

# Klinische Feldstudie zur Evaluierung und Graduierung histomorphologischer Veränderungen ischämischer Dün- oder Dickdarmregionen nach Strangulation

Maike Breitenstein<sup>1</sup>, Tobias Theuß<sup>2</sup>, Heinz-Adolf Schoon<sup>2</sup>, Rosa Barsnick<sup>3</sup>, Ulrich Walliser<sup>3</sup>, Wolfgang Scheidemann<sup>4</sup>, Astrid Bienert<sup>5</sup>, Dietz Donandt<sup>6</sup>, Guido Stadtbäumer<sup>7</sup>, Heinrich Werhahn<sup>8</sup>, Helmut Hell<sup>9</sup>, Alice Snyder<sup>1</sup> und Gerald Fritz Schusser<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

<sup>2</sup> Institut für Veterinär-Pathologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

<sup>3</sup> Pferdeklinik in Kirchheim

<sup>4</sup> Tierärztliche Klinik Domäne Karthaus, Dülmen

<sup>5</sup> Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

<sup>6</sup> Pferdeklinik München-Riem

<sup>7</sup> Pferdeklinik in Telgte

<sup>8</sup> Klinik für Pferde in Sottrum

<sup>9</sup> Pferdeklinik Seester

**Zusammenfassung:** Ziel dieser klinischen Feldstudie war es, die ischämischen Darmabschnitte von Pferden mit Strangulationsileus histologisch zu untersuchen und die Epithelalteration zu graduieren. Es wurde überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen dem Epithelalteration und der Dauer der Kolik sowie der Länge des ischämischen Darmabschnitts, der Kolikursache und dem klinischen Ausgang besteht. Auf Grundlage der histologischen Befunde wurden Beziehungen zur Vitalität/Regeneration des Darmepithels des ischämischen Darmteiles hergestellt. Hierfür wurden Darmproben von 89 Pferden histologisch untersucht, davon 70 Pferde mit Dünndarm- und 11 Pferde mit Dickdarmstrangulation. Als Referenzgruppe dienten die Darmproben von 8 Pferden ohne Darmerkrankung. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag, aufgrund der Probenanzahl, auf der Auswertung der Dünndarmproben. Die Pferde mit Dünndarmstrangulation wurden anhand des klinischen Ausgangs in vier Gruppen eingeteilt: Gruppe I - keine Operationserlaubnis, Euthanasie; Gruppe II - intraoperative Euthanasie; Gruppe III - Operation und Tod nach Resektion; Gruppe IV - Operation und erfolgreiche Resektion. Es wurden Epithelalterationen, Blutungen und Entzündungszellinfiltrate für jede Probe graduiert. Ein Graduierungssystem wurde etabliert, das die Ausprägung der Epithelalteration insbesondere im Kryptenbereich detaillierter wiedergibt. Hierzu wurden die Zotten in zwei (luminale Zotte, basale Zotte), die Krypten in drei Beurteilungsebenen geteilt (luminale Krypte, zentrale Krypte, basale Krypte) und für jede Ebene eine eigene Graduierung von 0 (normal) bis 5 (vollständiges Ablösen der Epithelzellen von der Basalmembran, Degeneration) vorgenommen. Es konnte bestätigt werden, dass die Epithelalteration an der Zottenspitze beginnt in Richtung Kryptenbasis weiter fortschreitet. Der Grad der Blutung wurde in vier Darmschichten (Lamina propria mucosae, Tela submucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa) von 0 (keine extravasalen Erythrozyten) bis 4 (massive Erythrozytenanzahl) beurteilt. Die Entzündungszellinfiltrate wurden in der Lamina propria mucosae und der Tela submucosa graduiert, dabei wurde zwischen Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten einerseits und eosinophilen Granulozyten andererseits unterschieden. Die vier Gruppen der Dünndarmstrangulationen unterschieden sich hinsichtlich ihrer Epithelalteration, der Blutungen und der Entzündungszellinfiltration nicht signifikant. Das Verhältnis zwischen Interstitium und Krypten in der Lamina propria mucosae wurde mit Hilfe von Flächen- und Streckenmessungen ermittelt. Die Streckenmessungen wurden auf drei verschiedenen Ebenen (Krypte luminal, Krypte zentral, Krypte basal) durchgeführt und jeweils mit den Ergebnissen aus der Flächenmessung verglichen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass zur Messung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses anstelle der aufwändigen Flächenmessung auf die einfachere Streckenmessung in der Mitte der Krypte zurückgegriffen werden kann. Die Dauer der Kolik war bei Pferden der Gruppe IV kürzer als bei denen der Gruppe III. Der ischämische Darmteil war bei Pferden, die eine Resektion nicht überlebten (Gruppe III) signifikant länger, als bei der Gruppe IV. Bei 24 (= 42,1%) von 57 Pferden der Gruppen II, III und IV waren die Epithelalterationen im luminalen Abschnitt der Krypte >3/5, so dass eine Regeneration nicht wahrscheinlich erschien und die Resektion des ischämischen Darmteiles oder die Euthanasie plausibel war. Wird die Beurteilung von van Hoogmoed et al. (2000) herangezogen, so bestand eine Epithelalteration des ischämischen Darmteiles von 5/5 bei 52 (74,3%) von allen 70 Pferden mit Dünndarmstrangulation, so dass bei diesen 74,3% der Pferde kein vitaler Dünndarmteil vorlag. Die Epithelalterationen der Dickdarmabschnitte in allen Bereichen der Krypte hatten den Maximalwert von 5/5 und somit war der ischämische Dickdarmteil auch nach einer Reposition avital. Das Überleben der Pferde mit Strangulationsileus hängt u.a. von der Kolikdauer (kürzer als 6 Stunden), der Länge des ischämischen Darmteiles (kürzer als 3 Meter), von Epithelalterationen in der Krypte (<3/5), von verminderten oder keinen Reperfusionsschäden des reponierten, ischämischen Darmteiles, vom Kreislauf (keine hochgradige präoperative Dehydratation) und von postoperativen Komplikationen (keine postoperative Peritonitis, kein postoperativer paralytischer Ileus, keine Wundheilungsstörungen) ab.

**Schlüsselwörter:** Pferd / Epithelalteration / Interstitium-Krypten-Verhältnis / Prognose / Darmbiopsie / Kolik / Strangulationsileus / Dünndarm / Dickdarm

## Evaluation and graduation of histomorphological changes in ischemic small or large intestine regions after strangulation – a field study

The purpose of this clinical field study was to examine histologically the ischemic strangulated section of the intestine in colic horses to graduate the epithelial alteration. It was additionally investigated whether a correlation exists between the degree of damages and the duration of colic, the length of the damaged section of the intestine, the causes of colic and clinical outcome. Based on the histological findings conclusion about the necessity for a small bowel resection was drawn. Therefore, intestinal specimens of 89 horses were examined histologically, including 70 horses with strangulation of the small intestine and 11 horses with strangulation of the colon. 8 horses without bowel disease served as a reference group. The focus of this study, due to the number of samples, was the evaluation of the small intestine. The horses with strangulated small intestine were divided into four groups based on clinical outcome: without surgery attempt euthanized (group I), intraoperatively euthanized (group II), died after intestinal resection (group III) and survivors (observation period corresponded to the hospital

stay of 10 days) with successful intestinal resection (group IV). The epithelial alterations, hemorrhages and inflammation were graduated for each sample. In order to obtain a detailed scaling a new grading system was established, which reflects the manifestation of epithelial alteration especially within the crypts. The villi were divided into two regions (villus luminal, villus basal), the crypts into three evaluated regions (crypt luminal, crypt central, crypt basal) and for each region a distinct score 0 (normal) to 5 (complete epithelial loss, degeneration) was evaluated. The epithelial alteration was confirmed to start at the tip of the villus and progresses towards the base of the crypt. The degree of hemorrhages was described by the score 0 (no extravasal erythrocytes) to 4 (most increased numbers of erythrocytes) in four intestinal layers (Lamina propria mucosae, Tela submucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa). The inflammation was graded in the Lamina propria mucosae and the Tela submucosa, while a distinction between lymphocytes and neutrophils on one hand and eosinophils on the other has been made. The four groups with small intestinal strangulation obstruction did not differ significantly in respect to their epithelial alterations, hemorrhages in the gut wall and the inflammation. The interstitium-crypt-ratio of the lamina propria mucosae was determined on the basis of area and distance measurements. The distance measurements were carried out at three different levels (crypt luminal, crypt central, crypt basal) and each was compared to the results of the area measurement. Instead of the elaborate area measurement, the simpler distance measurement at the center of the crypt can be used to determine the interstitium-crypt-ratio. The duration of colic in horses of group IV (survivors after successfully performed resection) was shorter than those of group III (died after resection). The length of the ischemic section of the small intestine was significantly longer in horses which did not survive after resection (group III) than in group IV. Based on our grading system 24 (= 42.1%)/57 horses in groups II, III and IV had epithelial alterations in the luminal region of the crypt  $>3/5$  which a regeneration may not be likely therefore the resection or the euthanasia of horses were feasible. But based on the grading system of *van Hoogmoed et al.* (2000) the epithelial alterations were graded 5/5 in 52 (74.3%)/70 horses with ischemic strangulated small intestine which was not viable. The epithelial alterations of ischemic colon in all horses were graded 5/5 which means no capability of epithelial regeneration. The survival of a horse with small or large intestine strangulation obstruction depends on colic duration (shorter than 6 hours), involved length of ischemic section (shorter than 3 meters), the epithelial alterations ( $<3/5$ ), the reperfusion injuries (less or no impairment), the circulation (no severe dehydration preoperatively) and the postoperative complications (without peritonitis, adynamic ileus, wound healing problems).

