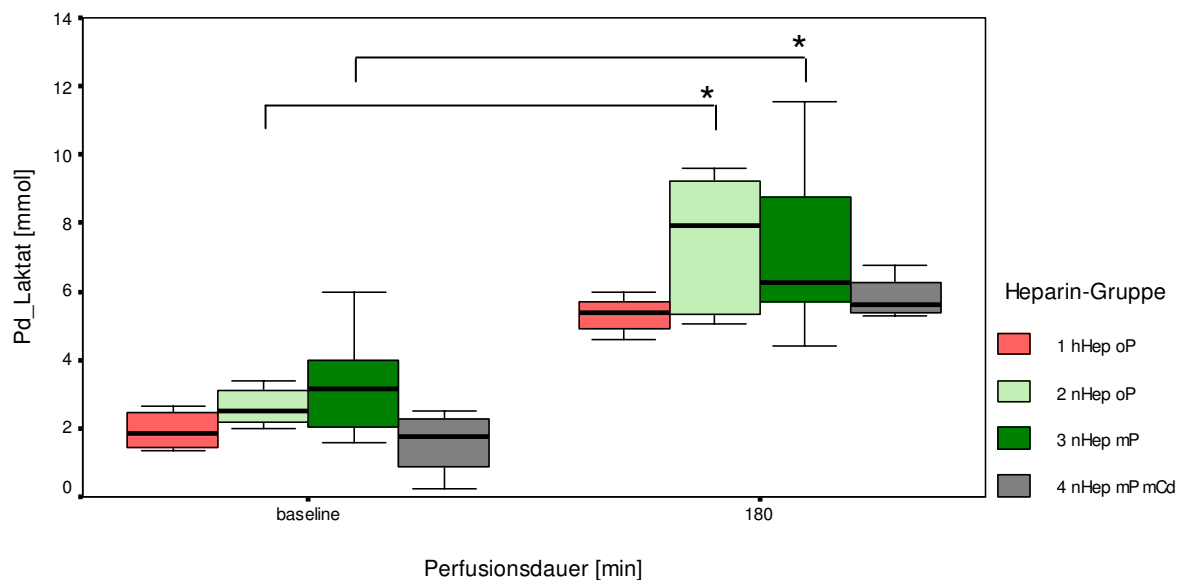


Abb. 26: Gesamtmenge Laktat im Dialysat in [mmol] baseline und nach 180 Perfusionsminuten

*
 $p < 0,05$

5.6.4. Sauerstoffverbrauch

Die Gruppe 3 weist zu jedem Messzeitpunkt einen höheren Sauerstoffverbrauch auf als die übrigen Gruppen.

In der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 findet der geringste Sauerstoffverbrauch statt; Medianwert bei Perfusionsbeginn: 59,4 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$. Der baseline-Wert der Gruppe 3 ist fast doppelt so hoch.

In der ersten Perfusionsstunde nimmt der Sauerstoffverbrauch in allen Gruppen zu. Die Medianwerte der hoch heparinisierten Gruppe 1 bleiben innerhalb geringer Schwankungsbreiten mit Werten zwischen 70,1 und 82,8 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ konstant.

Auch in der Gruppe 3 ist tendenziell ein konstanter Verlauf zu erkennen, wobei erst in der letzten Perfusionsstunde ein leichter Abfall des Medianwertes von 156,5 auf 126,5 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ zu verzeichnen ist.

Im Vergleich dazu fällt der Median des Sauerstoffverbrauchs in der Kontrollgruppe 4 schon ab der zweiten Perfusionsstunde kontinuierlich von 152,7 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ (60. Perfusionsminute) auf 98,2 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}$ (180. Perfusionsminute) ab.

Bei der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 treten wiederum starke Schwankungen (s.a. Anhang Abb. 43) bei niedrigem Sauerstoffverbrauch auf.

