

---

Aus der Klinik für Thorax- und Herz-, Gefäßchirurgie

Universitätskliniken, Homburg/Saar

Direktor Prof. Dr. med. H-J Schäfers

Auswirkung der Herz-Lungen-Maschine auf die viszerale Mikro-  
zirkulation und Vasopressin Rezeptor Genexpression

DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES GRADES EINES

DOKTORS DER MEDIZIN

der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes

2012

vorgelegt von

Isabell Wagner

Geb. am 28.12.1986 in Neunkirchen

---

## Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	1
1.1 Zusammenfassung .....	1
1.2 Summary .....	3
2 Einführung.....	5
2.1 Mesenterialischämie unter HLM.....	5
2.1.1 NOMI .....	5
2.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie der NOMI.....	6
2.1.3 Klinik und Differentialdiagnose.....	8
2.2 Mikrozirkulatorische Auswirkungen der Herz-Lungen-Maschine .....	10
2.3 Vasopressoren in der Herzchirurgie.....	11
2.3.1 Vasopressin.....	12
2.3.2 Physiologische und therapeutische Aspekte.....	13
2.3.3 Auswirkung auf das viszerale Gefäßsystem .....	16
2.4 Fragestellung.....	18
3 Material Methoden .....	19
3.1 Studienaufbau .....	19
3.1.1 Präoperative Phase .....	20
3.1.2 Prämedikation .....	20
3.1.3 Anästhesie und Beatmung.....	21
3.1.4 Interventionen.....	22
3.2 Interventionsphase .....	29
3.3 Intravitalmikroskopie .....	31
3.4 Klinische Chemie .....	31
3.5 RNA-Isolierung .....	32
3.5.1 Isolierung aus Magen und Jejunum .....	32
3.5.2 Isolierung aus Rektum und Oberschenkel .....	33
3.5.3 Photometrische Konzentrationsbestimmung der RNA .....	34

---

3.6	cDNA-Synthese der Gewebeproben .....	35
3.7	Real-time PCR.....	37
3.8	Statistische Analyse.....	38
4	Ergebnisse .....	40
4.1	Hämodynamik (HZV, MAP, SVR) .....	40
4.2	Laborparameter (Laktat, venöses Kalium, iFABP, Vasopressin) .....	42
4.3	Blutfluss der Arteria mesenterica superior (AMS) .....	44
4.4	Mukosaler Blutfluss.....	45
4.5	Perfundierte Gefäßdichte Jejunum .....	48
4.6	Mukosale Sauerstoffsättigung.....	49
4.7	Vasopressin Rezeptor Genexpression.....	50
5	Diskussion.....	53
5.1	Hintergrund.....	53
5.1.1	Physiologie und Pathophysiologie der Mesenterialgefäße .....	53
5.1.2	Risikofaktoren der NOMI .....	57
5.1.3	Probleme der Herz-Lungen-Maschine .....	59
5.1.4	Vasopressin.....	63
5.2	Diskussion der Methodik.....	69
5.2.1	Laborwerte .....	70
5.2.2	Intravitalmikroskopie (IVM) .....	71
5.2.3	Laser Doppler .....	72
5.2.4	RNA-Isolierung .....	73
5.2.5	Photometrische Bestimmung der RNA .....	74
5.2.6	cDNA-Synthese durch Reverse Transkription.....	75
5.2.7	Prinzip der Polymerase-Ketten-Reaktion .....	75
5.2.8	Quantitative Real-Time PCR.....	76
5.2.9	Reverse Transkription.....	78
5.2.10	Auswertung .....	79

---

5.3	Diskussion der Ergebnisse .....	83
5.3.1	Kontrollgruppe .....	83
5.3.2	Gruppe der Darmischämie.....	83
5.3.3	Gruppe der Herz-Lungen-Maschine.....	86
5.3.4	Gruppe HLM/Vasopressin .....	90
5.1	Beantwortung der Fragestellungen .....	93
6	ANHANG.....	95
7	Literaturverzeichnis .....	99
8	DANKSAGUNG.....	116

## Abkürzungsverzeichnis

### A

A / Aa.	Arteria / Arteriae
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AMS	Arteria mesenterica superior
AVP	Arginin-Vasopressin
AVPR1A	Arginin-Vasopressin-Rezeptor 1A
AVPR1B	Arginin-Vasopressin-Rezeptor 1B
AVPR2	Arginin-Vasopressin-Rezeptor 2

### C

°C	Grad Celsius
cDNA	complementary (engl.), komplementäre DNA
CPR	kardiopulmonale Reanimation
C <sub>T</sub>	threshold cycle

### D

DAG	Diaglycerol
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Deoxynukleotid-Triphosphat
dUTP	Desoxyuridin-Triphosphat
dTTP	Desoxythymidin-Triphosphat

### E

E	Extinktion
ET-1	Endothelin-1
et al.	et alia (lat.), und andere

### F

FET	Fluoreszenz-Energietransfer
-----	-----------------------------

### G

g	Gramm
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GIT	Gastrointestinaltrakt

### H

HCl	Salzsäure
HLM	Herz-Lungen-Maschine
H <sub>2</sub> O	Wasser
HZV	Herzzeitvolumen

---

<u>I</u>	
IL	Interleukin
Inf.	inferior
IP <sub>3</sub>	Inositol1,4,5-trisphosphat
<u>K</u>	
K <sup>+</sup>	Kalium
K-ATP	Kalium-sensitive Adenosintriphosphat-Kanäle
KCl	Kaliumchlorid
Kg	Kilogramm
<u>L</u>	
LWK	Lendenwirbelkörper
<u>M</u>	
MAP	mittlerer arterieller Perfusionsdruck
min	Minute
ml	Milliliter
mOsm	Milliosmolar
mRNA	messenger RNA
<u>N</u>	
NO	Sickstoffmonooxid
nm	Nanometer
<u>O</u>	
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
<u>P</u>	
PaCo <sub>2</sub>	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PAP	pulmonal arterieller Blutdruck
PCR	Polymersase-Ketten-Reaktion
Pg	Pikogramm
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenaktivität
PIP <sub>2</sub>	Inositol4,5-bisphosphat
PVN	Nukleus paraventricularis
<u>R</u>	
Real-time PCR	Echtzeit-PCR
Rn	Ratio normalized reporter
RNA	Ribonucleic Acid (engl.), Ribonukeinsäure
RNase	Ribonuklease(Enzym)
RQ	relative Quantifizierung
rRNA	ribosomale RNA
RT	Raumtemperatur / Reverse- Transkription

S

S

SIRS

SON

Sup.

SVR

Sekunde

systemic inflammatory response syndrome

Nukleus supraopticus

superior

systemischer vaskulärer Widerstand

T

Taq

TNF

TRIS

tRNA

Thermophilus aquaticus (Bakterium)

Tumornekrosefaktor

Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

transfer RNA

U

U

unit, Einheit der Enzymaktivität

Z

z.B.

ZVD

zum Beispiel

zentral venöser Blutdruck

**Symbole:**

°C

μ

Δ

%

Grad Celcius

Mikro

Delta

Prozent

---

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Pipettierschema für Vasopressin .....	38
Abbildung 2 Vasopressinspiegel arteriell (pg/ml) .....	43
Abbildung 3 Blutfluss der AMS (ml/min) .....	44
Abbildung 4 mukosaler Blutfluss Magen (AU) .....	45
Abbildung 5 mukosaler Blutfluss Jejunum (AU) .....	46
Abbildung 6 mukosaler Blutfluss Rektum (AU) .....	47
Abbildung 7 perfundierte Gefäßdichte Jejunum (cm/cm <sup>2</sup> ) .....	48
Abbildung 8 Relative Vasopressin Genexpression im Magen .....	50
Abbildung 9 relative Vasopressin Genexpression des Jejunums .....	51
Abbildung 10 relative Vasopressin Genexpression des Rektums .....	52
Abbildung 11 Entzündungskaskade unter Herz-Lungen-Maschine .....	59
Abbildung 12 Vasopressinfreisetzung. Abb. modifiziert nach (Treschan and Peters 2006) .....	65
Abbildung 13 Vasopressin Signaltransduktion. Abb. modifiziert nach (Birnbaumer 2000) .....	68
Abbildung 14: Hybridisierung von TaqMan Sonde und Primer am Matrizenstrang. .	77
Abbildung 15: Exonukleaseaktivität TaqMan-Polymerase und Sondenhydrolyse .....	77
Abbildung 16: Amplifizierung und Reportersignalsverstärkung .....	78
Abbildung 17 TaqMan Amplifikationsplot .....	79

---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht der Versuchsgruppen.....	19
Tabelle 2 Hämodynamik und Beatmungsparameter .....	27
Tabelle 3 Zeitpunkte und Probengewinnung .....	28
Tabelle 4 Pipettierschema MasterMix.....	35
Tabelle 5 Thermalschema Thermocycler.....	36
Tabelle 6 Reagenzienansatz .....	37
Tabelle 7 Thermalschema der PCR .....	38
Tabelle 8 systemischer vaskulärer Widerstand (SVR) .....	41
Tabelle 9 iFABP (ml/pg) .....	42
Tabelle 10 Vasopressinspiegel (pg/ml).....	43
Tabelle 11 Blutfluss der AMS (ml/min) .....	44
Tabelle 12 mukosaler Blutfluss Magen (AU).....	45
Tabelle 13 mukosaler Blutfluss Jejunum (AU) .....	46
Tabelle 14 mukosaler Blutfluss Rektum (AU) .....	47
Tabelle 15 perfundierte Gefäßdichte Jejunum (cm/cm <sup>2</sup> ) .....	48
Tabelle 16 Relative Vasopressin Genexpression des Magens (RQ).....	50
Tabelle 17 Relative Vasopressin Genexpression des Jejunums (RQ) .....	51
Tabelle 18 Relative Vasopressin Genexpression des Rektums (RQ) .....	52
Tabelle 19 Lokalisation der Vasopressinrezeptortypen und vermittelte Wirkung .....	66
Tabelle 20 Schwellenwerte der Gene .....	80
Tabelle 21 Herzzeitvolumen (l/min) .....	95
Tabelle 22 mittlerer arterieller Druck MAP (mmHg) .....	95
Tabelle 23 Laktatkonzentration (mmol/l).....	96
Tabelle 24 venöses Kalium (mmol/l).....	96
Tabelle 25 Mukosale Sauerstoffsättigung Magen (%) .....	97
Tabelle 26 mukosale Sauerstoffsättigung des Jejunums (%) .....	97
Tabelle 27 mukosale Sauerstoffsättigung des Rektums (%).....	98

---

## Zusammenfassung

### 1.1 Zusammenfassung

**Hintergrund:** Die Non-okklusive Mesenterialschämie (NOMI) ist eine seltene Komplikation mit hoher Letalität bei Operationen am Herzen unter Herz-Lungen-Maschine (HLM). Die Pathophysiologie dieses Krankheitsbildes ist jedoch noch nicht vollständig geklärt. Unter HLM tritt häufig eine Minderperfusion des Mesenterialgebietes auf, die bis hin zur Ausbildung des SIRS (systemic inflammatory response syndrome) führen kann. Bei verschiedenen Schockformen mit Einschränkung der Darmdurchblutung wurde ein Vasopressinmangel festgestellt.

**Fragestellung:** Im Tierexperiment wurde untersucht, ob ein Vasopressin(AVP)-Mangel unter HLM zur Beeinträchtigung der mesenterialen Durchblutung führt.

**Methodik:** Es wurden vier Interventionsgruppen mit jeweils sechs Schweinen erforscht: 1.Kontrollgruppe ohne Intervention; 2.Gruppe Darmischämie: 60 min Okklusion der Arteria mesenterica superior (AMS); 3.Gruppe HLM: 60 min Herz-Lungen-Maschine; 4.Gruppe HLM/Vasopressin: s.o., Vasopressingabe zusätzlich zur HLM zur Aufrechterhaltung des mittleren arteriellen Drucks wie unter Ausgangsbedingungen. Nach den Interventionen folgte eine 90 minütige Reperusionsphase.

Während des Experimentes wurden die Hämodynamik, der Blutfluss der AMS, Kalium, Laktat, intestinal fatty acid binding protein (iFABP) und Vasopressin-(AVP)-spiegel kontinuierlich bestimmt. Ebenso wurden kontinuierlich im Magen, Jejunum und Rektum Sauerstoffsättigung und mukosaler Blutfluss durch Laser Doppler erfasst. Zusätzlich wurde die jejunale Kapillardichte mittels Intravitalmikroskopie zu bestimmten Zeitpunkten untersucht. Nach dem Experiment wurden Proben aus Magen, Jejunum, Rektum und Oberschenkel entnommen und nach spezifischer RNA-Isolation, Umschreibung in cDNA und Analyse mittels Polymerase-Ketten-Reaktion auf die Expression der Vasopressinrezeptoren AVPR1A und AVPR2 untersucht.

**Ergebnis:** Durch die Okklusion der AMS kam es zum Sistieren des Blutflusses der AMS, jedoch trat auch unter HLM mit zusätzlicher AVP-Gabe eine Blutflussminderung auf. Im Jejunum kam es unter Ischämie zum stärksten Absinken des mukosalen Blutflusses, ähnlich bei alleiniger HLM. Unter zusätzlicher Vasopressingabe blieb die

---

Mirozirkulation konstant. Entsprechend war die perfundierte Gefäßdicke im Jejunum unter Ischämie am niedrigsten ( $0 \pm 0 \text{ cm/cm}^2$  vs.  $197,7 \pm 4,3 \text{ cm/cm}^2$ ,  $p < 0,05$ ), während unter HLM mit AVP ( $179 \pm 4,7 \text{ cm/cm}^2$ ) eine Verbesserung zur HLM-Gruppe ( $153,7 \pm 4,2 \text{ cm/cm}^2$ ,  $p < 0,05$ ) erzielt wurde. Der Vasopressinspiegel blieb in der Gruppe Ischämie konstant, während in der Gruppe HLM ein stetiger Abfall zu verzeichnen war (Minimum bei  $39,7 \pm 8,3 \text{ pg/ml}$  vs.  $128,1 \pm 14,6$ ). Auf dieses Niveau fiel AVP auch in der Gruppe HLM/Vasopressin nach Beendigung der Vasopressingabe, parallel dazu glichen sich die Mikrozirkulationswerte der Gruppe HLM/Vasopressin im Jejunum immer mehr an die der zuvor schlechter gestellten HLM-Gruppe an. Während es zu keiner Veränderung in den anderen Gruppen kam, trat in der Gruppe HLM eine signifikante Erhöhung der Vasopressin-Rezeptor Genexpression auf.

**Schlussfolgerung:** Die HLM hatte im Jejunum eine Beeinträchtigung der Mikrozirkulation zu Folge. Diese ging mit einem Vasopressinmangel einher, welcher in einer gesteigerten AVP Rezeptor Genexpression bei vermindertem AVP Spiegel deutlich wurde. Dieser Mangel an Vasopressin konnte durch zusätzliche AVP-Gabe ausgeglichen werden und führte so zu einer verbesserten jejunalen Perfusion unter Anwendung der HLM.

## 1.2 Summary

**Background:** Non-occlusive mesenteric ischemia (NOMI) is a rare complication after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass (CPB) and associated with high mortality. The pathophysiology of this disease is not yet completely understood. During CPB mesenteric hypoperfusion often occurs which may contribute to systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Different types of shock with impaired intestinal perfusion have been found to be associated with a lack of vasopressin (AVP).

**Objective:** In an animal model was examined whether a lack of AVP during CPB impairs mesenteric blood flow and microcirculation.

**Method:** Four groups of six pigs were examined: 1. Sham without intervention, 2. Ischemia: one hour occlusion of the superior mesenteric artery (SMA), 3. CPB: CPB for one hour, 4. CPB/vasopressin: added AVP application to keep MAP accordingly to initial conditions. The interventions were followed by 90 min of reperfusion.

During the experiment hemodynamics, blood flow of SMA, potassium, lactate, intestinal fatty acid binding protein (iFABP) and vasopressin levels were determined continuously. Oxygen saturation and mucosal blood flow were measured continuously in stomach, jejunum and rectum using laser Doppler. The capillary density of the jejunum was recorded by intravital microscopy at predetermined points of time. After the experiment samples of stomach, jejunum, rectum and tight were taken. Specific RNA isolation, transcription into cDNA and analysis with polymerase chain reaction were performed to examine the expression of the AVP receptors AVPR1A and AVPR2.

**Results:** The blood flow of the SMA was absent during the occlusion and was reduced in group CPB/vasopressin. Jejunal blood flow was drastically reduced in the ischemia group. It was less impaired but still significantly reduced during CPB. With additional AVP application microcirculation remained stable. Jejunal capillary vessel density was at its minimum during ischemia ( $0 \pm 0$  cm/cm<sup>2</sup> vs.  $197,7 \pm 4,3$  cm/cm<sup>2</sup>,  $p < 0,05$ ). During CPB with AVP application ( $179 \pm 4,7$  cm/cm<sup>2</sup>) the capillary density improved compared to CPB ( $153,7 \pm 4,2$  cm/cm<sup>2</sup>,  $p < 0,05$ ). The AVP level was constant in the group ischemia, while there was a steady decrease in group CPB (minimum at  $39,7 \pm 8,3$  pg/ml vs.  $128,1 \pm 14,6$ ). After the termination of AVP application in

the group CPB/vasopressin AVP dropped to the same level as in group CPB. Simultaneously, the jejunal microcirculation in group CPB vasopressin adapted to the group CPB. While there was no change in other groups AVP receptor expression was significantly elevated in group CPB.

**Conclusion:** CPB affected the microcirculation in the jejunum negatively. This impairment coincided with a reduction in AVP which was indicated by increased AVP receptor gene expression and decreased AVP level. This lack of AVP was compensated by additional AVP application and improved the perfusion of the jejunum during CPB.

## 2 Einführung

### 2.1 Mesenterialischämie unter HLM

Chirurgische Eingriffe am offenen Herzen unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) haben sich zu relativ sicheren Routineprozeduren entwickelt. Durch Fortschritte der operativen Techniken und des postoperativen Managements hat sich das Patientenkollektiv stetig vergrößert. Das höhere Alter, die Schwere der Herzerkrankungen und die höhere Gesamtmortalität dieser Patienten spiegeln sich jedoch in einem Anstieg von postoperativen extrakardialen Komplikationen wieder (Geissler, Fischer et al. 2006). Zu den dennoch insgesamt wenigen Komplikationen, die zu schwerwiegenden Folgeschäden führen können, gehören gastrointestinale (GIT) Komplikationen. Sie treten bei 0,6 bis 2% der herz-chirurgischen Operationen auf und sind in einem Viertel der Fälle durch akute mesenteriale Ischämien bedingt (Klotz, Vestring et al. 2001). Diese Ischämien sind mit außergewöhnlich hohen Mortalitätsraten verbunden, da sich eine intestinale Gangrän ausbilden kann und sie dadurch in der Endstrecke zum Multiorganversagen führen können. Unter dem Sammelbegriff Mesenterialischämie werden Mesenterialarterienembolie, -arterienthrombose, Mesenterialvenenthrombose und die non-okklusive mesenteriale Ischämie (NOMI) zusammengefasst (Schwartzkopff and Hennersdorf 2005).

#### 2.1.1 NOMI

Die non-okklusive Mesenterialischämie (NOMI) gilt als Vasospasmus im Splanchnikusgebiet ohne Verschluss der großen intestinalen Gefäße (Klotz, Vestring et al. 2001), die nicht auf Arteriosklerose oder Vaskulitiden zurückzuführen ist (Lock and Scholmerich 1995; Acosta, Ogren et al. 2006). Überwiegend sind der distale Dünndarm mit Übergang zum Dickdarm von der NOMI betroffen (Izbicki, Schneider et al. 2003). Die akute NOMI gilt als eine der gravierendsten Komplikationen nach Herzoperationen mit Mortalitätsraten von 30-93% (Boley, Sprayregan et al. 1977;

Allen, Salam et al. 1992; Kaleya and Boley 1992; Kaleya, Sammartano et al. 1992; Wilcox, Howard et al. 1995; Klemptner, Grothues et al. 1997; Schutz, Eichinger et al. 1998; Kramer, Gorich et al. 2003). Bei etwa 0,2%-0,5% der unter HLM operierten Patienten zeigt sich eine mesenterialen Ischämie klinisch (Braun, Schroeder et al. 2006), hingegen sind subklinische, transiente Hypoxien wesentlich häufiger (Fiddian Green 1993). Dennoch ist das derzeitige Wissen über die Epidemiologie der NOMI aufgrund der geringen Fallzahlen begrenzt und stammt überwiegend aus klinischen Studien von Patienten mit den unterschiedlichsten Formen der akuten Mesenterialischämie. Laut deren Angaben variiert die Inzidenz der NOMI darunter zwischen 4% (Sitges Serra, Mas et al. 1988) und 60% (Clavien, Muller et al. 1987; Sitges Serra, Mas et al. 1988; Park, Haglund et al. 1990; Kaleya, Sammartano et al. 1992; Mamode, Pickford et al. 1999; Endean, Barnes et al. 2001; Greenwald, Brandt et al. 2001; Trompeter, Brazda et al. 2002; Edwards, Cherr et al. 2003). Zudem steigt die Inzidenz der NOMI mit fortschreitendem Lebensalter (Durchschnittsalter 82 Jahre) bis auf das zwanzig fache an (Trompeter, Brazda et al. 2002; Acosta, Ogren et al. 2006).

### 2.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie der NOMI

Bei der funktionellen angiospastischen Ischämie der NOMI handelt es sich um eine gestörte Autoregulation der Mesenterialgefäße (Ernst, Luther et al. 2003). Als zugrunde liegende Ursachen gelten vermindertes Herzzeitvolumen (low output syndrome), hypotone Zustände, oder die Applikation von vasokonstriktiven Medikamenten. Weitere sind vorbestehende kardiale und/oder periphere vaskuläre Krankheit, sowie eine Toxineinschwemmung in Folge der Reperfusion einer peripheren Ischämie (Ende 1958; Lock and Scholmerich 1995; Wilcox, Howard et al. 1995; Stockmann, Roblick et al. 2000). Laut einer Studie von D'Ancona (D'Ancona, Baillot et al. 2003) gilt die langzeitige Anwendung der Herz-Lungen-Maschine als entscheidender Faktor für gastrointestinale Komplikationen.

Aufgrund mehrerer Eigenschaften des splanchnischen Gefäßbettes wie dem Unvermögen, durch Autoregulation starke Hypotonien auszugleichen, sind die gastrointestinalen Organe besonders vor Ischämie gefährdet (Mutlu, Mutlu et al. 2001; D'Ancona, Baillot et al. 2003). Des Weiteren kann der Vasospasmus im Splanchnikusgebiet auch nach Korrektur der hämodynamischen Stabilität persistieren. Zudem ermöglicht die anatomische Anordnung der Darmzottengefäße im Gegenstromprinzip das Ausbilden von basisnahen Sauerstoffshunts und begünstigt dadurch eine distale Hypoxie der Zottenspitzen. Daraus resultieren Epithelnekrosen und eine Störung der Darmintegrität (Christenson, Schmuziger et al. 1994; Christenson, Schmuziger et al. 1994; Halm 1996; D'Ancona, Baillot et al. 2003). Eine Reduktion des arteriellen Blutdrucks auf 40-45mmHg für 30 min ist bereits ausreichend, um eine Mesenterialischämie zu provozieren (Haglund and Bergqvist 1999). Die intestinale Ischämietoleranz ist auf 3 bis 6 Stunden limitiert (Ritz, Runkel et al. 1997).

Im Verlauf der Mesenterialischämie entwickelt sich zunächst ein schwerstes Schmerzsyndrom, das eine reflektorische schockartige Hypotonie bedingen kann (Eckstein 2003) In Folge der reaktiven Sympatikusaktivierung und zur Aufrechterhaltung des HZV werden verschiedene vasoaktive Substanzen wie Renin-Angiotensin, Endothelin, Vasopressin und Katecholamine freigesetzt (Ernst, Luther et al. 2003). Dies führt zu massiver Vasokonstriktion im Splanchnikusgebiet und spastischer Hyperperistaltik.

Bedingt durch den Sauerstoffmangel werden O<sub>2</sub>-abhängige Prozesse unterbunden. Dies zeigt sich in gesteigerter anaeroben Glykolyse und dem Anstieg von ADP, AMP und Hypoxanthin. Die anfänglich intrazelluläre metabolische Azidose mündet in Zellolyse mit darauf folgender Transsudation von Blut und Plasma in das Darmlumen und der Entwicklung einer Darmdistension und –paralyse (Eckstein 2003). In Folge der Flüssigkeitsverlust-bedingten Hypovolämie und HZV Abfall kommt es zu einer weiteren Beeinträchtigung der mesenterialen Durchblutung. Durch das Fortschreiten der anaerobe Glykolyse und Zellolyse entstehen toxische Reaktionsprodukte, welche eine Insuffizienz in verschiedenen Organsystemen verursachen (Eckstein 2003). Desweiteren können aufgrund von hypoxisch bedingten Nekrosen und dadurch er-

möglicher Translokation enteraler Bakterien und deren Endotoxine ein septisch-toxischer sowie hypovolämischer Schock entstehen und meist letal enden (Ritz, Runkel et al. 1997).

### 2.1.3 Klinik und Differentialdiagnose

Als erstes und sensibelstes Zeichen einer GIT-Komplikation gelten Schmerzen im Bereich des Abdomens (Mangi, Christison-Lagay et al. 2005). Jedoch unterscheiden sich die klinischen Zeichen je nach Patient und dessen bestehender Grunderkrankung. So können frühe Anzeichen z.B. bei beatmeten oder sedierten Patienten fehlen, welche aufgrund ihrer Morbidität allerdings zu den häufigsten Risikopatienten einer NOMI zählen. Besonders bei Patienten mit NOMI fehlen abdominale Schmerzen häufig, was generell bei 15-25% der Patienten mit akuter Mesenterialischämie der Fall ist (Brandt and Boley 1991). Ein gespanntes Abdomen und gastrointestinale Blutungen bei fehlendem Schmerz können dann erste Hinweise einer Ischämie mit drohendem Intestinalinfarkt sein (Archodovassilis, Lagoudiannakis et al. 2007). Fieber, Ileus und Diarrhöe sind häufige, wenn auch unspezifische Zeichen. Zusammen mit erhöhter Leukozytose weisen sie jedoch stark auf eine intestinale Ischämie hin (Ori, Chagnac et al. 2005). Steigende Serumlaktatspiegel oder andere Abweichungen wie Hyperphosphatämie, erhöhte Amylasespiegel in Serum oder Peritonealflüssigkeit sollten Verdacht erregen. Ein Anstieg im Serumlevel von Aspartat-Aminotransferase (AST), Laktatdehydrogenase oder Kreatininphosphokinase entsteht erst spät und zeigt einen bereits non-reversiblen Infarkt an (Archodovassilis, Lagoudiannakis et al. 2007).

Allgemein lässt sich sagen, dass die Diagnose der NOMI besonders im Endstadium der Ischämie immer schwieriger zu stellen ist, da sich ähnliche Symptome zeigen, wie z.B. bei allen anderen Formen der Mesenterialischämie, der Sepsis, im septischen Schock oder durch SIRS (systemic inflammatory response syndrome). Dabei ist SIRS als systemische Aktivierung der angeborenen Immunantwort jeglicher Ursache definiert (Levy, Fink et al. 2003). Zur Diagnostik des SIRS müssen mindestens zwei der folgenden klinischen Zeichen vorhanden sein:

1. Körpertemperatur > 38 C oder < 36 C
2. Herzfrequenz > 90/min
3. Tachypnoe bewiesen durch Atemfrequenz > 20/min oder PaCO<sub>2</sub> < 32 mmHg
4. Leukozytose (>12000/μl) oder Leukopenie (<4000/μl) (Levy, Fink et al. 2003).

Die unspezifischen klinischen Symptome führen dazu, dass man die NOMI nur findet, wenn man gezielt nach ihr sucht. Andernfalls können Syndrome wie das Post Hypotensionssyndrom, SIRS, Sepsis oder Multiorganversagen festgestellt werden, ohne den Ursprung in der non-okklusiven Mesenterialischämie gefunden zu haben (Fiddian-Green 1990; Biffi and Moore 1996; Argenziano, Chen et al. 1998; Trompeter, Brazda et al. 2002). Die Überlebenschance der NOMI ist jedoch essenziell von ihrem frühzeitigen Erkennen abhängig (Clavien, Muller et al. 1987). Das Multiorganversagen stellt die bedeutendste Ursache der Mortalität nach Herzoperationen dar (Huber, Harward et al. 1995; Cremer, Martin et al. 1996; Yankah, Weng et al. 1996; Nielsen, Sellgren et al. 1997; Mortasawi, Arnrich et al. 2003; Bernstein, Naftel et al. 2006; Aalberts, Boonstra et al. 2009) und ist das Resultat vieler Entzündungsprozesse wie der Sepsis, SIRS, anaphylaktischem Schock, usw. (Cremer, Martin et al. 1996; Nielsen, Sellgren et al. 1997). Dabei haben Sepsis (= SIRS + Infektionsnachweis) und das Multiorganversagen ihren Ursprung meist in gastrointestinalen Komplikationen, weshalb man den Darm auch als „Motor“ der Multiorgandysfunktion bezeichnet (Taylor 1998). Daher ist es unbedingt notwendig GIT, Komplikationen wie auch die NOMI möglichst schnell zu diagnostizieren und zu therapieren.

## 2.2 Mirkozirkulatorische Auswirkungen der Herz-Lungen-Maschine

Für die Entstehung kardiochirurgischer Komplikationen durch die Verwendung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) werden im Wesentlichen zwei Hauptursachen diskutiert: Zum einen die systemische Entzündungsreaktion aufgrund der Mediatorenfreisetzung durch die Kontaktaktivierung des Blutes mit den unphysiologischen Oberflächen der HLM. Zum anderen die non-okklusive Mesenterialschämie durch die HLM-bedingte Minderperfusion des Gastrointestinaltraktes (Levy and Tanaka 2003; Ohri and Velissaris 2006).

Durch den Aufbau der Herz-Lungen-Maschine (Oxygenator, venöses Reservoir, Pumpen, Schlauchsysteme und Filter) zirkuliert das Blut mit nicht pulsatilem Blutfluss durch nicht endothelialisierte Oberflächen und wird dabei unphysiologischen Scherkräften ausgesetzt (Kirklin, Blackstone et al. 1987; Le Deist, Menasche et al. 1996; Nygren, Thoren et al. 2006). In der dadurch provozierten Entzündungsreaktion werden Mediatoren wie C5a, Thromboxane ( $A_2$  und  $B_2$ ) und Leukotriene freigesetzt, deren potente vasokonstriktive Wirkung auf das Mesenterialgebiet in Tierstudien nachgewiesen wurde (Watkins, Peterson et al. 1982; Cohn, Fink et al. 1990). Die Komplementaktivierung bewirkt eine erhöhte Freisetzung der Anaphylaxotoxine C3a und C5a, wodurch die Gefäßpermeabilität und -kontraktion gesteigert wird. Zudem triggert das Komplementsystem die Aktivierung von Neutrophilen als auch die Expression der Zytokine  $TNF\alpha$ , Interleukin IL-1, IL-6 und IL-8.  $TNF$  und IL-1 induzieren wiederum die Expression von Adhäsionsmolekülen zur Bindung von neutrophilen Leukozyten an Endothelzellen, was durch deren Eindringen ins Gewebe zu dessen Schädigung führt (Asimakopoulos and Taylor 1998). All diese Faktoren führen zur Steigerung von Entzündungsprozessen und zu einer Verschlechterung der Mikrozirkulation (Goldstein, Brai et al. 1973; Hugli 1978; Kirklin, Westaby et al. 1983).

Die Stimulation der Faktor XII/Kallikrein- Bradykinin-Kaskade aktiviert sowohl die intrinsische Gerinnungskaskade als auch die Fibrinolyse. Während Bradykinin über die Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Kontraktion glatter Muskelzellen die Ödembildung fördert, verstärkt Kallikrein über den Faktor XII die Kaskade. Als Resultat der Hyperkoagulopathie kann sich eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) des GIT mit weiterer Störung der Mikrozirkulation ausbilden (Rudy, Heymann et al.

1973; Chenoweth, Cooper et al. 1981; Cremer, Martin et al. 1996; Taylor, Houston et al. 1996; Wan, LeClerc et al. 1997; Zahler, Massoudy et al. 1999; Dietrich 2000; Ng, Wan et al. 2002).

Die extrakorporale Zirkulation bewirkt eine deutliche Minderdurchblutung des Gastrointestinaltraktes und der Darmschleimhaut, welche durch die Störung zentralnervöser und peripherer Regulationsmechanismen auftritt. Der fehlende pulsatile Blutstrom in den renalen Arterien und der reduzierte mittlere arterielle Blutdruck (MAP) durch die HLM führen zu vermehrter Reninausschüttung und Angiotensin II-Bildung (Taylor, Bain et al. 1980). Letzteres ist ein potenter Vasokonstriktor im splanchnischen Gefäßsystem. Insgesamt sinkt der SVR jedoch unter HLM trotz der Ausschüttung vasokonstriktorischer Substanzen. Sowohl körpereigene als auch zusätzlich gegebene Katecholamine erhöhen den MAP auf Kosten der Perfusion des mesenterialen Versorgungsgebietes. Daraus resultierende intestinaler Mikrozirkulationsstörung (Krejci, Hildebrand et al. 2006) und Ischämie im Endstromgebiet der A. mesenterica sup. (Wan and Yim 2001; D'Ancona, Baillet et al. 2003) triggern über endotheliale Dysfunktionen die angiospastische Genese der NOMI. Die durch den künstlichen Blutfluss der HLM auftretende funktionelle Minderperfusion der viszeralen Organe schädigt diese und trägt dadurch zur Entstehung des häufig letal endenden SIRS (systemic inflammatory response) bei (Hanssen, Derikx et al. 2008). Dabei bedingt vor allem eine lang andauernde Verwendung der Herz-Lungen-Maschine das erhöhte Auftreten postoperativer Mesenterialischämien (Larmi and Karkola 1974; Baca, Bieger et al. 1979; D'Ancona, Baillet et al. 2003; Kumle, Boldt et al. 2003; Musleh, Patel et al. 2003).

