

**Aus der Universitätsklinik für Thorax- Herz- und Gefäßchirurgie
Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. G. Ziemer**

**Konservierung von Herzen in einem in situ
Protektionsverfahren: funktioneller, laborchemischer und
histomorphologischer Vergleich der künstlichen
Sauerstoffträger Perfluorocarbone mit University of
Wisconsin Lösung im Großtiermodell**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Eberhard – Karls - Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Ioannis Pappas

aus Leonberg

2005

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Ziemer

2. Berichterstatter: Professor Dr. A. Königsrainer

Meinen Eltern
Agelos und Theodora Pappas

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	GESCHICHTLICHER HINTERGRUND.....	1
1.2	ORGANMANGEL	1
1.3	NON-HEART-BEATING-DONORS	2
1.4	KONSERVIERUNG IN SITU	4
1.5	KARDIOPROTEKTIONSLSÖSUNGEN	4
1.5.1	<i>University of Wisconsin Lösung</i>	5
1.5.2	<i>Perfluorocarbone</i>	6
1.6	STUDIENZIELE.....	8
2	MATERIAL UND METHODEN	9
2.1	VERSUCHSTIERE.....	9
2.2	KARDIOPROTEKTIONSLSÖSUNGEN	9
2.3	KREISLAUFMODELL	12
2.4	BLUTREPERFUSAT	12
2.5	VERSUCHSAUFBAU UND –ABLAUF	14
2.5.1	<i>Überblick</i>	14
2.5.2	<i>Präoperatives Vorgehen</i>	15
2.5.3	<i>Narkose</i>	15
2.5.4	<i>Operation</i>	16
2.5.5	<i>Organprotektion</i>	17
2.5.5.1	<i>In situ Kardioprotektion</i>	17
2.5.5.2	<i>Präparation des Herzens zur Kardioprotektion am Kreislaufmodell</i>	19
2.5.5.3	<i>Kardioprotektion am Kreislaufmodell</i>	20
2.5.6	<i>Blutreperfusion</i>	20
2.6	VERSUCHSAUSWERTUNG	23
2.6.1	<i>Funktionsdaten</i>	23
2.6.2	<i>Blutbestimmungen</i>	24
2.6.2.1	<i>Blutproben</i>	24
2.6.2.2	<i>Blutgasanalysen</i>	24
2.6.2.3	<i>Blutbilder</i>	25
2.6.2.4	<i>Malondialdehyd</i>	26
2.6.3	<i>Herzgewicht- und Trockengewichtbestimmungen</i>	26
2.6.4	<i>Histologie und Elektronenmikroskopie</i>	26
2.6.5	<i>Statistische Auswertung</i>	28
2.6.5.1	<i>Funktionsdaten</i>	28
2.6.5.2	<i>Blutwerte</i>	29

2.6.5.3	Histologie	29
3	ERGEBNISSE	30
3.1	ÜBERBLICK	30
3.2	FUNKTIONSDATEN.....	30
3.2.1.	LVDP.....	30
3.2.2	+dP/dt.....	31
3.2.3	-dP/dt.....	32
3.2.4	CF.....	34
3.3	BLUTBESTIMMUNGEN	35
3.3.1	Malondialdehyd.....	35
3.4	HISTOLOGIE	37
3.4.1	Kontraktionsbanden.....	37
4	DISKUSSION.....	42
4.1	DISKUSSION DER METHODIK.....	42
4.1.1	Das Schwein als Versuchstier.....	42
4.1.2	Kontinuierliche in situ Kardioprotektion.....	42
4.1.3.1	University of Wisconsin vs. Perfluororocarbone.....	43
4.1.4	Langendorff- Modell.....	43
4.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	44
4.2.1.1	LVDP, +dP/dt, -dP/dt.....	44
4.2.1.2	Coronarfluss	45
4.2.2.1	Malondialdehyd	45
4.2.3.1	Kontraktionsbanden	46
4.2.3.2	Thrombosen	47
4.3	SCHLUSSFOLGERUNG	47
5	ZUSAMMENFASSUNG	49
5.1	PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG.....	49
5.2	METHODIK	50
5.3	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE UND SCHLUSSFOLGERUNG.....	50
5.4	AUSBLICK	51
6	ANHANG.....	52
6.1	FUNKTIONSDATEN	52
6.2	BLUTDATEN	60
6.3	HISTOLOGIE.....	62
6.4	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	64
7	LITERATURVERZEICHNIS	65

1 Einleitung

1.1 Geschichtlicher Hintergrund

Am 3. Dezember 1967 gelang es Christian Barnard im Groote Shuur Hospital Kapstadt, Südafrika als Erstem, erfolgreich ein menschliches Herz von Mensch zu Mensch zu transplantieren und leitete somit eine neue Ära in der Herzchirurgie ein (8; 64).

Zu Beginn der Herztransplantation stellte die Abstoßungsreaktion eines der kompliziertesten Probleme dieser Therapiemethode dar. Nach dem zunehmendem Einsatz von Immunsuppressiva seit dem Ende der achtziger Jahre etablierte sich die Herztransplantation zu einem sehr effektiven Therapieverfahren vor allem bei Patienten mit Kardiomyopathie und koronarer Herzkrankheit (19; 29). Nicht nur die erhöhte Überlebenschancen gegenüber der maximalen medikamentösen Therapie (20), sondern auch die deutlich verbesserte Lebensqualität (77) machen sie zu einer für sehr viele Menschen attraktiven Therapieoption.

1.2 Organmangel

Der größte limitierende Faktor in der heutigen Transplantationsmedizin stellt die herrschende Organknappheit dar. Während die Zahl der jährlich durchgeführten Herztransplantationen sowohl in Deutschland (74), wie auch international (47) sinkt, steigt die Zahl der Patienten auf der Warteliste stetig. 20-30% der Patienten auf der Warteliste sterben jährlich in den USA (80).

Initial wurden strenge Kriterien bei der Auswahl von Organspendern für die Herztransplantation gestellt. Frauen durften nicht älter als 45 und Männer nicht älter als 35 sein (18). Die maximale Ischämiezeit durfte nicht länger als fünf Stunden dauern (71). Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus und eine systemische Infektion galten als Ausschlußkriterien (1). Ernste hämodynamische Instabilität, Bedarf an intensiver inotroper Unterstützung, längerer Kreislaufstillstand oder ein irreversibler Ischämieschaden hatten einen Ausschluss des Herzens als Spendeorgan zur Folge(66; 79).