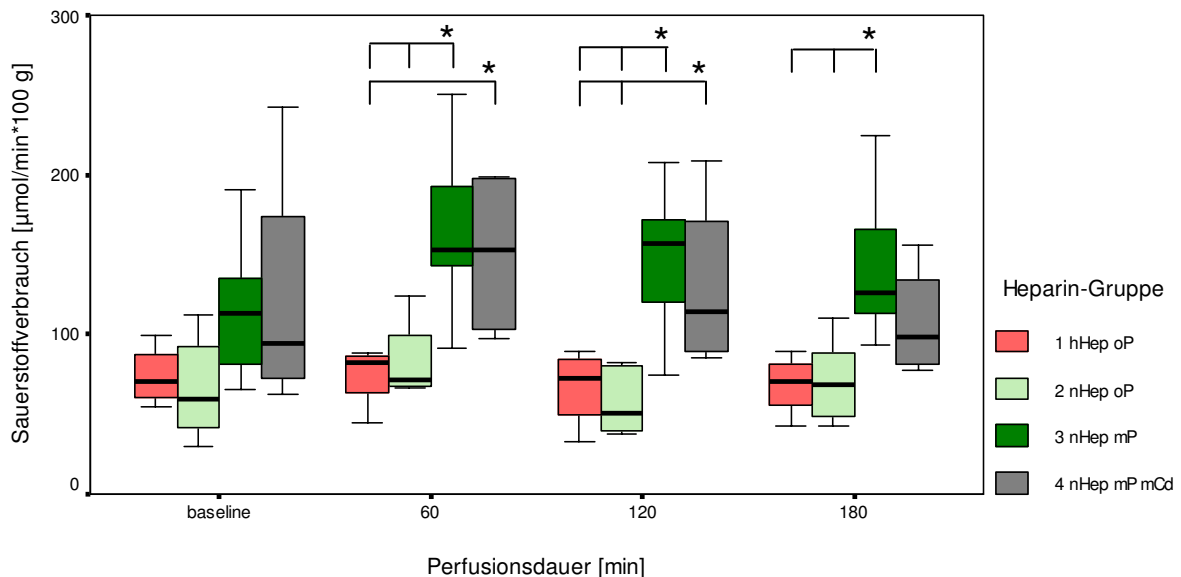


Abb. 27: Sauerstoffverbrauch in $[\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100 \text{ g}]$ baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.6.7. Cadmium

In der funktionellen Kontrollgruppe 4 wird die Cadmiumresorption über den Perfusionszeitraum von 180 Minuten exemplarisch dargestellt, um einen weiteren Hinweis auf die Funktionsfähigkeit des Modells zu erlangen.

Der baseline-Wert der Cadmiumkonzentration im venösen Blut liegt bei 0,45 µg/l.

Die Cadmiumkonzentration steigt während der Perfusion an: 60 Minuten nach Versuchsbeginn lag sie bei 19,7 µg/l, nach 120 Minuten bei 17,51 µg/l, und sie erreicht nach 180 Minuten 35,8 µg/l.

Es konnten keine Signifikanzen festgestellt werden.

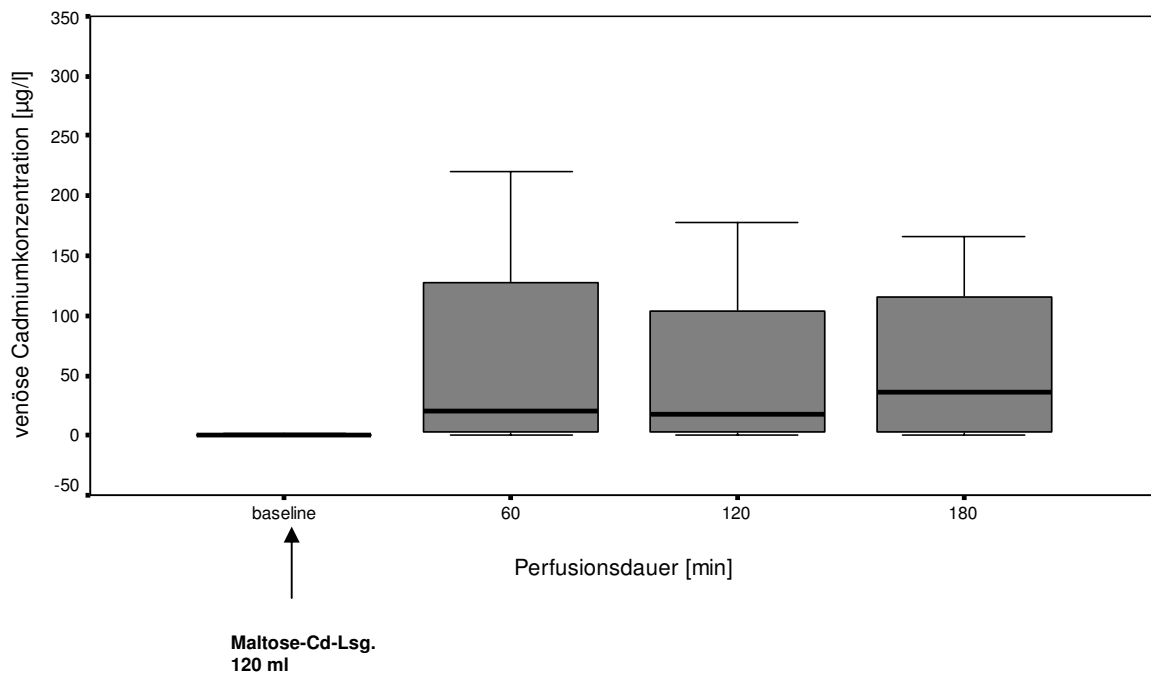


Abb. 28: venöse Cadmiumkonzentration in [µg/l] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

5.7. Gerinnungsparameter

5.7.1. Thromboplastinzeit

Ansteigende Werte der Thromboplastinzeit (TPZ) bedeuten eine Beschleunigung der Gerinnung.