**Keywords:** horse / epithelial alteration / interstitium-crypt-ratio / prognosis / intestinal biopsy / colic / strangulation / obstruction / small and large intestine

**Zitation:** Breitenstein M., Theuß T., Schoon H.-A., Barsnick R., Walliser U., Scheidemann W., Bienert A., Donandt D., Stadtbäumer G., Werhahn H., Hell H., Snyder A., Schusser G. F. (2015) Klinische Feldstudie zur Evaluierung und Graduierung histomorphologischer Veränderungen ischämischer Dün- oder Dickdarmregionen nach Strangulation. *Pferdeheilkunde* 31, 559-570

**Korrespondenz:** Prof. Dr. Gerald F. Schusser, Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig; E-Mail: schusser@uni-leipzig.de

## Einleitung

Der Strangulationsileus ist eine häufige Ursache für eine lebensbedrohliche Kolik bei Pferden (*Huskamp* 1982, *Scheidemann* 1989). Die Überlebensrate der Pferde mit Darmstrangulation liegt bei 21% (*Christoffersen et al.* 2014). Nach retrospektiver Betrachtung von 300 Pferden mit erfolgter Kolikoperation, wird die Kurzzeitüberlebensrate der Pferde mit Dünndarmstrangulation mit 54,8%, mit Dickdarmstrangulation mit 42,6% angegeben (*Mair et al.* 2005). Schnelles und richtiges Handeln sowie Intensivtherapie sind ausschlaggebend, um die Überlebenschance der Pferde zu erhöhen. Etwa 4 bis 10% der Pferde mit Kolik benötigen einen operativen Eingriff (*Tinker et al.* 1997, *Hillyer et al.* 2001). Für den Chirurgen stellt die Prognose bezüglich der Darmvitalität sowie die Entscheidung, ob eine Resektion des strangulierten Darmteils notwendig und auch erfolgversprechend ist, eine besondere Herausforderung dar. Die Darmwandalteration wird durch Ischämie während der Strangulation und durch Reperfusion nach Lösung der Strangulation hervorgerufen. Dabei ist auch die befundbasierte Aufklärung des Pferdebesitzers wichtig, der zwischen der persönlichen Bindung zum Tier, dem finanziellen Aufwand und den postoperativen Risiken abwägen muss. Zahlreiche Studien geben dem Chirurgen verschiedenste Parameter in die Hand, um die Prognose für das zu operierende Kolikpferd fundiert einschätzen zu können. Die klinischen und labormedizinischen Befunde (Grad und Dauer der Kolik, Herzfrequenz, Lidbindehaut- und Mundschleimhautfarbe, Bauchpunktat, Hämatokrit, Totalprotein im Blutplasma, Laktatkonzentration in Blut und Bauchpunktat), Ergebnisse der transrektalen, der abdominalen Ultraschalluntersuchung (kontraktile Darmmotilität, Darmwanddicke) sowie das Ansprechen des Pferdes auf Analgetika sind wichtige präoperative Faktoren der Prognose (*Dukti et al.* 2009,

*van der Linden et al.* 2003). Intraoperativ entscheidet der Chirurg anhand von Darmwandfarbe, -dicke und -motilität, Länge des betroffenen Darmteils und Lokalisation der Strangulation, ob eine Resektion erfolgversprechend ist (*Freeman et al.* 2014). Trotz dieser vielen prognostischen Faktoren gibt es hinsichtlich der Interpretation der Darmvitalität viele Grenzfälle, bei denen makroskopisch keine eindeutige Prognosestellung möglich ist. Es sollte eine mikroskopische Untersuchung der geschädigten Darmwand durchgeführt werden, um die makroskopischen Befunde zu untermauern und die Entscheidung des Chirurgen zu objektivieren. In der Vergangenheit haben einige Autoren den Verlauf der Schleimhautschädigung von Dick- und Dünndarm in Folge Ischämie und Reperfusion in experimentellen Studien untersucht und dokumentiert (*White et al.* 1980, *Snyder et al.* 1988, *Moore et al.* 1994, *van Hoogmoed et al.* 2001, *Tomlinson et al.* 2004, *Morton et al.* 2009). Es gibt bisher allerdings nur wenige Untersuchungen, die die Schädigung des ischämischen Darmteils an klinischen Fällen beschreiben. Dies gilt vor allem für den ischämischen Dünndarm (*Meschter et al.* 1986, *van Hoogmoed et al.* 2000, *van Hoogmoed et al.* 2000). Ziel dieser Studie war es, in einer Fall-Kontroll-Studie die ischämische Alteration des Dün- und Dickdarmes zu erfassen und anhand des klinischen Ausgangs zu vergleichen.

## Material und Methoden

Die vorliegende Feldstudie wurde in den Jahren 2012 bis 2014 durchgeführt. Untersucht wurden insgesamt 81 Tiere mit Darmstrangulation. Von jedem Pferd wurden einerseits klinische Parameter erhoben (Kolikdauer, Kolikursache, Länge des ischämischen Darmteils, Labordiagnostik, weiterer kli-

nischer Verlauf) und andererseits jeweils Darmwandproben betroffener Darmteile für eine histologische Untersuchung entnommen. Hierbei erfolgte die Entnahme der Proben entweder intra-operationem (im Falle einer chirurgischen Intervention) oder direkt im Anschluss an die Euthanasie bzw. das Verenden des Tieres.

Als Referenzgruppe dienten Dün- und Dickdarmwandproben von acht Warmblutpferden mit einem Alter zwischen 5–20 Jahren, die aufgrund orthopädischer Erkrankungen euthanasiert wurden und zum Zeitpunkt der Euthanasie keine Anzeichen einer gastrointestinalen Erkrankung aufwiesen. Die Entnahme der entsprechenden Proben erfolgte unmittelbar nach Eintritt des Todes.

### Histologie

Von den strangulierten Darmabschnitten wurden repräsentative Darmwandproben, die alle Darmwandschichten umfassten, mit einer Größe von 2×2 cm aus antimesenterialen Regionen entnommen und für 24–48 Stunden in 4%-igem Formalin fixiert. Anschließend erfolgte der Zuschnitt der Gewebeprobe und deren weitere routinemäßige Aufarbeitung (Hypercenter, Fa. Shandon, Frankfurt) sowie die Einbettung in Paraplast (Fa. Vogel, Gießen). Von jeder Gewebeprobe wurden nun mittels eines Schlittenmikrotoms (Fa. Leica, Wetzlar) Schnitte mit einer Dicke von 2–4 µm hergestellt, auf Objektträger aufgezogen und mittels Hämalaun-Eosin (H.-E.) gefärbt (Mulisch et al. 2010).

### Semiquantitative Morphologie

Die histologische Untersuchung erfolgte verblindet durch einen Untersucher. Für die Beurteilung der histologischen Veränderungen wurden die Proben unter einem Lichtmikroskop (BH2, Olympus, Hamburg) bei 400-facher Vergrößerung an fünf repräsentativen Lokalisationen beurteilt. Die Charakterisierung der histologischen Veränderungen der Dünndarmwand erfolgte nach der in Tabelle 1 beschriebenen Graduierung.

Der Grad der Epithelalteration wurde zum einen nach der Skalierung von *van Hoogmoed et al.* (2004) beurteilt und zum anderen wurde ein erweitertes Graduierungssystem etabliert, welches sich an der Skala von *Chui et al.* (1970) orientiert. Wie in Abb. 1 dargestellt, wurde hierfür die Lamina epithelialis mucosae in fünf Beurteilungszonen unterteilt, wobei jede separat beurteilt wurde. Als Zeichen einer Zelldegeneration wurden ein Zellödem, eine schollige Zytoplasmastruktur und Verformungen des Zellkerns bis zur Karyolyse gewertet.

Die Beurteilung der Blutung in der Darmwand erfolgte nach einer etablierten Graduierung von *van Hoogmoed et al.* (2000) und wurde für die verschiedenen Darmschichten (Lamina propria mucosae, Tela submucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa) separat bewertet. Die Entzündungszellinfiltration wurde anhand der Anzahl eosinophiler Granulozyten in der Lamina propria mucosae und in der Tela submucosa beurteilt. Die eosinophilen Granulozyten wurden in zehn Gesichtsfeldern bei 400-facher Vergrößerung (HPF = high power field) gezählt und der mittlere Anzahl entsprechend der

Angaben in Tabelle 1 zugeordnet. Vermehrte Zellinfiltrationen von neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten wurden außerdem dokumentiert. Die Beurteilung der Dickdarmproben geschah in gleicher Weise. Die Graduierung der Epithelalteration wurde aufgrund der im Dickdarm fehlenden Zotten in vier Beurteilungsebenen vorgenommen: lumbales Oberflächenepithel, Krypteluminal, Kryptezentral und Kryptebasal.

### Morphometrie

Die Messungen an den histologischen Präparaten wurden mit Hilfe des Computerprogramms CellSens Dimension 1.7 (Fa. Olympus, Hamburg) und einem Mikroskop BH2 (Fa. Olympus, Hamburg) durchgeführt. Anhand von Fotos bei 200-facher Vergrößerung wurde das Interstitium-Krypten-Verhältnis durch Flächen- und Streckenmessungen für jede Probe an fünf repräsentativen Positionen ermittelt (Abb. 1) und der Mittelwert bestimmt.

Für die Berechnung des Flächenverhältnisses wurde zunächst die Gesamtfläche ( $F_{\text{Gesamt}}$ ) bestimmt (Abb. 1). Als Begrenzung hierfür dienten die Zottenbasis, der Beginn der Lamina muscularis mucosae und die Bildränder. Innerhalb dieser so definierten Fläche wurden alle Kryptenbereiche interaktiv eingegrenzt und ihre Fläche bestimmt. Durch Addition dieser Einzelflächen ergab sich die Gesamtkryptenfläche ( $F_{\text{Krypt}}$ ). Aus der Differenz von Gesamtfläche und Gesamtkryptenfläche wurde die Interstitiumfläche errechnet ( $F_{\text{Int}} = F_{\text{Gesamt}} - F_{\text{Krypt}}$ ). Das Flächenverhältnis ergab sich als Quotient aus der Interstitium- und Kryptenfläche ( $F_{\text{Int}}/F_{\text{Krypt}}$ ).

