

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin

– Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Van Aken FRCA, FANZCA –

**Peritoneallavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon –
Evaluation eines Ansatzes zur Überbrückung
mesenterialer Ischämie im porcinen Großtiermodell unter besonderer
Berücksichtigung des histologischen Befundes**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Sonja Horstjan

aus Emsbüren

2011

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-
Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Knichwitz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Semjonow

Tag der mündlichen Prüfung: 24.02.2011

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Van Aken
Referent: Prof. Dr. G. Knichwitz
Koreferent: Prof. Dr. A. Semjonow

Zusammenfassung

Peritoneallavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon – Evaluation eines Ansatzes zur Überbrückung mesenterialer Ischämie im porcinen Großtiermodell unter besonderer Berücksichtigung des histologischen Befundes

Sonja Horstjan

Die akuten Formen mesenterialer Ischämien gehören zu den Krankheitsbildern hoher Mortalität. Hierzu trägt maßgeblich der Mangel an suffizienten Therapieansätzen bei. Neben chirurgischen Optionen, die überwiegend die frühzeitige Entfernung bereits untergegangenen Gewebes betreffen, fehlt insbesondere bei der nonokklusiven Mesenterialischämie ein die akute, jedoch reversible Durchblutungsstörung überbrückendes Konzept. Experimentelle Studien mit Kleintiermodellen zeigten, dass die peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon bei Malperfusion des Darmes die lokale Hypoxie mildern und den Verlust intestinaler Mukosa mit seinen deletären Folgen verringern kann.

Die vorliegende Studie untersuchte die histologischen Veränderungen des mukosalen Darmgewebes während peritonealer Dialyse mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon während mesenterialer Ischämie erstmals im porcinen Großtiermodell.

Methodik: Als Versuchstiere dienten 18 Hausschweine, welche drei Gruppen zugeteilt wurden. Bei sechs Tieren wurde nach medianer Laparotomie mittels 80%-iger Okklusion der Arteria mesenterica superior über einen Zeitraum von 240 Minuten eine Darmischämie erzeugt; im Anschluss erfolgte eine 60-minütige Reperusionsphase. Sechs weitere Tiere erhielten während der Ischämie eine peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC. Die Tiere der dritten Gruppe dienten als Kontrolle und wurden ohne Ischämieinduzierung identisch präpariert. Anschließend wurden Darmgewebeproben der Tiere histologisch begutachtet.

Ergebnisse: In der lichtmikroskopisch-histologischen Bewertung führte die Therapie mit PFC-Lavage nicht zu einer Verbesserung des Mukosastatus gegenüber der Ischämiegruppe. Die intestinale Mukosa zeigte in beiden Gruppen Epithelabschilferungen und freigelegte Darmzotten gleichen Ausmaßes. In der Kontrollgruppe gab es keine Mukosaschädigung.

Schlussfolgerung: Die peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon bei mesenterialen Ischämien führt, anders als im Kleintiermodell, in einem porcinen, dem erwachsenen Menschen in Anatomie und Dimensionen ähnlichen Großtiermodell, nicht zu einer relevanten Darmprotektion.

Tag der mündlichen Prüfung: 24.02.2011

Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren, Aktenzeichen: 50.083.1.0 (G 22/2004)

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	6
1.1 Anatomie und Physiologie der mukosalen Darmwand	7
1.2 Pathophysiologische Mechanismen der intestinalen Ischämie	9
1.3 Intestinale Perfusionsstörungen: Einteilung und Diagnostik	10
1.4 Aktueller Stand des therapeutischen Vorgehens bei intestinalen Perfusionsstörungen	13
1.5 Lungenventilation mittels Flüssigkeiten	15
1.5.1 Perfluorocarbon	16
1.6 Arbeitshypothese	18
1.6.1 Ziel dieser Studie	19
2 Methodik und Material	20
2.1 PFC und Zirkulations-Apparatur	20
2.2 Versuchsdurchführung	25
2.3 Versuchsprotokoll	27
2.4 Histologie	28
2.5 Statistik	31
3. Resultate	32
3.1 Hämodynamische Parameter	32
3.2 Respiratorische Parameter	39
3.3 Sonstige Parameter	42
3.4 Histologie	46
4. Diskussion	57
4.1 Das experimentelle Modell	58
4.2 Diskussion der Ergebnisse	61
4.2.1 Hämodynamische Ergebnisse	61
4.2.2 Respiratorische Parameter	62
4.2.3 Histologische Ergebnisse	63
4.3. Vergleichbare Studien	65
4.4. Fazit	69
5. Literaturverzeichnis	70
6. Abbildungsverzeichnis	77
7. Tabellenverzeichnis	78
8. Abkürzungsverzeichnis	79
9. Lebenslauf	81
10. Danksagung	82
11. Genehmigungsbescheid	83

1. Einleitung

Im Dünndarm ist eine Vielzahl wichtiger Funktionalitäten angesiedelt. Unter physiologischen Bedingungen vollzieht sich im Dünndarm bei der Nahrungsaufnahme die extrazelluläre Verdauung des vom Magen angedauten Chymus über sezernierte Enzyme, wie z.B. Lipase, Amylase, Amino- und Dipeptidasen, die zum Teil von Pankreas und Leber produziert werden, zum Teil im Dünndarm selbst ansässig sind. Makroskopische Durchmischung und Transport des Darminhaltes werden durch die von neuronalen und humoralen Faktoren beeinflusste Darmmotorik gewährleistet. Die Hauptaufgabe stellt die Resorption der Nahrungsbestandteile dar. Des Weiteren werden Hormone produziert und oral aufgenommene Noxen durch unspezifische und spezifische Mechanismen abgewehrt.

Eine wichtige Rolle spielt die Intaktheit der Barrierefunktion gegenüber darmständigen Bakterien: Im Darmorgan ist das Körperinnere von der Außenwelt nur durch eine sehr dünne (20-40 μm), aber sehr große Epithelfläche (ca. 100 m^2) getrennt. Im Gegensatz zur Robustheit des Darmapparates gegenüber verschiedensten zugeführten Nahrungsmengen und -zusammensetzungen zeichnet sich das Epithel durch eine ausgeprägte Empfindlichkeit gegenüber Mangeldurchblutung aus. Bei Ischämie und konsekutiver Gewebhypoxie kommt es frühzeitig zum Zelluntergang und damit zum Versagen der intestinalen Barrierefunktion. Insbesondere bei schwerkranken Patienten besteht ein enger pathophysiologischer Zusammenhang zwischen dem Barriereversagen und der Entwicklung von Sepsis und Multiorganversagen.

Diese Studie beschäftigt sich mit der Evaluation eines neuen, innovativen Therapiekonzeptes zur Behandlung mesenterialarterieller Ischämie. Mittels sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon wurde eine Peritoneallavage bei mesenterialer Ischämie im porcinen Großtiermodell durchgeführt. Die Therapieergebnisse wurden unter besonderer Berücksichtigung der histologischen Veränderungen des entsprechenden Darmabschnittes dargestellt.

1.1 Anatomie und Physiologie der mukosalen Darmwand

Die Darmwand ist, von innen nach außen, aufgebaut aus den Schichten Tunica mucosa, Tunica submucosa, Tunica muscularis und Serosa. Auf diese Schichten verteilt sich die Darmdurchblutung, wobei bis zu 90 % des Blutes zur Tunica mucosa und Tunica submucosa fließen. Die arterielle Versorgung des Darmes erfolgt im Wesentlichen über Truncus coeliacus, Arteria mesenterica superior und Arteria mesenterica inferior. [27]

Aa. jejunales und Aa. ileales gehen aus der A. mesenterica superior ab und ziehen, bevor sie die Darmwand erreichen, durch das Mesenterium. Hier bilden sie mit den benachbarten Ästen mehrere Ebenen von Arkaden. Durch diesen Aufbau werden die Gefäße bei wechselnder Lage und Länge des Dünndarms nicht gestaucht oder gedehnt und bleiben frei perfundiert. Von den Arkaden ziehen funktionelle Endarterien durch die Serosa und formen einen äußeren und einen submukösen, den Darm umfassenden Plexus. Von hier ziehen Arteriolen in die Mukosa. Die Mukosa trägt eine Vielzahl fingerförmig ausgestülpter Zotten oder Villi, die zu einer Vergrößerung der Darmoberfläche von bis zu drei Größenordnungen beitragen. Innerhalb einer Zotte speisen ein bis zwei von der Zottenbasis zur Zottenspitze verlaufende Arteriolen das engmaschige Kapillarnetz. [27]

Die Mukosaperfusion weist drei anatomiebedingte Besonderheiten auf:

1. *Das Gegenstromprinzip:*

Die Zottenvene verläuft meist zentral und hat mit 20 µm einen sehr geringen Abstand zur Zottenarterie. Aufgrund des geringen Abstandes kann ein vorzeitiger Sauerstoffaustausch im Gegenstromprinzip entlang des Partialdruckunterschiedes der beiden Gefäße stattfinden [15,20,51]. Je länger hierbei die Durchflusszeit des Blutes ist, umso mehr Zeit steht für die vorzeitige Diffusion in die Vene zur Verfügung. Es kommt zu einem arteriovenösen Sauerstoff-Shunting an der Zottenspitze vorbei. [27]

2. *Anatomie und Gefäßverlauf der Arterien:*

Die Zentralarterie hat einen rechtwinkligen Abgang von der Arkade, die sich aus Aa. jejunales und Aa. ileales bildet. Die korpuskulären Bestandteile des Blutes weisen aufgrund ihrer Massenträgheit ein anderes Strömungsverhalten als das Plasma auf; sie können dem rechtwinkligen Abgang der Zottenarterie nur eingeschränkt folgen. Hieraus resultiert eine physiologische Hämodilution um 50%. [27]

3. *Metabolische Aktivität der Darmmukosa*

Die Darmschleimhaut unterliegt, insbesondere an der Zottenspitze, einer hohen Stoffwechsel- und Regenerationsrate. Dies wird durch ein hohes Sauerstoff- und Substratangebot ermöglicht. Bei einer Perfusionsabnahme mit Hypoxie kommt es, gerade an der Zottenspitze beschleunigt, zu einem Überwiegen der oxydativen Belastung und zum Verlust von Funktion und Integrität. [27]

Zur Versorgung des Gastrointestinaltraktes fließen beim Erwachsenen präprandial ca. 20% des Herzzeitvolumens über den Truncus coeliacus, das entspricht ca. 800 ml/min Blut. Postprandial steigert sich dieser Blutfluss auf bis zu 30% des Herzzeitvolumens (ca. 1.100 ml/min). Deutlicher steigert sich der Fluss in der A. mesenterica superior. Hier beträgt er in Ruhe ca. 12% des Herzzeitvolumens, entsprechend ca. 500 ml/min. Nach einer Mahlzeit erreicht der Fluss bis zu 1400 ml/min (35% d. Herzzeitvolumens). Der Darm schöpft unter Normalbedingungen durchschnittlich 25% des angebotenen Sauerstoffs von 1 ml O₂/kg KG/min aus. Das Organ ist jedoch in der Lage, die Ausschöpfung bei Bedarf auf bis zu 50% zu erhöhen. [27]

Die venöse Drainage des Gastrointestinaltraktes erfolgt überwiegend über die Vena portae hepatis, die sich aus dem Zusammenfluss von V. mesenterica superior, V. mesenterica inferior und V. splenica bildet. Hierüber werden pro Minute ca. 1000-2000 ml Blut in die Leber geleitet. [27]

1.2 Pathophysiologische Mechanismen der intestinalen Ischämie

Am Darm treten bereits bei Verminderung des Sauerstoffangebotes um 50% signifikante Funktionsstörungen auf [57]. Ab einer Sauerstoffreduktion um 80% sind Gewebenekrosen nachweisbar [55]. Zunächst nimmt das empfindlichste Gewebe Schaden, es kommt nacheinander zum Sistieren des Funktions- und Strukturstoffwechsels des Epithels, zum Zelluntergang, Auftreten von Ulzerationen und schließlich zur Abstoßung der Tunica mucosa. Ausgehend von der am schwächsten mit Sauerstoff versorgten Zottenspitze breitet sich die Nekrose bis in die Krypten aus [4]. Makroskopisch treten in minderperfundierten Darmabschnitten ödematöse Schwellungen und livide Verfärbungen auf, hämorrhagische Blasen und Pseudomembranen können entstehen. Intravitalmikroskopisch zeigt sich ein verlangsamter kapillärer Blutfluss mit intermittierendem Stillstand und Pendelfluss. Bei länger bestehender Ischämie kommt es zu zunehmender Aussparung von Perfusionsarealen. Einzelne Darmabschnitte können unter Umständen Ischämiezeiten von bis zu 6 Stunden überleben [27]. Längere Ischämiezeiten führen zu irreversibler Mukosadestruktion. Diese geht zunächst einher mit einer Störung der mukosalen Barrierefunktion mit gesteigerter Permeabilität der intestinalen Mukosa [15,39] und im Weiteren mit dem Verlust der Barrierefunktion sowie Translokation von Bakterien in die Lymph- und Blutbahn. [9,13,14,38]

Bei einer Perfusionsstörung kommt es neben dem Mangel an Sauerstoff und Substraten zu einem insuffizienten Abtransport von Zellstoffwechselendprodukten wie CO₂, Wasserstoffionen, Laktat, Kalium, Zytokinen und Mediatoren [27]. Eine weitere wichtige Rolle spielt der Reperfusionsschaden. Auf zellulärer Ebene entwickelt sich eine anaerobe Stoffwechsellage mit hohem Verbrauch von ATP [6] und der Umwandlung von Xanthin-Dehydrogenase zu Xanthinoxidase [49]. Dieses Enzym reduziert den zufließenden Sauerstoff zu reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die die Desoxyribonukleinsäure (DNS), Enzyme, Rezeptoren und Phospholipide durch Oxydation zerstören [38]. Durch die Reperfusion gelangen die ROS, saure Stoffwechselprodukte, Mediatoren, translozierte Keime und Endotoxine in die

systemische Zirkulation. Die Ausschwemmung der Noxen führt zu einer systemischen Entzündungsreaktion (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) und kann über die Sepsis bis zum Multiorgan dysfunktionssyndrom (MODS) führen. Als lokale Komplikationen kann es durch die Gewebeischämie zu einer transmuralen Nekrose, zur Darmwandperforation und zur Peritonitis kommen.

1.3 Intestinalen Perfusionsstörungen: Einteilung und Diagnostik

Intestinale Perfusionsstörungen entwickeln sich bei unterschiedlichen vaskulären Darmerkrankungen. Unter Berücksichtigung der Genese werden diese differenziert beurteilt nach Mechanismus (okklusiv und nonokklusiv), nach Akuität (akut und chronisch) und nach Ausdehnung (partiell und total). Eine gängige Einteilung zeigen die Leitlinien der American Gastroenterological Association auf [2,27] (Abb. 1).

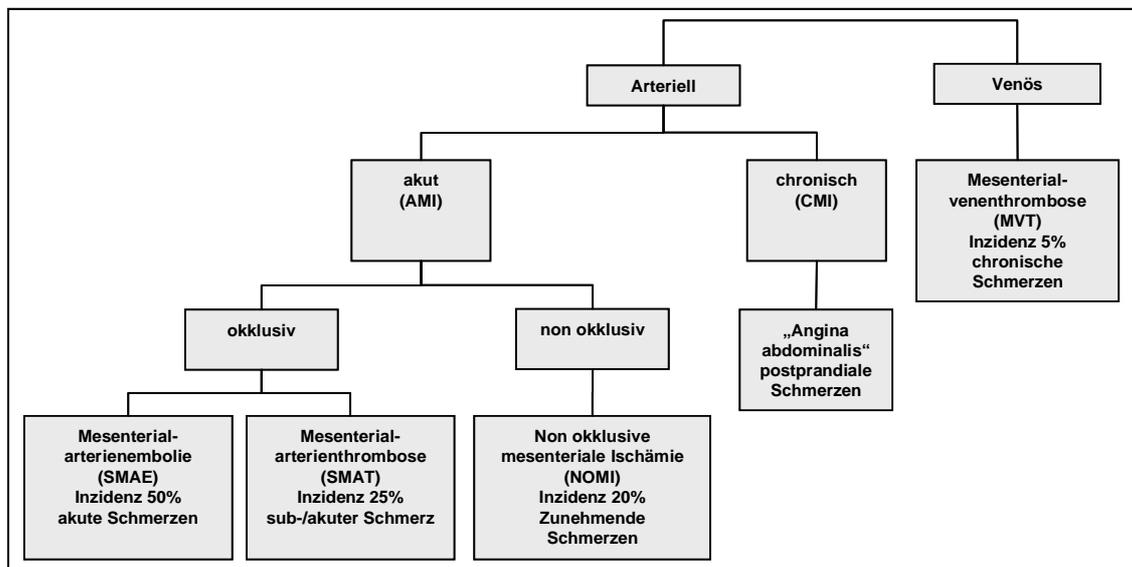


Abbildung 1: Systematisierung der intestinalen Perfusionsstörungen nach den Leitlinien der American Gastroenterological Association zur Intestinalen Ischämie; *AMI* akute Mesenterialischämie, *CMI* chronische arterielle Mesenterialischämie, *MVT* Mesenterialvenenthrombose [27]

Die akute arterielle Mesenterialischämie (AMI) wird von der chronischen arteriellen Mesenterialischämie (CMI) und der Mesenterialvenenthrombose (MVT) unterschieden

und selbst weiter nach embolischer, thrombotischer und nonokklusiver Form unterteilt (**Abb. 1**).

Am häufigsten beobachtet man intestinale vaskuläre Erkrankungen an der Arteria mesenterica superior. Hier wird zu ca. 50 % eine Embolie, zu ca. 25% eine Thrombose und zu ca. 20% eine nonokklusive mesenteriale Ischämie diagnostiziert. In der Vena mesenterica superior kommt es mit geschätzter Häufigkeit von 5% zu einer Mesenterialvenenthrombose. [33]

Für eine vollständige Anamnese müssen unter anderem die bisherigen Symptome, die Risikofaktoren und die aktuelle Pharmakotherapie erhoben werden.

Bei der klinischen Untersuchung fallen neben der Einschätzung des Allgemeinzustandes der kardiale Befund und der Gefäßstatus ins Gewicht. Das Abdomen sollte auf Darm- und Gefäßgeräusche sowie Peritonitis geprüft werden. Pulssynchrone Strömungsgeräusche im Oberbauch können auf stenotische Veränderungen der Arteria mesenterica superior hinweisen.

Nach der Anamnese und dem klinischen Befund geben die apparativen Untersuchungsmethoden wichtige Daten zur Diagnosesicherung. Bei der Labordiagnostik gibt es bis heute keinen spezifischen und sensitiven Marker für eine Mesenterialischämie. Oft besteht aber eine Leukozytose, Neutrophilie oder eine metabolische Azidose. Ein erhöhter Serumlaktatwert kann ein Indikator einer mesenterialen Ischämie sein, weist jedoch keine konsistent verwertbare Sensitivität und Spezifität auf. Das Vorliegen eines normalen Laktatspiegels ist kein Beweis für eine physiologisch-suffiziente Perfusion.

Zur Diagnosefindung stehen B-Bild-Sonographie, Duplexsonographie, Endoskopie, Röntgen-Diagnostik, Computertomographie, selektive mesenterielle Angiographie und Kernspintomographie zur Verfügung.

Neben der Diagnosesicherung und der ätiologischen Zuordnung eröffnet die selektive mesenteriale Angiographie zugleich die Möglichkeit einer Therapie mit lokaler Applikation von Vasodilatoren.

Die Richtlinien der American Gastroenterological Association [1,2] empfehlen, und insbesondere bei Risikopatienten mit anderweitig nicht erklärbaen Bauchschmerzen, die länger als zwei bis drei Stunden anhalten und derentwegen ein Arzt aufgesucht wird, eine mesenteriale Ischämie abzuklären. Als Risikogruppe gelten dabei Patienten mit einem Alter über 50 Jahren und Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen, einem kürzlich abgelaufenen Herzinfarkt, Hypovolämie, Hypotonie oder einer Sepsis. Zusätzlich seien eine vorausgegangene arterielle Embolie, Vaskulitiden, tiefe Beinvenenthrombosen, eine Thrombophilie oder chronische Bauchschmerzen als Risikofaktoren zu werten. [1,2]

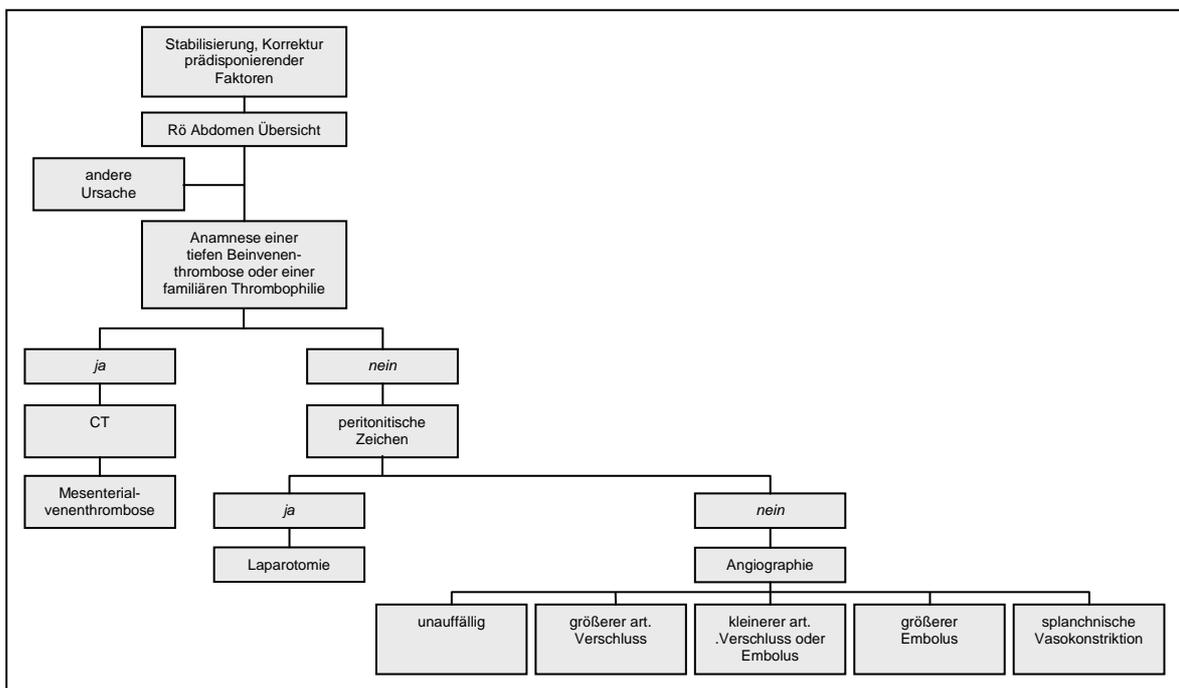


Abbildung 2: Diagnostik der akuten mesenterialen Ischämie nach den Richtlinien der American Gastroenterological Association (modifiziert nach AGA [1])

1.4 Aktueller Stand des therapeutischen Vorgehens bei intestinalen Perfusionsstörungen

Zu Beginn einer Behandlung sollten bei allen Formen der mesenterialen Ischämie allgemeine Maßnahmen zur Stabilisierung der Kreislaufverhältnisse bzw. eine Verbesserung der globalen Perfusion durchgeführt werden. Dazu gehört der Ausgleich von Anämie, von Flüssigkeitsdefiziten und von Störungen des Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalts. Es sollten die Pumpleistung des Herzens optimiert und hämodynamisch relevante Arrhythmien korrigiert werden. Ein invasives hämodynamisches Monitoring sowie unter Umständen der Einsatz eines Pulmonalkatheter sollte erwogen werden. Der Magen wird durch eine nasogastrale Sonde entlastet. Bei Verdacht auf translokationsbedingte Sepsis ist eine kalkulierte antibiotische Therapie vorzunehmen. Bei klinischen Zeichen einer Peritonitis besteht die Indikation für eine sofortige Laparotomie. [27]

Handelt es sich bei der Ischämie um ein Akutgeschehen im Frühstadium, ist eine Revaskularisation das angestrebte Ziel. Häufig wird dies über eine operative Embolektomie bzw. Thrombektomie erreicht. Bei bereits länger bestehender Ischämie und Zeichen einer Darmgangrän ist die Laparotomie mit Resektion der entsprechenden gangränösen Darmabschnitte erforderlich.

