

AUS DER UNIVERSITÄTSKLINIK FÜR THORAX-, HERZ- UND GEFÄSSCHIRURGIE  
TÜBINGEN  
ÄRZTLICHER DIREKTOR: PROF. DR. G. ZIEMER

**TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN  
ZUM EINFLUSS HOCHMOLEKULARER DEXTRANE  
IN LUNGENKONSERVIERUNGSLÖSUNGEN  
IM RAHMEN DER TRANSPLANTATION**

INAUGURAL-DISSERTATION  
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES  
DER MEDIZIN

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT  
DER EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT  
ZU TÜBINGEN

VORGELEGT VON  
BETTINA HAAS  
AUS  
BÖBLINGEN

2003

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Ziemer

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. H. Guggenberger

Meinen Eltern

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>1</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>3</b>
<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>4</b>
1.1. EINFÜHRUNG	4
1.2. ÜBERBLICK	5
1.2.1. HISTORISCHE ENTWICKLUNG	5
1.2.2. AUSWIRKUNGEN DER ISCHÄMIE AUF DIE LUNGE	8
1.3. ZIELE UND FRAGESTELLUNG	12
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>13</b>
2.1. MATERIAL	13
2.1.1. TIERE	13
2.1.2. PERFUSIONSLÖSUNG	13
2.1.3. DILUTIONSLÖSUNG	14
2.1.4. KONSERVIERUNGSLÖSUNGEN	14
2.2. VERSUCHSPROTOKOLL	16
2.2.1. VERSUCHSGRUPPEN	16
2.2.2. ANÄSTHESIE	16
2.2.3. PRÄPARATION UND KONSERVIERUNG	17
2.2.4. EXTRAKORPORALER KREISLAUF	19
2.2.5. BEATMUNG	21
2.2.6. REPERFUSION UND DATENERHEBUNG	21
2.2.7. NASS- UND TROCKENGEWICHT	22
2.2.8. MALONDIALDEHYD	23
2.2.9. STATISTISCHE AUSWERTUNG	23

<b>3. ERGEBNISSE</b>	<b>24</b>
<b>3.1. HÄMODYNAMISCHE PARAMETER</b>	<b>24</b>
3.1.1. PULMONALARTERIELLER DRUCK	24
<b>3.2. FUNKTIONELLE PARAMETER</b>	<b>25</b>
3.2.1. PULMONALER INSPIRATIONSDRUCK	25
3.2.2. OXYGENATIONSKAPAZITÄT	26
<b>3.3. BIOCHEMISCHE PARAMETER</b>	<b>27</b>
3.3.1. MALONDIALDEHYD	27
<b>3.4. STRUKTURELLE PARAMETER</b>	<b>28</b>
3.4.1. NETTOGEWICHTSZUNAHME	28
3.4.2. NASS-/TROCKENGEWICHTSQUOTIENT	29
<b>4. DISKUSSION</b>	<b>30</b>
4.1. KONSERVIERUNGSLÖSUNGEN	30
4.2. TIERVERSUCHSMODELLE	37
4.3. DISKUSSION DER METHODE	40
4.4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	44
4.5. AUSBLICK	48
4.6. ZUSAMMENFASSUNG	50
<b>5. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>51</b>
<b>6. ANHANG</b>	<b>60</b>
6.1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	60
6.2. TABELLEN	61
DANKSAGUNG	64
LEBENS LAUF	65

## **ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Schema 1: Mechanismen des Zelltodes	9
Schema 2: Narkose	17
Schema 3: Schaubild des extrakorporalen Kreislaufes	19
Abbildung 1: Verlauf des mittleren pulmonalarteriellen Drucks	24
Abbildung 2: Verlauf des pulmonalen Inspirationsdrucks	25
Abbildung 3: Oxygenationskapazität	26
Abbildung 4: Malondialdehydkonzentration	27
Abbildung 5: Nettogewichtszunahme	28
Abbildung 6: Quotient aus Nass- und Trockengewicht	29

## 1. EINLEITUNG

### 1.1. Einführung

Die Transplantation der Lunge stellt heute ein etabliertes Therapieverfahren bei pulmonalen Erkrankungen im Endstadium dar. Der Erfolg einer Lungentransplantation hängt zweifelsohne entscheidend von der Qualität der Konservierung des Organs ab. Das Transplantat ist vom Zeitpunkt der Organentnahme bis zur Übertragung auf den Empfänger sowohl von der Zufuhr energiereicher Substrate als auch vom Abtransport metabolischer Abbauprodukte abgeschnitten. Um die daraus resultierenden strukturellen und funktionellen Schäden so gering wie möglich zu halten, ist eine effektive Konservierung des Organs notwendig. Der ischämiebedingte Reperfusionsschaden manifestiert sich innerhalb der ersten Stunden oder Tage nach der Transplantation der Lunge und stellt die häufigste Ursache des primären Organversagens dar (16). Die derzeit klinisch angewandten Verfahren zur Lungenkonservierung führen in bis zu 30 % der Fälle zu einem initialen Organversagen, der Hauptursache der Frühmortalität nach der Transplantation (36).

Ein Ansatz zur Verbesserung der Organkonservierung stellt der Einsatz kaliumarmer Lösungen mit impermeablen Substanzen als Additive zur Konservierung dar. Die hierzu verwendeten Makromoleküle sollen aufgrund ihrer onkotischen Eigenschaften die Entwicklung eines interstitiellen und intrazellulären Ödems reduzieren bzw. verhindern.

Es ist bekannt, dass Moleküle, wie zum Beispiel Albumin, bis zu einer Größe von 50 Kilodalton (kDa) in Situationen mit erhöhter Kapillarpermeabilität, z.B. ARDS (adult respiratory distress syndrome), ins Interstitium übertreten können (18). Es ist daher anzunehmen, dass Dextrane mit Molekulargewichten bis 50 kDa unter ischämischen Bedingungen, infolge der erhöhten Durchlässigkeit des pulmonalen Endothels, aus den Kapillaren austreten und dadurch ein postischämisch auftretendes Ödem verstärken können.

In einem Kleintiermodell konnten Fukuse *et al.* zeigen, dass dieser deletäre Effekt bei Verwendung von Dextranen mit deutlich höherem Molekulargewicht (70 kDa und 160 kDa) ausbleibt und eine verbesserte Organfunktion im Vergleich zu anderen Konservierungslösungen erzielbar ist (26).

## 1.2. Überblick

### 1.2.1. Historische Entwicklung

Die Lungentransplantation ist zu einem etablierten Therapieverfahren für Patienten mit schweren pulmonal-parenchymatösen und –vaskulären Erkrankungen geworden (22). Zu den Indikationen zählen neben obstruktiven Lungenerkrankungen, fibrosierenden Lungenparenchymerkrankungen und primärer pulmonaler Hypertonie auch infektiöse Erkrankungen, wie z.B. die zystische Fibrose (71).

Die erste Transplantation einer Einzellunge wurde bereits 1963 von James Hardy an der University of Mississippi vorgenommen. Der Patient überlebte 18 Tage (56). Die Immunsuppression erfolgte damals mittels Azathioprin, Kortison und einer Strahlentherapie (22).

Die in den folgenden zwanzig Jahren durchgeführten Lungentransplantationen schienen zwar primär erfolgreich, ein zufriedenstellendes Langzeitüberleben wurde jedoch nicht erreicht (32). Die Patienten konnten postoperativ die Klinik nicht verlassen (87). Aus diesem Grund fand das Verfahren der Lungentransplantation damals keine weitergehende klinische Verbreitung.

Erst nachdem Cyclosporin 1972 durch Jean Borel entdeckt und als Immunsuppressivum für solide Organtransplantationen 1980 klinisch eingeführt wurde (58), erfuhr die Lungentransplantation, ebenso wie die Transplantation anderer solider Organe, wie Herz, Leber und Niere, einen erneuten Aufschwung.



Die erste erfolgreiche Herz-Lungentransplantation führten Reitz *et al.* 1981 durch (55).

1983 verzeichnete die Gruppe der University of Toronto erste klinische Erfolge mit einseitigen Lungentransplantationen bei Patienten mit pulmonaler Fibrose (80) und 1986 folgten Verpflanzungen von Doppellungen bei obstruktiven Lungenerkrankungen.

Laut United Network for Organ Sharing stieg die Zahl der Transplantationen von Einzel- und Doppellungen seitdem ständig an, während die Zahl der Herz-Lungentransplantationen weitgehend stabil blieb (41).

In der Sammelstatistik der internationalen Gesellschaft für Herz- und Lungentransplantationen sind im Jahr 1988 36 Einzellungentransplantationen sowie 26 Doppellungentransplantationen publiziert. Die Ein-, Zwei- und Fünfjahresüberlebensraten betragen zu diesem Zeitpunkt 65 %, 57 % und 40 %.

Zehn Jahre später, im Jahr 1998, wurden weltweit insgesamt 582 Einzellungen und 485 Doppellungen transplantiert. Die Ein-, Zwei- und Fünfjahresüberlebensraten verbesserten sich auf 72 %, 63 % und 43 % (36).

Für eine erfolgreiche Transplantation ist eine effektive Konservierung des Organs unabdingbare Voraussetzung, um die strukturellen und funktionellen ischämisch bedingten Schäden während der Organentnahme bis zur Verpflanzung in den Empfänger so gering wie möglich zu halten.

In der Klinik wurden vier verschiedene Methoden zur Lungenkonservierung angewendet: die topische Kühlung des Organs, die Kühlung des Organspenders, die Autoperfusion und die „single flush“-Perfusion.

Connaughton *et al.* beschrieben 1962 eine Verbesserung der Lungenfunktion nach oberflächlicher Kühlung der ischämischen Lunge (15). Die Toronto-Gruppe verwendete die topische Kühlung in ihren frühen Einzel- und Doppellungentransplantationen. Tolerable Ischämiezeiten von 4 Stunden waren mit diesem Verfahren erreichbar (80).

Die Kühlung des ganzen Organspenders über einen extrakorporalen Kreislauf durch einen kardiopulmonalen Bypass wurde von Yacoub in Harefield praktiziert (89). Der Vorteil dieser Methode liegt in der gleichzeitigen Konservierung anderer Organe wie Herz, Leber und Nieren. Der immense technische Aufwand verhinderte allerdings eine breite klinische Akzeptanz.

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts beschrieb Starling in einer physiologischen Studie eine Herz-Lungen-Präparation unter Autoperfusion. Robicsek wandte 1960 diese Methode zur Herztransplantation an (46).

Später verwendete eine Gruppe aus Pittsburgh als einzige die komplexe Methode der normothermen Autoperfusion zur Herz-Lungen-Transplantation. Die maximal erreichbaren Ischämiezeiten lagen ebenfalls bei 4-6 Stunden (29).

In den meisten Transplantationszentren setzte sich die einmalige Schwerkraftperfusion des Organs vor der Explantation mit einer hypothermen Lösung, auch als „single flush“ - Perfusion bezeichnet, durch.

Diese Technik weist viele Vorteile auf: Sie ist einfach anzuwenden, die Lunge wird schnell und effektiv gekühlt, schädigende Blutbestandteile wie Fibrin, Leukozyten und Komplement werden ausgewaschen und die Tätigkeiten anderer Explantationsgruppen werden nicht beeinträchtigt.

Die gegenwärtig am häufigsten zur „single flush“ -Konservierung eingesetzte Lösung ist Euro-Collins<sup>®</sup>, eine aus der Nierenkonservierung bekannte Lösung mit intrazellulärer Elektrolytkonzentration, d.h. hohem Kaliumanteil. Mit Hilfe von Zusätzen wie Prostacyclin gelang es, die Ischämietoleranz der Lunge auf 6-7 Stunden zu steigern (39).

In jüngster Zeit erfolgt zunehmend der Einsatz einer niederkaliumhaltigen Lösung mit Dextran 40 kDa als hochmolekulares Additiv. Diese ist als Perfadex<sup>®</sup> kommerziell verfügbar und liefert vielversprechende Ergebnisse (59).

Die Anzahl verschiedener Lösungen, Zusätze, Volumina, Temperaturen, Ischämie- und Beobachtungszeiten ist groß. Dies erschwert es, oder macht es gar unmöglich, die einzelnen Ergebnisse miteinander zu vergleichen (46).

### 1.2.2. Auswirkungen der Ischämie auf die Lunge

Vom Zeitpunkt der Organentnahme bis zur Transplantation in den Empfänger ist die Lunge sowohl von der Zufuhr energiereicher Substrate, wie Sauerstoff und Glucose, als auch vom Abtransport metabolischer Abbauprodukte abgeschnitten. Dadurch treten chemisch-metabolische und strukturelle Veränderungen an und in den Zellen auf.

Ischämiebedingt wird die oxidative Phosphorylierung unterbrochen und die Konzentration energiereicher Phosphate (ATP) nimmt ab. Die Aktivität der ATP-abhängigen Natrium-Kalium-Pumpe wird dadurch reduziert. Das intrazelluläre Kalium sinkt ab, das extrazelluläre Kalium steigt an. Das Chloridion strömt in die Zelle und nimmt als osmotisch wirksames Teilchen passiv Wasser mit. Die Zelle schwillt an.

Bei Sauerstoffmangel weicht der Energiestoffwechsel auf anaerobe Glykolyse aus. Die Bildung von Milchsäure, die zu Lactat und Wasserstoff dissoziiert, verursacht eine zytosolische Azidose, die mit der Funktion der intrazellulären Enzyme interferiert und somit in Folge auch die Glykolyse hemmt, so dass auch diese letzte ATP-Quelle versiegt (73).

Es ist heute bekannt, dass irreversible Gewebeschäden nicht allein aufgrund des Sauerstoffmangels während der Ischämie, sondern vor allem als Folge der Reperfusion und Reoxygenation ischämischen Gewebes entstehen können (72).

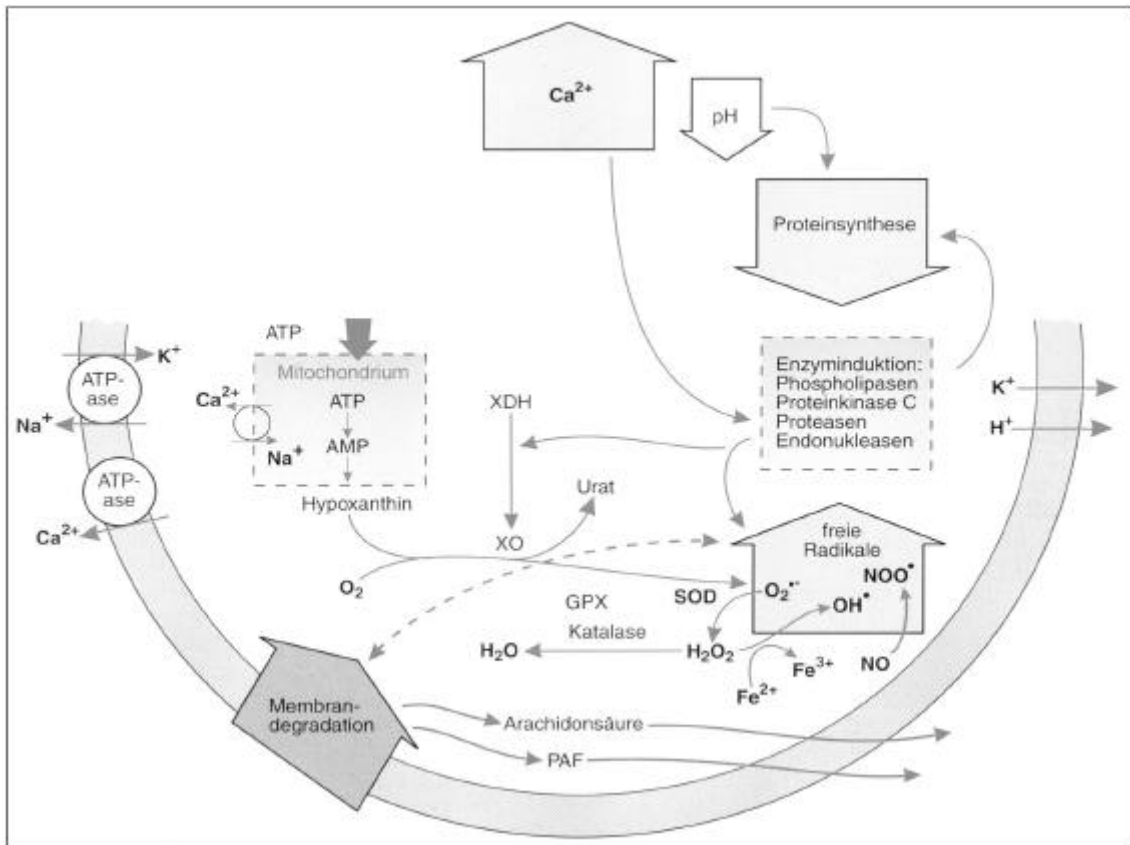
Die zu Beginn der Ischämie vorhandenen energiereichen Phosphate werden rasch zu energiearmem Hypoxanthin abgebaut. Das Enzym Xanthindehydrogenase (XDH) wird zu Xanthinoxidase (XOD) umgewandelt.