Zu jedem Zeitpunkt der Perfusion liegen die Medianwerte der Thromboplastinzeit der Gruppen 2 und 3 um mindestens 10 % höher gegenüber der Gruppe 4.

In der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 ist über den Perfusionszeitraum ein steter Zuwachs der Thromboplastinzeit zu verzeichnen, während in den vergleichsweise höher, aber immer noch niedrig heparinisierten Gruppen mit Schlauchsystempriming (3 und 4) ein nahezu konstanter Verlauf vorliegt.

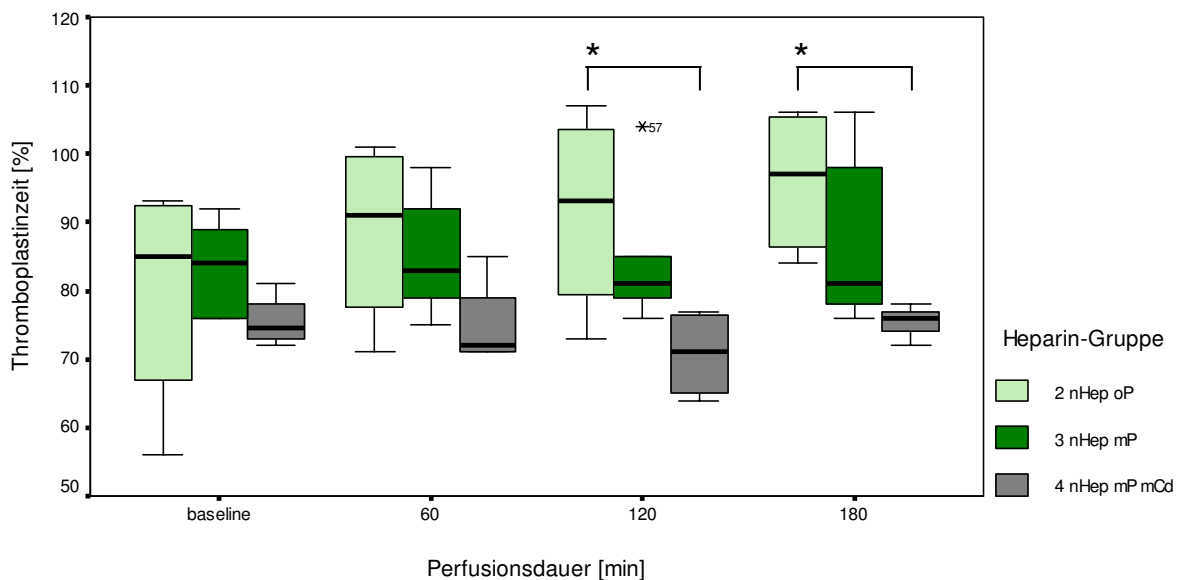


Abb. 29: Thromboplastinzeit in [%] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.7.2. Fibrinogen

Die Bestimmung von Fibrinogen soll einen Hinweis auf im Blutplasma stattfindende Koagulation geben. Ein Abfall der Fibrinogenkonzentration im Blutplasma deutet auf einen Verbrauch des Gerinnungsfaktors oder auf eine Hämodilution hin, ein Anstieg auf eine Hämokonzentration.

In der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 fällt die Fibrinogenkonzentration über den Perfusionsverlauf kontinuierlich von 275 auf 177 mg/dl ab. Die IQR wird dabei zu den einzelnen Abnahmezeitpunkten kleiner.

Die Gruppen mit niedriger Heparinkonzentration und mit Priming des Schlauchsystems (3 und 4) weisen einen annähernd konstanten Verlauf auf. Die Mediane der Fibrinogenkonzentration der Gruppe 4 liegen dabei zu jedem Abnahmezeitpunkt höher als in der Gruppe 3.