Als kausales Therapiekonzept ist bei der akuten mesenterialen Ischämie und besonders bei der nonokklusiven Mesenterialischämie der Einsatz von Vasodilatoren zu sehen. Nach durchgeführter Angiographie können diese Substanzen direkt lokal über den in der Arteria mesenterica liegenden Angiographiekatheter appliziert werden. Hierfür kommen Pharmaka wie Papaverin [33], Prostaglandine und Angiotensinkonversionsenzym-Hemmer in Frage. Die meisten Erfahrungen wurden mit dem Opiatderivat Papaverin gesammelt; hierbei handelt es sich um einen Phosphodiesteraseinhibitor, der den Abbau des zyklischen Adenosinmonophosphats blockiert und so zu einer Abnahme der zytosolischen Calciumkonzentration führt. Dies führt zu einer Relaxation der glatten Muskulatur in der Gefäßwand [35]. Die Therapie sollte kontinuierlich erfolgen und muß bis zum Nachweis von Peristaltik bzw. bis zur

Defäkation durchgeführt werden. Besteht bei dem Patienten eine Operationspflichtigkeit, ist die Papaverinapplikation prä-, intra- und postoperativ möglich. Obligatorisch ist die kontinuierliche intensivmedizinische Überwachung, da es zu plötzlich einsetzenden systemischen Hypotonien aufgrund einer Dislokation des Angiographiekatheters in die Aorta kommen kann. Bei Applikation von Papaverin in einem späten Stadium der Ischämie kann es zur massiven Ausschwemmung von toxischen Reperfusionenprodukten mit fulminanter systemischer Kreislaufreaktion im Sinne eines Kreislaufversagens kommen. [27]

Therapeutisch anzustreben ist die Prävention der intestinalen Perfusionsstörung. Diese ist unter anderem durch eine ausreichende Volumentherapie möglich, da die Hypovolämie mit Reduktion des mesenterialen Blutflusses einen Hauptfaktor für die reaktive Vasokonstriktion und damit eingeschränkter Mikroperfusion der Darmmukosa darstellt [24]. Fällt der Hämoglobingehalt unter 5 mg/dl, so entsteht bereits ein O₂-Mangel an der Darmzotte. Die Transfusion von Blutprodukten dient der Prävention von mesenterialen Ischämien. Eine thorakale Periduralanästhesie verbessert den mukosalen Blutfluss über eine Sympathikolyse [56]. Daraus ergibt sich bereits intraoperativ ein effektiver Schutz gegen stressbedingte Vasospasmen. Dobutamin als Mittel der ersten Wahl und Noradrenalin sind selektiv wirksame Katecholamine für die modulare Therapie. Mit ihrer Hilfe wird der Blutfluss verbessert und es kommt zur Anhebung des Perfusionsdruckes unter Vermeidung eines metabolismussteigernden Effektes auf das ischämische Gewebe. Eine physiologische postprandiale Hyperämie kann durch eine frühe Enteralisierung erreicht werden. Revelly et al. [51] konnte nachweisen, dass es hierdurch zu einem Absinken der Mortalitätsrate bei Intensivpatienten kommt. [27]

1.5 Lungenventilation mittels Flüssigkeiten

Neben den oben beschriebenen weitreichenden Konsequenzen einer Darmminderperfusion, existiert eine ähnliche Problematik bei dem Organ Lunge. Die akute Lungenschädigung und das akute Lungenversagen sind ein schnell voranschreitendes Krankheitsbild, welches zu einer schweren Einschränkung des pulmonalen Gasaustausches führt. Die Auslöser sind mannigfaltig und lassen sich in pulmonale und extrapulmonale Ursachen unterscheiden.

Zunächst kommt es zu einer pulmonalen Entzündungsreaktion mit Störung der alveolokapillären Permeabilität. Durch alveoläres und interstitielles Lungenödem wird die Lunge schwer und es kommt zur mechanischen Störung der alveolären Ventilation. Auch unzulängliche Surfactant-Produktion und –Funktion schränken die Ventilation ein. Außerdem kommt es zur Einwanderung von Fibroblasten, was mit strukturellen Umbauprozessen der Lunge bis zur Fibrosierung einhergeht. Die Dehnbarkeit des Gewebes nimmt ab. In der Lungenstrombahn kommt es zur disseminierten Verlegung der pulmonalen Kapillaren. Zusammen mit der Abnahme des Lungenvolumens führt dies zur pulmonalen Hypertonie. Diese begünstigt wiederum die Zunahme der pulmonalen Ödembildung. Die Herabsetzung der gasaustauschenden Fläche mit gleichzeitiger Erhöhung der venösen Beimischung aufgrund des intrapulmonalen Rechts-links-Shunts ist der wesentliche Mechanismus der Oxygenierungsstörung beim akuten Lungenversagen.

Außer der konsequenten und zeitnahen Behandlung der Grunderkrankung ist bis heute keine kausale Therapie des Lungenversagens bekannt. Die Intensivmedizin fokussiert aus diesem Grund die Behandlung der Symptome. Durch maschinelle Beatmung mit positiv-endexpiratorischem Druck, Reduktion der Atemwegsdrücke und des Atemzugvolumens, Vermeidung einer interstitiellen Hyperhydratation und Lagerungstherapie wird dieser Ansatz realisiert. Dennoch muss bei diesem Krankheitsbild mit einer Sterblichkeit von 30 bis 50% gerechnet werden.

Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts konnte die Bedeutung der Oberflächenspannung in den Alveolen gezeigt werden. Neergard [40] wies durch seine 1929 publizierte Arbeit nach, dass durch die Nutzung einer Flüssigkeit ca. 30% weniger Druck zur Entfaltung einer Lunge benötigt wird, als durch die Nutzung eines Beatmungsgases.

Clark und Gollan [7] zeigten 1966 die Fähigkeit von Perfluorokarbonen zur Flüssigkeitsventilation. Greenspan [16,17] setzte 1989 erstmals klinisch Perfluorokarbon zur Behandlung des akuten Lungenversagens Frühgeborener ein, bei denen bis dahin alle üblichen Therapieversuche frustan verliefen.

1.5.1 Perfluorocarbon

Perfluorocarbone (PFC) zeichnen sich unter anderem durch eine hohe Sauerstoffbindungskapazität aus. Des Weiteren gelten sie als biochemisch inaktiv und sind nicht toxisch [12]. Sie sind farb- und geruchslose Flüssigkeiten und werden vom menschlichen Organismus nicht metabolisiert. Stabile Kohlenstoff-Fluor-Bindungen begründen die biologische Inertanz.

Perfluorkarbone zeichnen sich durch eine hohe physikalische Löslichkeit für Gase wie Sauerstoff und Kohlendioxid aus. Dabei verhält sich nach dem Gesetz von Henry die in gelöster Form transportierte Menge direkt proportional zum Partialdruck des entsprechenden Gases. Die Sauerstofftransportkapazität ist rund 15mal so hoch wie jene von Wasser.

PFC sind wasserunlöslich und zeichnen sich aus durch eine geringe kinematische Viskosität und einen positiven Spreitungskoeffizienten, d.h. die Eigenschaft, sich spontan auf Oberflächen auszubreiten. Weiter verfügen sie mit ca. 20 dyne cm^{-1} über eine niedrige Oberflächenspannung und haben ein hohes spezifisches Gewicht. Perfluorkarbone sind keine reinen Substanzen, sondern bestehen aus Mischungen stabiler Kohlenstoff-Fluor-Bindungen. Ihre spezifischen Eigenschaften resultieren aus der Länge der Kohlenstoffkette und der Menge der Substitution von Fluor durch andere Halogene und mögliche Seitenketten. In Tabelle 1 sind die physikalischen Eigenschaften einiger Perfluorocarbone im Vergleich zu Wasser aufgeführt. [50]

	Wasser	FC-77	RM-101	FC-75	Perflubron
Siedepunkt (°C)	100	97	101	102	143
Dichte (g/ml bei 25°C)	1	1,78	1,77	1,78	1,93
Kinematische Viskosität (cm ² /s bei 25°C)	1	0,8	0,82	0,82	1,1
Dampfdruck (mmHg bei 37°C)	47	85	64	64	11
Oberflächenspannung (dyne/cm bei 25°C)	72	15	15	15	18
Spreitungs-Koeffizient auf NaCl (dyne/cm bei 25°C)	N/A	8,5	6,9	6,9	2,7
O ₂ -Löslichkeit (ml Gas im 100 ml Lösung bei 25°C)	3	50	52	52	53
CO ₂ -Löslichkeit (ml Gas in 100 ml Lösung bei 37°C)	57	198	160	160	210

Tabelle 1: Physikalische Eigenschaften ausgewählter industrieller Perfluorkarbonformulierungen im Vergleich zu Wasser. FC-77TM 3M Company, u.a. St. Pauli, Minnesota, USA; RM-101 Miteni, Mailand, Italien; FC-75TM 3M Company, St. Pauli, Minnesota, USA; (modifiziert nach Quintel [50])

PFCs transportieren in Abhängigkeit vom Partialdruck Gase wie Sauerstoff und Kohlendioxid in gelöster Form.

In unkontrollierten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass partielle Flüssigkeitsventilation mittels PFC zu einer Verbesserung des Gasaustausches und der Compliance beim akuten Lungenversagen führen kann.

Diese Ergebnisse motivierten die unten genannten sowie die aktuell vorliegende Studie zur peritonealen Lavage bei mesenterischer Ischämie.

1.6 Arbeitshypothese

Bei einer Inzidenz von 0,1-0,36% aller Krankenhausaufnahmen ist die AMI ein seltenes Erkrankungsbild des Intestinaltraktes [27]. Jedoch ist die Mortalitätsrate, trotz guter therapeutischer Ansätze, mit 60 bis zu über 90%, sehr hoch. Häufig sind die schweren Grunderkrankungen der Intensivpatienten eine Erschwernis für eine operative Revaskularisation. Der Anteil der nonokklusiven Mesenterialischämie an der akuten arteriellen Mesenterialischämie beträgt rund 44% [27]. Zwei Drittel der Patienten kommen sekundär im Verlauf einer schweren Krankheit mit einer NOMI in die Intensivbehandlung [41]. Die Mortalität dieser Perfusionsstörung wird mit 43-80% angegeben, durch adäquate lokale Vasodilatation kann sie auf 40% gesenkt werden. Diese Fakten motivieren die Suche nach neuen Therapieansätzen.

Veröffentlichte Studien haben gezeigt, dass die Funktion und Integrität der Darmmukosa während einer Ischämie durch intra- und extraluminale Applikation von Sauerstoff oder sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon geschützt werden kann [43,52,64]. Auch außerhalb des Tiermodells realisierbar erscheint die extraluminale Verabreichung von sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon in Form einer peritonealen Lavage. Die dafür benötigte Technik wird in der täglichen Praxis bei der Peritonealdialyse seit Jahren eingesetzt. In den publizierten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon zu einem Anstieg des pO_2 sowohl in der Portalvene als auch in den peripheren Mesenterialarterien führt [5]. Weitergehend zeigten Ohara et al [44] und Shinzeki et al [63], dass durch peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon im Kleintiermodell die Barrierefunktion der Darmmukosa bei Ischämie erhalten und eine bakterielle Translokation vermieden werden kann. Die Arbeitshypothese der vorliegenden Untersuchung stellt sich folgende Frage: Sind die positiven Therapieergebnisse, gewonnen in Kleintiermodellen zu transferieren auf ein der menschlichen Anatomie nahe kommendes Großtiermodell?

1.6.1 Ziel dieser Studie:

Die vorliegende Studie untersucht die histologischen Veränderungen des mukosalen Darmgewebes während peritonealer Dialyse mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon bei mesenterialer Ischämie im porcinen Großtiermodell. Es soll evaluiert werden, inwieweit dieses im Kleintier erfolgreiche Therapieverfahren auch bei anthropoiden anatomischen Verhältnissen mukosaprotektive Ergebnisse erzielen kann.

2 Methodik und Material

2.1 PFC und Zirkulations-Apparatur

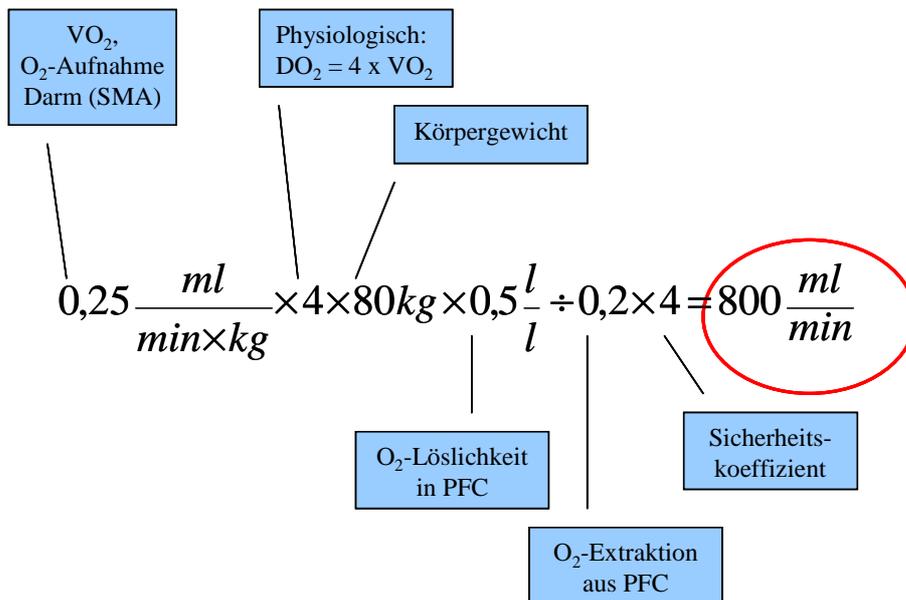
Das in dieser Studie verwendete Perfluorocarbon (3M fluoriniert TM Dielektrika FC-77) wurde bezogen von 3M (Deutschland, Neuss).

In dem vorliegenden Modell wurde eine kontinuierliche intraabdominale Lavage mit oxygeniertem PFC durchgeführt (vgl. schematische Abbildung 3). Auf Grund des hohen Preises von Perfluorocarbonen war eine Zirkulierung der Substanz erforderlich; zur Erzielung der erforderlichen hohen Flussrate wurde eine maschinelle Zirkulation (Cycler) vorgesehen.

Zur praktischen Umsetzung des Therapiekonzeptes wurde ein Pflichtenheft mit zu erfüllenden Voraussetzungen erstellt:

- Sauerstoffaufsättigung des PFC
- Anwärmen des PFC
- transperitoneale Zirkulation mit einem Fluss von 800 ml/h (siehe unten)
- Reinigung des durch die Bauchhöhle geleiteten PFC

Die angestrebte Flussrate wurde wie folgt kalkuliert:



0,25 ml Sauerstoff kann pro Minute pro kg Darm aufgenommen werden. Viermal so viel wird unter physiologischen Bedingungen dem Darm angeboten. Aufgerundet wogen die ausgewählten Versuchstiere 80 kg. Maximal 0,5l Sauerstoff kann in einem Liter PFC gelöst werden. Lediglich 20% des gelösten Sauerstoffs wird ausgeschöpft. In der vorliegenden Studie diente der Faktor 4 als Sicherheitskoeffizient. Die resultierende angestrebte PFC-Flussrate betrug 800 ml pro Minute. [53]

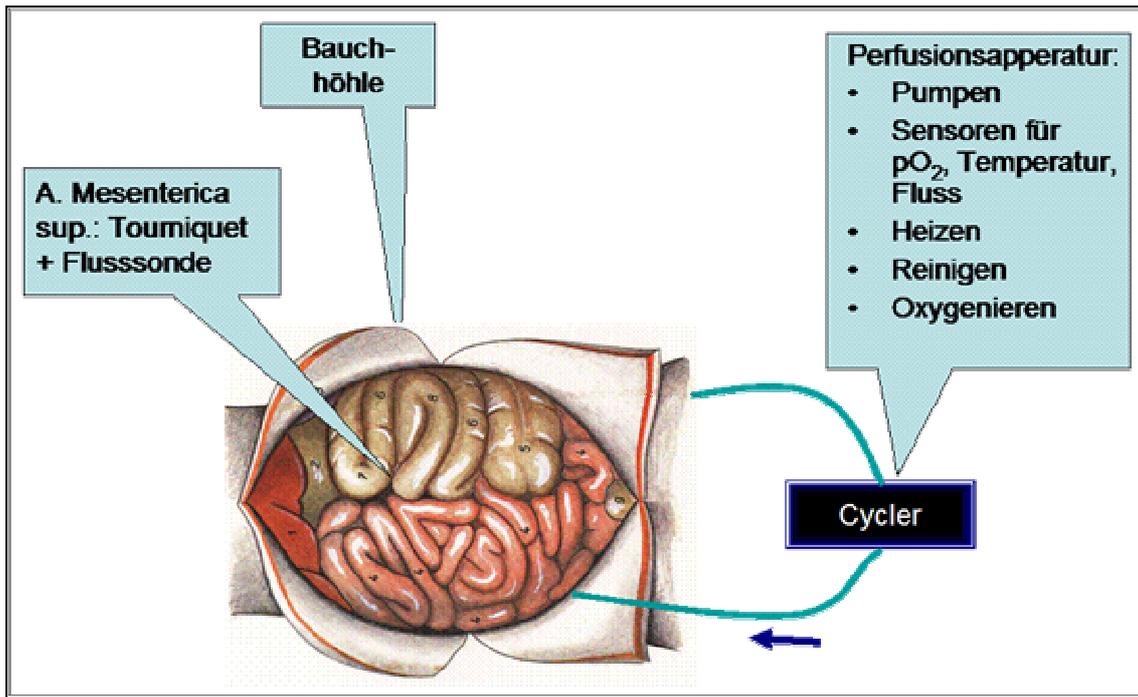


Abbildung 3: schematische Darstellung der peritonealen Lavage

In einer Projekt-Kooperation wurde von der Fachhochschule Münster, Zentrum für Medizintechnik (Prof. Dr.-Ing. Uvo Hölscher), ein Gerät konzipiert und konstruiert, das die genannten Anforderungen erfüllte. Es handelte sich um ein modifiziertes Peritonealdialysegerät (siehe Abb. 4) der Firma Baxter. Das modifizierte Gerät erfüllte die Bedingungen der zuvor im Pflichtenheft festgelegten Anforderungen. Es konnte aufgrund seiner technischen Konfiguration der intraabdominellen PFC-Applikation angepasst werden. Das zugehörige Schlauchset Haemotronic wurde ebenfalls verwendet.

Durch den programmierbaren Cycler konnten das Füllvolumen, der Einlauf, die Verweildauer und der Auslauf gesteuert werden. Das Gerät füllte das Abdomen über einen Katheter mit einem definierten Volumen oxygenierten PFCs vor und förderte mit einer festgelegten Flussrate oxygeniertes PFC in die Peritonealhöhle. Über einen zweiten Katheter wurde parallel PFC aus dem Abdomen drainiert. Nach Verlassen des Körpers wurde das PFC zur sterilen Reinigung über geeignete Filter (Mikrotrans 10, Biotest Medizintechnik GmbH, 10 μ m Filter/Transfusionsfilter) geleitet. Die

anschließende Oxygenierung wurde durch eine Blasensäule erreicht. Über einen Blasenstein am Fuße einer Plexiglassäule (Höhe 80 cm) wurde reiner Sauerstoff mit einem Fluss von mehreren Litern pro Minute durch das PFC geleitet; die große Oberfläche der kleinen Blasen erlaubte eine effektive Aufsättigung der Flüssigkeit. Über eine Rollenpumpe wurde das PFC zu einer Heizplatte geleitet und hier im sterilen Schlauchsystem kontaminationsfrei auf 37°C aufgewärmt. Durch ein nachgeschaltetes Filtersystem wurden alle Blasen entfernt und das blasenfreie PFC erneut über den Katheter in die Peritonealhöhle geleitet.

Um während der PFC-Zirkulation eine optimale Benetzung des gesamten viszeralen Peritoneums zu erreichen, wurde die Flüssigkeit durch die Katheterlage von ventrokranial nach dorsokaudal durch das Abdomen geleitet. Die Zuleitung erfolgte über einen Tygon-Schlauch (6,4 cm Ø), an dessen Ende zwei per Y-Konnektor parallel geschaltete, modifizierte Wärmebeutel (Fa. E. Biegler GmbH, Österreich) angeschlossen waren. Diese Wärmebeutel wurden zuvor halbiert, am distalen Ende thermisch verschweißt, die vorhandenen Luftfallen entfernt und mittels thermischer Bearbeitung manuell mit Löchern (ca. 160-180 Löcher pro Katheter auf einer Berechnungsfläche von ca. 15x22 cm) versehen. Die modifizierten Katheter wurden vor Verschluss der Bauchdecke auf das Darmkonvolut positioniert. Durch die Vielzahl an Perforationen wurde das einströmende PFC dispers in der Bauchhöhle verteilt. Die Ableitung des PFC wurde über zwei links und rechts paravertebral eingebrachte, großlumige passive Runddrainagen (8 mmØ, Fa. W. Rüschi GmbH, Deutschland) realisiert. Diese wurden am distalen Ende durch Filterkörbe (Fa. Eheim, Deutschland) erweitert, so wurde ein Ansaugen des Darmes verhindert und ein optimaler Abfluss des PFC gewährleistet.