Während der Reperfusion erhält XOD Sauerstoff als Substrat und bildet aus Hypoxanthin Urat und freie Sauerstoffradikale (70), wie das Superoxidradikal ( $O_2^{\cdot-}$ ), das hochtoxische Hydroxylradikal ( $OH^{\cdot}$ ) oder das reaktive Peroxinitrat ( $NOO^{\cdot}$ ). Diese Radikale sind im Gegensatz zu molekularem Sauerstoff äußerst reaktionsfreudig und denaturieren über Lipidperoxidation Zell- und Membranproteine, so dass dadurch die Zellen irreversibel geschädigt (72) und intrazelluläre Makromoleküle in den Extrazellularraum freigesetzt werden.

**Schema 1:** Mögliche Mechanismen des Zelltodes (72).

Quelle: Siegenthaler W., (1994). Klinische Pathophysiologie.

7. Auflage S. 553, 884-885. Georg Thieme Verlag  
Stuttgart; New York.



Abkürzungen:  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{OH}^{\bullet}$ ,  $\text{NOO}^{\bullet}$ . Freie Radikale

GPX = Glutathionperoxidase

PAF = Thrombozytenaktivierender Faktor

SOD = Superoxiddismutase

XDH = Xanthindehydrogenase

XOD = Xanthinoxidase

Zusätzlich kommt es im Laufe der Reperfusion zur Adhäsion aktivierter neutrophiler Granulozyten an geschädigte Endothelzellen, was wiederum zu entzündlichen Prozessen und verstärkter Migration von Abwehrzellen aus dem Gefäßsystem führt (62). Die Leukozyten tragen durch die Freisetzung von Zytokinen, freien Sauerstoffradikalen und Proteasen ebenfalls zur Zellschädigung, vor allem des Endothels, bei.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der ischämiebedingte Reperfusionsschaden durch das Zusammenspiel vieler Faktoren, wie die Bildung freier Sauerstoffradikale, die Stimulation von Leukozyten (47) und Thrombozyten, die Aktivierung der Komplementkaskade und die Stimulation von Entzündungsmediatoren und Arachidonsäuremetaboliten hervorgerufen wird (81). Dies führt vor allem zu einer Dysfunktion des Endothels und der Typ I und Typ II Alveolarzellen (62).

Die Folge des Reperfusionsschadens ist eine Dysfunktion des transplantierten Organs bis hin zum totalen Organversagen.

Unter physiologischen Bedingungen werden die in geringen Mengen produzierten freien Radikale permanent von einem intrazellulären Verteidigungsmechanismus, der Superoxiddismutase (SOD) inaktiviert. SOD katalysiert die Reaktion von Superoxiden zu Hydrogenperoxiden ( $H_2O_2$ ), während zwei weitere Enzyme, Katalase und Glutathion das entstandene Hydrogenperoxid zu Wasser und Sauerstoff umwandeln. In vielen experimentellen Studien wurde ein positiver Effekt nach Gabe von SOD vor und während der Ischämie beschrieben (53).

Positive Auswirkungen auf die Organkonservierung wurden auch von Glutathion als essentielle Komponente zur Reduktion zytotoxischer Stoffe, von Allopurinol zur Inhibition der Xanthinoxidase und von Adenosin zur Stimulation der ATP-Synthese nach der Reperfusion beschrieben (11). Effektiv zeigten sich in experimentellen Studien auch die Gaben von Komplementinhibitoren, Katalase, Agonisten thrombozytenaktivierender Faktoren, exogenem Surfactant sowie die Inhalation von Stickstoffmonoxid.

Fischer *et al.* wiesen im Jahr 2000 einen geringeren postischämischen Reperfusionsschaden durch Zugabe des Angiotensin-Converting-Enzym-Hemmers Captopril zur Konservierungslösung nach (21).

Trotz der großen Anzahl der experimentell getesteten Substanzen finden derzeit nur zwei pharmakologische Additive klinische Anwendung, Prostaglandine und Kortikosteroide (81).

Die Ischämietoleranz der Lunge lässt sich unter anderem auch durch Kühlung verlängern.

Bemerkenswert ist die Tatsache, dass die Erhaltung eines minimalen Stoffwechsels bei einer Temperatur zwischen 7 °C und 15 °C sinnvoller erscheint, als die völlige Reduzierung des Lungenmetabolismus. Cooper und Vreim erreichten in einer Studie 1992 bessere Lungenfunktionen nach der Transplantation durch Konservierung des Organs bei 10 °C als bei Konservierungstemperaturen um 1 °C (16). Albes *et al.* zeigten 1997 am Kleintiermodell die Abhängigkeit der postischämischen Lungenfunktion von der Temperatur des Perfusats (4). Sie erzielten die besten Ergebnisse nach Perfusion des Transplantats mit 15 °C kalter Perfadex<sup>®</sup>-Lösung und anschließender Ischämie bei 10 °C.

Allerdings wurde bisher keine ideale Konservierungstemperatur definiert, so dass weitere Forschungen auch auf diesem Gebiet dringend nötig sind.

### **1.3. Ziele und Fragestellung**

In dieser Studie soll in einem *ex-vivo* Großtiermodell am Schwein der Einfluss hochmolekularer Dextrane (60-90 kDa und 150 kDa) auf die pulmonale Funktion nach Ischämie und Reperfusion ermittelt werden.

Hierzu sollen Schweinelungen nach 24-stündiger Ischämie in einem extrakorporalen Modell über 60 Minuten pulsatil perfundiert werden. Dafür wird ein etabliertes Tiermodell verwendet, das den physiologischen Gegebenheiten bei der klinischen Verpflanzung einer menschlichen Lunge sehr nahe kommt.

Zur Überprüfung des Konservierungserfolges werden funktionelle, hämodynamische, biochemische und strukturelle Parameter bestimmt.

Aufgrund der im Kleintierversuch erhobenen Daten wird angenommen, dass die Verwendung dieser hochmolekularen Dextrane zu einer signifikanten Verbesserung der Organfunktion führt.

## **2. MATERIAL UND METHODEN**

### **2.1. Material**

#### **2.1.1. Tiere**

Zu den Versuchen wurden Hausschweine (*Jus scrofa domestica*) verwendet (mittleres Gewicht 25 bis 40 kg). Die Pflege und Fütterung der Hausschweine erfolgten in der Versuchstierhaltung der Eberhard-Karls-Universität Tübingen.

Die Tierhaltung, die artgerechte Pflege sowie die Tötungsversuche erfolgten nach den Richtlinien des deutschen Bundesgesetzblattes für Tierhaltung und Tierversuche. Sämtliche Versuche wurden dem Regierungspräsidium Tübingen (Referat 37) gemäß § 8a Abs. 1 und 2 ordnungsgemäß angezeigt. Die Tierversuche unterlagen der ständigen Kontrolle der Tierschutzbeauftragten der Eberhard-Karls-Universität Tübingen.

#### **2.1.2. Perfusionslösung**

Zur Herstellung der Perfusionslösung wurde frisches Schweineblut vom Schlachthof Gärtringen verwendet.

Unmittelbar nach dem Auffangen in 1,5 l Behältern wurde das Blut mittels 2000 IU Liquemin pro 1,5 l ungerinnbar gemacht und in Kühlboxen gelagert. Um es von seinen Plasmabestandteilen, den weißen Blutzellen sowie den Thrombozyten zu trennen, wurde das Blut anschließend mit einer Zentrifuge (Haemonetics cell saver 4, München) bei 5650 Umdrehungen pro Minute mit 0,9 %-iger Kochsalzlösung gewaschen. Daraufhin wurde das Blut mit kaliumarmer Krebs-Henseleit-Lösung auf einen Hämatokritwert zwischen 32 % und 38 % diluiert und bei 10 °C gelagert.



### 2.1.3. Dilutionslösung

Zur Dilution und Einstellung des Spenderblutes auf einen Hämatokritwert von 32 % bis 38 % wurde kaliumarme Krebs-Henseleit-Lösung verwendet.

#### **Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung:**

7,352 g	Calciumchlorid-2-Hydrat 2,5 mM
105,192 g	Natriumchlorid 90,0 mM
50,406 g	Natriumhydrogencarbonat 30,0 mM
2,840 g	Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat 1,0 mM
4,930 g	Magnesiumsulfat-7-Hydrat 1,0 mM
21,802 g	Glucose-Monohydrat 5,5 mM
2,422 g	Natrium-Pyruvat 1,1 mM

Der pH-Wert der Lösung betrug 8,2.

Lagerung bei 10 °C.

### 2.1.4. Konservierungslösungen

#### **Zusammensetzung der Lungenperfusionslösung Perfadex<sup>®</sup>:**

50,000 g	Dextran 40000 Dalton Molekulargewicht
8,000 g	Natriumchlorid
0,400 g	Kaliumchlorid
0,098 g	Magnesiumsulfat-Anhydrat
0,046 g	Di-Natriumphosphat-Anhydrat
0,063 g	Monokaliumphosphat
0,910 g	Glucose-Anhydrat

ad 1000,0 ml Aqua dest.

Der pH- Wert der Lösung betrug 6,5.

Lagerung bei 10 °C.

**Zusammensetzung der Lungenperfusionslösung mit Dextran 60-90 kDa:**

50,000 g	Dextran 60.000-90.000 Dalton Molekulargewicht
5,786 g	Natriumchlorid
0,298 g	Kaliumchlorid
0,607 g	Natriumdihydrogenphosphat 1-Hydrat
1,327 g	Di-Natriumhydrogenphosphat
2,054 g	Di-Kaliumhydrogenphosphat 3-Hydrat
ad 1000,0 ml Aqua dest.	

Der pH- Wert der Lösung betrug 7,3.

Lagerung bei 10 °C.

**Zusammensetzung der Lungenperfusionslösung mit Dextran 150 kDa:**

50,000 g	Dextran 150.000 Dalton Molekulargewicht
6,567 g	Natriumchlorid
0,298 g	Kaliumchlorid
0,607 g	Natriumdihydrogenphosphat 1-Hydrat
2,100 g	Di-Natriumhydrogenphosphat
4,107 g	Di-Kaliumhydrogenphosphat 3-Hydrat
ad 1000,0 ml Aqua dest.	

Der pH- Wert der Lösung betrug 7,3.

Lagerung bei 10 °C.

## **2.2. Versuchsprotokoll**

### **2.2.1. Versuchsgruppen**

Zur Durchführung der Versuche wurden 29 Hausschweine verwendet. Ihr Gewicht betrug zwischen 25 und 40 kg. Diese Tiere wurden in drei Gruppen aufgeteilt.

In der ersten Gruppe, welche aus 9 Tieren bestand, wurden die Lungen mit 2 l Dextranlösung, deren Molekulargewicht zwischen 60 und 90 kDa lag, konserviert. Im weiteren Text als Gruppe D60-90 bezeichnet.

In der zweiten Gruppe, bestehend aus 11 Tieren, erfolgte die Konservierung mit 2 l einer hochmolekularen Dextranlösung, deren Molekulargewicht 150 kDa betrug. Im weiteren Text als Gruppe D150 bezeichnet.

In der dritten, 9 Tiere umfassenden Gruppe, wurden die Lungenpakete mit 2 l Perfadex<sup>®</sup> konserviert.

### **2.2.2. Anästhesie**

Im Tierhof der Universität Tübingen wurde bereits vor Transportbeginn die Prämedikation der Schweine mit Atropin initiiert. Im Tierversuchslabor folgte die Einleitung der Anästhesie mit Azaperon, Flunitrazepam und Ketaminhydrochlorid sowie eine Inhalationsnarkose mit einem Gemisch aus Lachgas und Sauerstoff sowie Isoflurangabe nach Bedarf.

(Schema 2) siehe nächste Seite

**Schema 2:** Narkose

<b>Prämedikation</b>	
Atropin Atropinsulfat Dobrena®	0,05 mg/kg Körpergewicht
<b>Anästhesie</b>	
Azaperon Stresnil®	4,0 mg/kg Körpergewicht
Flunitrazepam Rohypnol®	0,1 mg/kg Körpergewicht
Ketaminhydrochlorid Ketanest 50®	7,0 mg/kg Körpergewicht
<b>Inhalationsnarkose</b>	
Lachgas- (3,5 l/min) Sauerstoff- (2 l/min) Gemisch Isofluran (Forene®) nach Bedarf (0,5 % bis 2 %)	

**2.2.3. Präparation und Konservierung**

Zur Präparation und Konservierung des Lungenpaketes wurde das Schwein intubiert und mit 8,5 l bei 20 Atemzügen/min beatmet (Siemens-Elema Servoventilator 900, Siemens, Erlangen). Die Luft wurde mit 40 % Sauerstoff angereichert und ein positiver endexpiratorischer Druck von 5 cm Wassersäule eingehalten.

Der Thorax des narkotisierten Tieres wurde durch Sternotomie eröffnet, das Operationsfeld mit einem Thoraxspreizer fixiert, der Thymus abpräpariert und entfernt. Das Perikard wurde mit einem Tupfer vom Thorax mobilisiert. Die Eröffnung des Perikards erfolgte durch eine 2-3 cm lange Inzision im Bereich der Arteria pulmonalis.

Die Vollheparinisierung des Schweines erfolgte mittels intrakardialer Injektion von 20000 IU Natrium-Heparin.

In die Arteria pulmonalis wurde ein Swan-Ganz Katheter zur Messung des pulmonalarteriellen Drucks eingeführt. Nun wurde eine Tabaksbeutelnaht an der Arteria pulmonalis vorgelegt, die Arterie für die Kanülierung inzidiert und anschließend die Kanülierung der Arteria pulmonalis mit einer 7 F Kanüle vorgenommen.

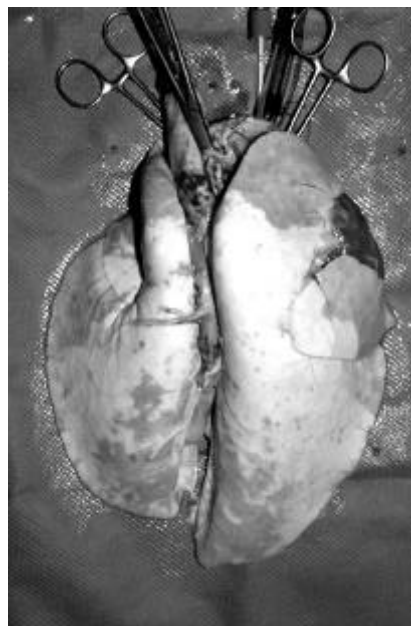
Es erfolgte die Perfusion der Lunge mit 2 l gekühlter (10 °C) Konservierungslösung.

Zur Entnahme wurde das Herz-Lungen-Paket an der Aorta thoracica und der Vena cava inferior, direkt über dem Diaphragma, abgesetzt. Nach kranial wurde die Trachea freipräpariert und kaudal des Larynx abgesetzt.

Die Lunge wurde während und nach der Entnahme wie oben beschrieben beatmet.

Das Herz-Lungen-Paket wurde gewogen, in mittlerer Inspirationstiefe entfaltet und anschließend in eine Organwanne mit 10 °C kalter 0,9 %-iger Kochsalzlösung gelegt.

Nachdem im linken Atrium ein Druckmesskatheter platziert worden war, welcher zur arteriellen Blutentnahme im folgenden Versuchsablauf diente, erfolgte die Lagerung über 24 Stunden in 0,9 %-iger Kochsalzlösung luftdicht abgedeckt bei 10 °C.