### 2.3 Vasopressoren in der Herzchirurgie

Herzchirurgische Eingriffe können wesentlich durch Komplikationen wie z.B. vasodilatativem Schock erschwert werden, wie er nach systemischen Entzündungsreaktionen unter extrakorporaler Zirkulation auftreten kann (Mills 1993). Zur Erhöhung des Herzzeitvolumens bzw. des vaskulären Widerstandes werden in der Regel Inotropika sowie Vasopressoren verabreicht. Unter diesen gelten die Katecholamine Dobutamin und Norepinephrin als Mittel der Wahl zur Behandlung von

vasodilatativem oder kardiogenem Schock (Overgaard and Dzavik 2008). Die Effektivität vasopressorischer Katecholamine ist jedoch eingeschränkt durch toxische Nebenwirkungen unter hohen Dosen (Powers, Pifarre et al. 1994), sowie zusätzlicher Störung der Hämodynamik (Ertmer, Sielenkamper et al. 2005) und intestinalen Mikrozirkulation (Krejci, Hildebrand et al. 2006). Desweiteren sind Katecholaminresistenzen häufig (Chernow and Roth 1986).

Vasopressin-Analoga haben sich bei katecholaminrefraktärer arterieller Hypotonie als potenziell nützliche Reservetherapeutika erwiesen. Ein Zusammenhang zwischen Hypotension und Vasopressinmangel ist sowohl für Sepsis (Landry, Levin et al. 1997), hämorrhagischen (Morales, Madigan et al. 1999) und kardiogenen Schock (Landry, Levin et al. 1997), sowie dem Post Hypotensions Syndrom nach HLM (Argenziano, Chen et al. 1998) beschrieben worden. Problematisch für die Mikrozirkulation des Darmes ist hierbei, dass der Vasopressinmangel während und nach der HLM mit hochdosiertem Norepinephrin ausgeglichen wird. Denn die HLM vermindert den jejunalen und ilealen Blutfluss zur Mukosa nicht nur direkt, sondern verstärkt zusätzlich die vasokonstriktive Wirkung von Norepinephrin auf beide Darmabschnitte intra- und postoperativ (Tofukuji, Stahl et al. 2000). Jejunum und Ileum sind die von der NOMI betroffenen Darmabschnitte (Siegelman, Sprayregen et al. 1974; Trompeter, Brazda et al. 2002). Es bleibt zu untersuchen, ob durch Vasopressingabe Verbesserungen erzielt werden können.

### 2.3.1 Vasopressin

Arginin- Vasopressin (AVP, auch antidiuretisches Hormon ADH) ist ein Stresshormon mit potenter vasokonstriktiver als auch antidiuretischer Eigenschaft. Es wird hauptsächlich in supraoptischen und paraventriculären Kernen des Hypothalamus synthetisiert und zur hinteren Hypophyse transportiert, wo es vor der Sekretion in den Kreislauf gespeichert wird (Simon and Kasson 1995). Stimuliert wird die Freisetzung durch Hyperosmolarität und Hypotension oder Hypovolämie, sowie Azidose, Schmerz, Hypoxie, Hyperkapnie und Erbrechen. (den Ouden and Meinders 2005) Weiterhin konnte die Synthese sowohl in vaskulären glatten Muskelzellen nachgewiesen wer-

den (Simon and Kasson 1995) als auch in der Nebenniere als Antwort auf gesteigerte Katecholaminsekretion (Guillon, Grazzini et al. 1998).

Die Wirkung von Vasopressin wird über Stimulation G-Protein gekoppelter Rezeptoren vermittelt: Arginin-Vasopressin-Rezeptor 1A (AVPR1A) vaskulär, AVPR1B zentral (Hypophyse) und AVPR2 renal (Treschan and Peters 2006). Trotz dieser bevorzugten Lokalisation wurden alle drei Vasopressinrezeptoren AVPR1A/B und AVPR2 im menschlichen Gastrointestinaltrakt nachgewiesen (Monstein, Truedsson et al. 2008). AVPR1A auf vaskulären glatten Muskelzellen bewirkt eine Vasokonstriktion durch intrazellulären Calciumanstieg via Phosphatidy-Inositol-Bisphosphonat-Kaskade (Barberis, Mouillac et al. 1998) und führt dadurch zur Steigerung des totalen peripheren Widerstandes. In Gefäßen der Haut, Muskel und am stärksten ausgeprägt im Magen-Darm-Trakt (Ericsson 1971; Granger, Richardson et al. 1980; Reilly and Bulkley 1993) kommt es dadurch zur Blutumverteilung zu lebenswichtigen Organen. AVPR2 vermittelt über Adenylatcyclase/cAMP die Wasserreabsorption durch Erhöhung der Permeabilität in den Sammelrohren der Niere. Endothelial wird diesem Rezeptor eine vasodilatative Funktion zugeschrieben, die vermutlich über cAMP und NO gesteuert wird (Phillips, Abrahams et al. 1990). Die genaue zelluläre Expression dieser Rezeptoren und ihre physiologische Bedeutung im GIT muss noch geklärt werden (Monstein, Truedsson et al. 2008).

### 2.3.2 Physiologische und therapeutische Aspekte

Physiologisch liegt der Vasopressinspiegel im Plasma bei  $< 4$  pg/ml (Czaczkas, Kleeman et al. 1964). Ab dem Schwellenwert von etwa 16 pg/ml ist außer dem anti-diuretischen Effekt auch eine Wirkung in der Kreislaufregulierung zu beobachten (Montani, Liard et al. 1980). Daher ist Vasopressin für die Kreislaufstabilisierung vor allem dann von Bedeutung, wenn der Blutdruck wie z.B. bei Hypovolämie durch Schock jeglicher Genese in kritische Bereiche abgefallen ist und dadurch erhöhte Vasopressinmengen ausgeschüttet werden.

Es wurde nachgewiesen, dass Plasmaspiegel von Vasopressin bei vasodilatativem Schock nach Kardiotomie (Argenziano, Choudhri et al. 1997; Argenziano, Chen et al. 1998) sowie bei septischem Schock (Landry, Levin et al. 1997) im Gegensatz zu hypovolämischem oder kardiogenem Schock stark vermindert sind. Dieser Vasopressinmangel scheint daher zum vasodilatativem Schock nach herzchirurgischen Eingriffen und Sepsis beizutragen (Landry, Levin et al. 1997). Der nach initial gestiegenen AVP Konzentrationen beobachtete relative Vasopressinmangel scheint sowohl durch die Leerung hypophythalmischer AVP-Speicher, als auch durch Zytokin-vermittelte Rezeptor Downregulation während Endotoxämie verursacht zu sein (Bucher, Hobbhahn et al. 2002). Ein weiterer möglicher Faktoren ist die inhibitorische Wirkung gesteigerter Norepinephrin- oder Stickstoffmonooxidspiegel auf die Vasopressinfreisetzung (Holmes, Patel et al. 2001).

In den vergangenen Jahren wurden mehrere Studien und Fallberichte über Vasopressineffekte sowohl unter kardiopulmonaler Reanimation, als auch bei septischem und vasodilatatorischem Schock publiziert (Treschan and Peters 2006). Experimentell hat die Vasopressingabe unter Reanimationsbedingungen einen günstigeren Effekt als Epinephrin auf den zerebralen und myokardialen Blutfluss gezeigt (Morris, Dereczyk et al. 1997), resultierend in einer anhaltenderen Steigerung des MAP (Wenzel, Lindner et al. 1999). Klinisch ist die Verwendung von AVP mit einer höheren Kurzzeit-Überlebensrate bei Patienten mit Kammerflimmern außerhalb des Krankenhauses assoziiert worden (Lindner, Dirks et al. 1997).

Vasopressin-Analoga haben das Potenzial, hyperdynamie aber hypotensive Zirkulationszustände „umzukehren“, da sie den mittleren arteriellen Druck und den Gefäßwiderstand erhöhen, die Herzfrequenz, den Herzindex und das systemischen Sauerstoffangebot jedoch absenken können (Landry, Levin et al. 1997; Ertmer, Sielenkamper et al. 2005). Sie unterscheiden sich von anderen adrenergen Vasopressoren, die über  $\alpha$ -Rezeptoren wirken, durch den Angriffspunkt der Rezeptorbindung. Über die Aktivierung von AVPR1A in der glatten Gefäßmuskulatur kommt es zu einer Erhöhung des peripheren Widerstandes (SVR). Daraufhin steigt der arterielle Druck bei unverändertem rechtsatrialem Druck an. Durch den folgenden Anstieg des koronaren Perfusionsdrucks wird eine Verbesserung des myokardialen

und zerebralen Blutflusses erzielt. Zudem werden vasodilatorische Effekte geringer Vasopressinkonzentrationen in bestimmten Gefäßen, darunter koronare, pulmonale und zerebrale Arterien, über AVPR1A vermittelte Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) beschrieben (Abboud, Floras et al. 1990; Wenzel, Lindner et al. 1998).

Über die Steigerung der vaskulären Sensitivität auf Norepinephrin und der Umkehr adrenerger Rezeptordownregulierung wird der eigene blutdrucksteigernde Effekt von AVP erweitert (Overgaard and Dzavik 2008). Weiterhin besteht eine verstärkte Sensitivität gegenüber Vasopressin bei septischem Schock (Landry, Levin et al. 1997), welche in Verbindung mit Kalium-sensitiven Adenosintriphosphat-Kanälen (K-ATP) gesehen wird (Argenziano, Chen et al. 1998). Konzentrationsabhängig blockiert Vasopressin K-ATP Kanäle. Zudem hemmt es die induzierbare NO (Stickstoffmonoxid)-Synthase und damit den NO-vermittelten Anstieg des zyklischen Guanosinmonophosphats (cGMP). Über diese Funktionen antagonisiert AVP die Relaxation der glatten Muskulatur (Wakatsuki, Nakaya et al. 1992; Umino, Kusano et al. 1999). Sie werden als Hauptmechanismen der unter AVP-Therapie beobachteten Wiederherstellung der Katecholaminwirkung diskutiert (Landry and Oliver 1992). Daher ist Vasopressin als zusätzliche oder alternative Therapie bei Katecholamin-abhängigem vasodilatorischem Schock vorgeschlagen worden (Dunser, Mayr et al. 2001; Holmes, Patel et al. 2001; Patel, Chittock et al. 2002).

Ein Anstieg des AVP Levels bewirkt eine Steigerung des SVR und eine Blutumverteilung insbesondere zu Herz, Gehirn und Nieren (Voelckel, Convertino et al. 2010). Urinproduktion und Kreatininclearance verbessern sich signifikant (Patel, Chittock et al. 2002), wahrscheinlich durch Steigerung des Blutdrucks und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) durch die Konstriktion der efferenten Arteriolen. Im Gegensatz dazu bewirkt Adrenalin eine Konstriktion der afferenten Arteriolen und in Folge dessen einen Abfall der GFR (Landry, Levin et al. 1997).

### 2.3.3 Auswirkung auf das viszerale Gefäßsystem

Durch die Verwendung hochdosierter Vasokonstriktoren besteht jedoch wegen der Kreislaufzentralisierung die Gefahr von verstärkter Ischämie im Splanchnikusgebiet. Dies könnte die mukosale Integrität schädigen und zu Multi-Organ-Versagen führen (Krejci, Hildebrand et al. 2006). Ein Vergleich zahlreicher Studien zeigt uneinheitliche Ergebnisse hinsichtlich der Auswirkung von Vasopressin auf die mesenteriale Mikrozirkulation. In einem Vergleich zahlreicher Studien zum Einsatz von Vasopressin und Terlipressin bei Sepsis von Ertmer et al. 2005 (Ertmer, Sielenkamper et al. 2005) werden sowohl bei AVP als auch Terlipressin komplexe Effekte auf die Splanchnikusperfusion dargestellt. Beide haben das Potenzial, die Organdurchblutung und -oxygenierung in Abhängigkeit vom HZV zu reduzieren. Durch selektive Vasokonstriktion der mesenterialen Strombahn könnte der regionale Blutfluss zum Dünndarm zusätzlich beeinträchtigt werden. Es wird daher geschlossen, dass zur Aufrechterhaltung des Herz-Zeit-Volumens und zur Vermeidung einer exzessiven Vasokonstriktion unter Terlipressin eine aggressive Volumengabe notwendig ist und die Dosis niedrig angesetzt werden sollte (z.B. 6 µg/kg). Diese Aussage deckt sich mit dem Studienvergleich zu Vasopressin bei Sepsis von Asfar et al. (Asfar, Radermacher et al. 2006). Bemerkenswert ist jedoch, dass die meisten dieser Studien von einer Verbesserung der Organfunktion und/oder der Energiebilanz des Gewebes unter niedrig dosierter AVP Infusion berichten, verglichen mit der klinischen Standardtherapie durch Norepinephrin (Bracht, Asfar et al. 2007).

In einer Studie zur Anwendung von Vasopressin an endotoxischen Tieren wurden Sauerstoffpartialdruck und -versorgung im Jejunum bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass AVP nicht zu einer zusätzlichen Beeinträchtigung beider Parameter in der Akutphase der Endotoxämie in Relation zur Kontrollgruppe führt (Knotzer, Maier et al. 2006). Eine andere Studie an endotoxischen Tieren kam zum Schluss, dass Vasopressin in therapeutischen Dosen den mesenterialen Blutfluss, als auch die Mikrozirkulation von Darm und Leber aufrecht erhält (Kopel, Losser et al. 2008).

Insgesamt sind die Studien hinsichtlich ihrer Ergebnisse und der bestimmten Parameter uneinheitlich. Es sind daher weitere Untersuchungen zu Vasopressin notwendig. Um klare Aussagen treffen zu können, sollten hierbei möglichst Makro- und Mikrozirkulation, als auch die Energiebilanz des Gewebes und die Organfunktion kombiniert erforscht werden. Der Schwerpunkt der folgenden Untersuchung liegt auf der Auswirkung der Herz-Lungen-Maschine auf die Mikrozirkulation des Mesenterialgebietes mit und ohne zusätzliche Vasopressingabe sowie unter Ischämie. In diesem Kontext wird zudem die Expression der Vasopressinrezeptoren AVPR1A und AVPR2 in Magen, Jejunum und Rektum genauer analysiert.

## 2.4 Fragestellung

1. Wie wirkt sich die direkt induzierte Darmischämie im Vergleich zur Operation unter HLM mit und ohne Vasopressingabe auf die hämodynamischen Parameter wie das Herzzeitvolumen, den systemisch vaskulären Widerstand und den mittleren arteriellen Druck aus?
2. Welche Veränderungen treten im Blutfluss der Arteria mesenterica superior unter den verschiedenen Interventionen auf?
3. Welche Auswirkungen haben die drei Interventionen auf die jejunale perfundierte Gefäßdichte, den jejunalen mukosalen Blutfluss und die jejunale post kapillare Sauerstoffsättigung, sowie die Vasopressin Rezeptor Genexpression?
4. Wie entwickelt sich der Vasopressinspiegel im Verlauf des Experimentes in allen Gruppen?

### 3 Material Methoden

#### 3.1 Studienaufbau

Als Versuchstiere wurden in dieser Studie weibliche und männliche Hausschweine der Deutschen Landrasse (*Sus scrofa* / *Sus domestica*) aus dem Ferkelzuchtbetrieb Helmut Kliver, Rosenhof/Homburg verwendet. Die Genehmigung des Tierversuchvorhabens nach § 8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung vom 10.08.1986 (Bundesgesetzblatt I, Seite 1319) wurde von der Bezirksregierung des Saarlandes eingeholt. Die eingeschlossenen Tiere hatten ein Gewicht von 30-34 kg.

Nach der Verabreichung der intramuskulären Prämedikation wurden die Schweine noch im Zuchtbetrieb auf das Vorliegen einer Erkrankung untersucht. Die Genehmigung zum Einsatz von Piritramid bei Experimentalnarkosen am Schwein durch das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte lag vor. Die Genehmigung für Tätigkeiten am Tier unter Aufsicht wurde ebenfalls von der Bezirksregierung des Saarlandes für den Autor erteilt. Die Studie beinhaltet vier Versuchsgruppen: 1. Kontrollgruppe, 2. Darmischämie, 3. Herzlungen-Maschinen-Gruppe (HLM) und 4. Herzlungen-Maschinen-Gruppe mit Vasopressingabe (HLM/Vasopressin) (siehe Tabelle 1). Die Tiere wurden den Gruppen vor Versuchsbeginn randomisiert zugeteilt.

Tabelle 1 Übersicht der Versuchsgruppen

Gruppennummer	Versuchsgruppe	Anzahl
1	Kontrollgruppe	6
2	Darmischämie	6
3	HLM	6
4	HLM/Vasopressin	6

### 3.1.1 Präoperative Phase

Eine 7-tägige Diät der Tiere war notwendig, da intraluminale Laser Dopplersonden in Rektum und Gastrum eingebracht wurden. Die Diät wurde nach folgendem Schema verabreicht:

1. – 4. Tag: 3x1 Portion, Tagesmenge:( 1kg Reis, 400g Trockenpflaumen, 6 Äpfel, 1l Apfelmus, 1l Wasser und 6 EL Laktulose).
5. – 6. Tag: 3x1 Portion (1l Apfelsaft mit 100g Klean-Prep, 1 Tablette Kalinor).
7. Tag: nüchtern, da am Morgen des 8. Tages die Prämedikation erfolgte.

Dies ermöglichte weitestgehendes Ausbleiben von Stuhlverunreinigungen im Kolon und Rektum. Somit waren Interferenzen der Sonden durch Stuhlverunreinigung auf ein Minimum reduziert. Es war gewährleistet, dass die Versuchstiere ständig Zugang zu Wasser hatten. Weiterhin musste die Bucht frei von Stroh sein, welches sonst als Nahrungersatz gedient hätte.

### 3.1.2 Prämedikation

Die Prämedikation der Tiere erfolgte vor Transport vom Zuchtbetrieb zum Tier OP mittels intramuskulärer Injektion in die Nackenmuskulatur. Es wurden 15 mg/kg KG Ketamin (Pharmacia GmbH, Karlsruhe), 15 mg Midazolam (DeltaSelect GmbH, Dreieich), 0,5 mg Atropinsulfat (Fa. B.Braun, Melsungen), sowie 3 mg/kg KG Azaperon (Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss) zur Sedierung appliziert. Daraufhin wurden die Versuchstiere gewogen und für den Transport ins Labor in einer Plastik-Transportwanne seitlich gelagert.

### 3.1.3 Anästhesie und Beatmung

Im Versuchslabor erfolgte die Anlage einer Venenverweilkanüle 20G in eine oberflächliche dorsal gelegene Ohrvene. Hierüber wurde zur Narkoseeinleitung 1,3-6,0mg/kg KG Thiopental und 7,5mg Piritramid intravenös injiziert. Danach erfolgten die endotracheale Intubation (7,0 – 7,5 Trachealtubus) unter direkter Laryngoskopie mit Hilfe eines Miller-Spatels und die maschinelle Beatmung des Tieres. Die korrekte Lage der Tubusspitze wurde durch Auskultation beider Hemithoraces unter Beatmung geprüft, sowie durch das angeschlossene Kapnometer (Capnomag Ultima) bestätigt. Es folgte die pharyngeale Einlage der Temperatursonde.

Eine suffiziente Ventilation wurde mit einem Atemzugvolumen von 10-15ml/kg KG, einer Atemfrequenz von 11-15 Zügen pro Minute und einem Sauerstoff-Raumluft-Gemisch mit einem FiO<sub>2</sub> von 0,25-0,3 erreicht. Über eine im Beatmungsgerät integrierte Druckmesseinheit mit einstellbaren Alarmgrenzen wurde darauf geachtet, dass ein inspiratorischer Spitzendruck von 25cm H<sub>2</sub>O nicht überschritten wurde. Der positive endexpiratorische Druck wurde zwischen 4 und 6cm H<sub>2</sub>O eingestellt. Kontinuierlich wurde der endtidale Kohlendioxidpartialdruck mittels Kapnometer (Capnomag Ultima, Fa. Datex Engstrom Division, Helsinki, Finnland) gemessen, digital wiedergegeben und durch die eingestellten Beatmungsparameter in einem Bereich von 35-40mmHg gehalten. Zusätzlich wurden regelmäßig arterielle Blutgasanalysen mit einem Blutgasanalysesystem durchgeführt.

Zur Aufrechterhaltung der totalen intravenösen Narkose wurde Thiopental 0,4-0,45 mg/kg KG/h, sowie Piritramid 0,25-0,5 mg/kgKG/h als kontinuierliche Infusion mittels Perfusor (Gram2, Fa. Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA) eingesetzt. Auf eine Muskelrelaxierung wurde wegen des Einflusses auf die Mikrozirkulation verzichtet. Über einen weiteren intravenösen Verweilkatheter in gleicher Lokalisation am anderen Ohr wurde eine Vollelektrolyt-Lösung (Sterofundin®, Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen) mit einmalig zusätzlichen 30 mmol Kaliumionen und 20 mmol Kalziumionen über einen Infusomat (Lifecare® Pumpe Modell 4 Abbott/Shaw, Fa. Abbott Laboratories North Chicago, USA) mit 10 ml/kg KG/h und bei Bedarf

---

Hydroxyethylstärke 6% 1500-2000 ml (Gelafundin ®, Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen) substituiert.

Die Tiere wurden in Vorbereitung auf die chirurgische Intervention rasiert und mit körperwarmem Wasser abgewaschen. Danach wurden sie in Rückenlage auf dem Operationstisch fixiert, unter dem sich eine Heizmatte befand. Zeitgleich wurden Klebeelektroden an den beiden Vorderläufen und am linken Rippenbogen fixiert und kontinuierlich ein EKG abgeleitet. Parallel wurde ein Hebe- und Senkeinlauf mit warmem Wasser durchgeführt, um den Messort der Rektumsonde möglichst komplett von Stuhlresten zu befreien. Hierbei wurde versucht, das eingelaufene Wasser annähernd wieder vollständig aus dem Kolon zu entfernen, um die spätere Operation durch wassergefüllte Darmschlingen nicht zu erschweren.

#### 3.1.4 Interventionen

Die operative Phase setzte sich aus zwei Schritten zusammen. Die im ersten Schritt durchgeführten Eingriffe dienten der Instrumentierung zur Erfassung der Vitalparameter und zur Kathetereinlage, um Blutproben zu gewinnen. Der operative Ablauf des ersten Schrittes war in allen Versuchsgruppen identisch. Die Vorgehensweise des zweiten Schrittes definierte die jeweilige Versuchsgruppe.

Operiert wurde unter semisterilen Bedingungen, wobei steriles Abwaschen vorgenommen, sowie steriles Abdeckmaterial und sterile Instrumente verwendet wurden. Die implantierten Katheter wurden vor Gebrauch mit 70%iger Alkohollösung gespült und abgesprüht, und danach mit steriler NaCl 0,9% durchgespült.

Schritt 1: Durchtrennung der Haut 45 Grad zur Leistenbeuge und Auseinanderspreizen der oberflächlichen Flexorengruppe führt zum Freilegen der Femoralgefäße. Die Arteria femoralis wurde mit zwei Ligaturen Stärke 0 angezügelt und das distale Ende ligiert. Dann erfolgte die Arteriotomie in Querrichtung und das Einführen der zuvor mit 0,9% Kochsalzlösung gespülten femoralen arteriellen Kanüle. Durch Verknoten der zweiten Ligatur um Arterie und Kanüle wurde der Zugang abgedichtet. Selbiges

erfolgte auch auf der kontralateralen Seite. Die Katheterisierung der Vena femoralis mit einer 8 French Schleuse (Terumo Radiofocus Introducer II 8F Länge 100mm, Fa. Terumo Corporation, Tokyo, Japan) erfolgte in Seldinger-Technik. Dichtigkeit wurde auch hier mittels Ligaturen hergestellt. Die Katheter wurden durch eine kutane Haltenaht gesichert.

Über die venöse Schleuse wurde im Anschluss ein Swan-Ganz-Katheter (CCOmbo, Fa. Edwards Lifescience Germany GmbH, Unterschleissheim, Deutschland) bis in die Pulmonalarterie eingeschwenkt.

Über eine Druckleitung erfolgte der Anschluss an einen Druckabnehmer (Fa. Medex, Klein-Winternheim), nach dem Nullabgleich die kontinuierliche Darstellung über einen Monitor (Sirecust 1261, Fa. Siemens, München). Folgende Blutdrucke konnten mit diesen beiden Kathetern invasiv gemessen werden:

- Arterieller Blutdruck (AP)
- Zentralvenöser Blutdruck (ZVD)
- Pulmonalarterieller Blutdruck (PAP)
- Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (Wedge-Pressure)

Des Weiteren konnten durch Blutentnahme aus den gelegten Kathetern weitere Parameter bestimmt werden, insbesondere:

- Arterielle Blutgase

Mit Hilfe des Swan-Ganz-Katheter und einer Monitoreinheit (Vigilance Monitor Model VGS2, Fa. Baxter, Unterschleißheim) konnten folgende Werte gemessen werden:

- Gemischtvenöse Sättigung
- Herzminutenvolumen (HZV) als kontinuierlich gemessener Parameter

### Laparotomie:

Im nächsten Schritt wurde die Bauchhöhle über eine mediane Laparotomie eröffnet. Das Peritoneum wurde längs inzidiert. Nach Darstellung der Blase wurde eine Tabaksbeutelnaht angebracht. Die Blase wurde innerhalb der Naht inzidiert, das Loch mittels Schere aufgespreizt und so der Blasenkatheter (14 Ch) mit angeschlossenen System zur Urinvolumenmessung eingebracht und der Ballon an der Katheterspitze mit NaCl geblockt. Der Blasenkatheter selbst wurde durch eine Stichinzision der Haut lateral des Laparotomieschnittes getunnelt.

Um die A. mesenterica superior zu präparieren wurden zwei Wundsperrer eingesetzt. Feuchte Bauchtücher hielten die Darmschlingen vorsichtig beiseite. Der Einstieg in das Retroperitoneum erfolgte medial der linken Niere cranial der Nierengefäße. Sobald der retroperitoneale Raum im beschriebenen Gebiet freigelegt war, erfolgte die Palpation der Aorta abdominalis samt Abgang der Arteria mesenterica superior. In der Mehrzahl der Fälle lag direkt ventral über dem Abgang des Gefäßes aus der Aorta ein paraaortaler Lymphknoten. Dieser musste mittig doppelt ligiert und mittels Diathermie gespalten werden. Anschließend erfolgte die Darstellung des Arterienabgangs und die Trennung und Mobilisation von umliegenden Bindegewebsschichten und Nervenplexus.

Es folgte das Anschlingen des Gefäßes durch eine Ligatur (Vicryl 0), an deren Ende eine Rochester Pean Klemme gesetzt wurde. Hierbei war es wichtig, die Ligatur direkt am Abgang aus der Aorta zu legen, um mögliche vorherige Seitenäste auszuschließen, die eine spätere komplette Ischämie verhindert hätten. Direkt distal der Ligatur wurde der 4 mm Dopplerflussmesskopf (Medistim 3mm Fa. Medistim ASA, Oslo Norway) gesetzt. Es wurde eine Jejunumschlinge aus dem mittleren Jejunalabschnitt ausgewählt. Der Abschnitt wurde durch Ablängen vom Duodenum beginnend bis zum Übergang am Ileum abgeschätzt. Anschließend erfolgte eine 5 sekundige Okklusion durch die Ligatur, die den totalen Verschluss der Arteria mesenterica. sup. und die korrekte Lage der Laserdopplersonde zeigte. Hierzu wurde die Sonde mit der Hand durch leichten Druck auf die Schlinge gehalten. Zeigte der Ultraschallflussmesskopf keinen Fluss an und sah man in den Laserdopplerwer-

ten deutlich erniedrigte Sättigungs- und Flusswerte, so wurde dies als erfolgreiches Okklusionsmanöver gewertet. Die Sonde wurde nun mit sechs Stichen locker auf die Schlinge genäht. Zuvor war diese kutan durch eine Stichinzision paramedian rechts auf Höhe der vorletzten Mamille getunnelt worden. Anschließend wurde die Vena mesenterica sup. dargestellt, die intraperitoneal medial der V. cava. verläuft. Es erfolgte die Anlage einer Tabaksbeutelnaht ca. 2 cm cranial der Mündung der Vena mesenterica inferior in die Vena porta. Innerhalb des Tabakbeutels wurde durch eine Stichinzision der Katheter kaudal ca. 10 cm vorgeschoben und die Naht angezogen. War der Katheter im richtigen Gefäß palpierbar und aspirabel, wurde die Naht geknotet. Zuvor war dieser auf Höhe der zweiten bis dritten Mamille paramedian getunnelt worden. Hier erfolgte auch die Fixierung des Katheterendes durch direkte Annaht.

Da die Sonden im Rektum und Magen intraluminal, die Referenzsonde am Jejunum jedoch extraluminal gemessen haben, musste überprüft werden, ob alle Sonden mit möglichst ähnlicher Sensitivität und Spezifität Änderungen der Perfusion detektierten. Hierzu wurden 6 Tiere laparotomiert. Den Tieren wurde durch oben beschriebenes Auslängen die Jejunumsonde extraluminal am gleichen Ort aufgenäht wie den Interventionstieren. Zusätzlich erhielten diese Schweine ca. 10cm distal dieser Sonde noch eine intraluminale Sonde. Das Jejunum wurde gegenüber dem Meso längs 2cm inzidiert. Die Sonde wurde platziert und der Schnitt konnte mit einer doppelläufigen Naht (4-0 PDS) verschlossen werden. Es folgte nun die Interventionsphase mit Ausgangsbedingungen, Ischämie und Reperfusion (siehe Schema). Die Dauer der Zeitpunkte betrug jeweils 5 min. Gemessen wurde 2 Minuten nach Beginn des Zeitpunktes. Die Messdauer betrug jeweils 3 Minuten.

#### Thorakotomie:

Die Thoraxeröffnung erfolgte durch mediane Sternotomie. Hierzu wurde ein Schnitt vom Angulus sterni bis ca. 2cm kaudal des Xiphoids geführt. Blutstillung und weitere Präparation bis zum knöchernen Sternum wurde mittels Elektrokoagulation (Erbotom F2, Fa. Erbe Elektromedizin, Tübingen) erzielt. Der untere Sternumpol wurde stumpf digital unterminiert und vom Perikard abgehoben. Das Sternum wurde durch eine

Sternum- und Listerschere eröffnet. Es folgte das Einbringen eines Thoraxsperrers (Modell Mercedes, Fa. Aesculab, Tuttlingen). Blutstillung am Sternum wurde durch Elektrokoagulation und durch die Verwendung von Knochenwachs (Fa. Ethicon, Belgien) erreicht. Der Thymus wurde mobilisiert und schließlich extirpiert. Es folgte die T-förmige Perikardiotomie und die Lagerung des Herzens in einer Perikardwiege durch Herzbeutelhochnaht und anschließend die Anlage eines linksatrialen Katheters über eine Tabaksbeutelnaht in den Vorhof. Der Katheter wurde mit 0,9% NaCl luftfrei durchgespült und auf seine Dichtigkeit hin überprüft. Anschließend erfolgte die Einlage einer Tabaksbeutelnaht (4-0 Prolene SH 1) im linken Herzohr. Nach Stichinzision mit dem Skalpell (Klinge Nr. 11) erfolgten das Einbringen des Katheters und das Verknoten der Naht zur Abdichtung. Nach Anschluss an einen Druckdom sowie Nullabgleich konnte nun der linksatriale Blutdruck (LAP) kontinuierlich gemessen werden. Über diesen Katheter erfolgte später die Applikation der Mikrosphären.

#### Stabilisierungsphase:

Nach Abschluss der Präparation folgte eine Pause um eine Stabilisierung der Ausgangsbedingungen zu erreichen. Hierzu wurden eine stabile Hämodynamik, ausgeglichene Säure-Basen-Verhältnisse, physiologische arterielle Blutgase, sowie Laktatkonzentrationen im arteriellen Blut von unter 2 mmol/l erzielt. Jetzt erfolgte randomisiert die Einteilung in die Interventionsgruppen. Alle Versuchsgruppen unterlagen dem gleichen Zeitschema (siehe Tabelle 2 und Tabelle 3), welches eine zeitgleiche Probengewinnung und die Vergleichbarkeit der Daten zwischen den Gruppen sicherte. Wie oben beschrieben wurden Hämodynamik- und Beatmungsparameter (HD/BT) überwacht und von Hand protokolliert (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2 Hämodynamik und Beatmungsparameter

Hämodynamik(HD)	Beatmung (BT)
Herzfrequenz (HF) Arterieller Blutdruck: -systolisch (AP sys) -mittel (AP mit) -diastolisch (AP dia) Pulmonalarterieller Blutdruck: -systolisch (PAP sys) -mittel (PAP mit) -diastolisch (PAP dia) linksatrialer Blutdruck (LAP) Herzminutenvolumen (HZV) Zentralvenöser Blutdruck (ZVD) Gemischtvenöse Sättigung (SvO <sub>2</sub> ) Bluttemperatur (Temp. ven.) pharyngeale Temperatur (Temp. pha.)	Atemfrequenz (AF) Atemminutenvolumen (AMV) endexpiratorische Kohlendioxidkonzentration (ETCO <sub>2</sub> ) inspiratorische Sauerstoffkonzentration (FiO <sub>2</sub> ) positiver Endexpiratorische Druck (PEEP) Beatmungsspitzendruck

Des Weiteren erfolgten zu bestimmten Zeitpunkten (siehe Tabelle 3):

- -systemische Blutentnahme (BE)
- -arterielle/venöse Blutgasanalyse (BGA)
- -Dokumentation des Urinvolumens und Urinprobenentnahme (Udoc)

Tabelle 3 Zeitpunkte und Probengewinnung

Zeitpunkt (t)	Probengewinnung und Dokumentation				
Start Ausgangsbedingungen	HD/BT	BGA	BL	BE	
Ende Ausgangsbedingungen	HD/BT	BGA	BL	BE	Udoc
Ischämie 2 min	HD/BT				
I 5min	HD/BT	BGA	BL	BE	
I 10 min	HD/BT				
I 20 min	HD/BT				
I 30 min	HD/BT	BGA	BL	BE	
I 40 min	HD/BT				
I 50 min	HD/BT				
I 60 min	HD/BT	BGA	BL	BE	Udoc
Reperfusion 2 min	HD/BT	BGA	BL	BE	
R 5 min	HD/BT				
R 10 min	HD/BT	BGA	BL	BE	
R 20 min	HD/BT				
R 30 min	HD/BT	BGA	BL	BE	Udoc
R 35 min	HD/BT				
R 40 min	HD/BT				
R 50 min	HD/BT				
R 60 min	HD/BT	BGA	BL	BE	Udoc
R 65 min	HD/BT				
R 70 min	HD/BT				
R 80 min	HD/BT				
R 90 min	HD/BT	BGA	BL	BE	Udoc

### 3.2 Interventionsphase

Die vier Versuchsgruppen unterschieden sich im operativen Vorgehen in dieser Phase.

#### Kontrollgruppe-Gruppe:

Die Kontrollgruppe diente als Vergleichsgruppe zu den anderen Versuchsgruppen. Es wurde keine weitere chirurgische Intervention vorgenommen (keine Ischämie durch Zuziehen der Ligatur um die Arteria mesenterica superior und kein Fahren einer HLM). Das oben geschilderte Messschema wurde aber auch hier strikt beibehalten. Auch wurden keine weiteren Medikamente verabreicht.