Studien haben inzwischen gezeigt, dass es möglich ist die Altersgrenze auf 65 Jahre anzuheben und die kalte Ischämiezeit auf über sechs Stunden auszudehnen, ohne die Mortalität signifikant zu erhöhen (6). Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, oder ein längerer Bedarf an inotropen Substanzen (54; 66; 79) stellen grundsätzlich keine Kontraindikation für das Nutzen eines Herzens als Transplantat dar. Kreislaufinsuffiziente oder kreislauftote Spender für die Herztransplantation sind noch Gegenstand tierexperimenteller Studien (16; 17; 48). In dieser Studie sind kreislauftote Spender, im englischen Sprachraum als „Non-Heart-Beating-Donors“ bezeichnet, die Zielgruppe.

1.3 Non-Heart-Beating-Donors

Als solche werden die Spender bezeichnet, bei denen die Organentnahme nach Eintritt des Herz- und Kreislaufstillstands vorgenommen wird.

Bisher wurden Organe aus o.g. Spendern vor allem im Bereich der Nierentransplantation eingesetzt mit durchaus vergleichbaren Resultaten im Vergleich zu Organen, die am schlagenden Herzen entnommen wurden (23; 38). Aber auch Lebern, Lungen und Bauchspeicheldrüsen von kreislauftoten Spendern wurden erfolgreich transplantiert (22).

In einer internationalen Konferenz in Maastricht 1995 zum Thema kreislauftoter Organspender wurden für diese vier Kategorien festgelegt (52):

- I. Potentielle Spender, die bereits bei Ankunft im Krankenhaus tot sind.
- II. Potentielle Spender, bei denen Reanimationsversuche erfolglos blieben.
- III. Potentielle Spender, bei denen aufgrund der infausten Prognose der Herzstillstand in der Klinik abgewartet wird
- IV. Potentielle Spender, die bereits als hirntot erklärt wurden und bei denen der Herzstillstand eintritt.

Unter den ersten beiden Kategorien fallen Patienten, die die Klinik bereits tot erreichen. Diese Patienten haben die Gemeinsamkeit, dass der genaue Zeitpunkt des Eintritts des Kreislaufstillstandes nicht exakt bestimmt werden kann.

Bei der dritten Kategorie handelt es sich um Patienten, die nach den geltenden Kriterien nicht als hirntot bezeichnet werden können, bei denen jedoch die Prognose infaust ist und nach Abbruch der lebenserhaltenden Maßnahmen in Absprache zwischen Angehörigen und behandelnden Ärzten, der Kreislaufstillstand nach wenigen Minuten eintritt.

Unter der vierten Kategorie fallen die Patienten, die als hirntot bezeichnet werden können, bei denen jedoch die Organentnahme erst nach Eintritt des Kreislaufstillstands vorgenommen werden kann, wenn der Hirntod von den Angehörigen nicht als Individualtod anerkannt wird.

Den Patienten der letzten beiden Kategorien ist gemeinsam, dass der Kreislaufstillstand unter kontrollierten Bedingungen in der Klinik stattfindet und somit die Ischämiezeit exakt bestimmt werden kann.

Unsere Studie richtet sich primär an hirntote Patienten, bei denen plötzlich eine Kreislaufinsuffizienz bis hin zum Kreislauftod auftritt. Dabei ist keine hämodynamisch wirksame Herzaktion mehr nachweisbar. (Maastricht Kategorie IV) Des Weiteren kämen Patienten in Frage bei denen der Hirntod nicht eingetreten ist, bei denen jedoch die Angehörigen auf Grund der infausten Prognose sich für eine Einstellung der lebenserhaltenden Maßnahmen entschieden haben (Kategorie III). Durch das hier angewandte Protektionsverfahren könnten auch die Herzen dieser Spender zur Transplantation genutzt werden, wie auch die von Patienten, deren Angehörige das Hirntodkriterium nicht akzeptieren (Kategorie IV).

Ein entscheidender Unterschied dieser Organe gegenüber den nach Hirntod entnommenen ist der durch warme Ischämie und Hypoxie entstandene Organschaden, weshalb Konservierungsverfahren angewendet werden müssen, die diesen Schaden möglichst minimieren. Ziel ist es die Periode der warmen Ischämie zu verkürzen und durch Kühlung und Protektion den, durch Sauerstoffmangel, beginnenden Zelluntergang zu stoppen.

1.4 Konservierung in situ

Eine Methode ist die Konservierung der Organe in situ, das heißt noch im Körper des Patienten. Große klinische Erfahrungen mit solchen Verfahren existieren bereits im Bereich der Nierentransplantation. (63).

Nachdem in den sechziger Jahren Studien gezeigt haben, dass Herzen aus kreislaufftoten Spendern eher ungeeignet zur Transplantation sind (5; 57), und das Hirntodkriterium etabliert wurde, wurden auch kaum Studien durchgeführt, die sich auf solche Organe bezogen. Erst in den letzten Jahren wurden diese Organe aufgrund der gravierenden Organknappheit wieder attraktiv. Es existieren tierexperimentelle Studien, in denen Konservierungsmethoden angewendet wurden, durch die Herzen erfolgreich reanimiert werden konnten(41; 42; 72). In den vorangegangenen Arbeiten unserer Arbeitsgruppe (70) wurde diejenige Methode der in situ Konservierung von Herzen aus kreislaufftoten Schweinen entwickelt, deren Weiterentwicklung in dieser Studie angewendet wurde.

1.5 Kardioprotektionslösungen

Ein weiterer Bereich in dem seit Jahrzehnten rege Forschung betrieben wird ist in dem der Protektionslösungen. Organprotektive Perfusionslösungen sollten idealerweise organschädigende Prozesse während der kalten und warmen Ischämie und der Reperfusion verhindern.