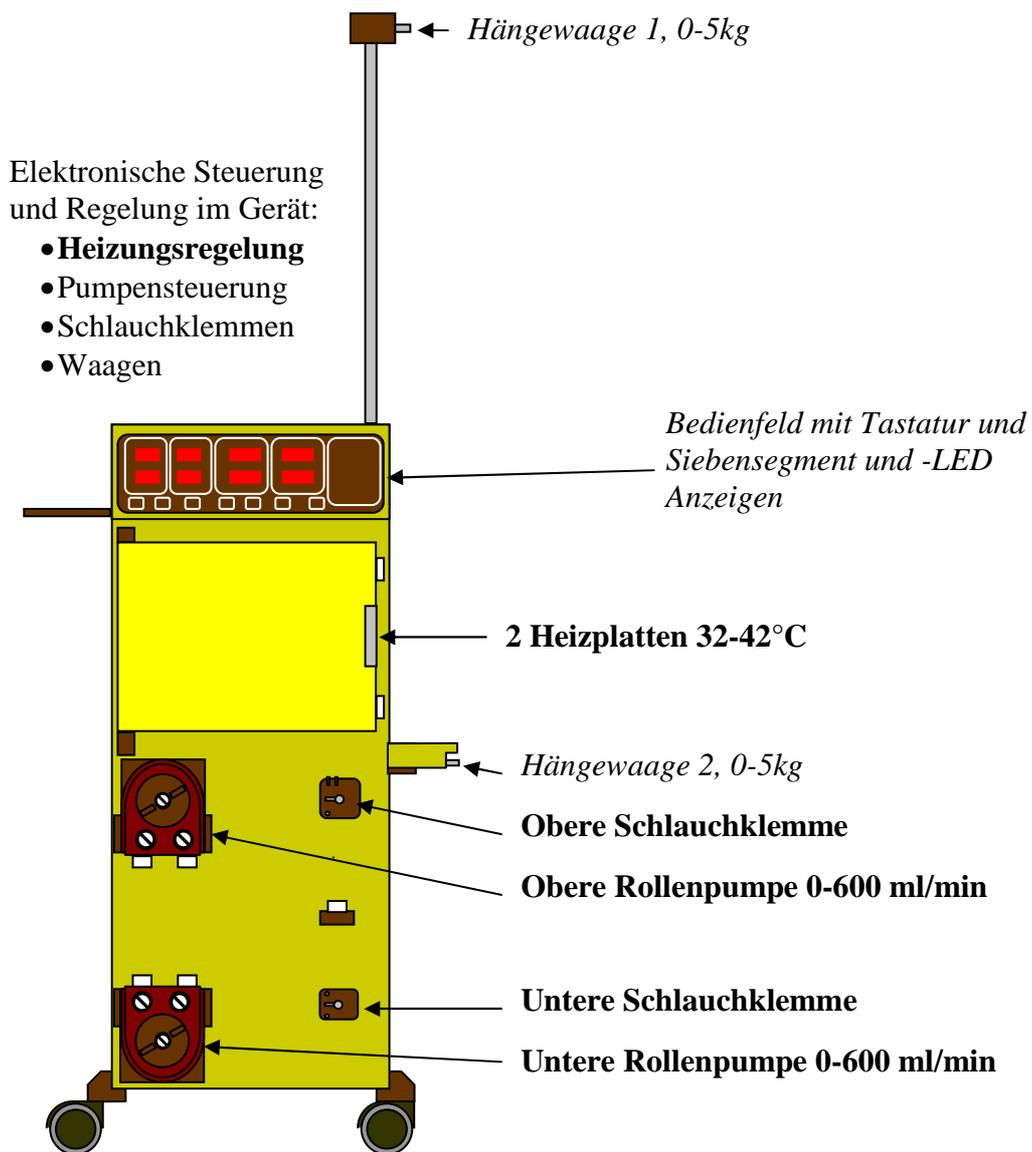


Abbildung 4: Aufbau der APD 6; fette Schrift = verwendete Komponenten

2.2 Versuchsdurchführung

Diese Studie wurde nach Genehmigung durch den Regierungspräsidenten in Münster vom 19.04.2004 mit dem Aktenzeichen 50.0835.1.0 (G22/2004) gemäß § 8 des Tierschutzgesetzes durchgeführt.

Die Untersuchung umfasste drei Versuchsgruppen.

A. Ischämie

Bei sechs weiblichen Schweinen wurde der Blutfluss in der A. mesenterica superior um 80 % reduziert.

B. Ischämie plus PFC-Therapie

Sechs weibliche Schweine erhielten zusätzlich zur Ischämieinduktion eine intraperitoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC.

C. Kontrolle

Sechs weibliche Schweine wurden wie in Gruppen A. und B. einer kompletten Situspräparation unterzogen, eine Ischämieinduktion oder Peritoneallavage jedoch nicht durchgeführt.

Diese insgesamt 18 Schweine der Rasse F1 (Landrasse gekreuzt mit Edelschwein, „Westhybridsau“) wurden einer zwölfstündigen Nahrungskarenz bei freiem Wasserzugang unterzogen. Nach intramuskulärer Prämedikation (3 mg/kg Atropin, 5 mg/kg Ketamin, 0,02 mg/kg Azaperon) wurde eine Venenverweilkanüle (Insyte-W™, 20 GA, 1,1 * 30 mm, Becton Dickinson, Infusion Therapy Systems Inc., Sandy, Utah, USA) in die Ohrvene gelegt und die Narkose mit 5-6 mg/kg Thiopental induziert. Anschließend wurden die Schweine in Rückenlage fixiert, orotracheal intubiert und über ein Beatmungsgerät (Physioflex, Dräger, Lübeck, Deutschland) mit einem Sauerstoffgehalt der Einatemungsluft (FiO₂) von 0,5 sowie einem Atemminutenvolumen von 10 ml/kg/min und einer Atemfrequenz von 10-12 /min mechanisch normoventiliert (paCO₂ 40,0 ± 3,0 mmHg). Die Anästhesieaufrechterhaltung erfolgte über die gesamte Versuchsdauer mit einer Inhalationsnarkose durch Isofluran und kontinuierlicher Gabe von Piritramid mit einer Dosierung von 150 mg auf 30 ml Aqua über ein Perfusorsystem mit durchschnittlicher Applikationsrate von 9 ml pro Stunde (entspricht

ca. 1,5mg/kgKG/h). Zur Aufrechterhaltung eines ausgeglichenen Flüssigkeitsstatus wurde isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9% und Hydroxyethylstärke 6% nach einem Flüssigkeitsbedarf von 2 ml/kg KG/h bzw. während der Laparotomie von 10 ml/kg KG/h infundiert.

Das Monitoring umfasste zunächst die Ableitung des EKG, der peripheren Sättigung (Pulsoxymeter N-180, Nellcor Puritan Bennett Inc., Pleasanton, USA) und die kontinuierliche rektale Temperaturmessung.

Im Weiteren erfolgte die operative Instrumentierung der Halsgefäße. Hierzu wurde eine zervikale Rasur mit anschließender chirurgischer Hautdesinfektion mit Alkohol durchgeführt. Nach Hautschnitt wurden die V. jugularis communis und die A. carotis communis freigelegt und die Vene doppelt angezügelt sowie kranial ligiert. Unterhalb der Ligatur wurde das Gefäß eröffnet und mit einem Swan-Ganz-Katheter katheterisiert. Nach Einlage eines Katheters in die A. carotis communis wurde die Abnahme arterieller Parameter und die invasive systemische Blutdrucküberwachung ermöglicht. Der arterielle Zugang wurde an ein Spülsystem mit Kochsalzlösung angeschlossen.

Anschließend erfolgte nach Rasur und chirurgischer Desinfektion des Abdomens eine mediane Längsschnittlaparotomie vom Xiphoid bis in die Regio suprapubica unter lateraler Umgehung des Nabels. Nach Präparation wurde die A. mesenterica superior (AMS) isoliert und aortennah angezügelt durch ein speziell angefertigtes, durch die laterale Bauchwand nach Außen ausgeleitetes, stufenlos regulierbares Tourniquet. Proximal dieser Stelle wurde eine Dopplerflusssonde zur kontinuierlichen Messung des lokalen Blutflusses nach dem Transit Time Flussmeßverfahren (Transsonic Systems Inc., Ithaca, USA) angebracht. Anschließend wurde der retroperitoneale Raum wieder verschlossen. Bei den Tieren der Therapiegruppe B (Ischämie plus PFC-Therapie) erfolgte nach Verschluss des Retroperitoneums die intraabdominelle Anlage der Katheter, über die das sauerstoffangereicherte PFC angeflutet und das sauerstoffarme PFC abtransportiert wird.

Anschließend wurden die Schichten der medianen Laparotomie wieder verschlossen. Alle Eingriffe erfolgten unter sterilen Bedingungen.

2.3 Versuchsprotokoll

Zur Stabilisierung der Messwerte wurde vor Erhebung der Baseline-Parameter nach der Präparation eine Äquilibrationsphase von 60 Minuten zwischengeschaltet. Nach Ablauf dieser Zeit begann die eigentliche Messphase mit dem Versuchszeitpunkt 0. Hier erfolgte der Verschluss des Tourniquets an der A. mesenterica superior bis zur dopplertechnisch kontrollierten vorgesehenen Flußeinschränkung auf 20 % des äquilibrierten Ausgangsflusses. Gleichzeitig wurde mit der Zirkulation des extraperitoneal oxygenierten Perfluorkarbons (PFC) durch die Bauchhöhle begonnen. Die Gesamtdauer der Blutflußreduktion betrug 4 Stunden, hieran wurde eine einstündige Reperfusionphase angeschlossen und zeitgleich die Zirkulation des PFC beendet.

Während des Versuchsablaufes wurden in definierten Abständen Parameter erhoben (siehe Tabelle 1). Zu diesen zählten: Atemminutenvolumen (AMV), diastolischer- (BDd), mittlerer- (BDm), systolischer- (BDs) Blutdruck, expiratorische Kohlendioxidkonzentration (etCO₂), Herzminutenvolumen (HF min⁻¹), Fluss A. mesenterica superior (SMA), Temperatur.

Versuchsminuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
AMV	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
BDd	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
BDm	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
BDs	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
etCO ₂	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
HF min ⁻¹	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fluss SMA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Temperatur	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabelle 2: zeitliches Schema zur Bestimmung der angegebenen Parameter

Am Ende der fünfstündigen Beobachtungszeit wurden die Tiere durch eine intravenöse Kalium-Injektion euthanasiert.

2.4 Histologie

Unmittelbar vor Euthanasierung der Tiere wurde eine erneute Laparotomie durchgeführt, der Gastrointestinaltrakt inspiziert und Gewebeproben für die histologische Untersuchung entnommen. Es wurden jeweils drei Gewebeproben aus sieben verschiedenen ischämischen Darmabschnitten, ausgehend vom Duodenum antegrad nach jedem Meter, exzidiert.

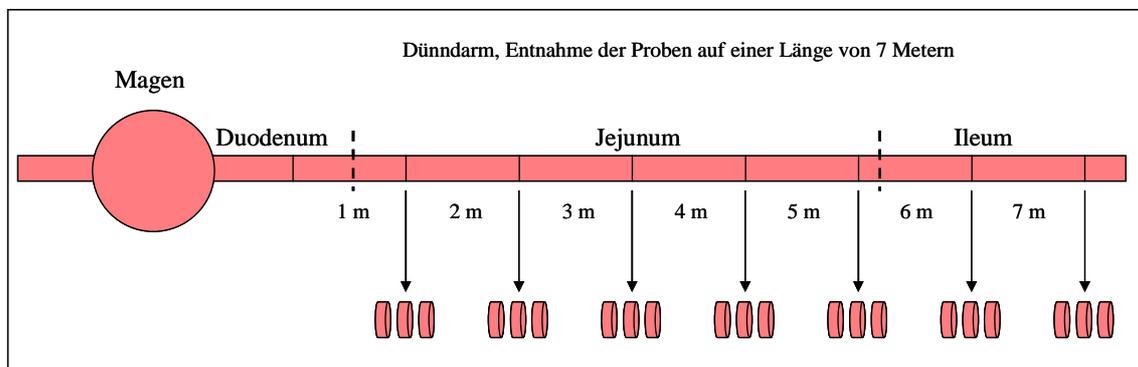


Abbildung 5: Schema der Gewebeprobeentnahme zur Histologiegewinnung

Die histologische Aufarbeitung und Färbung erfolgte im Anschluss an die Experimentalphase. Die Probenaufbereitung für die Lichtmikroskopie wurde nach einem standardisierten Schema durchgeführt. Nachdem die Fixierung in 4% Paraformaldehyd abgeschlossen war, wurde das Fixierungsmittel mit 0,1 m PBS (phosphate buffered saline) bei pH 7,4 für 24 Stunden aus den Proben gewaschen. Dann folgte die Dehydratation mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe. Anschließend wurde mit Zedernholzöl für 24-72 Stunden die Verdrängung des Restalkohols gewährleistet. Dann wurden die Proben für 24 Stunden mit einem Zedernholzöl-Paraffin-Gemisch bei 48°C infiltriert, im Anschluß für weitere 24 Stunden mit reinem Paraffin bei 58°C. Weiter wurden die Proben 3 mal 24 Stunden mit einem Paraffin-DMSO-Gemisch bei

58°C infiltriert. Jetzt wurden sie in eine Kassettenform ausgegossen und auf Raumtemperatur abgekühlt. Folgend wurden 8-10 µm dicke Schnitte an einem Rotationsmikrotom (Reichert und Jung) hergestellt und auf Eiweiß-Glycerin beschichtete Objektträger gezogen. Die gewonnenen Schnitte wurden drei unterschiedlichen Färbeverfahren unterzogen, um unterschiedliche Aspekte hervorheben zu können.

Für die Eosin-Hämatoxylin Färbung nach Mayer wurden die Schnitte entparaffiniert mit 2 mal 10 Minuten in Xylol und rehydriert mit einer absteigenden Alkoholreihe und Aqua dest. Dann wurden die Objektträger für 10 Minuten in das Hämatoxylin gestellt mit anschließender dreißigminütiger Bewässerung. Weiter wurde für 1-2 Minuten mit Eosin gefärbt, um sie dann zur Differenzierung und Dehydrierung in eine aufsteigende Alkoholreihe zu geben. Abschließend wurden die Objektträger 10 Minuten in Karbolxylol und zweimal 10 Minuten in Xylol gestellt, um die Proben dann mit DePeX einzudecken. Bei dieser Färbung stellen sich die Zellkerne blau dar und das Zellplasma rosa.

Um die Proben in Azan nach Heidenhain zu färben, wurden die Schnitte wieder entparaffiniert und rehydriert mit Xylol, absteigender Alkoholreihe und Aqua dest. Dann wurden sie eingestellt in Azocarmin bei 60°C für 10 Minuten. Die Differenzierung erfolgte in Anilinöl-Alkohol, die Beizung für 4 mal 10 Minuten in Phosphorwolframsäure mit anschließendem zehnmütigen Bad in Aqua dest. Das Bindegewebe wurde für 10 Minuten in Anilinblau-Orange-G gefärbt. Für die Entfärbung und Dehydrierung wurden die Objektträger in eine aufsteigende Alkoholreihe gestellt. Zudem wurden sie für 10 Minuten in Karbolxylol und zweimal 10 Minuten in Xylol gestellt und eingedeckt mit DePeX ein. Bei dieser Färbung stellen sich Zellkerne rot, Bindegewebe blau, Erythrozyten rot und das Zellplasma rosa bis farblos dar.

Die Hornowsky-Goldner Färbung begann wieder mit der Entparaffinierung und Rehydrierung der Schnitte. Dann wurden die Schnitte für 15 Minuten in Resorchin-Fuchsin gestellt mit folgender Spülung durch Aqua dest. Weiter wurde mit Hämatoxylin

nach Weigert für 1-2 Minuten gefärbt wiederum mit folgender Wässerung für 10 Minuten. Anschließend wurden die Proben für 5 Minuten in Azophloxin-Ponceau de Xylidin-Säurefuchsin gestellt und danach mit 1% Essigsäure gespült. Des Weiteren erfolgte die Differenzierung für 1-2 Minuten in Molybdätophosphorsäure-Orange-G mit folgender Spülung in 1% Essigsäure. Mit 1% Lichtgrün wurde die Bindegewebsfärbung durchgeführt und mit 1% Essigsäure wurde differenziert. Die Proben wurden für dreimal 10 Minuten in absolutem Alkohol dehydriert, dann zweimal für 10 Minuten in Xylol gestellt und eingedeckt mit DePeX. Bei dieser Färbung stellen sich Zellkerne schwarz, Epithelzellen braun bis violett, Bindegewebe grün, Erythrozyten rot und Epithelzellplasma rosa bis farblos dar.

Die Gewebeveränderungen der einzelnen Proben wurden in Anlehnung an die Klassifikation von Chiu [6] und Haglund [19] in einem definierten Graduierungssystem (Tabelle 2) erfasst.

	Mukosaveränderung	
Grad der Schädigung	Epithel	Lamina propria
0	keine Veränderung	Keine Veränderung
1	keine Veränderung	vereinzelte Blutungen
2	Epithelabschilferungen	vereinzelte Blutungen
3	entblößte Zotten	Blutungen
4	entblößte Zotten	Ulzerationen, Nekrosen

Tabelle 3: Graduierung histologischer Veränderungen an der Darmmukosa modifiziert nach Chiu, Haglund, Knichwitz [29]

2.5 Statistik

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit der Software SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL).

Rationalskalierte Parameter wurden mittels Mittelwert \pm Standardabweichung (MW \pm SD) dargestellt. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mittels ANOVA und post hoc-Test untersucht. Nominalskalierte Parameter (histologische Klassifikation) wurden mittels Medianbildung beschrieben und Gruppenunterschiede mit dem Chi-Quadratstest evaluiert. Die histologischen Ergebnisse wurden mittels Kruskal-Wallis-Test überprüft und mittels Mann-Whitney-Test wurde zwischen 2 Versuchsgruppen unterschieden. Signifikant unterschiedliche Messergebnisse wurden angenommen bei Unterschreiten einer Irrtumswahrscheinlichkeit p von 0,05.

Statistisch signifikant unterschiedliche Werte sind in den Datentabellen grau und mit einem Stern markiert.

3. Resultate

3.1 Hämodynamische Parameter

Gruppe A. Ischämie:

Die hämodynamischen Parameter diastolischer Blutdruck (BDd), mittlerer Blutdruck (BDm) und systolischer Blutdruck (BDs) zeigten keine Veränderungen während der gesamten Experimentdauer. Die Herzfrequenz (HF) stieg im Versuchsablauf an. Ab der 270. Versuchsminute kam es zu einem signifikanten Anstieg im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ab der 300. Versuchsminute lag ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontroll- und Ischämie plus PFC-Therapie-Gruppe vor: Die Herzfrequenz erreichte fast den doppelten Ausgangswert. Die Daten sind in Tabelle 4 und den Abbildungen 5 bis 8 als Mittelwert mit Standardabweichung dargestellt.

Versuchs- minuten	Base- line	Darmischämie								Reper- fusion	
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
HF [min ⁻¹]	72,17 18,30	68,83 17,86	69,83 18,72	73,33 16,11	74,83 17,95	77,50 19,22	83,17 15,09	88,50 14,94	99,83 18,62	119,00* 18,04	141,33* 23,16
BDd [mmHg]	54,67 8,36	52,67 12,23	54,17 9,35	53,50 9,48	53,00 7,98	50,83 10,59	54,33 12,21	47,17 7,47	50,50 12,82	46,50 11,17	49,17 15,96
BDm [mmHg]	62,67 7,65	61,56 10,99	62,67 8,84	62,11 9,18	61,89 7,74	59,67 10,09	60,67 9,49	57,06 6,06	60,56 11,59	55,28 10,29	58,00 14,24
BDs [mmHg]	78,67 7,12	79,33 9,33	79,67 8,57	79,33 10,35	79,67 7,94	77,33 9,73	73,33 6,41	76,83 8,70	80,67 12,23	72,83 10,57	75,67 12,53

Tabelle 4: Hämodynamische Parameter der Gruppe A. Ischämie: Herzfrequenz (HF), diastolischer Blutdruck (BDd), mittlerer Blutdruck (BDm), systolischer Blutdruck (BDs), (n = 6, Mittelwert ± Standardabweichung)

Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie:

Auch hier zeigte sich eine Herzfrequenzerhöhung (HF) während der Versuchsdauer um insgesamt rund 30 Prozent. Ab der 300. Minute stieg der Wert signifikant an. Die drei Blutdruckparameter fielen über die gesamte Experimentdauer um bis zu 17 mmHg. Die Daten sind in Tabelle 5 und den Abbildungen 5 bis 8 als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben.

	Baselin e	Darmischämie								Reperfusion	
Versuchs- minuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
HF [min ⁻¹]	76,17	72,67	81,83	82,17	79,00	81,67	81,33	84,83	83,67	104,17	100,50*
	19,52	16,15	26,21	21,79	15,09	17,82	16,18	19,24	15,62	31,47	13,90
BDd [mmHg]	57,83	59,33	58,17	61,17	55,50	54,00	52,33	53,00	50,33	45,67	41,67
	5,67	12,31	4,07	6,80	4,59	3,35	5,20	1,55	1,51	5,89	7,34
BDm [mmHg]	67,67	69,11	67,17	69,17	64,56	63,67	61,28	62,72	59,44	55,11	51,11
	6,99	12,27	5,28	3,68	5,08	3,65	5,71	1,56	2,04	6,40	7,75
Bds [mmHg]	87,33	88,67	85,17	85,17	82,67	83,00	79,17	82,17	77,67	74,00	70,00
	11,43	13,14	9,33	7,68	6,89	7,19	7,41	4,12	5,28	8,20	9,36

Tabelle 5: Hämodynamische Parameter der Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie: Herzfrequenz (HF), diastolischer Blutdruck (BDd), mittlerer Blutdruck (BDm), systolischer Blutdruck (Bds), (n = 6, Mittelwert ± Standardabweichung)

Gruppe C. Kontrolle:

Die hämodynamischen Parameter zeigten Veränderungen während der gesamten Experimentdauer. Die Herzfrequenz stieg an. Ab der 270. Minute bestand ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Ischämie-Gruppe, ab der 300. Minute bestand ein signifikanter Unterschied unter allen Gruppen. Die Blutdruckparameter fielen um bis zu 17 mmHG. Die Daten sind in Tabelle 6 und den Abbildungen 5-8 als Mittelwert mit Standardabweichung dargestellt.