#### Darmischämie-Gruppe:

Die Tiere dieser Gruppe erhielten eine einstündige Mesenterialischämie. Diese erfolgte durch eine 1 stündige Okklusion der AMS unmittelbar am Abgang von der Aorta.

#### Herz-Lungen-Maschinen-Gruppe (HLM):

Die Tiere dieser Gruppe wurden eine Stunde mit einer HLM gefahren. Die HLM (Fa. Stöckert Instrumente GmbH, München) wies zwei separat steuerbare Rollerpumpen auf. Das Pumpenset setzte sich aus den folgenden Einheiten zusammen: einem Schlauchset (Fa. Edwards, Irvine USA) mit Kardiotomie Saugerlinie ¼ Zoll, arterieller Linie 3/8 Zoll, venöser Linie ½ Zoll, einem Oxygenator (Quadrox Heparin coated, Fa. Jostra, Hirlingen), einer arteriellen Kanüle 21F (Fa. Jostra Hirlingen), einer drahtverstärkten venösen Zwei-Stufen-Kanüle 34/39F (Fa. Jostra, Hirlingen), einem Kardiotomie-Reservoir (HSR-4000, Fa. Bentley) und einem arteriellen Filter Porendichte 4027µm (Fa. Dideco, Mirandola, Italy). Das Priming der HLM bestand aus 500ml Hydroxyethylstärke 6% (Gelafundin®, Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen) und 500ml Vollelektrolyt-Lösung (Sterofundin®, Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Es wurden die Kanülierungsnähte mit 4-0 Prolene (Fa. Ethicon, Nordestedt) in die Aorta ascendens und das rechte Herzohr eingebracht. Es wurde erst arteriell, danach venös kanüliert. Während der Intervention mit der HLM wurde ein

konstanter Fluss gefahren, der identisch mit dem Herz-Zeit-Volumen vor der Intervention war. Nach Abschluss der Perfusion mittels HLM (sechzig Minuten) wurde der Pumpenfluss reduziert. Darauf venös und nach Rückführung des Restvolumens aus der HLM schließlich auch arteriell dekanüliert. Das verbliebene Restvolumen aus dem venösen Reservoir und Schläuchen wurde langsam frei reinfundiert.

Herz-Lungen-Maschinen-Gruppe mit Vasopressingabe:

Die Tiere dieser Gruppe wurden identisch behandelt wie die Tiere in der HLM-Gruppe. Einzige Ausnahme war die Vasopressingabe während der Herz-Lungen-Maschinen. Die Dosis von Vasopressin richtete sich nach dem MAP, der konstant zum MAP während unter Ausgangsbedingungen gehalten wurde. Appliziert wurde das Vasopressin kontinuierlich über die Vena femoralis.

### 3.3 Intravitalmikroskopie

Nach Kalibrierung der Optik wurde eine "MicroScan" Linse auf die Optik (Intravitalmikroskop Imagin Unit (10x) mit LED Fa. Micro Vision Medical, Amsterdam) gesetzt. Anschließend erfolgte am laparotomierten Bauch das Aufsuchen einer Jejunumschlinge cirka 30cm distal der Jejunumsonde, welche mittels 3-0 Vicrylnaht markiert wurde, um stets am gleichen Ort zu mikroskopieren. Dies garantierte eine bessere Vergleichbarkeit der Mikrozirkulationsdaten. Die Schlinge wurde vorsichtig auf ein mit NaCl befeuchtetes Bauchtuch platziert. Um aussagekräftige Werte zu bekommen, durfte die Optik möglichst keinen Druck auf die Schlinge ausüben, was zu falschen Flusswerten geführt hätte. Nach Schärfenoptimierung des Bildes wurde je Zeitpunkt eine Sequenz von ca. 60 Sekunden aufgenommen und als separates Kapitel auf eine DVD gebrannt.

Die Beurteilung der mittels der intravitalen Fluoreszenzmikroskopie aufgenommenen Filmsequenzen wurde zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt. Nach Beendigung der Mikroskopie erfolgte die Auswertung der mikrozirkulatorischen Parameter mit dem computerassistierten Bildverarbeitungssystem CapImage (Version 8,5; Dr. Zeintel Ingenieurbüro, Heidelberg, Deutschland) durch Wiedergabe der jeweiligen DVD mittels eines DVD Video Recorders (LQ-MD 800; Panasonic, Osaka, Japan). Bei der Auswertung der funktionellen Kapillardichte mittels CapImage wurden nur ausgewählte Gefäße erfasst. Diese mussten zum Aufnahmezeitpunkt Erythrozyten enthalten, die sich antegrad fortbewegten. Die funktionelle Kapillardichte wurde anhand der Gesamtlänge der markierten Gefäße pro Fläche des Beobachtungsfeldes in  $\text{cm}/\text{cm}^2$  berechnet.

### 3.4 Klinische Chemie

Die Parameter IFABP und Vasopressin wurden mittels Human I-FABP ELISA Test Kit ist von der Firma Hycult biotechnology und dem Vasopressinkit der Firma Assay Desings, Inc [arg-Vasopressin Enzyme Immunoassay (Kit Cat.No.: 900-017)] über ELISA bestimmt.

### 3.5 RNA-Isolierung

Beim Arbeiten mit RNA wurde auf die Benutzung von RNase-freien Lösungen und Reaktionsgefäßen geachtet. Während der RNA-Isolierung und –Präparation wurden zum Schutz vor Kontamination durch auf der Haut befindlichen RNasen Handschuhe getragen. Um weitere Kontaminationen möglichst gering zu halten wurden die Handschuhe regelmäßig gewechselt. Die RNA-enhaltenden Reaktionsgefäße wurden wann immer möglich geschlossen gehalten

#### 3.5.1 Isolierung aus Magen und Jejunum

Zur RNA-Isolierung der Magen- und Jejunumproben wurde das RNeasy Mini Kit der Firma Qiagen (#74104) verwendet. Um die Kontamination durch DNA möglichst gering zu halten, wurde während der RNA-Isolierung ein DNase-Verdau auf der Säulenmembran mit dem RNase-Free DNase Set (#79254) der Firma Qiagen durchgeführt. Die hier enthaltene DNase I wurde in den anschließenden Waschschrinen wie andere Kontaminationen ausgewaschen. Die Isolierung der Gesamt-RNA wurde gemäß Herstellerangaben durchgeführt.

Von den gefrorenen Probegewebe wurde in einer Petrischale mit einem Skalpell ein Stück abgeschnitten und abgewogen (Präzisionswaage BP 310 S, Sartorius AG), sodass ca. 60 mg Gewebe vorlagen. Das Gewebe wurde in ein steriles Röhrchen überführt und mit 1200 µl RLT-Lysepuffer, versetzt mit β-Mercaptoethanol (10 µl β-ME zu je 1 ml RLT-Puffer), gemischt. Dieses Gemisch wurde anschließend homogenisiert (Ultra Turrax T8, IKA) und auf zwei Reaktionsgefäße (1,7 ml) verteilt. Beide Gefäße mit jeweils ca. 600 µl Homogenisat wurden im weiteren Verlauf gleich behandelt. Das Homogenisat wurde für 3 Minuten bei Raumtemperatur auf gmax zentrifugiert (Eppendorf Centrifuge 5415 R, Eppendorf AG) und der klare Überstand (Lysat) in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Zum Lysat wurde die gleiche Menge (ca. 600 µl) 70%iger Ethanol zugegeben, unter Pipettieren gemischt (Präzipitat kann entstehen) und zügig maximal 700 µl auf die „RNeasy spin column“ (Säule mit Silikamembran) gegeben. Nach 15 Sekunden Zentrifugation bei 8000 x g wurde der Durchfluss verworfen und die Schritte wiederholt, bis das gesamte Lysat über die Säulenmembran gelaufen war. Die Säulen wurden auf eine neue „Collection Tube“

(2ml) gesetzt, 350 µl RW1-Puffer auf die Membran pipettiert und für 15 Sekunden bei 8000 x g zentrifugiert.

Anschließend wurde die DNA auf der Säulenmembran mit DNase I verdaut (RNase-Free DNase Set # 79254, QIAGEN). Dazu wurden 10 µl DNase I-Lösung mit 70 µl RDD-Puffer gemischt, direkt auf die Membran pipettiert und für 15-20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Säulen wieder mit 350 µl RW1-Puffer gewaschen (Zentrifugation 15 sec bei 8000 x g) und auf eine neue Collection Tube gesetzt. Es folgten zwei Waschschriffe mit je 500 µl RPE-Puffer (1 Teil RPE-Puffer-Konzentrat versetzt mit 4 Teilen 96% Ethanol). Im ersten Waschschriff wurde 15 Sekunden bei 8000 x g zentrifugiert (Durchfluss verworfen), im zweiten Waschschriff 2 Minuten bei 8000 x g. Anschließend wurden die Säulen auf eine neue Collection Tube gesetzt und zum Trocknen 1 Minute bei g<sub>max</sub> zentrifugiert. Um die RNA zu eluieren wurden die Säulen auf neue beschriftete Reaktionsgefäße (1,7 ml) überführt, 35 µl RNase freies Wasser auf die Membranen pipettiert und für 1 Minute bei g<sub>max</sub> zentrifugiert. 4 µl der gewonnenen RNA wurden für die photometrische Konzentrationsbestimmung benutzt. Die restlichen ca. 30 µl wurden in zwei Fraktionen zu je 15 µl aufgeteilt und bis zur weiteren Verwendung zur cDNA-Synthese bei -20°C aufbewahrt.

### 3.5.2 Isolierung aus Rektum und Oberschenkel

Hierfür wurde das RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (#74704) der Firma Qiagen verwendet, da die Gewebe Rektum und Oberschenkel eine Fülle von kontraktiven Proteinen, Bindegewebe und Kollagen enthalten und daher speziell behandelt werden müssen. Dabei ist das Prinzip der RNA-Isolierung das gleiche wie bei dem RNeasy Mini Kit und unterscheidet sich nur zu Beginn in wenigen Schritten. Die Isolierung der Gesamt-RNA wurde gemäß Herstellerangaben durchgeführt.

Ca. 60 mg Gewebe wurden von den tiefgefrorenen Proben entnommen, mit 600 µl RLT-Puffer gemischt und homogenisiert. Das Homogenisat wurde auf zwei Reaktionsgefäße (1,7 ml) aufgeteilt, sodass jedes Gefäß ca. 300 µl enthielt. Die Gefäße wurden jeweils mit 590 µl RNase-freiem Wasser und 10 µl Proteinase K-Lösung versetzt und das Gemisch durch vorsichtiges Pipettieren gut vermischt. Anschließend

wurden die Gefäße in den vorgeheizten Eppendorf Thermomixer comfort (Eppendorf AG) gestellt, in dem sie für 10-15 Minuten bei 55°C inkubiert wurden. Während der Inkubation kann die Proteinase K ihre Wirkung entfalten. Sie spaltet Proteine und andere fibröse Gewebe, sodass später die RNA-Ausbeute größer ausfällt. Nach der Inkubation wurden die Gefäße für 3 Minuten mit 10000 x g bei Raumtemperatur zentrifugiert.

Der klare Überstand (ca. 900 µl) wurde in ein neues Reaktionsgefäß (1,7 ml) überführt und mit dem halben Volumen (ca. 450 µl) 96% Ethanol versetzt (durch Pipettieren gut mischen). Ab hier stimmt das Protokoll dieses Kits mit dem des RNeasy Mini Kits überein. Das Lysat wurde komplett über die Säulenmembran laufen gelassen und mit 350 µl RW1-Puffer gewaschen. Danach schloss sich der DNase-Verdau an, wie oben beschrieben und es folgten die weiteren Waschschrte mit 350 µl RW1-Puffer und 2 x mit 500 µ RPE-Puffer. Anschließend wurde die Membran getrocknet und die RNA konnte mit 35 µl RNase-freiem Wasser eluiert werden. Wie oben schon beschrieben wurden 4 µl der RNA-Lösung zur photometrischen Konzentrationsbestimmung verwendet und die restlichen 30 µl in 2 Fraktionen zur weiteren Verwendung zur cDNA-Synthese bei -20°C aufbewahrt.

### 3.5.3 Photometrische Konzentrationsbestimmung der RNA

Für die photometrische Konzentrationsbestimmung wurde das Photometer Gene Quantpro RNA/DNA Calculator der Firma Amersham Pharmacia verwendet. Vor der Konzentrationsmessung der Proben wurde das Photometer mit einer Leerwertprobe von 80 µl Tris/HCl pH 7,5 geeicht. Anschließend wurden 4 µl der RNA-Probe mit 76 µl Tris/HCl pH 7,5 versetzt, was einer Verdünnung von 1:20 entspricht. Die verdünnte RNA wurde in eine Einmal-UV-Küvette (UV-Küvetten mikro 70 µl # 759220, FA Brand) überführt und die Konzentration mit dem Photometer gemessen. Bei den Resultaten wurde darauf geachtet, dass die Sollwerte für den Extinktions-Quotienten (1,8-2,1) eingehalten wurden und dass die RNA-Konzentration größer 100 ng/µl war, damit in den folgenden Experimenten genügend RNA zur Verfügung stand.

### 3.6 cDNA-Synthese der Gewebeproben

Für die cDNA-Synthese wurde das TaqMan® Reverse Transcription Reagents Kit (# N808-0234) der Firma Applied Biosystems verwendet. Da die Gesamt-RNA umgeschrieben werden sollte, wurden als Primer die Random Hexamere verwendet. Pro RNA-Probe wurde ein 15 µl Ansatz verwendet, der insgesamt 800 ng reine RNA enthält. Die folgende Tabelle 4 Pipettierschema MasterMix zeigt das Pipettierschema für den Mastermix, der für einen 1-fachen Ansatz (15 µl) benötigt wurde. Dieser Mastermix wurde nach Herstellerangaben angefertigt:

Tabelle 4 Pipettierschema MasterMix

Reagenz	15µl-Ansatz
10X TaqMan RT Buffer	1,5 µl
25 mM MgCl <sub>2</sub>	3,3 µl
dNTPs Mixture	3,0 µl
Random Hexamers	0,75 µl

↓  
vortexen  
↓

RNase Inhibitor (20 U/µl)	0,3 µl
MultiScribe Reverse Transcripase (U/µl)	0,375 µl

↓  
durch Pipettieren vorsichtig mischen

---

<b>Total</b>	<b>9,225 µl</b>
--------------	-----------------

Die restlichen 5,775 µl verteilen sich auf die RNA-Probeklösung mit 800 ng RNA und RNase-freiem Wasser. Konzentrationsentsprechend muss also das Volumen der RNA-Lösung mit 800 ng berechnet werden, aus dem dann das Volumen des RNase-freien Wassers berechnet werden kann (5,775 µl – Volumen RNA-Lösung). Die 9,225 µl Mastermix und die 5,775 µl verdünnte RNA wurden in ein PCR-Tube (0,2 ml # 712028 Biozym Scientific GmbH) überführt und durch Auf- und Abpipettieren vor-

sichtig gemischt. Der gesamte 15 µl-Ansatz wurde anschließend für folgendes Programm in den Thermocycler (GeneAmp® PCR-System 9700, Applied Biosystems) gestellt:

Tabelle 5 Thermalschema Thermocycler

<b>Step</b>	<b>Incubation</b>	<b>RT</b>	<b>Reverse Transcriptase Inactivation</b>
	HOLD	HOLD	HOLD
<b>Temperature</b>	25°C	48°C	95°C
<b>Time</b>	10 min	30 min	5 min

Während der 10 Minuten Inkubation erfolgt das Annealing der Primer an die RNA-Matrize. Danach erfolgt für 30 Minuten die cDNA-Synthese durch die Reverse Transkriptase, die bei 48°C ihr Aktivitätsmaximum besitzt. Durch das Erhitzen auf 95°C für 5 Minuten wird schließlich das Enzym denaturiert und somit inaktiviert, damit diese später bei der Real-time PCR keinen störenden Einfluss hat. Zum Schutz der cDNA kühlt der Thermocycler nach dem Programm auf 4°C ab.

Da hier letztendlich bei der Real-time PCR die vier Gewebe (Magen, Jejunum, Rektum, Oberschenkelmuskel) eines Schweines gleichzeitig untersucht werden sollten, wurde auch die Reverse Transkription von allen vier Geweben gleichzeitig durchgeführt. Das bedeutet, es wurde direkt ein 5,5-facher Ansatz des Mastermixes in einem Reaktionsgefäß (1,7 ml) angefertigt und je 9,225 µl davon in 5 PCR-Tubes überführt. Vier PCR-Tubes entsprachen den vier Geweben und es wurde je nach Konzentration der entsprechenden RNA-Lösung die RNA und das RNase-freie Wasser dazu pipettiert. Das fünfte PCR-Tube diente der Negativ-Kontrolle (RTnegKontrolle). Hier wurden nur 5,775 µl RNase-freies Wasser hinzugefügt. Es enthielt also keine RNA und war deshalb später bei der Real-time PCR ein Maß für das saubere Arbeiten, da hier nichts amplifiziert werden konnte

Die PCR-Tubes mit der gewonnenen cDNA wurden schließlich bis zur weiteren Verwendung für die Real-time PCR bei -20°C gelagert.

### 3.7 Real-time PCR

Zur Durchführung der Real-time PCR wurde der TaqMan® Gene Expression Master Mix (# 4369016) der Firma Applied Biosystems verwendet. Primer und Sonden wurden durch die jeweiligen Custom TaqMan® Gene Expression Assay der Firma Applied Biosystem zugefügt.

Tabelle 6 Reagenzienansatz

Reagenzienansatz	Endvolumen 20 µl
Master Mix	10 µl
Assay Mix	1 µl
H <sub>2</sub> O	7 µl
Sample	2 µl

Die PCR wurde in 3-fach Bestimmung mit je einem 20µl Reaktionsvolumen, davon 10µl TaqMan Gene Expression Master Mix (2x), 1 µl Custom TaqMan Gene Expression Assay(20x) und 2µl Sample mit je 25ng/ µl cDNA durchgeführt. Als endogene Kontrolle diente das Haushaltsgen HPRT1 (TaqMan® Gene Expression Assay (# FAM Ss03388274\_m1) von Applied Biosystems), für das ebenfalls Triplets mit 25ng/ µl cDNA angefertigt wurden. Insgesamt wurde für HPRT1 ein 32facher Reagenzienansatz (da hier nur 2fache Negativkontrollen) und für die Vasopressin Rezeptorgene AVPR1A und AVPR2 ein 35facher Reagenzienansatz pipettiert.

Als Gewebe wurden jeweils pro Schwein Magen, Jejunum, Rektum, sowie das Referenzgewebe Oberschenkelmuskel untersucht. Auf einer Platte (MicroAmp® Fast 96-Well Reaction Plate 0,1 ml (# 4346907) der Firma Applied Biosystems) konnten jeweils 2 Schweine bestimmt werden. Die Platte wurde durch Optical Adhesive Covers (# 4360954) unter Zuhilfenahme des MicroAmp®Adhesive Film Applicator (# 433 3183) abgedeckt. Anschließend wurde zentrifugiert, um sämtliche Flüssigkeit am Boden der Platte abzusetzen. In Abbildung 1 ist ein typisches Pipettierschemata für Vasopressin dargestellt:

Abbildung 1 Pipettierschema für Vasopressin

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N HPRT1	Magen U HPRT1	Jejunum U HPRT1	Rectum U HPRT1	Oberschenkel U HPRT1	RTnegKD U HPRT1	Magen 2 U HPRT1	Jejunum 2 U HPRT1	Rectum 2 U HPRT1	Oberschenkel 2 U HPRT1	RTnegKD 2 U HPRT1	Magen U HPRT1
B	N HPRT1	Magen U HPRT1	Jejunum U HPRT1	Rectum U HPRT1	Oberschenkel U HPRT1	RTnegKD U HPRT1	Magen 2 U HPRT1	Jejunum 2 U HPRT1	Rectum 2 U HPRT1	Oberschenkel 2 U HPRT1	RTnegKD 2 U HPRT1	Jejunum U HPRT1
C	N AVPR1A	Magen U AVPR1A	Jejunum U AVPR1A	Rectum U AVPR1A	Oberschenkel U AVPR1A	RTnegKD U AVPR1A	Magen 2 U AVPR1A	Jejunum 2 U AVPR1A	Rectum 2 U AVPR1A	Oberschenkel 2 U AVPR1A	RTnegKD 2 U AVPR1A	Rectum U HPRT1
D	N AVPR1A	Magen U AVPR1A	Jejunum U AVPR1A	Rectum U AVPR1A	Oberschenkel U AVPR1A	RTnegKD U AVPR1A	Magen 2 U AVPR1A	Jejunum 2 U AVPR1A	Rectum 2 U AVPR1A	Oberschenkel 2 U AVPR1A	RTnegKD 2 U AVPR1A	Oberschenkel U HPRT1
E	N AVPR1A	Magen U AVPR1A	Jejunum U AVPR1A	Rectum U AVPR1A	Oberschenkel U AVPR1A	RTnegKD U AVPR1A	Magen 2 U AVPR1A	Jejunum 2 U AVPR1A	Rectum 2 U AVPR1A	Oberschenkel 2 U AVPR1A	RTnegKD 2 U AVPR1A	Magen 2 U HPRT1
F	N AVPR2	Magen U AVPR2	Jejunum U AVPR2	Rectum U AVPR2	Oberschenkel U AVPR2	RTnegKD U AVPR2	Magen 2 U AVPR2	Jejunum 2 U AVPR2	Rectum 2 U AVPR2	Oberschenkel 2 U AVPR2	RTnegKD 2 U AVPR2	Jejunum 2 U HPRT1
G	N AVPR2	Magen U AVPR2	Jejunum U AVPR2	Rectum U AVPR2	Oberschenkel U AVPR2	RTnegKD U AVPR2	Magen 2 U AVPR2	Jejunum 2 U AVPR2	Rectum 2 U AVPR2	Oberschenkel 2 U AVPR2	RTnegKD 2 U AVPR2	Rectum 2 U HPRT1
H	N AVPR2	Magen U AVPR2	Jejunum U AVPR2	Rectum U AVPR2	Oberschenkel U AVPR2	RTnegKD U AVPR2	Magen 2 U AVPR2	Jejunum 2 U AVPR2	Rectum 2 U AVPR2	Oberschenkel 2 U AVPR2	RTnegKD 2 U AVPR2	Oberschenkel 2 U HPRT1

Die PCR erfolgte nach folgendem Thermalschema (siehe Tabelle 7):

Tabelle 7 Thermalschema der PCR

Schritt	Uracil-DNA Glykosylase Inkubation	AmpliAq Gold® DNA Polyme- rase, UP Enzymaktivierung	PCR	
			45 Zyklen	
			Denaturierung	Annealing/Extension
Zeit	2 min	10 min	15 s	1 min
Temperatur	50 °C	95 °C	95 °C	60 °C

### 3.8 Statistische Analyse

Alle Daten werden als Mittelwert ± SEM ('standard error of the mean') angegeben. Die Analyse der verbundenen Stichproben, welche gleich der Zeitpunkte innerhalb einer Gruppe sind, wurde mittels einer One Way Repeated Measures ANOVA untersucht. Zuvor wurden die Daten mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf eine Gauß'sche Verteilung überprüft. Im Falle einer nicht-Gauß'schen Verteilung wurde eine One Way Repeated Measures ANOVA on ranks durchgeführt. Als post-hoc-Test kam ein Dunnett-Test zur Anwendung, der die Messpunkte Ausgangsbedingungen, Ischä-

---

mie/HLM 20min, Reperfusion 2min, Reperfusion 30min, Reperfusion 60min und Reperfusion 90min miteinander verglich. Ein  $p < 0.05$  wurde als signifikant betrachtet. Die unverbundenen Stichproben, welche gleich der Kontrollgruppe und der Gruppen Darmischämie und HLM sind, wurden untereinander mit Compare many groups One Way Analysis of Variance (ANOVA) untersucht. Bei nicht Gausscherverteilung wurde mit Compare many groups ANOVA on ranks untersucht. Als post-hoc-Test kam ein Student-Newman-Keuls-Test zur Anwendung. Sämtliche statistische Analysen wurden mittels eines Statistik-Software-Programmes (Sigmastat, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

Es wurden 4 Gruppen von Schweinen mit jeweils 6 Tieren untersucht:

1. die Kontrollgruppe ohne Intervention
2. die Gruppe der Darmischämie mit Okklusion der A. mesenterica sup.
3. die Gruppe der Herz-Lungen-Maschine (HLM)
4. die Gruppe HLM/Vasopressin mit Vasopressingabe zur Aufrechterhaltung des mittleren arteriellen Druckes (MAP) wie unter Ausgangsbedingungen während des gesamten Experimentes

Sowohl die Ischämie als auch die Anwendung der HLM dauerte insgesamt eine Stunde (siehe 3.2 Interventionsphase). In den Daten lag kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen im Zeitpunkt Ausgangsbedingungen vor.

### 4.1 Hämodynamik (HZV, MAP, SVR)

In der Kontrollgruppe waren die hämodynamischen Parameter im Laufe der Versuchszeit konstant.

Das Herzzeitvolumen zeigte signifikante Anstiege in den Gruppen Darmischämie und HLM gegenüber der Kontrollgruppe und den Ausgangsbedingungen in den späten Reperfusionzeitpunkten (30, 60 und 90min). Der Anstieg in der Gruppe HLM/Vasopressin verlief weniger deutlich (siehe Tabelle 21 im Anhang).

Der mittlere arterielle Druck war unter Ischämie in der Darmischämiegruppe signifikant und maximal erhöht, gefolgt von einem signifikanten Abfall zum Zeitpunkt Reperfusion 2 min und späterem Verlauf über der Gruppe HLM. Während der HLM war hier zu allen Messzeitpunkten ein signifikanter Abfall unter das Niveau der Kontrollgruppe und der Ausgangsbedingungen zu verzeichnen, mit einem vorübergehenden Maximum zum Zeitpunkt Reperfusion 30 min. Der Verlauf der Gruppe HLM/Vasopressin sank ab dem Zeitpunkt Ischämie/ HLM 20 min stetig (siehe Tabelle 22 im Anhang).

Der systemische vaskuläre Widerstand (SVR) war in der Gruppe Darmischämie zum Zeitpunkt Ischämie/HLM 20 min leicht erhöht. Im Gegensatz dazu fiel er nach der Ischämie stark ab und blieb in allen Reperfusionzeitpunkten signifikant gegenüber den Ausgangsbedingungen und der Kontrollgruppe vermindert. Ähnlich verlief die Gruppe HLM/Vasopressin, bei jedoch weniger starkem Abfall zum Zeitpunkt Reperfusion/2 min. Hingegen fiel die Gruppe HLM bis zur Reperfusion/2 min stetig ab und blieb anschließend konstant vermindert (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8 systemischer vaskulärer Widerstand (SVR)

<b>SVR</b> [(dyn x sec) x cm-5]	<b>Ausgangs- bedingung</b>	<b>Ischämie 20min bzw. HLM</b>	<b>Reperfusion 2min</b>	<b>Reperfusion 30min</b>	<b>Reperfusion 60min</b>	<b>Reperfusion 90min</b>
<b>Kontrollgruppe</b>	1849±74	1878±94	1868±91	1856±69	1867±114	1780±51
<b>Ischämie</b>	2063±100	2242±103	1427±97*#	1593±79*#	1469±73*#	1581±97*##+
<b>HLM</b>	2069±120	1662±64*#	1280±60*#	1378±43*#	1175±81*#	1188±61*#
<b>HLM/Vasopressin</b>	1962±28	2112±33+	1832±97+	1467±77*#	1379±63*#	1306±44*#

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

#### 4.2 Laborparameter (Laktat, venöses Kalium, iFABP, Vasopressin)

Die Laktatkonzentration stieg in der Gruppe Darmischämie unter Ischämie maximal an und blieb bis 30 min nach der Reperfusion signifikant gegenüber allen anderen Gruppen erhöht, bei denen keine Veränderungen auftraten (siehe Tabelle 23 im Anhang). Auch das venöse Kalium stieg unter Ischämie ausschließlich in der Darmischämiegruppe signifikant an (siehe Tabelle 24 im Anhang).

Das venös gemessene iFABP stieg in der Gruppe Darmischämie signifikant über allen anderen Gruppen an und blieb auch in der Reperfusion auf diesem Level. In der Gruppe HLM gab es den geringsten Anstieg, steiler verlief die Gruppe HLM/Vasopressin mit einer Spitze unter Reperfusion 2 min bei Angleichung auf das Kontrollniveau in der späteren Reperfusion beider HLM-Gruppen (siehe Tabelle 9)

Tabelle 9 iFABP (ml/pg)

iFABP [ml/pg]	Ausgangsbedingungen	Ischämie bzw. HLM 20min	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
<b>Kontrolle</b>	66,1±4,2	47,3±18,6	57,3±9,4	37,8±6,2	48,4±10,5	58,7±7,3
<b>Ischämie</b>	64,6±8,8	253,2±40,0*#+	288,2±34,7*#+	266,9±28,3*#+	280,7±26,0*#+	278,9±25,4*#+
<b>HLM</b>	55,5±7,2	81,7±10,1*#	118,7±15,2*#	127,7±16,7*#	78,3±10,1	82,4±10,8
<b>HLM/Vasopressin</b>	55,5±5,5	97,1±12,2*#	230,5±25,3*#+	178,3±30,2*#	87,2±12,4	65,6±7,1

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

Der arteriell gemessene Vasopressinspiegel (siehe Tabelle 10 und Abbildung 2) war in der Gruppe Darmischämie signifikant höher als in der erniedrigten Gruppe HLM. Diese AVP-Verminderung pendelte sich in der Gruppe HLM auf ein konstant niedriges Niveau signifikant unterhalb der Ausgangs- und Kontrollbedingungen ein. In der Gruppe HLM/Vasopressin wurde unter HLM mit Vasopressingabe ein Maximum im Vasopressinspiegel erreicht, welcher anschließend abfiel. Nach unterschreiten des Niveaus der Kontrollgruppe bei Reperfusion 60 min erlangte er wie die Gruppe HLM einen zu Ausgangsbedingungen und Kontrollgruppe verminderten Level.

Tabelle 10 Vasopressinspiegel (pg/ml)

<u>Vasopressin [pg/ml]</u>	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
<b>Kontrollgruppe</b>	142,4±7,1	137,9±16,9	136,0±17,1	125,1±11,5	123,7±14,1	128,1±14,6
<b>Ischämie</b>	149,1±9,8	144,2±8,3+	160,9±21,2+	142,9±20,8+	109,0±21,1+	113,0±12,2+
<b>HLM</b>	136,6±16,4	101,4±13,2*#	75,2±9,5*#	47,0±6,7*#	43,3±6,5*#	42,2±7,5*#
<b>HLM/Vasopressin</b>	132,7±14,5	339,3±16,9*#+	297,7±20,6*#+	198,9±17,6*#+	85,7±10,8+	39,7±8,3*#

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

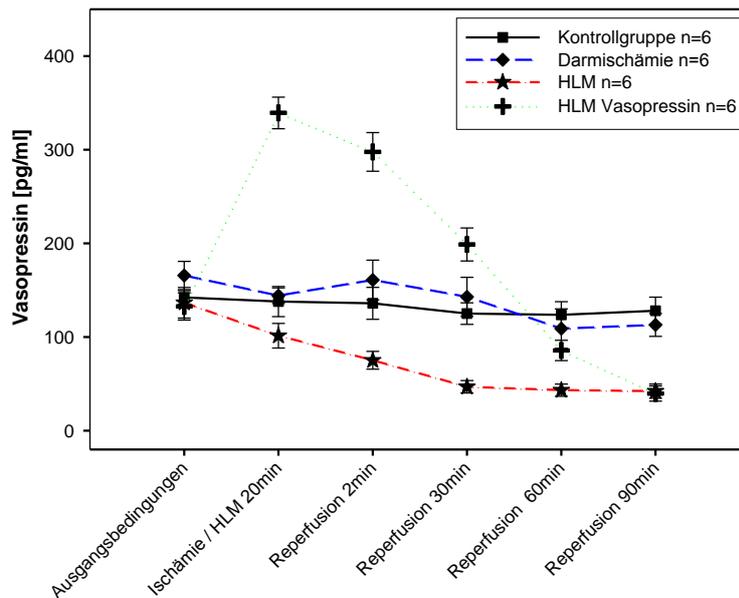


Abbildung 2 Vasopressinspiegel arteriell (pg/ml)

### 4.3 Blutfluss der Arteria mesenterica superior (AMS)

Der Blutfluss der AMS war unter Ischämie in der Darmischämie-Gruppe signifikant gegen Null gesunken, normalisierte sich im Folgenden und war anschließend zu allen Vergleichsgruppen signifikant erhöht. Der Verlauf der Gruppe HLM blieb unter HLM konstant, während der Blutfluss in der Gruppe HLM/Vasopressin zeitgleich signifikant unter Ausgangsbedingungen und Kontrollgruppe fiel. Anschließend lagen die Werte in beiden Gruppen mit HLM in den Zeitpunkten Reperfusion 30 und 60 min signifikant über den Ausgangsbedingungen. (siehe Tabelle 11 und Abbildung 3).

Tabelle 11 Blutfluss der AMS (ml/min)

Blutfluss der AMS [ml/min]	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	528±48	528±44	555±53	541±50	550±55	568±54
Ischämie	442±37	0,000*#+	593±30	1017±61*#+	1018±42*#+	906±33*#+
HLM	463±34	456±36	460±27	642±30*	636±38*	612±29*
HLM/Vasopressin	460±26	337±25*#	402±20	548±22*	597±42*	556±33

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

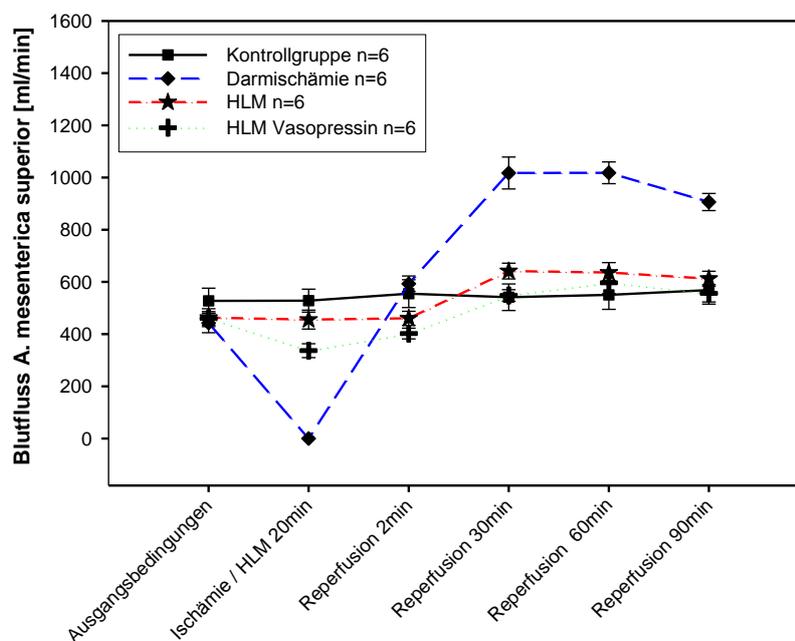


Abbildung 3 Blutfluss der AMS (ml/min)

#### 4.4 Mukosaler Blutfluss

Magen: Der mukosale Blutfluss im Magen war in der Gruppe Darmischämie zum Zeitpunkt Ischämie/ HLM 20 min gegenüber allen Gruppen signifikant erhöht und fiel in der Reperfusion 2 min leicht unter die Kontrollgruppe. Anschließend stiegen die Blutflusswerte wieder signifikant an und waren ab dem Maximalwert bei Reperfusion 60 min gegenüber allen Vergleichsgruppen signifikant erhöht. Hingegen fielen die Werte der mukosalen Blutflussmessung unter Herz-Lungen-Maschine in der Gruppe HLM und stärker noch in der Gruppe HLM/Vasopressin ab. Anschließend stiegen beide wieder und pendelten sich leicht über den Werten der Kontrollgruppe ein (siehe Tabelle 12 und Abbildung 4).