Von Belzer und Soulthard wurden bereits 1988 folgende Grundprinzipien der Organprotektion beschrieben:

- Minimierung der durch Kälte hervorgerufenen Zellschwellung
- Verhinderung einer zellulären Azidose
- Vermeidung eines interstitiellen Ödems während der Perfusion
- Verhinderung eines Reperfusionsschadens durch Sauerstoffradikale
- Bereitstellung von Substraten für die Regeneration von energiereichen Phosphatverbindungen während der Reperfusion

Um diesen Anforderungen zu genügen, wurden bei der Konzeption der heute gebräuchlichen Protektionslösungen unterschiedliche Wege begangen. Dies

spiegelt sich deutlich in der qualitativ und quantitativ verschiedenen Zusammensetzung der Lösungen wider. Die Unterschiede sind in folgenden Gruppen von Bestandteilen auszumachen:

- Elektrolytzusammensetzung der Lösungen entsprechend dem intra- oder extrazellulärem Ionengehalt
- Puffer zur Verhinderung einer Azidose
- Osmotische, membranimpermeable Substanzen, die als Antagonisten zu osmotisch wirksamen intrazellulären Proteinen wirken und zur Verhinderung eines intrazellulären Ödems eingesetzt werden
- Kolloidosmotische Substanzen, die ein interstitielles Ödem verhindern und damit ein Zusammenpressen der Gefäße verhindern sollen

Zusätze anderer Art, wie Substrate zur Energieregeneration, Radikalfänger, Antibiotika etc.

1.5.1 University of Wisconsin Lösung

Es stehen zahlreiche kristalloide Lösungen zur Verfügung. Eine in Klinik und Forschung sehr oft benutzte Lösung ist die University of Wisconsin Lösung (UW), die auch in dieser Studie verwendet wurde. UW ist eine Lösung vom intrazellulären Typ. Ihre Zusammensetzung basiert auf Studien von Belzer und Kollegen (Belzer 1988, Wahlberg 1986).

Der schnelle Eintritt des Herzstillstandes wird durch den Zusatz von Adenosin und die hohe Kaliumkonzentration erreicht. Laktobionate, Raffinose und Hydroxyethylstärke sollen das zelluläre Ödem durch Verminderung des transkapillären und transzellulären osmotischen Flusses reduzieren. Allopurinol hemmt die Xanthinoxidase mit dem Ziel der geringeren Produktion von Sauerstoffradikalen während der Reperfusion. Aus demselben Grund wird auch das Antioxidans Glutathion zugegeben. Neben seiner Wirkung bei der Induktion des Herzstillstandes soll Adenosin die Regeneration von Adenosintriphosphat während der Reperfusion erleichtern. Die dem Intrazellularraum ähnelnde Elektrolytzusammensetzung kann einen Natriumeinstrom in die Myokardzellen und das damit verbundene zelluläre Ödem verhindern. Calcium wurde als

Chelatkomplexbildner für die Laktobionsäure hinzugefügt. (Demertzis, Wippermann, et al. 1993).

1.5.2 Perfluorocarbone

Ein großer Nachteil der University of Wisconsin Lösung, wie auch aller anderen kristalloiden Protektionslösungen, besteht darin, dass durch sie kein Sauerstoff transportiert werden kann, den die Orgazellen als Substrat zur aeroben Energieutilisation aufnehmen könnten.

Ein Weg, dieses Problem zu umgehen und den Organen trotzdem Sauerstoff anzubieten ist durch die Entwicklung künstlicher Sauerstoffträger, die nicht Blut als Medium benötigen und die den Sauerstoff dann auf kapillarer Ebene ähnlich dem Hämoglobin auch wieder abgeben.

Eine vielversprechende Gruppe solcher künstlicher Sauerstoffträger stellen Perfluorocarbone (PFC) dar. Perfluorocarbone sind lineare oder zyklische Kohlenstoffverbindungen, die hauptsächlich mit Fluor substituiert sind. Die Kohlenstoff-Fluor-Bindung ist mit einer Länge von 0,136 nm und einer Bindungsenergie von 485,8 kJ/mol in biologischen Systemen nicht angreifbar. Sie sind hitzestabil und werden nicht metabolisiert. Wegen Ihrer starken Hydrophobie müssen Perfluorocarbone für den intravasalen Gebrauch emulgiert werden. Im PFC - Anteil einer Perfluorocarbone - Emulsion können erhebliche Mengen an Sauerstoff, Kohlendioxid physikalisch entsprechend dem Gesetz von Henry direkt proportional zum Partialdruck gelöst werden. Verschiedene Gase können unabhängig voneinander im zwischenmolekularem Raum transportiert werden, d.h. der Sauerstofftransport ist entgegen dem Hämoglobingebundenem Transport auch in Anwesenheit von Kohlenmonoxid nicht eingeschränkt (32; 12; 61) Die folgende Tabelle zeigt die Anwendungsmöglichkeiten der Perfluorocarbone.

Tabelle 1: Anwendungsmöglichkeiten der Perfluorocarbone

Perioperative Hämodilution
Perioperativer Blutverlust
Blutersatzmittel zur Wiederbelebung
Ischämierprophylaxe und Therapie
Sauerstoffversorgung von Zellkulturen
Sichelzellanämie
Adjuvante Krebstherapie und Diagnostik
Radiologisches Kontrastmittel
Luftembolieprophylaxe und-therapie
Kohlenmonoxidvergiftung
Wundheilung
Ophtalmologie
Flüssigkeitsbeatmung
Organkonservierung zur Transplantation

PFC-Emulsionen besitzen gewisse Vorteile gegenüber den üblichen kristalloiden und Blutkomponenten enthaltenden Kardioprotektionslösungen. Es kommt zu einer verminderten Komplementaktivierung, und Aktivierung von neutophilen Granulozyten. Auf eine Blutgruppenkompatibilität muss nicht geachtet werden, und das Infektionsrisiko ist stark vermindert. Aufgrund der linearen Sauerstoffdissoziationskurve, die im Gegensatz zum Hämoglobin unabhängig vom pH und von der Konzentration von 2,3- Biphosphoglycerat ist, ist eine verbesserte Sauerstoffutilisation möglich. Dadurch kommt es zum erhöhtem aeroben Stoffwechsel und zur erhöhten Bereitstellung von energiereichen Phosphaten. Zusätzlich besteht eine erhöhte Ischämietoleranz und der Reperfusionsschaden sowie die Bildung von Sauerstoffradikalen ist vermindert (30; 62; 65; 67; 76).