	Baseline	Darmischämie								Reperfusion	
Versuchsminuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
HF [min ⁻¹]	67,83 9,45	67,50 7,74	70,33 11,24	73,33 14,92	68,50 9,14	70,50 12,26	76,00 15,93	76,00 14,00	77,33 15,41	79,83* 16,24	83,67* 18,09
BDd [mmHg]	58,67 6,15	59,67 8,45	59,67 3,25	59,17 5,38	59,33 7,99	52,00 6,63	50,33 8,140	50,33 5,715	51,67 10,01	50,17 9,432	50,83 8,329
BDm [mmHg]	68,33 6,36	68,78 7,02	69,44 2,98	68,33 3,23	69,33 6,07	61,44 6,04	60,17 7,08	60,83 4,83	61,33 7,27	59,44 6,32	60,00 6,18
BDs [mmHg]	87,67 8,12	87,00 6,78	89,00 5,97	86,67 4,23	89,33 5,16	80,33 7,84	79,83 8,57	81,83 6,65	80,67 6,35	78,00 7,07	78,33 8,82

Tabelle 6: Hämodynamische Parameter der Gruppe C. Kontrolle: Herzfrequenz (HF), diastolischer Blutdruck (BDd), mittlerer Blutdruck (Bdm), systolischer Blutdruck (BDs), (n = 6, Mittelwert ± Standardabweichung)

HF min-1

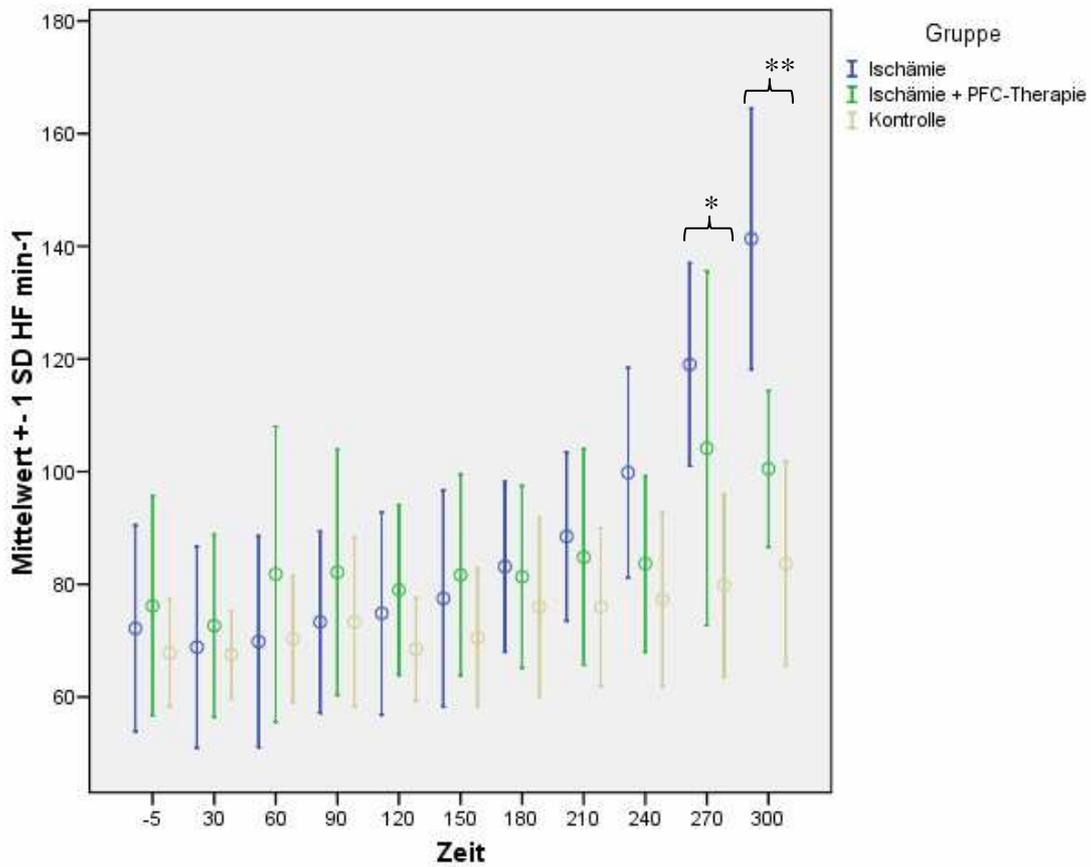


Abbildung 6: Herzfrequenz (HF) während Baseline (0 min), lokaler Darmischämie(30-270 min) und Reperusionsphase (270-300 min) der drei Gruppen im Vergleich; (n = 18, Mittelwert \pm Standardabweichung),

* signifikanter Unterschied zwischen Ischämie und Kontrolle

** signifikante Unterschiede zwischen Ischämie u. Kontrolle sowie zwischen Ischämie und PFC

Signifikanzniveau $p < 0,05$

BP sys mmHg (Blutdruck arteriell)

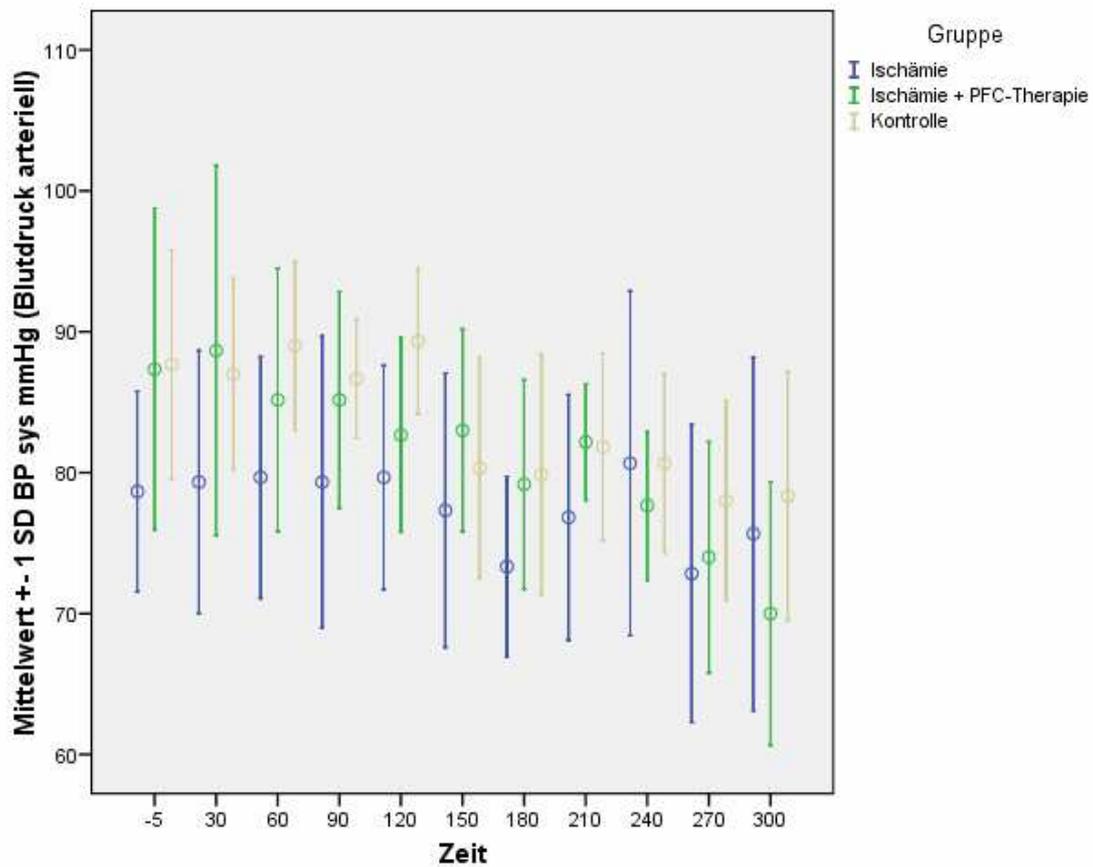


Abbildung 7: Systolischer Blutdruck (BDs) während Baseline (0 min), lokaler Darmischämie (30-270 min) und Reperfusionphase (270-300 min) der drei Gruppen im Vergleich; (n = 18, Mittelwert \pm Standardabweichung)

BD mittel mmHg

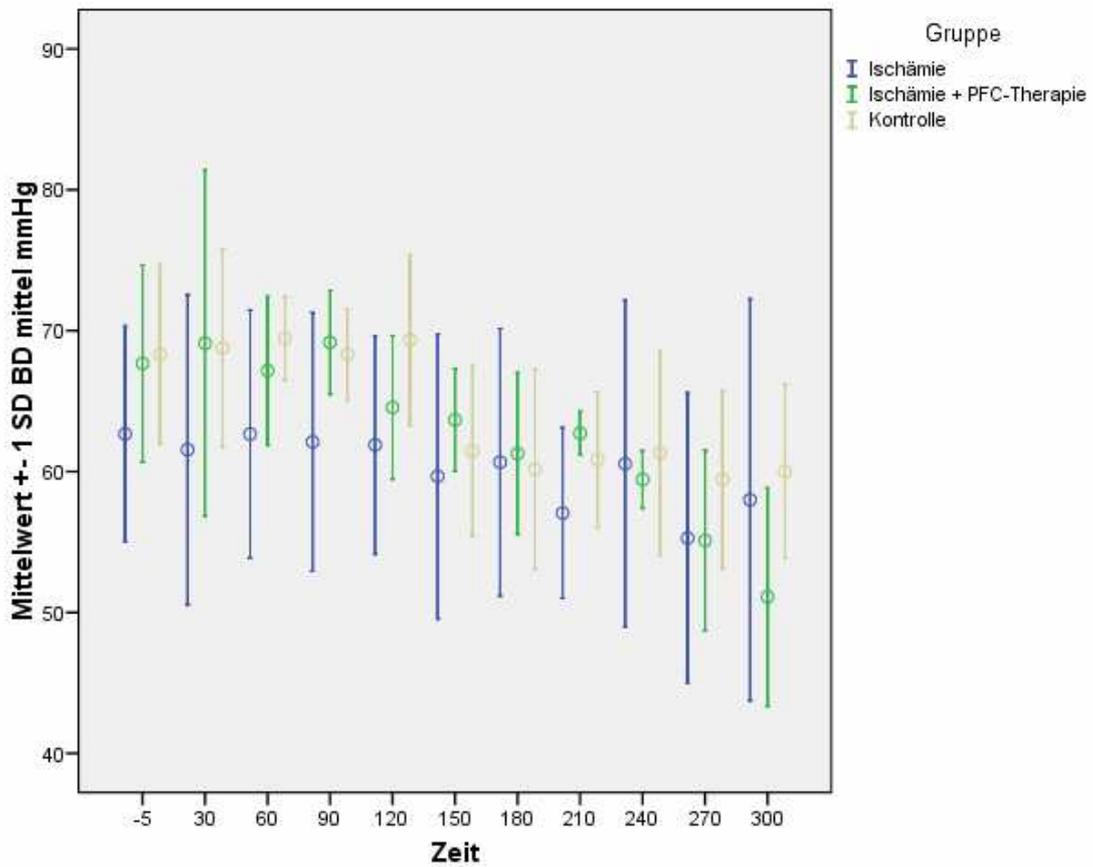


Abbildung 8: Mittlerer Blutdruck (BDm) während Baseline (0 min), lokaler Darmischämie (30-270 min) und Reperfusionsphase (270-300 min) der drei Gruppen im Vergleich; (n = 18, Mittelfehler \pm Standardabweichung)

BD dias mmHg

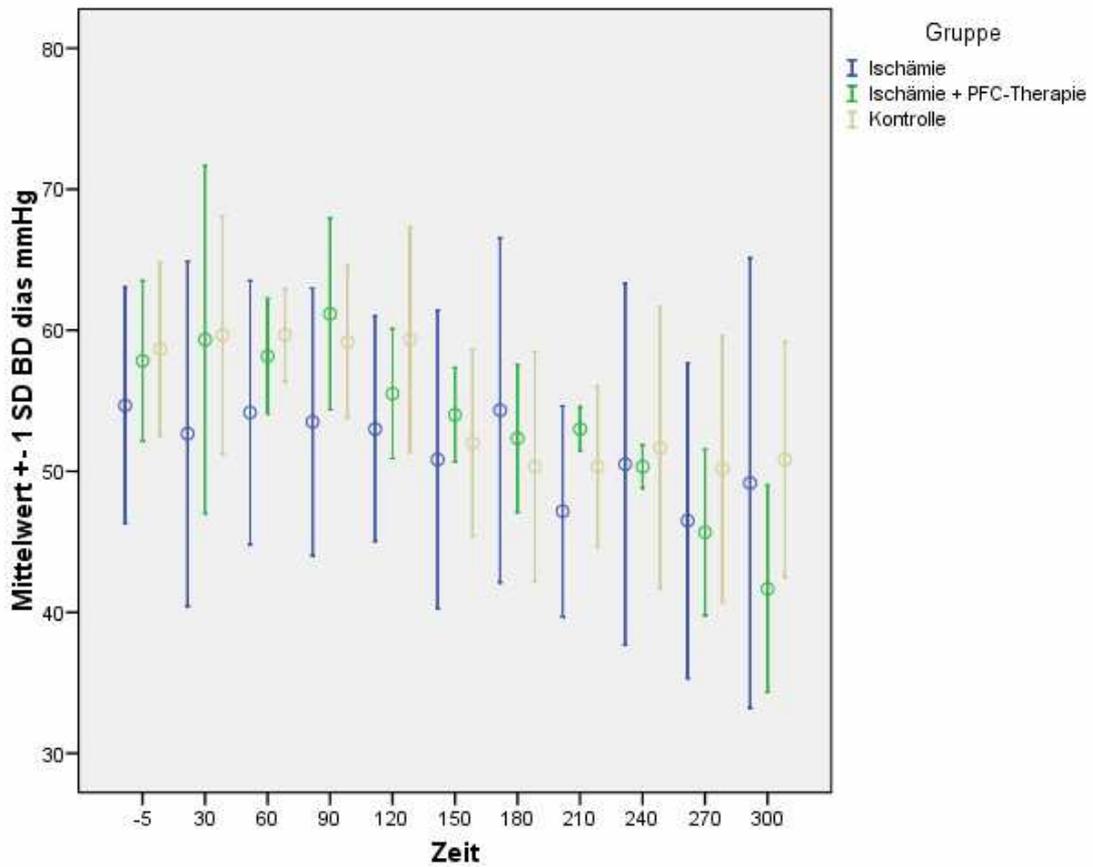


Abbildung 9: Diastolischer Blutdruck (BDd) während Baseline(0 min), lokaler Darmischämie (30-270 min) und Reperfusionphase (270-300 min) der drei Gruppen im Vergleich; (n = 18, Mittelwert ± Standardabweichung)

3.2 Respiratorische Parameter

Gruppe A. Ischämie:

Bei festgelegtem Atemminutenvolumen erhöhte sich der expiratorische Kohlendioxidanteil (et CO₂) während der gesamten Versuchszeit um über 13 mmHg von 37 mmHg zur Baseline-Messung auf 50 mmHg in der 300. Minute. Die Daten sind in Tabelle 7 und der Abbildung 9 als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

	Baseline	Darmischämie								Reperfusion	
Versuchsminuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
AMV	7,86	7,86	7,84	7,86	7,83	7,83	7,86	7,86	7,90	7,87	7,88
[l]	1,02	1,01	0,98	0,99	1,01	0,99	1,01	1,06	1,03	0,97	1,04
et CO ₂	37,00	36,83	36,33	37,83	38,00	39,17	41,33	42,67	45,17	48,83	50,17
[mmHg]	2,68	2,99	2,42	4,22	3,58	4,71	4,84	5,05	9,17	7,78	6,21

Tabelle 7: Respiratorische Parameter der Gruppe A. Ischämie: Atemminutenvolumen (AMV), expiratorischer Kohlendioxidanteil (et CO₂), (n = 6, Mittelwert ± Standardabweichung)

Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie:

Wie in der Ischämiegruppe war hier während der Versuchsdauer unter konstanten Beatmungsparametern ein Anstieg des expiratorischen Kohlendioxidanteils von 35 mmHg auf 44 mmHg zu sehen. Die Daten sind in Tabelle 8 und in den Abbildungen 9 als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

	Baseline	Darmischämie								Reperfusion	
Versuchsminuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
AMV	9,08	9,10	9,05	9,05	9,10	9,08	9,05	8,82	8,84	8,70	8,71
[l]	0,89	0,90	0,91	0,92	0,91	0,92	0,93	0,73	0,72	0,79	0,83
et CO ₂	35,17	35,50	35,33	35,83	35,33	38,00	35,00	36,17	35,00	40,00	44,00
[mmHg]	1,17	3,27	3,14	3,66	2,58	7,62	3,10	2,48	3,35	5,29	5,40

Tabelle 8: Respiratorische Parameter der Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie: Atemminutenvolumen (AMV), expiratorischer Kohlendioxidanteil (et CO₂), (n = 6, Mittelwert ± Standardabweichung)

Gruppe C. Kontrolle:

In dieser Gruppe zeigte sich ein Anstieg des expiratorischen Kohlendioxidanteils um 6, mmHg auf 41 mmHg. Die Daten sind in Tabelle 9 und den Abbildungen 9 als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

	Baseline	Darmischämie								Reper- fusion	
Versuchs- minuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
AMV	8,67	8,43	8,38	8,38	8,37	8,47	8,50	8,26	9,09	9,08	9,08
[l]	2,06	1,99	2,01	2,01	2,00	1,95	1,96	2,45	0,95	0,92	0,92
et CO ₂	34,83	35,50	36,17	36,67	37,00	39,50	40,17	39,33	39,83	40,67	41,67
[mmHg]	3,06	3,02	2,93	2,80	2,98	5,39	4,88	5,82	5,64	8,14	8,17

Tabelle 9: Respiratorischen Parameter der Gruppe C. Kontrolle: Atemminutenvolumen (AMV), expiratorischer Kohlendioxidanteil (et CO₂), (n = 6, Mittelwert ± Standardabweichung)

FetCO₂

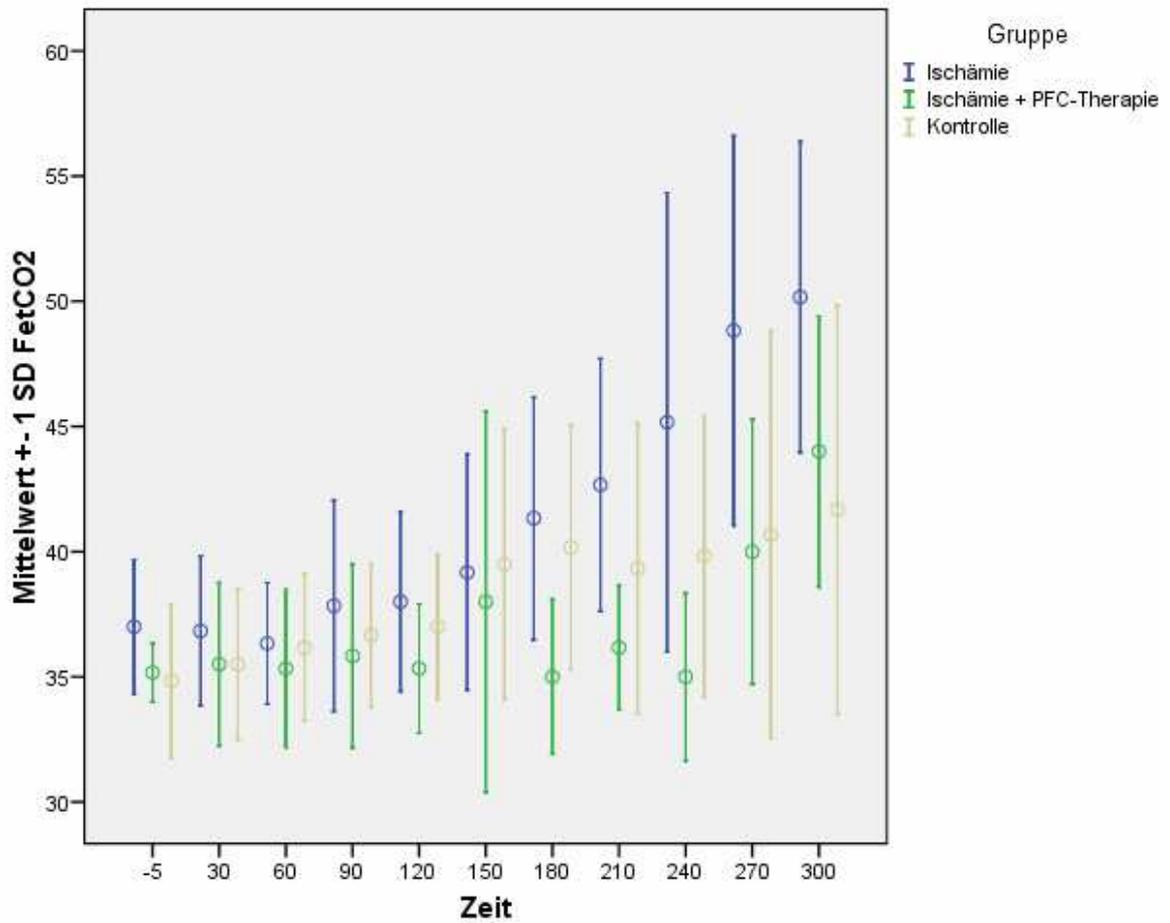


Abbildung 10: expiratorischer Kohlendioxidanteil (et CO₂) während Baseline (0 min), lokaler Darmischämie (30-270 min) und Reperfusionsphase (270-300 min) der drei Gruppen im Vergleich; (n = 18, Mittelwert ± Standardabweichung)

3.3 Sonstige Parameter

Abbildung 10 zeigt die Körpertemperatur der Tiere während der Versuchszeit. In allen drei Gruppen ist ein Anstieg der Temperatur über diesen Zeitraum zu sehen. Die Tabellen 10 bis 12 geben die erhaltenen Zahlenwerte wieder.