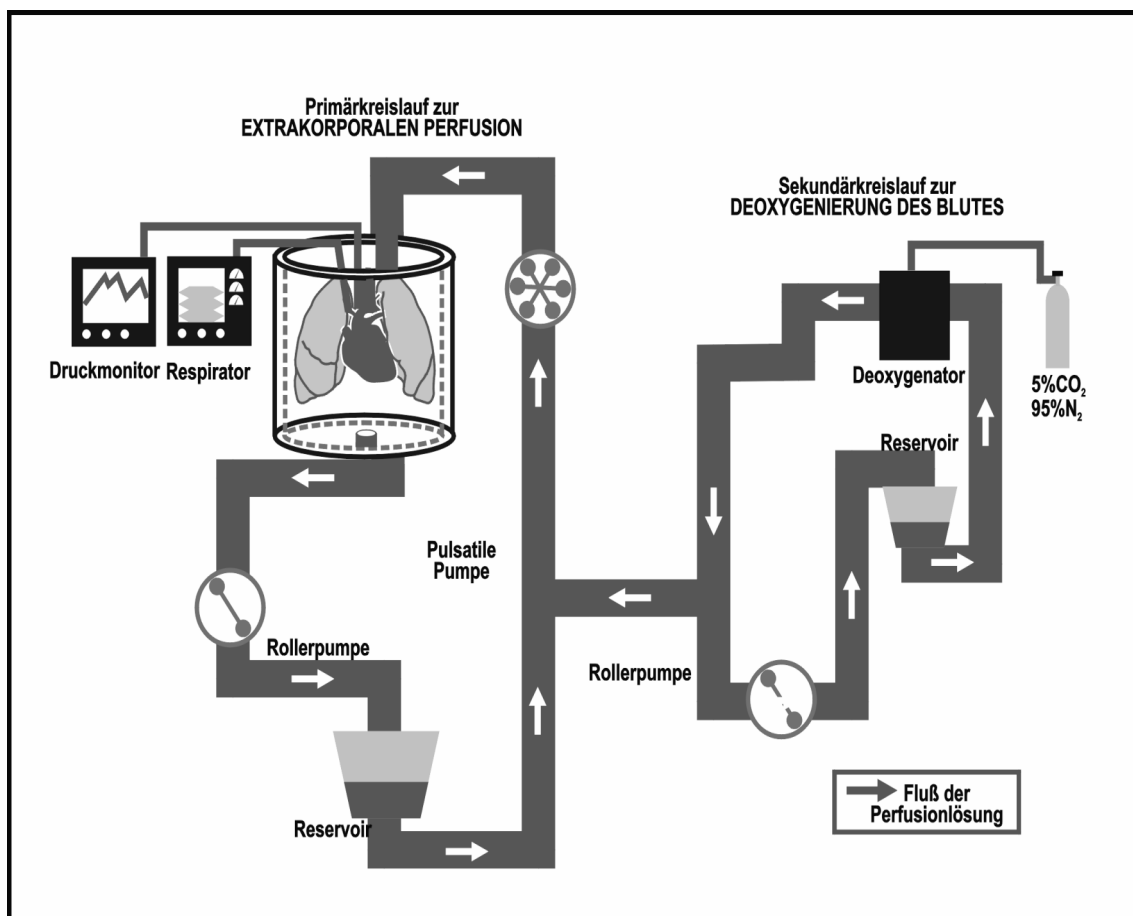
Lunge nach Entnahme

## 2.2.4. Extrakorporaler Kreislauf

Das Modell des extrakorporalen Kreislaufes bestand aus zwei Circuli:

- 1) Primärkreislauf zur extrakorporalen pulsatilen Lungenperfusion
- 2) Sekundärkreislauf zur Deoxygenierung des Blutes

**Schema 3:** Schaubild des extrakorporalen Kreislaufes



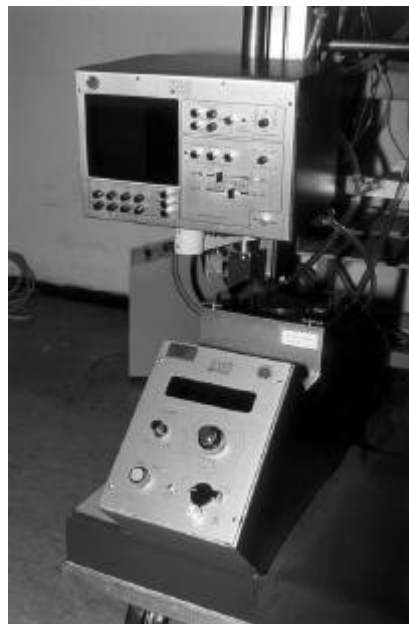
Aus dem Primärkreislauf wurde oxygeniertes Blut in den Sekundärkreislauf geleitet, in welchem eine Deoxygenierung erfolgte.

Vor den Beobachtungszeitpunkten 0, 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten wurde jeweils deoxygeniertes Blut aus dem Sekundärkreislauf in den extrakorporalen Primärkreislauf geleitet.

### Extrakorporaler Primärkreislauf:

Die Perfusionslösung aus der Organwanne wurde von einer Rollerpumpe (Sarns inc., Ann Arbor, Michigan USA) in ein beheiztes Reservoir gefördert und von dort über eine pulsatile Pumpe (Stöckert, München) mit 0,3 l/min und einer Pulsfrequenz von 90/min und suffizienter Pulsamplitude über eine Kanüle in der Arteria pulmonalis dem Lungenpaket zugeführt.

Aus der Lunge floss das oxygenierte Blut über die Vena pulmonalis ins linke Atrium und von dort über einen Schnitt in der Herzspitze zurück in die Organwanne.



Detailaufnahme pulsatile Pumpmodul

### Sekundärkreislauf:

Dieser Kreislauf bestand aus einem beheizten Reservoir und einer Rollerpumpe (Sarns inc., Ann Arbor, Michigan, USA), durch welche das Perfusat in einen Oxygenator (Baxter Univox TM Membran Oxygenation System, Irvine USA) und von dort zurück in das Reservoir gelangte. Der Oxygenator wurde mit einem Gasfluss von 4 l/min 95 %-igem Stickstoff und 0,5 l/min 5 %-igem Kohlendioxid begast. Er deoxygenierte das sauerstoffreiche Blut aus dem Primärkreislauf.

Eine Wärmepumpe (Haake, Berlin) beheizte beide Kreisläufe mit 37 °C warmen Wasser.

### 2.2.5. Beatmung

Während des Experiments erfolgte die Beatmung der Lungen mit Raumluft durch einen Tierrespirator (Pulmomat 19 K1, Dräger, Bremen).

Das Atemzugvolumen betrug 400 ml bei einer Atemfrequenz von 12/min. Ein positiver endexpiratorischer Druck von 5 cm Wassersäule wurde aufrecht erhalten.

### 2.2.6. Reperfusion und Datenerhebung

Der extrakorporale Kreislauf wurde mit 3000 ml Perfusionslösung gefüllt und der Herz-Lungen-Block in einem Winkel von 45 ° in der Organwanne gelagert, um einem Ventilations-Perfusions-Mismatch vorzubeugen.

Zur Reperfusion erfolgte der Anschluss des Lungenpaketes an den Kreislauf über die kanülierte Arteria pulmonalis. Der ebenfalls in der Arteria pulmonalis liegende Swan-Ganz Katheter wurde zur Druckmessung an den Druckabnehmer und Monitor (Hellige, Freiburg im Breisgau) angeschlossen und der extrakorporale Kreislauf mit einem Teil der Perfusionslösung in kontinuierlichem Fluss von 0,1 l/min angefahren. Der Druckabnehmer wurde geeicht und kalibriert, der Nullpunkt in Höhe der Arteria pulmonalis definiert. Nach der Eichung erfolgte die Umstellung des bisher kontinuierlichen Blutflusses auf pulsatilem Fluss und die sukzessive Flussteigerung auf 0,3 l/min.

Währenddessen wurde im Sekundärkreislauf der andere Teil der Perfusionslösung stetig mit 4 l/min 95 % Stickstoff zu 500 ml/min 5 % Kohlendioxid begast. In Abständen von 10 Minuten wurde der venöse Pool über eine Verbindung zum Primärkreislauf in das zuvor entleerte Reservoir umgeleitet. Somit wurde der Lunge jeweils sauerstoffarmes Blut zugeführt, welches nun von ihr oxygeniert werden konnte.

Während dieser Zeitspanne wurden in 10-minütigen Abständen arterielle Blutproben über den Katheter im linken Atrium abgenommen und zeitgleich im venösen Kreislauf Kontrollproben entnommen. Anschließend wurde der Deoxygenationskreislauf wieder mit dem zuvor arterialisierten Blut aufgefüllt.



Um den extrakorporalen Kreislauf aufrechtzuerhalten benötigte man 3 l Perfusionslösung.

Der experimentelle Zeitraum betrug 60 Minuten.

Im Abstand von 10 Minuten wurde der Sauerstoffpartialdruck in einem Blutgasanalysegerät (NOVA Biomedical, Rödermark) bestimmt.  $pO_2$  ist die Differenz aus dem Sauerstoffpartialdruck des oxygenierten Blutes aus dem linken Vorhof und des deoxygenierten Blutes aus dem Reservoir.

Der Inspirationsdruck (PIP) sowie der diastolische und systolische pulmonalarterielle Druck (PAP) wurden, ebenfalls in 10-minütigen Abständen, protokolliert. Der mittlere pulmonalarterielle Druck wurde mit Hilfe der Formel  $\frac{2}{3} \text{PAP dia} + \frac{1}{3} \text{PAP sys}$  berechnet.

Zur Bestimmung der Nettogewichtszunahme (NWG) wurde die Lunge direkt nach der Organentnahme gewogen. Die zweite Messung erfolgte unmittelbar nach Versuchende. Beide Messungen wurden mit einer Präzisionswaage (Sartorius AG, Göttingen) durchgeführt.

### 2.2.7. Nass- und Trockengewicht

Nach jedem Experiment wurde ein 1 cm<sup>3</sup> großes Stück aus dem Mediastinallappen der Schweinelunge entnommen. Das Lungenstück wurde mit einer Präzisionswaage (Sartorius AG, Göttingen) gewogen und anschließend in einem Wärmeschrank (Heraeus, Hanau) bei 50 °C mindestens 48 Stunden getrocknet und nochmals gewogen.

Das Verhältnis Nass- zu Trockengewicht wurde berechnet (W/D ratio).

### 2.2.8. Malondialdehyd

Zur Bestimmung der Malondialdehydkonzentration im Blut wurde nach 10-, 30- und 50-minütiger Reperfusion je ein EDTA- Röhrchen Blut aus dem linken Atrium entnommen.

Malondialdehyd (MDA) ist ein Parameter für das Ausmaß der Lipidperoxidation an Endothelien und somit ein Indikator für oxidativen Stress während der Ischämiezeit.

Zur Messung wurde ein Lipid Peroxidation Assay Kit der Firma Calbiochem verwendet. Mit Hilfe eines chromogenen Agens, welches mit MDA reagiert, entsteht ein stabiler Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum von 586 nm, welches mit einem Spektrophotometer gemessen worden ist.

### 2.2.9. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Informationsverarbeitung der Universität Tübingen unter Beratung von Herrn Prof. Dr. K. Dietz.

Alle experimentell erhobenen Daten wurden auf Datenträger übertragen und per PC mittels statistischer Software (JMP, Version 3.1, SAS, Heidelberg, Cary, NC, USA) bearbeitet.

Mit den post hoc Tests nach der Methode von Tukey-Kramer wurde beim Gruppenvergleich eine Varianzanalyse durchgeführt.

Im Falle der Paarvergleiche wurden für die Differenzen der Mittelwert und dessen 95 %-Konfidenzintervall berechnet.

Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte auf einem zweiseitigen Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ .

Die nachfolgend im Text dargestellten Werte sind, sofern nicht anders angegeben, Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

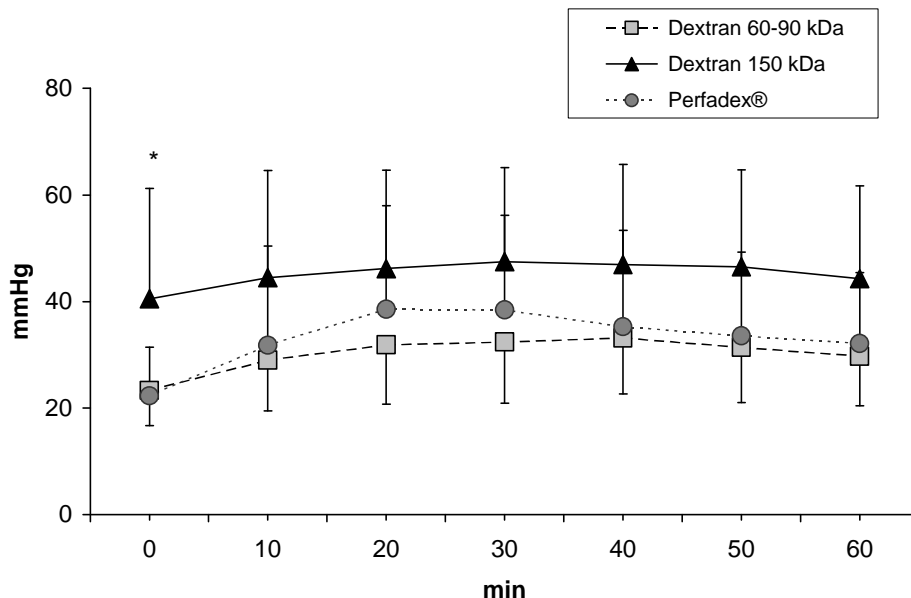
### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1. Hämodynamische Parameter

##### 3.1.1. Pulmonalarterieller Druck

Bei der Darstellung des Verlaufs des mittleren pulmonalarteriellen Drucks der Gruppen Perfadex<sup>®</sup>, D60-90 und D150 in einem Diagramm wird deutlich, dass der pulmonalarterielle Druck während 60 Minuten Reperfusionsdauer in Gruppe D150 höher lag als in den Gruppen Perfadex<sup>®</sup> und D60-90, allerdings nur zu Beginn signifikant. Bereits nach 20 Minuten wurde ein signifikanter Druckanstieg bei allen Gruppen deutlich. Der mittlere PAP der Gruppe D150 war zu diesem Zeitpunkt von  $40,5 \pm 20,7$  mmHg zu Beginn auf  $46,2 \pm 18,4$  mmHg angestiegen. In den Gruppen D60-90 und Perfadex<sup>®</sup> zeigten sich Zunahmen um 8,6 mmHg auf  $31,9 \pm 11,2$  mmHg, bzw. um 16,2 mmHg auf  $38,5 \pm 19,5$  mmHg. Im weiteren Verlauf sank der mittlere PAP aller Gruppen ab. Er betrug am Ende der 60-minütigen Reperfusion  $44,3 \pm 17,4$  mmHg in der D150-Gruppe,  $32,1 \pm 13,3$  mmHg in der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe und lag in der D60-90-Gruppe mit  $29,7 \pm 9,3$  mmHg am niedrigsten.

(Abbildung 1)



**Abbildung 1:** Verlauf des mittleren pulmonalarteriellen Drucks.

Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

\*  $p < 0,05$  Dextran 150 kDa vs. Dextran 60-90 kDa, Perfadex<sup>®</sup>

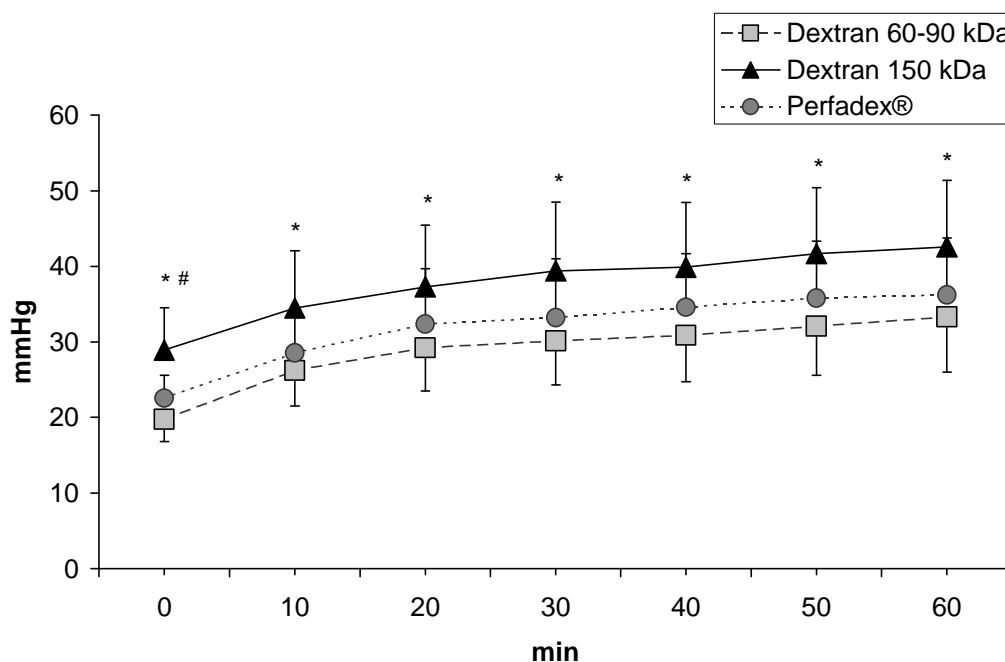
## 3.2. Funktionelle Parameter

### 3.2.1. Pulmonaler Inspirationsdruck

Der pulmonale Inspirationsdruck (PIP) der Gruppe D150 lag zu Beginn der Reperfusion signifikant über dem PIP der Gruppen D60-90 und Perfadex®. Er betrug zu Beginn  $19,8 \pm 3,0$  mmHg in Gruppe D60-90,  $22,6 \pm 3,1$  mmHg in der Perfadex®-Gruppe vs.  $28,9 \pm 5,6$  mmHg in Gruppe D150.