Das Streckenverhältnis wurde auf drei verschiedenen Ebenen getrennt gemessen und in Relation gesetzt: am luminalen Ende der Krypten (unterhalb der Zottenbasis, für die Dickdarmproben unmittelbar unterhalb des Oberflächenepithels), auf der Höhe der Kryptenbasis und in der Mitte davon (Abb. 1). Für die Berechnung wurde für jede der drei Ebenen eine Gesamtstrecke ( $S_{\text{Gesamt}}$ ) und innerhalb dieser die einzelnen Streckenabschnitte der Krypten ( $S_{\text{Krypte}}$ ) gemessen (von Basalmembran zu Basalmembran des Kryptenepithels). Um die Interstitiumstrecke ( $S_{\text{Int}}$ ) zu erhalten, wurde die Gesamtkryptenstrecke von der dazu gehörigen Gesamtstrecke subtrahiert ( $S_{\text{Int}} = S_{\text{Gesamt}} - S_{\text{Krypte}}$ ). Das Interstitium-Krypten-Verhältnis aus der Streckenmessung der jeweiligen Ebene errechnete sich als Quotient aus der Interstitium- sowie der Kryptenstrecke ( $S_{\text{Int}}/S_{\text{Krypte}}$ ).

Die Bestimmung der Gesamtdicke der Darmwand erfolgte an fünf verschiedenen senkrecht zur Darmwand verlaufenden Messlinien von der Zottenspitze (Dünndarmproben) oder vom luminalen Oberflächenepithel (Dickdarmproben) bis zum Epithelium serosae mit anschließender Berechnung eines Mittelwertes. Hierfür wurden Fotografien des gesamten Darmes in einer 10-fachen Vergrößerung herangezogen.

### Statistik

Die statistische Auswertung der Messwerte erfolgte mit der Software IBM SPSS Statistics, Version 22 (IBM, Armonk, USA). Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik wurden als Median mit unterem (Q1) und oberem Quartil (Q3) angegeben. Die

Normalverteilung wurde anhand eines Histogramms geprüft. Für die Gruppenvergleiche wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Ob Messparameter in Wechselbeziehung zueinander stehen wurde mit Hilfe der Korrelation nach Pearson überprüft. Für die Korrelationsanalyse zwischen Interstitium-Krypten-Streckenverhältnisse und –Flächenverhältnisse wurde für die Darstellung einer Regressionsgeraden das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  angewandt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde auf 5% festgelegt und durch entsprechende -Adjustierung eingehalten. Ein signifikanter Unterschied lag somit bei einem p-Wert von unter 0,05 vor. Aufgrund der geringen Fallzahlen in der Gruppe der Dickdarmstrangulationen erfolgte keine statistische Beurteilung der erhobenen Werte. Es wurden hier nur die Minimal- und Maximalwerte aufgeführt.

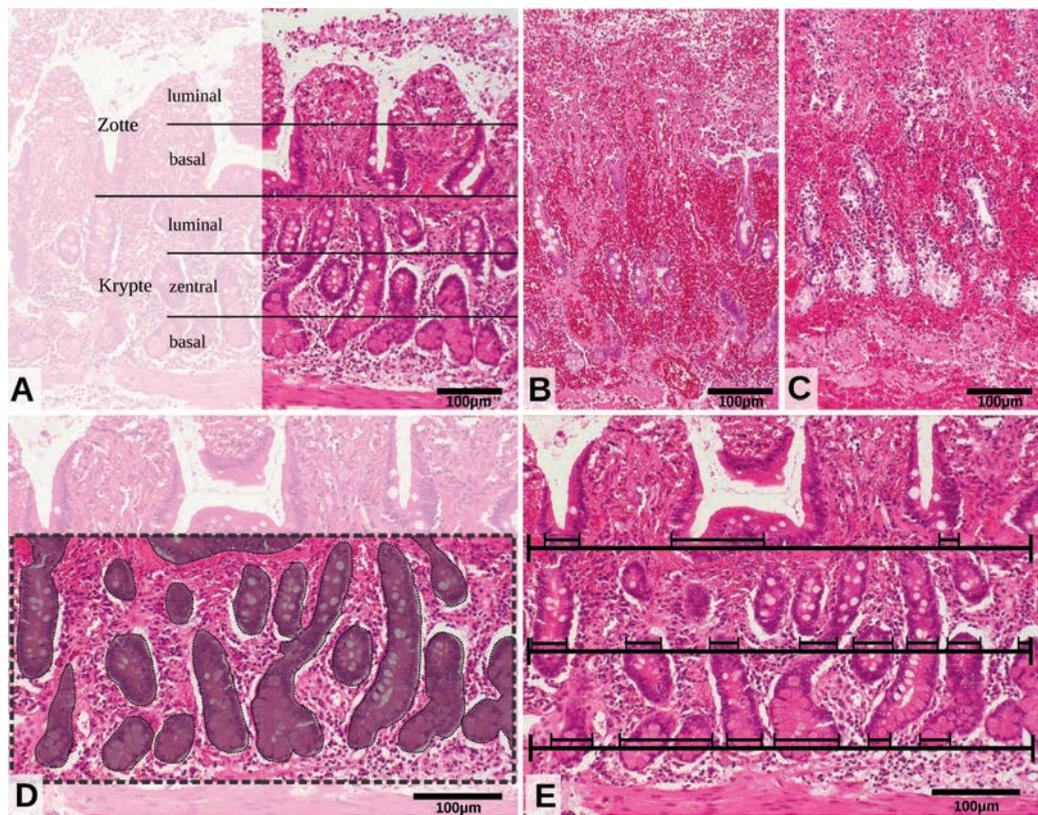
### Ergebnisse

Die Pferde wurden in eine Gruppe mit Dünndarm (n=70) und eine zweite Gruppe mit Dickdarmstrangulation (n=11) eingeteilt. Die Referenzgruppe bestand aus 8 Pferden, von

denen 8 auswertbare Dickdarm- und 7 auswertbare Dünndarmreferenzproben gewonnen werden konnten. Die Graduierung der Epithelalteration ergab für alle Referenzproben 0/5. Demnach war in diesen Proben keine histomorphologisch erkennbare Epithelalteration vorhanden. Blutungen waren ebenfalls nicht nachweisbar (Graduierung 0/4). Die 4/7 Dünndarmreferenzproben zeigten eine Anzahl eosinophiler Granulozyten von <10/HPF, 3/7 Proben enthielten je HPF 10 bis 40 eosinophile Granulozyten. Nur 1/8 Dickdarmreferenzproben wies <10 eosinophile Granulozyten je HPF, 6/8 Proben enthielten 10 bis 40 und 1/8 Probe >40 eosinophile Granulozyten je HPF. Eine gesteigerte Infiltration von neutrophilen Granulozyten und Plasmazellen zeigte sich in fünf der untersuchten Referenzproben von Dünndarm- und Dickdarm. Der Median der Dünndarmwanddicke der Referenzgruppe lag bei 5292,8µm (Q1 4107,2µm; Q3 5609,1µm), der Median der Dickdarmreferenzgruppe bei 3410,7µm (Q1 3105µm; Q3 3760,8µm).

Der Medianwert des Interstitium-Krypten-Verhältnisses aus der Flächenmessung lag bei den Dünndarmreferenzproben bei 0,74 und bei den Dickdarmreferenzproben bei 0,97.

**Abb. 1** (A) Beurteilungszonen der Alteration des Epithels. Dünndarmmukosa nach Strangulation durch ein Lipoma pendulans, Länge des ischämischen Dünndarmes 700cm, Kolikdauer 7 Stunden; Bewertung der Epithelalteration Zotteluminal 4/5, übrige Beurteilungszonen 0/5; Blutung 1/4; Entzündung 1/3. (B) Dünndarmmukosa nach Inkarzeration im Foramen epiploicum, Länge des inkarzierten Jejunums 700cm, Kolikdauer 6 Stunden; Bewertung der Epithelalteration Zotteluminal 5/5, Zottebasal 4/5, Krypteluminal 2/5, Kryptezentral 1/5, Kryptebasal 0/5; Blutung 3/4; Entzündung 1/3. (C) Dünndarmmukosa nach Strangulation durch ein Lipoma pendulans, Länge des inkarzierten Jejunums 300cm, Kolikdauer 12 Stunden; Bewertung der Epithelalteration Zotteluminal und basal 5/5, Krypteluminal 5/5, Kryptezentral und basal 4/5; Blutung 3/4; Entzündung 0/3. (D) Bestimmung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses mit Hilfe der Flächenmessung am Fallbeispiel von A. Die Gesamtfläche ( $F_{gesamt}$ ) ist durch gestrichelte Linie begrenzt, die dunkel gefärbten Bereiche stellen die Kryptenfläche ( $F_{Krypte}$ ) dar. (E) Bestimmung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses mit Hilfe der Streckenmessung am Fallbeispiel von A. Die langen Messlinien stellen die Gesamtstrecken ( $S_{Gesamt}$ ) für die luminal, zentrale und basale Messebene dar, die kurzen Messlinien die dazu gehörigen Kryptenstrecken ( $S_{Krypte}$ ). H.-E.-Färbung, Balken jeweils 100µm.



der Flächenmessung am Fallbeispiel von A. Die Gesamtfläche ( $F_{gesamt}$ ) ist durch gestrichelte Linie begrenzt, die dunkel gefärbten Bereiche stellen die Kryptenfläche ( $F_{Krypte}$ ) dar. (E) Bestimmung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses mit Hilfe der Streckenmessung am Fallbeispiel von A. Die langen Messlinien stellen die Gesamtstrecken ( $S_{Gesamt}$ ) für die luminal, zentrale und basale Messebene dar, die kurzen Messlinien die dazu gehörigen Kryptenstrecken ( $S_{Krypte}$ ). H.-E.-Färbung, Balken jeweils 100µm.

(A) Assessment levels for the epithelial alteration. Intestinal mucosa of small intestine strangulated by a lipoma, length of ischemic part of the bowel 700cm, duration of colic 7 hours; graduation of epithelial alteration villus luminal 4/5, other assessment levels 0/5; hemorrhage 1/4; inflammation 1/3. (B) Small intestinal mucosa induced by incarceration in the epiploic foramen, length of ischemic part of the bowel 700cm, duration of colic 6 hours; graduation of epithelial alteration villus luminal 5/5, villus basal 4/5, crypt luminal 2/5, central crypt 1/5, crypt basal 0/5; hemorrhage 3/4; inflammation 1/3. (C) Small intestinal mucosa induced by strangulation of a lipoma, length of ischemic part of the bowel 300cm, duration of colic 12 hours; graduation of epithelial alteration villus luminal and basal 5/5, crypt luminal 5/5, crypt central and basal 4/5; hemorrhage 3/4; inflammation 0/3. (D) Determination of interstitial crypt ratio using the area measurement, example of case A. The total area ( $F_{gesamt}$ ) is limited by the dashed line, the dark colored areas represent the area of crypts ( $F_{Krypte}$ ). (E) Determination of the interstitial crypt ratio using the distance measurement, example of case A. The long measured lines represent the total distances ( $S_{Gesamt}$ ) for the luminal, central and basal measurement level, the short measured lines are the corresponding distance of crypts ( $S_{Krypte}$ ). H.-E.-staining, bars 100µm.