Gruppe A. Ischämie:

	Base-line	Darmischämie								Reper-fusion	
Versuchs-minuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
Temp [C°]	35,9 1,32	35,93 1,51	35,88 1,457	36 1,53	36,2 1,52	36,44 1,56	36,68 1,49	36,72 1,48	37,06 1,23	37,28 1,08	37,82 0,88

Tabelle 10: Körpertemperatur der Gruppe A. Ischämie (n=6; Mittelwert ± Standartabweichung)

Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie:

	Base line	Darmischämie								Reper-fusion	
Versuchs-minuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
Temp [C°]	36,88 1,00	36,97 1,02	37,05 1,14	37,1 1,06	37,13 1,00	37,17 1,04	37,27 0,94	37,22 0,92	37,18 0,78	37,33 0,66	37,45 0,72

Tabelle 11: Körpertemperatur der Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie (n=6; Mittelwert ± Standartabweichung)

Gruppe C. Kontrolle:

	Baseline	Darmischämie								Reper-fusion	
Versuchs-minuten	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
Temp [C°]	36,35 1,14	36,57 1,21	36,77 1,32	36,9 1,34	37,08 1,39	37,33 1,30	37,45 1,25	37,53 1,41	37,75 1,40	37,9 1,41	38,05 1,31

Tabelle 12: Körpertemperatur der Gruppe C. Kontrolle (n=6; Mittelwert ± Standartabweichung)

Temp C°

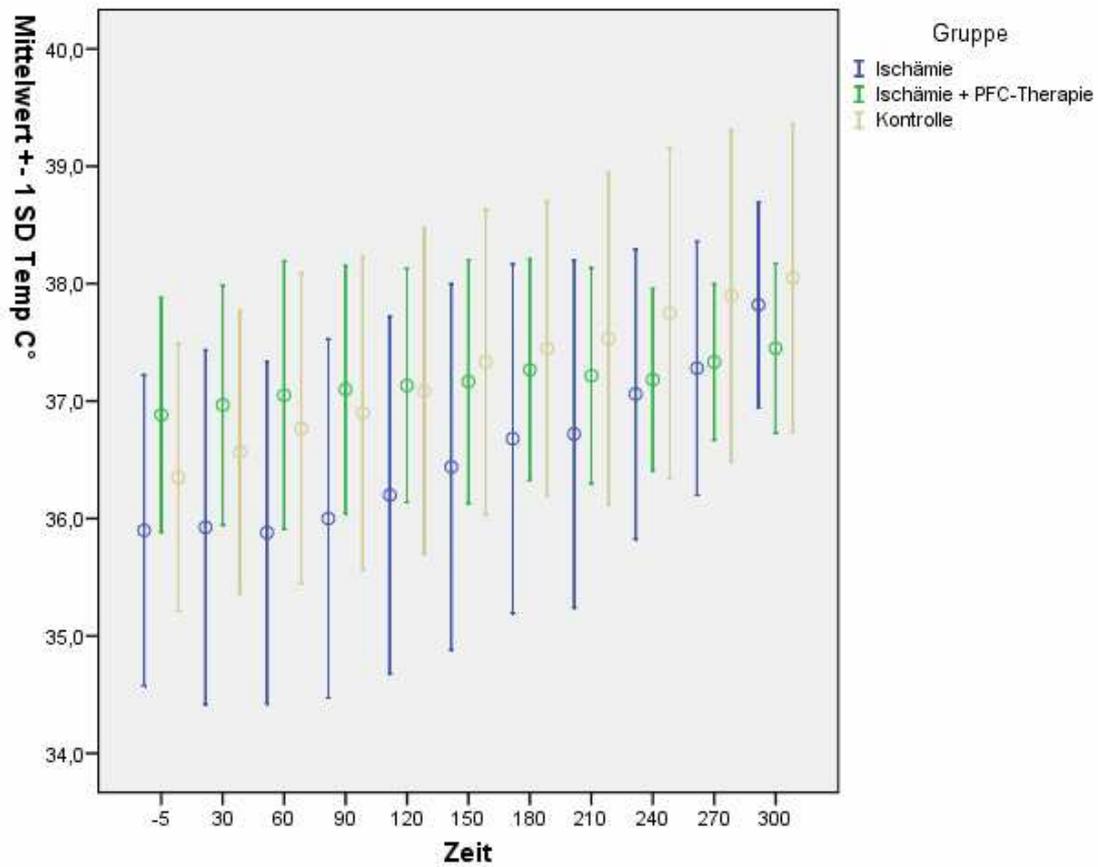


Abbildung 11: Körpertemperatur (Temp C°) während Baseline (0 min), lokaler Darmischämie (30-270 min) und Reperfusionphase (270-300 min) der Gruppen A,B und C im Vergleich; (n = 18, Mittelwert \pm Standardabweichung)

Abbildung 11 zeigt den Blutfluss in der A. mesenterica superior während der Versuchszeit bei allen drei Gruppen. In den Tabellen 13 bis 15 sind die Werte aufgeführt.

Gruppe A. Ischämie:

Versuchs- minuten	Baseline	Darmischämie								Reper- fusion	
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
Fluss A.	488,33	95,83	103,5	99,33	95,00	97,2	96,00	90,33	90,83	567,17	622,83
mes. Sup. [ml/min]	149,69	46,60	72,87	34,15	46,42	33,66	37,92	48,85	33,60	295,16	333,79

Tabelle 13: Der Blutfluss in der A. mesenterica superior gemessen in Gruppe A. Ischämie (n = 6; Mittelwert ± Standartabweichung)

Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie:

Versuchs- minuten	Baseline	Darmischämie								Reper- fusion	
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
Fluss A.	816,67	155	145	143,33	140,83	149,17	133	139,8	139,4	507,5	539
mes. Sup. [ml/min]	354,21	62,85	67,75	69,17	78,38	77,74	86,57	84,93	93,62	90,42	158,9

Tabelle 14: Der Blutfluss in der A. mesenterica superior gemessen in der Gruppe B. Ischämie plus PFC-Therapie (n = 6; Mittelwert ± Standartabweichung)

Gruppe C. Kontrolle:

Versuchs- minuten	Baseline	Darmischämie								Reper- fusion	
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
Fluss A.	681,67	649,83	658	616,67	641,67	615	675,17	646	634,67	595,67	637,5
mes. Sup. [ml/min]	170,70	142,02	138,71	125,65	168,93	161,21	181,79	194,03	174,16	173,23	214,14

Tabelle 15: Der Blutfluss in der A. mesenterica superior gemessen in der Gruppe C. Kontrolle (n = 6; Mittelwert ± Standartabweichung)

Fluss A. mes. sup. (ml/min)

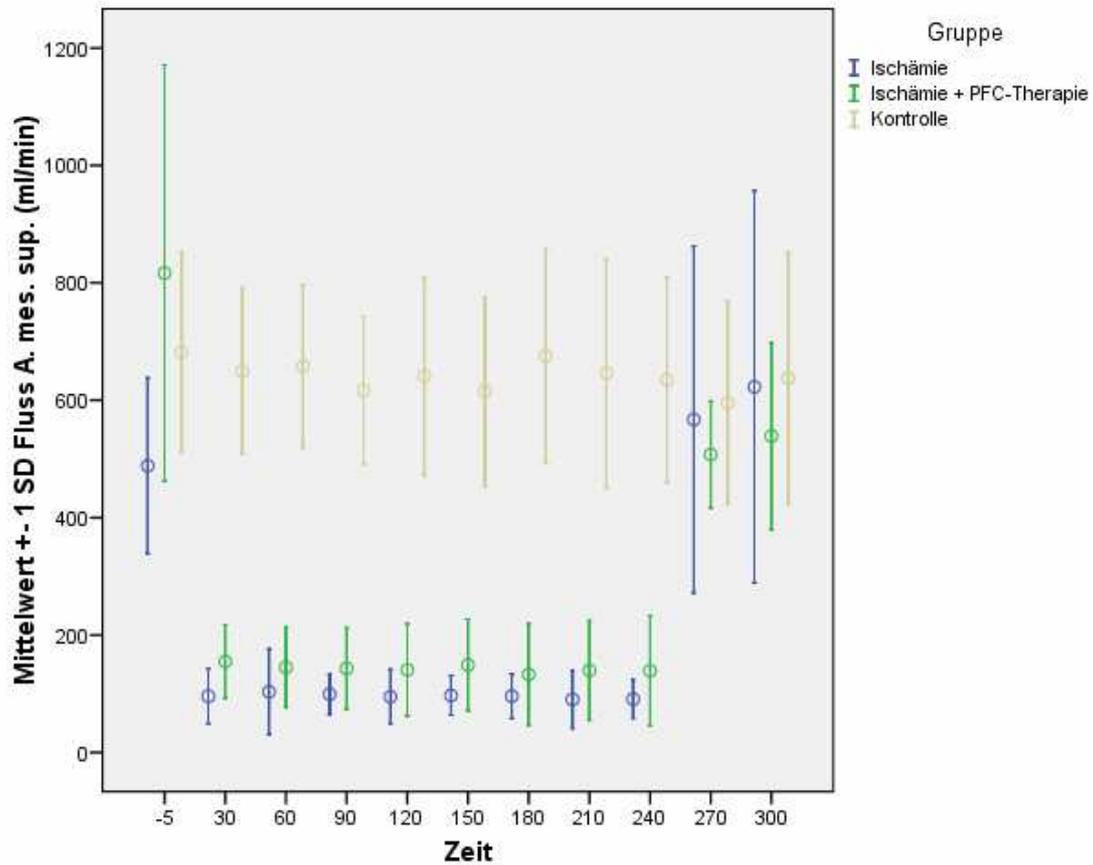


Abbildung 12: Fluss der Arteria mesenterica superior (Fluss A. mes. Sup.) während Baseline (0 min), lokaler Darmischämie (30-270 min) und Reperfusionphase (270-300 min) der drei Gruppen im Vergleich; (n = 18, Mittelwert \pm Standardabweichung)

3.4 Histologie

Abbildung 13 zeigt die Verteilung der gewonnenen Histologieproben nach modifizierter Klassifikation der drei Versuchsgruppen.

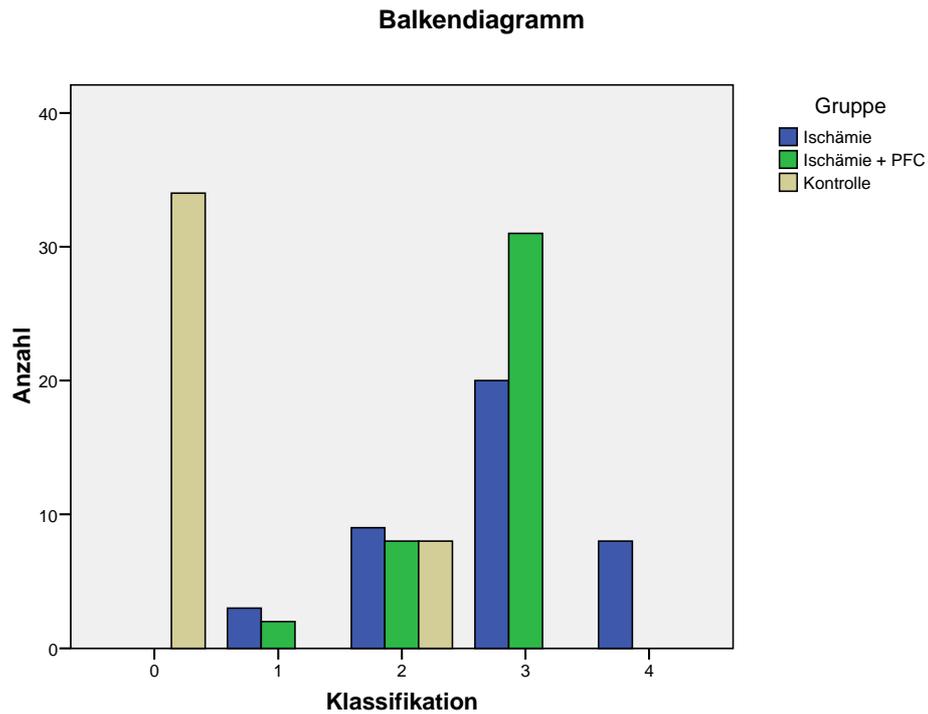


Abbildung 13 (Grafische Darstellung der Bewertung der drei Gruppen im Vergleich)

Anzahl gefundener Klassifikationen

	Gruppe			Gesamt
	Ischämie	Ischämie + PFC	Kontrolle	
Klassifikation 0	0	0	34	34
1	3	2	0	5
2	9	8	8	25
3	20	31	0	51
4	8	0	0	8
Gesamt	40	41	42	123

Deskriptive Statistik der ordinal-skalierten histologischen Klassifikation:

Gruppe	Median der Klassifikation	N
A. Ischämie	3	40
B. Ischämie + PFC	3	41
C. Kontrolle	0	42

Die histologischen Ergebnisse wurden zunächst mittels des Kruskal-Wallis-Testes überprüft. Hier ergab sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,00001$, dass die drei Versuchsgruppen nicht der selben Grundgesamtheit entstammten.

In den angeschlossenen Vergleichen von je zwei Versuchsgruppen mit dem Mann-Whitney-Test unterschied sich der Zustand der Darmmukosa nicht zwischen den Gruppen A. Ischämie und B. Ischämie+PFC ($p = 0,41$). Die histologischen Befunde zeigten hingegen signifikante Differenzen sowohl zwischen den Gruppen Kontrolle und Ischämie ($p < 0,00001$), als auch zwischen den Gruppen C. Kontrolle und B. Ischämie+PFC ($p < 0,00001$). Bei den gefundenen, sehr niedrigen Werten für die Irrtumswahrscheinlichkeit entfiel die Notwendigkeit einer Bonferroni-Korrektur für mehrfache Testungen.

Exemplarische histologische Bilder der Gruppe A. Ischämie

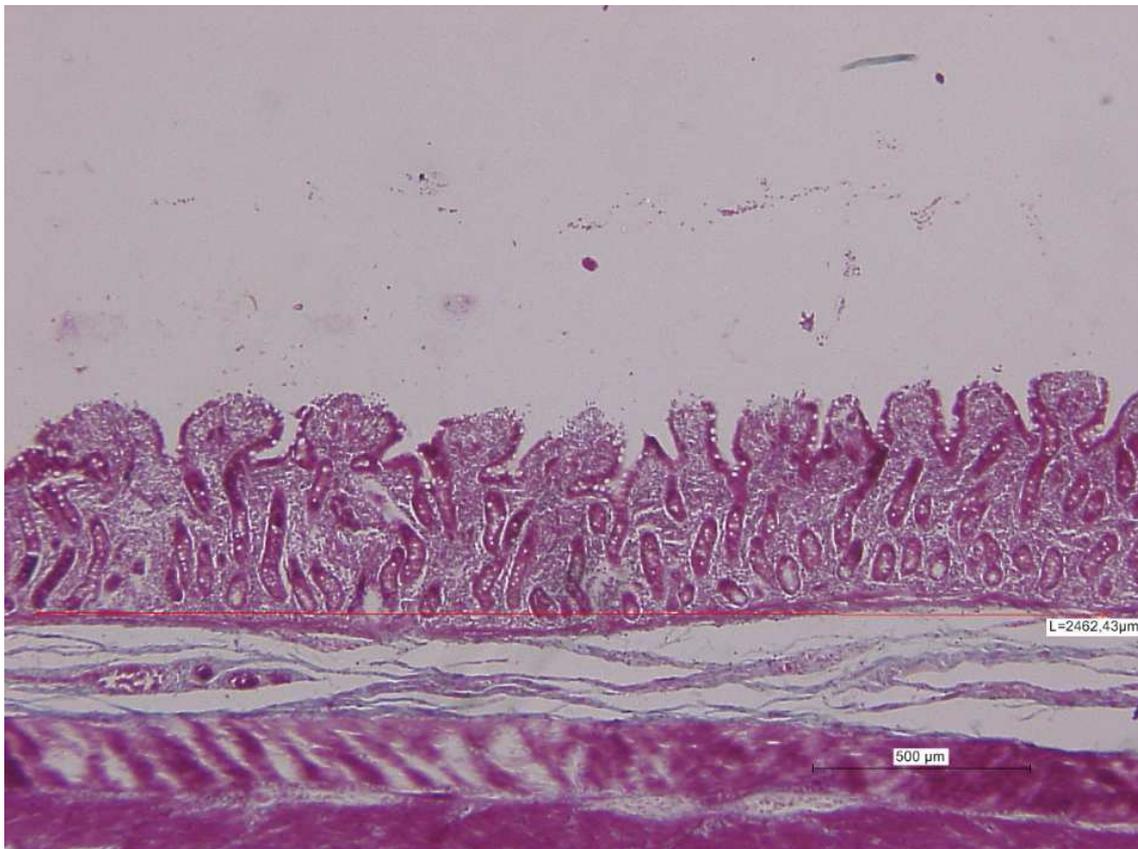


Abbildung 14: Versuch 08, Klassifikation 2, Azan-Färbung, 25x Vergrößerung, deutlich sichtbar die Epithelabschilferungen bis zur Zottenentblößung und Blutungen in der Lamina propria

Es zeigten sich deutliche Unterschiede im histologischen Bild der entnommenen Gewebeproben der Gruppen A und B im Vergleich zur Gruppe C. Wie aus Abbildung 14 bis 16 ersichtlich, zeigten die Gewebeproben jeglicher Lokalisation der Gruppe A. Ischämie im histologischen Bild Epithelabschilferungen und freigelegte Zotten. Nach der modifizierten Graduierung nach Chiu [6] und Haglund [19] und Knichwitz [29] ergab sich eine Schädigung Grad 2 bis 4, im Median 3 (siehe Abbildung 14-16).



Abbildung 15: Versuch 10, Klassifikation 2, Azan-Färbung, 25x Vergrößerung, Epithelabschilferungen bis zur Zottenentblößung

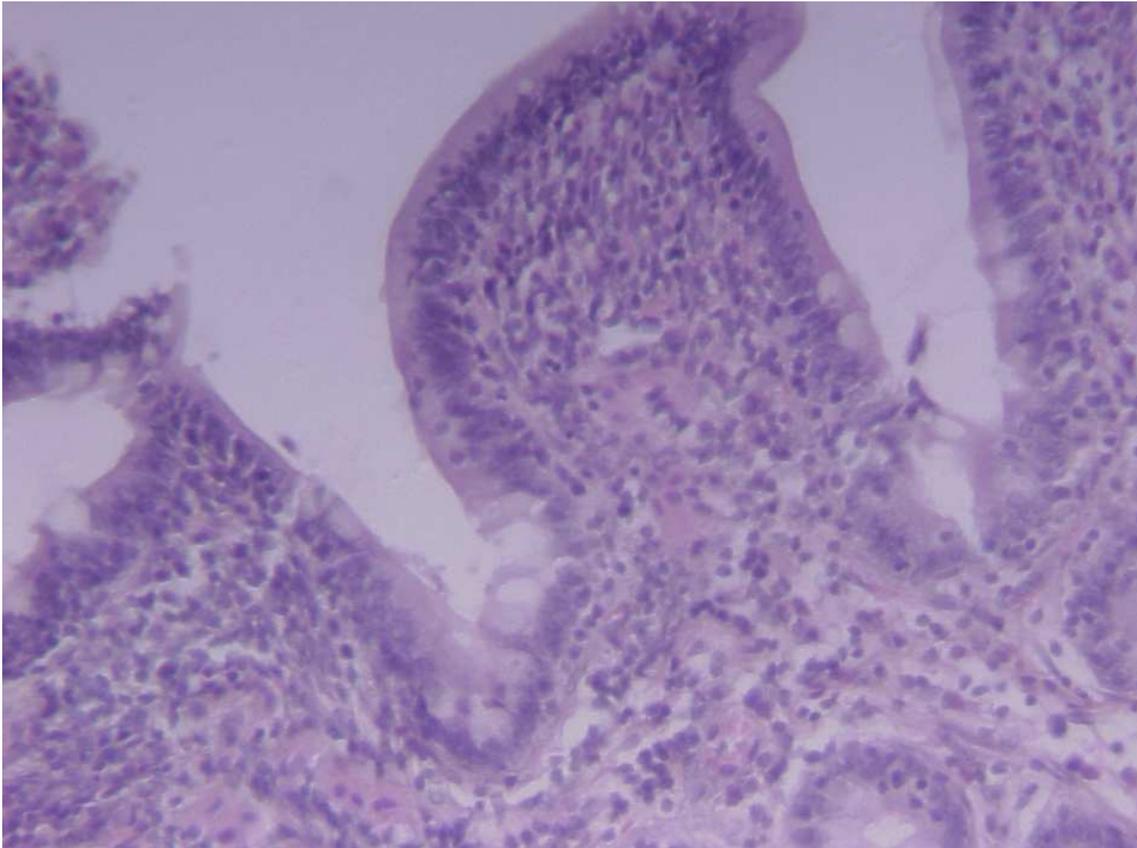


Abbildung 16: Versuch 11, Klassifikation 3, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 160x Vergrößerung