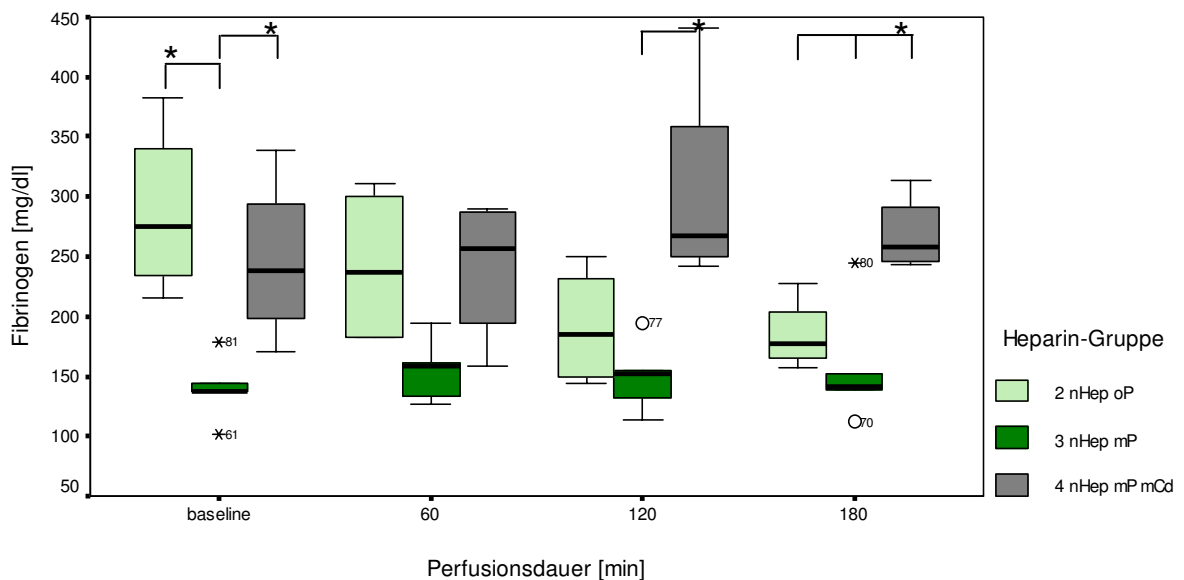


Abb. 30: Fibrinogenkonzentration in [mg/dl] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.7.3. Antithrombin-III-Aktivität

Die Antithrombin-III-Aktivität wurde bestimmt, weil Antithrombin III physiologisch den wichtigsten Inhibitor der Gerinnung darstellt. In Gegenwart von Heparin steigert sich die Inaktivierungsgeschwindigkeit. Ein Abfall der Antithrombin-III-Aktivität deutet dabei auf eine verminderte Hemmung der Gerinnung hin.

Während die Antithrombin-III-Aktivität (Mediane) in der Gruppe 2 kontinuierlich von 111 auf 72 % abfällt, kommt es in den Gruppen 3 und 4 in der ersten Stunde zu einem leichten Anstieg.

Die Mediane sind in diesen Gruppen mit Werten zwischen 74 und 91 % in der Gruppe 3 und zwischen 116 und 125 % in der Gruppe 4 innerhalb geringer Schwankungsbreiten konstant. Die Gruppe 4 weist über den gesamten Perfusionsverlauf, die Gruppe 2 nur an der baseline und zur 60. Perfusionsminute signifikant höhere Werte gegenüber der Gruppe 3 auf (* $p < 0,05$).

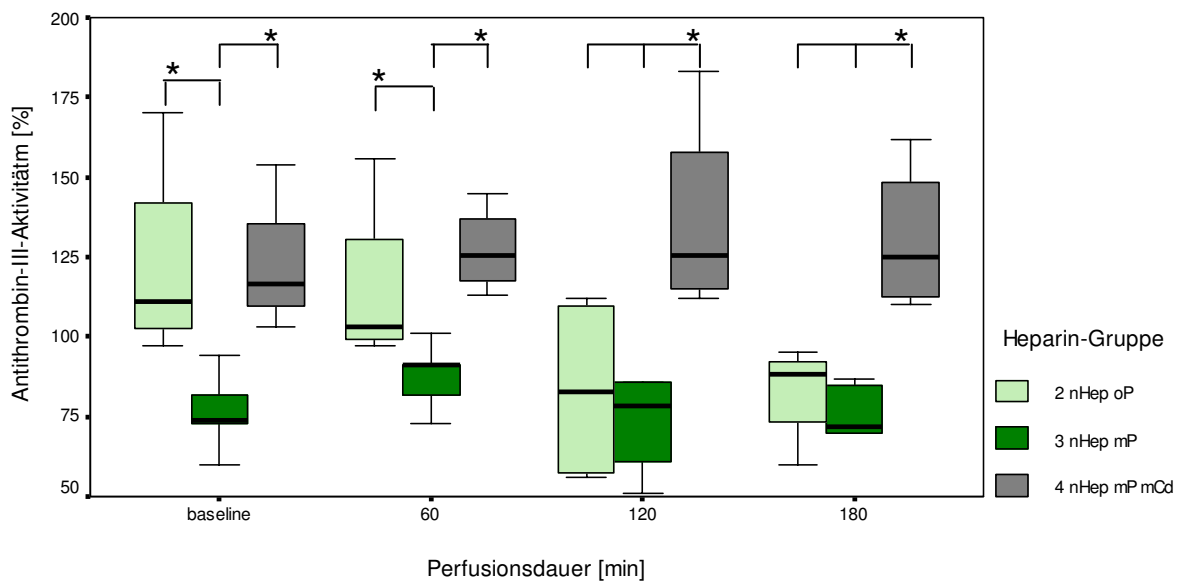


Abb. 31: Antithrombin-III-Aktivität in [%] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

* $p < 0,05$

5.7.4. D-Dimer

D-Dimere sind Fibrinspaltprodukte. Erhöhte Werte der D-Dimere sind ein Zeichen für Gerinnselbildung.