Tabelle 12 mukosaler Blutfluss Magen (AU)

<u>Gastraler mukosaler Blutfluss [AU]</u>	Ausgangsbedingungen	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	86,5±6,6	83,3±4,2	84,9±4,4	79,0±3,3	85,4±4,3	84,6±6,2
Ischämie	90,6±7,6	117,4±3,8*#+	75,0±6,1	103,3±6,7*#	147,2±11,6*#+	124,2±9,9*#+
HLM	88,0±3,6	57,6±9,3*#	71,6±7,4	95,3±9,7	92,5±8,1	88,1±10,9
HLM/Vasopressin	86,0±4,9	25,8±5,0*#+	69,5±4,9	95,6±1,2*#	89,2±3,5	89,7±3,6

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

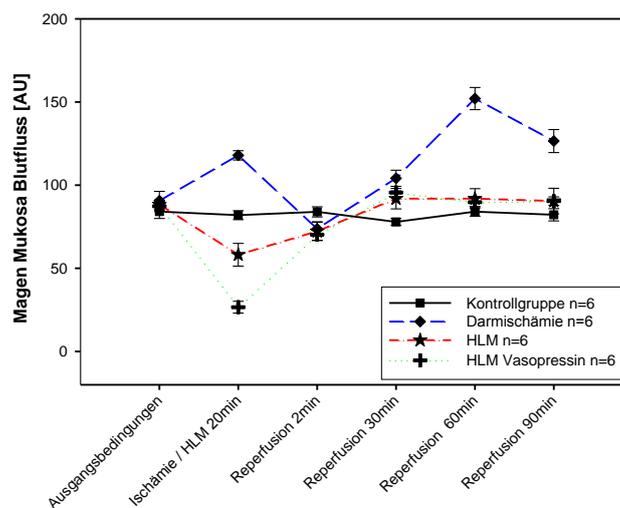


Abbildung 4 mukosaler Blutfluss Magen (AU)

Jejunum: In der jejunalen mukosalen Blutflussmessung kam es unter Ischämie zum drastischsten und signifikanten Abfall in der Darmischämiegruppe unter alle anderen Gruppen. Im weiteren Verlauf erholte sich die Blutflussminderung in Bezug auf die Ausgangsbedingungen und stieg bis zum Zeitpunkt Reperfusion 90 min auf ein gegenüber allen Gruppen und den Ausgangsbedingungen signifikantes Maximum an. Unter Anwendung der HLM kam es in der Gruppe HLM zu einem signifikanten Abfall, nicht jedoch in der Gruppe HLM/Vasopressin, in der es erst zum Zeitpunkt Reperfusion 2 min zu einer Blutflussminderung kam. Ab Reperfusion 2 min verliefen beide Gruppen etwa gleich und erreichten die Werte der Kontrollgruppe und der Ausgangsbedingungen nicht wieder (siehe Tabelle 13 und Abbildung 5).

Tabelle 13 mukosaler Blutfluss Jejunum (AU)

Jejunaler mukosaler Blutfluss [AU]	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	491,0±31,0	492,3±36,1	490,9±33,2	482,0±25,5	486,6±30,2	474,1±23,4
Ischämie	482,6±22,3	18,5±3,1*#+	306,7±11,5*#	453,4±19,6	486,8±24,5	613,6±18,5*#+
HLM	514,6±35,4	338,9±19,2*#	377,2±24,5*#	433,9±26,1	423,2±9,5	404,6±14,6*
HLM/Vasopressin	492,7±27,3	485,0±31,1+	363,7±11,2*#	399,3±25,9	400,8±30,0	366,1±24,6*

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

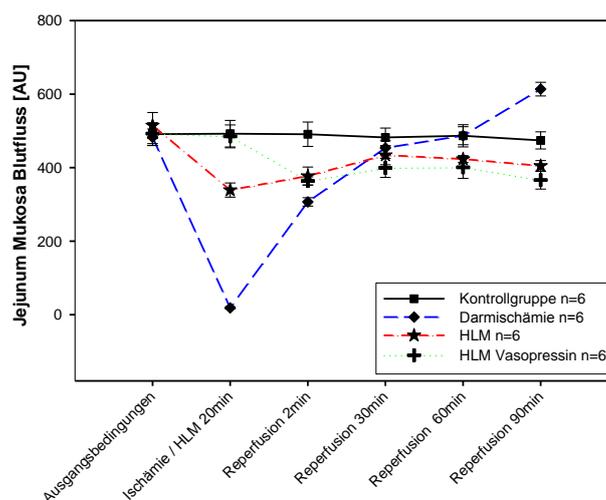


Abbildung 5 mukosaler Blutfluss Jejunum (AU)

**Rektum:** Der mukosale rektale Blutfluss zeigte in der Gruppe Darmischämie zum Zeitpunkt Reperfusion 2 min einen signifikanten Abfall zu allen Vergleichsgruppen. Anschließend folgte ein signifikanter Anstieg auf einen Maximalwert. Die Gruppe HLM/Vasopressin erreichte zum Zeitpunkt Ischämie / HLM 20min einen signifikanten Tiefpunkt und war bei Reperfusion 2 min zur Kontrollgruppe signifikant vermindert (siehe Tabelle 14 und Abbildung 6).

Tabelle 14 mukosaler Blutfluss Rektum (AU)

Rektaler mukosaler Blutfluss [AU]	Ausgangsbedingungen	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	77,8±7,3	76,3±6,4	77,0±8,0	76,7±7,0	76,2±7,7	74,6±7,4
Ischämie	78,5±6,8	77,7±7,5	41,2±6,4*#+	100,1±6,0*#+	67,7±4,4	79,3±4,3
HLM	79,4±4,4	68,1±4,0	65,1±3,8	66,0±4,7	66,0±4,5	65,6±3,0
HLM/Vasopressin	70,9±2,5	26,2±3,4*#+	55,7±7,0#	62,6±4,5	63,2±4,4	63,8±5,2

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

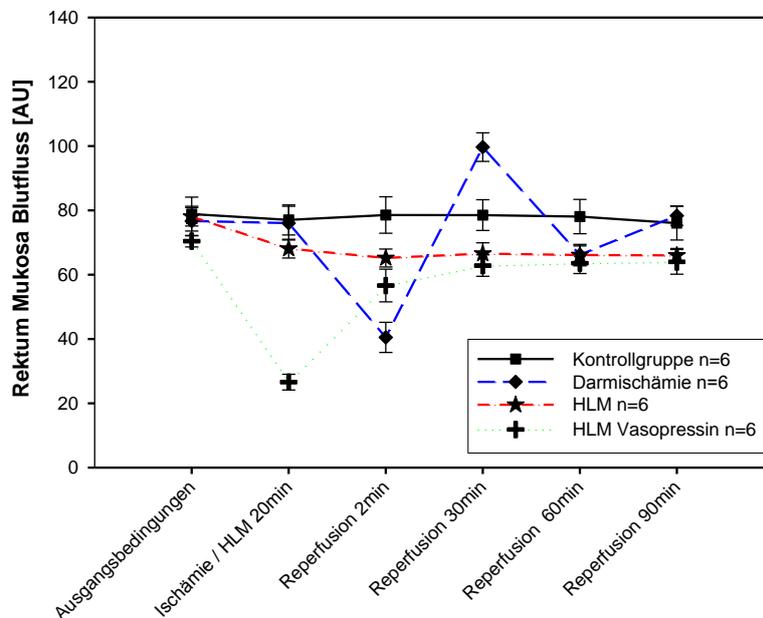


Abbildung 6 mukosaler Blutfluss Rektum (AU)

### 4.5 Perfundierte Gefäßdichte Jejunum

Durch die Intravitalmikroskopie ließ sich die perfundierte Gefäßdichte des Jejunums bestimmen. Zum Zeitpunkt Ischämie/ HLM 20 min ergab sich für die Darmischämiegruppe ein um 0 liegender signifikanter Minimalwert. Der Verlauf dieser Gruppe blieb trotz anschließendem Anstieg in der Reperfusion zu allen weiteren Messzeitpunkten signifikant unter den Ausgangsbedingungen und der Kontrollgruppe zurück mit einem Maximum bei Reperfusion 30 min. Die perfundierte Gefäßdichte der Gruppe HLM war ab dem Zeitpunkt Ischämie /HLM 20 min signifikant zur Kontrollgruppe und den Ausgangsbedingungen vermindert und stieg im Verlauf nur schwach an. Ähnlich stellte sich die HLM/Vasopressin-Gruppe dar, wobei diese zunächst im Vergleich zur HLM-Gruppe weniger stark abfällt (siehe Tabelle 1Tabelle 15 und Abbildung 7).

Tabelle 15 perfundierte Gefäßdichte Jejunum (cm/cm<sup>2</sup>)

Gefäßdichte cm/cm <sup>2</sup>	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	199,7±5,1	197,7±4,3	202,2±5,1	194,3±3,7	196,2±5,3	193,0±6,4
Ischämie	191,5±3,0	0±0*#+	143,6±2,2*#	168,1±2,7*#	132,9±3,5*#+	121,3±3,2*#+
HLM	190,7±5,1	153,7±4,2*#	160,3±3,2*#	156,7±5,4*#	166,6±7,8*#	168,5±8,5*#
HLM/Vasopressin	190,6±2,7	179,0±4,7+	173,7±3,3*#	153,6±7,8*#	172,8±4,9*#	167,4±3,4*#

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

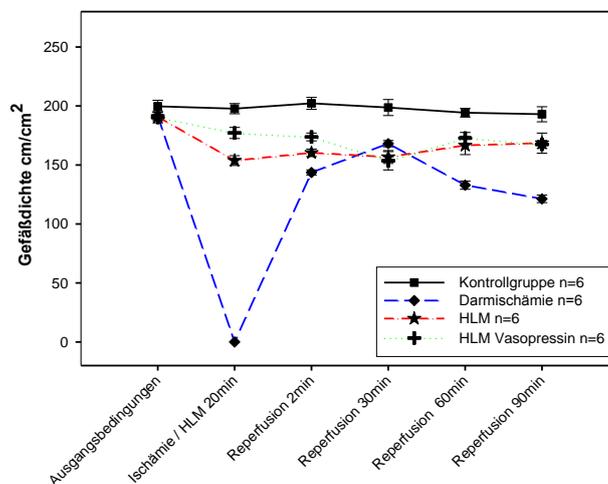


Abbildung 7 perfundierte Gefäßdichte Jejunum (cm/cm<sup>2</sup>)

#### 4.6 Mukosale Sauerstoffsättigung

##### Magen:

Die mukosale Sauerstoffsättigung des Magens stieg zunächst unter Ischämie und ab Reperfusion 30 min in der Darmischämiegruppe leicht an. Jedoch sanken die Werte zum Zeitpunkt Reperfusion 2 min stark auf einen zu allen Vergleichsgruppen signifikanten Minimalwert. In der Gruppe HLM fiel die Sättigung bei HLM 20 min auf ihren Tiefpunkt und blieb bis Reperfusion 30 signifikant unter der Kontrollgruppe und den Ausgangsbedingungen. Im Vergleich dazu sank sie in der HLM/Vasopressin-Gruppe unter HLM wesentlich stärker und signifikant zu allen Gruppen, um anschließend langsam wieder anzusteigen (siehe Tabelle 25 im Anhang).

##### Jejunum:

In der Darmischämiegruppe wies die jejunale mukosale Sauerstoffsättigung unter Ischämie ein signifikantes Minimum auf, das gegen 0 tendierte. Zu den Reperfusionszeitpunkten 30, 60 und 90min war die Sauerstoffsättigung jedoch signifikant erhöht. Die Sättigung war in der Gruppe HLM zum Zeitpunkt Ischämie/HLM 20min signifikant vermindert. Zeitgleich war die Gruppe HLM/Vasopressin signifikant zur Gruppe HLM erhöht und lag bei Reperfusion 30 und 60min signifikant über den Ausgangsbedingungen (siehe Tabelle 26 im Anhang).

##### Rektum:

In der Messung der mukosalen Sauerstoffsättigung des Rektums fielen sowohl die Darmischämiegruppe als auch die HLM Vasopressingruppe zum Zeitpunkt Ischämie / HLM 20min signifikant ab und lagen erst in späteren Reperfusionszeitpunkten wieder leicht unter der Kontrollgruppe. In der Gruppe HLM/Vasopressin war dieser Abfall jedoch wesentlich stärker. Hingegen zeigte sich in der HLM-Gruppe im Verlauf kein Unterschied zu den Ausgangsbedingungen (siehe Tabelle 27 im Anhang).

#### 4.7 Vasopressin Rezeptor Genexpression

Magen: Die Vasopressin Genexpression im Magen wies in der Kontrollgruppe das niedrigste Niveau auf mit leicht höheren AVPR2 Werten. Die Gruppe Darmischämie war in beiden Rezeptortypen etwa gleich stark vertreten und ebenso wie AVPR2 der HLM/VasopressinGruppe nicht signifikant zur Kontrollgruppe erhöht. Hingegen war in der Gruppe HLM besonders der Rezeptor AVPR1A, wie aber auch AVPR2 signifikant stärker gegenüber der Kontrollgruppe vertreten. Der AVPR1A Rezeptor der Gruppe HLM/Vasopressin war signifikant größer als die HLM- und die Kontrollgruppe, der AVPR2 Rezeptor war nicht signifikant verändert. Beide Rezeptoren der Darmischämiegruppe waren im Niveau gegenüber der HLM-Gruppe signifikant vermindert (siehe Tabelle 16 und Abbildung 8).

Tabelle 16 Relative Vasopressin Genexpression des Magens (RQ)

<u>Magen</u> Vasopressin Rezeptor Genexpression (RQ)	AVPR1A	AVPR2
Kontrollgruppe	0,7±0,6	0,8±0,7
Ischämie	1,5±0,6	1,5±0,6
HLM	4,5±0,9	3,3±1,0
HLM Vasopressin	2,1±0,4	1,3±0,3

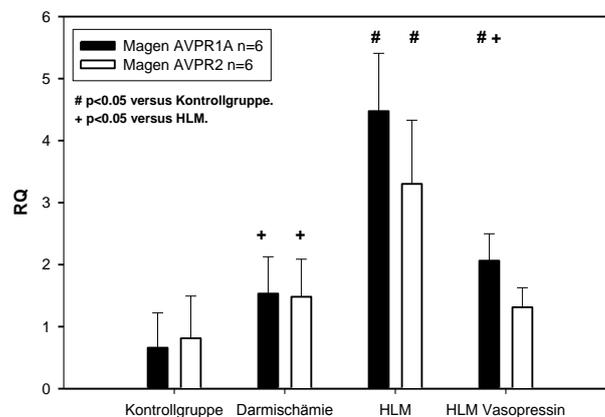


Abbildung 8 Relative Vasopressin Genexpression im Magen

Jejunum: Die relative Quantifizierung (RQ) der Vasopressin Genexpression im Jejunum zeigte einen deutlichen Anstieg in der Gruppe HLM signifikant zur Kontrollgruppe, der im AVPR1A Rezeptor etwas stärker ausgeprägt ist. Die Gruppen Darmischämie und HLM/Vasopressin waren auf ähnlichem Niveau wie die Kontrollgruppe und daher zur HLM-Gruppe signifikant vermindert. In der Kontrollgruppe war der AVPR2 Rezeptor stärker vertreten (siehe Tabelle 17 und Abbildung 9).

Tabelle 17 Relative Vasopressin Genexpression des Jejunums (RQ)

<u>Jejunum</u>		
Vasopressin Rezeptor Genexpression (RQ)	AVPR1A	AVPR2
Kontrollgruppe	0,9±0,3	1,4±0,5
Ischämie	1,2±0,3	1,3±0,4
HLM	6,2±0,7	5,6±0,7
HLM Vasopressin	1,4±0,3	1,2±0,3

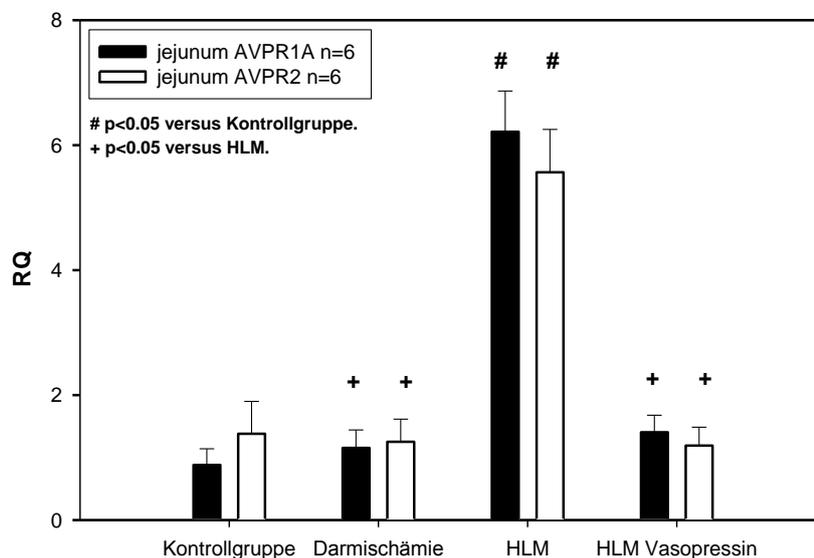


Abbildung 9 relative Vasopressin Genexpression des Jejunums

Rektum: Die relative Quantifizierung (RQ) der Vasopressin Genexpression im Rektum verdeutlichte einen signifikanten Anstieg beider Vasopressinrezeptortypen in der Gruppe Darmischämie in Relation zur Gruppe HLM. Die Gruppe HLM sank unter das Niveau der Kontrollgruppe. Hingegen war in der Gruppe HLM/Vasopressin der größte Anstieg zu verzeichnen signifikant zur Kontrollgruppe und der Gruppe HLM. Generell war AVPR1A in allen Interventionsgruppen etwas stärker vertreten, am deutlichsten in der Gruppe HLM/Vasopressin (siehe Tabelle 18 und Abbildung 10).

Tabelle 18 Relative Vasopressin Genexpression des Rektums (RQ)

<u>Rektum</u> Vasopressin Rezeptor Genexpression (RQ)	AVPR1A	AVPR2
Kontrollgruppe	1,9±0,8	1,9±0,9
Ischämie	2,7±0,7	2,5±0,7
HLM	1,4±0,5	1,1±0,3
HLM Vasopressin	7,6±0,6	6,7±0,3

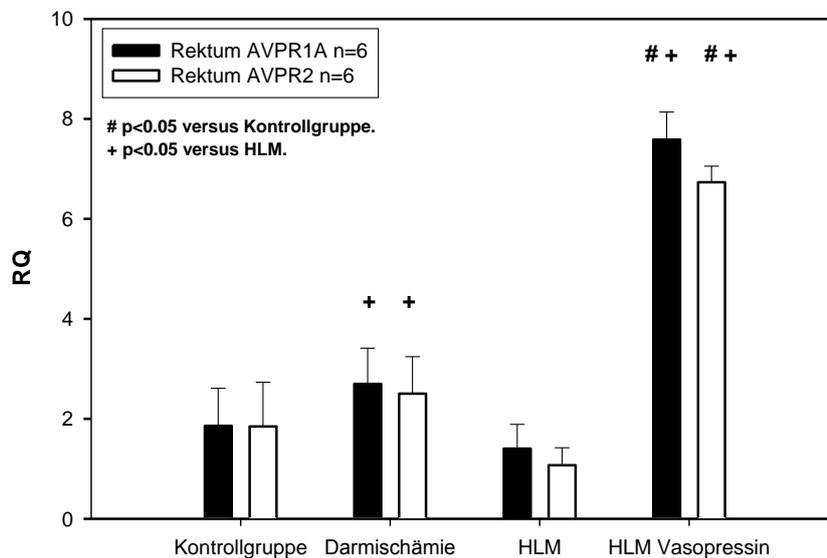


Abbildung 10 relative Vasopressin Genexpression des Rektums

## 5 Diskussion

### 5.1 Hintergrund

#### 5.1.1 Physiologie und Pathophysiologie der Mesenterialgefäße

Das viszerale Gefäßbett wird beim ruhenden Menschen von ca. 25 % des Herzzeitvolumens versorgt, der Großteil davon gelangt zum Darm (Eckstein 2003). Die Blutzufuhr kann während der Verdauung auf 35% des HZV steigen (Geelkerken, Lamers et al. 1998) und in Stresssituationen hingegen auf 10% des HZV sinken.

Zum Verständnis der Reaktion des Darmes auf Ischämie sind folgende Eigenschaften von Bedeutung: Die Leber wird über die Portalvene durch Blut aus dem Intestinalgebiet perfundiert, welches das Lebergewebe mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt. Aufgrund dieser Funktion sind der venöse Blutdruck und der mittlere Kapillardruck im Darm höher als in anderen Gefäßbetten. Dies kann jedoch bei Überschreitung des regulären Kapillardruckes zu massivem Flüssigkeitsverlust führen, was bei krankheitsbedingtem Verlust der Homöostase schnell geschehen kann (Haglund and Bergqvist 1999).

In der Submukosa verlaufen Widerstandsgefäße, präkapilläre Sphinkter, Kapillaren, postkapilläre Sphinkter und Venolen hintereinander, wobei diese parallel verlaufende Schlingen mit zentral gelegenen Lymphgefäßen bilden (Folkow 1967). Über die intestinalen Widerstandsgefäße wird der Druck des arteriellen Blutzustroms und damit die Menge des Blutvolumens zu dieser Region reguliert. Durch das Gleichgewicht zwischen prä- und postkapillärem Sphinkter wird der mittlere hydrostatische Druck eingestellt. Dieser ist für die Flussrichtung und Menge der verschobenen Flüssigkeit durch das Kapillarnetz essenziell.

Die vasokonstriktive Wirkung auf das Gefäßbett im Darm entfalten hauptsächlich Endothelin-1 (ET-1), das Renin-Angiotensin-System, sowie Katecholamine (Kolkman and Mensink 2003). Hingegen wirken Stickstoffmonoxid (NO) und Prostaglandine vasodilatativ.

Autoregulation:

Das intestinale Gefäßbett kann seinen vaskulären Widerstand bei vermindertem Perfusiondruck reduzieren und dadurch sogar zur Blutumverteilung führen (Redfors, Hallback et al. 1984). So wird die metabolisch aktive sowie vulnerable oberflächlichen Mukosa auf Kosten der Serosa geschützt (van Bommel, Trouwborst et al. 2002). Vermutlich geschieht dies durch mukosale Produktion von vasodilatativen NO, Prostaglandinen (Gosche and Garrison 1991) und Dopamin-1-Rezeptor-Stimulation (Germann, Hasibeder et al. 1995). Diese lokale Autoregulation der intestinalen Perfusion wird hauptsächlich über direkte myogene Reaktion auf den reduzierten Perfusiondruck vermittelt.

Trotz dem dadurch erhaltenen Blutstrom sind die Villi der Mukosa der für Minderperfusion gefährdetste Bereich (Marik 2001). Bedingt durch den mikrovaskulären Aufbau mit über der gesamten Zotte erfolgreichem Sauerstoffaustausch kann eine Ischämie der Villispitze bei adäquater Perfusion der Krypten resultieren.

Zusätzlich zur lokalen Autoregulation spielen verschiedene neuronale und humorale Stoffe wie Vasopressin und Angiotensin II in der Physiologie der mesenterialen Vasokonstriktion eine wichtige Rolle (Wiesner, Khurana et al. 2003). Dennoch wirken lokale Faktoren stärker als die zentrale Regulation über vasokonstriktive sympathische Nervenfasern (Haglund and Bergqvist 1999). Unter normalen Bedingungen sichert die Autoregulation der intestinalen Perfusion ein Überleben des Gewebes auch unterhalb eines systemischen Blutdrucks von 70mmHg. Wenn dieser jedoch unter 40mmHg sinkt, wird die lokale myogene Autoregulation durch die systemische überannt und es kommt zum Versagen der lokalen Schutzmechanismen. In Folge dessen werden weite Teile des Darms ischämisch, ähnlich wie bei mesenterieminderperfusion aufgrund von vaskulärer Okklusion (Matthews and Parks 1976).

### Sauerstoffextraktion:

Ein weiterer Reaktionsmechanismus des Intestinaltraktes auf Ischämie besteht in der Steigerungsfähigkeit der Sauerstoffausschöpfung. So muss der intestinale Blutfluss auf unter 50 % des normalen Ruhelevels abfallen, um die Sauerstoffversorgung einzuschränken (Bulkley, Kviety's et al. 1985). Dieser Schutzmechanismus versagt ab einem Blutdruck unter 40 mmHg mit der Ischämie des Darmes als Konsequenz (Bradbury, Brittenden et al. 1995). Unter experimenteller Hämorrhagie wurden selbst bei um 30 % vermindertem Blutvolumen noch ein normaler Sauerstoffverbrauch ermittelt (Arvidsson, Rasmussen et al. 1991). Hingegen kann unter septischen Bedingungen die O<sub>2</sub>-Ausbeute weniger stark gesteigert werden wie unter hämorrhagischen Bedingungen bei gleichem Blutfluss. Desweiteren ist die vermehrte O<sub>2</sub>-Extraktion bei Sepsis weniger effektiv aufgrund des zusätzlich gesteigerten O<sub>2</sub>-Bedarfs und der eingeschränkten O<sub>2</sub>-Verwertung durch den gestörten Metabolismus (Arvidsson, Rasmussen et al. 1991; Antonsson and Haglund 1995).

### Reperfusionsschäden:

Aufgrund der gestörten Sauerstoffversorgung wird der Metabolismus auf anaerobe Glykolyse umgestellt. Es kommt zu einem Anstieg des Laktatpiegels im peripheren Blut und es wird weniger ATP gebildet, weswegen ATP-abhängige Enzyme in der Zellmembran gehemmt werden. Die dadurch gestörte zelluläre Homöostase ermöglicht den Einstrom von Wasser und Elektrolyten, was zur Nekrose führen kann (Kolkman and Mensink 2003). Wegen der Schwächung der Tight Junctions wird die Barrierefunktion des Epithels reduziert, wodurch es frühzeitig zur Translokation von Bakterien kommen kann (Wattanasirichaigoon, Menconi et al. 1999). Nekrotische Zellen triggern die Entzündungsreaktion über die Freisetzung von verschiedenen Zytokinen. Über intrazelluläre Calciumakkumulation wird die Hydrolyse der Xanthindehydrogenase zur Xanthinoxigenase (Banda and Granger 1996) vermittelt, die Hypoxanthin in Harnsäure umwandelt.

---

Besonders wenn durch Reperfusion wieder vermehrt Sauerstoff in das ischämische Gewebe gelangt, wird durch diesen Prozess über die Produktion von  $O_2^-$  und  $H_2O_2$  verstärkt das aggressive freie Radikal ( $\bullet OH$ ) gebildet (Bradbury, Brittenden et al. 1995; Trompeter, Brazda et al. 2002). Freie Sauerstoffradikale haben die Fähigkeit, DNA, Enzyme, Rezeptoren und membrangebundene Phospholipide zu oxigenieren (Nielsen, Tan et al. 1996). Dies greift die vorgeschädigte Darmmukosa weiter an und führt zum so genannten Reperfusionsschaden, bei dem zuerst die Membranintegrität zerstört, die Zelle zugrunde geht und es letztendlich zu einem interstitiellen Ödem kommt. Somit kann der Schaden an der Darmmukosa nach drei Stunden Ischämie und einer Stunde wiederhergestellter Perfusion gravierender sein, als nach vier Stunden alleiniger und kontinuierlicher Ischämie (Parks and Granger 1986; MacDonald 2002).

Durch Diffusion von Sauerstoffradikalen greift der Reperfusionsschaden zusätzlich auf gesundes Gewebe in der Umgebung über. Der Beginn der Reperfusion resultiert demnach nicht nur in einem Einstrom von Sauerstoff, sondern auch in einem Ausstrom von reaktiven Sauerstoffspezies, Stickoxiden, Entzündungsmediatoren, Zytokinen und aktivierten Neutrophilen in den Kreislauf (Syk, Brunkwall et al. 1998; Kolkman and Mensink 2003). Durch die Kreislaufeinschwemmung dieser toxischen Substanzen sowie aktivierten Leukozyten und Blutplättchen kann es zur Ausbildung eines so genannten splanchnischen Schocks kommen. Dieser kann durch Kreislaufversagen und Multiorganversagen letal enden (Bradbury, Brittenden et al. 1995). In Tierstudien konnten Schädigungen der Leber und der Lunge aktivierten Neutrophilen aus reperfundierten ischämischen Darmbereichen zugeschrieben werden (Nielsen, Tan et al. 1996). Daher wird die Minderperfusion der Darmmukosa auch als Motor des Multiplen Organversagens bezeichnet (Chieveley-Williams and Hamilton-Davies 1999).

### 5.1.2 Risikofaktoren der NOMI

Gastrointestinale Komplikationen (GIT) nach Herzoperationen enden trotz ihrer Seltenheit und selbst bei früher Diagnose und adäquater Therapie häufig tödlich. Daher ist es essenziell, so früh wie möglich Risikofaktoren zu identifizieren und den Verdacht auf eine GIT zu schärfen (Mangi, Christison-Lagay et al. 2005).

In der Literatur findet man zu den Risikofaktoren für die Entstehung einer nichtokklusiven Mesenterialischämie verschiedene, teils unterschiedliche Angaben, die selten spezifisch für eine NOMI sind (Khan, Lambert et al. 2006). Häufig werden hierbei unselektiv alle Formen der gastrointestinalen (GIT) Komplikationen und Mesenterialischämien diskutiert. Dies verdeutlicht, dass diese Erkrankung in Bezug auf prädisponierende Faktoren noch nicht endgültig erforscht ist.

Ausgelöst wird die NOMI durch eine funktionelle Engstellung (Spasmus) der kleinkalibrigen Mesenterialarterien bei erhaltener Durchblutung der Stammabschnitte. Dieser Zustand wird durch sämtliche hypotone Schocksituationen hervorgerufen und zeichnet sich durch viszerale Minderperfusion aus (Trompeter, Brazda et al. 2002). Demnach verursachen auch sämtliche Risikofaktoren der NOMI eine Einschränkung der intestinalen Perfusion. Man kann sie in prä-, intra- und postoperative Risikofaktoren einteilen, wobei z.B. ein vermindertes HZV aufgrund von vorhergehendem Herzinfarkt, Herzinsuffizienz (NYHA:3-4) oder Arrhythmien in allen drei Kategorien zu finden sind. Ebenso wie die Gabe von Medikamenten wie: Furosemid, Ergotamin, ACE-Hemmer, Calciumantagonisten, Katecholamine, Noradrenalin oder Digitalis, da diese den Blutfluss im Splanchnikusgebiet reduzieren.

Präoperative Risikofaktoren beinhalten gastrointestinale Vorerkrankungen, erhöhtes Lebensalter (>70Jahre) und Atherosklerose. Weitere sind Erkrankungen wie Niereninsuffizienz, Hypertonie, Diabetes mellitus, als auch die chronisch-obstruktive Lungenerkrankung. Chronischer Alkohol- oder Nikotinabusus sowie ein schlechter Allgemeinzustand sind ebenso präoperative Risiken.

---

Zu den intraoperativen Faktoren gehören Herzklappenoperationen, Reoperationen sowie Notoperationen. Perioperative Myokardischämie und die Notwendigkeit der intraarteriellen Ballonpumpe wirken sich negativ aus, ebenso wie intraoperativ auftretende Arrhythmien oder Blutungen.

Komplikationen wie z.B. Schlaganfall oder Ischämie der unteren Extremität oder akutes Nierenversagen werden zu postoperativen Risikofaktoren gezählt. Ebenso wie Blutungen oder Arrhythmien, die nach der Operation auftreten (Moneta, Misbach et al. 1985; Albes, Schistek et al. 1991; Allen, Salam et al. 1992; Tsiotos, Mullany et al. 1994; Yilmaz, Arslan et al. 1996; Perugini, Orr et al. 1997; Sakorafas and Tsiotos 1999; Stockmann, Roblick et al. 2000; Byhahn, Strouhal et al. 2001; Lock 2002; Trompeter, Brazda et al. 2002; Chaudhuri, James et al. 2006).

Als entscheidender Faktor für gastrointestinale Komplikationen gilt die langzeitige Anwendung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) (D'Ancona, Baillot et al. 2003). Sie steht im Verdacht, zu mesenterialen Minderperfusion in Verbindung mit lokalen Veränderungen der neurohumoralen Gefäßregulation zu führen (Khan, Bianchi et al. 2007). Es ist jedoch noch unklar, ob die NOMI das Resultat von mikrozirkulatorischen Veränderungen in Folge der HLM oder aber die Manifestation einer separaten Erkrankung in Verbindung mit kardialen Eingriffen und verminderter Herzauswurfleistung darstellt. Alternativ mag auch die häufig unter HLM notwendige Vasopressorgabe zu Veränderungen der Mikrozirkulation führen (Tofukuji, Stahl et al. 2000).

### 5.1.3 Probleme der Herz-Lungen-Maschine

Trotz Weiterentwicklungen und Verbesserungen ist der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (HLM) noch immer mit Nebenwirkungen verbunden, deren Pathophysiologie und klinische Relevanz im Folgenden genauer betrachtet werden sollen:

SIRS (engl. Systemic inflammatory response syndrome):

Die Verwendung der HLM bewirkt regelhaft eine akute Entzündungsreaktion, die jedoch nur selten in einer hämodynamischen Störung mit einem manifesten SIRS mündet (Taylor, Houston et al. 1996). So beobachteten Cremer et al. bei 10% der Patienten nach Herzoperation mit HLM einen behandlungsbedürftigen, hyperdynamen Kreislaufzustand mit gesteigertem Herzzeitvolumen und reduziertem systemischen Gefäßwiderstand (Cremer, Martin et al. 1996).