Exemplarische histologische Bilder der Gruppe B. Ischämie plus PFC

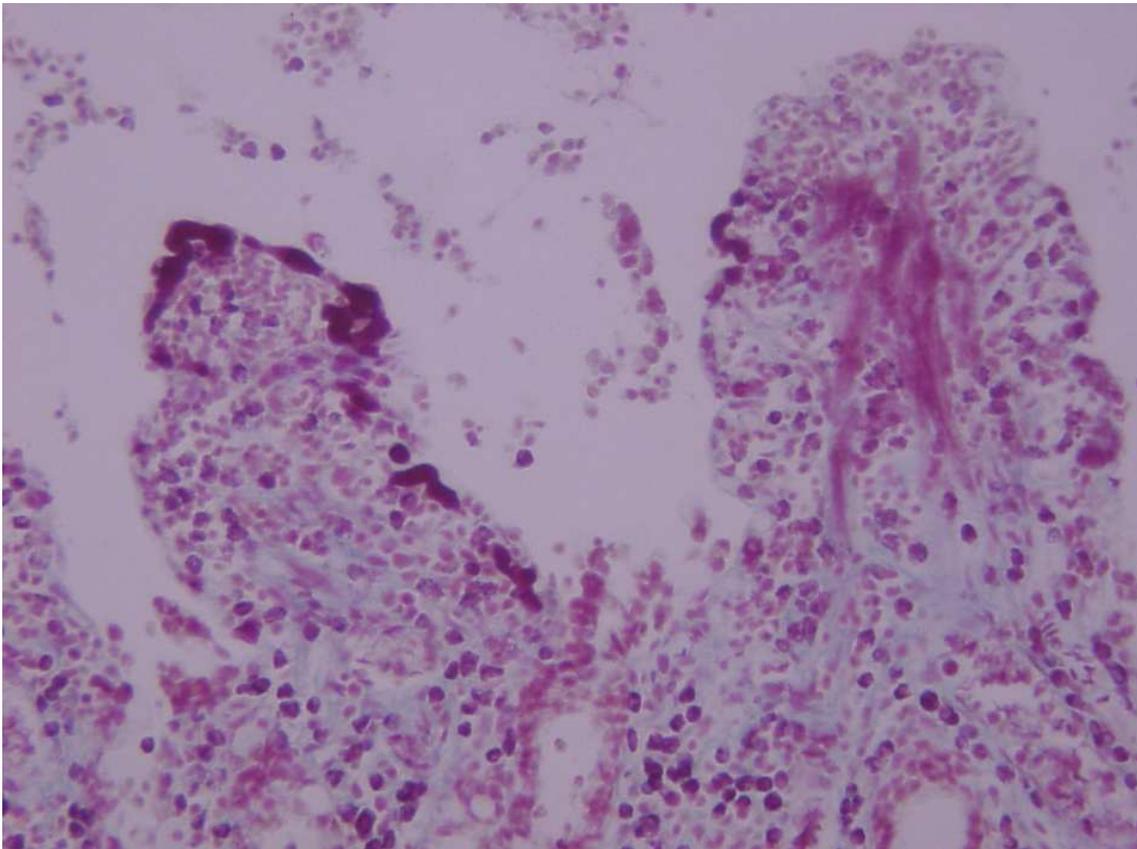


Abbildung 17: Versuch 19, Klassifikation 3, Azan-Färbung, 160x Vergrößerung, entblöhte Zotten

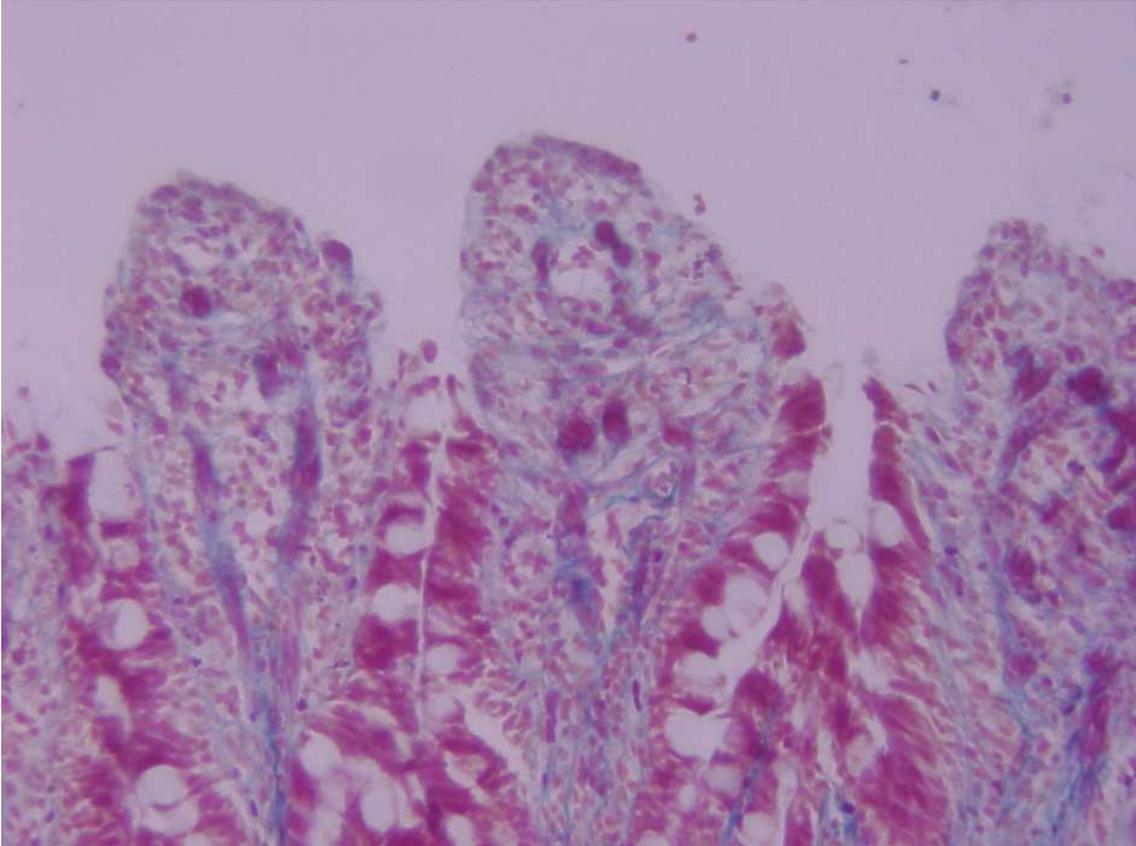


Abbildung 18: Versuch 20, Klassifikation 3, Azan-Färbung, 160x Vergrößerung, entblöste Zotten

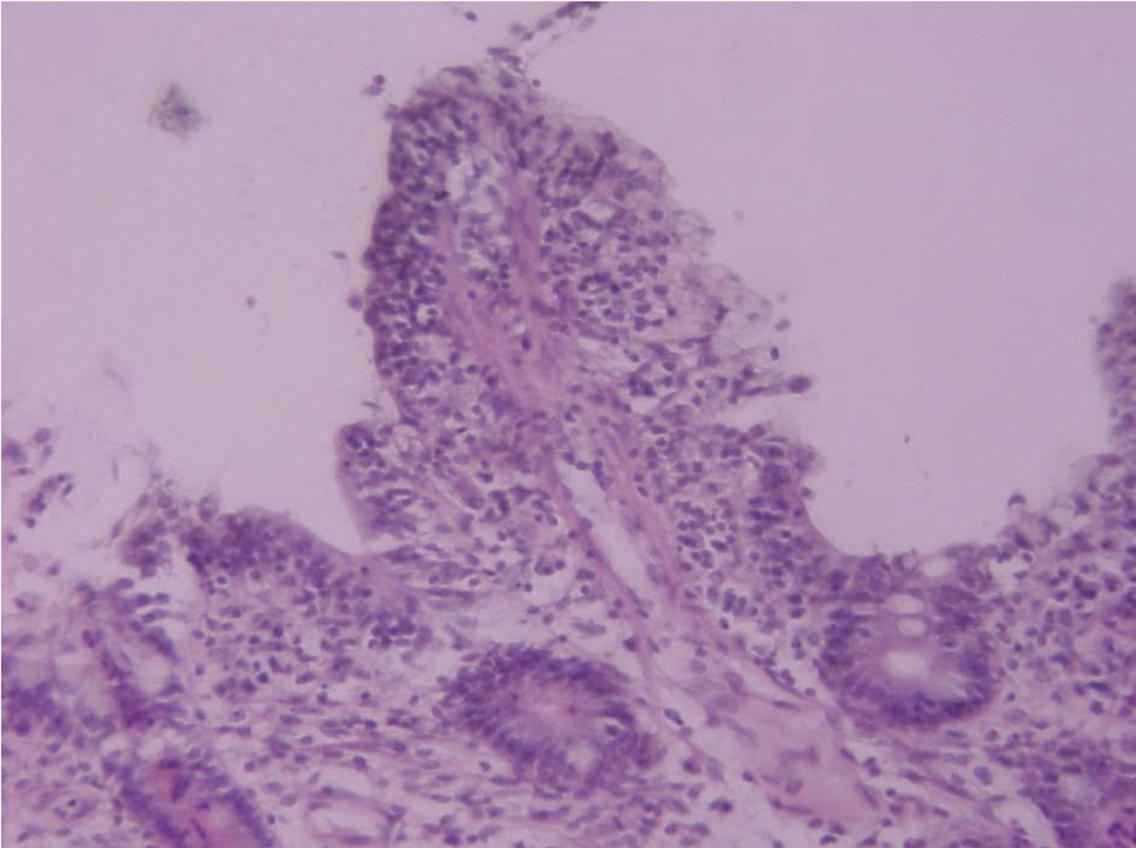


Abbildung 19: Versuch 22, Klassifikation 3, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 160x Vergrößerung, entblößte Zotten

Ähnliche Ergebnisse ergaben sich bei den Gewebeproben jeglicher Lokalisation der Gruppe B Ischämie plus PFC-Therapie. Auch hier zeigte das histologische Bild Epithelabschilferungen und denudierte Zotten, die nach der modifizierten Chiu/Haglund/Knichwitz-Klassifikation eine Schädigung im Grad 2 bis 4, Median 3 ergaben (siehe Abbildung 17-19).

Exemplarische histologische Bilder der Gruppe C. Kontrolle

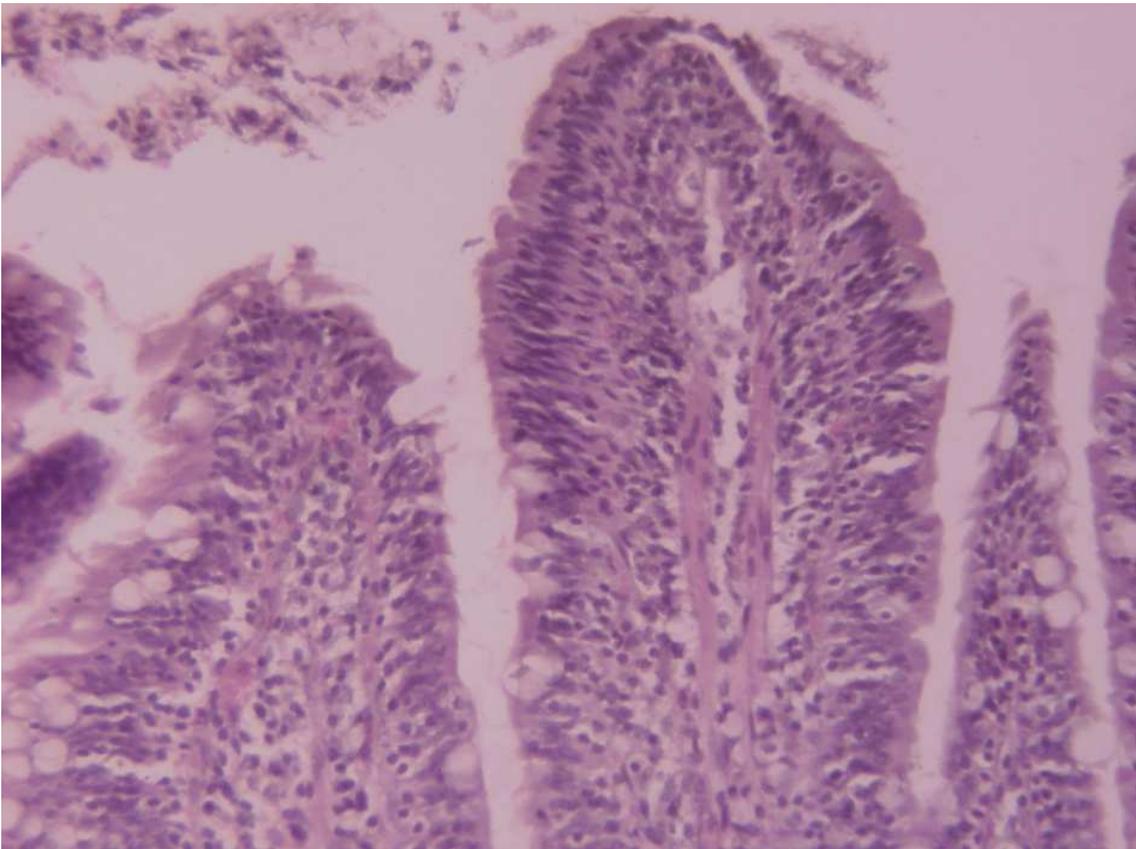


Abbildung 20: Versuch 37, Klassifikation 2, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 160x Vergrößerung, physiologisches Epithel und keine Blutungen

Im Gegensatz dazu zeigten alle Gewebeproben der Gruppe C Kontrolle an allen Entnahmestellen in der lichtmikroskopischen Beurteilung keine Epithelveränderungen und keine Veränderungen der Lamina propria außer vereinzelte Blutungen, entsprechend einer Schädigung Grad 0 bis 1 (Abbildung 15).

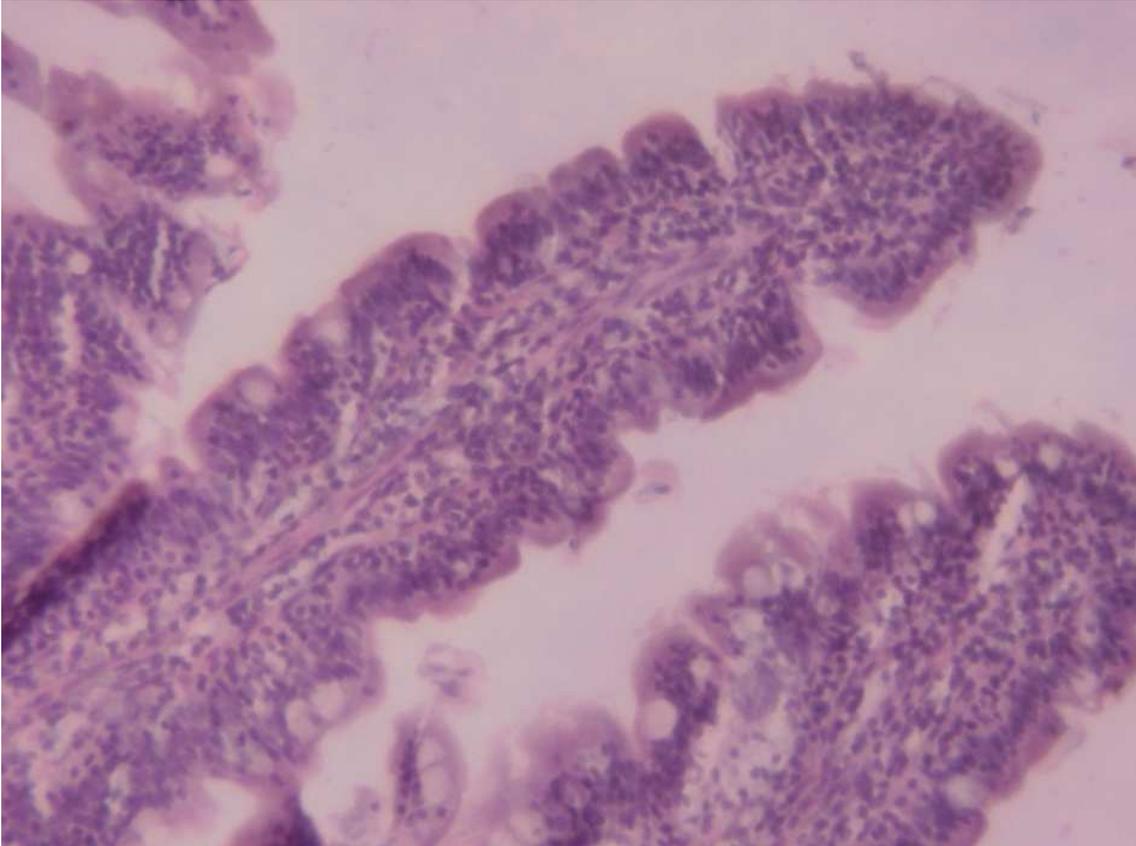


Abbildung 21: Versuch 39, Klassifikation 0, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 160x Vergrößerung, physiologisches Epithel und keine Blutungen

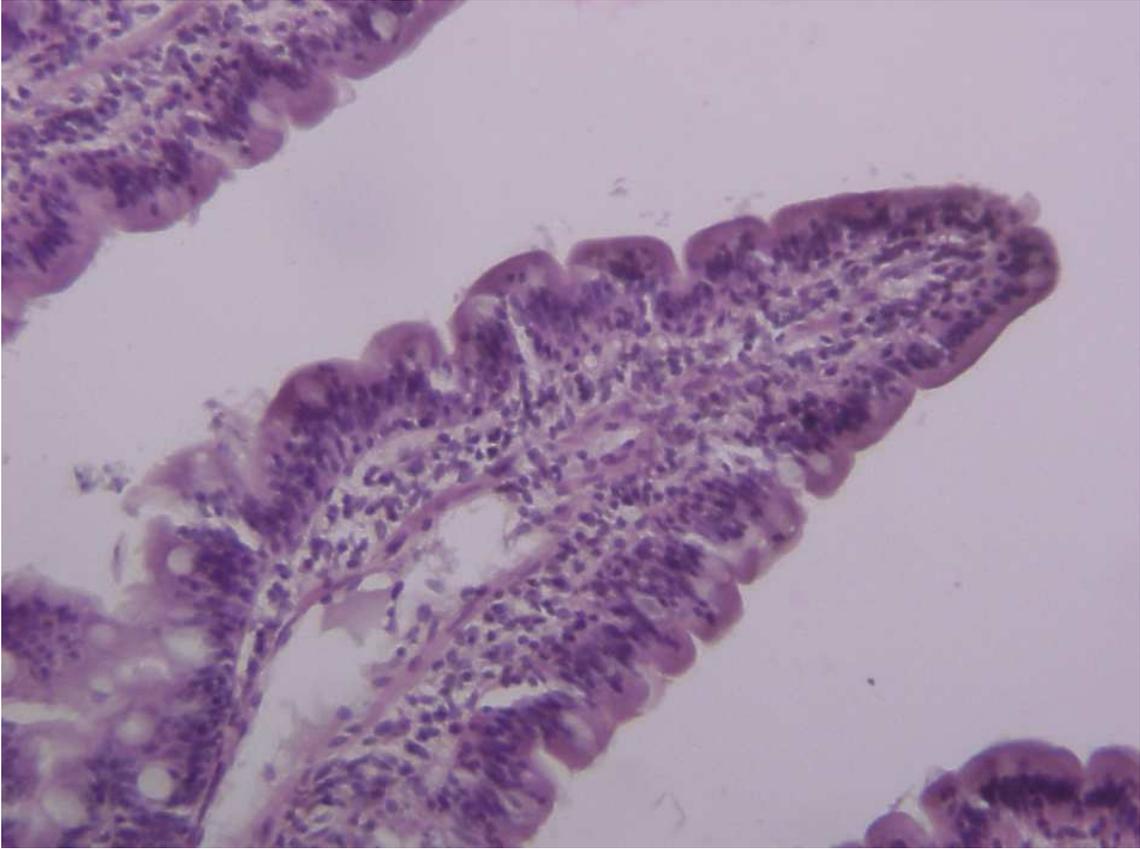


Abbildung 22: Versuch 40, Klassifikation 0, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 160x Vergrößerung, physiologisches Epithel und keine Blutungen

4. Diskussion

Die akuten mesenterialen Ischämien stellen eine vergleichsweise seltene, mit sehr hoher Mortalität behaftete Erkrankungsgruppe dar. Die therapeutischen Optionen sind eingeschränkt:

- Die kausale operative Therapie einer embolisch bzw. thrombotisch bedingten mesenterialen Ischämie ist die Entfernung der Obstruktion im Truncus coeliacus bzw. in der A. mesenterica superior. Perfusionsstörungen, die durch lokale Dysregulationen der Gefäßmotorik (NOMI) oder durch systemische Minderzirkulation (Kreislaufversagen) bedingt sind, können operativ nicht kausal therapiert werden. Zu jenem Zeitpunkt im Krankheitsverlauf, an dem ein operativer Eingriff auf Grund des klinischen Bildes erforderlich wird, liegt häufig bereits ein weit fortgeschrittener Ischämieschaden vor, der nur noch mit Resektion behandelt werden kann.
- Die Therapie durch lokale Vasodilatation über einen in der A. mesenterica superior liegenden Katheter verabreichter Dilatanzien reicht häufig nicht aus, um die Perfusion sicherzustellen. Hierzu verwendet man Substanzen wie Prostaglandine, Angiotensinkonversionsenzym-Hemmer und Papaverin. Letzteres wird am häufigsten eingesetzt. Yilmaz et al konnten zeigen, dass die Überlebensrate der NOMI durch Papaverin-Infusionen von 30-60 mg/h auf 60% verbessert werden kann. [72]

Eine Reihe tierexperimenteller Studien hat gezeigt, dass Phasen der intestinalen Minderperfusion überbrückt werden können, indem die Hypoxie der hochvulnerablen intestinalen Mukosa durch lokale Applikation von Sauerstoff nivelliert wird.

Durch partielle Flüssigkeitsventilation mittels PVC konnte, bei vielen tierexperimentellen Analysen an verschiedenen Tierarten bei mannigfachen Lungenschädigungstypen, ein positiver Effekt auf das paO_2 gesehen werden [8,21,22,23,26,31,32,37,44,47,54,55,68]. Eine hohe Differenz des Partialdruckes vorausgesetzt, diffundieren O_2 und CO_2 leicht an der alveolokapillären Membran.

In anderen Studien konnten positive Ergebnisse durch intraluminale Applikation von sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon während intestinaler Minderperfusion erzielt werden. Auch wurde bereits in Kleintiermodellen bei mesenterialer Ischämie erfolgreich mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon peritoneal lavagiert.

Das Ziel der vorliegenden Studie war, anhand eines Großtiermodells die protektive Wirkung einer peritonealen Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon während einer mesenterialen Ischämie zu untersuchen.

4.1 Das experimentelle Modell

Als Versuchstier, welches bezüglich der Anatomie, des Metabolismus, der Physiologie sowie der Pathophysiologie eine große Ähnlichkeit zum Menschen aufweist, wurde das weibliche Schwein gewählt [11]. Die Tiere hatten im Durchschnitt ein Gewicht von ca. 74,2 kg, so dass die körperlichen Verhältnisse denen eines erwachsenen Menschen entsprachen.

Unsere Untersuchung wurde mit drei Versuchsgruppen zu je 6 Tieren durchgeführt. Alle drei Gruppen erhielten die gleiche Präparation. Bei Gruppe A und B wurde die mesenteriale Ischämie ausgelöst, wobei die Tiere der Gruppe B eine peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon erhielten und Gruppe A untherapiert blieb. Um den Effekt des invasiven Modells (Anästhesie, Laparotomie, retroperitoneale Präparation) auf die Versuchsparameter darstellen zu können, wurde mit der Gruppe C eine Kontrollgruppe in das Protokoll aufgenommen, die nur der operativen Präparation, jedoch keiner Ischämie oder Therapie unterzogen wurde.

Zur Reduzierung von Einflüssen, die die zu messenden Parameter hätten beeinflussen, wurden die stressempfindlichen Tiere [3] mit Atropin, Azaperon und Ketamin prämediziert. Nach einer Ruhephase wurden die Tiere standardisiert narkotisiert. Nach der operativen Präparation erfolgte erneut eine einstündige Ruhephase, um eine möglichst homöostatische Ausgangsbedingung zu schaffen.