Die Mediane der D-Dimere nehmen innerhalb aller drei Gruppen über den Perfusionszeitraum von 180 Minuten zu.

Die Gruppe 2, bei der kein Priming des Schlauchsystems durchgeführt wurde, weist bereits an der baseline mit 0,3 einen geringgradig höheren Wert auf als die Gruppe 3 mit 0,19 und die Gruppe 4 mit 0,24; in der Gruppe 2 zeigt sich die größte Zunahme (1,56 bis zur 180. Perfusionsminute). Auch nimmt in der Gruppe 2 die IQR während der Perfusion kontinuierlich zu.

In den Gruppen 3 und 4 steigen die Mediane der D-Dimere sehr langsam an. Die IQR nimmt in diesen beiden Gruppen über den Perfusionszeitraum nur geringfügig zu.

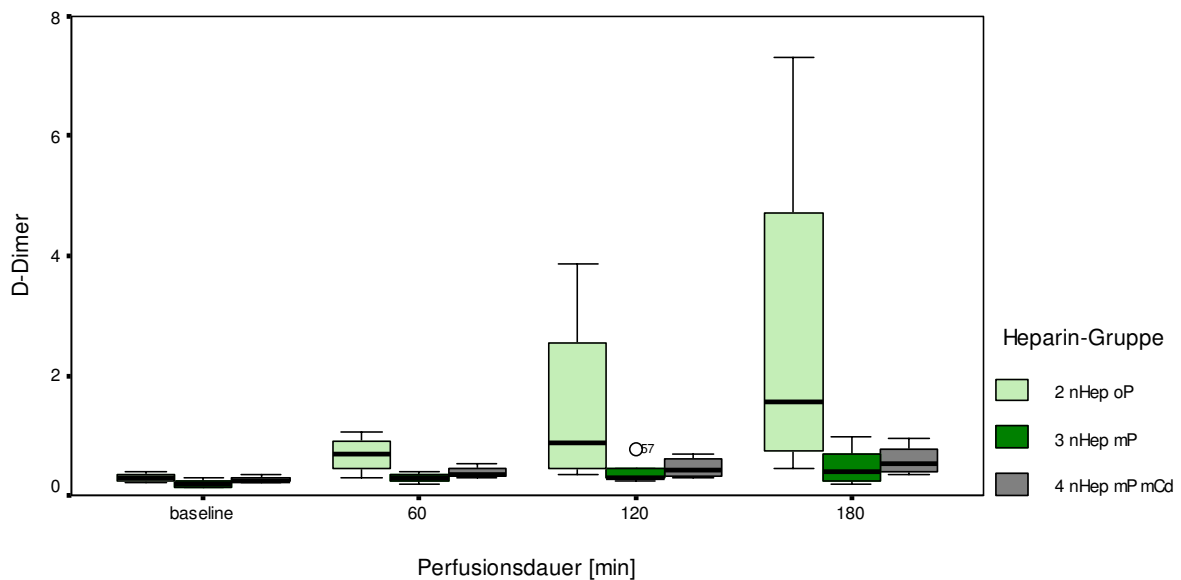


Abb. 32: D-Dimer baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

5.7.5. Activated Clotting Time (ACT)

Ansteigende Werte der ACT deuten auf eine verzögerte Gerinnung hin, abnehmende Werte auf eine schnelle Gerinnung.

Der baseline-Wert der ACT beträgt 278 sec bei der Gruppe 3 und 403 sec bei der Gruppe 4. Die Medianwerte der Gruppe 3 weisen während des gesamten Perfusionszeitraums einen relativ konstanten Verlauf auf. Bei der am niedrigsten heparinisierten Gruppe 2 treten Schwankungen auf, die Medianwerte fallen dabei etwas ab. Demgegenüber kommt es in der Gruppe 4 innerhalb der ersten 60 Minuten zu einem Anstieg des Medians. Danach fällt er kontinuierlich ab.