*Pferde mit Dünndarmstrangulation*

Es handelte sich um Pferde verschiedener Rassen. Vertreten waren Warmblüter (n=39), Vollblüter (n=8), Kaltblüter (n=1), Ponys (n=6), Quarter Horses (n=5), Isländer (n=3), Norweger (n=1), Haflinger (n=3), PRE (n=2) und Appaloosa (n=2). Die Pferde waren in einem Alter von 0,5 bis 24 Jahren (Median 17 Jahre).

Die 70 Pferde mit Dünndarmstrangulation konnten nach ihrem Krankheitsverlauf in 5 Gruppen unterteilt werden (Tabelle 2). In der Gruppe I (n=13) befinden sich Pferde, die aufgrund fehlender Operationserlaubnis euthanasiert wurden, Pferde aus der Gruppe II (n=31) wurden aufgrund infauster Prognose oder fehlender Resektionserlaubnis intraoperativ euthanasiert. Pferde aus der Gruppe III (n=8) starben nach durchgeführter Resektion 1–72 Stunden post operationem. In der Gruppe IV (n=18) sind Pferde aufgelistet, die nach erfolgreich durchgeführter Resektion und einem Kli-

nikaufenthalt von mindestens 10 Tagen aus der Klinik entlassen werden konnten (= Überlebende). Die Kolikursache, die Kolikdauer und die Länge des ischämischen Darmteils sind in Tabelle 2 dargestellt.

Zwischen der Ursache für die Strangulation des Dünndarmabschnittes und dem klinischen Ausgang konnte kein Zusammenhang festgestellt werden. Auffällig war lediglich, dass alle Pferde mit einem Volvulus mesenterialis intraoperativ euthanasiert wurden. Die Kolikdauer war bei den Überlebenden (Gruppe IV) kürzer als bei der Gruppe I (keine Operationserlaubnis, Euthanasie) oder Gruppe II (intraoperativ Euthanasie) (p=0,06; p=0,18). Die nach Resektion gestorbenen Pferde (Gruppe III) hatten zwar tendenziell eine längere Kolikdauer als die der Gruppe IV, aber ohne statistische Signifikanz (p=0,5).

Der ischämische Darmteil war bei den Pferden, die nach Resektion gestorben sind (Gruppe III), signifikant (p=0,016)

**Tab. 1** Graduierung der Alteration des Epithels, der Blutung und der Entzündungszellinfiltrate der Dünndarmschleimhaut von Pferden mit Dünndarmstrangulation; (High Power Field = HPF). | *Degree of epithelial alteration, hemorrhage and inflammation of the involved small intestine of horses with strangulation.*

| Graduierung                                  | Epithelalteration   | Blutung  | Entzündungszellinfiltrate  |
|--|---|--|--|
|  | nach Van Hoogmoed et al. (2004) adaptierter Score   | für die vorliegende Arbeit adaptierter Score nach Chui et al.(1970)  | Eosinophile Granulozyten Anzahl je HPF   |
| 0  | physiologische Zottenmucosa   | Epithel vollständig intakt   | < 10 pro HPF   |
| 1  | subepitheliale Spaltenbildung im Bereich der Zottenspitze   | einzelne Epithelzellen sind von der Basalmembran gelöst oder zeigen Anzeichen einer Degeneration                                       | 10 - 40 pro HPF  |
| 2  | an den Zottenspitzen beginnende Separation der Epithelzellschicht von der Lamina propria mucosae                              | deutlich weniger als die Hälfte der Epithelzellen haben den Kontakt zur Basalmembran verloren oder zeigen Anzeichen einer Degeneration | > 40pro HPF  |
| 3  | Abhebung des Epithels an den Zottenspitzen, einige Zottenspitzen sind bereits abgetragen                                      | die Hälfte der Epithelzellen haben Kontakt zur Basalmembran verloren oder zeigen Anzeichen einer Degeneration                          | hochgradige Anzahl freier Erythrozyten   |
| 4  | Ablösung des Epithels an mindestens der Hälfte der Zotte  | deutlich mehr als die Hälfte der Zellen haben den Kontakt zur Basalmembran verloren oder zeigen Anzeichen einer Degeneration           | Gewebestruktur durch massive Erythrozyten-einlagerung nicht mehr gegeben   |
| 5  | vollständiges Ablösen des Zottenepithels mit beginnender Degeneration der Kryptenepithelzellen und der Lamina propria mucosae | vollständiges Ablösen aller Epithelzellen von der Basalmembran und/oder alle Epithelzellen zeigen eine ausgeprägt Degeneration         |  |
| Berücksichtigte Gewebeschichten der Darmwand | Lamina epithelialis mucosae, Lamina propria mucosae   | Lamina epithelialis mucosae<br>in:<br>Zotte luminal,<br>Zotte basal,<br>Krypte luminal,<br>Krypte zentral,<br>Krypte basal             | Lamina propria mucosae, Tela submucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa<br>Lamina propria mucosae und Tela submucosa |

länger als bei Pferden der Gruppe IV (erfolgreiche Resektion). Zwischen den Gruppen I, II und IV zeigten sich hinsichtlich der Länge des ischämischen Darmteils Tendenzen ohne statistische Signifikanz ( $P > 0,42$ ).

Semiquantitative Morphologie

Alteration der Lamina propria epithelialis

Wird zur Beurteilung der Alteration des Epithels die Einteilung nach van Hoogmoed et al. (2004) zugrunde gelegt, erhalten 52/70 (74,3%) Pferde mit Dünndarmstrangulation eine Graduierung (= Bewertung) von 5/5. In Gruppe I sind es 10/13 (76,9%), in Gruppe II 23/31 (74,2%), in Gruppe III 7/8 (87,5%) und in Gruppe IV 12/18 (66,7%) mit maximaler Epi-

thelalteration. Nach der im Rahmen dieser Arbeit modifizierten Graduierung der Epithelalteration ergab sich eine detaillierte Abstufung, wie in Tabelle 3 dargestellt. In Abb. 1 sind beispielhaft drei unterschiedliche Stadien der Epithelalteration abgebildet. Die Epithelalteration nimmt in allen Fällen von der Zottenspitze zur Kryptenbasis ab. Die Epithelalteration der gesamten Zotte (bestehend aus Zotteluminal und Zottebasal) ist signifikant höher, als die der gesamten Krypte, bestehend aus Krypteluminal, Kryptezentral und Kryptebasal). Zwischen den vier Gruppen der Kolikpferde besteht hinsichtlich der Graduierung der Epithelalteration, bewertet von Zottenspitze bis Kryptenbasis, kein signifikanter Unterschied ( $p \geq 0,05$ ). In den Gruppen II, III und IV (insgesamt  $n=57$ ) zeigten 14/57 Pferde eine Graduierung der Epithelalteration im Bereich der

**Tab. 2** Gruppeneinteilung der Pferde mit Dünndarmstrangulation. Anzahl der Pferde in den Gruppen mit zugehöriger Kolikursache, Länge des ischämischen Darmteils in cm und Kolikdauer in Stunden mit Median, sowie unteres (Q1) und oberes Quartil (Q3).

*Groups of horses with small intestine strangulation obstruction, cause of colic, length of ischemic intestine in cm and duration of colic in hours (median, lower (Q1) and upper quartile (Q3)).*

|                         | Gruppe I                              |    |     | Gruppe II                 |     |     | Gruppe III                       |     |     | Gruppe IV                            |     |     |
|-------------------------|---------------------------------------|----|-----|---------------------------|-----|-----|----------------------------------|-----|-----|--------------------------------------|-----|-----|
|                         | keine Operationserlaubnis, Euthanasie |    |     | intraoperative Euthanasie |     |     | Operation und Tod nach Resektion |     |     | Operation und erfolgreiche Resektion |     |     |
|                         | n = 13                                |    |     | n = 31                    |     |     | n = 8                            |     |     | n = 18                               |     |     |
| Lipoma pendulans        | 7                                     |    |     | 10                        |     |     | 4                                |     |     | 13                                   |     |     |
| Hernia mesenterialis    | 1                                     |    |     | 5                         |     |     | 1                                |     |     | 1                                    |     |     |
| Foramen epiploicum      | 4                                     |    |     | 10                        |     |     | 3                                |     |     | 4                                    |     |     |
| Volvulus mesenterialis  | 0                                     |    |     | 4                         |     |     | 0                                |     |     | 0                                    |     |     |
| Bride                   | 1                                     |    |     | 1                         |     |     | 0                                |     |     | 0                                    |     |     |
| Andere                  | 0                                     |    |     | 1                         |     |     | 0                                |     |     | 0                                    |     |     |
|                         | Median                                | Q1 | Q3  | Median                    | Q1  | Q3  | Median                           | Q1  | Q3  | Median                               | Q1  | Q3  |
| Ischämische Gesamtlänge | 200                                   | 30 | 400 | 300                       | 250 | 600 | 750                              | 550 | 920 | 300                                  | 150 | 600 |
| Kolikdauer (h)          | 7                                     | 7  | 10  | 8                         | 5   | 12  | 7                                | 4   | 10  | 6                                    | 4   | 6   |