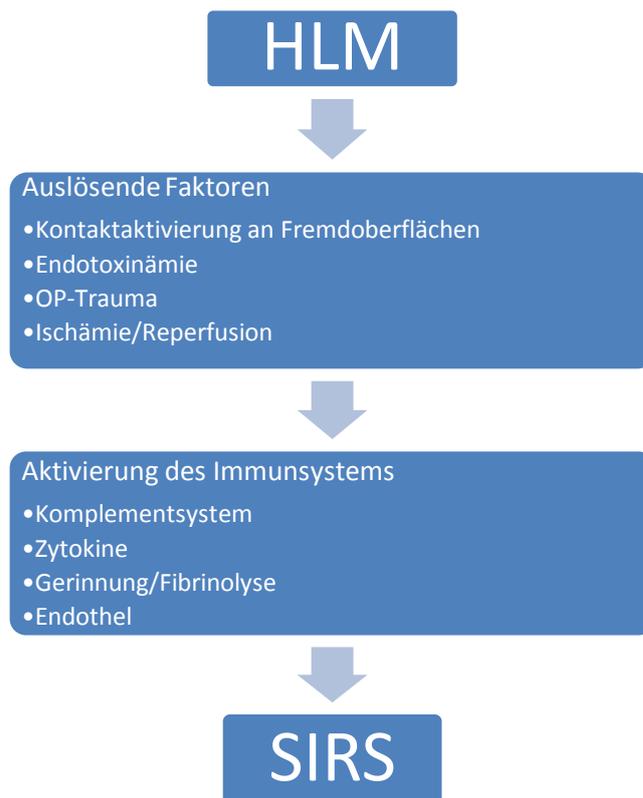


Abbildung 11 Entzündungskaskade unter Herz-Lungen-Maschine

Über die **Kontaktaktivierung** des Blutes durch die Fremdoberfläche der Herz-Lungen-Maschine (Dietrich 2000) kommt es hauptsächlich zur alternativen Aktivierung des Komplementsystems ohne Antikörperkontakt. Da dem Schlauchsystem der HLM die vom Endothel produzierten Hemmfaktoren des Kofaktors C3 fehlen, verstärkt dieser zusammen mit vom Gerinnungssystem aktiviertem Kallikrein die Bildung der Anaphylatoxine C3a und C5a. Diese bewirken wiederum eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität, eine Adhäsion von Leukozyten und aktivieren Makrophagen sowie Granulozyten im Gewebe (Chenoweth, Cooper et al. 1981).

Von den Granulozyten freigesetzte **Endotoxine**, die regelmäßig bei Patienten nach einer Operationen mit HLM im Blut auftreten (Westaby 1987; Riddington, Venkatesh et al. 1996), werden an die im Blut vorkommenden Lipopolysaccharide (LPS)-bindenden-Proteine gebunden. Dieser Komplex sowie zusätzliche Faktoren stimulieren die Synthese entzündungsfördernder Zytokine wie Tumornekrosefaktor-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6) oder IL-8. (Jirik, Podor et al. 1989; Jansen, van Oeveren et al. 1992). Diese Zytokine, als auch die Endotoxine selbst können über die induzierbare NO-Synthetase (iNOS) eine Freisetzung von Stickoxid (NO) aus den Endothelzellen bewirken. Daraus resultiert unter anderem eine Vasodilatation und Steigerung der Gefäßpermeabilität (Paparella, Yau et al. 2002), sowie eine myokardiale Dysfunktion (Oyama, Shimokawa et al. 1998).

Das Herz und auch die Lunge sind die Organe, bei denen unter HLM eine vollständigen **Ischämie** und anschließender **Reperfusion** auftritt und die dadurch bedingten Schäden zum Anstieg proinflammatorischer Zytokine führen (Ng, Wan et al. 2002; de Perrot, Liu et al. 2003). Hierbei entstehende Sauerstoffradikale, Lipidperoxide und Stickstoffintermediate führen sowohl über eine direkte Reaktion mit den Proteinen und Lipiden der Zellmembranen als auch indirekt über Induktion inflammatorischer Kaskaden zur Gewebsschädigung [88]. Das Ischämie und Reperfusion ausgesetzte Myokard gilt als Hauptquelle für die IL-6 und TNF- $\alpha$  -Freisetzung (Deng, Dasch et al. 1996; Wan, DeSmet et al. 1996; Dreyer, Phillips et al. 2000), wobei auch die Schwere des **Operationstraumas** auf das Gewebe nach Herzoperationen mit dem Anstieg von Interleukin 6 (IL-6) korreliert (Franke, Lante et al. 2005).

Durch das Zusammenspiel dieser komplexen Faktoren kommt es auf mehrere Arten zur Störung der Mikrozirkulation. Sowohl die verstärkte Histaminfreisetzung als auch die durch Zytokine induzierte NO-Synthetase bewirken eine Vasodilatation mit vermindertem systemischen Gefäßwiderstand und Shuntbildung (Menasche, Haydar et al. 1994). Andererseits führen Endothelschädigungen durch verminderte NO-Freisetzung zu einer Gefäßeinengung und durch (freigelegte) Adhäsionsfaktoren der sub- endothelialen Matrix zur Thrombozytenaggregation. Die von Endothelzellen, Leukozyten und Thrombozyten ausgeschütteten Faktoren (PAF, Adhäsionsmoleküle, Liganden, Integrine und Selektine) führen zur Mikrothrombenbildung mit nachfolgender Störung der Mikrozirkulation (Zahler, Massoudy et al. 1999). Zusätzliche Störungen entstehen durch die Zunahme der Gefäßpermeabilität (Jordan, Zhao et al. 1999) sowie der Leukozytenaktivierung, die den Entzündungsprozess aufrechterhalten. So sind sich zahlreiche Studien einig, dass Operationen mit HLM zu einem signifikanten Anstieg der gastrointestinalen Permeabilität und der Zytokine führen (Kawamura, Wakusawa et al. 1993; Ohri, Bjarnason et al. 1993; Hennein, Ebba et al. 1994; Holzheimer, Molloy et al. 1994; Oudemans van Straaten, Jansen et al. 1996; Seghaye, Duchateau et al. 1996; Wan, Marchant et al. 1996; Braun, Schroeder et al. 2004). Auch dass in diesem Rahmen die Darmintegrität und die Zytokinfreisetzung eine entscheidende Rolle für die postoperative Entwicklung und die Entstehung von Organschäden spielen, gilt als gesichert (Fiddian Green 1993; Mythen and Webb 1994; Mythen and Webb 1994; Ertel, Keel et al. 1995; Johnston, Harvey et al. 1996; Doig, Sutherland et al. 1998; Sablotzki, Friedrich et al. 2002).

#### Hämoldilution und Perfusion des GIT:

Durch die perioperative Volumensubstitution unter kardiochirurgischer Eingriffe sinkt der Hämatokrit (Hk) der Patienten regelhaft ab. Vor allem auch das Priming-Volumen, mit dem die Komponenten der HLM entlüftet werden, führt zur Hämoldilution. Vorteile dieser induzierten Hämodilutions-Anämie liegen in der verringerten Viskosität und dadurch veränderten rheologischen Eigenschaften des Blutes. Dadurch kann unter Hypothermie ein adäquater Blutfluss ohne Steigerung des Perfusionsdrucks aufrecht erhalten werden (Guyton and Richardson 1961). So konnte in einer Studie an Schweinen eine Verbesserung der Mikrozirkulation in der

Darmmukosa durch Einbeziehung zuvor nicht perfundierter Kapillaren gezeigt werden (Schwarte, Fournell et al. 2005). Am Menschen wurde unter HLM mit milder Hypothermie eine erhöhte splanchnische und systemisch Sauerstoffextraktion durch verminderte Hämoglobinspiegel und erhöhtem Sauerstoffverbrauch dargestellt (Thoren, Elam et al. 2001). Überraschenderweise wurde eine Steigerung des jejunalen Perfusionsdrucks gezeigt. Jedoch konnte dies nicht den Abfall der Sauerstofftransportkapazität durch die Hämoldilution und den gesteigerten metabolischen Bedarf des Splanchnikusgebietes kompensieren. In anderen Studien wurde die mukosale Minderperfusion des Jejunums unter HLM an Tieren trotz gut erhaltenen intestinalen Blutflusses beschrieben (Ohri, Becket et al. 1994). Desweiteren wurde mehrfach von Hypoperfusion der gastrischen und rektalen Mukosa bei Patienten unter Verwendung der HLM berichtet (Ohri, Bjarnason et al. 1993; Ohri, Somasundaram et al. 1994; Ohri, Bowles et al. 1997; Sicsic, Duranteau et al. 1998). So wird eine durch die HLM ausgelöste hypoxische Schädigung der Mukosa mit darauf folgender gesteigerten Darmpermeabilität als Ursache der Hypoperfusion des GIT vermutet (Ohri, Somasundaram et al. 1994; Ohri, Bowles et al. 1997). Die Verwendung der HLM führt zur Zunahme des Wassergehaltes im Interstitium besonders von Lunge, Skelettmuskel und Gastrointestinaltrakt (Olthof, Jansen et al. 1995; Heltne, Koller et al. 2000). Diese interstitielle Flüssigkeitsansammlung kann die Gewebepfusion und -oxygenierung und somit auch die Organfunktion schwer beeinträchtigen und zur Entwicklung postoperativer Komplikationen beitragen.

Generell lässt sich zusammenfassen, dass durch mehrere Untersuchungen eine Beeinträchtigung der intestinalen Organfunktion unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine gezeigt wurde (Kumle, Boldt et al. 2003). Die splanchnische Sauerstoffversorgung sinkt unter hypothermer HLM durch hämodilutionsinduziertem Abfall des Sauerstoffgehaltes bei vermindertem (Hampton, Townsend et al. 1989; Mathie, Ohri et al. 1997) oder unverändertem (Haisjackl, Birnbaum et al. 1998; Gardeback, Settergren et al. 2002) intestinalen Blutfluss. Durch mehrere Autoren wurde eine verlängerte Anwendung der HLM als signifikanter Risikofaktor für die Entwicklung postoperativer gastrointestinaler Komplikationen berichtet (Moneta, Misbach et al. 1985; Krasna, Flanbaum et al. 1988). Die splanchnische Ischämie unter HLM wird als

kausaler Faktor in der Entstehung des SIRS unter Multiorganversagens nach Herzoperationen gesehen (Nygren, Thoren et al. 2006).

#### 5.1.4 Vasopressin

Vasopressin (auch antidiuretisches Hormon ADH, oder Arginin-Vasopressin AVP), ist ein bedeutendes Stresshormon mit sowohl vasoaktiven, antidiuretischen als auch Kortikotropin-freisetzende Eigenschaften. Durch seine Funktion in der Osmoregulation, kardiovaskulären Regulation und Homeostase spielt es in der Anästhesie und Intensivtherapie eine große Rolle (Treschan and Peters 2006).

##### Struktur:

1954 wurde die Struktur von Vasopressin durch Vigneaud et.al. (Lawler and Du Vigneaud 1953) zuerst beschrieben. Es besteht aus 9 Aminosäuren (Cystein, Tyrosin, Phenylalanin, Glutamin, Asparagin, Cystein, Prolin, Arginin und Glycin), mit einer intramolekulare Disulfidbrücke zwischen den Cysteinresten und einem aminierten C-Terminus (Thibonnier, Coles et al. 2000). Bei Menschen und Nagetieren kommt Vasopressin als Arginin-Vasopressin, beim Schwein als Lysin-Vasopressin vor (unterschiedliche AS in Position 8).

##### Synthese und Freisetzung:

Das Nonapeptid Vasopressin (AVP) wird als Prohormon (Preprovasopressin) im Hypothalamus synthetisiert. Dieses Vorläuferprotein enthält außer AVP des Transportprotein Neurophysin 2 und das Glykoprotein Co-Peptin (Gainer 1998; Birnbaumer 2000).

---

Auf Transkriptionsebene findet die Kontrolle der Hormonsynthese statt. Die Bildung und Freisetzung wird hauptsächlich durch Hyperosmolarität und Hypotension oder Hypovolämie stimuliert, wie auch durch Azidose, Schmerz, Hypoxie, Hyperkapnie und Erbrechen. (den Ouden and Meinders 2005) Für die Detektion dieser Stimulationsfaktoren der Vasopressin-Ausschüttung sind Osmorezeptoren im Hypothalamus und in der Leber, Barorezeptoren im Karotissinus, sowie Volumenrezeptoren in den Herzvorhöfen und den Venae pulmonales verantwortlich.

AVP wird hauptsächlich vom magnozellularen System freigesetzt, dessen Neurone sich v.a. im supraoptischen (SON) und paraventriculären (PVN) Nukleus des Hypothalamus befinden (Scott and Dinan 1998). Dieses System wird durch osmotische Stimuli aktiviert. AVP wird daraufhin mit Hilfe von Neurophysin entlang des Traktus supraoptikus paraventricularis zu Nervenendigungen in der hinteren Hypophyse transportiert. Da die Kapillaren der Hypophyse keine Blutschranke besitzen, kann AVP einfach ins Blutsystem übertreten (Leng, Brown et al. 1999). Ähnlich wird AVP von parvozellulären Neuronen des PVN gebildet und in das hypophysäre Portalvenensystem abgegeben. Dadurch aktiviert es die Adenohypophyse und spielt eine Rolle als Kortikotropin Releasing Faktor (Scott and Dinan 1998) (siehe Abbildung 12). Zur Regulation der phasischen Aktivität der Neurone wird AVP zudem somatodentritisch innerhalb seines Ursprungskerns freigesetzt (Scott and Dinan 1998).

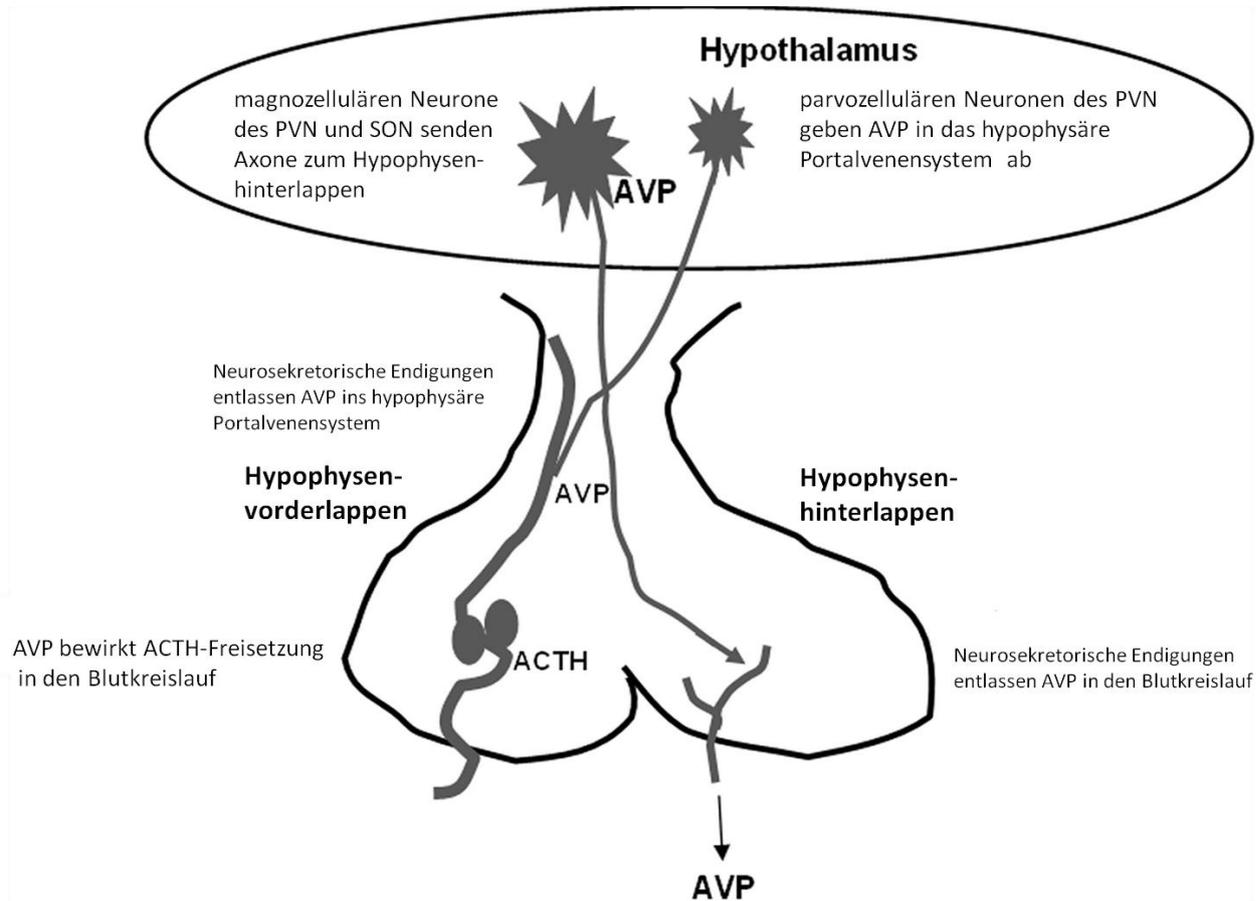


Abbildung 12 Vasopressinfreisetzung. Abb. modifiziert nach (Treschan and Peters 2006).

Vasopressin wird im Hypothalamus in magnozellulären und parvozellulären Neuronen synthetisiert. Magnozellige Neurone befinden sich hauptsächlich im supraoptischen (SON) und parvozellulären (PVN) Nucleus. Ihre Axone entlassen Vasopressin (AVP) in der hinteren Hypophyse in den Blutkreislauf. Axone der parvozellulären Neurone im PVN entlassen AVP in das hypophysäre Portalvenensystem. ACTH=Kortikotropin.

Rezeptoren und Signaltransduktion:

Vasopressinrezeptoren sind heptahelikale Membranproteine, die an spezifische G-Proteine zur intrazellulären Signaltransduktion gekoppelt sind (Thibonnier, Bertin-Mattera et al. 1998). Es sind drei verschiedene Subtypen von Vasopressinrezeptoren, AVPR1A, AVPR1B und AVPR2, identifiziert worden (Tabelle 19). AVPR1A befinden sich auf verschiedensten Zellen und vermittelt eine vasokonstriktive Wirkung auf Zellen glatter Gefäßmuskulatur. AVPR1B wurden hauptsächlich auf Zellen des zentralen Nervensystems gefunden, insbesondere in der Adenohypophyse. Durch ihre Aktivierung wird die Kortikotropin-Freisetzung moduliert. Zellen der Sammelrohre in der Niere exprimieren AVPR2, die die Wasserretention vermitteln. (Treschan and Peters 2006)

Tabelle 19 Lokalisation der Vasopressinrezeptortypen und vermittelte Wirkung

Rezeptortyp	Second messenger System	Gewebe	Hauptfunktion
AVPR1A	Phosphatidylinositol/Calcium	Leber, glatte Muskulatur der Gefäßzellen, Thrombozyten, die meisten peripheren Gewebe, zentrales Nervensystem	Vasokonstriktion
AVPR1B	Phosphatidylinositol/Calcium	Zentrales Nervensystem, Adenohypophyse	Kortikotropin Freisetzung
AVPR2	Adenylatcyclase/cAMP	Sammelrohre der Niere	Osmoregulation, Wasserretention

Die Aktivierung von AVPR1A und AVPR1B stimuliert über Phospholipase C die Hydrolyse von Inositol4,5-bisphosphat ( $PIP_2$ ) in die second messenger Inositol1,4,5-trisphosphat ( $IP_3$ ) und Diacylglycerol (DAG).  $IP_3$  und DAG aktivieren Enzyme wie die Proteinkinase C und mobilisieren intrazelluläres Calcium aus dem endoplasmatischen Retikulum (Treschan and Peters 2006). Das Leeren der Calciumspeicher aktiviert *trp*-Kationenkanäle (*trp*=Transient Receptor Potential), durch die extrazelluläres Calcium in die Zelle strömt. Bei AVPR1A bewirkt dies eine Kontraktion glatter Muskelzellen, bei AVPR1B wird daraufhin die Freisetzung von Kortikotropin erhöht.

AVPR2 interagiert über  $G_s$ -Proteine mit Adenylatzyklasen und bildet zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) als Second messenger (Barberis, Mouillac et al. 1998; Birnbaumer 2000). Dies stimuliert Proteinkinasen und bewirkt einen luminalen Einbau von Aquaporin-2-Kanälen in Zellen der Sammelrohre. (siehe Abbildung 13) Es wird davon ausgegangen, dass AVPR2 auch auf Endothelzellen exprimiert wird, da der potente AVPR2 Agonist Desmopressin (DDAVP, 1-Deamino-8-Darginine Vasopressin) sowohl die Freisetzung des von Willebrand Faktors als auch Vasodilatation bewirkt (Bichet, Razi et al. 1988). Während durch Desmopressin induzierte Vasodilatation über Aktivierung endothelialer No Synthetasen (eNOS) bedingt zu sein scheint, ist der genaue Vasopressin vermittelte Vasodilatationsmechanismus noch unklar (Kaufmann, Iezzi et al. 2003).

Trotz der erwähnten vasodilatativen Wirkung des AVPR2, die allerdings lediglich unter hohen Vasopressindosen verzeichnet wurde (Bichet, Razi et al. 1988; Kaufmann, Iezzi et al. 2003), ist bei der Bewertung der Vasopressin Rezeptor Genexpression nicht weiter zwischen AVPR1A und AVPR2 unterschieden worden. Gründe hierfür sind die noch ungenügende Erforschung von AVPR2 hinsichtlich seiner direkten Endothelfunktion. Zudem lassen die Ergebnisse dieses Experimentes durch die ähnliche Expression wie AVPR1A im Gegensatz zu diesen Studien auf eine vasokonstriktive Funktion schließen.

Desweiteren ist Vasopressin von intrinsischer Aktivität am Oxytozin-(OXT)-Rezeptor und dem purigenen  $P_2$ -Rezeptor. Oxytozinrezeptoren sind in Brustdrüsen und Uterus, sowie auf Endothelzellen lokalisiert. Sie vermitteln über  $G_q$ -Proteine eine Steigerung von intrazellulärem Calcium und konsekutiv einer vermehrten Bildung von Calcium-Calmodulin-Komplexen in den Endothelzellen. Diese Komplexe aktivieren wiederum neurale und endotheliale No-Synthetasen, welche eine endothelabhängige Vasodilatation induzieren (Holmes, Landry et al. 2004). An  $P_2$ -purinergen Rezeptoren des kardialen Endothels bewirkt ATP über  $G_q$ -Proteine eine gesteigerte Inotropie und eine Prostazyklin- und NO-abhängige koronare Dilatation, während die Ergebnisse über die AVP-vermittelte Wirkung an diesen Rezeptor widersprüchlich sind (Zenteno-Savin, Sada-Ovalle et al. 2000).

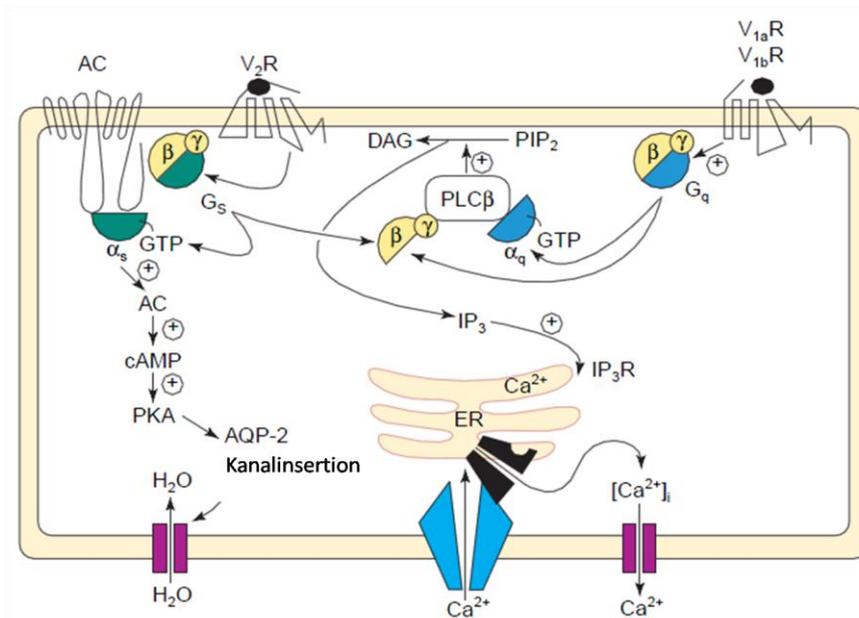


Abbildung 13 Vasopressin Signaltransduktion. Abb. modifiziert nach (Birnbaumer 2000).

Links: Signalweg des AVPR2 (V<sub>2</sub>R) Rezeptors in Sammelrohrzellen der Niere; rechts: Signaltransduktion des AVPR1 (V<sub>1</sub>) Rezeptors. Erläuterung siehe Text.

Abkürzungen: AC, Adenylzyklase; AQP-2, Aquaporin-2-Kanal; AVP, Arginine-Vasopressin; DAG, Diacylglycerol; ER, Endoplasmatisches Retikulum; IP<sub>3</sub>R, Inositol (1,4,5)-trisphosphat- Rezeptor; PIP<sub>2</sub>, Phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate; PKA, Proteinkinase A; PLCb, Phospholipase Cb, trp=Transient Receptor Potential.

### Vasopressinspiegel und Metabolismus:

Bei nüchternen, hydrierten Menschen liegt der Plasma-Vasopressinspiegel physiologisch bei < 4 pg/ml (Czaczkes, Kleeman et al. 1964)<sup>i</sup>. Die an den Versuchsschweinen ermittelten Werte lagen unter Ausgangsbedingungen sowie in der Kontrollgruppe um 120 pg/ml (50-240 pg/ml).

Die Vasopressinmetabolisierung durch Vasopressinasen in Leber und Niere führt zu einer Halbwertszeit von 10 bis 35 min. Wegen der Hydrolyse durch Trypsin muss Vasopressin parenteral gegeben werden (Baumann and Dingman 1976) und wirkt innerhalb von Minuten. Die Plasmahalbwertszeit von therapeutischem Vasopressin beträgt 4-20 min, so dass kontinuierliche Infusionen nötig sind, um den Effekt zu erhalten. (Czaczkes, Kleeman et al. 1964)

## 5.2 Diskussion der Methodik

Der Antrieb dieser Arbeit entstand aus dem Krankheitsbild der nicht-okklusiven Mesenterialischämie (NOMI), jedoch war die Darmischämie in unserem Tiermodell eine durch Okklusion der AMS bewirkte okklusive Mesenterialischämie.

Bei der Etablierung des Tiermodells wurde versucht, der klinischen Situation möglichst nahe zu kommen. Gleichzeitig war ein standardisiertes Versuchsprotokoll essenziell, um die Vergleichbarkeit zwischen den Versuchsgruppen zu gewährleisten. Für die Untersuchung wurden deutsche Hausschweine verwendet. Um eine klinisch relevante Aussage zu treffen, ist eine menschenähnliche Anatomie und Physiologie wichtig, wie sie bei den Tieren zutrifft. So sind das Herz, wie auch die viszerale Organe in ihrer makroskopischen und mikroskopischen Morphologie dem Menschen sehr ähnlich. Dies trifft auch auf den Aufbau des Gefäßsystems zu. Eine Reihe von vorausgegangenen Untersuchungen hat die Übertragbarkeit der Ergebnisse von Versuchen an Schweinen auf den Menschen belegt, somit ist diese Form des Tiermodells in der experimentellen Kardiologie und Herz-Thorax-Chirurgie anerkannt. Wesentlicher Nachteil des in dieser Untersuchung etablierten Modells ist die Verwendung gesunder Schweine. Phänomene, welche im Zusammenhang mit den systemischen Gefäßveränderungen im Rahmen der Atherosklerose stehen, werden hier nicht erfasst und schränken die klinische Relevanz der Aussage ein. Jedoch können so unter standardisierten Bedingungen die Einflüsse der Operationstechniken auf die viszerale Perfusion und Funktion gesichert werden. Zudem hatten die Schweine wesentlich höhere Vasopressinspiegel als dies durchschnittlich bei Menschen üblich ist. Daher können die Ergebnisse dieser tierexperimentellen Studie auf den Menschen nicht uneingeschränkt übertragen werden.

Bei der Durchführung der Narkose wurde wegen der Gefahr der malignen Hyperthermie auf inhalative Narkotika und Muskelrelaxantien verzichtet. Die durchgeführte totale intravenöse Anästhesie mit Thiopental, Piritramid brachte eine ausreichend tiefe, kontinuierliche Narkose. Sie wurde bis Versuchende aufrechterhalten, so dass sich eine Narkosedauer von zirka 8 bis 10 Stunden ergab.

Operiert wurde unter normothermen Bedingungen. Als Operationsmaterial wurden klinisch übliche Instrumente, Geräte, Abdeckmaterialien und andere Accessoires unter semisterilen Bedingungen verwendet. Die Anatomie des Schweins erforderte eine offene Präparation der Femoralgefäße, sowie auch eine Katheterisierung der Harnblase in offener Weise. Zur intensiven Untersuchung der Hämodynamik und Ermöglichung der Mikrosphärenuntersuchung wurden mehr Katheter als klinisch üblich implantiert. Der Zeitrahmen der Interventionsphase wurde in allen Gruppen auf 60 Minuten festgesetzt. Der Thorax wurden nach der Operation nicht wieder verschlossen, sondern blieb über den gesamten Versuchszeitraum eröffnet, um freien Zugang zum Herzen und den implantierten Kathetern zu gewährleisten.

### 5.2.1 Laborwerte

Hämatologische und serologische Laboranomalien wie Leukozytose, Neutrophilie oder metabolische Azidose treten häufig im Rahmen von akuter Mesenterialinsuffizienz auf, sie sind jedoch unspezifisch (Lock 2002; Archodovassilis, Lagoudiannakis et al. 2007). Als Determinanten einer suffizienten Gewebesperfusion dienen zahlreiche Parameter wie gemischtvenöse Sättigung, arterieller pH, Laktat- oder Kaliumspiegel (Knichwitz and Brussel 1997). Im Folgenden werden die von uns bestimmten Messwerte für Kalium, Laktat, und iFABP kurz erläutert:

Steigende Kaliumspiegel als Zeichen der Zellschädigung treten häufig unter Mesenterialischämie auf (Zanoni, Benabou et al. 2009) und gelten als präoperativer Risikofaktor der akuten Mesenterialischämie (Acosta-Merida, Marchena-Gomez et al. 2006). Postoperativ wird eine Laktatazidose mit Serumlaktatwerten  $> 1,5$  mmol/L häufig bei Patienten nach Anwendung der Herz-Lunge-Maschinen beobachtet und tritt in Folge der ischämisch bedingten anaeroben Stoffwechsellage bei inadäquater Gewebesperfusion auf (Landow 1993). Klinisch bedeutende Laktatmengen werden hierbei vor allem vom Gastrointestinaltrakt gebildet, vorwiegend im Zeitraum des kardiopulmonalen Bypasses. Daher wird die Bestimmung des Serumlaktats zur Abklärung der mesenterialen Ischämie eingesetzt, wobei dieser Parameter aufgrund unzu-

reichender Sensitivität und Spezifität nicht als Ausschlusskriterium gelten kann (Lange and Jackel 1994; Czerny, Trubel et al. 1997; Lock 2002).

Als sensitiver biochemischer Marker der frühen intestinalen Ischämie gilt das zytosolische intestinale fettsäurebindende Protein (iFABP). Es ist einzig in den Enterozyten des Magens, Dünndarms und des Kolons (Niewold, Meinen et al. 2004) und dient dort dem Schutz der Zellen durch die Bindung und den Transport von Fettsäuren. Da es besonders in den apikalen Mukosazellen der Villi exprimiert wird, an welchen sich eine Ischämie zuerst auswirkt (Gollin, Marks et al. 1993), gelangt es bei ischämischer Gewebsschädigung in den Kreislauf (Holmes, Lieberman et al. 2001). In einer Studie von Kanda et al. zeigte dieses Protein im Falle einer Mesenterialischämie eine Sensitivität von 100% (Kanda, Fujii et al. 1996). Durch weitere Autoren wurde ein signifikanter Anstieg von iFABP unter Mesenterialischämie bewiesen (Lieberman, Marks et al. 1998; Rahman, Ammori et al. 2003). Experimentell wurde an Ratten und Schweinen nach 30minütiger Okklusion der AMS ein Anstieg von iFABP korrelierend zum Zellschaden gezeigt (Kanda, Nakatomi et al. 1992; Gollin, Marks et al. 1993; Niewold, Meinen et al. 2004). Auch am Menschen steigt iFABP unter HLM und ist dabei positiv mit Messwerten der Entzündungsparameter IL-6 und IL-8 korreliert. Dies unterstützt die Hypothese, dass die Schädigung intestinalen Gewebes in die Entwicklung und das Ausmaß der systemischen Entzündungsreaktion, bzw. dem SIRS involviert ist (Hanssen, Derikx et al. 2008).

### 5.2.2 Intravitalmikroskopie (IVM)

Eine der wichtigsten Untersuchungsmethoden zur Beobachtung physiologischer und pathophysiologischer Vorgänge in der Endstrombahn stellt die Intravitalmikroskopie dar (Menger and Lehr 1993). Die Einführung von computergestützten Offline-Bildanalyse-Systemen ermöglichte die quantitative Analyse einzelner Parameter. Diese sind z. B. die funktionellen Kapillardichte, die Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten oder die Gefäßpermeabilitätserhöhung für Makromoleküle. Solche Parameter können dann durch Videoauswertung im Anschluss an das Experiment untersucht

werden (Klyscz, Junger et al. 1997). In unserer Studie wurde das Intravitalmikroskop zur Bestimmung der funktionellen Kapillardichte (=Gefäßdichte) verwendet.

Die Intravitalmikroskopie bietet eine sehr gute Möglichkeit zur Beobachtung der mikrohämodynamischen Situation in vivo (Warner, Bencosme et al. 1995) und gilt als Goldstandard der Mikrozirkulationsanalyse (Klar and Werner 2000). Ein wichtiger Punkt der Intravitalmikroskopie sowie des Laser Dopplers ist die Möglichkeit der Messung von Ausgangsbedingungen. Das ermöglichte den Vergleich mit Messungen in der Ischämie und Reperfusion. Hierbei konnte der individuelle Ischämie-/Reperfusionsschaden eines einzelnen Tieres bestimmt werden.