Nach 10-minütiger Reperfusion zeigten sich weiterhin signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen D60-90 und D150, die bis zum Versucheende bestanden. Im Verlauf der 60-minütigen Reperfusion stieg der pulmonale Inspirationsdruck in allen drei Gruppen signifikant an. In Gruppe D60-90 um 13,6 mmHg auf  $33,3 \pm 7,3$  mmHg, in der Perfadex®-Gruppe um 13,7 mmHg auf  $36,2 \pm 7,5$  mmHg und in Gruppe D150 um 13,7 mmHg auf  $42,6 \pm 8,8$  mmHg.

(Abbildung 2)



**Abbildung 2:** Verlauf des pulmonalen Inspirationsdrucks in mmHg.

Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

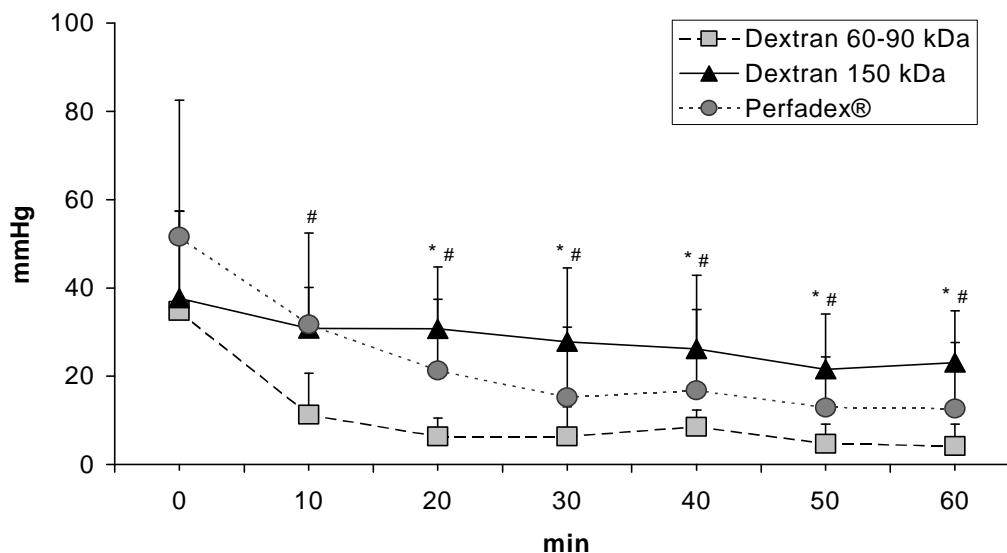
\*  $p < 0,05$  Dextran 150 kDa vs. Dextran 60-90 kDa

#  $p < 0,05$  Dextran 150 kDa vs. Perfadex®

### 3.2.2. Oxygenationskapazität

Die Oxygenationskapazität ( $\rho\text{pO}_2$ ) wies zu Reperfusionbeginn keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen auf ( $37,7 \pm 19,7$  mmHg in Gruppe D150,  $34,8 \pm 22,7$  mmHg in Gruppe D60-90 und  $51,7 \pm 30,9$  mmHg in der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe). In Gruppe D60-90 fiel  $\rho\text{pO}_2$  in den ersten 20 Minuten signifikant um 28,4 mmHg auf  $6,4 \pm 4,2$  mmHg ab und erreichte nach 60 Minuten das Minimum von  $4,2 \pm 5,0$  mmHg. In der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe wurde ein signifikanter Abfall von  $51,7 \pm 30,9$  mmHg zu Reperfusionbeginn um  $38,9$  mmHg auf  $12,7 \pm 14,9$  mmHg beobachtet. Der  $\rho\text{pO}_2$  der Gruppe D150 sank im Vergleich zu den beiden anderen Versuchsgruppe deutlich weniger ab, bezogen auf den 0 Minutenwert jedoch ebenfalls signifikant. Nach 50 Minuten wurde das Minimum von  $21,6 \pm 12,5$  mmHg erreicht. In den letzten 10 Minuten Reperfuionszeit folgte ein leichter Anstieg auf  $23,1 \pm 11,7$  mmHg. Signifikanzen zwischen den Gruppen D60-90 und Perfadex<sup>®</sup> wurden nach 10-minütiger, zwischen den Gruppen D60-90 und D150 nach 20-minütiger Reperfusion bis zum Ende beobachtet.

(Abbildung 3)



**Abbildung 3:** Oxygenationskapazität über 60 Minuten Reperfuionszeit.

Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

\*  $p < 0,05$  Dextran 60-90 kDa vs. Dextran 150 kDa

#  $p < 0,05$  Perfadex<sup>®</sup> vs. Dextran 60-90 kDa

### 3.3. Biochemische Parameter

#### 3.3.1. Malondialdehyd

Der Malondialdehydgehalt im Blut (MDA) blieb während der Reperfusionsdauer in den Gruppen D60-90 und D150 stabil.

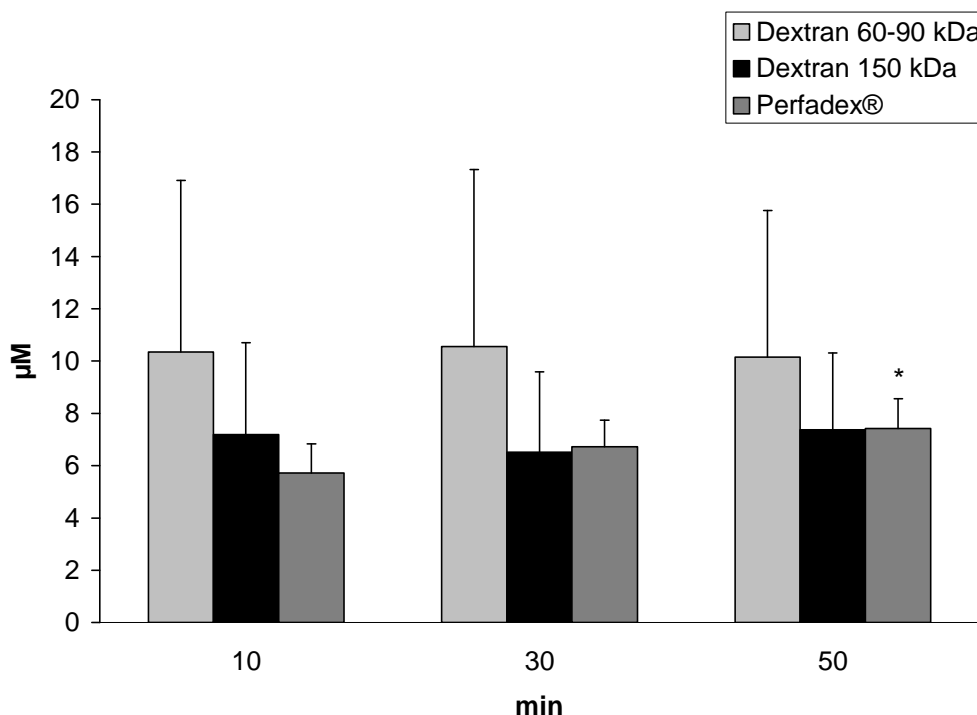
Gruppe D60-90 wies nach 10 Minuten  $10,4 \pm 6,6 \mu\text{M}$ , nach 30 Minuten  $10,6 \pm 6,8 \mu\text{M}$  und nach 50 Minuten  $10,2 \pm 5,6 \mu\text{M}$  MDA auf.

Gruppe D150 lag im Vergleich mit  $7,2 \pm 3,5 \mu\text{M}$  nach 10 Minuten,  $6,5 \pm 3,1 \mu\text{M}$  nach 30 Minuten und  $7,4 \pm 2,9 \mu\text{M}$  nach 50 Minuten etwas niedriger.

Die Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe wies zu Reperfusionbeginn mit  $5,7 \pm 1,1 \mu\text{M}$  den niedrigsten MDA-Gehalt auf. Nach 30 Minuten war dieser auf  $6,7 \pm 1,0 \mu\text{M}$  und nach 50 Minuten auf  $7,4 \pm 1,1 \mu\text{M}$  angestiegen. Bezogen auf den 10 Minutenwert war der MDA-Gehalt damit signifikant höher.

Es zeigten sich jedoch zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

(Abbildung 4)



**Abbildung 4:** Malondialdehydkonzentration im Blut in  $\mu\text{M}$ .

Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

\*  $p < 0,05$  Perfadex<sup>®</sup> 50 min vs. Perfadex<sup>®</sup> 10 min

### 3.4. Strukturelle Parameter

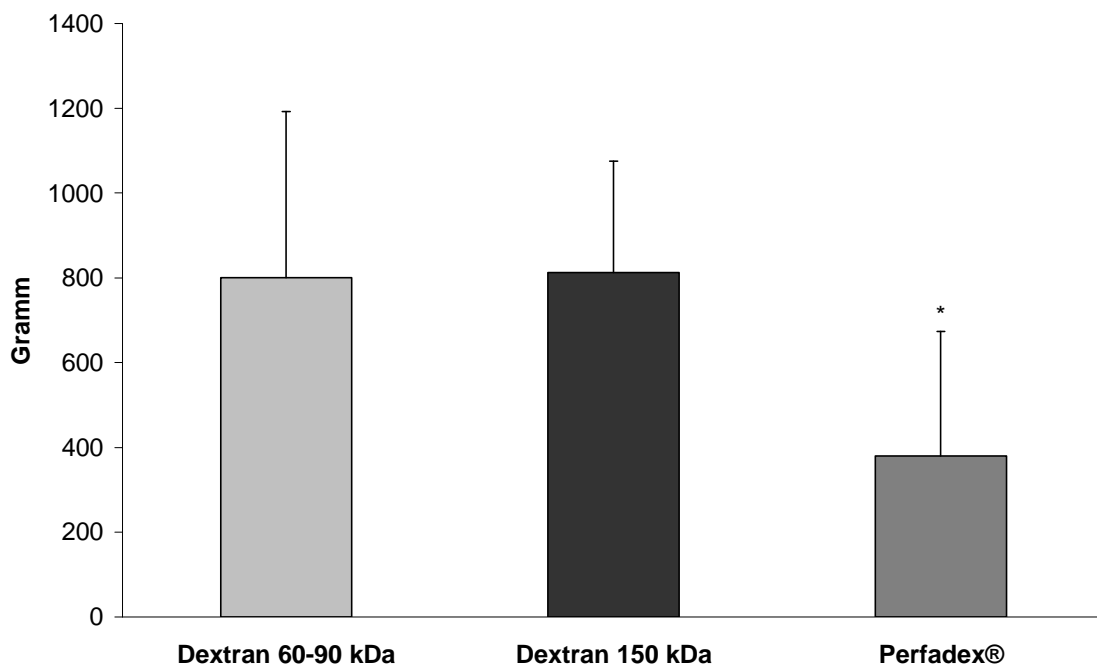
#### 3.4.1. Nettogewichtszunahme

Nach Reperfusionsende wiesen die mit D150 konservierten Lungen eine durchschnittliche Gewichtszunahme von  $812,1 \pm 262,5$  g auf.

Ähnliche Werte wurden bei der Gruppe D60-90 mit einer Nettogewichtszunahme (NWG) von  $800,3 \pm 392,4$  g beobachtet.

Signifikant unterhalb der Gruppen D60-90 und D150 lag die Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe mit einer NWG von  $380,1 \pm 293,6$  g.

(Abbildung 5)



**Abbildung 5:** Differenz aus dem Gewicht der Lunge nach Organentnahme und nach Reperfusionsende.

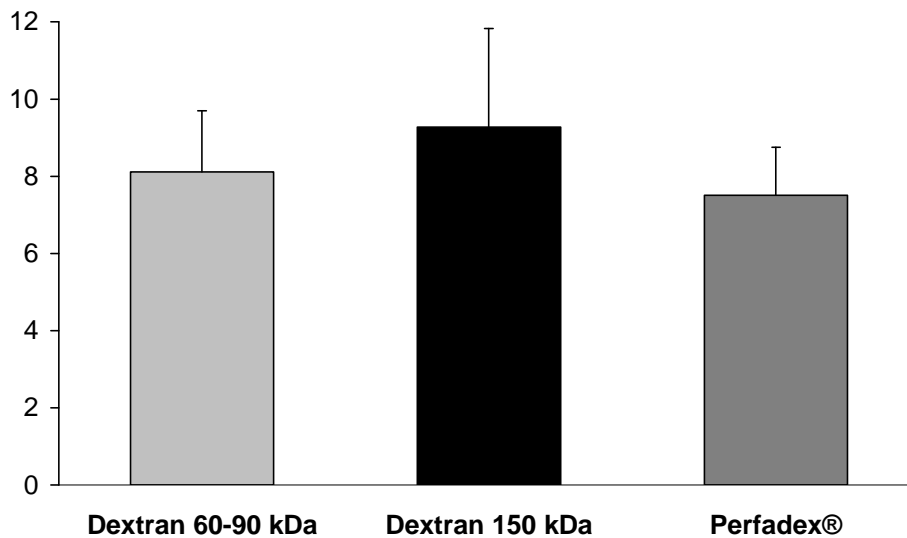
Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

\*  $p < 0,05$  Perfadex<sup>®</sup> vs. Dextran 150 kDa, Dextran 60-90 kDa

### 3.4.2. Nass- / Trockengewichtsquotient

Der ermittelte Quotient aus Nass- und Trockengewicht (W/D ratio) betrug in Gruppe D150  $9,3 \pm 2,6$  und zeigte damit keinen signifikanten Unterschied zur Gruppe D60-90 mit  $8,1 \pm 1,6$  oder der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe mit  $7,5 \pm 1,3$ .

(Abbildung 6)



**Abbildung 6:** Quotient aus Nass- und Trockengewicht der Gruppen D150, D60-90 und Perfadex<sup>®</sup> nach Reperfusionseende. Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.



## 4. DISKUSSION

### 4.1. Konservierungslösungen

Die in den letzten Jahren erzielten Fortschritte, die zu einer erfolgreicherer klinischen Lungenkonservierung und zu verlängerten Ischämiezeiten führten, basierten zu einem entscheidenden Anteil auf den Forschungsergebnissen von Tierversuchen.

Untersucht wurden Konservierungslösungen mit intrazellulärem sowie extrazellulärem Ionengehalt, modifiziertes Blut und Lösungen mit verschiedenen kolloidalen Zusätzen. Später erfolgte die Zugabe von Additiven wie zum Beispiel Steroide, Prostaglandine, Sauerstoffradikalfänger und Calcium-Kanal-Blocker. Experimentiert wurde auch mit Beatmungsverfahren und Temperaturvarianzen.

Nichtkolloidale Konservierungslösungen mit extrazellulärem Ionengehalt, wie Ringerlösung oder isotone Kochsalzlösung, erwiesen sich schon früh als unzureichend und wurden lediglich als Kontrollösungen in Tierversuchen verwendet (32).

Die Papworth-Gruppe setzte ab 1985 eine eigene hyperosmolare extrazelluläre Lösung aus Spenderblut mit guten klinischen Erfolgen ein (27). Die Ischämiezeiten betragen bei den meisten Patienten bis zu 4 Stunden (52). 1991 wurde sogar von der Überlegenheit der modifizierten Blutlösung über andere Perfusionslösungen von Mulvin *et al.* berichtet (60).

Die erfolgreichste Konservierungslösung vom intrazellulären Typ ist eine bereits in den 60er Jahren von Collins *et al.* zur Nierentransplantation entwickelte Lösung, die Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung (EC). Von der intrazellulären Elektrolytkonzentration versprach man sich eine schnelle Aufhebung des Membranpotentials der Zelle. Die daraus resultierende Zellinaktivierung soll eine verbesserte Ischämietoleranz bewirken.

Allerdings zeigten tierexperimentelle Studien Spasmen des pulmonalarteriellen Gefäßsystems durch hohe Kaliumkonzentrationen (45). Eine homogene Perfusion des Transplantats wird dadurch verhindert. Daraus resultiert eine inadäquate Auswaschung von Blutbestandteilen und inhomogene Kühlung des Organs, was zur Ausbildung von Ödemen führen kann. Eine effektive Konservierung des Organs ist nicht möglich (64, 90).

Mit Prostaglandinen als Zusatz im Perfusat versuchte man dieser Vasokonstriktion entgegenzuwirken. Eine tierexperimentelle Studie von Novick *et al.* 1991 an Hundelungen weist nach, dass Prostaglandine die vaskuläre Permeabilität beeinflussen und sowohl die Plättchenaggregation als auch die Freisetzung lysosomaler Enzyme verhindern und möglicherweise sogar die Produktion von Superoxidanionen durch Neutrophile blockieren (63).