1.6 Studienziele

In dieser Arbeit wurden Herzen von Schweinen in dem o. g. Verfahren in situ nach Eintreten des Kreislaufstillstandes perfundiert und konserviert. In der einen Gruppe wurde UW und in der anderen PFC als Kardioprotektionslösung verwendet.

Ziel war es folgende Fragen zu beantworten:

- Sind die benutzten PFC als Kardioprotektionslösung bei einer in situ Protektion geeignet?
- Wie verhalten sich die Herzen die mit PFC als künstlichen Sauerstoffträger protektioniert wurden gegenüber den Herzen, die mit UW protektioniert wurden was funktionelle Parameter, Bildung von Sauerstoffradikalen, und die histomorphologische Beurteilung angeht, nach der Blutreperfusion im standardisierten Kreislaufmodell?

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Im Rahmen dieser tierexperimentellen Studie wurden 16 Ferkel der Rasse "Deutsches Landschwein " mit einem Gewicht von $18,5 \pm 1,3$ kg verwendet. Das Geschlecht der Tiere spielt für die vorliegende Studie keine Rolle

Die Tiere wurden vom Versuchsgut St. Johann bezogen und spätestens 2 Wochen vor der Operation in den Versuchstierstall der Universität Tübingen transportiert. Die für diese Studie erforderlichen Tierversuche wurden durch das Regierungspräsidium Tübingen unter dem Aktenzeichen C3/97 mit dem Titel: „Herztransplantation: Perkutane in situ Kardioprotektion bei Herz- und Kreislaufstillstand des Spenders, eine tierexperimentelle Studie an Schweinen" genehmigt.

2.2 Kardioprotektionslösungen

In dieser Studie wurden zwei Lösungen verwendet:

Die University of Wisconsin Lösung (UW), die eine im klinischen Alltag bei Organprotektionen oft benutzte krystalloide Lösung darstellt. UW ist kommerziell erhältlich und wurde in unserem Fall von der Firma Via Span Du Pont (Pharma GmbH, Bad Homburg) bezogen. Die folgende Tabelle gibt die genaue Zusammensetzung der in unserer Arbeitsgruppe benutzten UW-Lösung wieder.

Tabelle 2: Zusammensetzung der University of Wisconsin Lösung (UW) (Via Span, Du Pont Pharma, Bad Homburg)

University of Wisconsin solution	
Substanz	Konzentration [g/l]
<i>Pentafraktion (mod. Hydroxyethylstärke)</i>	50
<i>Laktobionsäure</i>	35,83
<i>Kaliumphosphat, Kaliumhydrogenphosphat</i>	3,4
<i>Magnesiumphosphat-7-hydrat</i>	1,23
<i>Raffinose, Pentahydrat</i>	17,83
<i>Adenosin</i>	1,34
<i>Allopurinol</i>	0,136
<i>Glutathion reduziert</i>	0,922
<i>Glucose</i>	0,18
<i>NaCl</i>	0,3
<i>Kaliumhydroxid</i>	zur pH-Wert Einstellung auf pH = 7,4
<i>Natriumhydroxid</i>	
<i>Wasser für Injektionszwecke</i>	ad 1l
<i>Gesamtosmolarität</i>	323 mosmol/kg

Eine Perfluorocarbone-Emulsion, (PFC), deren wichtigster Bestandteil die zur Sauerstoffbindung und -abgabe befähigten Moleküle sind. Die PFC-Emulsion wurde von der Abteilung für Biomaterialien der Universität Ulm bezogen und nach folgendem Verfahren hergestellt:

Die PFC Emulsion setzt sich aus drei Teilen zusammen: der Perfluorodecalin-Lösung und den Zusatzlösungen **A** und **B**.

270ml Perfluorodecalin (ABCR, Karlsruhe, cat. no. F05960) wurden mit 64g Pluronic F6800 (BASF, cat. no. 06 4806 05) gemischt und in aqua ad injectabilia (Braun, Melsungen) gelöst. Es folgte zunächst eine Prä-Emulsifikation mit dem Gerät Ultra Turrax T25S5 (IKA, Stauffen) bei 20000 Umdrehungen/min über 5 min und anschließend eine Hochdruckhomogenisierung mit dem Gerät Gaulin Lab60 (APV Homogenizer, Lübeck) bei 400 bar über 10 min. Es wurden 4x400 ml Emulsion in vier sterile 500ml Flaschen abgefüllt.

Für die Zusatzlösung **A** wurden 1,12g KCl (Merck, Darmstadt, cat. no.1.05001.0250) und 7g NaHCO₃ (Merck, cat. no. 1.06329.0500) in 200ml aqua ad injectabilia gelöst. 4x30 ml dieser Lösung wurden in vier sterile 50ml Flaschen

filtriert (0,2µm/Schleicher & Schuell, Dassel, cat. no. FP 030/3) und bei 121°C für 20min autoklaviert (KSG 113,der Firma KSG, Olching).

Für die Zusatzlösung **B** wurden 13,05g NaCl (Merck, cat. no. 1.01540.0500), 10,65g KCl, 1,324g CaCl₂•2H₂O (Merck, cat. no. 1.02383.0250), 1,54g MgCl₂•6H₂O (Merck, cat. no. 1.08342.1000) und 107,15g Hydroxyethylstärke 200000/0,5 (Fresenius, Bad Homburg) in 500ml aqua ad injectabilia gelöst. 8x35ml dieser Lösung wurden in 8 sterile 50ml Flaschen filtriert (Verfahren siehe oben) und für 20 min bei 121°C autoklaviert.

Nach Zugabe von einer Flasche Lösung A und anschließend von 2 Flaschen der Lösung B zur Perfluorodecalin-Emulsion wurde das Gemisch vor der Applikation in den Blutkreislauf der Versuchstiere gut durchgemischt. Die genaue Zusammensetzung der gebrauchsfertigen Lösung wird in der Tabelle 3 dargestellt:

Tabelle 3: Zusammensetzung der gebrauchsfertigen Perfluorocarbone (PFC)-Emulsion

Perfluorocarbone	
Substanz	Konzentration [% (wt/vol)]
<i>Perfluorodecalin</i>	20,000
<i>Pluronic F6800</i>	2,560
<i>NaCl</i>	0,366
<i>KCl</i>	0,332
<i>MgCl₂</i>	0,020
<i>CaCl₂</i>	0,228
<i>NaHCO₃</i>	0,210
<i>Glucose</i>	0,180
<i>Hydroxyethylstärke (HES 200000/0,5)</i>	3,000

Die Partikelgröße und die Speicherfähigkeit wurden mit dem „submicron particle size distribution analyzer autosizer IIc“ der Firma Malvern Instruments bestimmt. Nur Emulsionen mit einer Partikelgröße von weniger als 0,5µm Durchmesser wurden verwendet, um thrombotischen Ereignissen bei den Tieren vorzubeugen.