**Tab. 3** Medianwert, unteres (Q1) und oberes Quartil (Q3) der Graduierungen der Epithelalterationen, bewertet von 0 bis 5 in den fünf Beurteilungszonen für die Gruppen der Pferde mit Dünndarmstrangulation. | *Median, lower (Q1) and upper quartile (Q3) of the epithelial alterations, graded from 0 to 5, from different groups of horses with strangulation of small intestine.*

|                   | Gruppe I                              |     |     | Gruppe II                 |     |     | Gruppe III                       |     |     | Gruppe IV                            |     |     | Gesamtsumme                      |     |     |
|-------------------|---------------------------------------|-----|-----|---------------------------|-----|-----|----------------------------------|-----|-----|--------------------------------------|-----|-----|----------------------------------|-----|-----|
|                   | keine Operationserlaubnis, Euthanasie |     |     | intraoperative Euthanasie |     |     | Operation und Tod nach Resektion |     |     | Operation und erfolgreiche Resektion |     |     | Pferde mit Dünndarmstrangulation |     |     |
|                   | n = 13                                |     |     | n = 31                    |     |     | n = 8                            |     |     | n = 18                               |     |     | n = 70                           |     |     |
|                   | Median                                | Q1  | Q3  | Median                    | Q1  | Q3  | Median                           | Q1  | Q3  | Median                               | Q1  | Q3  | Median                           | Q1  | Q3  |
| Epithelalteration |                                       |     |     |                           |     |     |                                  |     |     |                                      |     |     |                                  |     |     |
| Zotte luminal     | 5                                     | 5   | 5   | 5                         | 5   | 5   | 5                                | 5   | 5   | 5                                    | 5   | 5   | 5                                | 5   | 5   |
| Zotte basal       | 4,8                                   | 4   | 5   | 4,8                       | 3,4 | 5   | 4,5                              | 4,4 | 5   | 4,8                                  | 3,8 | 5   | 4,8                              | 4   | 5   |
| Krypte luminal    | 2,2                                   | 1,4 | 3,6 | 2,4                       | 1,2 | 4   | 2,6                              | 1,6 | 3,6 | 3,2                                  | 0,4 | 4,6 | 2,4                              | 1,2 | 3,8 |
| Krypte zentral    | 0,4                                   | 0,3 | 1,6 | 1                         | 0,4 | 2,8 | 1,1                              | 0,5 | 1,6 | 1,7                                  | 0   | 3,4 | 1,2                              | 0,4 | 2,8 |
| Krypte basal      | 0,2                                   | 0   | 0,4 | 0,2                       | 0   | 1,4 | 0,4                              | 0   | 0,7 | 0,8                                  | 0   | 2,2 | 0,4                              | 0   | 1,4 |

Krypteluminal von  $\leq 1/5$ . Bei 43/57 dieser Tiere war mehr als 50 % des Kryptenepithels noch intakt (Graduierung: Kryptezentral  $< 3/5$ ). Es besteht keine statistisch signifikante Korrelation ( $p = > 0,05$ ) zwischen Epithelalteration und Graduierung der Blutung oder zwischen Epithelalteration und Interstitium-Krypten-Verhältnis.

**Blutung**

Die Graduierung der Blutungen wies zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Lediglich der Grad der Blutung in der Lamina propria mucosae war in der Gruppe II (intraoperative Euthanasie) signifikant höher als bei den Pferden mit erfolgreich durchgeführter Resektion (Gruppe IV). Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Graduierung der Blutung in der Lamina propia mucosae und dem Interstitium-Krypten-Verhältnis aus der Flächenmessung.

**Entzündungszellinfiltration**

Von den Pferden mit Dünndarmstrangulation zeigten sich bei 10 Pferden (=14%) eine vermehrte Anzahl neutrophiler Granulozyten und Plasmazellen. Die Anzahl der eosinophilen Granulozyten je HPF variierte zwischen den einzelnen Pferden, es bestand kein statistischer Zusammenhang zu anderen Messparametern. Bei den Dünndarmproben wurden in 61 von 70 Fällen (=87,1%) eine Anzahl an eosinophilen Granulozyten je HPF von unter 10 nachgewiesen, 8 Proben respektive eine Probe (12,9%) enthielten je HPF 10 bis 40 bzw. über 40 eosinophile Granulozyten. Ein signifikanter Unterschied in der Anzahl der eosinophilen Granulozyten zwischen den vier Gruppen der Dünndarmstrangulationen oder der Referenzgruppe besteht nicht.

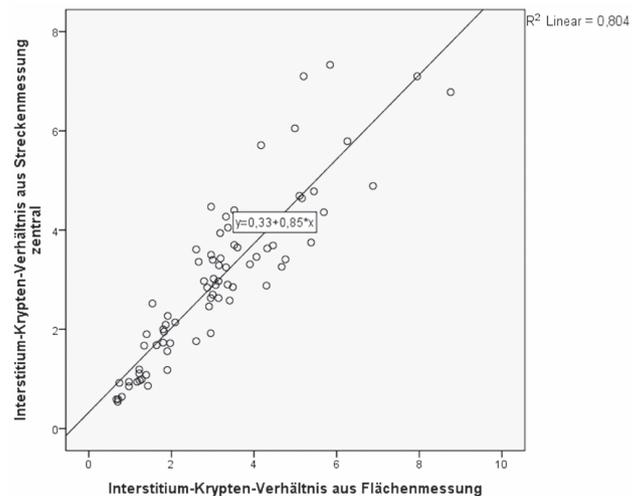
**Quantitative Morphologie**

**Interstitium-Krypten-Verhältnis**

Die Ergebnisse aus den unterschiedlichen Messverfahren zur Bestimmung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses (Flächen- und Streckenmessung) wurden untereinander verglichen (Tabelle 4). Die durch die Flächenmessung ermittelten Ergebnisse für das Interstitium-Krypten-Verhältnis entsprechen den

Ergebnissen aus der Streckenmessung in der Kryptezentral, wenn die Gesamtgruppe der Pferde mit Dünndarmstrangulation erfasst wird. Das Interstitium-Krypten-Streckenverhältnisses ist luminal größer und basal kleiner als das Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis. Abb. 2 zeigt die dazugehörige Regressionsgerade.

Die Interstitium-Krypten-Verhältnisse der Flächen- und Streckenmessungen zeigten zwischen den vier Gruppen mit Dünndarmstrangulation keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p = < 0,05$ ) wohl aber zur Referenzgruppe (Tabelle 4). Es bestand eine signifikante Korrelation ( $p = 0,05$ ) zwischen dem Grad der Blutung in der Lamina propria mucosae und dem Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis.



**Abb. 2** Linearer Zusammenhang zwischen Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis und Interstitium-Krypten-Streckenverhältnis, verglichen in der Kryptezentral, dargestellt bei Pferden mit Dünndarmstrangulation (n = 70) (R2 = 0,804).

*Correlation between area interstitium crypt ratio and linear interstitium crypt ratio measured in cryptcentral of horses with small intestine strangulation (n = 70) (R2 = 0.804).*

**Tab. 4** Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis und Interstitium-Krypten-Streckenverhältnis von strangulierten Dünndarmproben (Median, unteres Q1 und oberes Quartil Q3).

*Area and linear interstitial crypt ratio measured in strangulated small intestine (median, the lower Q1 and upper quartile Q3).*

|                                 | Referenzgruppe |        |        | Gruppe I                                    |        |        | Gruppe II                    |      |       | Gruppe III                          |      |       | Gruppe IV                                  |     |      | Gesamtsumme                              |      |       |
|---------------------------------|----------------|--------|--------|---|--------|--------|------------------------------|------|-------|-------------------------------------|------|-------|--|-----|------|--|------|-------|
|                                 |                |        |        | keine<br>Operationserlaubnis,<br>Euthanasie |        |        | intraoperative<br>Euthanasie |      |       | Operation und Tod<br>nach Resektion |      |       | Operation<br>und erfolgreiche<br>Resektion |     |      | Pferde mit<br>Dünndarm-<br>strangulation |      |       |
|                                 | n = 7          | n = 13 | n = 31 | n = 8                                       | n = 18 | n = 70 |                              |      |       |                                     |      |       |  |     |      |  |      |       |
|                                 | Median         | Q1     | Q3     | Median                                      | Q1     | Q3     | Median                       | Q1   | Q3    | Median                              | Q1   | Q3    | Median                                     | Q1  | Q3   | Median                                   | Q1   | Q3    |
| Interstitium-Krypten-Verhältnis |                |        |        |   |        |        |                              |      |       |                                     |      |       |  |     |      |  |      |       |
| Flächenmessung                  | 0,74           | 0,7    | 0,96   | 3,32  | 1,82   | 5,45   | 3,15                         | 2,66 | 4,46  | 3,22                                | 1,83 | 3,64  | 2,96                                       | 1,9 | 3,52 | 3,14                                     | 1,91 | 4,32  |
| Streckenmessung luminal         | 0,67           | 0,49   | 0,82   | 8,46  | 3,88   | 14,38  | 9,39                         | 4,4  | 13,65 | 9,34                                | 5,42 | 13,01 | 10,12                                      | 4,1 | 13,1 | 9,28                                     | 4,4  | 13,57 |
| Streckenmessung zentral         | 0,64           | 0,59   | 0,92   | 3,41  | 1,95   | 4,36   | 3,29                         | 2,52 | 4,05  | 2,9                                 | 2,05 | 3,68  | 2,76                                       | 1,7 | 3,61 | 3,14                                     | 2,0  | 2,05  |
| Streckenmessung basal           | 0,26           | 0,15   | 0,39   | 1,27  | 0,63   | 1,81   | 1,03                         | 0,62 | 1,36  | 0,8                                 | 0,29 | 1,22  | 0,9  | 0,7 | 1,2  | 0,95                                     | 0,62 | 1,38  |

### Darmwanddicke

Die Darmwanddicke zeigt sowohl zwischen den verschiedenen Proben, als auch innerhalb der Referenzgruppe starke Variationen. Der Median der Darmwanddicke der Pferde mit Dünndarmstrangulation lag bei 5062,2 µm (Q1 = 3382,9 µm; Q3 = 5908 µm). Dabei ließen sich keine Abhängigkeiten zum Grad der Alteration, zur Kolikursache, der Dauer der Kolik oder zum Kolikausgang erfassen. Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Korrelationen zum Blutungsgrad oder anderen Messparametern.