Collins erreichte bei Hunden Ischämiezeiten der Niere von bis zu 30 Stunden (14). Starkey *et al.* berichteten 1986 von erfolgreicher sechsstündiger Konservierung von Herz und Lunge bei Primaten. Er benützte 60 ml/kg Körpergewicht gekühlte modifizierte Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung. Die Erkenntnis, dass die Durchspülung des Organs mit 60 ml/kg unter niedrigem Druck über mehrere Minuten eine einheitlichere Kühlung der Lungen ermöglichte als die zuvor verwendeten geringeren Volumina, war ein großer Fortschritt in der experimentellen Lungenkonservierung (31). Eine weitere experimentelle Studie über sechsstündige Lungenkonservierung bei Hunden bestätigte die Überlegenheit von Euro-Collins<sup>®</sup> über die alleinige oberflächliche Kühlung des Organs (51).

Seitdem etablierte sich die Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung als erste Standardlösung zur klinischen Lungentransplantation. Spenderlungen konnten durch diese Konservierung bis zu 6 Stunden nach Organentnahme erfolgreich transplantiert werden (32). Allerdings kommt es bei diesem Verfahren in bis zu 30 % zu einem initialen postoperativen Organversagen. Neuere Ansätze verwenden daher Lösungen mit niedrigem Kaliumgehalt.

In tierexperimentellen Studien verglichen Fukuse *et al.* (3, 24) kaliumarme Euro-Collins-Lösung (LPEC) mit regulärer Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung. Es zeigte sich, vor allem nach längeren Ischämiezeiten, eine bessere funktionelle und strukturelle Integrität der Lungen nach Konservierung mit kaliumarmer Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung.

Auch beim Vergleich mit low potassium 2 % dextran (LPD), ET-Kyoto<sup>®</sup>, und low potassium 5 % dextran (Perfadex<sup>®</sup>) zeigten die mit LPEC konservierten Lungen die besten postischämischen Funktionen (3).

Sachs *et al.* variierten 1973 die Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung, indem sie Mannitol als kolloidalen, hochmolekularen Zusatz hinzufügten (69). Dieser sollte die Flüssigkeit im Intravasalraum halten und so ein interstitielles Ödem vermeiden sowie zellulären Schwellungen vorbeugen. In experimentellen zweiseitigen Lungentransplantationen zeigten sich gute Organfunktionen nach 3 Stunden normothermer Ischämie sowie nach fünfstündiger kalter Ischämie bei 4 °C.

Eine weitere Konservierungslösung mit intrazellulärer Kaliumkonzentration ist die von Belzer *et al.* entwickelte University of Wisconsin<sup>®</sup>-Lösung (UW).

UW enthält verschiedene Komponenten: Lactobionat, Raffinose und Hydroxyethylstärke zur Unterdrückung der Zellschwellung, Adenosin zur Stimulation der ATP-Synthese, Allopurinol zur Hemmung der Xanthinoxidase, Glutathion als Antioxidant, Phosphat als hydrogenen Ionenpuffer und Magnesium zur Zellstabilisierung (46).

Nach erfolgreichen experimentellen Nieren- (66), Pankreas- (84), Leber- (37) und Herzkonservierungen (17) setzten Naka *et al.* 1991 die Lösung zur experimentellen Lungenkonservierung ein (61). Sie führten eine 24-stündige Konservierung bei Hundelungen mit guten postoperativen Ergebnissen durch. Nach diesen bemerkenswerten Erfolgen wurde UW auch klinisch eingesetzt.

In vielen experimentellen Studien zeigte sich ein Vorteil der University of Wisconsin<sup>®</sup>-Lösung gegenüber der Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung (1, 33, 63).

Demgegenüber zeigte eine klinische Studie der University of Pittsburgh lediglich gleichgute Resultate bei der Verwendung von UW und EC (28).

Um der durch den hohen Kaliumgehalt der UW-Lösung hervorgerufenen Vasokonstriktion zu entgehen, wurde der Kaliumgehalt der Lösung reduziert (LPUW).

In einem *ex-vivo* Modell mit Kaninchenlungen von Oka *et al.* 1991 zeigten sich nach 30-stündiger Ischämie bei der LPUW-Gruppe ein besserer Gasaustausch sowie eine geringere Ödembildung als bei der herkömmlichen UW-Lösung (64). Miyoshi *et al.* zeigten 1992 mit ihrer tierexperimentellen Studie ebenfalls die Überlegenheit der LPUW- über die UW-Lösung (57).

Eine Konservierungslösung mit extrazellulärem Elektrolytmuster, die als Zusatz Dextran mit einem Molekulargewicht von 40 kDa enthielt, wurde in der Mitte der 80er Jahre von Fujimura *et al.* entwickelt (Low potassium dextran, LPD). Sie publizierten 1987 die erfolgreiche Konservierung von Hundelungen über 48 Stunden mit LPD (23).

Kashavjee *et al.* verglichen 1989 diese Lösung mit niedrigem Kaliumgehalt mit der hochkaliumhaltigen Euro-Collins<sup>®</sup>-Lösung und zeigten eine signifikant bessere Lungenfunktion nach Konservierung mit LPD. Strüber *et al.* bestätigten diese Ergebnisse in einer klinischen Studie (78). Ein eindeutiger Beweis, dass die verbesserte Konservierung aus der geringeren Kaliumkonzentration resultierte, konnte damit jedoch nicht erbracht werden. LPD und Euro-Collins<sup>®</sup> unterscheiden sich nicht nur in ihren Natrium- und Kaliumkonzentrationen, sondern auch im Dextran- und Glucosegehalt sowie in ihrer Osmolarität.

In einer weiteren Studie wies die Toronto-Gruppe nach, dass sowohl der Dextran- als auch der niedrige Kaliumgehalt eindeutig zur besseren Konservierung der Lunge durch LPD beitragen (44).

Tian *et al.* zeigen in einer neuen experimentellen Studie aus dem Jahr 2000 eine verbesserte Transplantatfunktion durch Verwendung extrazellulärer Ionenkomposition in Konservierungslösungen (79).

Dextran sollte als onkotisches Agens Flüssigkeit in den Gefäßen halten und so der durch kalte Ischämie hervorgerufenen Zellschwellung entgegenwirken (43). Die Voraussetzung hierfür ist jedoch, dass die Lungenkapillaren für Dextran mit einer Molekülgröße von 40 kDa impermeabel sind.

Bekannt ist das Auftreten von Albumin mit einer Größe von 50 kDa im Interstitium beim ARDS (18).

Es ist also anzunehmen, dass Dextran 40 in Situationen mit erhöhter Kapillarpermeabilität ins Interstitium übertreten kann.

Fukuse *et al.* untersuchten in einem extrakorporalen Kleintiermodell das Ausmaß des Übertretens der Dextrane in das Interstitium, abhängig von ihrem Molekulargewicht und dem Effekt auf die Lungenfunktion und Struktur (26).

Sie fanden evidente Unterschiede in den Auswirkungen von Dextranen mit Molekulargewichten von 70 kDa und 160 kDa und kamen zu dem Schluss, es sei ein Vorteil, Dextran mit einer Molekülgröße von über 100 kDa zu verwenden (26). In einer Studie zum Einfluss von Dextranen auf die Herzkonservierung von Albes *et al.* wurden die besten funktionellen und histologischen Ergebnisse bei der Verwendung von Dextranen mit einem Molekulargewicht von 160 kDa erzielt (2).

Eine weitere Eigenschaft des Dextrans ist die Verbesserung des mikrovaskulären Flusses. Es überzieht die Oberfläche von Erythrozyten und verhindert oder löst sogar bereits vorhandene Aggregationen auf. Aus der Umhüllung von Plättchen und Endothelzellen resultiert der antithrombotische Effekt. Außerdem erhöhen Dextrane die Verformbarkeit der Erythrozyten und verbessern so die Fließeigenschaften in den Kapillaren (44).

Von einer Erhöhung der Dextrankonzentration von ursprünglich 2 % auf 5 % erhoffte man sich einen weiteren Fortschritt in der Organkonservierung. Diese kaliumarme Lösung mit 5 % Dextran 40 kDa Molekulargewicht ist mittlerweile als „Perfadex<sup>®</sup>“ kommerziell verfügbar.

Spaggiari und Bobbio glaubten 1994, eine Verbesserung der Zellkonservierung sei auf einen erhöhten onkotischen Druck zurückzuführen, der einer Zellschwellung entgegenwirke. Steen widerlegte diese These. Er führte den Einfluss dieser Lösung auf die erhöhte Proteinsynthese in Lungenzellen auf andere positive Eigenschaften des Dextrans zurück (75).

Dextrankonzentrationen von über 5 % können aufgrund der zu hohen Viskosität zu Einschränkungen der Mikrozirkulation und damit zu inhomogener Perfusion führen (70).

Von erfolgreichen Lungenkonservierungen mit niederkaliumhaltiger Dextranlösung wurde sowohl in experimentellen als auch in klinischen Studien berichtet (34, 59, 76, 90).

Eine Forschungsgruppe aus Kyoto in Japan untersuchte den Einfluss von Trehalose, einem nichtreduzierten Zucker mit membranstabilisierenden und protektiven Eigenschaften und entwickelten eine Lösung namens ET-Kyoto<sup>®</sup>.

ET-Kyoto<sup>®</sup> ist eine extrazelluläre Lösung, welche neben Trehalose auch Gluconat und Hydroxyethylstärke enthält und in ersten Versuchen eine gute Konservierung caniner Lungen von 20 Stunden zeigte (48).

1996 wurde sogar von erfolgreichen experimentellen Lungenkonservierungen über 48 Stunden mit ET-Kyoto<sup>®</sup>-Lösung berichtet (82). 1998 erzielten Bando *et al.* in extrakorporalen Reperusionsversuchen eine signifikant bessere Lungenfunktion nach Konservierung mit ET-Kyoto<sup>®</sup> im Vergleich zu EC und Perfadex<sup>®</sup>(9).

An Verbesserungen dieser Lösung, zum Beispiel durch Zusätze wie Nitroglycerin, N-Acetylcystein und db-cAMP wird geforscht (83).

Eine weitere Konservierungslösung ist Celsior<sup>®</sup>, eine von Menasché entwickelte und ursprünglich zur Herzkonservierung eingesetzte extrazelluläre Lösung. Celsior<sup>®</sup> enthält Mannitol und Lactobionat um Zellschwellungen und Ödembildung vorzubeugen sowie Histidin und reduziertes Glutathion, um Schäden durch freie Radikale zu verhindern. Zur Prävention von myokardialen Kontraktoren trägt Glutamat durch Erhöhung der Energieproduktion bei, ebenso wie eine hohe Magnesiumkonzentration und ein leicht saurer pH-Wert durch Einschränkung intrazellulärer Kalziumanhäufungen (54).

In zahlreichen tierexperimentellen Studien wurden die Auswirkungen von Celsior® zur Organkonservierung untersucht. Menasché *et al.* zeigten 1994 gute Ergebnisse mit Celsior®, sowohl *in vitro* als auch an einem isolierten Rattenherz-Modell, als auch *in vivo* an einem heterotopischen Herztransplantationsmodell bei Hasen (54).

Im Vergleich mit herkömmlichen Herzkonservierungslösungen wie St. Thomas` Hospital-Lösung erwies sich Celsior® als überlegen. In einer Studie zur Nierenkonservierung an Schweinen erwiesen sich Celsior® und University of Wisconsin®-Lösung als gleichwertig (6).

In experimentellen Studien zur Lungenkonservierung wurde Celsior® mit anderen Perfusionslösungen verglichen. Reignier *et al.* publizierten 1995 bessere Ergebnisse mit Celsior® im Vergleich zu Wallwork-Lösung, einer aus heparinisierem Blut, Ringerlösung, Albumin und Mannitol bestehenden Lösung (67).

Eine Gruppe aus Los Angeles (10, 68) berichtete von besserer Lungenkonservierung mit Celsior® verglichen mit University of Wisconsin®- und Euro-Collins®-Lösung. Wittwer *et al.* zeigten 1999 die Überlegenheit von Celsior® über kaliumarme Euro-Collins®-Lösung in einem Kleintiermodell (88).

Die Interpretation der durch die verschiedenen Konservierungslösungen erzielten Resultate wird durch die Vielzahl an Variablen erschwert. Die Lösungen unterscheiden sich in ihrem Ionengehalt, ihrer Osmolarität, ihrem pH-Wert und vielem mehr, so dass der Effekt eines einzelnen Faktors auf die Organkonservierung nicht sicher zu bestimmen ist. Die Experimente unterscheiden sich auch hinsichtlich ihrer Perfusionsmodelle, der verwendeten Tiere, der Ischämiezeiten und Beobachtungszeiträume, so dass ein Vergleich hierdurch erschwert wird.

Trotz aller Bemühungen wurde bis zum heutigen Tag keine optimale Lungenkonservierungslösung gefunden. Weitere intensive Forschungen zur Verbesserung der pulmonalen Konservierung erscheinen daher zwingend erforderlich.

## 4.2. Tierversuchsmodelle

Forschungen im Bereich der Lungentransplantation basieren vor allem auf experimentellen Tierversuchsmodellen.

Die verschiedenen Modelle lassen sich in Großtier- und Kleintiermodelle unterteilen. Diese lassen sich weiter unterteilen in kombinierte Herz-Lungen-Transplantationen, Einzel- und Doppellungentransplantationen, in heterotope und orthotope, allogene, autogene und syngene Transplantationen und Modelle zur isolierten Perfusion der Lungen. Unterschiede gibt es auch hinsichtlich des Beobachtungszeitraums.

Hunde wurden häufig in Großtiermodellen verwendet. Allerdings finden Versuche mit Hunden in der Öffentlichkeit immer weniger Akzeptanz und sie werden zudem immer teurer. Dazu zählen auch Versuche mit Primaten. Andere Alternativen sind Milchkühe, Schafe und Schweine.

Relativ günstig sind dagegen Kleintiermodelle. Ratten und Kaninchen werden am häufigsten verwendet.

Oft wurde von Experimenten mit kombinierten Herz-Lungen-Transplantationsmodellen berichtet. Das Vorhandensein eines transplantierten Herzens verhinderte jedoch die Evaluation der Lungenfunktion unabhängig vom Herzen. Eine schlechte Funktion der Lunge konnte durch eine inadäquate Konservierung oder verminderte Funktion des Myokards hervorgerufen werden. Dadurch wurde die Aussagekraft dieses Modells limitiert (63).

Die Mehrzahl der Ergebnisse bei Großtiermodellen basierten auf autogenen oder allogenen Einzellungentransplantationen. Durch die Präsenz einer normalen kontralateralen Lunge konnte jedoch ein adäquater Gasaustausch und Hämodynamik erreicht werden, selbst wenn die transplantierte Lunge unzureichend konserviert wurde (46).



Jones *et al.* berichteten 1988 von einem neuen Modell zur allogenen Transplantation des linken Lungenflügels bei Hunden (38). Um die rechte und linke Pulmonalarterie wurden aufblasbare Manschetten gelegt, von denen jede mit einem subkutanen Reservoir verbunden war. Durch das Aufpumpen einer Manschette wurde die jeweilige Arterie komplett verschlossen und dadurch der Vergleich der Funktion der transplantierten Lunge mit der normalen kontralateralen Lunge möglich.

Dieses Modell ermöglichte erstmals sowohl Aussagen über akute Organschäden, hervorgerufen durch die Konservierung, als auch über spätere ischämiebedingte Reperfusionsschäden. Es fand später Anwendung im Vergleich von intra- und extrazellulären Perfusionslösungen über 12 Stunden Ischämiezeit (43).

Die allogene Transplantation einer Doppellunge en bloc bei Hunden wurde 1990 von Bonser *et al.* publiziert (12). Nach 12-stündiger hypothermer Ischämie wurde die Funktion der Lunge durch Messungen des Gasaustauschs, der hämodynamischen und mechanischen Parameter sowie der pulmonalen Shunfraktionen ermittelt. Während traditionell der  $pO_2$  als sensitivster Parameter zur Beurteilung einer geeigneten Konservierung galt (32), zeigte diese Studie, dass mechanische Veränderungen der Lunge ebenfalls gute Indikatoren der Organkonservierung sind.

Der Nachteil dieser Methode lag darin, dass ein kardiopulmonaler Bypass benötigt und das experimentelle Modell kompliziert wurde.

In den letzten Jahren wurden verstärkt isoliert perfundierte Lungen-Transplantationsmodelle verwendet. Hier bestand die Möglichkeit, die Lungenvolumina und Gaszusammensetzungen genauer zu kontrollieren und die Ödembildung als Zunahme des Organgewichts zu bestimmen. Nachteilig war die Tendenz der isoliert perfundierten Lungen, schnell ein Ödem zu entwickeln, wodurch der Beobachtungszeitraum limitiert wurde (63).

LoCicero *et al.* entwickelten den Prototyp eines extrakorporalen isoliert perfundierten Lungenmodells an Hunden. Diese Methode erlaubt sensitive Messungen des Gasaustauschs, der Aerodynamik und der Hämodynamik ohne störende Einflüsse durch den Brustkorb des Tieres und der Eigendynamik der pleuralen Flüssigkeit (49).