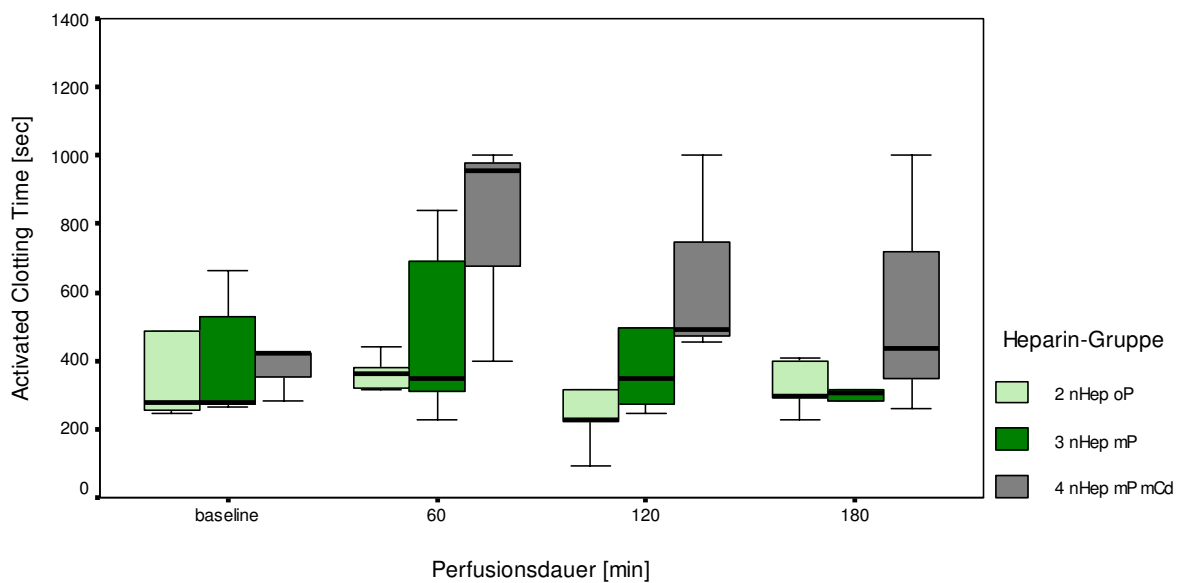


Abb. 33: Activated Clotting Time in [sec] baseline, nach 60, 120 und 180 Perfusionsminuten

5.8. Histologie

Von allen Darmsegmenten wurden vor (nativ) und nach der Perfusion (180. Minute) Proben entnommen. Anschließend wurden diese pathohistologisch ausgewertet.

Da eine detaillierte Auswertung - unter Berücksichtigung aller Darmsegmente - im Rahmen einer anderen Arbeit erfolgt, wird ein Darmsegment aus jeder Gruppe exemplarisch dargestellt und werden die wichtigsten Merkmale der jeweiligen Gruppe beschrieben.

Nativprobe

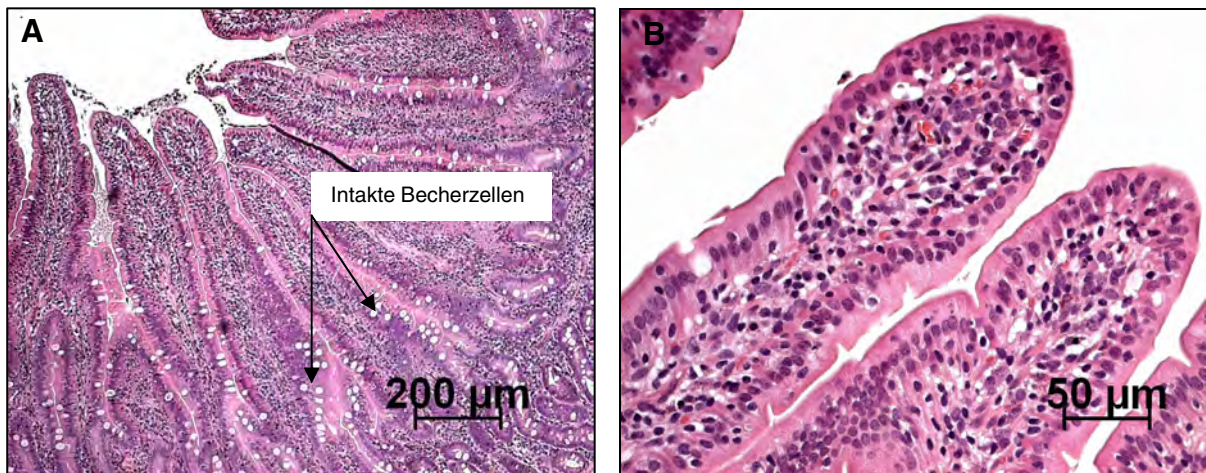


Abb. 34: HE-Färbung: Darm #27, A: 100 x, B: 400 x nativ

Abbildung 34 zeigt eine Nativprobe aus der Gruppe 1 (hHep oP), die *intra vitam*, während sich das Tier in Narkose befand, gewonnen wurde. Die Probe dient der positiven Kontrolle. Die Zotten und der Mikrovillisaum erscheinen intakt. Das Interstitium ist mit Lymphozyten infiltriert und deutet auf eine chronische Enteritis hin.