2.3 Kreislaufmodell

Für diese Arbeit wurde das speziell für die Perfusion von Schweineherzen konzipierte Kreislaufmodell der Firma Hugo Sachs Electronic, March-Hugstetten verwendet. Dieses Modell bietet die Möglichkeit, isolierte Herzen sowohl unter konstanten Druckbedingungen als auch unter konstanten Flussbedingungen antegrad im Langendorff-Modus zu perfundieren. In dieser Versuchsreihe wurden die Herzen unter konstant gehaltenem Perfusionsdruck perfundiert, da dies eher den physiologischen Bedingungen entspricht. (58)

Die Konstruktion dieses Modells bietet außerdem noch die Möglichkeit eines von der Blutperfusion getrennten Kreislaufs, den wir in unserer Arbeitsgruppe für die in den folgenden Abschnitten beschriebene Kardioprotektion in situ und für die Kardioprotektion am Kreislaufmodell genutzt haben. Dieses System wurde für unsere Zwecke speziell konzipiert und in enger Zusammenarbeit mit unserer Arbeitsgruppe von der Firma Hugo Sachs Electronic weiterentwickelt.

2.4 Blutreperfusat

Zur Blutreperfusion wurde Schweinevollblut verwendet, das aus dem nahegelegenen Schlachthof bezogen wurde. Bei dem dort üblichen Tötungsvorgang wurde dem Tier nach erfolgter Lähmung mittels elektrischen Stroms ein medianer Halsschnitt zugefügt. Das dabei ausströmende Blut wurde in einem Gefäß aufgefangen, das bereits in 100 ml 0,9% NaCl gelöste 12500 I.E. Heparin enthielt. Um möglichen Transfusionszwischenfällen vorzubeugen, wurde pro Versuch nur Blut eines Schweins verwendet.

Im Labor erfolgte die weitere Verarbeitung des Blutes nach einem standardisierten Schema. Es wurde ein Hämatokrit von 20 – 25% und ein Serumkaliumwert von 4,0 – 5,0 mmol/l angestrebt. Zur Verdünnung des Blutes wurde eine speziell für unsere Versuchszwecke in der Universitätsapotheke Tübingen zubereitete kaliumfreie Krebs-Henseleit-Lösung verwendet, deren genaue Zusammensetzung aus der Tabelle 4 zu ersehen ist.

Tabelle 4: Zusammensetzung der kaliumfreien Krebs – Heseleit - Lösung

K⁺ - freie Krebs - Heseleit - Lösung	
Substanz	Konzentration [mmol/l]
<i>Calciumchlorid</i>	2,5
<i>Natriumchlorid</i>	90,0
<i>Natriumhydrogencarbonat</i>	30,0
<i>Natrimhydrogenphosphat *H2O</i>	1,0
<i>Magnesiumsulfat *H2O</i>	1,0
<i>Glucose *H2O</i>	5,5
<i>Pyruvat</i>	1,1

Der pH - Wert wurde mit 4,2% NaHCO₃ auf Werten zwischen 7,350 und 7,450 gehalten. Zur Ernährung der Herzmuskelzellen wurde Glukose und zur Verbesserung der Glukoseaufnahme in die Herzmuskelzelle Insulin hinzugefügt. Um eine membranstabilisierende und ödemverringende Wirkung zu erreichen wurde Hydrocortison 100® gegeben. Durch die Gabe von 80 mg des Aminoglykosidantibiotikums Gentamycin (Refobacin®) sollte ein bakterielles Wachstum im Versuchskreislauf verhindert werden. Die Gerinnung wurde durch 10.000 I.E. Heparin gehemmt. Die Mittelwerte der Blutgasanalysen der angesetzten Blutreperfusate, die mit dem „STAT Profile 9 Analysator“ der Firma „nova biomedical“ bestimmt worden sind, sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Mittelwerte der Blutgasanalysen aller angesetzten Blutreperfusate

	Mittelwert	Standardab.
<i>pH</i>	7,32	0,05
<i>pCO₂ [mmHg]</i>	60,5	10,8
<i>pO₂ [mmHg]</i>	33,5	5,8
<i>Na⁺ [mmol/l]</i>	136	8
<i>K⁺ [mmol/l]</i>	4,1	0,6
<i>Cl⁻ [mmol/l]</i>	104	29
<i>Ca⁺⁺ [mmol/l]</i>	1,38	0,23
<i>Glu [mg/dl]</i>	188	21
<i>Hk [%]</i>	24	1
<i>Hb [g/dl]</i>	8,1	0,5
<i>Osm [mOsm]</i>	273	15

2.5 Versuchsaufbau und –ablauf

2.5.1 Überblick

Die Tiere wurden in zwei Gruppen eingeteilt. In der ersten Gruppe wurde UW-Lösung und in der zweiten PFC-Emulsion als Kardioprotektionslösung verwendet. Des Weiteren bestand kein Unterschied im Versuchsaufbau, im Ablauf, und in der Auswertung.

Der Versuch gliedert sich in folgende Abschnitte:

- **Operation:** In einer Operation am eröffneten Thorax erfolgten die notwendigen Präparationen zur Vorbereitung auf die nachfolgende in situ-Kardioprotektion.
- **In situ-Kardioprotektion:** Das Herz der Tiere wurde nach Einstellen der Beatmung und eingetretenem Kreislaufstillstand in situ unter Anwendung des speziell zu diesem Zweck entwickelten Kreislaufs am Kreislaufmodell für 1h durch kontinuierliche Perfusion mit Protektionslösung protektioniert.
- **Präparation:** Nach dem Beenden der in situ-Kardioprotektion wurden die Herzen aus dem Körper der Tiere entnommen und für die anschließende Kardioprotektion am Kreislaufmodell vorbereitet.
- **Kardioprotektion am Kreislaufmodell:** Der vorhin angewandte Kreislauf zur in situ Kardioprotektion wurde nun zur ex situ-Kardioprotektion benutzt. Nach einer Gesamtkardioprotektionsdauer von 2,5 h wurde die Blutreperfusion eingeleitet.
- **Blutreperfusion:** Das Herz wurde im Kreislaufmodell für insgesamt 1h im Langendorff-Modus mit Blut reperfundiert.