Das Intravitalmikroskop wurde freihand auf das Gewebe gelegt. Die Stelle wurde immer gleich gewählt. Im Messverlauf wurde das Jejunumgewebe bei den meisten Gruppen immer ödematöser, so dass die Bildqualität stetig schlechter wurde. Freihand ist der Druck auf das Gewebe nie vollkommen gleich, so dass es auch hier zu Messungenauigkeiten kam. Der einzige Parameter, den wir deswegen für auswertbar hielten, war die Kapillardichte des Gewebes pro Fläche.

### 5.2.3 **Laser Doppler**

Mit Hilfe des Laser Dopplers können Blutfluss und Sauerstoffsättigung im Zielgewebe kontinuierlich gemessen werden. Dabei werden mit einer Sonde zeitgleich Weißlicht (Wellenlänge 500 bis 800 nm und 20 W) und Laserlicht (Wellenlänge 839 nm und 30 mW) in das Gewebe appliziert ohne sich aufgrund der unterschiedlichen Wellenlängen gegenseitig zu beeinflussen (Bludau, Vallbohmer et al. 2008). Im Gewebe werden die Photonen an den Mitochondrien gestreut, anschließend von der Sonde wieder erfasst und ausgewertet. Die Erythrozyten absorbieren einen Teil des Weißlichtspektrums und reflektieren daraufhin Licht in der Wellenlänge des Hämoglobins, welches als Maß für die Sauerstoffsättigung der Erythrozyten gilt. Befindet sich eine große Blutmenge im Gewebe, ist die Änderung des Lichtspektrums intensiver. Über diesen Effekt kann die Blutmenge im Gewebe bestimmt werden. Das Laserlicht wird in gleicher Weise an den Mitochondrien gestreut und erfährt auf bewegten Erythrozyten eine Frequenzverschiebung (sog. Doppler Shift oder Dopplerverschiebung), über

welche die Geschwindigkeit der Erythrozyten, bzw. des Blutflusses bestimmt werden kann.

Damit die Sonden immer unter gleichen Bedingungen messen konnten, wurde die Sonde auf das Jejunum an eine vorher abgemessene Stelle genäht. Die intraluminale Magen- und Rektumsonde wurde jeweils bis zur markierten Kabelstelle vorgeschoben und so ohne invasives Verfahren angebracht, da das Vergehen dem klinischen Einsatz entsprechen sollte.

#### 5.2.4 RNA-Isolierung

Die RNeasy Methode der Firma QIAGEN ist eine gut etablierte Technologie zur RNA-Isolierung. Sie beruht auf der Verbindung zweier Techniken, der selektiven Bindungsfähigkeit einer Silicamembran mit der Microspintechnologie. Ein spezielles „High-salt“-Puffersystem erlaubt es, bis zu 100 µg RNA-Moleküle mit einer Länge ab 200 Basen an der Silicamembran zu binden. Dieses Verfahren stellt eine Bereicherung für die mRNA-Isolierung dar, weil die meisten RNAs < 200 Nukleotiden (diese machen 15-20 % der Gesamt-RNA aus, z.B. rRNA, tRNAs) selektiv ausgeschlossen werden.

Biologische Proben werden zunächst lysiert und homogenisiert. Der dafür verwendete Lysepuffer enthält stark denaturierendes Guanidinthiocyanat. Dies ist ein chaotropes Salz, das zur unmittelbaren Inaktivierung von RNasen führt, um die Isolierung von intakter RNA zu gewährleisten. Durch die Zugabe von Ethanol werden optimale Bedingungen für die anschließende Bindung der RNA an die Silicamembran geschaffen, die sich in der „RNeasy Mini spin column“ befindet. In mehreren Waschschritten werden dann Kontaminationen entfernt und die RNA mit 30-100 µl RNase-freiem Wasser von der Membran eluiert.

### 5.2.5 Photometrische Bestimmung der RNA

Die RNA ist die Grundlage für alle Untersuchungen zur Genexpression. Es ist daher wichtig, die Konzentration und die Reinheit der RNA-Lösungen zu kennen, damit in den folgenden Experimenten von jeder Probe die möglichst gleiche Menge RNA eingesetzt werden kann. Die photometrische Konzentrationsbestimmung ist also nicht nur eine Erfolgskontrolle der RNA-Isolierung, sondern kann auch eine Aussage über die Reinheit der Probe treffen. Die Konzentrationsbestimmung erfolgt mittels UV-Spektralphotometrie durch Messung der Extinktion bei einer Wellenlänge von 260 nm und 280 nm. Bei 260 nm liegt das Absorptionsmaximum von Nukleinsäuren (RNA, DNA) und bei 280 nm das von Proteinen und anderen aromatischen Verbindungen (z.B. Phenol). Die Extinktion von 1 bei 260 nm entspricht dabei 44 µg RNA pro ml ( $E_{260}=1 \rightarrow 44 \mu\text{g/ml}$ ) bzw. 50 µg DNA pro ml.

Die Konzentration der RNA-Lösung kann wie folgt berechnet werden (unter Berücksichtigung einer eventuellen Verdünnung):

$$\text{Konzentration der RNA-Probe} = 44 \mu\text{g/ml} \times E_{260} \times \text{Verdünnungsfaktor}$$

Die Reinheit der RNA-Probe lässt sich über den Quotienten der Extinktionen bei 260 nm und 280 nm bestimmen. Der Quotient  $E_{260\text{nm}}/E_{280\text{nm}}$  ist also ein Maß für die Kontamination mit Proteinen bzw. DNA. Der Quotient wird aber auch erheblich vom pH-Wert beeinflusst. Da Wasser nicht gepuffert ist, können der pH-Wert und der damit resultierende Quotient stark variieren. Niedriger pH resultiert in niedrigeren Quotienten und reduziert damit die Sensitivität für Proteinkontaminationen. Für genaue Werte sollte die Extinktion der RNA daher in 10 mM Tris/HCl-Puffer, pH 7,5, gemessen werden. Reine RNA hat darin einen Quotient  $E_{260\text{nm}}/E_{280\text{nm}}$  von 1,9-2,1. Niedrigere Werte lassen auf Verunreinigungen durch Proteine schließen. Bei höheren Werten befinden sich dagegen DNA-Kontaminationen in der RNA-Lösung.

### 5.2.6 cDNA-Synthese durch Reverse Transkription

Zur Analyse der Genexpression mittels RT-PCR muss die isolierte RNA der Gewebeproben in cDNA umgeschrieben werden. Prinzipiell wird durch die Polymerase Kettenreaktion DNA amplifiziert, wozu spezifische DNA-abhängige DNA-Polymerasen verwendet werden. Aus diesem Grund muss die mRNA zuerst in ihre komplementäre DNA-Sequenz (cDNA) umgeschrieben werden. Dies erfolgt mit Hilfe einer Reversen Transkriptase, eine RNA-abhängige DNA-Polymerase, die aus unterschiedlichen rekombinanten Retroviren gewonnen werden. Die Reverse Transkriptase benötigt einen sogenannten Primer, ein kurzes DNA-Stück, um sich an die mRNA anzulagern und die DNA-Synthese zu starten. Hierfür wird entweder ein Oligo-d(T)-Primer (besteht aus mehreren Thymin-Basen) verwendet, der sich an den Poly(A)-Schwanz am 3'-Ende der mRNA anlagert, oder es wird ein Random Hexamer-Primer verwendet, der aus sechs zufällig zusammengesetzten Nukleotiden besteht. Nachdem der Primer an die mRNA angelagert ist, kann die Reverse Transkriptase unter Verwendung der vier Nukleotide (dNTPs) die einzelsträngige cDNA herstellen, sodass ein RNA-DNA-Hybrid vorliegt. Der mRNA-Strang wird schließlich von der intrinsischen RNase H-Aktivität abgebaut.

### 5.2.7 Prinzip der Polymerase-Ketten-Reaktion

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) dient der enzymatischen in vitro-Amplifikation von DNA zum diagnostischen Nachweis und der Analyse in der molekularbiologischen Forschung (Saiki, Gelfand et al. 1988). Hierfür werden DNA-Polymerasen benötigt, die in Anwesenheit von Nucleotiden (dNTP's) die spezifisch an der zu amplifizierenden DNA bindenden Primer vom 3'-OH-Ende her verlängern. Dadurch wird der zu untersuchende DNA-Abschnitt vervielfältigt.

Dieser Prozess besteht aus mehreren Zyklen, die jeweils aus folgenden Schritten bestehen: Denaturierung (1), Annealing (2) und Amplifikation (3).

Durch das Erhitzen des DNA-Doppelstranges auf ca. 95 °C brechen die verbindenden Wasserstoffbrücken auf und die DNA wird in Einzelstränge getrennt (denaturiert). Die Anlagerung der Primer an die komplementäre Basenpaar-Sequenz der zu untersuchenden DNA erfolgt bei ca. 60°C. Durch die Temperaturerhöhung auf 72°C verlängert die DNA-Polymerase diese Primer und synthetisiert einen neuen DNA-Strang.

Mit jedem Zyklus wird das PCR-Produkt dabei exponentiell vermehrt.

### 5.2.8 Quantitative Real-Time PCR

#### Prinzip der Real-time-PCR

Zusätzlich zur Amplifizierung bietet die Real-time PCR die Möglichkeit der Quantifizierung produzierter DNA. Dies geschieht durch Fluoreszenzmessung während jedes Zyklus (daher die Bezeichnung `Real-time`) und nicht erst nach Ablauf der gesamten PCR. In der exponentiellen Phase der PCR, in der optimale Bedingungen herrschen, wird die Quantifizierung durch Messung der Fluoreszenzsignale spezifisch bindender Sonden durchgeführt. Die Stärke der Fluoreszenz verhält sich dabei proportional zur Menge der vermehrten DNA.

#### Prinzip der TaqMan-PCR

Die Real-time PCR nutzt die 5'-3'-Exonuklease Aktivität der AmpliTaq DNA Polymerase um eine fluorogene TaqMan®-Sonde während der Extensionsphase einer PCR zu spalten. Die Sonde besteht aus einem Oligonukleotid mit einem fluoreszenten Reporter-Farbstoff (Fluoreszein-Derivat, FAM) am 5`-Ende und einem Quencher-Farbstoff (Rhodamin-Derivat, NFQ-MGB) am 3`- Ende. Der Quencher ist

mit einem Phosphatrest blockiert, um eine Verlängerung des Sondenstrangs während der Extensionsphase zu verhindern (Abbildung 14).

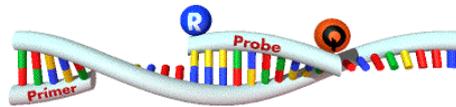


Abbildung 14: Hybridisierung von TaqMan Sonde und Primer am Matrizenstrang.

Bei der spezifischen Wellenlänge von 488 nm wird die intakte Sonde zur Fluoreszenz angeregt. Jedoch wird dieses Fluoreszenzsignal des Reporter-Farbstoffes durch die räumliche Nähe zum Quencher durch den sog. Fluoreszenz-Energietransfer (FET) unterdrückt. Hierbei gibt der Reporter einen Teil seiner Energie an den Quencher ab. Nimmt der Abstand zwischen beiden hingegen zu, nehmen FET und das Fluoreszenzsignal des Akzeptors ab, das Signal des Reporters steigt.

Während der Amplifikation trifft die TaqMan-Polymerase auf die Sonde und verdrängt diese. Die hierbei entstehende V-förmige Struktur führt zur Aktivierung der 5'-3'-Exonuklease Aktivität der Polymerase, woraufhin hybridisierte – nicht aber freie-Sonden gespalten werden (Abbildung 15).

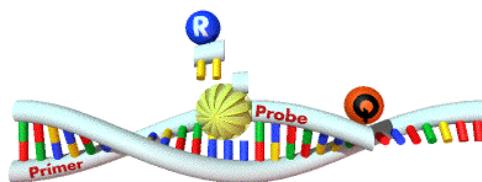


Abbildung 15: Exonukleaseaktivität TaqMan-Polymerase und Sondenhydrolyse

Durch die Sondenhydrolyse wird die räumliche Nähe zwischen Reporter und Quencher unterbrochen und das Fluoreszenzsignal des Reporters steigt mit jedem PCR-Zyklus entsprechend der Akkumulation des PCR-Produktes. (Abbildung 16)

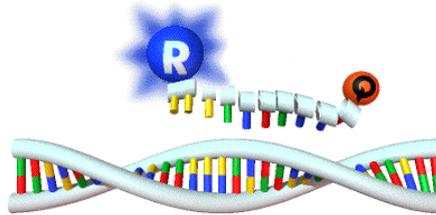


Abbildung 16: Amplifizierung und Reportersignalsverstärkung

Dieses SONDENSIGNAL kann nur detektiert werden, wenn die Sequenz der untersuchten DNA genau komplementär zu der der Sonde ist und diese während der PCR auch amplifiziert wird. Nicht 100% bindende Sondenmoleküle werden verdrängt, bevor die Exonukleaseaktivität der TaqMan-Polymerase aktiviert wird.

### 5.2.9 Reverse Transkription

Der zur Durchführung der Real-time PCR verwendete TaqMan® Gene Expression Master Mix (# 4369016) der Firma Applied Biosystems ist ein optimierter Puffer, der bis auf die zu amplifizierende cDNA, den Primern und der Sonde alle notwendigen Reagenzien beinhaltet: Statt dTTP wird bei den Desoxyribonukleotidtriphosphaten dUTP verwendet. Die AmpliTaq Gold® DNA Polymerase, UP (Ultra Pure) dient der Amplifizierung, während die Uracil-DNA Glykosylase (UDG) durch Entfernung von Uracil-Resten aus doppelsträngiger DNA verhindert, dass Kontaminationen vorhergehender PCR's reamplifiziert werden. ROX™ dient als Referenzfarbstoff bei der Normalisierung des „Reporter“-Signals während der Detektion, um dadurch Schwankungen im Fluoreszenzsignal, die auf Konzentrations- oder Volumenunterschieden basieren, korrigieren zu können.

Da Annealing und Extension zu einem Schritt zusammengefasst werden können, weil die AmpliTaq Gold Polymerase bei Temperaturen von  $>55^{\circ}\text{C}$  bereits aktiv ist, kann auf eine isolierte Extension bei  $72^{\circ}\text{C}$  verzichtet werden. Geringere Extensionstemperaturen resultieren in einer besseren Bindung der Sonde und dadurch in einer effizienteren Hydrolyse durch die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der AmpliTaq® DNA Polymerase. Dadurch wird das sequenzspezifische Fluoreszenzsignal verbessert.

### 5.2.10 Auswertung

Die Normalisierung zum Ausgleich von Konzentrations- oder Volumenschwankungen wie z.B. durch Pipettierfehler erfolgt automatisch mit Hilfe des passiven Referenzfarbstoffes ROX. Dazu wird der Quotient der Emissionsintensitäten von Reporterfarbstoff zu Referenzfarbstoff ROX gebildet ( $R_n$ ; Ratio normalized reporter). In der frühen Phase der PCR erfolgt noch kaum eine Änderung im Fluoreszenzsignal, hier wird das Hintergrundsignal bestimmt. Letztendlich dient der  $\Delta R_n$ -Wert als Maß für die Fluoreszenz. Dieser entspricht der Differenz des normalisierten „Reporter“-Signals ( $R_n$ ) vom Hintergrundsignal zu Anfang der PCR.

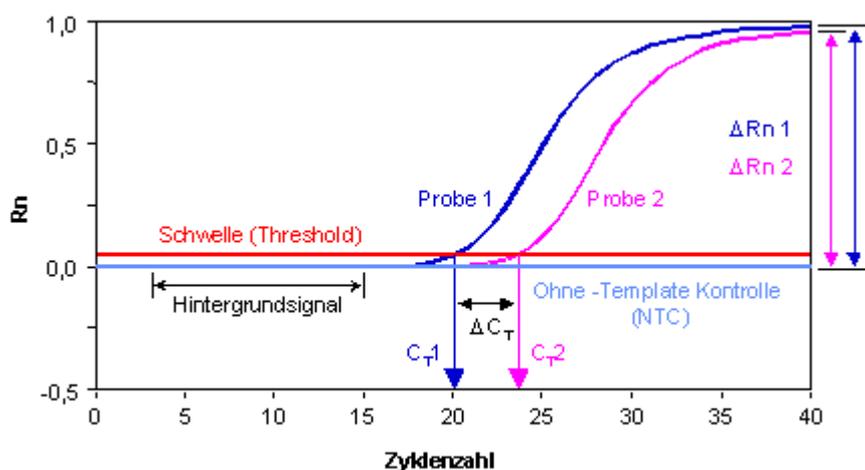


Abbildung 17 TaqMan Amplifikationsplot

Zur Quantifizierung der Genexpression wird der  $C_T$ -Wert (threshold cycle) bestimmt. Dieser Wert entspricht der Zyklenzahl, in der das Fluoreszenzsignal des Reporters beginnt, einen bestimmten Schwellenwert über der Grundlinie zu überschreiten. Um die Standardabweichung der Replikatgruppe gering zu halten, muss dieser Schwellenwert in der exponentiellen Phase der Amplifikationskurve liegen. Liegt der Wert zu tief, ist die Standardabweichung signifikant höher und umgekehrt. Je früher ein Schwellenwert erreicht wird und je niedriger der zugehörige  $C_T$ -Wert ist, desto höher ist die Ausgangskonzentration der Zielsequenz des Gens im zu untersuchenden Gewebe. Bei 100 %-iger Effizienz entspricht eine Verdoppelung der Startkopienzahl der Verringerung des  $C_T$ -Wertes um einen Zyklus.

Zur besseren Vergleichbarkeit wurde jedem Gen ein bestimmter Schwellenwert zugeordnet, der gruppenübergeordnet beibehalten wurde.

Tabelle 20 Schwellenwerte der Gene

<b>Vasopressin</b>	<b>Schwellenwert <math>\Delta R_n</math></b>
AVPR1A	0,15
AVPR2	0,02
<b>Haushaltsgen</b>	
HPRT1	0,08

Als Haushaltsgen diente die Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HPRT1, ein Enzym im Purin-Stoffwechsel der Eukaryonten). Dieses muss als Referenzgen ubiquitär vorkommen und konstant in allen Zelltypen in jedem Stadium des Zellzyklus und der Zelldifferenzierung umgeschrieben werden. Die Transkription eines Haushaltsgens sollte hierbei nicht von internen oder externen Einflüssen reguliert werden. HPRT1 gilt als gutes Referenzgen für Expressionsstudien verschiedener Gewebe des Schweins, besonders mit in geringer Konzentration vorhandener Transkripte des Gens (Nygard, Jorgensen et al. 2007). Studien zu HPRT1 unter Ischämie sind selten. Während Gubern et.al. (Gubern, Hurtado et al. 2009) durch eine in-vitro Studie an Zerebralarterien der Ratten HPRT1 als Referenzgen unter Ischämie ausschlossen, konnten sie HPRT1 als passendes Haushaltsgen für Ischämie Modelle in-vivo bestätigen.

Relative Quantifizierung:

Zur relativen Quantifizierung wurde die vergleichende  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  (Delta-Delta- $C_T$ ) Methode nach Livak et. al. (Livak and Schmittgen 2001) verwendet. Hierbei wird das PCR-Signal des Zielgens im zu untersuchenden Gewebe in Relation zu einem Referenzgewebe gesetzt und auf eine endogene Kontrolle - das Haushaltsgen – normalisiert. Der  $C_T$ -Wert der Zyklenanzahl, bei der das Fluoreszenzsignal das Hintergrundsignal überschreitet.

$\Delta C_T$  entspricht der Differenz des  $C_T$  Wertes des Zielgens von dem der endogenen Kontrolle.

$$\text{Formel 1: } \Delta C_T = C_{T \text{ Zielgen}} - C_{T \text{ endogene Kontrolle}}$$

Dieser  $\Delta C_T$  –Wert wird sowohl für das zu untersuchende Gewebe Magen, Jejunum oder Rektum (die eigentliche Probe), wie auch für das Referenzgewebe Oberschenkel (die Kontrolle) berechnet. Das bedeutet für die Probe: Wird  $\Delta C_T$  negativ, dann war in der Probe mehr Gen vorhanden, als in der Kontrolle (je geringer der  $C_T$  –Wert, desto höher die Ausgangskonzentration des Gens). Der  $\Delta C_T$  –Wert des Referenzgewebes gibt Auskunft über individuelle Schwankungen in der Genexpression der einzelnen Versuchstiere. Es wird vorausgesetzt, dass sich die  $\Delta C_T$  –Werte des Referenzgewebes nicht durch die verschiedenen Interventionen verändert haben.

Der  $\Delta\Delta C_T$ -Wert ergibt sich aus der Abweichung der  $C_T$  –Werte der beiden Gene in der Probe zu der Abweichung beider Gene im Referenzgewebe.

$$\text{Formel 2: } \Delta\Delta C_T = \Delta C_{T \text{ Probe}} - \Delta C_{T \text{ Referenzgewebe}}$$

Um nun endgültig die relative Quantifizierung bzw. den RQ-Wert bestimmen zu können, muss folgende Formel verwendet werden:

$$\text{Formel 3: } RQ = 2^{-\Delta\Delta C_T}$$

Hiermit erhält man die relative Genkopienzahl, die die x-fache Amplifikation (DNA) eines Zielgens gegenüber einem Referenzgewebes darstellt. Dabei wird für alle untersuchten Proben eine Verdopplung der DNA-Menge ( $E=2$ ) in jedem Zyklus angenommen.

---

Aussagekraft der Vasopressinbestimmung mittels Real-time PCR:

Durch die Vasopressinbestimmung mittels RT-PCR konnte die relative Expression dieses Gens in den untersuchten Gewebsstücken von Magen, Jejunum und Rektum untersucht werden. Hierbei konnte jedoch nicht unterschieden werden, welche Zellen genau dieses Gen exprimieren und ob es daher zu Schwankungen der Genexpression durch eventuell unterschiedliche Anteile bestimmter Zelltypen in den Proben kam. Zudem können über die mRNA-Bestimmung eines Gens durch die RT-PCR noch keine endgültigen Rückschlüsse auf die im Endeffekt tatsächlich stattfindende Translation in den zugehörigen Rezeptor innerhalb der jeweiligen Zelle gezogen werden. Dies könnte durch in-situ-Hybridisierung oder histochemische Untersuchungen über spezifische komplementäre Sonden oder Antikörper geschehen. In Ermangelung solcher Studien kann über die physiologische Bedeutung der mRNA Expression der Vasopressinrezeptoren im Gastrointestinaltrakt lediglich spekuliert werden (Monstein, Truedsson et al. 2008).

---

### 5.3 Diskussion der Ergebnisse

#### 5.3.1 Kontrollgruppe

In der Kontrollgruppe waren die aufgenommenen Messwerte im Laufe des Experimentes konstant.

#### 5.3.2 Gruppe der Darmischämie

Durch die experimentell vorgenommene vollständige Okklusion der Arteria mesenterica superior (AMS) kam es zur Ischämie, welche durch absolutes Sistieren des Blutflusses bewiesen wurde (siehe Tabelle 11 und Abbildung 3). Die dadurch entstehende deutliche Gewebsschädigung zeigte sich im Anstieg der venös gemessenen Laktat-, Kalium-, sowie iFABP-Konzentrationen (siehe Tabelle 23, Tabelle 24 und Tabelle 9).

Unter Ischämie kam es zur MAP- und SVR-Erhöhung (siehe Tabelle 22 und Tabelle 8), welche in der Reperfusionsphase jedoch signifikant absanken und so zu einer reaktiven Steigerung des HZV führten (siehe Tabelle 21).

Hinsichtlich der Vasopressin Rezeptor Genexpression konnten sowohl im Magen, Jejunum als auch Rektum unter Ischämie keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden (siehe Abbildung 8, Abbildung 10 und Abbildung 9). Auch im Verlauf des Vasopressinspiegels zeigte sich keine signifikante Auswirkung der Darmischämie, lediglich ein leichtes Absinken zum Zeitpunkt der Ischämie und in der späteren Reperfusion war zu bemerken (siehe Tabelle 1 und Tabelle 10).

Jejunum:

Von den drei untersuchten Organen Magen, Jejunum und Rektum wird das Jejunum als einziges von der AMS versorgt und war daher von der einstündigen Okklusion der AMS direkt betroffen. Dies wirkte sich in Ischämie-bedingten zellulären Schäden aus, welche durch die Parameter Blutfluss der AMS, mukosaler Blutfluss des Jejunums, mukosale Sauerstoffsättigung des Jejunums, perfundierte Gefäßdichte des Jejunums, sowie Kalium, Laktat, und iFABP aus der VMS nachgewiesen wurden (Rius, Escalante et al. 1979; Parks and Granger 1986; Schwilden 1990; Bottger, Jonas et al. 1991; Kanda, Fujii et al. 1996; Czerny, Trubel et al. 1997; Lieberman, Marks et al. 1998; Rahman, Ammori et al. 2003; Niewold, Meinen et al. 2004).

Aufgrund der vollständigen Okklusion der AMS wurde der mukosale Blutfluss signifikant reduziert (18,5 AU siehe Abbildung 5 und Abbildung 5). Diese geringen Restwerte lassen sich durch Pendelbewegungen von noch in den Kapillaren vorhandenem Blut erklären. Dennoch wurde in der Mukosa des Jejunums ein akuter Sauerstoffmangel gemessen (siehe Tabelle 26).

Zwei Minuten nach der Reperfusion erlangte der Blutfluss der AMS Werte der Kontrollgruppe und schoss dann anschließend nach 30 min bedingt durch das zeitgleich gesteigerte HZV signifikant darüber hinaus (siehe Tabelle 11 und Tabelle 21). Diese reaktive Hyperämie nach vorübergehender Reduktion des Blutflusses im GIT stimmt mit zahlreichen Studien überein und wurde sowohl unter Stimulation von vasokonstriktiven Fasern mesenterialer Gefäße als auch unter mechanischer Okklusion der AMS beobachtet (Fiore, Brienza et al. 2006). Der mukosale Blutfluss des Jejunums stieg jedoch wesentlich langsamer an, als dies durch die Perfusion der AMS möglich gewesen wäre und erreichte erst nach 30 min in etwa wieder Werte der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 13 und Abbildung 5). Grund hierfür könnte die Ausschüttung körpereigener vasokonstriktiver Substanzen als Reaktion auf die Ischämie sein, welche durch die Verengung von Kapillaren zur Erhaltung des Perfusionsdruckes beitragen (Boerma and Ince 2010). Diese könnten zu einem persistierenden Vasospasmus auch nach Wiederherstellen der Durchblutung geführt haben (Mutlu, Mutlu et al. 2001). Dafür spricht auch die unter den Ausgangsbedingungen zurückbleibende perfundierte Gefäßdichte des Jejunums in der Reperfusion (siehe Tabelle

15 und Abbildung 7). Im Gegensatz dazu stieg die mukosale Sauerstoffsättigung des Jejunums jedoch ab 30 min nach Reperfusion signifikant über die Vergleichsgruppen an. Dies könnte am Zusammenspiel der Faktoren reaktiv erhöhter Blutfluss der AMS und normalisiertem bzw. später vermehrtem mukosalen Blutfluss liegen bei noch verminderter perfundierter Gefäßdichte liegen. Dadurch könnten einzelne Gefäßbereiche möglicherweise noch immer minderversorgt sein, es jedoch zu einer geringeren Vermischung mit sauerstoffärmerem Blut der hypoxischen Areale kommen und so in einer scheinbar höheren Sauerstoffsättigung resultieren.

#### Magen:

Zum Zeitpunkt der Ischämie stieg der mukosale Blutfluss signifikant an, was vermutlich auf eine Umverteilung in Folge der Okklusion der AMS zurückzuführen ist (siehe Tabelle 12 und Abbildung 4). Hingegen sank die mukosale Sauerstoffsättigung unter Reperfusion signifikant und damit weitaus deutlicher, als durch den zu diesem Zeitpunkt bestehenden mukosalen Blutfluss leicht unter dem Ausgangsniveau zu erwarten gewesen wäre (siehe Tabelle 12 und Abbildung 4). Scheinbar wurde bei der nun wieder stattfindenden Perfusion des von der Okklusion der AMS direkt betroffenen Bereiches vermehrt Sauerstoff verbraucht. Darauf folgend war eine Hyperämie zu beobachten, wie sie in der Literatur häufig nach Ischämie beschrieben wird und hier vermutlich die verminderte mukosale Sauerstoffsättigung des Magens kompensierte.

#### Rektum:

Der mukosale Blutfluss im Rektum sank unter Reperfusion signifikant in Folge der Gefäßwiedereröffnung ab, um dann kurzzeitig deutlich anzusteigen (siehe Tabelle 14 und Abbildung 6). Die Okklusion an sich zeigte keine Auswirkungen auf den Blutfluss im Rektum. Jedoch kam es zum Zeitpunkt der Ischämie zu einem signifikanten Abfall der Sauerstoffsättigung trotz separater Gefäßversorgung des Rektums (siehe Tabelle 27), was auf Gefäßkollateralen zurückzuführen sein könnte oder ebenfalls auf einen erhöhten systemischen Sauerstoffverbrauch aufgrund der Gefäßwiedereröffnung.

### 5.3.3 Gruppe der Herz-Lungen-Maschine

Besonders die langandauernde Anwendung der HLM gilt als Risikofaktor für gastrointestinale Komplikationen (Spotnitz, Sanders et al. 1995; Perugini, Orr et al. 1997; Zacharias, Schwann et al. 2000; D'Ancona, Baillot et al. 2003). Zahlreiche Studien haben unter normothermer HLM eine mukosale Ischämie des Darms trotz adäquater globaler Perfusion festgestellt (Fiddian-Green and Baker 1987; Niinikoski and Kuttilla 1993; Ohri, Bjarnason et al. 1993; Tao, Zwischenberger et al. 1994; Tao, Zwischenberger et al. 1995). Diese Ischämie ist laut Tao et.al (Tao, Zwischenberger et al. 1995) zum einen durch eine mukosale Minderperfusion aufgrund von Vasokonstriktion und Blutumverteilung weg von der Mukosa bedingt. Zum anderen wird sie durch einen vermehrten Sauerstoffverbrauch hervorgerufen, welcher auf dem Boden der durch die HLM induzierten Entzündungsreaktion entsteht. So korrelieren die Veränderungen des SVR mit erhöhten Spiegeln von Zytokinen und Komplementfaktoren C3a und C5a (Ascione, Lloyd et al. 2000; Wan, Arifi et al. 2004), wobei der proinflammatorische Status nach herzchirurgischen Eingriffen auch wesentlich vom chirurgischen Trauma abhängt (Tatoulis, Rice et al. 2006).

Bei einigen unter HLM operierten Patienten wurde eine durch erhöhtes Herzzeitvolumen (HZV) und erniedrigten mittleren arteriellen Druck (MAP) charakterisierte hämodynamische Instabilität festgestellt (Cremer, Martin et al. 1996; Kristof and Magder 1999). Auch in unserem Versuch zeigte sich in der Reperfusion nach 30 min ein signifikanter Anstieg des Herzzeitvolumens, der bis zum Ende der Messungen bestehen blieb (siehe Tabelle 21). Umgekehrt traten im SVR und MAP während des gesamten Experimentes andauernde Absenkungen auf (siehe Tabelle 8 und Tabelle 22), weshalb die HZV-Erhöhung als Kompensationsmechanismus gesehen werden kann (Kristof and Magder 1999; Tatoulis, Rice et al. 2006; Matsuura, Imamaki et al. 2008).

Unter der HLM sank der Blutfluss der AMS leicht, aber nicht signifikant ab, was zum verminderten SVR und MAP bei noch unverändertem HZV passte. Unter Reperfusion 30, 60 und 90 min lag er jedoch trotz zu diesem Zeitpunkt stärker ge-

sunkenem SVR über den Ausgangsbedingungen. Diese Beobachtung könnte durch den reaktiven Anstieg des HZV bedingt sein.

### Jejunum:

In unserem Versuch führte die einstündige Anwendung der Herz-Lungen-Maschine im Jejunum zu einem signifikanten Abfall des mukosalen Blutflusses, der mukosalen Sauerstoffsättigung sowie der perfundierten Gefäßdichte. Die Laborparameter wiesen jedoch erwartungsgemäß weniger stark auf eine Ischämie hin als unter vollständiger Okklusion der AMS, der signifikante Anstieg von iFABP zeigte dennoch deutlich Zellschädigungen an (Rius, Escalante et al. 1979; Parks and Granger 1986; Schwilden 1990; Bottger, Jonas et al. 1991; Kanda, Fujii et al. 1996; Czerny, Trubel et al. 1997; Lieberman, Marks et al. 1998; Rahman, Ammori et al. 2003; Niewold, Meinen et al. 2004).

Mittels Intravitalmikroskopie wurde ein signifikanter Abfall der perfundierten jejunalen Gefäßdichte detektiert, der trotz leichtem Anstieg nach 60 min Reperfusion nicht wieder seinen normalen Level erreichte (siehe Tabelle 15 und Abbildung 7). Da der Blutfluss der AMS ursprünglich unter HLM nur leicht gefallen war um danach über den Ausgangsbedingungen zu liegen (siehe Tabelle 11 und Abbildung 3), muss es für die verminderte Gefäßperfusion eine Erklärung auf mikrozirkulatorischer Ebene geben. Diese könnte in der Öffnung von arterio-venöser Shuntgefäßen liegen (Weil and Shubin 1971; Bond and Levitt 1979; Boerma and Ince 2010), welche zur Hypoxie nachgeschalteter Bereiche der Mikrozirkulation in den Kapillaren führt (Ince, Ashruf et al. 1993). Shunt-Phänomene im GIT sind unter Sepsis beobachtet worden und dienen möglicherweise mit als Schutz vor der Einschwemmung von Bakterien und Endotoxinen aus dem Darmlumen. Daher ist es naheliegend, dass diese Shuntgefäße auch unter anderen systemischen Entzündungsreaktionen geöffnet werden können, wie sie z.B. unter HLM vielfach beschrieben wurden. Normalerweise wird die sympathische Vasokonstriktion bei Hypoxie reduziert, was durch eine flussabwärts in den Vili detektierte Verminderung der Sauerstoffsättigung ( $SO_2$ ) im Bereich der Venolen vermittelt wird (Boerma and Ince 2010). Das Shunting könnte diesen Regulierungsprozess durch falsch hohe  $SO_2$ -Werte stören und so über die Ver-

hinderung einer Vasodilatation zum Persistieren der Hypoxie führen (Asfar, Pierrot et al. 2003). Zu dieser Theorie passen der unter HLM auftretende signifikante Abfall der mukosalen Sauerstoffsättigung und des mukosalen jejunalen Blutflusses, da bei letzterem eigentlich ein gesteigerter Blutfluss entsprechend dem der AMS zu erwarten gewesen wäre.