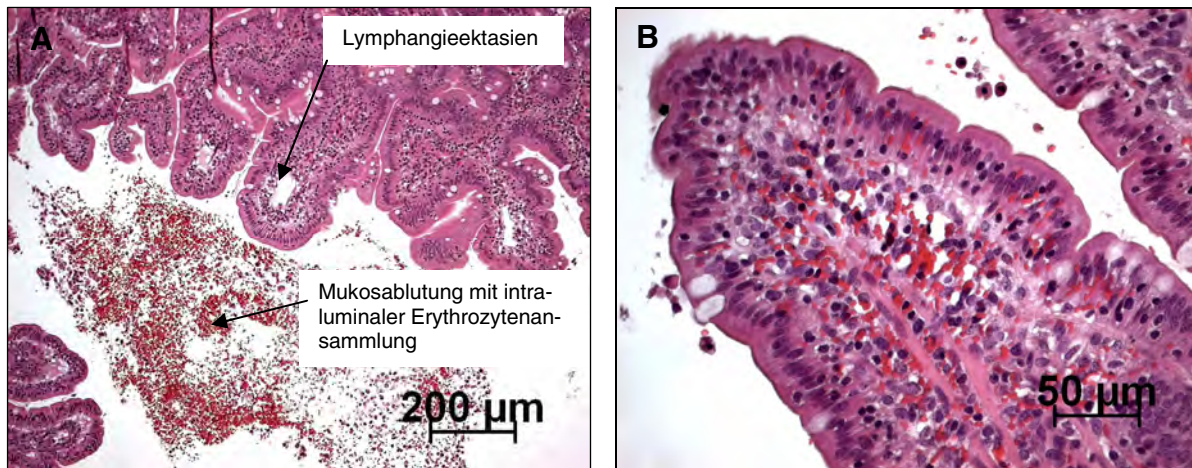
Gruppe 1 (hHep oP)

Abb. 35: HE-Färbung: Darm #27, A: 100 x, B: 400 x nach 180 Perfusionsminuten

Nach einer Perfusionszeit von 180 Minuten treten beim Darmsegment #27 der hoch hepatisierten Gruppe 1 massive Mukosablutungen mit Erythrozyten- und Epithelansammlungen im Lumen auf. Auch sind Blutungen in der Lamina propria mucosae zu erkennen, wobei die Zotten und der Mikrovillisaum intakt erscheinen. In den Zottenspitzen sind die Lymphgefäße gestaut.

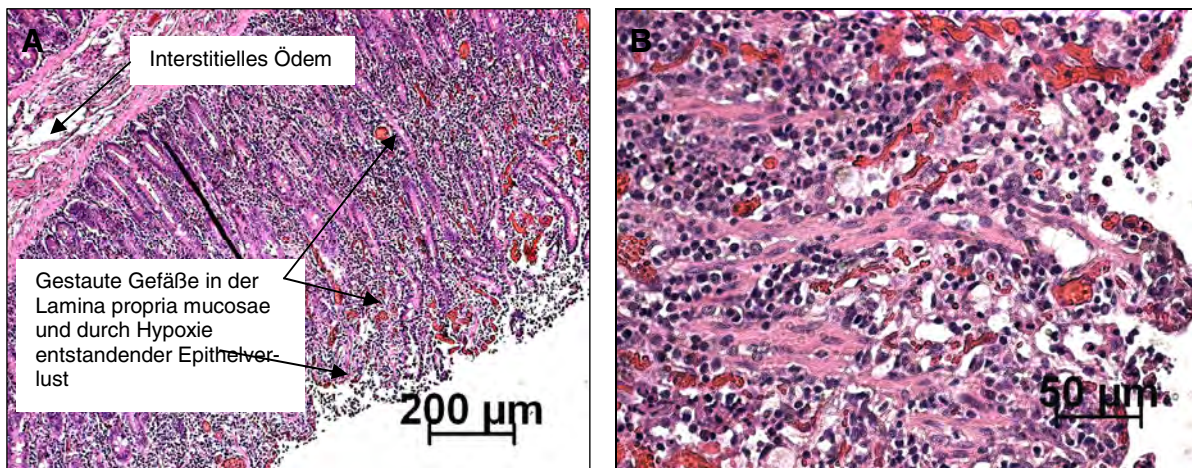
Gruppe 2 (nHep oP)

Abb. 36: HE-Färbung: Darm #31, A: 100 x, B: 400 x nach 180 Perfusionsminuten

Abbildung 36 zeigt ein interstitielles Ödem in der Tela submucosa. Auch zeigt diese Abbildung massiv gestaute Gefäße mit Endothelschädigung in der Lamina propria mucosae, was den Austritt von Erythrozyten in das umliegende Gewebe zur Folge hat. Aufgrund massiver Epitheldesquamation treten abgeschilferte Epithelzellen in das Darmlumen über. Es sind keine intakten Zottenspitzen mehr vorhanden.