Später wurde dieses Modell zum Vergleich kristalliner und kolloidaler Konservierungslösungen eingesetzt (50).

Als Alternative wurden kostengünstigere Kleintiermodelle mit Kaninchen und Ratten entwickelt.

Einfache *ex vivo* Kleintiermodelle wurden verwendet, um die Effekte der Ischämie, der Beatmung und der Aufbewahrungstemperatur auf die Lungenfunktion zu studieren (5, 85) oder niederkaliumhaltige Dextranlösung (LPD) mit Euro-Collins®-Lösung zu vergleichen (90). Der Vorteil dieser Modelle lag in ihrer relativen Einfachheit, den geringen Kosten und der Zuverlässigkeit (85). Den Nachteil stellte die nicht-pulsatile Perfusion der Lunge dar.

Das Modell wurde später modifiziert, damit postischämische Messintervalle auf 60 Minuten verlängert und Faktoren evaluiert werden können, die den Reperfusionsschaden beeinflussen. Dazu wurde die isolierte Lunge von einem zweiten anästhesierten Hasen in einem parakorporalen Kreislauf perfundiert (86).

Ein *in vivo* Herz-Lungen-Modell wurde von Kaneko vorgestellt. Er entnahm einem Kaninchen den Herz-Lungen-Block und verpflanzte diesen in das Abdomen eines zweiten Tieres. Der Anschluss erfolgte venös an die Vena cava inferior und arteriell an die Aorta abdominalis. Dadurch wurde eine physiologische Perfusion erreicht. Mit dieser Methode wurden jedoch nur Blutgasanalysen durchgeführt. Hämodynamische Werte wurden nicht ermittelt (40).

Die Tierarten und Strukturen der Modelle variieren stark. Das Fehlen eines Standardmodells ist für die mangelnde Reproduktion und die Probleme der Interpretation zahlreicher publizierter Arbeiten verantwortlich.

### 4.3. Diskussion der Methode

In den letzten Jahren wurden verschiedene extrakorporale Lungenperfusionsmodelle zur Beurteilung von Konservierungseffekten entwickelt. Ein Nachteil der meisten Modelle besteht in der nicht-pulsatilen Perfusion der Lungen (13) und der Verwendung kristalliner Konservierungslösungen (50). Die Pulmonalgefäße reagieren sehr empfindlich auf unphysiologische Bedingungen mit der raschen Entwicklung eines Lungenödems. Bando *et al.* wiesen 1998 an ihrem extrakorporalen Herz-Lungen-Modell stärkere Veränderungen bei kontinuierlich perfundierten, im Gegensatz zu pulsatil perfundierten Lungen nach (8). Der Beobachtungszeitraum sowie die Validität der funktionellen und strukturellen Daten sind begrenzt.

Ein autoperfundierter Herz-Lungen-Kreislauf wurde am Kleintiermodell entwickelt. Der schlagende rechte Ventrikel wurde zur Erzeugung eines pulsatilen Flusses in der Pulmonalisstrombahn verwendet (25).

Anhand dieses Modells konnte der Einfluss der Kaliumkonzentration (24) und die Auswirkung von hochmolekularen Dextranzusätzen (26) evaluiert werden. Allerdings musste das Herz zuvor konserviert werden. Die Qualität dieser zusätzlichen Konservierung entschied über die Länge des Beobachtungszeitraumes nach der Ischämiephase.

Um die anhand des Kleintiermodells erhaltenen Ergebnisse in einen stärkeren klinischen Bezug zu setzen, wurde ein vergleichbares Großtiermodell am Schwein entwickelt. Eine pulsatile Rollerpumpe sicherte, anstelle des rechten Ventrikels, die Perfusion der Lunge. Die Durchblutung konnte somit konstant über einen längeren Zeitraum, unabhängig von der kardialen Pumpfunktion, aufrechterhalten und die Ischämiezeit auf 24 Stunden ausgedehnt werden (13). Während der Reperfusion wurde der Herz-Lungen-Block in einer feuchten Kammer im Winkel von 45 ° platziert, um die Entwicklung eines Ventilations-Perfusions-Missverhältnisses zu reduzieren (30).

Nach einem initial kontinuierlichen Fluss wurde eine pulsatile Perfusion mit Hilfe einer Rollerpumpe bei einer Pulsrate von 90/min hergestellt. Dadurch wurde eine physiologische Druckdifferenz im pulmonalarteriellen System von 12 mmHg aufrechterhalten.

Dieser experimentelle Aufbau erwies sich über eine Stunde lang als stabil und verwertbare Daten konnten auch nach 24 Stunden kalter Ischämie noch ermittelt werden.

Die Temperatur hat während der Ischämie einen wichtigen Einfluss auf die Ischämietoleranz der Lunge. Die Konservierungslösungen wurden vor der Flush-Perfusion auf 10°C gekühlt und während der 24-stündigen Ischämie wurde das Herz-Lungen-Paket ebenfalls bei 10°C gelagert. Verschiedene Studien zeigten den günstigen Effekt von Temperaturen der Perfusate um 10°C und während der Ischämie (4, 85).

Die Perfusionslösung bestand aus gewaschenen Schweine-Erythrozyten. Das gesamte Plasma sowie die Leukozyten wurden entfernt und damit der negative Einfluss von Leukozyten, Thrombozyten und humoralen Faktoren (47) auf die Organfunktion während der Reperfusion nahezu eliminiert. Um das erforderliche Blutvolumen zu erhalten, wurde mit einer Pufferlösung diluiert.

Flush-Perfusion mit Euro-Collins®-Lösung, einer kaliumreichen Konservierungslösung, wird bereits seit 1987 zur Lungenkonservierung angewandt (31). Wegen der hohen Inzidenz primären Transplantatversagens untersuchten zahlreiche Studien Alternativen zur Verbesserung der Organfunktion nach Transplantation (35).

Der nachteilige Effekt hoher Kaliumkonzentrationen, wie in Euro-Collins®- und University of Wisconsin®-Lösung enthalten, führte zur Entwicklung kaliumreduzierter Lösungen wie ET-Kyoto®, Celsior® und Perfadex®, welche bessere Resultate im Hinblick auf die Funktion der pulmonalen Gefäße erzielten (7, 45, 90).

Einen weiteren Schritt in der Entwicklung von Konservierungslösungen stellt die Verwendung hochmolekularer Komponenten, wie Stärke oder Dextrane, dar (44, 57).

Angeregt durch die positiven Ergebnisse, die mit Dextranen im Rahmen der experimentellen Lungenkonservierung erzielt werden konnten, wurden Dextranlösungen mit einem Molekulargewicht von 40 kDa und niedrigem Kaliumgehalt entwickelt (77). Eine dieser Lösungen, Perfadex<sup>®</sup>, ist inzwischen kommerziell erhältlich (76) und wird seit kurzem bereits erfolgreich klinisch eingesetzt (59).

Es wird angenommen, dass Dextrane die Konservierung der Lunge auf verschiedene Art und Weise unterstützen. Es überzieht die Oberfläche von Erythrozyten und verhindert so Aggregationen. Ein weiterer Aspekt ist die Umhüllung von Plättchen und Endothelzellen und der daraus resultierende antithrombotische Effekt, der zu einer Verbesserung des mikrovaskulären Flusses führt (44). Dextrane werden darüber hinaus als potentielle Fänger freier Sauerstoffradikale angesehen. Dies konnte bisher jedoch nicht experimentell bestätigt werden (42).

Fukuse *et al.* zeigten 1996 in einer Studie nachteilige Effekte von niedermolekularen Dextranen (40 kDa Molekulargewicht) auf (26). Diese lassen sich durch ein Übertreten von Dextran 40, in Situationen mit erhöhter Kapillarpermeabilität, ins Interstitium erklären. Es ist bekannt, dass Moleküle mit über 50 kDa Molekulargewicht im ARDS die mikrovaskuläre Barriere überwinden und zu interstitiellen Ödemen führen können (18). Folgen sind sowohl eine verminderte Sauerstoffaufnahme als auch Druckerhöhungen im pulmonalen Gefäßsystem und ein erhöhter Atemwegswiderstand.

Ein bekannter Mechanismus der Zellschädigung ist die Lipidperoxidation. Charakteristisch ist die Entstehung von Lipidperoxiden und ihren Nebenprodukten, die letztendlich zu einem Verlust der Membranfunktion und ihrer Integrität führen. Malondialdehyd (MDA) ist ein Endprodukt der Peroxidation vielfach ungesättigter Fettsäuren und deren Ester. Die Messung dieses Aldehyds dient als Maß für die Lipidperoxidation und somit als Marker der pulmonalen Endothelschädigung.

Mit Hilfe dieses pulsatil perfundierten Großtiermodells kann eine Vielzahl an Bedingungen, die zu einem Reperfusionsschaden führen können, unter definierten physiologischen Bedingungen erforscht werden. Es stellt somit eine vielversprechende Alternative zu den bisher angewandten Lungenperfusionsmodellen dar.

#### 4.4. Diskussion der Ergebnisse

Zu Beginn der Reperfusion zeigten die mit Perfadex<sup>®</sup> konservierten Lungen, ebenso wie die mit Dextranlösungen höheren Molekulargewichts konservierten Transplantate, adäquate Lungenfunktionen, sogar nach 24 Stunden kalter Ischämie.

In der Gruppe D150, deren Konservierungslösung hochmolekulare Dextranadditive enthielt, wurde zu Reperfusionbeginn ein signifikant höherer pulmonalarterieller Druck (PAP) im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen mit Dextranen niederen Molekulargewichts gemessen. Auch im weiteren Verlauf lag der PAP der D150-Gruppe über den Werten der Gruppen D60-90 und Perfadex<sup>®</sup>. Die Ursache dieses erhöhten PAP könnte in einer gestörten Mikrozirkulation der pulmonalen Strombahn liegen. Das durch die Reperfusion entstehende peribronchovaskuläre Ödem komprimiert das umgebende Parenchym und somit das kapilläre Gefäßbett (20).

Der pulmonale Inspirationsdruck (PIP) der Gruppe D150 lag während der gesamten Reperfusion deutlich über dem Druck der Gruppe D60-90 und signifikant oberhalb der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe. In allen drei Versuchsgruppen wurde ein signifikanter Anstieg des PIP beobachtet. Diese Zunahme kann als Verschlechterung der Compliance im Rahmen der Reperfusion gedeutet werden.

Bei der Messung der Oxygenationskapazität ( $\rho\text{O}_2$ ), die als eine der aussagekräftigsten Indikatoren einer adäquaten Lungenkonservierung angesehen wird, wies die D150-Gruppe im Reperfuionsverlauf die zufriedenstellendsten und stabilsten Werte auf.

Ebenfalls konstant blieb der Malondialdehydgehalt (MDA) im Blut dieser Versuchsgruppe, ein Maß für pulmonale Endothelschädigung.

Die Nettogewichtszunahme (NWG) lag in der Gruppe D150 nur leicht über dem Ergebnis der Gruppe D60-90, jedoch signifikant oberhalb der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe. Ähnliche Ergebnisse lieferte auch die Ermittlung des Quotienten aus Nass- und Trockengewicht (W/D ratio), jedoch ohne Signifikanz.

Ein Grund dafür könnte sein, dass die W/D ratio nur ca. 1 cm<sup>3</sup> des Lungengewebes repräsentiert, während die Nettogewichtszunahme das Gewicht der gesamten Lunge vor und nach Reperfusion widerspiegelt. Die Ursache könnte in der Heterogenität des Parenchymschadens liegen.

In der Tat wurden extrem unterschiedliche histopathologische Veränderungen innerhalb einer konservierten Lunge gefunden. In unmittelbarer Nachbarschaft von Arealen mit normaler Lungenstruktur und Funktion lagen schwer geschädigte Gebiete (32). Daher können nur anhand morphologischer Untersuchungen struktureller Veränderungen Aussagen zur Qualität von Lungenkonservierungen gemacht werden (8).

Allen Versuchsgruppen gemeinsam ist jedoch eine deutlich erhöhte W/D ratio. Die Organkonservierung an sich führt offensichtlich unabhängig von der verwendeten Konservierungslösung zu einer Zellschädigung, die sich als intraalveoläres, interstitielles und peribrochovaskuläres Ödem manifestiert.

Fehrenbach *et al.* wiesen in einer tierexperimentellen Studie signifikante Korrelationen zwischen der Menge eines intraalveolären Ödems und W/D ratio, PIP und  $\dot{V}P_{O_2}$  nach, im Falle des Oxygenationspotentials der Lunge bestand sogar ein logarithmischer Zusammenhang. Sie kamen zu der Schlussfolgerung, dass die ischämisch/reperfusionsbedingte Verschlechterung der Respiration in direktem Zusammenhang mit dem Ausmaß eines intraalveolären Ödems steht (20).

Aus der Verwendung von Perfadex<sup>®</sup>, welches Dextransätze mit einem Molekulargewicht von 40 kDa enthält, resultierte eine zu Beginn der Reperfusion sehr gute Oxygenationskapazität ( $\dot{V}P_{O_2}$ ). Innerhalb der ersten 20 Minuten fiel diese signifikant ab, blieb jedoch im weiteren Verlauf relativ stabil. Die sinkende Oxygenierungsfähigkeit der Lunge lässt vermuten, dass eine durch Reperfusionsschäden verursachte Ödembildung zu einer Vergrößerung der Diffusionsstrecke führt, wodurch die Oxygenationskapazität der Lunge beeinträchtigt wird.



Der mittlere pulmonalarterielle Druck (PAP) dieser Gruppe stieg innerhalb der ersten 20 Minuten signifikant an, fiel allerdings in den folgenden 40 Minuten wieder signifikant ab. Diese Abnahme des mittleren PAP kann als progressive Verschlechterung der Reaktivität der vaskulären Endothelzellen gedeutet werden. Während der gesamten Reperfusion lag der PAP der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe nur leicht über dem der Gruppe D60-90, jedoch deutlich unterhalb des PAP der Gruppe D150.

Der pulmonale Inspirationsdruck (PIP), der als Parameter zur Beurteilung der Compliance gilt, stieg wie in den beiden anderen Versuchsgruppen ebenfalls signifikant an und lag, ähnlich wie der PAP, zwischen den Werten der Gruppen D60-90 und D150.

Die Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe zeigte sowohl den niedrigsten Malondialdehydgehalt, als auch den geringsten Nass- und Trockengewichtsquotienten. Die Nettogewichtszunahme lag signifikant unterhalb der Werte der Gruppen D60-90 und D150. Dies lässt auf geringere Zellschädigungen im Vergleich zu Konservierungslösungen mit Dextranszusätzen höheren Molekulargewichts schließen. Weitere Untersuchungen dieser Hypothese erscheinen erforderlich.

Die Gruppe D60-90 wies sowohl für den pulmonalarteriellen Druck als auch den Inspirationsdruck die niedrigsten Messwerte auf.

Die Oxygenationskapazität ( $\%pO_2$ ) der Gruppe D60-90 lag bereits nach 10-minütiger Reperfusion signifikant niedriger als der Wert der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe sowie nach 20 Minuten auch signifikant unterhalb der Gruppe D150.

Die Messwerte der NWG und W/D ratio der Gruppe D60-90 lagen nur leicht unter denen der D150-Gruppe, jedoch deutlich, bei der NWG sogar signifikant, über denen der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe.

Die Lipidperoxidation, gemessen am MDA-Gehalt im Blut, war in der Gruppe D60-90 am höchsten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse dieser Studie in Kontrast zur initialen Hypothese stehen. Die klinisch etablierte Konservierungslösung Perfadex<sup>®</sup> lieferte bessere Resultate als die Verwendung einer kaliumarmen Konservierungslösung mit Dextranszusätzen von 60-90 kDa Molekulargewicht. Eine der Konservierung mit Perfadex<sup>®</sup> ähnliche Qualität konnte mit der D150-Lösung erreicht werden, wenn auch einige Parameter auf einen erhöhten Widerstand der Pulmonalgefäße hinweisen. Der potentielle Einfluss der Molekülgröße der Dextrane auf die pulmonale Mikrozirkulation und den pulmonalen Gefäßwiderstand muss in einer weiteren Studie evaluiert werden.

#### **4.5. Ausblick**

Die Lungentransplantation ist ein wirksames Verfahren zur Behandlung von Patienten mit pulmonalen Erkrankungen im Endstadium.

Zu den Herausforderungen der Zukunft zählt das Lösen heutiger Probleme der Lungentransplantation. Eine verbesserte Konservierung des Spenderorgans würde längere Ischämiezeiten erlauben, die Rate des initialen postoperativen Organversagens reduzieren und umfangreichere Gewebetypisierungen ermöglichen. Mit Hilfe einer Gentherapie der Spenderlunge könnte einer Transplantatabstoßung entgegengewirkt werden und die Immunsuppression des Empfängers und die damit verbundenen Risiken von Infektionen und neoplastischen Entartungen verringert werden (56).