Eine Übersicht über den zeitlichen Ablauf des Versuchs ist aus der Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Zeitliche Einteilung der Versuche

		Zeiten [h : min : s]				
		OP	Ischämie	Kardioplegie		Blutperfusion
		<i>Beginn der Narkose - Einstellung der Beatmung</i>	<i>Einstellung der Beatmung - Beginn der in situ Kardioprotektion</i>	<i>Beginn der in situ Kardioprotektion - Ende der in situ Kardioprotektion</i>	<i>Fortsetzung der Kardioprotektion am Modell - Ende der Kardioprotektion am Modell</i>	<i>Beginn der Blutperfusion - Ende der Blutperfusion</i>
alle	<i>Mittelwert</i>	1:30:14	0:07:32	0:55:47	1:16:06	1:00:00
	<i>Standardabw.</i>	0:12:18	0:02:21	0:07:46	0:10:42	0:00:00
UW	<i>Mittelwert</i>	1:31:01	0:08:28	0:56:35	1:14:20	1:00:00
	<i>Standardabw.</i>	0:14:58	0:02:21	0:04:59	0:08:08	0:00:00
PFC	<i>Mittelwert</i>	1:28:58	0:06:01	0:54:31	1:18:54	1:00:00
	<i>Standardabw.</i>	0:07:40	0:01:30	0:11:34	0:14:32	0:00:00

2.5.2 Präoperatives Vorgehen

Präoperativ wurden die Ferkel bei freier Trinkmenge für 24 Stunden nüchtern gehalten. Am Versuchstag erhielten sie noch vor dem Transport in den Operationsraum in den Einrichtungen des Versuchsstalls folgende intramuskuläre Prämedikation:

- Atropinsulfat 0,05 mg/kg Körpergewicht
- Azaperon (Stresnil®) 4 mg /kg Körpergewicht
- Flunitrazepam (Rohypnol®) 1ml/Tier
- Ketaminhydrochlorid (Ketanest®) 7 mg/kg Körpergewicht (KG)

2.5.3 Narkose

Die Tiere kamen sediert im Operationssaal an. Die Narkoseeinleitung erfolgte unter Maskenbeatmung mittels Isofluran in einer Konzentration zwischen 2 – 3 Vol%. Danach wurden die Tiere endotracheal intubiert. Die Narkose wurde mit Isofluran 1,2 – 1,5 Vol% aufrechterhalten. Zusätzlich wurden Sauerstoff und Lachgas in einem Verhältnis 1:1 beigemischt. Zur Muskelrelaxation wurde den Tieren 1 ml Pancuronium® i.m. gespritzt.

2.5.4 Operation

Zu Beginn erfolgte eine mediane Thorakotomie und der Einsatz eines Thoraxspreizers. Anschließend wurde der Thymus entfernt, das Perikard eröffnet und die Aorta von der A. pulmonalis abpräpariert. Daraufhin wurde jeweils eine arterielle und eine venöse Blutprobe entnommen. Als nächstes folgte die intravenöse Gabe von 100 I.E./kg Körpergewicht des Tieres Heparin.

Als nächster Schritt wurde ein ca. 8 cm langer Hautschnitt rechts paramedian am Hals gesetzt, um die Halsgefäße darzustellen. Die A. carotis interna und die V. jugularis externa wurden kranial angeschlungen und kaudal tourniquiert.

Die A. carotis interna wurde eröffnet und ein speziell für unsere Versuchszwecke konzipierter, von der Firma Jostra GmbH hergestellter Katheter eingeführt. Dieser Katheter besaß ein Lumen und einen ca. 10 ml fassenden, an der Katheterspitze gelegenen Ballon, der zur sog. Blockung, d.h. zum Verschluss des distalen Gefäßlumens diente. Dieser Katheter wurde bis zur Aorta ascendens vorgeschoben. Die richtige Lage wurde durch geringes Auffüllen des Blockungsballons und anschließender Palpation des Ballons durch die Gefäßwand kontrolliert. Kranial wurde die Arterie ligiert.

In die V. jugularis externa wurde in ähnlicher Weise ein weiterer, auch von der Firma Jostra GmbH speziell angefertigter Katheter eingeführt. Dieser Katheter bestand aus einem Lumen und zwei Blockungsballons, die je nach Kathetermodell einen Abstand von 8 – 10 cm voneinander aufwiesen. Die Katheterspitze war verschlossen; jedoch befanden sich mehrere seitliche Öffnungen zwischen den beiden Blockungsballons. Dieser Katheter wurde so positioniert, dass die Blockungsballons im aufgefüllten Zustand die V. cava superior und die V. cava inferior verschlossen. Die zwischen den Ballons gelegenen Öffnungen drainierten den Inhalt des rechten Vorhofs. Auch hier wurde die korrekte Lage durch Palpation überprüft. Die V. jugularis externa wurde nach kranial hin ligiert.

2.5.5 Organprotektion

2.5.5.1 *In situ* Kardioprotektion

Nach Abschluss der Präparation wurde die Beatmung abgestellt und die Tiere vom OP – Saal in den danebengelegenen Raum, in dem das isolierte Kreislaufmodell inzwischen in einem betriebsbereiten Zustand war, transportiert. Die Narkose wurde mit Propofol (Disoprivan® 1%) i.v. nach Bedarf aufrechterhalten.

Der in der A. carotis interna plazierte Katheter wurde mit dem Perfusionsschlauch des Kreislaufmodells verbunden. Über den in der A. carotis interna liegenden Katheter konnte ferner der Druck in der Aorta gemessen und online erfasst werden. Sobald die Differenz zwischen systolischem und diastolischem Druck 10 mmHg unterschritten hatte und somit der Kreislaufstillstand eingetreten war, wurde arterielles Blut für eine Blutgasanalyse abgenommen. Die nachfolgende Tabelle zeigt den Mittelwert der zu diesem Zeitpunkt von allen Tieren entnommenen Blutgasanalysen.