Gruppe 3 (nHep mP)

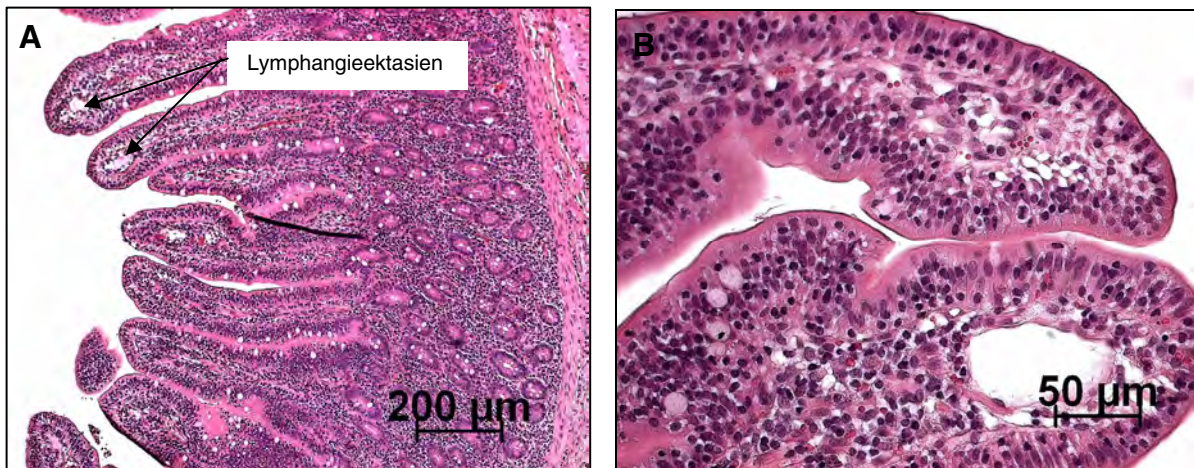


Abb. 37: HE-Färbung: Darm #29, A: 100 x, B: 400 x nach 180 Perfusionsminuten

Die Zotten und der Mikrovillisaum erscheinen intakt. Die Becherzellen und der unbeschädigte Bürstensaum sind gut zu erkennen. Im Bereich der Zottenspitzen treten vereinzelt gestaute Lymphgefäße auf. Das Interstitium ist mit Lymphozyten infiltriert und deutet, wie auch im Nativpräparat, auf eine chronische Enteritis hin.

Gruppe 4 (nHep mP mCd)

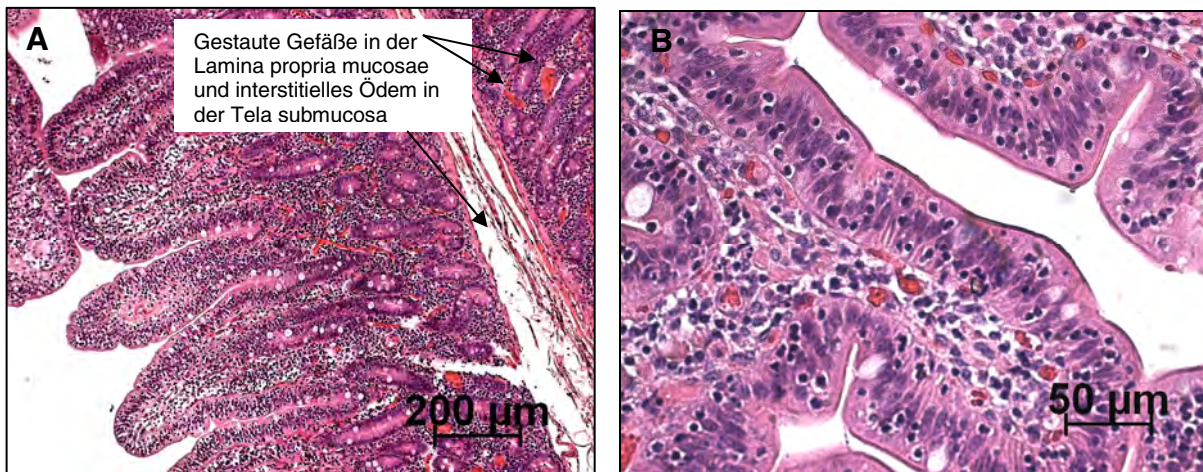


Abb. 38: HE-Färbung: Darm #23, A: 100 x, B: 400 x nach 180 Perfusionsminuten

In der Lamina propria mucosae treten vermehrt gestaute Gefäße in Erscheinung. Des Weiteren erscheint das Interstitium, bedingt durch die Ausbildung von Ödemen, erweitert und aufgelockert. Auch hier sind die Zotten und der Mikrovillisaum intakt.