Ein weiteres Problem ist der Mangel an geeigneten humanen Spenderorganen. Während die Anzahl der auf ein Organ wartenden Patienten in den letzten Jahren ständig anstieg, blieb die Zahl der Organspender relativ stabil. Außerdem ist nur ein Anteil von 20 % der angebotenen Spenderorgane für eine Transplantation geeignet, so dass es zu einer immer größeren Differenz zwischen Bedarf und Angebot kommt. Dies führt zu einer Todesrate von 10 - 20 % der Patienten auf der Warteliste (19).

Extrakorporale Ersatzverfahren wie die Membranoxygenierung stellen nur eine zeitlich limitierte und komplikationsreiche Alternative dar. Im Einzelfall sind sie als kurzfristige Überbrückung zur Transplantation denkbar. Aus diesem Grund haben sich in den letzten Jahren international die Anstrengungen zur Erforschung von Alternativen zur menschlichen Organspende im Sinne der Übertragung tierischer Organe verstärkt (22).

Die Xenotransplantation bringt jedoch bisher unbekannte Probleme mit sich. Zu nennen sind die Abstoßungsmechanismen, sowohl hyperakut als auch chronisch, und die sich daraus ergebenden Risiken einer massiven Immunsuppression. Zu berücksichtigen ist außerdem der potentielle Transfer infektiöser Erreger, insbesondere durch Retroviren übertragene Zoonosen (65).

Darüber hinaus beinhaltet das Konzept der Xenotransplantation mögliche Probleme aufgrund differierender physiologischer Bedingungen von Mensch und Tier. So beträgt z.B. die Körperkerntemperatur des Schweins 39 °C. Inwieweit ein effizienter Gasaustausch bei einer humanen Körperkerntemperatur von 37,5 °C gewährleistet ist, bleibt unklar. Ein weiteres Beispiel ist die vertikale Lage der Lunge im Schwein. Ob eine in den menschlichen Körper horizontal eingepflanzte Schweinelunge ein Perfusions-Ventilations-Mismatch ausbildet, ist ebenfalls ungeklärt.

Die Xenotransplantation ist ein Modell der experimentellen Grundlagenforschung, um organspezifische Aspekte der xenogenen Abstoßung der Lunge zu untersuchen. Eine kurzfristige Perspektive für klinische Einsatzmöglichkeiten ergibt sich nicht (22).

Daher erscheint die Verbesserung der Konservierung des Spenderorgans derzeit der wichtigste Schritt, um bei den durchgeführten Transplantationen optimale Ergebnisse zu erzielen.

Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft sind im Bereich der Lungentransplantation noch eine Vielzahl von Problemen zu lösen.

#### 4.6. Zusammenfassung

Konservierungslösungen mit extrazellulärem Elektrolytgehalt und hochmolekularen Zusätzen können intrazelluläre Ödeme während der Ischämie und der Reperfusion bei Lungentransplantationen reduzieren. Eine dieser Lösungen, Perfadex<sup>®</sup> mit einem Molekulargewicht von 40 kDa, ist bereits klinisch etabliert. Derzeit ist unklar, ob Dextrane dieser Größe die optimalen Additive in Lösungen zur Lungenkonservierung darstellen.

In einem neu entwickelten *ex vivo* Großtiermodell wurden Schweinelungen mit kaliumarmen Lösungen, die 5 % Dextran mit 60-90 (D60-90) oder 150 (D150) kDa Molekulargewicht enthielten, oder mit Perfadex<sup>®</sup>, einer niederkaliumhaltigen Lösung mit 5 % Dextran 40 kDa konserviert.

Nach 24-stündiger kalter Ischämie erfolgte die pulsatile Reperfusion mit Hilfe einer modifizierten Rollerpumpe. Die Lungen wurden eine Stunde lang mit deoxygeniertem Blut perfundiert und mit Raumluft beatmet. In Abständen von 10 Minuten wurden der pulmonalarterielle Druck (PAP), der pulmonale Inspirationsdruck (PIP) sowie die Oxygenationskapazität ( $\rho\text{pO}_2$ ) gemessen. Die Entstehung freier Radikale wurde durch die Messung des Malondialdehydgehaltes (MDA) nach 10, 30 und 50 Minuten verdeutlicht. Die Nettogewichtszunahme (NWG) und der Quotient aus Nass- und Trockengewicht (W/D ratio) wurden bestimmt.

PIP und PAP stiegen im Verlauf der Reperfusion in allen Gruppen signifikant an. Die mit D150 perfundierten Lungen zeigten dabei deutlich höhere Werte als die der Gruppen D60-90 und Perfadex<sup>®</sup>. Perfadex<sup>®</sup> erreichte die höchste Oxygenationskapazität, während der  $\rho\text{pO}_2$  in Gruppe D150 nur leicht, in Gruppe D60-90 sogar signifikant reduziert waren. Der niedrigste Wassergehalt, gemessen an W/D ratio und NWG, wurde in der Perfadex<sup>®</sup>-Gruppe beobachtet. In dieser wurden auch die niedrigsten MDA-Werte gemessen, die höchsten in der Gruppe D60-90.

Durch Konservierung der Lunge mit Perfadex<sup>®</sup> konnten bessere postischämische Funktionen im Vergleich zur Konservierung mit Dextranlösungen höheren Molekulargewichtes erzielt werden.

## 5. LITERATURVERZEICHNIS

1. Aeba R., Keenan R.J., Hardesty R.L., Yousem S.A., Hamamoto I., Griffith B.P., (1992). University of Wisconsin solution for pulmonary preservation in rat transplant model. *Ann. Thorac. Surg.* 53(2):240-245.
2. Albes M., Baumgartel I., Rohde R., Hausen B., Demertzis S., Wahlers T., (1995). Influence of dextrans on cardiac preservation in an extrakorporal rat heart model. *Eur. Surg. Res.* 27(6):406-410.
3. Albes J.M., Brandes H., Heinemann M.K., Scheule A., Wahlers T., (1997). Potassium-reduced lung preservation solutions: a screening study. *Eur. Surg. Res.* 29(5):327-338.
4. Albes J.M., Fischer F., Bando T., Heinemann M.K., Scheule A., Wahlers T., (1997). Influence of the perfusate temperature on lung preservation: is there an optimum? *Eur. Surg. Res.* 29(1):5-11.
5. Badellino M.M., Morganroth M.L., Grum C.M., Lynch M.J., Bolling S.F., Deeb G.M., (1989). Hypothermia or continuous ventilation decreases ischemia-reperfusion injury in an ex vivo rat lung model. *Surgery* 105:752-760.
6. Baldan N., Toffano M., Cadrobbi R., Codello L., Calabrese F., Bacelle F., Rigotti P., (1997). Kidney preservation in pigs using Celsior, a new organ preservation solution. *Transplant. Proc.* 29:3539-3540.
7. Bando T., Albes J.M., Schöne J., Wada H., Hitomi S., Wahlers T., Schäfers H.J., (2000). Significance of cyclic adenosine monophosphate and nitroglycerine in ET-Kyoto solution for lung preservation. *Ann. Thorac. Surg.* 69:887-892.
8. Bando T., Albes J.M., Fehrenbach H., Nüsse T., Schäfers H.J., Wahlers T., (1998). Influence of the potassium concentration on functional and structural preservation of the lung: where is the optimum? *J Heart Lung Transplant.* 17:715-724.
9. Bando T., Albes J.M., Nüsse T., Wada H., Hitomi S., Wahlers T., Schäfers H.J., (1998). Comparison of euro-collins solution, low-potassium dextran solution containing glucose, and ET-Kyoto solution for lung preservation in an extrakorporal rat lung perfusion model. *Eur. Surg. Res.* 30(5):297-304.

10. Barr M.L., Nishanian G.P., Sakamaki Y., Carey J.N., Chang J., Starnes V.A., (1997). A new organ preservation solution, Celsior, is superior to Euro-Collins and University of Wisconsin solutions in decreasing lung reperfusion injury. *Transplant. Proc.* 29:1357-1358.
11. Belzer F.O., Southard H.J., (1988). Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 45(4):673-676.
12. Bonser R.S., Fragomeni L.S., Harris K., Edwards B.J., Fischel R.J., Rotenberg D., Jamieson S.W., Kaye M.P., (1990). Acute physiologic changes after extended pulmonary preservation. *J. Heart Transplant.* 9(3 Pt 1):220-229.
13. Brandes H., Albes J.M., Conzelmann A., Ziemer G., (1999). Pulsatile und nichtpulsatile Lungenperfusion in einem neuen extrakorporalen Großtiermodell. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 47(Suppl.1):172
14. Collins G.M., Bravo-Shugarman M., Terasaki P.I., (1969). Kidney preservation for transportation. Initial perfusion and 30 hours ice storage. *Lancet* 2:1219-1222.
15. Connaughton P.J., Bahuth J.J., Lewis F.J., (1962). Lung ischämia up to six hours; influence of topical cooling in situ on subsequent pulmonary function. *Dis. Chest.* 41:404-408.
16. Cooper J.D., Vreim C.E., (1992). NHLBI workshop summary. Biology of lung preservation for transplantation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 146:803-807.
17. Demertzis S., Wippermann J., Schaper J., Wahlers T., Schäfers H.-J., Wagenbreth I., Hausen B., Haverich A., (1993). University of Wisconsin versus St. Thomas hospital solution for human donor heart preservation. *Ann. Thorac. Surg.* 55:1131-1137.
18. Demling R.H., (1980). Lung fluid and protein dynamics during hemorrhagic shock, resuscitation and recovery. *Circ. Shock* 7:149-161.
19. Division of Transplantation, Bureau of Health Resources Development, (1995). The annual Report of the U.S. Specific Registry for Transplant Recipients and the Organ Procurement and the Transplantation Network-Transplant Data: 1988-1994. Health Resources and Service Administration, U.S. Department of Health and Human Services, Rockville.
20. Fehrenbach H., Schepelmann D., Albes J.M., Bando T., Fischer F., Fehrenbach A., Stolte N., Wahlers T., Richter J., (1999). Pulmonary ischemia/reperfusion injury: a quantitative study of structure and function in isolated heart-lungs of the rat. *Anat. Rec.* 255:84-99

21. Fischer S., Maclean A.A., Liu M., Kalirai B., Keshavjee S., (2000). Inhibition of angiotensin-converting enzyme by captopril: a novel approach to reduce ischemia-reperfusion injury after lung transplantation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 120(3):573-580.
22. Fraund S., Steinhoff G., Haverich A., (1999). Experimentelle xenogene Lungentransplantation. *Zentralbl. Chir.* 124:609-615
23. Fujimura S., Handa M., Kondo T., Ichinose T., Shiraishi Y., Nakada T., (1987). Successful 48-hour simple hypothermic preservation of canine lung transplants. *Transplant. Proc.* 19(1 Pt 2):1334-1446.
24. Fukuse T., Albes J.M., Brandes H., Takahashi Y., Demertzis S., Schäfers H.-J., (1996). Comparison of low potassium Euro-Collins solution and standard Euro-Collins solution in an extracorporeal rat heart-lung model. *Eur. J. Cardio-thorac. Surg.* 10:621-627.
25. Fukuse T., Albes J.M., Takahashi Y., Brandes H., Hausen B., Schäfers H.J., (1995). Influence of red blood cells on lung function in an ex vivo rat heart-lung model. *J. Surg. Res.* 59:399-404.
26. Fukuse T., Albes J.M., Wilhelm A., Bando T., Fischer F., Hausen B., Rohde R., Wahlers T., Schäfers H.-J., (1996). Influence of Dextran on lung preservation: is the molecular weight important? *J. Heart Lung Transplant.* 15:903-910.
27. Hakim M., Higenbottam T., Bethune D., Cory-Pearce R., English T.A.H., Kneeshaw J., Wells F.C., Wallwork J., (1988). Selection and procurement of combined heart and lung grafts for transplantation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 95:474-479.
28. Hardesty R.L., Aeba R., Armitage J.M., Kormos R.L., Griffith B.P., (1993). A clinical trial of University of Wisconsin solution for pulmonary preservation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 105:660-666.
29. Hardesty R.L., Griffith B.P., (1987). Autoperfusion of the heart and lungs for preservation during distant procurement. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 93:11-18.
30. Harris P., Heath D., (1977). *The pulmonary circulation. Second Edition*, Edinburgh London and New York. Churchill Livingstone 571-584.
31. Haverich A., Aziz S., Scott W.C., Jamieson S.W., Shumway N.E., (1986). Improved lung preservation using Euro-Collins solution for flush-perfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 34:368-376.



32. Haverich A., Scott W.C., Jamieson S.W., (1985). Twenty years of lung preservation – a review. *J. Heart Transplant.* 4:234-240.
33. Hirt S.W., Wahlers T., Jurmann M.J., Dammenhayn L., Kemnitz J., Rohde R., Haverich A., (1992). University of Wisconsin versus modified Euro-Collins solution for lung preservation. *Ann. Thorac. Surg.* 53(1):74-79.
34. Hoffmann H., Müller C., Sakamaki F., Daum C., Meßmer K., Schildberg F.W., (1997). Aktivierung neutrophiler Granulozyten während Ischämie der Lunge und Reperfusion nach Transplantation: Effekt der Konservierungslösung Euro-Collins und Low-Potassium-Dextran. *Z. Herz-, Thorax-, Gefäßchir.* 11:108-114.
35. Hopkins D.N., Bhabra M.S., Hooper T.L., (1998). Pulmonary graft preservation: a worldwide Survey of current clinical practice. *J. Heart Lung Transplant.* 17:525-531.
36. Hosenpud J.D., Bennett L.E., Keck B.M., Fiol B., Boucek M.M., Novick R.J., (1999). The registry of the international society for heart and lung transplantation: Sixteenth official report – 1999. *J. Heart Lung Transplant.* 18(7):611-626.
37. Jamieson N.E., Sundberg R., Lindell S., Claesson K., Moen J., Vreugdenhil P.K., Wight D.G.D., Southard J.H., Belzer F.O., (1988). Preservation of the canine liver for 24-48 hours using a simple cold storage with UW solution. *Transplantation* 46:517-522.
38. Jones M.T., Hsieh C., Yoshikawa K., Patterson G.A., Cooper J.D., (1988). A new model for assessment of lung preservation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 96:608-614.
39. Jurmann M.J., Dammenhayn L., Schäfers H.J., Wahlers T., Fieguth H.G., Haverich A., (1987). Prostacyclin as an additive to single crystalloid flush: improved pulmonary preservation in heart-lung transplantation. *Transplant. Proc.* 19(5):4103-4104.
40. Kaneko M., Perrotta N.J., Copeland J.G., (1988). A simple, working heart and lung transplant model for assessing preservation methods in the rabbit. *Transplantation* 46:624-626.

41. Kauffman H.M., McBride M.A., Rosendale J.M., Ellison M.D., Daily O.P., Wolf J.S., (1997). Trends in organ donation, recovery and disposition: UNOS data for 1988-1996. *Transplant. Proc.* 29(8):3303-3304
42. Keshavjee S.H., McRitchie D.I., Vittorini T., Rotstein O.D., Slutsky A.S., Patterson G.A., (1992). Improved lung preservation with dextran 40 is not mediated by a superoxide radical scavenging mechanism. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 103(2):326-328.
43. Keshavjee S.H., Yamazaki F., Cardoso P.F., McRitchie D.I., Patterson G.A., Cooper J.D., (1989). A method for safe twelve-hour pulmonary preservation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 98:529-534.
44. Keshavjee S.H., Yamazaki F., Yokomise H., Cardoso P.F., Mullen J.B.M., Slutsky A.S., Patterson G.A., (1992). The role of Dextran 40 and Potassium in extended hypothermic lung preservation for Transplantation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 103:314-325.
45. Kimblad P.O., Sjoberg T., Massa G., Solem J.O., Steen S., (1991). High potassium contents in organ preservation solutions cause strong pulmonary vasoconstriction. *Ann. Thorac. Surg.* 52:523-528.
46. Kirk A.J.B., Colquhoun I.W., Dark J.H., (1993). Lung Preservation: A review of current practice and future directions. *Ann. Thorac. Surg.* 56:990-1000.
47. Levine A.J., Parkes K., Rooney S., Bonser R.S., (2000). Reduction of endothelial injury after hypothermic lung preservation by initial leukocyte-depleted reperfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 120(1):47-54.
48. Liu C.J., Bando T., Hirai T., Hirata T., Yagi K., Yokomise H., Inui K., Hitomi S., Wada H., (1994). Effects of ET-Kyoto solution on 20-hour canine lung preservation. *Transplant. Proc.* 26(2):876-877.
49. LoCicero J., Massad M., Khasho F.H., Matano J., Greene R., deTarnowsky J., (1990). Sensitivity of aerodynamic changes for assessing pulmonary injury in isolated perfused working lung model. *Transplant. Proc.* 22:556-560.
50. LoCicero J., Massad M., Matano J., Khasho F., Greene R., (1990). Aerodynamic evaluation of crystalloid and colloid flush perfusion for lung preservation. *J. Surg. Res.* 49:469-475.