### Pferde mit Dickdarmstrangulation

Bei den Pferden mit Dickdarmstrangulation (n = 11) handelte es sich um Warmblüter (n = 6), Kaltblüter (n = 1), Ponys (n = 2), Isländer (n = 1) und Norweger (n = 1). Die Pferde waren zwischen 7 und 26 Jahre alt (Median 15 Jahre). Kolikursachen waren Torsio coli totalis (n = 9), Strangulation des Colon descendens durch ein Lipoma pendulans (n = 1) und Hernia diaphragmatica (n = 1). Alle Pferde mit Dickdarmstrangulation wurden ohne Operationserlaubnis oder intraoperativ euthanasiert. Die Kolikdauer lag zwischen 3 und 35 Stunden (Median 6 Stunden). Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung sind in Tabelle 5 aufgeführt. Die Dickdarmproben wiesen ein weites Spektrum von Epithelalterationen und Blutungen auf. In den Proben der ischämischen Dickdärme konnten vermehrt Entzündungszellen (neutrophile Granulozyten und Lymphozyten) nachgewiesen werden. Auch zeigte sich sowohl bei den Kontrollpferden als auch bei den Pferden mit Dickdarmalteration im Vergleich zu den Pferden mit Dünndarmalteration insgesamt eine höhere Anzahl an eosinophilen Granulozyten je HPF. Nur 2 Pferde (18,2%) zeigten unter 10, 6 Pferde (54,5%) zwischen 10 und 40 und 3 Pferde (27,3%) über 40 eosinophile Granulozyten je HPF. Ein

Zusammenhang zwischen diesem vermehrten Auftreten von Entzündungszellen (neutrophile Granulozyten, Lymphozyten oder eosinophile Granulozyten) und Kolikdauer, Kolikursache oder Epithelalteration konnte nicht gezeigt werden. Für den Dickdarm konnte ebenfalls das Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis und -Streckenverhältnis, das in der Kryptezentral am genauesten war, wiedergegeben werden (Tabelle 5).

### Diskussion

Die Überlebenschance eines Pferdes mit Darmstrangulation ist im Wesentlichen abhängig vom klinischen Zustand, von der Alteration des Darmepithels und der Lokalisation des betroffenen Darmteils. Der klinische Ausgang wird entscheidend davon beeinflusst, ob der Besitzer eine Operations- beziehungsweise Resektionserlaubnis erteilt. Die Prognose der Pferde der Gruppen I und II ist nicht per se als infaust anzusehen, da nicht bekannt ist, ob diese Pferde nach durchgeführter Operation oder Resektion überlebt hätten. Die Pferde aus der Gruppe III sind als Nicht-Überlebende, die Pferde aus der Gruppe IV als Überlebende anzusehen. Im Fall der Pferde der Gruppe I fand keine makroskopische Beurteilung des ischämischen Darmabschnittes intra operationem statt. Die geschädigten Darmabschnitte der Gruppen II, III und IV hat der jeweilige Chirurg anhand makroskopischer Kriterien als nicht vital beurteilt. Bei den Pferden aus der Gruppe II riet der Chirurg entweder zur Resektion, wofür die Besitzer keine Erlaubnis gaben oder er riet aufgrund infauster Prognose direkt zur Euthanasie. Bei Pferden der Gruppen III und IV wurde ein Teil des Dünndarms reseziert. Aus den Ergebnissen dieser Arbeit wird deutlich, dass sowohl eine kürzere Kolikdauer als auch eine geringere Länge des ischämischen Darmteils, die Überlebenschance nach einer Resektion erhöhen können.

**Tab. 5** Ergebnisse der Auswertungen der Dickdarmgewebeproben. Graduierung der Epithelalterationen (0-5), Blutung (0-4) und Interstitium-Krypten-Verhältnis, angegeben ist jeweils der Minimal- und Maximalwert. | *Minimum and maximum values of the epithelial alteration and hemorrhage graded from 0 to 5 respectively 0-4 as well as interstitial crypt ratio of horses with strangulation obstruction of large intestine.*

|  | Referenzgruppe Dickdarm |             | Strangulierte Dickdarmproben |             |
|--|-------------------------|-------------|------------------------------|-------------|
|  | n = 8                   |             | n = 11                       |             |
|  | Minimalwert             | Maximalwert | Minimalwert                  | Maximalwert |
| <b>Epithelalteration</b>               |                         |             |                              |             |
| Luminale Oberfläche                    | 0                       | 0           | 0,25                         | 5           |
| Krypte luminal                         | 0                       | 0           | 0                            | 5           |
| Krypte zentral                         | 0                       | 0           | 0                            | 5           |
| Krypte basal                           | 0                       | 0           | 0                            | 4,75        |
| <b>Blutung</b>                         |                         |             |                              |             |
| Lamina propria mucosae                 | 0                       | 0           | 0                            | 4           |
| Tela submucosa                         | 0                       | 0           | 0                            | 4           |
| Tunica muscularis                      | 0                       | 0           | 0                            | 2           |
| Tela subserosa                         | 0                       | 0           | 0                            | 2           |
| <b>Interstitium-Krypten-Verhältnis</b> |                         |             |                              |             |
| Flächenmessung                         | 0,56                    | 1,31        | 1,38                         | 18,9        |
| Streckenmessung luminal                | 0,37                    | 0,94        | 1,01                         | 76,7        |
| Streckenmessung zentral                | 0,54                    | 1,86        | 1,67                         | 17,46       |
| Streckenmessung basal                  | 0,75                    | 2,11        | 1,47                         | 14,04       |

Für die Graduierung der Epithelalteration im Dünndarm wird in der Literatur auf die Einteilung nach *Chui et al.* (1970) zurückgegriffen. Ursprünglich für den Dünndarm des Hundes entwickelt, wurde dieses Beurteilungsschema von verschiedenen Autoren auch für das Pferd angepasst. Das Schema von *van Hoogmoed et al.* (2004) ist ebenfalls anwendbar und wird häufig verwendet (*White et al.* 1980, *Gerard et al.* 1999, *Marshall et al.* 2011). Diese Graduierung eignet sich, um gering- bis mittelgradige Epithelalterationen der Darmmukosa zu bewerten. Zeigen die Kryptenepithelzellen Anzeichen einer Schädigung (Zellödem, schollige Zytoplasmastuktur und Verformungen des Zellkerns, Karyolyse, Separation von der Basalmembran), erhält die Probe die maximale Graduierung der Alteration 5/5. Das Probengut der vorliegenden Arbeit beinhaltet eine Auswahl von mittel- bis hochgradig alterierter Dünndarmmukosa. In 74,3% der Fälle ist das Kryptenepithel in einem Umfang geschädigt, dass diese Darmproben nach der Einteilung von *van Hoogmoed et al.* (2004) eine Graduierung der Epithelalteration von 5/5 erhalten. Eine detailliertere Einstufung der Epithelalteration wurde durch eine Graduierung in fünf Stufen erreicht.

Die Epithelalteration infolge einer intestinalen Ischämie zeigt sich zunächst an den Zottenspitzen. Im weiteren Verlauf kommt es zu Schädigungen der Kapillaren, Blutungen und Ödemen in der Lamina propria mucosae sowie schließlich zum Verlust der gesamten Zottenarchitektur (*Snyder et al.* 1989, *White et al.* 1980). Zeitgleich schreitet die Epithelalteration in Richtung Kryptenbasis weiter fort (*White et al.* 1980). Im Bereich der Kryptenbasis entstehen aus undifferenzierten Stammzellen neue Darmepithelzellen. Sind die basalen Kryptepithelzellen zerstört, kann demzufolge der Regenerationsprozess des Mukosaepithels nicht oder nur inadäquat vonstattengehen. Die Regenerationsfähigkeit könnte von den nicht alterierten, vitalen Zellen im Bereich der Kryptenbasis abhängen (*van Hoogmoed et al.* 2000, *Snyder et al.* 1992, *Snyder* 1989). Bleiben genügend suffiziente Kryptenepithelzellen erhalten, kann der entstandene Epithelzellverlust innerhalb von 48 bis 72 Stunden wieder regeneriert werden und eine Restitutio ad integrum erfolgen (*Snyder* 1999, unveröffentlicht, *Van Hoogmoed et al.* 2000). Dies konnte auch in einer experimentellen Studie an Dickdärmen gezeigt werden, welche einer 2–3-stündigen Ischämie ausgesetzt wurden. Die Epithelzellalteration im Bereich des luminalen Kryptenbereiches war innerhalb von 18 Stunden nahezu vollständig durch etwas flachere (regenerative) Epithelzellen ausgefüllt (*Morton et al.* 2009). In der Literatur finden sich zur Beurteilung der Regenerationsfähigkeit des Dünndarmepithels anhand der Epithelalteration kaum Angaben. Lediglich bei Hunden wurde das Voranschreiten einer experimentell ausgelösten Ischämie im Dün- oder Dickdarm miteinander verglichen und viele Ähnlichkeiten in der Alterationsausprägung festgestellt, so dass die am Dickdarm erlangten Erkenntnisse vermutlich auf den Dünndarm übertragen werden können (*Takeyoshi et al.* 1996). Beträgt der Epithelverlust in den Krypten des Dickdarms unter 60%, ist ein Überleben des Pferdes wahrscheinlich (*van Hoogmoed et al.* 2000). Dies bedeutet nach der hier verwendeten Skala einen Epithelalterationsgrad von < 3/5 in der Krypteluminal, wobei das bei 33 (57,9%) aus 57 Pferden mit Dünndarmstrangulation der Gruppen II, III und IV zutrifft. Eine Regeneration des Dünndarmepithels wäre hier also theoretisch noch möglich gewesen. Bei 24 (42,1%) der 57 Pferde der Gruppen II, III und IV, deren ischämischer

Dünndarmteil der Chirurg als nicht überlebensfähig beurteilt hatte, zeigte auch die histologische Untersuchung eine Alteration, die eine Regeneration des Epithels unmöglich erscheinen ließ. Das Epithel der Krypteluminal der ischämischen Dünndarmabschnitte der Pferde der Gruppe IV war bei 75% der Pferde nicht regenerationsfähig und somit war die Resektion plausibel. In der Gruppe III hatten weniger als 50% der acht Pferde ein regenerationsfähiges, luminales Kryptenepithel. Acht von 31 Pferden der Gruppe II hatten kein normales Kryptenepithel und somit waren die ischämischen Darmabschnitte nicht vital. Inwieweit sich die Epithelalteration in der Reperfusionphase noch weiter entwickelt hätte, war anhand der durchgeführten Untersuchungen nicht beurteilbar. Dies könnte anhand einer experimentell induzierten, kontrollierten Ischämie sowie Reperfusion mit anschließender histologischer Untersuchung näher studiert werden.