Ein Verlust von Körperwärme und Flüssigkeit sollte durch den Gebrauch von Wärmematten und erwärmten Infusionslösungen verhindert werden. Erfahrungsgemäß wäre trotz dieser Maßnahmen ein Verlust von Körperwärme nicht auszuschließen gewesen. Der im Gegenteil festgestellte Anstieg der Körpertemperatur in allen drei Versuchsgruppen könnte hinweisend sein für versuchsbedingte Einflüsse, die zu einem reaktiven Temperaturanstieg führen, z. B. ein durch die Invasivität des Modells hervorgerufenen systemisches inflammatorisches Syndrom (SIRS). In Anbetracht fehlender makroskopischer und mikroskopischer Ischämiezeichen in der Kontrollgruppe, kann eine Ergebnisbeeinflussung in dem gewählten Versuchsmodell ausgeschlossen werden.

Während der operativen Phase, nach Präparation der Abdominalorgane wurden diese mit feuchtwarmen Tüchern bedeckt und die Infusion dem erhöhten Wasserverlust angepasst.

Die Durchblutung des Splanchnikusgebietes erfährt durch alle Anästhetika eine Beeinflussung. Die Gabe von Thiopental und Isofluran führt zu einer Erhöhung des Gefäßwiderstandes der Mesenterialgefäße. Höher dosiert führt Thiopental zu einer generalisierten Kreislaufdepression und somit zu einer Perfusionsabnahme [34,42,67,69]. Auch Opiate zeigen hämodynamische Effekte. Fentanyl kann die leberarterielle Durchblutung um mehr als die Hälfte reduzieren [10], während diese von Piritramid kaum beeinflusst wird [61]. So lässt sich eine Beeinflussung der Hämodynamik durch die verwendeten Anästhetika nicht ausschließen. Durch das gewählte Versuchskonzept zweier Kontrollgruppen (Ischämie ohne Therapie, Präparation ohne Ischämie oder Therapie (Sham)) wurde dieser potentielle systemische Fehler eliminiert und die Analyse auch kleiner, ausschließlich durch die kontrolliert veränderte Variable bedingter Unterschiede ermöglicht. Da in der Kontrollgruppe weder mikroskopisch noch makroskopisch Ischämiezeichen festgestellt wurden, kann die negative Beeinflussung der Darmperfusion durch Anästhetikagabe als vernachlässigbar eingeschätzt werden.

Ein ausgedehnter operativer Eingriff, wie in der vorliegenden experimentellen Studie durchgeführt, induziert zunächst eine lokal begrenzte Entzündungsreaktion. Diese hat

primär einen protektiven Charakter für den Gesamtorganismus, kann aber zudem auf andere Organsysteme übergreifen und sich so zu einer systemischen Entzündungsreaktion ausweiten (SIRS). Klinisch müssen zwei der folgenden Kriterien erfüllt sein, um ein SIRS diagnostizieren zu können: Temperaturanstieg, Herzfrequenzanstieg, Tachypnoe, Lykozytose, Leukopenie oder eine Linksverschiebung im Differenzialblutbild. Im Verlauf des SIRS kommt es zu einer Serie von Fehlregulationen der einzelnen Organfunktionen, die sich wechselseitig verstärken. Symptomatisch werden sie z.B. in Form von Störungen des Kreislaufsystems mit Abfall des peripheren Gefäßwiderstandes und Verminderung des Blutflusses mit konsekutiver Gewebeischämie. Als Folgeerscheinung eines inadäquaten peripheren Widerstandes in der hyperdynamen Phase des septischen Schocks wird das Herzzeitvolumen zu Ungunsten der viszeralen Organe umverteilt. In Studien konnte gezeigt werden, dass trotz Anstieg des Herzzeitvolumens bei septischen Tieren ein Perfusionsabfall des Splanchnikusgebietes festzustellen war. Withworth et al. zeigten innerhalb der ersten Stunden nach Applikation von E. coli eine Verminderung der Perfusion des Dünndarms um 27% bei gleichzeitigem Anstieg des Herzzeitvolumens. [71]

Der in der vorliegenden Studie gesehene Herzfrequenz- und Temperaturanstieg weist auf ein beginnendes bzw. bestehendes SIRS, hervorgerufen durch die Präparation und Anästhesie, hin. Der Einfluss auf den zu beurteilenden intestinalen histologischen Befund kann, angesichts der eingeführten Kontrollgruppe, als nicht signifikant eingestuft werden. Zum Zeitpunkt der Beurteilung wiesen die Gewebeproben der Kontrollgruppe eine Schädigung Grad 0 bis 1 nach der Klassifikation nach Chiu und Haglund auf; die Invasivität des Methodik hat also per se nicht zu einer Schädigung der Darmmukosa geführt.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Hämodynamische Ergebnisse

Der um 80% verminderte Blutfluss in der Arteria mesenterica superior, hervorgerufen durch den Verschluss des Tourniquets, verursachte einen starken Anstieg der Herzfrequenz in der Gruppe A. Die Messwerte zeigen, dass diese Veränderungen ab der 210. Minute einsetzten. Bis zum Ende der Darmischämie stieg die Herzfrequenz um durchschnittlich 47 Schläge pro Minute an. Während der Reperfusionphase kam es zu einem weiteren Anstieg auf insgesamt ca. 141 ± 23 Schläge pro Minute.

Der arteriell gemessene Blutdruck zeigte eine tendenzielle Zunahme der Streuung, jedoch keine signifikante Veränderung der Mittelwerte.

Die in Gruppe B beobachtete Herzfrequenzerhöhung entwickelte sich während der Dauer der Darmischämie. Die ermittelten Werte zeigen für die Reperfusionphase eine geringe Minderung der Herzaktion, so dass es insgesamt zu einer Erhöhung der Herzfrequenz um ca. 25 Schläge pro Minute kam. Gleichzeitig fielen die systolischen, diastolischen und mittleren Blutdrücke um durchschnittlich 17 mmHg ab.

In der Kontrollgruppe kam es zu keinen wesentlichen Veränderungen der hämodynamischen Parameter. Es zeigte sich eine Tendenz zur Herzfrequenzerhöhung und zum Abfall der Blutdruckwerte. Diese sind am ehesten einer zunehmenden Hypovolämie mit reflektorischem Herzfrequenzanstieg zuzuschreiben und konnten durch das gewählte Schema zur Volumensubstitution nicht vermieden werden. Im Vergleich zu den Gruppen A und B kann man eine starke Stressentwicklung durch das ausgewählte Tierversuchsmodell ausschließen.

Die in Gruppe A erhobenen Werte, eine Zunahme der Herzfrequenz weit über die Kontrollgruppe hinaus, lassen vermuten, dass die lokale Gewebeischämie über die Dauer von 270 Minuten zu einer stressbedingten Herzfrequenzsteigerung bei allen

Versuchstieren führte. Mögliche Gründe hierfür sind u.a. das kontinuierliche Ausschwemmen anaerober Stoffwechselprodukte durch die während der 270 Minuten bestehende Restperfusion von 20% des physiologischen bzw. Ausgangsflusses. Weiter kommt es durch die Einschnürung der mesenterialen Strombahn zu einer Erhöhung der linksventrikulären Nachlast, die wiederum zu einem Anstieg der Herzfrequenz führt. Darauf addiert sich eine Erhöhung der Frequenz durch die beschriebene Hypovolämie und den dadurch verbundenen Druckabfall. Durch das Wiedereröffnen der Arterie kam es zu einer systemischen Ausschwemmung von Reperfusionssubstanzen, toxischen Substraten, Bakterien, Toxine und reaktiven Sauerstoffspezies die wiederum eine weitere Frequenzerhöhung zur Folge hatte.

Auch in der Gruppe B zeigt sich eine deutliche Herzfrequenzsteigerung während der Ischämiezeit. Im Gegensatz zur Therapiegruppe jedoch fällt während der Reperusionszeit eine regrediente Tendenz auf. Dieses Phänomen könnte sich durch einen protektiven Effekt der sauerstoffgesättigten Perfluorcarbone in der Reperusionsphase erklären lassen [31]. Das hohe spezifische Gewicht und die fehlende Mischbarkeit mit Wasser können zu einer Auswaschung von wässrigen Substanzen geführt haben, deren Dichte geringer ist als jene des PFCs. Diese Substanzen wurden durch die kontinuierliche Lavage herausgefiltert und in ihrer inflammatorischen Wirkung abgeschwächt. Dieser Effekt ist aus der Literatur bekannt: eine Vielzahl von Studien belegt eine Reduktion der Entzündungsreaktion unter Partieller Flüssigkeitsventilation. Hier wurde auch eine direkte antiinflammatorische Wirkung der Perfluorcarbone beschrieben. [22,23,47,55,57,58,59]

4.2.2 Respiratorische Parameter

Der endexpiratorische CO₂-Wert zeigte in allen drei Gruppen einen Anstieg. Den stärksten Anstieg, von 37 mmHg auf 50 mmHg, zeigte die Gruppe A (Ischämie). In der Therapiegruppe fiel der Anstieg geringer aus, hier konnte ein Anstieg des CO₂-Wertes um rund 9 mmHg gemessen werden. In der Kontrollgruppe C lag der CO₂-Anstieg mit rund 7 mmHg am niedrigsten. Hier wurde auf eine Okklusion der A. mesenterica superior verzichtet, so dass der Anstieg des endexpiratorischen CO₂ durch die

Intubationsnarkose erklärt werden kann. In Gruppe B ist der gemessene Wert nur geringfügig höher. Durch die peritoneale Lavage mit PFC kommt es zu einem Ausschwemmen des CO₂, denn dieses wird wie das O₂ in gelöster Form in Abhängigkeit vom Partialdruck durch das PFC transportiert. Dass sich gleichzeitig die histologischen Befunde unter PFC-Therapie nicht besserten, kann mit der Tatsache korrelieren, dass CO₂ eine 21fach höhere Diffusionskonstante aufweist als O₂. Dementsprechend kann in Betracht gezogen werden, dass die peritoneale PFC-Lavage ausreichend war, um CO₂ aus dem Organismus zu eliminieren, das Sauerstoffangebot über die Lavage jedoch nicht ausreichte, um relevant der Hypoxie der ischämischen Darmbereiche entgegenzuwirken.

4.2.3 Histologische Ergebnisse

Die mikroskopische Untersuchung des Zustandes der Epithelien in den gewonnenen Proben ergab in beiden Ischämiegruppen schwere Veränderungen (Epithelabschilferungen und freigelegte Zotten), wie sie bereits von anderen Autoren beschrieben wurden [6,48].

Die besondere Sensitivität des Dünndarms gegenüber Malperfusion erklärt sich aufgrund der Gefäßanatomie und der physiologischen Aufgaben des Gewebes [27]. Die Zottenvene verläuft meist zentral und hat einen sehr geringen Abstand zur Zottenarterie. Hier kann es zu einem vorzeitigen O₂-Austausch im Gegenstromprinzip entlang des Partialdruckunterschiedes der beiden Gefäße kommen. Ein verlängerter Durchfluss des Blutes bedeutet ein vermehrtes O₂-Shunting an der Zottenspitze vorbei. Zudem zeigt die Zentralarterie einen rechtwinkligen Abgang, der eine physiologische Hämodilution um 50% zur Folge hat. Weiter weist die Dünndarmschleimhaut in der Zottenspitze eine hohe Stoffwechsel- und Regenerationsrate auf. Bei Minderperfusion erfolgt gerade hier schnell ein Verlust von Funktion und Integrität.

Eine zunehmende Schwellung der Kapillaren und Zerstörung der Zotten, beginnend an der Zottenspitze [36], in deren Folge eine Translokation von Darmbakterien möglich wird, hängen vom Ausmaß der Blutflussreduktion und der Dauer der Ischämie ab.

Nach vierstündiger Darmischämie lag in beiden Ischämiegruppen eine mittlere bis maximale Destruktion der Zotten vor. Auf Grund der Schwere der Gewebeschädigung

müsste erwogen werden, dass die histologische Aufbereitung die Proben übermäßig beeinträchtigt hat. In der Kontrollgruppe C ohne Ischämiephase zeigten die histologischen Bilder keine Anzeichen einer Destruktion. Eine Traumatisierung durch die Präparationstechnik konnte so ausgeschlossen werden.

Die mukosalen Epithelschäden können damit allein der Verminderung der mesenterialen Perfusion auf 20% des Ausgangsflusses zugeschrieben werden. Dieses Ergebnis stimmt mit den Resultaten früherer Studien überein [28,29]. Die Voraussetzung für die Evaluation der PFC-Therapie, eine ausreichend profunde Hypoperfusion mit substantiellen Gewebsschäden, wurde demnach wie geplant erreicht.

Im Vergleich der Gruppen A (Ischämie) und B (Ischämie und Therapie) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, sondern vergleichbar schwere Gewebsschäden. Die peritoneale PFC-Lavage konnte auf der Ebene der visuellen Beschreibung der Gewebeintegrität die ischämiebedingten Schäden nicht vermeiden.

Möglicherweise gelangte das extraluminal angebotene O₂ des PFC durch Diffusion nicht ausreichend durch die Muscularis zur Mukosa. Gerade bei einem Großtiermodell ist dieser Einwand berechtigt. Die Gewebsschichten sind dicker als bei Kleintieren. Vejchapipat P et al [70] konnte in seiner Studie auch keinen gewebsschutzenden Effekt des extraluminal-angebotenen sauerstoffgesättigten Perfluorocarbons bei einer mesenterialen Ischämie nachweisen. In dieser Studie konnte durch die extaperitoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC u.a. eine Reduktion von Serum-Laktat in einem Ischämie-Reperusionsmodell erreicht werden. Die Vermutung liegt nahe, dass ein gewisser Anteil des im PFC gelösten Sauerstoffes durch die Gewebsschichten diffundiert.

In unserem Versuch zeigte sich, dass das Darmkonvolut auf dem PFC schwamm, so dass es trotz der beschriebenen Maßnahmen zur Optimierung der Irrigation aller Darmanteile wahrscheinlich nicht zu einem permanenten, vollständigen Kontakt zwischen dem zu versorgenden Gewebe und dem PFC kam. Diese Problematik kann maßgeblich zur mangelhaften Gewebsschutzung beigetragen haben. Die Reduktion der Diffusionsfläche führt demnach auch zu einer Reduktion der Menge diffundierten

Sauerstoffs. Die Auswirkung der Größe der Kontaktfläche zwischen PFC und Darm auf die Protektion des Gewebes bei Ischämie muss durch weitere Studien geklärt werden.

4.3. Vergleichbare Studien

Schon Mitte der 70er Jahre konnte Shute [64] zeigen, dass intraluminale Applikation von Sauerstoff bei akuter mesenterialer Ischämie einen therapeutischen Benefit erzeugt. In dieser Studie wurde bei Ratten eine 120-minütige Ischämie durch Okklusion der A. mesenterica superior durchgeführt. Während dieser Zeit erhielten ein Teil der Ratten eine intraluminale Sauerstoffapplikation, ein anderer Teil eine intraluminale Stickstoffapplikation; eine Kontrollgruppe mit Ischämie erhielt keine Therapie. Die Gruppe mit Stickstoffgabe zeigte eine 100%-ige Mortalitätsrate. Anders in der Sauerstoffgruppe: Hier lag die Mortalitätsrate bei 39%. In der Kontrollgruppe kam es zu einer Mortalitätsrate von 89%. Histologische Veränderungen der intestinalen Mukosa durch die erzeugte Ischämie konnten durch die Sauerstoffapplikation reduziert werden. Ricci et al [52] und O'Donnell et al [43] verwendeten intraluminal sauerstoffgesättigtes Perfluorocarbon im Tiermodell während mesenterialer Ischämie. Auch bei diesen Studien konnte durch Auswertung des histologischen Mukosabefundes [13,27] und der Überlebensrate [27] ein positiver therapeutischer Effekt nachgewiesen werden. Ricci wählte Ratten für das Modell und teilte die Gruppen nach arterieller und arteriovenöser Ischämie ein. Drei weitere Untergruppen wurden für jede Ischämieform gebildet. Eine Gruppe diente der Kontrolle, eine Gruppe erhielt eine Sauerstoffapplikation intraluminal während der Ischämiedauer und einer Gruppe wurde sauerstoffgesättigtes PFC intraluminal appliziert. Kein Tier der Kontrollgruppen überlebte die ersten zwölf Stunden nach Versuchsende. Ein Benefit der intraluminalen Gabe von Sauerstoffgas und oxygenierten PFC konnte signifikant in der arteriellen Ischämiegruppe festgestellt werden. Hier kam es zu einer deutlichen Reduktion der Mortalitätsrate. In der arteriovenösen Ischämiegruppe konnte kein positiver Effekt der Sauerstoffgabe festgestellt werden.

O'Donnell wählte ebenfalls ein Rattenmodell. Die Ischämie war eine rein arterielle und wurde durch Okklusion der A. mesenterica superior für 60 Minuten erreicht. Anschließend erfolgte eine 120-minütige Reperfusionphase. Die Ratten wurden in vier Gruppen eingeteilt: eine Kontrollgruppe (lediglich präpariert); eine Ischämie-/Reperfusiongruppe (ohne Therapie); eine Gruppe mit intraluminaler Applikation von sauerstoffgesättigtem PFC nur während der Ischämiedauer und eine Gruppe, in der die PFC-Applikation nur während der Reperfusionphase durchgeführt wurde. Am Ende der jeweiligen Versuche wurden Gewebeproben zur Bestimmung der Integrität gewonnen. Es wurde die Aktivität der mukosalen Dissaccharidase gemessen, um die mukosale Funktion zu beurteilen. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine intraluminale Perfusion von sauerstoffgesättigtem PFC während der Ischämie die mukosale Funktion und Integrität erhalten kann.

Der Methode der intraluminalen Applikation von gasförmigem Sauerstoff oder Flüssigkeiten wie PFC sind Grenzen gesetzt. Der Zustrom an PFC, der für eine ausreichende Sauerstoffzufuhr nötig wäre, ist viel zu hoch.

Außerdem erfordert eine intraluminale Applikation von Flüssigkeiten Darmperistaltik, die passive Durchströmung ist nicht möglich. Mesenteriale Ischämie führt zur Darmatonie; eine intraluminale Flüssigkeitsapplikation wäre jetzt kontraindiziert. Somit ist eine Umsetzung dieser Therapieform in den klinischen Alltag nicht durchführbar.

Als viel versprechende Methode erscheint die extraluminale Verabreichung, die so genannte peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon. Die dafür benötigte Technik wird bereits in der klinischen Praxis für andere Behandlungen eingesetzt.

1987 veröffentlichten Floyd TF et al [15] eine Studie an Ratten, bei der eine intestinale Ischämie mittels peritonealer Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon behandelt wurde. Der Grad des Ischämieschadens wurde anhand des Serumlaktates ermittelt. Floyd verzichtete auf eine Begutachtung der Dünndarmhistologie. Es zeigte sich, dass die peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC zu einer Reduktion des Serumlaktates führte. Eine Aussage über den strukturellen Schaden oder über die Barrierefunktion des Dünndarmepithels ist mit dem von Floyd gewählten Versuchsmodell nicht möglich.

In einer neueren Studie untersuchten Chiba et al [5] bei Kaninchen unter physiologischen Perfusionsbedingungen den Effekt einer transabdominellen (intraluminal und peritoneale Lavage) Gabe mit sauerstoffgesättigtem PFC und mit nicht-sauerstoffgesättigtem PFC. Mittels Blutgasanalyse wurde der pO_2 –Wert in der Portalvene und in den peripheren Mesenterialarterien gemessen. Unter Zufuhr von sauerstoffgesättigtem PFC konnte ein Anstieg des pO_2 in der Portalvene und in den peripheren Mesenterialarterien nachgewiesen werden bei der Gabe von sauerstoffgesättigtem PFC. Die Studie verdeutlicht, dass durch Diffusion des O_2 aus dem PFC in das Gewebe eine nachweisbare Oxygenierung stattfindet. Eine Aussage über die Gewebeprotektion wurde nicht getroffen.

Ohara et al [44] und Shinzeki et al [63] zeigten, dass die peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC bei mesenterialer Ischämie im Kleintiermodell die Funktion und die Integrität der Darmmukosa schützt. Ohara et al [44] wählten für ihr Experiment Ratten als Versuchstiere. Sie untersuchten unter anderem die bakterielle Translokation im Dünndarm während Ischämie und Reperfusion und die histologischen Veränderungen des Dünndarmgewebes unter einer Ischämie und Reperfusion. In dieser Studie konnten sie zeigen, dass es in der Versuchsgruppe mit peritonealer Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC zu einer signifikanten Minderung der bakteriellen Translokation sowie histologisch zu dem geringsten Schaden kam. Als Ursache hierfür wurde die Diffusion des Sauerstoffs in das Dünndarmgewebe während der Ischämiephase genannt.

Wie schon in der Einleitung beschrieben, führen mehrere Mechanismen zu einem Untergang der Barrierefunktion des Dünndarmepithels. Diese Mechanismen entstehen vermehrt unter Ischämie. So können reaktive Sauerstoffradikale und eine weitere Gruppe von Stoffen (ROS) erheblich zur Gewebszerstörung beitragen. Eine Azidose führt zur Formation von reaktiven Sauerstoffradikalen. Ohara et al konnten auch einen pH-Anstieg in dem ischämischen Gewebe nachweisen.

Shinzeki et al [63] konnten zeigen, dass es durch peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC zu einer Hemmung der Apoptose in den Ileumzellen unter Ischämie kam. In diesem Modell wurden auch Ratten als Versuchstiere gewählt. Es wurde der Effekt einer peritonealen Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC auf eine

bakterielle Translokation in Verbindung mit einer nekrotisierenden akuten Pankreatitis untersucht.

Die histologische Untersuchung zeigte einen protektiven Effekt.

Bei den aufgeführten Studien handelt es sich um Kleintiermodelle. Für den Transfer des Therapiekonzeptes in die klinische Anwendung war als nächster Schritt die Evaluation im Großtiermodell erforderlich.

Durch das Großtiermodell dieser Studie konnte kein protektiver Effekt durch peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem PFC während Ischämie durch Auswertung und Vergleich der Histologie der gewonnenen Gewebeproben nachgewiesen werden. Die Ischämiegruppe und die PFC-Therapiegruppe erhalten das gleiche Ergebnis bei der histologischen Begutachtung nach der modifizierten Graduierung nach Chiu [6], Haglund. [19] und Knichwitz [29].