51. Locke T.J., Hooper T.L., Flecknell P.A., McGregor C.G.A., (1988). Preservation of the lung: comparison of topical cooling and cold crystalloid pulmonary perfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 96:789-795.
52. McGoldrick J.P., Scott J.P., Smyth R., Higenbottam T., Wallwork J., (1990). Early graft function after heart-lung transplantation. *J. Heart Transplant.* 9:693-698.
53. Menasché P., Piwnica A., (1989). Free radicals and myocardial protection: a surgical viewpoint. *Ann. Thorac. Surg.* 47:939-945.
54. Menasché P., Termignon J.L., Pradier F., Grousset C., Mouas C., Alberici G., Weiss M., Piwnica A., Bloch G., (1994). Experimental evaluation of Celsior®, a new heart preservation solution. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 8:207-213.
55. Meyers B.F., Lynch J., Trulock E.P., Guthrie T.J., Cooper J.D., Patterson G.A., (1999) Lung transplantation : A decade of experience. *Ann. Surg.* 230(3):362-371.
56. Meyers B.F., Patterson G.A., (1999). Lung transplantation: current status and future prospects. *World J. Surg.* 23:1156-1162.
57. Miyoshi S., Shimokawa S., Schreinemarkers H., Date H., Weder W., Harper B., Cooper J.D., (1992). Comparison of the University of Wisconsin preservation solution and other crystalloid perfusates in a 30-hour rabbit lung preservation model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 103(1):27-32.
58. Mühlbacher F. (1997). Transplantation heute. *Radiologe* 37:191-196.
59. Müller C., Fürst H., Reichenspurner H., Briegel J., Groh J., Geichart B., and the Munich Lung Transplant Group, (1999). Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. *Transplantation* 68:1139-1143.
60. Mulvin D.W., Jones D.K., Howard R.B., Grosso M.A., Repine J.E., Johnston M.R., (1991). Extracellular flush solution that contains blood, manitol, albumin and prostacyclin protects rat lungs from six hours of ischemia. *J. Heart Transplant.* 10:986-989.

61. Naka Y., Shirakura R., Matsuda H., Nakata S., Fukushima N., Nakano S., Kawashima Y., (1991). Canine heart-lung transplantation after twenty-four-hour hypothermic preservation with Belzer UW-solution. *J. Heart Lung Transplant.* 10:296-303.
62. Novick J.R., Gehman K.E., Ali I.S., Lee J., (1996). Lung preservation: the importance of endothelial and alveolar type II cell integrity. *Ann. Thorac. Surg.* 62:302-314.
63. Novick R.J., Reid K.R., Denning L., Duplan J., Menkis A.H., McKenzie F.N., (1991). Prolonged preservation of canine lung allografts: The role of prostaglandins. *Ann. Thorac. Surg.* 51(5):353-859
64. Oka T., Puskas J.D., Mayer E., Cardoso P.F., Shi S.Q., Wisser W., Slutsky A.S., Patterson G.A., (1991). Low-potassium UW solution for lung preservation. Comparison with regular UW, LPD, and Euro-Collins solution. *Transplantation* 52(6):984-988.
65. Platt J.L., (1999). Prospects for xenotransplantation. *Pediatr. Transplantation* 3:193-200.
66. Ploeg R.J., Goossens D., McAnulty J.F., Southard J.H., Belzer F.O., (1988). Successful 72-hour cold storage of dog kidneys with UW solution. *Transplantation* 46:191-196.
67. Reignier J., Mazmanian M., Chapelier A., Alberici G., Menasché P., Weiss M., Hervé P., and the Paris-Sud University Lung Transplantation Group, (1995). Evaluation of a new preservation solution: Celsior in the isolated rat lung. *J Heart Lung Transplant.* 14:601-604.
68. Roberts R.F., Nishanian G.P., Carey J.N., Sakamaki Y., Starnes V.A., Barr M.L., (1999). A comparison of the new preservation solution Celsior to Euro-Collins and University of Wisconsin solutions in lung reperfusion injury. *Transplantation* 67:152-155.
69. Sachs S.A., Petritsch P.H., Kaufman J.J., (1973). Canine kidney preservation using a new perfusate. *Lancet* 1:1024-1028.
70. Schött U., Lindbom L.O., Sjöstrand U., (1988). Hemodynamic effects of colloid concentration in experimental hemorrhage: a comparison of Ringer's acetate, 3% dextran-60 and 6% dextran-70. *Crit. Care Med.* 16(4):346-352.

71. Schwaiblmair M., Dienemann H., Reichart B., Briegel J., Vogelmeier C., Fruhmann G. für die „Munich Lung Transplant Group“, (1996). Indikation zur Lungentransplantation und Empfängerauswahl. Dtsch. med. Wschr. 121:377-381.
72. Siegenthaler W., (1994). Klinische Pathophysiologie. 7. Auflage S. 553, 884-885. Georg Thieme Verlag Stuttgart; New York.
73. Silbernagel S., Lang F. (1998). Taschenatlas der Pathophysiologie. S. 10. Georg Thieme Verlag Stuttgart; New York.
74. Southard J.H., Marsh D.C., McAnulty J.F., Belzer F.O., (1987). Oxygen-derived free radical damage in organ preservation: activity of superoxide dismutase and xanthin oxidase. Surgery 101(5):566-570.
75. Spaggiari L., Bobbio P., Steen S., Correspondence. (1994). Dextran 40 at 2 % versus 5 % in low-potassium solutions: which is best? Comment on Ann. Thorac. Surg. 1994 57(2):450-457. Ann. Thorac. Surg. 1994 58(6):1784-1786.
76. Steen S., Kimblad P.O., Sjöberg T., Lindberg L., Ingemansson R., Massa G., (1994). Safe lung preservation for twenty-four hours with Perfadex. Ann. Thorac. Surg. 57:450-457.
77. Steen S., Sjöberg T., Massa G., Ericsson L., Lindberg L., (1993). Safe pulmonary preservation for 12 hours with low-potassium-dextran solution. Ann. Thorac. Surg. 55:434-440.
78. Strüber M., Hohlfeld J.M., Fraund S., Kim P., Warnecke G., Haverich A., (2000). Low-potassium dextran solution ameliorates reperfusion injury of the lung and protects surfactant function. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 120(3):566-572.
79. Tian Y.-H., Redaelli C., Schilling M.K., (2000). High- or low-potassium solutions for the storage of abdominal and thoracic organs. Langenbeck's Arch. Surg. 385:213-217.
80. Toronto Lung Transplant Group (1986). Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. N. Engl. J. Med. 314:1140-1145.
81. Trulock E.P., (1997). Lung transplantation. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 155:789-818.

82. Wada H., Fukuse T., Nakamura T., Liu C.J., Bando T., Kosaka S., Ariyasu T., Hitomi S., (1996). ET-Kyoto solution for 48-hour canine lung preservation. *Ann. Thorac. Surg.* 61:963-968.
83. Wada H., Liu C.J., Yokomise H., Inui K., Hirata T., Fukuse T., Hitomi S., (1996). Newly developed preservation solution for the lung: 30-hour preservation with new ET-Kyoto solution. *Transplant. Proc.* 28(3):1178-1180.
84. Wahlberg J.A., Love R., Landegaard L., Southard J.A., Belzer F.O., (1987). 72-hour preservation of the canine pancreas. *Transplantation* 43:5-8.
85. Wang L.S., Yoshikawa K., Miyoshi S., Nakamoto K., Hsieh C.M., Yamazaki F., Cardoso P.F.G., Schaeffers H.J., Brito J., Keshavjee S.H., Patterson A., Cooper J.D., (1989). The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 98:333-342.
86. Weder W., Harper B., Shimokawa S., Miyoshi S., Date H., Schreinemakers H., Egan T., Cooper J.D., (1991). Influence of intraalveolar oxygen concentration on lung preservation in a rabbit model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 101:1037-1043.
87. Wildevuur C.R.H., Benfield J.R., (1970). A review of 23 lung transplantation by 20 surgeons. *Ann. of Thorac. Surg.* 9:489-515.
88. Wittwer T., Wahlers T., Cornelius J.F., Elki S., Haverich A., (1999). Celsior solution for improvement of currently used clinical standards of lung preservation in ex vivo rat model. *Eur. J. Cardio-thorac. Surg.* 15(5):667-671.
89. Yacoub M.H., Khaghani A., Banner N., Tajkarimi S., Fitzgerald M., (1989). Distant organ procurement for heart and lung transplantation. *Transplant. Proc.* 21:2548-2550.
90. Yamazaki F., Yokomise S., Keshavjee S.H., Miyoshi S., Cardoso P.F., Slutsky A.S., Patterson G.A., (1990). The superiority of an extracellular fluid solution over Euro-Collins' solution for pulmonary preservation. *Transplantation* 49:690-694.

## 6. ANHANG

### 6.1. Abkürzungsverzeichnis

ARDS	adult respiratory distress syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
Da	Dalton, atomare Masseinheit
EC	Euro-Collins <sup>®</sup> -Lösung
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ET-Kyoto <sup>®</sup>	extrazelluläre Trehalose-Lösung
IU	International Units
kDa	Kilodalton
LPD	low-potassium (niederkaliumhaltige) Dextranlösung
LPEC	low-potassium (niederkaliumhaltige) Euro-Collins <sup>®</sup> -Lösung
LPUW	low-potassium (niederkaliumhaltige) University of Wisconsin <sup>®</sup> -Lösung
MDA	Malondialdehyd
NWG	Net-weight gain (Nettogewichtszunahme)
PAP	pulmonary artery pressure (pulmonalarterieller Druck)
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
PIP	peak inspiratory pressure (pulmonaler Inspirationsspitzendruck)
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
SOD	Superoxiddismutase
UW	University of Wisconsin <sup>®</sup> -Lösung
W/D ratio	wet/dry ratio (Nass-/Trockengewichtsquotient)
XOD	Xanthinoxidase

## 6.2. Tabellen

Dargestellt sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen.

### HÄMODYNAMISCHE PARAMETER

**Tabelle 1:** mittlerer pulmonalarterieller Druck (in mmHg)

	Dextran 60-90 kDa	Dextran 150 kDa	Perfadex <sup>®</sup>
<b>0 min.</b>	23,3 $\pm$ 6,6	*40,5 $\pm$ 20,7	22,3 $\pm$ 9,2
<b>10 min.</b>	29,0 $\pm$ 9,5	44,5 $\pm$ 20,1	31,7 $\pm$ 18,7
<b>20 min.</b>	31,9 $\pm$ 11,2	46,2 $\pm$ 18,4	38,5 $\pm$ 19,5
<b>30 min.</b>	32,4 $\pm$ 11,4	47,5 $\pm$ 17,6	38,4 $\pm$ 17,8
<b>40 min.</b>	33,2 $\pm$ 10,5	47,0 $\pm$ 18,8	35,3 $\pm$ 18,1
<b>50 min.</b>	31,4 $\pm$ 10,3	46,5 $\pm$ 18,1	33,6 $\pm$ 15,7
<b>60 min.</b>	29,7 $\pm$ 9,3	44,3 $\pm$ 17,4	32,1 $\pm$ 13,3

\*  $p < 0,05$  Dextran 150 kDa vs. Dextran 60-90 kDa, Perfadex<sup>®</sup>

### FUNKTIONELLE PARAMETER

**Tabelle 2:** pulmonaler Inspirationsdruck (in mmHg)

	Dextran 60-90 kDa	Dextran 150 kDa	Perfadex <sup>®</sup>
<b>0 min.</b>	*19,8 $\pm$ 3,0	28,9 $\pm$ 5,6	#22,6 $\pm$ 3,1
<b>10 min.</b>	*26,2 $\pm$ 4,7	34,5 $\pm$ 7,5	28,6 $\pm$ 5,2
<b>20 min.</b>	*29,2 $\pm$ 5,7	37,3 $\pm$ 8,2	32,3 $\pm$ 7,4
<b>30 min.</b>	*30,1 $\pm$ 5,8	39,4 $\pm$ 9,1	33,2 $\pm$ 7,8
<b>40 min.</b>	*30,9 $\pm$ 6,2	39,9 $\pm$ 8,5	34,6 $\pm$ 7,1
<b>50 min.</b>	*32,1 $\pm$ 6,5	41,7 $\pm$ 8,8	35,8 $\pm$ 7,5
<b>60 min.</b>	*33,3 $\pm$ 7,3	42,6 $\pm$ 8,8	36,2 $\pm$ 7,5

\*  $p < 0,05$  Dextran 150 kDa vs. Dextran 60-90 kDa

#  $p < 0,05$  Dextran 150 kDa vs. Perfadex<sup>®</sup>



**Tabelle 3:** Oxygenationskapazität (in mmHg)

	<b>Dextran 60-90 kDa</b>	<b>Dextran 150 kDa</b>	<b>Perfadex®</b>
<b>0 min.</b>	34,8 ± 22,7	37,7 ± 19,7	51,7 ± 30,9
<b>10 min.</b>	11,3 ± 9,4	30,8 ± 9,4	#31,8 ± 20,7
<b>20 min.</b>	*6,4 ± 4,2	30,8 ± 14,0	#21,3 ± 16,1
<b>30 min.</b>	*6,3 ± 6,7	27,9 ± 16,7	#15,2 ± 16,0
<b>40 min.</b>	*8,6 ± 3,8	26,2 ± 16,7	#16,8 ± 18,4
<b>50 min.</b>	*4,7 ± 4,4	21,6 ± 12,5	#12,9 ± 11,3
<b>60 min.</b>	*4,2 ± 5,0	23,1 ± 11,7	#12,7 ± 14,9

\* p<0,05 Dextran 60-90 kDa vs. Dextran 150 kDa

# p<0,05 Perfadex® vs. Dextran 60-90 kDa

## BIOCHEMISCHE PARAMETER

**Tabelle 4:** Malondialdehydkonzentration im Blut (in µM)

	<b>Dextran 60-90 kDa</b>	<b>Dextran 150 kDa</b>	<b>Perfadex®</b>
<b>10 min.</b>	10,4 ± 6,6	7,2 ± 3,5	5,7 ± 1,1
<b>30 min.</b>	10,6 ± 6,8	6,5 ± 3,1	6,7 ± 1,0
<b>50 min.</b>	10,2 ± 5,6	7,4 ± 2,9	*7,4 ± 1,1

\* p<0,05 Perfadex® 50 min vs. Perfadex® 10 min

**STRUKTURELLE PARAMETER****Tabelle 5:** Nettogewichtszunahme (in g)

	<b>Dextran 60-90 kDa</b>	<b>Dextran 150 kDa</b>	<b>Perfadex<sup>®</sup></b>
<b>NWG</b>	800,3 ± 392,4	812,1 ± 262,5	*380,1 ± 293,6

\*  $p < 0,05$  Perfadex<sup>®</sup> vs. Dextran 150 kDa, Dextran 60-90 kDa

**Tabelle 6:** Quotient aus Nass- und Trockengewicht

	<b>Dextran 60-90 kDa</b>	<b>Dextran 150 kDa</b>	<b>Perfadex<sup>®</sup></b>
<b>W/D-ratio</b>	8,1 ± 1,6	9,3 ± 2,6	7,5 ± 1,3

## Danksagung

Ich danke

Herrn Prof. Dr. med. G. Ziemer für die Genehmigung dieser Arbeit an seiner Klinik.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. J.M. Albes für die Überlassung des Themas und die Schaffung der Voraussetzungen, die die Verwirklichung der Arbeit möglich gemacht haben.

Herrn Dr. med. H. Brandes für die Betreuung und seine konstruktive Mitarbeit, die Korrektur des Manuskriptes und die Zusammenarbeit.

Herrn Dr. rer. nat. H. Wendel und seinen Mitarbeitern für die guten Bedingungen im Labor sowie die geistige, materielle und organisatorische Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. K. Dietz für die hervorragende Beratung und Unterstützung bei der statistischen Aufarbeitung dieser Arbeit.

Meiner Familie und Freunden für die seelische Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

# BETTINA HAAS

## PERSÖNLICHE INFORMATION

---

Geburtsdatum: 08.04.1975  
Geburtsort: Böblingen  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig  
Eltern: Rainer Haas, Diplom-Ingenieur  
Gudrun Haas, Lehrerin

## AUSBILDUNG

---

Schule: 1981-1985 Grundschule in Kuppingen anschließend  
Andrae-Gymnasium in Herrenberg  
Schulabschluss: Abitur 1995  
Studium: Seit Oktober 1995 Humanmedizin an der Universität  
Tübingen  
Ärztliche Vorprüfung im August 1997  
Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im August 1998  
Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 2001  
Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung am 29. Mai 2002

Tübingen, den 01.08.02