Eine Blutung in der Darmwand beginnt laut Literaturangaben meist in der oberflächlichen Lamina propria mucosae und in der tiefen Tela submucosa (*Snyder et al.* 1988). Nach experimenteller Okklusion der Venen im Dickdarm kommt es innerhalb von einer halben Stunde zu geringgradigen Schleimhautblutungen, jedoch nach 2 bis 3 Stunden liegt bereits eine hochgradige Blutung vor (*Snyder et al.* 1988). Werden jedoch venöser und arterieller Blutfluss gleichzeitig unterbrochen, treten erst nach 1 bis 2 Stunden leichte Schleimhautblutungen auf, die nach etwa 4 Stunden eine hochgradige Ausprägung besitzen (*Snyder et al.* 1988). Nach *van Hoogmoed et al.* (2000) ist die Graduierung der Blutung in den genannten Darmwandschichten nicht möglich, um ein Überleben nach Dickdarmtorsion vorherzusagen. *Gonzalez et al.* (2015) fanden allerdings einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Blutung in der Darmwand der Beckenflexur und dem Überleben von Pferden nach Torsio coli totalis. Bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Dünndarmproben konnte keine Korrelation zwischen dem Blutungsgrad und dem klinischen Ausgang gefunden werden.

Welche Funktion neutrophile Granulozyten während einer Ischämie und anschließender Reperfusion haben, oder ob sie lediglich im Rahmen der Blutung in das Gewebe „geschwemmt“ werden, ist noch nicht vollständig geklärt (*Moore et al.* 1995). *Gerard et al.* (1999) wiesen eine signifikant höhere Anzahl neutrophiler Granulozyten in der Lamina propria mucosae resezierter Dünndarmabschnitte nach als bei den Referenzproben ohne Alteration. Nach einer Stunde experimenteller Ischämie des Dickdarms infiltrierte neutrophile und eosinophile Granulozyten in die Lamina propria mucosae und migrierten in das intestinale Lumen (*Grosche et al.* 2011). Veränderungen der Anzahl neutrophiler Granulozyten konnten in einer anderen experimentellen Studie während der Ischämie hingegen nicht festgestellt werden, dieses Phänomen bedarf weiterer Untersuchungen (*Snyder et al.* 1988). Die im Rahmen dieser Arbeit dokumentierte gesteigerte Zellinfiltration durch neutrophilen Granulozyten oder Lymphozyten korrelierte mit keinem der anderen Messparameter. Es ist zu bedenken, dass es sich um Entzündungszellinfiltrate handeln könnte, welche als unabhängig von der ischämischen Schädigung anzusehen sind, beispielsweise im Rahmen präexistenter entzündlicher Einflüsse.

Eosinophile Granulozyten spielen in der Frühphase der mit Ischämie und Reperfusion assoziierten Entzündungsreaktion im

Darmgewebe eine Rolle (Grosche et al. 2012). Meschter et al. (1986) zeigten, dass die Anzahl der eosinophilen Granulozyten bei überlebenden Kolikpferden signifikant höher war als bei nicht-überlebenden. Daraus wurde abgeleitet, dass eosinophile Granulozyten eine wichtige Rolle bei der Suppression von Entzündungsreaktionen in Zusammenhang mit Mastzelldegranulation spielen könnten. Es bestand aber kein nachweisbarer Zusammenhang zum Alterationsgrad der Darmschleimhaut. Dies kann auch aus den Ergebnissen dieser Arbeit abgeleitet werden. Es kann weder ein Zusammenhang zum Schädigungsgrad noch zum klinischen Ausgang gezeigt werden.

Die Aussagekraft der Messung der Darmwanddicke im Zusammenhang mit dem Bewertungsgrad der Darmschleimhaut wurde schon von anderen Autoren als nicht zuverlässig beurteilt (van Hoogmoed et al. 2000, Moore et al. 1994). Die normale Darmwanddicke ist abhängig von der Pferderasse, der Darmlokalisierung und vom Kontraktionszustand der Muskelschichten. Bei Strangulationskoliken variiert die Darmwanddicke in Abhängigkeit von dem noch bestehenden Blutz- und -abfluss sowie von dem intraluminalen Druck (Freeman et al. 1988). Auch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen keinen Zusammenhang zwischen Dicke der Darmwand und dem Grad der Schleimhautalteration.

Die Bestimmung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses hat bisher nur an der Dickdarmmukosa Anwendung gefunden (Snyder et al. 1988, Moore et al. 1994, van Hoogmoed et al. 2000, van Hoogmoed et al. 2000, Gonzalez et al. 2015). Referenzwerte des Interstitium-Krypten-Verhältnisses in der Dickdarmmukosa werden mit  $\leq 1$  oder  $\leq 1,5$  angegeben (van Hoogmoed et al. 2000, Snyder et al. 1988). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Referenzbereich für das Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis und -Streckenverhältnis der Dünndarmmukosa mit  $\leq 1$  und der Dickdarmmukosa mit  $\leq 1,5$  ermittelt und festgelegt. Das Interstitium-Krypten-Verhältnis wurde in der Literatur durch eine Streckenmessung oder durch eine Flächenmessung bestimmt (Moore et al. 1994, van Hoogmoed et al. 2000, Snyder et al. 1988). Die Messung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses anhand der Fläche ist sehr zeitaufwendig und für die Umsetzung wird ein geeignetes Computerprogramm benötigt. Die Messung des Streckenverhältnisses ist weniger zeitintensiv und technisch deutlich einfacher durchzuführen, berücksichtigt aber nur einen Ausschnitt der Lamina propria mucosae. In dieser Arbeit wurden beide Verfahren gegenübergestellt. Es konnte dabei gezeigt werden, dass das Streckenverhältnis auf Höhe der Mitte der Krypten die stärkste Korrelation zum Flächenverhältnis aufweist. Somit kann zur Beurteilung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses am Dünndarm auch auf die technisch einfachere Streckenmessung in der Mitte der Krypte (= Kryptezentral) zurückgegriffen werden. Bei den Dickdarmproben konnte dies ebenfalls gezeigt werden, allerdings sind für eine statistisch profunde Aussage weitere Untersuchungen an einem größeren Proben-gut nötig als in dieser Arbeit inkludiert wurden.

Bei den ischämischen Dünndarmabschnitten zeigte sich das Interstitium-Krypten-Verhältnis aus der Flächenmessung mit einem Medianwert von 3,14, wobei es sich zwischen den Gruppen nicht unterschied. Ein erhöhtes Interstitium-Krypten-Verhältnis kann auf Blutungen, Ödembildung oder Zellinvasion im Bereich der Lamina propria mucosae hindeuten. Durch unterschiedliche Druckverhältnisse im Blutgefäßsystem

des Darms kann es zu Extravasation von Erythrozyten und Ödemflüssigkeit sowie Infiltration von Entzündungszellen kommen und so das Volumen des Interstitiums zunehmen. Zudem fallen die Krypten aufgrund von Epithelzellnekrosen zunehmend in sich zusammen (van Hoogmoed et al. 2000, Moore et al. 1994). Die daraus folgende Erhöhung des Interstitium-Krypten-Verhältnisses kann als Parameter zur Bewertung der Alteration herangezogen werden. In dieser Arbeit konnte ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Blutung in der Lamina propria mucosae und dem Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis festgestellt werden nicht aber zwischen dem Grad der Epithelalteration und dem Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis. In experimentellen Studien stieg das Interstitium-Krypten-Streckenverhältnis nach 3 bis 4 Stunden absoluter Ischämie im Dickdarm auf 2 an und überschritt auch bei längerer Ischämiedauer den Wert 3 nicht (Snyder et al. 1988). Nachdem nur die Venen okkludiert wurden, zeigte sich das Interstitium-Krypten-Streckenverhältnis insgesamt einen etwas größeren Wert und stieg nach 5 Stunden bis auf 5 an (Snyder et al. 1988). Diese experimentell gewonnenen Ergebnisse sind nicht ohne weiteres auf das vorliegende Proben-gut übertragbar, da nicht bekannt ist, wie stark Blutz- und -abfluss eingeschränkt waren. Dickdärme, die ein Interstitium-Krypten-Streckenverhältnis von über 3, zusammen mit einem Epithelzellverlust in den Krypten von mindestens 50% und einer starken Veränderung der Gewebearchitektur aufwiesen, wurden als nicht überlebensfähig beurteilt (Wilkins et al. 1994, van Hoogmoed et al. 2000). Übertragen auf den Dünndarm würde dies für die vom Chirurgen nach makroskopischen Kriterien als nicht überlebensfähig beurteilten Dünndärme (Gruppe II, III und IV; n = 57) bedeuten, dass die klinische Diagnose in 11 Fällen (19,3%) pathomorphologisch bestätigt werden konnte (Fälle mit Epithelalteration in dem mittleren Kryptenbereich von  $\leq 3$  und einem Interstitium-Krypten-Flächenverhältnis von  $> 3$ ). Ob aus diesen Ergebnissen abgeleitet werden kann, dass die Chirurgen anhand der makroskopischen Beurteilung die Überlebensfähigkeit der Dünndärme häufig als zu gering einschätzen, ist fraglich. Zu gering sind die vorliegenden Kenntnisse in Bezug auf die Übertragbarkeit der für den Dickdarm gewonnenen Ergebnisse auf den Dünndarm. Die Auswertung von Biopsien geschädigter Dünndärme, die im Rahmen einer Kolikoperation nicht reseziert wurden, wäre nötig, doch dies ist in der Praxis nur schwer umzusetzen.