Ein Ansatz zur Erklärung dieses Ergebnis kann in den dickeren Gewebsschichten der Darmwand des Schweines im Vergleich zur Ratte bzw. Kaninchen sein. Die Diffusion des Sauerstoffes aus dem PFC durch die Darmwand an die Mukosa ist durch die dickeren Gewebsschichten erschwert.

PFC hat ein relativ hohes Eigengewicht. In dieser Studie schwammen die Dünndarmschlingen auf dem PFC. Ebenfalls ist in Betracht zu ziehen, ob die Durchblutung der Mesenterialwurzel durch die Last des PFC beeinträchtigt ist. Durch diese Gegebenheit kommt es außerdem zur Reduktion der Kontaktfläche, was zu einer Minderung der Diffusionsrate führt.

Bei der Zirkulation des PFC durch die Bauchhöhle des Schweins wurde anscheinend keine ausreichende Sauerstoffzufuhr erreicht. Ein insuffizienter Fluss des PFC wirkte sich negativ auf die Oxygenierung des ischämischen Darmabschnittes aus.

Zusammenfassend ließen sich die im Kleintiermodell deutlich vorhandenen protektiven Effekte einer abdominalen PFC-Lavage im Großtiermodell trotz anatomisch optimierter Lavagetechnik nicht reproduzieren.

4.4 Fazit

An den Ergebnissen der vorgelegten Untersuchung zeigt sich, dass die peritoneale Lavage mit sauerstoffgesättigtem Perfluorocarbon bei mesenterischen Ischämien in einem porcinen, dem erwachsenen Menschen in Anatomie und Dimensionen ähnlichen, Großtiermodell nicht zu einer relevanten Darmprotektion führt. Deutlich wird dies bei der Auswertung der histologischen Gewebeproben. Die Schädigung des mukosalen Epithels in der Therapiegruppe war schwerwiegend und unterschied sich nicht von derjenigen in der Ischämiegruppe. Vermutlich begründen sich die Ursachen für Unterschiede zwischen diesem Ergebnis und den Resultaten vorangehender Studien in Limitierungen der Therapiemethode, die auf anatomischen und technischen Gegebenheiten beruhen und im Kleintier keine Rolle spielen. Die Übertragung der Therapie vom Kleintier auf das Großtier und damit die Eröffnung einer Weiterentwicklungsoption für den Einsatz im Menschen war nicht möglich.

5. Literaturverzeichnis

1. American Gastroenterological Association (2000) Medical Position Statement: Guidelines on intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 118:951-953
2. Brandt LJ, Boley SJ (2000) AGA technical review on intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 118:954-968
3. Breinekova K, Svoboda M, Smutna M, Vorlova L (2006) Markers of acute stress in pigs. *Physiol Res* 56(3):323-329
4. Brown RA, Chiu CJ, Scott HJ, Gurd FN (1970) Ultrastructural changes in the canine ileal mukosal cell after mesenteric arterial occlusion. *Arch Surg* 101(2):290-297
5. Chiba T, Harrison MR, Ohkubo T, Rollins MD, Albanese CT, Jennings RW (1999) Transabdominal oxygenation using Perfluorocarbons. *J Pediatr Surg* 5:895-901
6. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R (1970) Intestinal mukosal lesion in low flow states I. A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 101(4):478-483
7. Clark LC, Gollan F (1966) Survival of mammals breathing organic liquid equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 152:1755-1756
8. Curtis SE, Peek JK, Kelly DR (1993) Partial liquid breathing with perflubron improves arterial oxygenation in acute canine lung injury. *J Appl Physiol* 75:2696-2702
9. Deitch EA (1993) Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* 218(2):117-134
10. Dhasmana KM, Prakash O, Saxena PR (1982) Effects of fentanyl and the antagonism by naloxone on regional blood flow and biochemical variables in conscious rabbits. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 260(1):115-129.
11. Douglas WR (1972) Of pigs and men and research: a review of applications and analogies of the pig, in human medical research. *Space life Sci* 3:226-234
12. Faithful SN (1992) Second generation fluorocarbons. *Adv Exp Med Biol* 317: 441-452

13. Fink MP (2003) Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mukosal barrier dysfunction in critical illness. *Curr Opin Crit Care* 9:143-151
14. Fink MP (1993) Adequacy of gut oxygenation in endotoxemia and sepsis. *Crit Care Med* 21:4-8
15. Floyd TF, Boroughs A, Garvey C, Dasher J, Ikeda CB, Solviter HA, Ziegler MM (1987) Intestinal Ischemia: Treatment by peritoneal lavage with oxygenated perfluorochemical. *J Pediatr Surg* 12:1191-1197
16. Greenspan JS, Wolfson MR, Rubenstein SD, Shaffer TH (1989) Liquid ventilation of preterm baby (letter). *Lancet*: 1095
17. Greenspan JS, Wolfson MR, Rubenstein SD, Shaffer TH (1990) Liquid ventilation of human preterm neonates. *J Pediatr* 117:106-111
18. Haglund U, Bergqvist D (1998) Intestinal ischemia – the basics. *Langenbecks archives fo surgery* 384(3):233-238
19. Haglund U, Hultrén L, Ahren C, Lundgren O (1975) Mukosal lesions in the human small intestine in shock. *Gut* 16(12): 979-984
20. Hallbeck DA, Jodal M, Lundgren O (1978) Intestinal counter current. *Gastroenterology* 75(3):553-554
21. Hirschl RB, Overbeck MC, Parent A, Hernandez R, Schwartz S, Dosanjh A, Johnson K, Bartlett RH (1994) Liquid ventilation provides uniform distribution of perfluorocarbon in setting of respiratory failure. *Surgery* 116:159-167
22. Hirschl RB, Tooley R, Parent A, Johnson K, Bartlett RH (1996) Evaluation of gas exchange, pulmonary compliance and lung injury during total and partial liquid ventilation in the acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 24:1001-1008
23. Hirschl RB, Tooley R, Parent A, Johnson K, Bartlett RH (1995) Improvement of gas exchange, pulmonary function and lung injury with partial liquid ventilation. A study model setting of severe respiratory failure. *Chest* 108:500-508

24. Holbeck S, Grande PO (2002) Hypovolemia is a main factor behind disturbed perfusion and metabolism in the intestine during endotoxemia in cat. *Shock* 18:367-373
25. Jodal M, Lundgren O (1986) Countercurrent mechanisms in the mammalian gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 91(1):225-241
26. Kaisers U, Max M, Schnabel R, Böhm S, Hendrik ER, Rossaint R, Lachmann B (1997) Partial liquid ventilation with small volumes of FC 3280 increases survival time in experimental ARDS. *Eur Respir J* 10:1955-1961
27. Knichwitz G, Kruse C, Van Aken H (2003) Intestinale Perfusionsstörungen beim Intensivpatienten. *Der Anaesthesist* 1:41-48
28. Knichwitz G, Brüssel T, Reinhold P, Schaumann F, Richter KD, Van Aken H (2000) Early onset of regional intestinal ischemia can be detected with carbon dioxide tension measurement inside peritoneal cavity. *Anesth Analg* 91:1182-1187
29. Knichwitz G, Rötger J, Möllhoff T, Richter KD, Brüssel T (1998) Continuous intramukosal pCO₂ measurement allows the early detection of intestinal malperfusion. *Crit Care Med* 9:1479-1481
30. Kolkman JJ, Mensink PB (2003) Non-occlusive mesenteric ischemia: a common disorder in gastroenterology and intensive care. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 17(3):457-473
31. Leach CL, Fuhrmann BP, Morin FC, Rath MG (1993) Perfluorocarbon-associated gas exchange (partial liquid ventilation) in respiratory distress syndrome: A prospective, randomized, controlled study. *Crit Care Med* 21:1270-1278
32. Leach CL, Holm B, Morin FR, Fuhrmann BP, Papo MC, Steinhorn D, Hernan LJ (1995) Partial liquid ventilation in premature lambs with respiratory distress syndrome: efficacy and compatibility with exogenous surfactant. *J Pediatr* 126:412-420
33. Lock G (2002) Akute mesenteriale Ischämie. *Med Klein* 97:402-409
34. Lundeen G, Manohar M, Parks C (1983) Systemic distribution of blood flow in swine while awake and during 1.0 and 1.5 MAC isoflurane anesthesia with or without 50% nitrous oxide. *Anesth Analg* 62(5):499-512

35. Lüllmann H, Mohr K (1999) Spasmolytika In: Glatte Muskulatur, Pharmakologie und Toxikologie Arzneimittelwirkung verstehen, Medikamente gezielt einsetzen, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 14. Aufl. S. 116
36. Lundgren O, Haglund U (1978) The pathophysiology of the intestinal countercurrent exchanger. *Life Sci* 75(3):553-554
37. Major D, Cadenas M, Cloutier R, Fournier L, Wolfson MR, Shaffer TH (1995) Combined gas ventilation and perfluorochemical tracheal instillation as an alternative treatment for lethal congenital diaphragmatic hernia in lambs. *J Pediatr Surg* 30:1178-1182
38. Marshall JC, Christou NV, Meakins L (1993) The gastrointestinal tract. The undrained abscess of multiple organ failure. *Ann Surg* 218:111-119
39. Martin SM, Lake H, Drinkwater DC, Stein Darry G, Capoya Eli R, Pearl JM, Barthel SW, Chang P, Kaczer E, Bhuta S (1993) Perfluorocarbene reperfusion yields improved myocardial recovery after global ischemia. *Ann Thorac Surg* 55:954-960
40. Neergard von K (1929) Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik. Die Retraktionskraft der Lunge, abhängig von der Oberflächenspannung in den Alveolen. *Z Gesamte Exp Med* 66:373-394
41. Newman TS, Magnuson TH, Ahrendt SA (1998) the changing face of mesenteric infarction. *Am Surg* 64:611-616
42. Noldge GF, Priebe HJ, Kopp KH, Pelchen T, Riegel W, Geiger K (1990) Differences in effects of isoflurane and enflurane on splanchnic oxygenation and hepatic metabolism in the pig. *Anesth Analg* 71(3):258-267
43. O'Donnell KA, Caty MG, Zheng S, Rossman JE, Azizkhan RG (1997) Oxygenated intraluminal perfluorochemical. *Am J Surg* 149:84-90
44. Ohara M, Unno N, Mitsuoka H, Kaneko H, Nakamura S (2001) Peritoneal lavage with oxygenated perfluorochemical preserves intestinal mukosal barrier function after ischemia-reperfusion and ameliorates lung injury. *Crit Care Med* 29(4):782-788

45. Overbeck MC, Praninkoff T, Hirschl RB (1996) Partial liquid ventilation provides effective gas exchange in a large animal model. *J Crit Care* 11:37-42
46. Papa M, Halperin Z, Rubinstein E, Orenstein A, Gafin S, Adar R (1983) The effect of ischemia of the dog's colon transmural migration of bacteria and endotoxin. *J Surg Res* 35(3):264-269
47. Papo MC, Paczan PR, Fuhrman BP, Steinhorn DM, Hernan LJ, Leach CL, Holm BA, Fisher JE, Kahn BA (1996) Perfluorocarbon-associated gas exchange improves oxygenation, lung mechanics and survival in a model of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 24(3):466-474
48. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Fält K (1990) The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 107(4):547-580
49. Parks DA, Williams TK, Beckman JS (1988) Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: A reevaluation. *Am J Physiol* 254:768-774
50. Quintel M, Meinhardt J, Waschke KF (1998) Partielle Flüssigkeitsventilation. *Der Anaesthesist* 47:479-489
51. Revelly JP, Tappy L, Berger MM (2001) Early metabolic and splanchnic responses to enteral nutrition in postoperative cardiac surgery patients with circulatory compromise. *Intensive Care Med* 27:540-547
52. Ricci JL, Solviter HA, Ziegler MM (1985) Intestinal ischemia: Reduction of mortality utilizing intraluminal perfluorochemical. *Am J Surg* 149:84-90
53. Rötter J, Knichwitz G, Erren M, Twelker L, Hammel D, Scheld H.H. (2000) Mesenteric blood flow during cardiopulmonary bypass in pigs. *Thorac Cardiovasc Surg* 48:351-355
54. Salman NH, Fuhrmann BP, Steinhorn DM, Papo MC, Hernan LJ, Leach CL, Fischer JE (1995) Prolonged studies of perfluorocarbon associated gas exchange and of the resumption of conventional mechanical ventilation. *Crit Care Med* 23:919-924
55. Sekins KM, Coalson JJ, deLemos RA, Fields TK, Flaim SF, Guerra JM, Hopkins RM, Jackson JC, Null DM, Winter DC (1994) Long-term partial

- liquid ventilation (PLV) with perflubron in near-term baboon neonate. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 22:1381-1387
56. Sielenkämper AW, Eicker K, van Aken H (2000) Thoracic epidural anaesthesia increases mukosal perfusion in ileum of rats. *Anaesthesiology* 93:844-851
 57. Shaffer TH, Wolfson MR, Greenspan JS, Rubenstein SD, Stern RG (1994) Perflurochemical liquid as a respiratory medium. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 22:315-326
 58. Shaffer TH, Wolfson MR, Clark LC (1992) Liquid ventilation. *Pediatr Pulmonol* 14:102-109
 59. Shaffer TH, Lowe CA, Bhutani VK, Douglas PR (1984) Liquid ventilation: Effects on pulmonary function in distressed meconiumstained lambs. *Pediatr Res* 18:47-52
 60. Sheperd AP, KielJW (1992) A model of countercurrent shunting of oxygen in the intestinal villus. *Am J Physiology* 262:1136-1142
 61. Spiegel HU, Bergermann M, Hauss J, Wendt M, Schonleben K (1986) High-dose piritramide basal anesthesia in experimental anesthesia and surgery, *Anaesthesist* 35(1):36-42
 62. Stallmach A (2003) In: *Vaskuläre Erkrankungen, Thiemes Innere Medizin, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 6. Aufl. S. 612*
 63. Shinzeki M, Takeyama Y, Ueda T, Yasuda T, Kishi S, Kuroda Y (2003) Intrperitoneal administration of oxygenated perfluorochemicals inhibits bacterial translocation associated with severe acute pancreatitis. *Kobe J Med Sci* 1:17-24
 64. Shute K (1975) Intraluminal oxygen in acute ischemia of the small intestine. *Br J Surg* 62:664
 65. Tabriziani H, Schieu A, Frishman WH, Brandt LJ (2002) Drug therapies of mesenteric vascular disease. *Heart Dis* 4:306-314
 66. Takala J (1996) Determinants of splanchnic blood flow. *Br J Anaesth* 77(1):50-58

67. Thomson IA, Fitch W, Hughes RL, Campbell D, Watson R (1986) Effects of certain i.v. anaesthetics on liver blood flow and hepatic oxygen consumption in the greyhound. *Br J Anaesth* 58(1):69-80
68. Tooley R, Hirschl RB, Parent A, Bartlett RH (1996) Total liquid ventilation with perfluorocarbons increases pulmonary endexpiratory volume and compliance in the setting of lung atelectasis. *Crit Care Med* 24:268-273
69. Tverskoy M, Gelman S, Fowler KC, Bradley EL (1985) Intestinal circulation during inhalation anesthesia. *Anesthesiology* 62(4):462-469
70. Vejchapipat P, Proctor E, Ramsay A, Petros A, Gadian GD, Spitz L, Pierro A (2002) Intestinal energy metabolism after ischemia-reperfusion: Effects of moderate hypothermia and perfluorocarbons. *J of Pediatric Surgery* 5:786-790
71. Withworth PW, Cryer HM, Garrison RN, Baumgarten TE, Harris PD (1989) Hypoperfusion of the intestinal microcirculation without decreased cardiac output during live *Escherichia coli* sepsis in cats. *Circ Shock* 27:111-122
72. Yilmaz AT, Arslan M, Demirkilic U, Ozal E, Kuralay E, Bingöl H, Oz BS, Tatar H, Oztürk OY (1996) Gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 10:763-767

6. Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abbildung 1: Systematisierung der intestinalen Perfusionsstörungen	10
Abbildung 2: Diagnostik der akuten mesenterialen Ischämie	12
Abbildung 3: Schematische Darstellung der peritonealen Lavage	22
Abbildung 4: Aufbau der APD 6	24
Abbildung 5: Schema zur Gewebeprobenentnahme	28
Abbildung 6: Verlauf der Herzfrequenz	35
Abbildung 7: Verlauf des systolischen Blutdrucks	36
Abbildung 8: Verlauf des mittleren Blutdrucks	37
Abbildung 9: Verlauf des diastolischen Blutdrucks	39
Abbildung 10: Darstellung des endexpiratorischen Kohlendioxidanteils	41
Abbildung 11: Entwicklung der Körpertemperatur	43
Abbildung 12: Verlauf des Flusses in der A. mesenterica superior	45
Abbildung 13: Darstellung der histologischen Beurteilung	46
Abbildung 14: Histologie Gruppe A	48
Abbildung 15: Histologie Gruppe A	49
Abbildung 16: Histologie Gruppe A	50
Abbildung 17: Histologie Gruppe B	51
Abbildung 18: Histologie Gruppe B	52
Abbildung 19: Histologie Gruppe B	53
Abbildung 20: Histologie Gruppe C	54
Abbildung 21: Histologie Gruppe C	55
Abbildung 22: Histologie Gruppe C	56

7. Tabellenverzeichnis

	Seite
Tabelle 1: Physikalische Eigenschaften ausgewählter PFC und Wasser	17
Tabelle 2: Zeitplan der Datenerhebung während des Versuchsablaufs	27
Tabelle 3: Graduierung histologischer Veränderungen an der Darmmukosa	30
Tabelle 4: Hämodynamische Parameter der Gruppe A	32
Tabelle 5: Hämodynamische Parameter der Gruppe B	33
Tabelle 6: Hämodynamische Parameter der Gruppe C	34
Tabelle 7: Respiratorische Parameter der Gruppe A	39
Tabelle 8: Respiratorische Parameter der Gruppe B	39
Tabelle 9: Respiratorische Parameter der Gruppe C	40
Tabelle 10: Körpertemperatur der Gruppe A	42
Tabelle 11: Körpertemperatur der Gruppe B	42
Tabelle 12: Körpertemperatur der Gruppe C	42
Tabelle 13: Blutfluss in der A. mesenterica superior der Gruppe A	44
Tabelle 14: Blutfluss in der A. mesenterica superior der Gruppe B	44
Tabelle 15: Blutfluss in der A. mesenterica superior der Gruppe C	44

8. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
Aa.	Arterien
A mes sup	Arteria mesenterica superior
AMI	akute Mesenterialischämie
AMV	Atemminutenvolumen
APD	Dialysegerät
Aqua dest	destilliertes Wasser
ATP	Adenosintriphosphat
BDd	diastolischer Blutdruck
BDm	mittlerer Blutdruck
BDs	systolischer Blutdruck
CMI	chronische mesenterial arterielle Ischämie
C°	Celsius (Temperatureinheit)
CO ₂	Kohlendioxid
DO ₂	Sauerstoffangebot
DNS	Desoxyribonukleinsäure
etCO ₂	endexpiratorischer Kohlendioxidanteil
h	Stunde
HF min ⁻¹	Herzfrequenz
MODS	Multiorganversagen
MVT	Mesenterialvenenthrombose
n	Anzahl
NOMI	Nonokklusive Mesenterialischämie
O ₂	Sauerstoff
PBS	phosphate buffered saline
PFC	Perfluorocarbon(e)
pH	pH-Wert
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck

%	Prozent
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SIRS	Systemisches Infammatorisches Response-Syndron
SMA	Arteria mesenterica superior
Temp	Temperatur
V	Vene

10. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Gisbert Knichwitz danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas, die mir gegebene Möglichkeit zum experimentellen und wissenschaftlichen Arbeiten an diesem Thema und die freundliche und persönliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Claudius Kruse für die Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung der Experimente, sowie für die große Hilfe bei der Auswertung der Ergebnisse und der Durchsicht der Niederschrift.

Bei Frau Dr. med. Ulrike Oberkötter und Frau Anja Jepsen bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit während der experimentellen Phase der Dissertation.

Bedanken möchte ich mich ebenso bei den Mitarbeitern der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der WWU Münster.

Mein Dank gilt auch Frau Kornelia Cebulla vom Institut für Anatomie für die Hilfe bei der Fertigstellung der histologischen Präparate.

Meinem Freund Guido Böggering und meiner Familie danke ich für die unermüdliche Ermunterung und ausdauernde Geduld in der Begleitung dieser Arbeit.



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis

Herr

H.-Doz. Pd Dr: med. Gisbert Knichwitz
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
und Operative Intensivmedizin
Westfälische Wilhelms-Universität
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster

Dienstgebäude:
Domplatz 1-3
Telefon: (0251) 411-0
Durchwah: 411-2104
Telefax: 411-2115
Raum: 431
Auskunft erteilt:
Herr Skoff
E-Mail:
Dez50@bezreg-muenster.nrw.de
Aktenzeichen:
50.0835.1.0 (G 22/2004)

19 . April 2004

Tierschutz; Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Ihr Antrag vom 27.02.2004

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d

Sehr geehrter Herr H.-Doz. Pd Dr: med. Knichwitz,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der zur Zeit gültigen Fassung (BGBl. I S. 1105, 1818) wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung des nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

"Validierung eies Verfahrens zur lokalen Oxygenierung definierter ischämischer Darmabschnitte im finalen Schweinemodell"

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr

H.-Doz. Pd Dr: med. Gisbert Knichwitz
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
und Operative Intensivmedizin

Domagkstr. 3a

48149 Münster

Herr

Univ.-Prof. Dr. med. Hugo Van Aken
Direktor der Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und Operative Intensiv-
medizin

Domagkstr. 3a

48149 Münster

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300

E-Mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de • Internet: www.bezreg-muenster.nrw.de
zentrale Telefaxnummer: (0251) 411-2525

Konten der Landeskasse Münster:

Deutsche Bundesbank - Filiale Münster - BLZ: 400 000 00 Konto: 40001 520

WestLB AG Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61820

ÖPNV ab Hbf: Linien 14 • 20 bis Haltestelle Domplatz, Linien 2 • 10 • 11 • 12 bis

1/2



Diese Genehmigung gilt bis zum 30.04.2007.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

19 Schweine

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Ich weise darauf hin, dass diese Genehmigung eine evtl. erforderliche Zustimmung nach dem Gentechnikgesetz für Arbeiten mit transgenen Tieren nicht einschließt.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

Rechtsbehelfsbelehrung

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Ich bitte um umgehende Rückgabe des beiliegenden Empfangsbekanntnisses.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



Dr. Piontkowski