Tabelle 7: Mittelwerte der kurz vor Beginn der *in situ* Kardioprotektion durchgeführten Blutgasanalysen

	Mittelwert	Standardab.
<i>pH</i>	7,32	0,11
<i>pCO</i>₂ [mmHg]	59,7	13,8
<i>pO</i>₂ [mmHg]	23,7	13,8
<i>Na</i>⁺ [mmol/l]	140	5
<i>K</i>⁺ [mmol/l]	4,6	1,0
<i>Cl</i>⁻ [mmol/l]	109	5
<i>Ca</i>⁺⁺ [mmol/l]	0,84	0,17
<i>Glu</i> [mg/dl]	140	76
<i>Hk</i> [%]	26	8
<i>Hb</i> [g/dl]	9,3	1,0
<i>Osm</i> [mOsm]	278	8

Anschließend wurde der Blockungsballon, der in der Aorta ascendens knapp unterhalb des Aortenbogens plaziert war, mit NaCl 0,9% aufgefüllt und dadurch die Aorta nach peripher hin verschlossen. Daraufhin wurde mit der in situ Kardioprotektion unter Zuhilfenahme des speziell hierfür konzipierten Teils des Kreislaufmodells begonnen (vgl. Abb. 1).

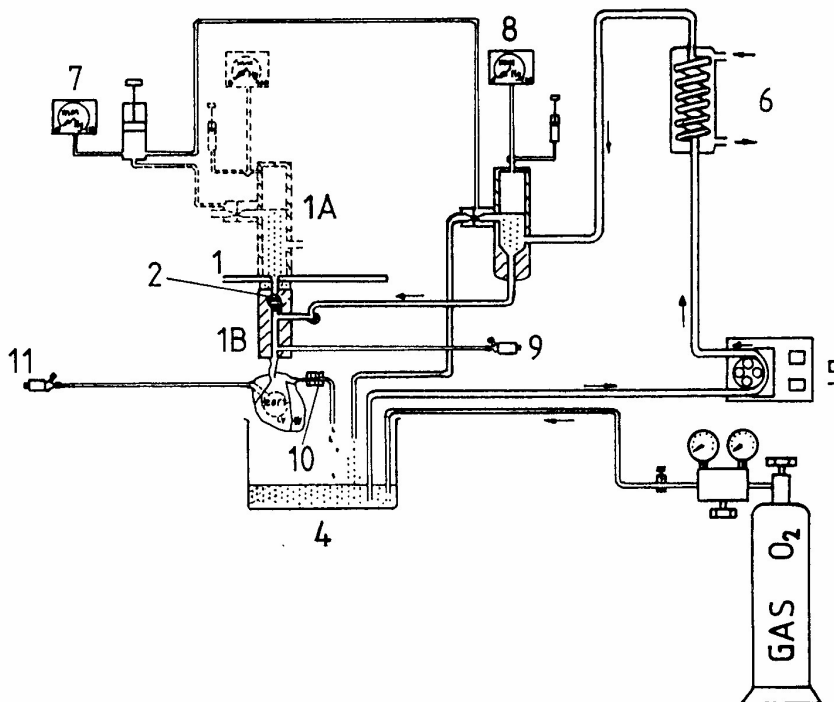


Abbildung 1: Kardioprotektionskreislauf

Die im Gefäß (Nr.4) aufgefüllte Kardioprotektionslösung wurde über eine Rollerpumpe (Nr. 5) befördert und im Wärmetauscher (Nr. 6) gekühlt. Die gekühlte Lösung gelangte daraufhin in die nachfolgende Druckkammer und von dort aus über den Perfusionsschlauch und den in der Aorta befindlichen Katheter in die Koronarien. Der Soll-Druck konnte über einen Druckeinsteller (Nr. 7) bestimmt werden und über einen Zeigermanometer (Nr. 8) wurde der Ist-Druck gemessen.

Der tatsächliche Perfusionsdruck wurde über eine kleine Kanüle (Butterfly®) gemessen, die in die Aorta ascendens knapp unterhalb des Blockungsballons

eingeführt wurde und an einem Druckaufnehmer konnektiert war. Gleichzeitig wurden die beiden in der V. cava superior et inferior befindlichen Blockungsballons des V. jugularis externa-Katheters mit NaCl 0,9% aufgefüllt und dadurch die beiden Gefäße verschlossen.

Durch den retrograden Perfusionsfluss der Kardioprotektionslösung wurde die Aortenklappe geschlossen und die Koronargefäße perfundiert. Nach dem Durchströmen der Herzmuskelkapillaren wurde das Perfusat über den Sinus coronarius, den rechten Vorhof und die Öffnungen des in der V. jugularis externa befindlichen Katheters in ein Sammelgefäß abgeleitet. Um den Fluss durch die Koronarien auch quantitativ [ml/min] bestimmen zu können, wurde zwischen Katheter und Sammelgefäß ein Ultraschall-Flussaufnehmer eingesetzt. Die Perfusionswerte wurden online erfaßt und über ein spezielles Datenverarbeitungsprogramm (PO-NE-MAH[®]) auf dem Bildschirm des PC sichtbar gemacht. Die ersten Milliliter des Perfusates waren stark mit Blut vermischt und wurden deshalb verworfen. Sobald im Sammelgefäß ankommende Perfusat klar war, wurde das Sammelgefäß über einen Schlauch mit dem Reservoir der Kardioprotektionslösung verbunden. Dadurch entstand ein Kreislauf und der Verbrauch an Kardioprotektionslösung wurde verhindert. Durch diesen Kreislauf wurde gewährleistet, dass die Kardioprotektionslösung ohne Widerstand oder Unterdruck aus dem rechten Herzen abfließen konnte und somit keine Dilatation des rechten Vorhofs auftreten konnte.

Der Perfusionsdruck der Kardioprotektionslösung betrug 40 mmHg, die Temperatur 7°C. Die Dauer der warmen Ischämie, d.h. die Zeit zwischen dem Einstellen der Beatmung und dem Beginn der in situ-Kardioprotektion betrug im Durchschnitt 7 ± 2 min und die gesamte Dauer der in situ Kardioprotektion 56 ± 8 min.