Die Ergebnisse der hier verwendeten Methoden bieten noch keine ausreichende Grundlage, um anhand der Histologie eine endgültige Entscheidung bezüglich der Notwendigkeit einer Resektion treffen zu können. Es konnte jedoch der mikroskopisch erkennbare Schaden an ischämisch geschädigten Dün- und Dickdärmen an klinischen Fällen graduiert und dokumentiert werden. Es wurde ein etabliertes System zur Beurteilung des Epithelschadens angepasst, um stärker ausgeprägte Schädigungen der Dünndarmschleimhaut detailliert beurteilen zu können. Es wurde erneut gezeigt, dass die Epithelalteration an den Zotten beginnt und im weiteren Verlauf in den Krypten fortschreitet. Das Interstitium-Krypten-Verhältnis wurde nach unserem Kenntnisstand erstmals in der Dünndarmschleimhaut untersucht. Auch konnte gezeigt werden, dass hierbei die aufwändigere Flächenmessung durch die einfachere Streckenmessung in der Mitte der Krypte ersetzt werden kann. Eine kürzere Kolikdauer und eine geringere Länge des ischämischen Darmteils machen ein Überleben

nach Resektion wahrscheinlicher. Um anhand der Epithelalteration eine Aussage bezüglich der Notwendigkeit einer Resektion treffen zu können, bedarf es noch weiterer Studien. Insbesondere wäre die Auswertung von Proben strangulierter Dünndärme interessant, die ohne Resektion überlebten.

## Danksagung

Das Forschungsprojekt wurde von der Gesellschaft für Pferdemedizin finanziell unterstützt.

## Literatur

- Bulkley G. B., Kviety P. R., Parks D. A., Perry M. A., Granger D. N. (1985) Relationship of blood flow and oxygen consumption to ischemic injury in the canine small intestine. *Gastroenterology* 89, 852-857
- Christoffersen M. T., Dupont N., Berg-Sørensen K. S., Konnerup C., Pihl T. H., Andersen P. H. (2014) Short-term survival and mortality rates in a retrospective study of colic in 1588 Danish Horses. *Acta Vet. Scand.* 56, 20
- Chui C.-J., McArdle A. H., Brown R., Scott H. J., Gurd F. N. (1970) Intestinal mucosal lesion in low-flow states. *Arch. Surg.* 101, 478-483
- Dabareiner R. M., Snyder J. R., Sullins K. E., White N. A. und Gardner I. A. (1993) Evaluation of the microcirculation of the equine jejunum and ascending colon after ischemia and reperfusion. *Am. J. Vet. Res.* 54, 1683-1692
- Dabareiner R. M., White N. A., Snyder J. R., Feldman B. F., Donaldson L. L. (2005) Effects of Carolina Rinse solution, Dimethyl Sulfoxide, and the 21-Aminosteroid, U-74389G, on microvascular permeability and morphology of the equine jejunum after low-flow ischemia and reperfusion. *Am. J. Vet. Res.* 66, 525-536
- Dukti S., White N. A. (2009) Prognosticating equine colic. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 25, 217-231
- Freeman D. E., Cimprich R. E., Richardson D. W., Gentile D. G., Orsini J. A., Tulleners E. P., Fetrow J. P. (1988) Early mucosal healing and chronic changes in pony jejunum after various types of strangulation obstruction. *Am. J. Vet. Res.* 49, 810-818
- Freeman D. E., Schaeffer D. J., Cleary O. B. (2014) Long-term survival in horses with strangulating obstruction of the small intestine managed without resection. *Equine Vet. J.* 46, 711-117
- Gerard M. P., Blikslager A. T., Roberts M. C., Tate L. P., Argenzio R. A. (1999) The characteristics of intestinal injury peripheral to strangulating obstruction lesions in the equine small intestine. *Equine Vet. J.* 31, 331-335
- Gonzalez L. M., Fogle C. A., Baker W. T., Hughes F. E., Law J. M., Motsinger-Reif A. A., Blikslager A. T. (2015) Operative factors associated with short-term outcome in horses with large colon volvulus: 47 cases from 2006 to 2013. *Equine Vet. J.* 47, 279-284
- Grosche A., Freeman D. E., Morton A. J., R Polyak M. M., Matyjaszek S. A. (2012) Effects of ischemia and reperfusion on production of nitrotyrosine, activation of eosinophils, and apoptosis in the large colonic mucosa of horses. *Am. J. Vet. Res.* 73, 53-61
- Grosche A., Morton A. J., Graham A. S., Sanchez L. C., Blikslager A. T., Polyak M. M. R., Freeman D. E. (2011) Ultrastructural changes in the equine colonic mucosa after ischemia and reperfusion. *Equine Vet. J.* 43 (Suppl. 39), 8-15
- Haglund U., Bergqvist D. (1999) Intestinal ischemia - the basics. *Langenbeck's Archives of Surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie* 384, 233-338
- Henninger D. D., Snyder J. R., Pascoe J. R., Dilling G. W. (1992) Microvascular permeability changes in ischemia/reperfusion injury in the ascending colon of horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 1191-1196
- Hillyer M. H., Taylor F. G., French N. P. (2001) A cross-sectional study of colic in horses on thoroughbred training premises in the British Isles in 1997. *Equine Vet. J.* 33, 380-385
- Huskamp B. (1982) The diagnosis and treatment of acute abdominal conditions in the horse; the various types and frequency as seen at the animal hospital in Hochmoor. *Colic Research Symposium, Athens, Georgia, USA*, 261-272
- Mair T. S., Smith L. J. (2005) Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 1: Short-term survival following a single laparotomy. *Equine Vet. J.* 37, 296-302
- Marshall J. F., Bhatnagar A. S., Bowman S. G., Morris N. N., Skorich D. A., Redding C. D., Blikslager A. T. (2011) The effects of a novel anti-inflammatory compound (AHI-805) on cyclooxygenase enzymes and the recovery of ischaemia injured equine jejunum ex vivo. *Equine Vet. J.* 43, 106-111
- Meschter C. L., Tyler D. E., White N. A., Moore J. (1986) Histologic findings in the gastrointestinal tract of horses with colic. *Am. J. Vet. Res.* 47, 598-606
- Moore R. M., Muir W. W., Granger D. N. (1995) Mechanisms of gastrointestinal ischemia-reperfusion injury and potential therapeutic interventions: a review and its implications in the horse. *J. Vet. Intern. Med.* 9, 115-132
- Moore R. M., Bertone A. L., Muir W. W., Stromberg P. C., Beard W. L. (1994) Histopathologic evidence of reperfusion injury in the large colon of horses after low-flow ischemia. *Am. J. Vet. Res.* 55, 1434-1443
- Moore R. M., Hardy J., Muir W. W. (1995) Mural blood flow distribution in the large colon of horses during low-flow ischemia and reperfusion. *Am. J. Vet. Res.* 56, 812-818
- Morton A. J., Grosche A., Rötting A. K., Matyjaszek S. A., Blikslager A. T., Freeman D. E. (2009) Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the left dorsal colon after different durations of ischemia and reperfusion in horses. *Am. J. Vet. Res.* 70, 1536-1544
- Mulisch M., Welsch U. (2010) *Romeis Mikroskopische Technik*. 18. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag.
- Parks D. A., Grøgaard B., Granger D. N. (1982) Comparison of partial and complete arterial occlusion models for studying intestinal ischemia. *Surgery* 92, 896-901
- Scheidemann W. (1989) Beitrag zur Diagnostik und Therapie der Kolik des Pferdes – die Hernia foraminis omentalis. *Diss. Med. vet. München*.
- Snyder J. R. (1989) The pathophysiology of intestinal damage: Effects of luminal distention and ischemia. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Pract.* 5, 247-270
- Snyder J. R., Olander H. J., Pascoe J. R., Holland M., Kurpershoek C. J. (1988) Morphologic alterations observed during experimental ischemia of the equine large colon. *Am. J. Vet. Res.* 49, 801-809
- Snyder J. R., Pascoe J. R., Olander H. J., Harmon F. A., Hinds D. M., Vatistas N. J., Tyler W. S. (1992) Ultrastructural mucosal injury after experimental ischemia of the ascending colon in horses. *Am. J. Vet. Res.* 53, 1917-1924
- Takeyoshi I., Zhang S., Nakamura K., Ikoma A., Zhu Y., Starzl T. E., Todo S. (1996) Effect of ischemia on the canine large bowel: A comparison with the small intestine. *J. Surg. Res.* 62, 41-48
- Tinker M. K., White N. A., Lessard P., Thatcher C. D., Pelzer K. D., Davis B., Carmel D. K. (1997) Prospective study of equine colic incidence and mortality. *Equine Vet. J.* 29, 448-453
- Tomlinson J. E., Blikslager A. T. (2004) Effects of ischemia and the cyclooxygenase inhibitor Flunixin on in vitro passage of lipopolysaccharide across equine jejunum. *Am. J. Vet. Res.* 65, 1377-1383
- van der Linden M. A., Laffont C. M., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M. (2003) Prognosis in equine medical and surgical colic. *J. Vet. I. Med.* 17, 343-348
- van Hoogmoed L. M., Snyder J. R., Nieto J. E., Vatistas N. J., Harmon F. A. (2000) Use of an extracorporeal circuit to evaluate effects of ischemia and reperfusion of the equine large colon. *Am. J. Vet. Res.* 61, 1042-1051
- van Hoogmoed L. M., Snyder J. R., Nieto J. E., Harmon F. A. (2001) In vitro evaluation of a customized solution for use in attenuating effects of ischemia and reperfusion in the equine small intestine. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1679-1686
- van Hoogmoed L. M., Snyder J. R., Pascoe J. R. und Olander H. J. (2000) Evaluation of uniformity of morphological injury of the large colon following severe colonic torsion. *Equine Vet. J.* 32, 98-100
- van Hoogmoed L. M., Nieto J. E., Spier S. J., Snyder J. R. (2004) In vivo investigation of the efficacy of a customized solution to attenuate injury following low-flow ischemia and reperfusion injury in the jejunum of horses. *Am. J. Vet. Res.* 65, 485-490
- van Hoogmoed L. M., Snyder J. R., Pascoe J. R., Olander H. (2000) Use of pelvic flexure biopsies to predict survival after large colon torsion in horses. *Vet. Surg.* 29, 572-577
- White N. A., Moore J. N., Trim C. M. (1980) Mucosal alterations in experimentally induced small intestinal strangulation obstruction in ponies. *Am. J. Vet. Res.* 41, 193-198
- Wilkins P. A., Ducharme N. G., Lowe J. E., Schwark W. S., Meschter C., Erb H. N. (1994) Measurements of blood flow and Xanthine Oxidase activity during posts ischemic reperfusion of the large colon of ponies. *Am. J. Vet. Res.* 55, 1168-1177