Besonders auffällig war die enorme Vermehrung der Vasopressin Rezeptor Genexpression im Jejunum (siehe Abbildung 9). Parallel dazu kam es zu einem signifikanten Abfall des arteriell gemessenen Vasopressinspiegels während und nach der HLM (siehe Tabelle 10 und Abbildung 1). Niedrige Vasopressin (AVP) Spiegel führen zu einer Hochregulierung und Sensibilisierung der AVP Rezeptoren, welche auch als Ursache der Hypersensibilität gegenüber exogenem AVP unter septischen Schock diskutiert wird (Landry, Levin et al. 1997; Ertmer, Sielenkamper et al. 2005). Die dabei häufig auftretende Vasoplegie wurde der Verminderung von körpereigenem zirkulierendem AVP zugeschrieben (Fischer and Levin 2010). Zudem wurde in Studien beobachtet, dass erfolgreich reanimierte Patienten einen signifikant höheren Vasopressinspiegel gegenüber erfolglos reanimierten Patienten aufwiesen (Lindner, Strohmenger et al. 1992; Lindner, Haak et al. 1996). Wieso genau es zu einer Verminderung des AVP Spiegels gekommen ist und wie sich dieser letztendlich auf die Mikrozirkulation ausgewirkt hat, bleibt spekulativ. Man hat festgestellt, dass Vasopressin im Unterschied zu Katecholaminen die vasodilatativ wirkenden  $K^+$ ATP-Kanäle auf vaskulären glatten Muskelzellen hemmt und auch gegen weitere pathologisch aktivierte Vasodilationsmechanismen wirkt (Argenziano, Chen et al. 1998). Wir vermuten, dass unter Vasopressinmangel ein Öffnen der oben beschriebenen Shuntgefäße erfolgt.

Magen:

Durch zahlreiche Studien sind die negativen Auswirkungen der HLM auf die Perfusion der Magenmukosa bereits bekannt (Ohri, Bowles et al. 1997; Sicsic, Duranteau et al. 1998). Unter hypothermer nichtpulsatiler HLM wurde sogar eine 49%ige Reduktion der Perfusion beobachtet (Ohri, Bjarnason et al. 1993). Auch in unserem Versuch sank der mukosale Blutfluss unter HLM signifikant und pendelte sich im Laufe der Reperfusionzeit auf Werte leicht über den Ausgangsbedingungen ein (siehe Tabelle 12 und Abbildung 4). Währenddessen erreichte die mukosale Sauerstoffsättigung nach einem signifikanten Minimum unter HLM das ursprüngliche Niveau in den Reperfusionmessungen nicht wieder. Vermutlich ist diese Beobachtung ebenfalls durch Shuntöffnungen zu erklären. Die AVP Rezeptorexpression wurde auch hier unter dem systemischen Vasopressinabfall hochreguliert ( $AVPR1A > AVPR2$ , siehe Abbildung 8 und Abbildung 1).

Rektum:

Die Perfusionswerte des Rektums blieben während der HLM und der folgenden Reperfusionzeit für die Parameter mukosale Sauerstoffsättigung und mukosaler Blutfluss unter dem Niveau der Ausgangsbedingungen. Dieser Unterschied erwies sich jedoch als nicht signifikant (siehe Tabelle 27 und Tabelle 14). Die AVP Rezeptorexpression lag sogar leicht unter den Werten der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 18). Im Rektum hatte die Anwendung der Herz-Lungen-Maschine somit kaum Auswirkungen.

### 5.3.4 Gruppe HLM/Vasopressin

Als einziger Unterschied zur HLM-Gruppe wurde diesen Tieren unter HLM eine Vasopressindosis verabreicht, die den MAP konstant auf dem Niveau unter Ausgangsbedingungen halten sollte. Wie zu erwarten stieg der Vasopressinspiegel nach der Verabreichung sigifikant an. Anschließend sank er wieder ab und erreichte zum Zeitpunkt Reperfusion 90 min wie auch die Gruppe HLM ein Niveau signifikant unter den Ausgangsbedingungen und der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 10 und Abbildung 1). Nach HLM und Vasopressingabe stieg das HZV leicht, wenn auch signifikant, über die Ausgangsbedingungen, während der MAP stetig gefallen ist - was nach leichter Erhöhung bei HLM 20 min anschließend auch für den SVR gilt. Der Verlauf dieser Parameter ähnelte dem der Gruppe HLM, war jedoch weniger stark ausgeprägt, was für eine hämodynamische Stabilisierung durch Vasopressin spricht. Auch der Blutfluss der AMS entsprach dem Verlauf der HLM-Gruppe, jedoch waren die Flusswerte generell etwas niedriger ausgeprägt (siehe Tabelle 11 und). Zudem waren die iFABP-Werte in der Gruppe HLM/Vasopressin höher als in der Gruppe HLM, was auf einen stärkeren Zellschaden hindeutet (siehe Tabelle 9), der durch die gefäßverengende Wirkung von AVP zu Stande gekommen sein könnte.

#### Jejunum:

Im Gegensatz zu den Werten der AMS und des iFABP's, die für eine schlechte Versorgung der Mikrozirkulation sprechen, kam es unter HLM zu keinem Absinken des mukosalen Blutflusses. Erst nach Beendigung der Vasopressingabe fiel dieser auf ein der HLM-Gruppe entsprechenden Level (siehe Tabelle 13 und Abbildung 5). Trotz Abfall in der Gefäßdichtemessung war die Perfusion unter HLM mit Vasopressingabe besser als unter alleiniger HLM (siehe Tabelle 15 und Abbildung 7). Die Sauerstoffsättigung lag unter der HLM Anwendung signifikant über den verminderten Werten der Gruppe HLM und stieg anschließend auf Werte über dem Ausgangsniveau (siehe Tabelle 26). All dies spricht für eine Verbesserung der Mikrozirkulation im Jejunum unter Vasopressingabe. Zudem konnten keine wesentlichen Veränderungen in der Vasopressin Rezeptor Genexpression festgestellt werden (siehe Abbildung 9). Unsere Forschergruppe geht davon aus, dass die Verbesserung

der Mikrozirkulation im Jejunum unter Vasopressingabe durch das Schließen bzw. dem Verhindern der Öffnung von Shuntgefäßen zu Stande kam.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen wurde in anderen Studien jedoch auch einen Abfall der splanchnischen Perfusion durch Vasopressin belegt (Russell 2007). Häufig wird zur Begründung der pH- oder CO<sub>2</sub>-Wert des Magens (van Haren, Rozendaal et al. 2003; Hildebrand, Krejci et al. 2007) oder der Blutfluss der AMS herangezogen, um Rückschlüsse auf die Mukosa des Jejunums bzw. des gesamten GIT zu ziehen (Malay, Ashton et al. 2004; Hildebrand, Krejci et al. 2007). Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Blutfluss der AMS und dem der jejunalen Mukosa wurde jedoch lediglich durch eine Studie an Katzen nachgewiesen (Lote, Folling et al. 1981). Im Gegensatz dazu zeigte sowohl unsere Untersuchung als auch die Mehrheit anderer Studien keine Verbindung dieser Parameter (Wilson, Fisher et al. 1976; Tofukuji, Stahl et al. 2000; Malay, Ashton et al. 2004; Hildebrand, Krejci et al. 2007). Obwohl mehrfach von negativen Auswirkungen von AVP auf die Mukosa des Jejunums berichtet wurde, bei denen es meistens auch zu einem Abfall des HZV kam (Hildebrand, Krejci et al. 2007; Holt, Delaney et al. 2009; Nygren, Thoren et al. 2009), haben viele Studien keine Beeinträchtigung des jejunalen Blutflusses unter AVP Gabe festgestellt (Wilson, Fisher et al. 1976; Liard, Deriaz et al. 1982; Lauzier, Levy et al. 2006). In einem Rattenmodell wurde durch Vasopressin sogar eine signifikant höhere Überlebensrate nach mechanischer Okklusion der AMS ermittelt (Altura 1976). Zudem spielen in den meisten Studien weitere Zusatzfaktoren wie Vasoplegie oder Sepsis eine Rolle und häufig wird AVP in Ergänzung zu anderen Pressoren untersucht (Klinzing, Simon et al. 2003; van Haren, Rozendaal et al. 2003; Hildebrand, Krejci et al. 2007; Nygren, Thoren et al. 2009). Daher können Interaktionen zwischen diesen Faktoren meist nicht ausgeschlossen werden, da Vasopressin in der Lage ist, den vasokonstriktiven Effekt von Katecholaminen zu potenzieren (van Haren, Rozendaal et al. 2003).

### Magen:

Während im Jejunum eine Verbesserung der Mikrozirkulationswerte im Vergleich zur Gruppe HLM gemessen wurde, zeigte sich im Magen eine Verschlechterung. Unter HLM und Vasopressingabe sanken der mukosale Blutfluss und die mukosale Sauerstoffsättigung signifikant unter sämtliche Vergleichsgruppen ab (siehe Tabelle 12 und Tabelle 25). Zusätzlich kam es zu einer signifikanten Vermehrung der Vasopressin Rezeptor Genexpression (siehe Abbildung 8). Hinsichtlich unserer Theorie der Öffnung von Shuntgefäßen auch im Magen unter HLM zeigen diese Messwerte, dass im Magen durch Vasopressingabe keine positive Veränderung zu erreichen ist.

Laut Nygren et. al (Nygren, Thoren et al. 2009) führte AVP bei Patienten unter vasodilativem Schock zu einer dosisabhängigen Steigerung des arteriellen  $pCO_2$ -Gradienten des Magens um bis zu 80% und damit zu einer deutlichen Beeinträchtigung der mukosalen Perfusion. Hingegen wurde in einer klinischen Studie von Morelli et. al (Morelli, Rocco et al. 2004) unter Bolousgabe von Terlipressin sowohl eine Erhöhung des MAP als auch eine Verbesserung der mukosalen Perfusion des Magens beobachtet. Die Mehrzahl der Studien am Menschen zeigte jedoch eine Verschlechterung der Mikrozirkulation des Magens unter Vasopressingabe (Klinzing, Simon et al. 2003; van Haren, Rozendaal et al. 2003; Nygren, Thoren et al. 2009), ebenso zeigten Tierstudien zumeist negative Auswirkungen (Westphal, Freise et al. 2004; Hildebrand, Krejci et al. 2007) und entsprechen damit unseren Ergebnissen.

### Rektum:

Obwohl es unter alleiniger HLM kaum zu Veränderungen im Rektum gekommen war, zeigten sich unter zusätzlicher Vasopressingabe deutlich negative Auswirkungen. Sowohl der mukosale Blutfluss und Sauerstoffsättigung sanken signifikant, während die Vasopressin Genexpression im Rektum hingegen signifikant anstieg (siehe Tabelle 14 und Tabelle 27). Scheinbar verbessert sich die Mikrozirkulation unter HLM und Vasopressingabe lediglich im Jejunum und nicht in Magen oder Rektum.

### 5.1 Beantwortung der Fragestellungen

Unter Ischämie bzw. HLM kam es bei gleichbleibendem HZV in der Darmischämiegruppe zu einer SVR- und MAP-Erhöhung sowie auch in der HLM/Vasopressingruppe zu einer SVR Steigerung. Hingegen waren beide Parameter in der HLM-Gruppe vermindert. In allen Gruppen trat in der Reperfusion eine HZV-Erhöhung bei verminderten SVR-Werten auf, wobei das HZV in der HLM/Vasopressin-Gruppe geringer als in den gleich verlaufenden Gruppen Darmischämie und HLM anstieg. Insgesamt waren die hämodynamischen Parameter in der Gruppe HLM/Vasopressin am stabilsten.

Nach fast vollständigem Sistieren des Blutflusses unter Okklusion kam es unter Reperfusion in der Ischämiegruppe zur Hyperämie. Die Flusswerte in der A. mesenterica superior der Gruppe HLM/Vasopressin waren geringer als die der Gruppe HLM.

Die stärkste Minderversorgung in Bezug auf Mikrozirkulation des Jejunums trat unter Ischämie auf, gefolgt von alleiniger Anwendung der HLM. Am besten war die jejunale Perfusion unter HLM mit zusätzlicher Vasopressingabe. In der Reperfusion kam es durch Hyperämie in der Darmischämiegruppe zu den höchsten O<sub>2</sub>-Sättigungswerten. Nach Beendigung der Vasopressingabe glichen sich die Werte der Gruppe HLM/Vasopressin an die der HLM-Gruppe an.

In der Darmischämiegruppe blieben die Vasopressinspiegel auf Ausgangsniveau und sanken in der Gruppe HLM hingegen kontinuierlich ab. Nach der Vasopressingabe mit zu erwartendem Maximum sank der Spiegel in der Gruppe HLM/Vasopressin letztendlich auf einen gleich verminderten Stand wie in der HLM-Gruppe. Während es zu keiner Veränderung in den anderen Gruppen kam, stieg die Vasopressin Rezeptor Genexpression in der Gruppe HLM deutlich an.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es unter HLM zu einer Störung der Perfusion und Mikrozirkulation im Jejunum kam. Diese Beeinträchtigung auf mikrovaskulärer Ebene kann als pathogenetischer Faktor der NOMI gesehen werden, bei der das Jejunum mit am stärksten betroffen ist (Trompeter, Brazda et al. 2002). Durch die

zusätzlich zur HLM erfolgte Vasopressingabe konnte im Jejunum die Mikrozirkulation verglichen mit der HLM deutlich verbessert werden. Daher scheint die therapeutische Vasopressingabe trotz ihrer vasokonstriktorisches Wirkung einen AVP-Mangel im Jejunum unter Herz-Lungen-Maschine auszugleichen und so zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation beizutragen.

## 6 ANHANG

Tabelle 21 Herzzeitvolumen (l/min)

<u>Herzzeitvolumen</u> <u>[l/min]</u>	Ausgangs- bedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	4,0±0,1	3,9±0,2	3,8±0,2	3,8±0,1	3,8±0,2	3,8±0,1
Ischämie	3,8±0,2	3,9±0,2	3,6±0,2	4,4±0,2*#	4,6±0,3*#	4,3±0,2*#
HLM	3,7±0,1	3,7±0,1	3,8±0,1	4,4±0,2*#	4,6±0,1*#	4,5±0,1*#
HLM Vasopressin	3,7±0,1	3,7±0,1	3,4±0,1	4,0±0,1*	4,1±0,2*	3,8±0,2+

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

Tabelle 22 mittlerer arterieller Druck MAP (mmHg)

<u>Arterieller Mittel- druck [mmHg]</u>	Ausgangs- bedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	98,6±2,0	97,2±2,2	95,2±1,2	95,9±1,4	94,4±2,1	93,7±1,7
Ischämie	102,6±3,4	112,8±3,8*#+	68,6±3,5*#	92,8±3,4	91,1±3,6+	89,4±3,2+
HLM	101,0±3,8	75,7±2,9*#	68,5±3,2*#	84,4±3,3*#	75,7±3,3*#	74,3±3,3*#
HLM Vasopressin	96,6±1,5	96,6±1,5+	85,9±5,2	80,6±3,6*#	77,8±2,1*#	70,4±2,5*#

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

Tabelle 23 Laktatkonzentration (mmol/l)

<u>Differenz zwischen arterieller u. venöser Laktatkonzentration [mmol/l]</u>	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	-0,4±0,2	-0,2±0,1	-0,4±0,2	-0,2±0,1	-0,3±0,1	-0,2±0,1
Ischämie	-0,3±0,1	-3,5±0,7*#+	-2,2±0,3*#+	-1,1±0,2*#+	-0,9±0,2	-0,4±0,1
HLM	-0,1±0,1	-0,3±0,1	-0,6±0,1	0,1±0,1	-0,3±0,1	-0,4±0,1
HLM Vasopressin	-0,3±0,1	-0,9±0,1	-0,3±0,1	-0,2±0,1	-0,6±0,1	-0,6±0,1

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

Tabelle 24 venöses Kalium (mmol/l)

<u>Venöses Kalium [mmol/l]</u>	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	4,3±0,1	4,3±0,1	4,2±0,1	4,2±0,1	4,2±0,1	4,2±0,1
Ischämie	4,2±0,1	7,0±0,6*#	3,9±0,1	4,2±0,1	4,4±0,1	4,4±0,1
HLM	4,0±0,1	4,0±0,1	3,6±0,1	3,8±0,1	4,0±0,1	4,2±0,1
HLM Vasopressin	4,2±0,1	4,5±0,1	3,8±0,1	3,6±0,1	4,0±0,1	4,1±0,1

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

Tabelle 25 Mukosale Sauerstoffsättigung Magen (%)

Mukosale Sauerstoffsättigung Magen [%]	Ausgangsbedingungen	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
<b>Kontrollgruppe</b>	40,5±2,1	38,8±2,6	40,4±2,0	40,3±2,3	42,0±2,5	42,4±2,2
<b>Ischämie</b>	41,3±1,2	45,9±2,9+	19,6±2,6*#	41,1±0,9+	44,0±3,2+	45,6±3,0+
<b>HLM</b>	40,5±1,7	28,7±2,7*#	33,0±2,4*#	35,7±1,1*#	35,0±2,5*#	34,6±1,7*#
<b>HLM Vasopressin</b>	39,9±1,1	8,6±1,0*##+	21,7±2,2*##+	29,6±2,2*##+	38,7±1,8	37,7±2,0

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

Tabelle 26 mukosale Sauerstoffsättigung des Jejunums (%)

Jejunale mukosale Sauerstoffsättigung [%]	Ausgangsbedingung	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
<b>Kontrollgruppe</b>	62,4±2,1	62,9±2,0	62,5±1,8	63,3±1,6	60,3±1,4	59,5±1,2
<b>Ischämie</b>	61,2±1,6	9,8±1,4*##+	57,9±3,9	73,6±1,6*#	72,5±1,4*#	69,2±1,6*#
<b>HLM</b>	64,1±2,7	48,7±3,2*#	64,5±3,2	62,7±2,5	59,6±3,4	57,9±3,3
<b>HLM Vasopressin</b>	59,5±1,8	60,1±1,8+	68,9±1,6	68,5±0,9*	67,1±1,4*	63,8±1,0

±Standardabweichung, \*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung, # p<0,05 vs. Kontrollgruppe, +p<0,05 vs. HLM

Tabelle 27 mukosale Sauerstoffsättigung des Rektums (%)

<u>mukosale Sauerstoffsättigung Rektum [%]</u>	Ausgangsbedingungen	Ischämie 20min bzw. HLM	Reperfusion 2min	Reperfusion 30min	Reperfusion 60min	Reperfusion 90min
Kontrollgruppe	38,2±2,2	37,2±1,1	37,3±1,9	36,8±1,2	36,7±1,9	36,0±1,7
Ischämie	38,8±2,1	27,1±2,3*#+	30,0±1,7*#+	32,9±2,3	33,3±1,5	33,7±1,4
HLM	35,4±2,9	35,8±2,2	36,0±2,0	36,2±1,1	35,8±1,7	33,7±2,4
HLM Vasopressin	38,6±1,8	12,6±1,9*#+	22,9±1,6*#+	27,6±2,3*#+	35,6±2,2	35,2±1,7

±Standardabweichung,\*p<0,05 vs. Ausgangsbedingung,# p<0,05 vs. Kontrollgruppe,+p<0,05 vs. HLM

## 7 Literaturverzeichnis

- Aalberts, J. J., P. W. Boonstra, et al. (2009). "In-hospital mortality and three-year survival after repaired acute type A aortic dissection." Neth Heart J **17**(6): 226-231.
- Abboud, F. M., J. S. Floras, et al. (1990). "Role of vasopressin in cardiovascular and blood pressure regulation." Blood Vessels **27**(2-5): 106-115.
- Acosta-Merida, M. A., J. Marchena-Gomez, et al. (2006). "Identification of risk factors for perioperative mortality in acute mesenteric ischemia." World J Surg **30**(8): 1579-1585.
- Acosta, S., M. Ogren, et al. (2006). "Fatal nonocclusive mesenteric ischaemia: population-based incidence and risk factors." J Intern Med **259**(3): 305-313.
- Albes, J. M., R. Schistek, et al. (1991). "Intestinal ischemia associated with cardiopulmonary-bypass surgery: a life threatening complication." J Cardiovasc Surg (Torino) **32**(4): 527-533.
- Allen, K. B., A. A. Salam, et al. (1992). "Acute mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass." J Vasc Surg **16**(3): 391-395; discussion 395-396.
- Altura, B. M. (1976). "Microcirculatory approach to the treatment of circulatory shock with a new analog of vasopressin, (2-phenylalanine, 8-ornithine)vasopressin." J Pharmacol Exp Ther **198**(1): 187-196.
- Antonsson, J. B. and U. H. Haglund (1995). "Gut intramucosal pH and intraluminal PO<sub>2</sub> in a porcine model of peritonitis or haemorrhage." Gut **37**(6): 791-797.
- Archodovassilis, F., E. E. Lagoudiannakis, et al. (2007). "Nonocclusive mesenteric ischemia: a lethal complication in peritoneal dialysis patients." Perit Dial Int **27**(2): 136-141.
- Argenziano, M., J. M. Chen, et al. (1998). "Management of vasodilatory shock after cardiac surgery: identification of predisposing factors and use of a novel pressor agent." J Thorac Cardiovasc Surg **116**(6): 973-980.
- Argenziano, M., A. F. Choudhri, et al. (1997). "A prospective randomized trial of arginine vasopressin in the treatment of vasodilatory shock after left ventricular assist device placement." Circulation **96**(9 Suppl): II-286-290.
- Arvidsson, D., I. Rasmussen, et al. (1991). "Splanchnic oxygen consumption in septic and hemorrhagic shock." Surgery **109**(2): 190-197.
- Ascione, R., C. T. Lloyd, et al. (2000). "Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass." Ann Thorac Surg **69**(4): 1198-1204.
- Asfar, P., M. Pierrot, et al. (2003). "Low-dose terlipressin improves systemic and splanchnic hemodynamics in fluid-challenged endotoxic rats." Crit Care Med **31**(1): 215-220.
- Asfar, P., P. Radermacher, et al. (2006). "Vasopressin and splanchnic blood flow: vasoconstriction does not equal vasoconstriction in every organ." Intensive Care Med **32**(1): 21-23.

- 
- Asimakopoulos, G. and K. M. Taylor (1998). "Effects of cardiopulmonary bypass on leukocyte and endothelial adhesion molecules." Ann Thorac Surg **66**(6): 2135-2144.
- Baca, I., W. Bieger, et al. (1979). "Vergleichende Studie über pulsatilen und kontinuierlichen Fluss während des extracorporalen Kreislaufs. Auswirkungen auf die Leberfunktion und endokrine Pankreassekretion." Chir Forum Exp Klin Forsch: 49-53.
- Banda, M. A. and D. N. Granger (1996). "Mechanism and protection from ischemic intestinal injury." Transplant Proc **28**(5): 2595-2597.
- Barberis, C., B. Mouillac, et al. (1998). "Structural bases of vasopressin/oxytocin receptor function." J Endocrinol **156**(2): 223-229.
- Baumann, G. and J. F. Dingman (1976). "Distribution, blood transport, and degradation of antidiuretic hormone in man." J Clin Invest **57**(5): 1109-1116.
- Bernstein, D., D. Naftel, et al. (2006). "Outcome of listing for cardiac transplantation for failed Fontan: a multi-institutional study." Circulation **114**(4): 273-280.
- Bichet, D. G., M. Razi, et al. (1988). "Hemodynamic and coagulation responses to 1-desamino[8-D-arginine] vasopressin in patients with congenital nephrogenic diabetes insipidus." N Engl J Med **318**(14): 881-887.
- Biffi, W. L. and E. E. Moore (1996). "Splanchnic ischaemia/reperfusion and multiple organ failure." Br J Anaesth **77**(1): 59-70.
- Birnbaumer, M. (2000). "Vasopressin receptors." Trends Endocrinol Metab **11**(10): 406-410.
- Bludau, M., D. Vallbohmer, et al. (2008). "Quantitative measurement of gastric mucosal microcirculation using a combined laser Doppler flowmeter and spectrophotometer Evaluation of laser Doppler flowmetry in the assessment of intestinal blood flow in cat." Dis Esophagus **21**(7): 668-672.
- Boerma, E. C. and C. Ince (2010). "The role of vasoactive agents in the resuscitation of microvascular perfusion and tissue oxygenation in critically ill patients." Intensive Care Med **36**(12): 2004-2018.
- Boley, S. J., S. Sprayregan, et al. (1977). "Initial results from an aggressive roentgenological and surgical approach to acute mesenteric ischemia." Surgery **82**(6): 848-855.
- Bond, J. H. and M. D. Levitt (1979). "Use of microspheres to measure small intestinal villus blood flow in the dog." Am J Physiol **236**(5): E577-583.
- Bottger, T., J. Jonas, et al. (1991). "Sensitivitat der praoperativen Diagnostik beim Mesenterialgefassverschluss." Bildgebung **58**(4): 192-198.
- Bracht, H., P. Asfar, et al. (2007). "Vasopressin in vasodilatory shock: hemodynamic stabilization at the cost of the liver and the kidney?" Crit Care **11**(6): 178.
- Bradbury, A. W., J. Brittenden, et al. (1995). "Mesenteric ischaemia: a multidisciplinary approach." Br J Surg **82**(11): 1446-1459.

- 
- Brandt, L. J. and S. J. Boley (1991). "Nonocclusive mesenteric ischemia." Annu Rev Med **42**: 107-117.
- Braun, J. P., T. Schroeder, et al. (2004). "Splanchnic oxygen transport, hepatic function and gastrointestinal barrier after normothermic cardiopulmonary bypass." Acta Anaesthesiol Scand **48**(6): 697-703.
- Braun, J. P., T. Schroeder, et al. (2006). "Small-dose epoprostenol decreases systemic oxygen consumption and splanchnic oxygen extraction during normothermic cardiopulmonary bypass." Anesth Analg **102**(1): 17-24.
- Bucher, M., J. Hobbhahn, et al. (2002). "Cytokine-mediated downregulation of vasopressin V(1A) receptors during acute endotoxemia in rats." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **282**(4): R979-984.
- Bulkley, G. B., P. R. Kviety, et al. (1985). "Relationship of blood flow and oxygen consumption to ischemic injury in the canine small intestine." Gastroenterology **89**(4): 852-857.
- Byhahn, C., U. Strouhal, et al. (2001). "Incidence of gastrointestinal complications in cardiopulmonary bypass patients." World J Surg **25**(9): 1140-1144.
- Chaudhuri, N., J. James, et al. (2006). "Intestinal ischaemia following cardiac surgery: a multivariate risk model." Eur J Cardiothorac Surg **29**(6): 971-977.
- Chenoweth, D. E., S. W. Cooper, et al. (1981). "Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins." N Engl J Med **304**(9): 497-503.
- Chernow, B. and B. L. Roth (1986). "Pharmacologic manipulation of the peripheral vasculature in shock: clinical and experimental approaches." Circ Shock **18**(2): 141-155.
- Chieveley-Williams, S. and C. Hamilton-Davies (1999). "The role of the gut in major surgical postoperative morbidity." Int Anesthesiol Clin **37**(2): 81-110.
- Christenson, J. T., M. Schmuziger, et al. (1994). "Gastrointestinal complications after coronary artery bypass grafting." J Thorac Cardiovasc Surg **108**(5): 899-906.
- Christenson, J. T., M. Schmuziger, et al. (1994). "Postoperative visceral hypotension the common cause for gastrointestinal complications after cardiac surgery." Thorac Cardiovasc Surg **42**(3): 152-157.
- Clavien, P. A., C. Muller, et al. (1987). "Treatment of mesenteric infarction." Br J Surg **74**(6): 500-503.
- Cohn, S. M., M. P. Fink, et al. (1990). "LY171883 preserves mesenteric perfusion in porcine endotoxic shock." J Surg Res **49**(1): 37-44.
- Cremer, J., M. Martin, et al. (1996). "Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations." Ann Thorac Surg **61**(6): 1714-1720.

- 
- Czaczkas, J. W., C. R. Kleeman, et al. (1964). "PHYSIOLOGIC STUDIES OF ANTIDIURETIC HORMONE BY ITS DIRECT MEASUREMENT IN HUMAN PLASMA." J Clin Invest **43**: 1625-1640.
- Czerny, M., W. Trubel, et al. (1997). "[Acute mesenteric ischemia]." Zentralbl Chir **122**(7): 538-544.
- Czerny, M., W. Trubel, et al. (1997). "Die akute mesenteriale Ischämie." Zentralbl Chir **122**(7): 538-544.
- D'Ancona, G., R. Baillot, et al. (2003). "Determinants of gastrointestinal complications in cardiac surgery." Tex Heart Inst J **30**(4): 280-285.
- de Perrot, M., M. Liu, et al. (2003). "Ischemia-reperfusion-induced lung injury." Am J Respir Crit Care Med **167**(4): 490-511.
- den Ouden, D. T. and A. E. Meinders (2005). "Vasopressin: physiology and clinical use in patients with vasodilatory shock: a review." Neth J Med **63**(1): 4-13.
- Deng, M. C., B. Dasch, et al. (1996). "Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting." Ann Thorac Surg **62**(1): 184-190.
- Dietrich, W. (2000). "Cardiac surgery and the coagulation system." Curr Opin Anaesthesiol **13**(1): 27-34.
- Doig, C. J., L. R. Sutherland, et al. (1998). "Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients." Am J Respir Crit Care Med **158**(2): 444-451.
- Dreyer, W. J., S. C. Phillips, et al. (2000). "Interleukin 6 induction in the canine myocardium after cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **120**(2): 256-263.
- Dunser, M. W., A. J. Mayr, et al. (2001). "The effects of vasopressin on systemic hemodynamics in catecholamine-resistant septic and postcardiotomy shock: a retrospective analysis." Anesth Analg **93**(1): 7-13.
- Eckstein, H. H. (2003). "[Acute mesenteric ischemia. Resection or reconstruction?]." Chirurg **74**(5): 419-431.
- Eckstein, H. H. (2003). "Die akute mesenteriale Ischämie. Resektion oder Rekonstruktion?" Chirurg **74**(5): 419-431.
- Edwards, M. S., G. S. Cherr, et al. (2003). "Acute occlusive mesenteric ischemia: surgical management and outcomes." Ann Vasc Surg **17**(1): 72-79.
- Ende, N. (1958). "Infarction of the bowel in cardiac failure." N Engl J Med **258**(18): 879-881.
- Endean, E. D., S. L. Barnes, et al. (2001). "Surgical management of thrombotic acute intestinal ischemia." Ann Surg **233**(6): 801-808.
- Ericsson, B. F. (1971). "Hemodynamic effects of vasopressin. An experimental study in normovolemic and hypovolemic anesthetized dogs." Acta Chir Scand Suppl **414**: 1-29.

- 
- Ernst, S., B. Luther, et al. (2003). "[Current diagnosis and therapy of non-occlusive mesenteric ischemia]." Rofo **175**(4): 515-523.
- Ertel, W., M. Keel, et al. (1995). "Release of anti-inflammatory mediators after mechanical trauma correlates with severity of injury and clinical outcome." J Trauma **39**(5): 879-885; discussion 885-877.
- Ertmer, C., A. W. Sielenkamper, et al. (2005). "[Vasopressin and terlipressin in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. Effects on microcirculation, oxygen transport, metabolism and organ function]." Anaesthesist **54**(4): 346-356.
- Fiddian-Green, R. G. (1990). "Gut mucosal ischemia during cardiac surgery." Semin Thorac Cardiovasc Surg **2**(4): 389-399.
- Fiddian-Green, R. G. and S. Baker (1987). "Predictive value of the stomach wall pH for complications after cardiac operations: comparison with other monitoring." Crit Care Med **15**(2): 153-156.
- Fiddian Green, R. G. (1993). "Associations between intramucosal acidosis in the gut and organ failure." Crit Care Med **21**(2 Suppl): S103-107.
- Fiore, G., N. Brienza, et al. (2006). "Superior mesenteric artery blood flow modifications during off-pump coronary surgery." Ann Thorac Surg **82**(1): 62-67.
- Fischer, G. W. and M. A. Levin (2010). "Vasoplegia during cardiac surgery: current concepts and management." Semin Thorac Cardiovasc Surg **22**(2): 140-144.
- Folkow, B. (1967). "Regional adjustments of intestinal blood flow." Gastroenterology **52**(2): 423-432.
- Franke, A., W. Lante, et al. (2005). "Pro-inflammatory cytokines after different kinds of cardio-thoracic surgical procedures: is what we see what we know?" Eur J Cardiothorac Surg **28**(4): 569-575.
- Gainer, H. (1998). "Cell-specific gene expression in oxytocin and vasopressin magnocellular neurons." Adv Exp Med Biol **449**: 15-27.
- Gardeback, M., G. Settergren, et al. (2002). "Splanchnic blood flow and oxygen uptake during cardiopulmonary bypass." J Cardiothorac Vasc Anesth **16**(3): 308-315.
- Geelkerken, R. H., C. B. Lamers, et al. (1998). "Duodenal meal stimulation leads to coeliac artery vasoconstriction and superior mesenteric artery vasodilatation: an intra-abdominal ultrasound study." Ultrasound Med Biol **24**(9): 1351-1356.
- Geissler, H. J., U. M. Fischer, et al. (2006). "**Incidence and outcome of gastrointestinal complications after cardiopulmonary bypass.**" Interact Cardiovasc Thorac Surg **5**(3): 239-242.
- Germann, R., W. Hasibeder, et al. (1995). "Dopamine-1-receptor stimulation and mucosal tissue oxygenation in the porcine jejunum." Crit Care Med **23**(9): 1560-1566.
- Goldstein, I. M., M. Brai, et al. (1973). "Lysosomal enzyme release from human leukocytes: mediation by the alternate pathway of complement activation." J Immunol **111**(1): 33-37.

- 
- Gollin, G., C. Marks, et al. (1993). "Intestinal fatty acid binding protein in serum and urine reflects early ischemic injury to the small bowel." Surgery **113**(5): 545-551.
- Gosche, J. R. and R. N. Garrison (1991). "Prostaglandins mediate the compensatory responses to hemorrhage in the small intestine of the rat." J Surg Res **50**(6): 584-588.
- Granger, D. N., P. D. Richardson, et al. (1980). "Intestinal blood flow." Gastroenterology **78**(4): 837-863.
- Greenwald, D. A., L. J. Brandt, et al. (2001). "Ischemic bowel disease in the elderly." Gastroenterol Clin North Am **30**(2): 445-473.
- Gubern, C., O. Hurtado, et al. (2009). "Validation of housekeeping genes for quantitative real-time PCR in in-vivo and in-vitro models of cerebral ischaemia." BMC Mol Biol **10**: 57.
- Guillon, G., E. Grazzini, et al. (1998). "Vasopressin : a potent autocrine/paracrine regulator of mammal adrenal functions." Endocr Res **24**(3-4): 703-710.
- Guyton, A. C. and T. Q. Richardson (1961). "Effect of hematocrit on venous return." Circ Res **9**: 157-164.
- Haglund, U. and D. Bergqvist (1999). "Intestinal ischemia -- the basics." Langenbecks Arch Surg **384**(3): 233-238.
- Haisjackl, M., J. Birnbaum, et al. (1998). "Splanchnic oxygen transport and lactate metabolism during normothermic cardiopulmonary bypass in humans." Anesth Analg **86**(1): 22-27.
- Halm, M. A. (1996). "Acute gastrointestinal complications after cardiac surgery." Am J Crit Care **5**(2): 109-118; quiz 119-120.
- Hampton, W. W., M. C. Townsend, et al. (1989). "Effective hepatic blood flow during cardiopulmonary bypass." Arch Surg **124**(4): 458-459.
- Hanssen, S. J., J. P. Derikx, et al. (2008). "Visceral injury and systemic inflammation in patients undergoing extracorporeal circulation during aortic surgery." Ann Surg **248**(1): 117-125.
- Heltne, J. K., M. E. Koller, et al. (2000). "Dynamic evaluation of fluid shifts during normothermic and hypothermic cardiopulmonary bypass in piglets." Acta Anaesthesiol Scand **44**(10): 1220-1225.
- Hennein, H. A., H. Ebba, et al. (1994). "Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization." J Thorac Cardiovasc Surg **108**(4): 626-635.
- Hiltebrand, L. B., V. Krejci, et al. (2007). "Effects of vasopressin on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract in anesthetized pigs in septic shock." Anesthesiology **106**(6): 1156-1167.
- Holmes, C. L., D. W. Landry, et al. (2004). "Science Review: Vasopressin and the cardiovascular system part 2 - clinical physiology." Crit Care **8**(1): 15-23.

- 
- Holmes, C. L., B. M. Patel, et al. (2001). "Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock." Chest **120**(3): 989-1002.
- Holmes, J. H. t., J. M. Lieberman, et al. (2001). "Elevated intestinal fatty acid binding protein and gastrointestinal complications following cardiopulmonary bypass: a preliminary analysis." J Surg Res **100**(2): 192-196.
- Holt, D. B., R. R. Delaney, et al. (2009). "Effects of Combination Dobutamine and Vasopressin Therapy on Microcirculatory Blood Flow in a Porcine Model of Severe Endotoxic Shock." J Surg Res.
- Holzheimer, R. G., R. G. Molloy, et al. (1994). "IL-6 and TNF alpha release in association with neutrophil activation after cardiopulmonary bypass surgery." Infection **22**(1): 37-42.
- Huber, T. S., T. R. Harward, et al. (1995). "Operative mortality rates after elective infrarenal aortic reconstructions." J Vasc Surg **22**(3): 287-293; discussion 293-284.
- Hugli, T. E. (1978). "Chemical aspects of the serum anaphylatoxins." Contemp Top Mol Immunol **7**: 181-214.
- Ince, C., J. F. Ashruf, et al. (1993). "Heterogeneity of the hypoxic state in rat heart is determined at capillary level." Am J Physiol **264**(2 Pt 2): H294-301.
- Izbicki, J. R., C. G. Schneider, et al. (2003). "Partielle Ischämien Okklusive und nichtokklusive Darmischämie, ischämische Kolitis, systemischer Lupus erythematodes." Chirurg **74**(5): 413-418.
- Jansen, N. J., W. van Oeveren, et al. (1992). "Endotoxin release and tumor necrosis factor formation during cardiopulmonary bypass." Ann Thorac Surg **54**(4): 744-747; discussion 747-748.
- Jirik, F. R., T. J. Podor, et al. (1989). "Bacterial lipopolysaccharide and inflammatory mediators augment IL-6 secretion by human endothelial cells." J Immunol **142**(1): 144-147.
- Johnston, J. D., C. J. Harvey, et al. (1996). "Gastrointestinal permeability and absorptive capacity in sepsis." Crit Care Med **24**(7): 1144-1149.
- Jordan, J. E., Z. Q. Zhao, et al. (1999). "The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury." Cardiovasc Res **43**(4): 860-878.
- Kaleya, R. N. and S. J. Boley (1992). "Acute mesenteric ischemia: an aggressive diagnostic and therapeutic approach. 1991 Roussel Lecture." Can J Surg **35**(6): 613-623.
- Kaleya, R. N., R. J. Sammartano, et al. (1992). "Aggressive approach to acute mesenteric ischemia." Surg Clin North Am **72**(1): 157-182.
- Kanda, T., H. Fujii, et al. (1996). "Intestinal fatty acid-binding protein is a useful diagnostic marker for mesenteric infarction in humans." Gastroenterology **110**(2): 339-343.
- Kanda, T., Y. Nakatomi, et al. (1992). "Intestinal fatty acid-binding protein as a sensitive marker of intestinal ischemia." Dig Dis Sci **37**(9): 1362-1367.

- Kaufmann, J. E., M. Iezzi, et al. (2003). "Desmopressin (DDAVP) induces NO production in human endothelial cells via V2 receptor- and cAMP-mediated signaling." J Thromb Haemost **1**(4): 821-828.
- Kawamura, T., R. Wakusawa, et al. (1993). "Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury." Can J Anaesth **40**(11): 1016-1021.
- Khan, J. H., A. M. Lambert, et al. (2006). "Abdominal complications after heart surgery." Ann Thorac Surg **82**(5): 1796-1801.
- Khan, T. A., C. Bianchi, et al. (2007). "Differential effects on the mesenteric microcirculatory response to vasopressin and phenylephrine after cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **133**(3): 682-688.
- Kirklin, J. K., E. H. Blackstone, et al. (1987). "Cardiopulmonary bypass: studies on its damaging effects." Blood Purif **5**(2-3): 168-178.
- Kirklin, J. K., S. Westaby, et al. (1983). "Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **86**(6): 845-857.
- Klar, E. and J. Werner (2000). "Neue pathophysiologische Kenntnisse der akuten Pankreatitis." Chirurg **71**(3): 253-264.
- Klempnauer, J., F. Grothues, et al. (1997). "Acute mesenteric ischemia following cardiac surgery." J Cardiovasc Surg (Torino) **38**(6): 639-643.
- Klinzing, S., M. Simon, et al. (2003). "High-dose vasopressin is not superior to norepinephrine in septic shock." Crit Care Med **31**(11): 2646-2650.
- Klotz, S., T. Vestring, et al. (2001). "Diagnosis and treatment of nonocclusive mesenteric ischemia after open heart surgery." Ann Thorac Surg **72**(5): 1583-1586.
- Klyscz, T., M. Junger, et al. (1997). "Cap Image--ein neuartiges computerunterstütztes Videobildanalysesystem für die dynamische Kapillarmikroskopie." Biomed Tech (Berl) **42**(6): 168-175.
- Knichwitz, G. and T. Brussel (1997). "[Intramucosal pCO<sub>2</sub> measurement as gastrointestinal monitoring]." Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther **32**(8): 479-487.
- Knotzer, H., S. Maier, et al. (2006). "Arginine vasopressin does not alter mucosal tissue oxygen tension and oxygen supply in an acute endotoxemic pig model." Intensive Care Med **32**(1): 170-174.
- Kolkman, J. J. and P. B. Mensink (2003). "Non-occlusive mesenteric ischaemia: a common disorder in gastroenterology and intensive care." Best Pract Res Clin Gastroenterol **17**(3): 457-473.
- Kopel, T., M. R. Lossner, et al. (2008). "Systemic and hepatosplanchnic macro- and microcirculatory dose response to arginine vasopressin in endotoxic rabbits." Intensive Care Med **34**(7): 1313-1320.
- Kramer, S. C., J. Gorich, et al. (2003). "Non-okklusive Darmischämie: Radiologische Diagnostik und Therapie." Rofo **175**(9): 1177-1183.

- 
- Krasna, M. J., L. Flancbaum, et al. (1988). "Gastrointestinal complications after cardiac surgery." Surgery **104**(4): 773-780.
- Krejci, V., L. B. Hildebrand, et al. (2006). "Effects of epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract in sepsis." Crit Care Med **34**(5): 1456-1463.
- Kristof, A. S. and S. Magder (1999). "Low systemic vascular resistance state in patients undergoing cardiopulmonary bypass." Crit Care Med **27**(6): 1121-1127.
- Kumle, B., J. Boldt, et al. (2003). "Influence of prolonged cardiopulmonary bypass times on splanchnic perfusion and markers of splanchnic organ function." Ann Thorac Surg **75**(5): 1558-1564.
- Landow, L. (1993). "Splanchnic lactate production in cardiac surgery patients." Crit Care Med **21**(2 Suppl): S84-91.
- Landry, D. W., H. R. Levin, et al. (1997). "Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock." Circulation **95**(5): 1122-1125.
- Landry, D. W., H. R. Levin, et al. (1997). "Vasopressin pressor hypersensitivity in vasodilatory septic shock." Crit Care Med **25**(8): 1279-1282.
- Landry, D. W. and J. A. Oliver (1992). "The ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel mediates hypotension in endotoxemia and hypoxic lactic acidosis in dog." J Clin Invest **89**(6): 2071-2074.
- Lange, H. and R. Jackel (1994). "Usefulness of plasma lactate concentration in the diagnosis of acute abdominal disease." Eur J Surg **160**(6-7): 381-384.
- Larmi, T. K. and P. Karkola (1974). "Prolonged cardiopulmonary by-pass and liver function." Bull Soc Int Chir **33**(4): 241-253.
- Lauzier, F., B. Levy, et al. (2006). "Vasopressin or norepinephrine in early hyperdynamic septic shock: a randomized clinical trial." Intensive Care Med **32**(11): 1782-1789.
- Lawler, H. C. and V. Du Vigneaud (1953). "Enzymatic evidence for intrinsic oxytocic activity of the pressor-antidiuretic hormone." Proc Soc Exp Biol Med **84**(1): 114-116.
- Le Deist, F., P. Menasche, et al. (1996). "Patterns of changes in neutrophil adhesion molecules during normothermic cardiopulmonary bypass. A clinical study." Eur J Cardiothorac Surg **10**(4): 279-283.
- Leng, G., C. H. Brown, et al. (1999). "Physiological pathways regulating the activity of magnocellular neurosecretory cells." Prog Neurobiol **57**(6): 625-655.
- Levy, J. H. and K. A. Tanaka (2003). "Inflammatory response to cardiopulmonary bypass." Ann Thorac Surg **75**(2): S715-720.
- Levy, M. M., M. P. Fink, et al. (2003). "2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference." Crit Care Med **31**(4): 1250-1256.
- Liard, J. F., O. Deriaz, et al. (1982). "Cardiac output distribution during vasopressin infusion or dehydration in conscious dogs." Am J Physiol **243**(5): H663-669.

- 
- Lieberman, J. M., W. H. Marks, et al. (1998). "Organ failure, infection, and the systemic inflammatory response syndrome are associated with elevated levels of urinary intestinal fatty acid binding protein: study of 100 consecutive patients in a surgical intensive care unit." J Trauma **45**(5): 900-906.
- Lindner, K. H., B. Dirks, et al. (1997). "Randomised comparison of epinephrine and vasopressin in patients with out-of-hospital ventricular fibrillation." Lancet **349**(9051): 535-537.
- Lindner, K. H., T. Haak, et al. (1996). "Release of endogenous vasopressors during and after cardiopulmonary resuscitation." Heart **75**(2): 145-150.
- Lindner, K. H., H. U. Strohmenger, et al. (1992). "Stress hormone response during and after cardiopulmonary resuscitation." Anesthesiology **77**(4): 662-668.
- Livak, K. J. and T. D. Schmittgen (2001). "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method." Methods **25**(4): 402-408.
- Lock, G. (2002). "[Acute mesenteric ischemia--frequently overlooked and often fatal]." Med Klin (Munich) **97**(7): 402-409.
- Lock, G. (2002). "Die akute mesenteriale Ischämie--häufig übersehen und häufig letal." Med Klin (Munich) **97**(7): 402-409.
- Lock, G. and J. Scholmerich (1995). "Non-occlusive mesenteric ischemia." Hepatogastroenterology **42**(3): 234-239.
- Lote, K., M. Folling, et al. (1981). "Mesenteric arterial vasopressin in cats: local and systemic effects." AJR Am J Roentgenol **136**(5): 969-975.
- MacDonald, P. H. (2002). "Ischaemic colitis." Best Pract Res Clin Gastroenterol **16**(1): 51-61.
- Malay, M. B., J. L. Ashton, et al. (2004). "Heterogeneity of the vasoconstrictor effect of vasopressin in septic shock." Crit Care Med **32**(6): 1327-1331.
- Mamode, N., I. Pickford, et al. (1999). "Failure to improve outcome in acute mesenteric ischaemia: seven-year review." Eur J Surg **165**(3): 203-208.
- Mangi, A. A., E. R. Christison-Lagay, et al. (2005). "Gastrointestinal complications in patients undergoing heart operation: an analysis of 8709 consecutive cardiac surgical patients." Ann Surg **241**(6): 895-901; discussion 901-894.
- Marik, P. E. (2001). "Sublingual capnography: a clinical validation study." Chest **120**(3): 923-927.
- Mathie, R. T., S. K. Ohri, et al. (1997). "Hepatic blood flow during cardiopulmonary bypass operations: the effect of temperature and pulsatility." J Thorac Cardiovasc Surg **114**(2): 292-293.
- Matsuura, K., M. Imamaki, et al. (2008). "Low systemic vascular resistance state following off-pump coronary artery bypass grafting." Ann Thorac Cardiovasc Surg **14**(1): 15-21.

- 
- Matthews, J. G. and T. G. Parks (1976). "Ischaemic colitis in the experimental animal. I. Comparison of the effects of acute and subacute vascular occlusion." Gut **17**(9): 671-676.
- Menasche, P., S. Haydar, et al. (1994). "A potential mechanism of vasodilation after warm heart surgery. The temperature-dependent release of cytokines." J Thorac Cardiovasc Surg **107**(1): 293-299.
- Menger, M. D. and H. A. Lehr (1993). "Scope and perspectives of intravital microscopy--bridge over from in vitro to in vivo." Immunol Today **14**(11): 519-522.
- Mills, S. A. (1993). "Cerebral injury and cardiac operations." Ann Thorac Surg **56**(5 Suppl): S86-91.
- Moneta, G. L., G. A. Misbach, et al. (1985). "Hypoperfusion as a possible factor in the development of gastrointestinal complications after cardiac surgery." Am J Surg **149**(5): 648-650.
- Monstein, H. J., M. Truedsson, et al. (2008). "Vasopressin receptor mRNA expression in the human gastrointestinal tract." Eur Surg Res **40**(1): 34-40.
- Montani, J. P., J. F. Liard, et al. (1980). "Hemodynamic effects of exogenous and endogenous vasopressin at low plasma concentrations in conscious dogs." Circ Res **47**(3): 346-355.
- Morales, D., J. Madigan, et al. (1999). "Reversal by vasopressin of intractable hypotension in the late phase of hemorrhagic shock." Circulation **100**(3): 226-229.
- Morelli, A., M. Rocco, et al. (2004). "Effects of terlipressin on systemic and regional haemodynamics in catecholamine-treated hyperkinetic septic shock." Intensive Care Med **30**(4): 597-604.
- Morris, D. C., B. E. Dereczyk, et al. (1997). "Vasopressin can increase coronary perfusion pressure during human cardiopulmonary resuscitation." Acad Emerg Med **4**(9): 878-883.
- Mortasawi, A., B. Arnrich, et al. (2003). "Einfluss des Alters auf die postoperativen Komplikationen und Letalität in der Herzchirurgie." Herz **28**(5): 429-436.
- Musleh, G. S., N. C. Patel, et al. (2003). "Off-pump coronary artery bypass surgery does not reduce gastrointestinal complications." Eur J Cardiothorac Surg **23**(2): 170-174.
- Mutlu, G. M., E. A. Mutlu, et al. (2001). "GI complications in patients receiving mechanical ventilation." Chest **119**(4): 1222-1241.
- Mythen, M. G. and A. R. Webb (1994). "Intra-operative gut mucosal hypoperfusion is associated with increased post-operative complications and cost." Intensive Care Med **20**(2): 99-104.
- Mythen, M. G. and A. R. Webb (1994). "The role of gut mucosal hypoperfusion in the pathogenesis of post-operative organ dysfunction." Intensive Care Med **20**(3): 203-209.

- 
- Ng, C. S., S. Wan, et al. (2002). "Pulmonary dysfunction after cardiac surgery." Chest **121**(4): 1269-1277.
- Nielsen, D., J. Sellgren, et al. (1997). "Quality of life after cardiac surgery complicated by multiple organ failure." Crit Care Med **25**(1): 52-57.
- Nielsen, V. G., S. Tan, et al. (1996). "Gastric intramucosal pH and multiple organ injury: impact of ischemia-reperfusion and xanthine oxidase." Crit Care Med **24**(8): 1339-1344.
- Niewold, T. A., M. Meinen, et al. (2004). "Plasma intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) concentrations increase following intestinal ischemia in pigs." Res Vet Sci **77**(1): 89-91.
- Niinikoski, J. and K. Kuttilla (1993). "Adequacy of tissue oxygenation in cardiac surgery: regional measurements." Crit Care Med **21**(2 Suppl): S77-83.
- Nygaard, A. B., C. B. Jorgensen, et al. (2007). "Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR." BMC Mol Biol **8**: 67.
- Nygren, A., A. Thoren, et al. (2006). "Autoregulation of human jejunal mucosal perfusion during cardiopulmonary bypass." Anesth Analg **102**(6): 1617-1622.
- Nygren, A., A. Thoren, et al. (2009). "Vasopressin decreases intestinal mucosal perfusion: a clinical study on cardiac surgery patients in vasodilatory shock." Acta Anaesthesiol Scand **53**(5): 581-588.
- Ohri, S. K., J. Becket, et al. (1994). "Effects of cardiopulmonary bypass on gut blood flow, oxygen utilization, and intramucosal pH." Ann Thorac Surg **57**(5): 1193-1199.
- Ohri, S. K., I. Bjarnason, et al. (1993). "Cardiopulmonary bypass impairs small intestinal transport and increases gut permeability." Ann Thorac Surg **55**(5): 1080-1086.
- Ohri, S. K., C. W. Bowles, et al. (1997). "Effect of cardiopulmonary bypass perfusion protocols on gut tissue oxygenation and blood flow." Ann Thorac Surg **64**(1): 163-170.
- Ohri, S. K., S. Somasundaram, et al. (1994). "The effect of intestinal hypoperfusion on intestinal absorption and permeability during cardiopulmonary bypass." Gastroenterology **106**(2): 318-323.
- Ohri, S. K. and T. Velissaris (2006). "Gastrointestinal dysfunction following cardiac surgery." Perfusion **21**(4): 215-223.
- Olthof, C. G., P. G. Jansen, et al. (1995). "Interstitial fluid volume during cardiac surgery measured by means of a non-invasive conductivity technique." Acta Anaesthesiol Scand **39**(4): 508-512.
- Ori, Y., A. Chagnac, et al. (2005). "Non-occlusive mesenteric ischemia in chronically dialyzed patients: a disease with multiple risk factors." Nephron Clin Pract **101**(2): c87-93.
- Oudemans van Straaten, H. M., P. G. Jansen, et al. (1996). "Intestinal permeability, circulating endotoxin, and postoperative systemic responses in cardiac surgery patients." J Cardiothorac Vasc Anesth **10**(2): 187-194.

- 
- Overgaard, C. B. and V. Dzavik (2008). "Inotropes and vasopressors: review of physiology and clinical use in cardiovascular disease." Circulation **118**(10): 1047-1056.
- Oyama, J., H. Shimokawa, et al. (1998). "Role of nitric oxide and peroxynitrite in the cytokine-induced sustained myocardial dysfunction in dogs in vivo." J Clin Invest **101**(10): 2207-2214.
- Paparella, D., T. M. Yau, et al. (2002). "Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update." Eur J Cardiothorac Surg **21**(2): 232-244.
- Park, P. O., U. Haglund, et al. (1990). "The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion." Surgery **107**(5): 574-580.
- Parks, D. A. and D. N. Granger (1986). "Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation." Am J Physiol **250**(6 Pt 1): G749-753.
- Patel, B. M., D. R. Chittock, et al. (2002). "Beneficial effects of short-term vasopressin infusion during severe septic shock." Anesthesiology **96**(3): 576-582.
- Perugini, R. A., R. K. Orr, et al. (1997). "Gastrointestinal complications following cardiac surgery. An analysis of 1477 cardiac surgery patients." Arch Surg **132**(4): 352-357.
- Phillips, P. A., J. M. Abrahams, et al. (1990). "Localization of vasopressin binding sites in rat tissues using specific V1 and V2 selective ligands." Endocrinology **126**(3): 1478-1484.
- Powers, F. M., R. Pifarre, et al. (1994). "Ventricular dysfunction in norepinephrine-induced cardiomyopathy." Circ Shock **43**(3): 122-129.
- Rahman, S. H., B. J. Ammori, et al. (2003). "Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis." J Gastrointest Surg **7**(1): 26-35; discussion 35-26.
- Redfors, S., D. A. Hallback, et al. (1984). "Blood flow distribution, villous tissue osmolality and fluid and electrolyte transport in the cat small intestine during regional hypotension." Acta Physiol Scand **121**(3): 193-209.
- Reilly, P. M. and G. B. Bulkley (1993). "Vasoactive mediators and splanchnic perfusion." Crit Care Med **21**(2 Suppl): S55-68.
- Riddington, D. W., B. Venkatesh, et al. (1996). "Intestinal permeability, gastric intramucosal pH, and systemic endotoxemia in patients undergoing cardiopulmonary bypass." JAMA **275**(13): 1007-1012.
- Ritz, J. P., N. Runkel, et al. (1997). "[Prognostic factors in mesenteric infarct]." Zentralbl Chir **122**(5): 332-338.
- Rius, X., J. F. Escalante, et al. (1979). "Mesenteric infarction." World J Surg **3**(4): 489-493.
- Rudy, L. W., Jr., M. A. Heymann, et al. (1973). "Distribution of systemic blood flow during cardiopulmonary bypass." J Appl Physiol **34**(2): 194-200.
- Russell, J. A. (2007). "Vasopressin in vasodilatory and septic shock." Curr Opin Crit Care **13**(4): 383-391.

- 
- Sablutzki, A., I. Friedrich, et al. (2002). "The systemic inflammatory response syndrome following cardiac surgery: different expression of proinflammatory cytokines and procalcitonin in patients with and without multiorgan dysfunctions." Perfusion **17**(2): 103-109.
- Saiki, R. K., D. H. Gelfand, et al. (1988). "Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase." Science **239**(4839): 487-491.
- Sakorafas, G. H. and G. G. Tsiotos (1999). "Intra-abdominal complications after cardiac surgery." Eur J Surg **165**(9): 820-827.
- Schutz, A., W. Eichinger, et al. (1998). "Acute mesenteric ischemia after open heart surgery." Angiology **49**(4): 267-273.
- Schwarte, L. A., A. Fournell, et al. (2005). "Redistribution of intestinal microcirculatory oxygenation during acute hemodilution in pigs." J Appl Physiol **98**(3): 1070-1075.
- Schwartzkopff, B. and M. Hennersdorf (2005). "[Influence of cardiac circulation and medication on the perfusion of the intestine]." Zentralbl Chir **130**(3): 218-222.
- Schwilden, E. D. (1990). "Physiologie und Pathophysiologie der intestinalen Zirkulation." Langenbecks Arch Chir Suppl II Verh Dtsch Ges Chir: 285-290.
- Scott, L. V. and T. G. Dinan (1998). "Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: implications for the pathophysiology of depression." Life Sci **62**(22): 1985-1998.
- Seghaye, M., J. Duchateau, et al. (1996). "Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations." J Thorac Cardiovasc Surg **111**(3): 545-553.
- Sicsic, J. C., J. Duranteau, et al. (1998). "Gastric mucosal oxygen delivery decreases during cardiopulmonary bypass despite constant systemic oxygen delivery." Anesth Analg **86**(3): 455-460.
- Siegelman, S. S., S. Sprayregen, et al. (1974). "Angiographic diagnosis of mesenteric arterial vasoconstriction." Radiology **112**(3): 533-542.
- Simon, J. and B. G. Kasson (1995). "Identification of vasopressin mRNA in rat aorta." Hypertension **25**(5): 1030-1033.
- Sitges Serra, A., X. Mas, et al. (1988). "Mesenteric infarction: an analysis of 83 patients with prognostic studies in 44 cases undergoing a massive small-bowel resection." Br J Surg **75**(6): 544-548.
- Spotnitz, W. D., R. P. Sanders, et al. (1995). "General surgical complications can be predicted after cardiopulmonary bypass." Ann Surg **221**(5): 489-496; discussion 496-487.
- Stockmann, H., U. J. Roblick, et al. (2000). "[Diagnosis and therapy of non-occlusive mesenteric ischemia (NOMI)]." Zentralbl Chir **125**(2): 144-151.
- Stockmann, H., U. J. Roblick, et al. (2000). "Diagnostik und Therapie der nicht-okklusiven mesenterialen Ischämie (NOMI)." Zentralbl Chir **125**(2): 144-151.

- 
- Syk, I., J. Brunkwall, et al. (1998). "Postoperative fever, bowel ischaemia and cytokine response to abdominal aortic aneurysm repair--a comparison between endovascular and open surgery." Eur J Vasc Endovasc Surg **15**(5): 398-405.
- Tao, W., J. B. Zwischenberger, et al. (1995). "Gut mucosal ischemia during normothermic cardiopulmonary bypass results from blood flow redistribution and increased oxygen demand." J Thorac Cardiovasc Surg **110**(3): 819-828.
- Tao, W., J. B. Zwischenberger, et al. (1994). "Hypertonic saline/dextran for cardiopulmonary bypass reduces gut tissue water but does not improve mucosal perfusion." J Surg Res **57**(6): 718-725.
- Tatoulis, J., S. Rice, et al. (2006). "Patterns of postoperative systemic vascular resistance in a randomized trial of conventional on-pump versus off-pump coronary artery bypass graft surgery." Ann Thorac Surg **82**(4): 1436-1444.
- Taylor, D. C., T. M. Houston, et al. (1996). "Follow-up of renal and mesenteric artery revascularization with duplex ultrasonography." Can J Surg **39**(1): 17-20.
- Taylor, D. E. (1998). "Revving the motor of multiple organ dysfunction syndrome. Gut dysfunction in ARDS and multiorgan failure." Respir Care Clin N Am **4**(4): 611-631, vii-viii.
- Taylor, K. M., W. H. Bain, et al. (1980). "The role of angiotensin II in the development of peripheral vasoconstriction during open-heart surgery." Am Heart J **100**(6 Pt 1): 935-937.
- Thibonnier, M., L. N. Berti-Mattera, et al. (1998). "Signal transduction pathways of the human V1-vascular, V2-renal, V3-pituitary vasopressin and oxytocin receptors." Prog Brain Res **119**: 147-161.
- Thibonnier, M., P. Coles, et al. (2000). "A molecular model of agonist and nonpeptide antagonist binding to the human V(1) vascular vasopressin receptor." J Pharmacol Exp Ther **294**(1): 195-203.
- Thoren, A., M. Elam, et al. (2001). "Jejunal mucosal perfusion is well maintained during mild hypothermic cardiopulmonary bypass in humans." Anesth Analg **92**(1): 5-11.
- Tofukuji, M., G. L. Stahl, et al. (2000). "Mesenteric dysfunction after cardiopulmonary bypass: role of complement C5a." Ann Thorac Surg **69**(3): 799-807.
- Treschan, T. A. and J. Peters (2006). "The vasopressin system: physiology and clinical strategies." Anesthesiology **105**(3): 599-612; quiz 639-540.
- Trompeter, M., T. Brazda, et al. (2002). "Non-occlusive mesenteric ischemia: etiology, diagnosis, and interventional therapy." Eur Radiol **12**(5): 1179-1187.
- Tsiotos, G. G., C. J. Mullany, et al. (1994). "Abdominal complications following cardiac surgery." Am J Surg **167**(6): 553-557.
- Umino, T., E. Kusano, et al. (1999). "AVP inhibits LPS- and IL-1beta-stimulated NO and cGMP via V1 receptor in cultured rat mesangial cells." Am J Physiol **276**(3 Pt 2): F433-441.

- 
- van Bommel, J., A. Trouwborst, et al. (2002). "Intestinal and cerebral oxygenation during severe isovolemic hemodilution and subsequent hyperoxic ventilation in a pig model." Anesthesiology **97**(3): 660-670.
- van Haren, F. M., F. W. Rozendaal, et al. (2003). "The effect of vasopressin on gastric perfusion in catecholamine-dependent patients in septic shock." Chest **124**(6): 2256-2260.
- Voelckel, W. G., V. A. Convertino, et al. (2010). "Vasopressin for hemorrhagic shock management: revisiting the potential value in civilian and combat casualty care." J Trauma **69 Suppl 1**: S69-74.
- Wakatsuki, T., Y. Nakaya, et al. (1992). "Vasopressin modulates K(+)-channel activities of cultured smooth muscle cells from porcine coronary artery." Am J Physiol **263**(2 Pt 2): H491-496.
- Wan, I. Y., A. A. Arifi, et al. (2004). "Beating heart revascularization with or without cardiopulmonary bypass: evaluation of inflammatory response in a prospective randomized study." J Thorac Cardiovasc Surg **127**(6): 1624-1631.
- Wan, S., J. M. DeSmet, et al. (1996). "Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass." J Thorac Cardiovasc Surg **112**(3): 806-811.
- Wan, S., J. L. LeClerc, et al. (1997). "Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies." Chest **112**(3): 676-692.
- Wan, S., A. Marchant, et al. (1996). "Human cytokine responses to cardiac transplantation and coronary artery bypass grafting." J Thorac Cardiovasc Surg **111**(2): 469-477.
- Wan, S. and A. P. Yim (2001). "Multi-organ protection during open heart surgery." Chin Med J (Engl) **114**(1): 3-8.
- Warner, A., A. Bencosme, et al. (1995). "Prognostic role of antioxidant enzymes in sepsis: preliminary assessment." Clin Chem **41**(6 Pt 1): 867-871.
- Watkins, W. D., M. B. Peterson, et al. (1982). "Thromboxane and prostacyclin changes during cardiopulmonary bypass with and without pulsatile flow." J Thorac Cardiovasc Surg **84**(2): 250-256.
- Wattanasirichaigoon, S., M. J. Menconi, et al. (1999). "Effect of mesenteric ischemia and reperfusion or hemorrhagic shock on intestinal mucosal permeability and ATP content in rats." Shock **12**(2): 127-133.
- Weil, M. H. and H. Shubin (1971). "Proposed reclassification of shock states with special reference to distributive defects." Adv Exp Med Biol **23**(0): 13-23.
- Wenzel, V., K. H. Lindner, et al. (1998). "Vasopressin combined with nitroglycerin increases endocardial perfusion during cardiopulmonary resuscitation in pigs." Resuscitation **38**(1): 13-17.
- Wenzel, V., K. H. Lindner, et al. (1999). "Vasopressin improves vital organ blood flow after prolonged cardiac arrest with postcountershock pulseless electrical activity in pigs." Crit Care Med **27**(3): 486-492.

- 
- Westaby, S. (1987). "Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit." Intensive Care Med **13**(2): 89-95.
- Westphal, M., H. Freise, et al. (2004). "Arginine vasopressin compromises gut mucosal microcirculation in septic rats." Crit Care Med **32**(1): 194-200.
- Wiesner, W., B. Khurana, et al. (2003). "CT of acute bowel ischemia." Radiology **226**(3): 635-650.
- Wilcox, M. G., T. J. Howard, et al. (1995). "Current theories of pathogenesis and treatment of nonocclusive mesenteric ischemia." Dig Dis Sci **40**(4): 709-716.
- Wilson, S. E., S. L. Fisher, et al. (1976). "Effect of vasopressin on mesenteric blood flow determined by the clearance of radioxenon." J Surg Res **20**(3): 237-242.
- Yankah, A. C., Y. Weng, et al. (1996). "Freehand subcoronary aortic valve and aortic root replacement with cryopreserved homografts: intermediate term results." J Heart Valve Dis **5**(5): 498-504.
- Yilmaz, A. T., M. Arslan, et al. (1996). "Gastrointestinal complications after cardiac surgery." Eur J Cardiothorac Surg **10**(9): 763-767.
- Zacharias, A., T. A. Schwann, et al. (2000). "Predictors of gastrointestinal complications in cardiac surgery." Tex Heart Inst J **27**(2): 93-99.
- Zahler, S., P. Massoudy, et al. (1999). "Acute cardiac inflammatory responses to postischemic reperfusion during cardiopulmonary bypass." Cardiovasc Res **41**(3): 722-730.
- Zanoni, F. L., S. Benabou, et al. (2009). "Mesenteric microcirculatory dysfunctions and translocation of indigenous bacteria in a rat model of strangulated small bowel obstruction." Clinics (Sao Paulo) **64**(9): 911-919.
- Zenteno-Savin, T., I. Sada-Ovalle, et al. (2000). "Effects of arginine vasopressin in the heart are mediated by specific intravascular endothelial receptors." Eur J Pharmacol **410**(1): 15-23.

## 8 DANKSAGUNG

Ganz besonderer Dank geht an Frau Lena Gläser, cand. med. der Universität des Saarlandes, mit der ich zusammen diese Experimente umsetzen konnte, für ihre Ausdauer und Hilfsbereitschaft und vor allem für die schöne Zeit im Labor.

Herrn Univ. Prof. Dr. med. H.-J. Schäfers (Direktor der Abteilung für Thorax- und Herz- Gefäßchirurgie der Universitätsklinik des Saarlandes) danke ich für die Ermöglichung und Unterstützung dieser Doktorarbeit und ganz besonders für die viele Mühe, Zeit und zahlreichen Anregungen.

Vielen Dank an Hagen Bomberg, Stephan Flache und Dr. Benjamin Bierbach für die experimentelle Vorarbeit. Insbesondere herzlichen Dank an Dr. M.D. Menger sowie das gesamte Team, das für die Planung und Durchführung der Experimente mit verantwortlich war. Besonderer Dank geht an Herrn Hagen Bomberg, für seine großzügige Unterstützung bei dieser Doktorarbeit, die unglaubliche Geduld und die freizügige Hilfe, sowie die viele Motivation. Ich danke Frau D. Bandner-Risch für ihr Engagement und die Geduld bei der Einführung in die Labortechniken. Ebenso Herrn Dr. med. H.-V. Groesdonk, OA. der Intensivstation der Universitätsklinik des Saarlandes, für die Betreuung und Ratschläge.

---