2.5.5.2 Präparation des Herzens zur Kardioprotektion am Kreislaufmodell

Nach der Beendigung der in situ Kardioprotektion wurden zunächst die Katheter entfernt und anschließend das Herz explantiert. Nach dem Wiegen erfolgte die weitere Präparation auf einer mit Eis bedeckten Arbeitsfläche.

Der gesamte Aortenbogen wurde abpräpariert und nur ein Stumpf der Aorta ascendens belassen. Kleine, durch Einstich der Butterfly[®]-Kanüle entstandene Einstichlöcher wurden mit feinen 5-0 Fäden (Prolene) verschlossen. Daraufhin wurde in die Aorta ascendens eine Kanüle in genügendem Abstand zur Aortenklappe eingenäht. In den Truncus pulmonalis wurde das eine Ende eines 4 cm langen Schlauches eingenäht. An das andere Ende wurde ein Ultraschallmeßkopf angebracht, um den Fluss in den Koronarien messen zu können. Die Lungenvenen sowie die Vv. cavae superior et inferior wurden mit Ligaturfäden verschlossen. Die beschriebene Präparation erfolgte mit größter Sorgfalt, um die Herzmuskulatur so wenig wie möglich zu schädigen. An das Epikard des linken Ventrikels wurden die freien Enden der zwei Kabel eines externen Schrittmachers genäht.

Somit war das Herz für die weitere Kardioprotektion am Kreislaufmodell und zum größten Teil auch für die daran anschließende Blutreperfusion vorbereitet. Die gesamte Präparationszeit betrug 20 ± 5 min.

2.5.5.3 Kardioprotektion am Kreislaufmodell

Das Herz wurde über der an der Aorta befestigten Kanüle (Aortenkanüle) an das Kreislaufmodell angeschlossen und die Kardioprotektion fortgesetzt. Die Kardioprotektionslösung wurde wie bei der in situ Kardioprotektion vom Reservoir angesaugt, gelangte über die Aortenkanüle in die Aorta, führte zum Schluss der Segel der Aortenklappe und damit zur Perfusion der Koronargefäße. Über den im Truncus pulmonalis eingeführten Schlauch (Koronarschlauch) floss die Lösung ins Reservoir zurück und stand dem Kreislauf erneut zur Verfügung.

Die Temperatur der Kardioprotektionslösung betrug 7°C , der Perfusionsdruck wie bei der in situ Kardioprotektion 40 mmHg. Die Dauer der Kardioprotektion am Modell betrug $1\text{h}16\text{min} \pm 11\text{min}$, so dass sich eine Gesamtkardioprotektiondauer von 2h 30min ergab.

2.5.6 Blutreperfusion

Nach der Beendigung der Kardioprotektion am Kreislaufmodell wurden das Kreislaufmodell und das Herz für die nachfolgende Blutreperfusion vorbereitet.

Das Herz wurde kurzzeitig vom Kreislaufmodell abgenommen und gewogen. Das linke Herzohr wurde eröffnet und ein mit NaCl 0.9% gefüllter, an das eine Ende eines dünnen Schlauches befestigter spezieller Messballon unter Schonung der Mitralklappe in den linken Ventrikel eingeführt. Das andere Ende des Schlauchs war an einen Druck-Dom angeschlossen. Zwischen Messballon und Druck-Dom war ein Drei-Wege-Hahn dazwischengeschaltet, über den das Volumen im Ballon vermehrt bzw. vermindert werden konnte. Durch dieses System konnte der Druck im linken Ventrikel jederzeit gemessen und auch der diastolische Druck, d.h. die Vorlast im linken Ventrikel nach Belieben eingestellt werden. Der diastolische Druck wurde in den ersten Minuten langsam aufgebaut und im weiteren Verlauf bei $20 \pm 1 \text{ mmHg}$ konstant gehalten. Die Herzschrittmacherkabel wurden an den Schrittmacher angeschlossen und der Schrittmacher in einen betriebsbereiten Zustand versetzt.

Das vorbereitete Blutperfusat wurde in ein Reservoir am Kreislaufmodell eingefüllt. Dieses Reservoir bestand aus einem doppelwandigen Plexiglasgefäß, zwischen dessen Wänden 39°C warmes Wasser strömte. So konnte das Blut schonend auf 37°C erwärmt und in dieser Temperatur gehalten werden.

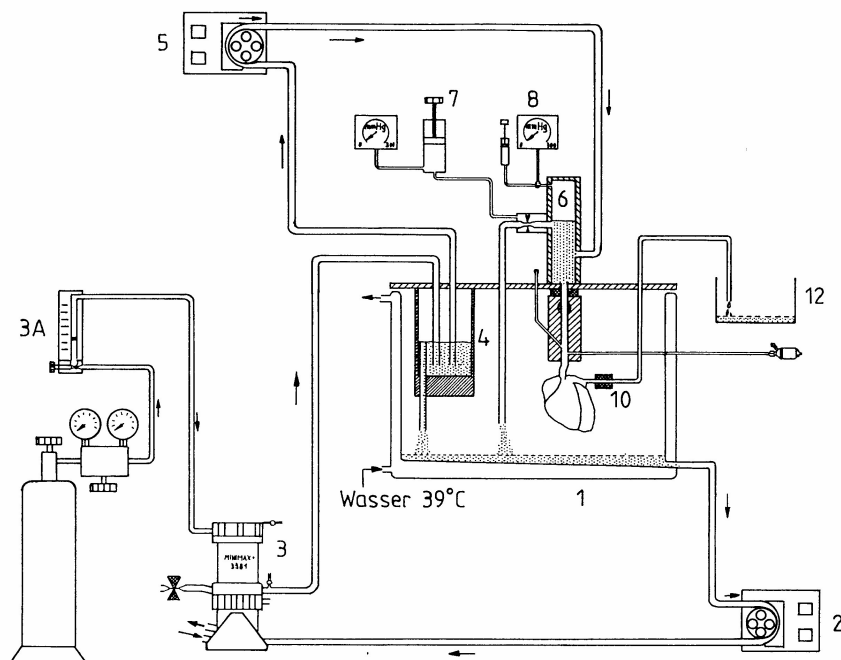


Abbildung 2: Blutperfusionskreislauf

Der Reperfusionskreislauf besaß folgenden Aufbau: (vergleiche Abb.2) Das Blut wurde aus dem Plexiglasgefäß (Nr. 1) mittels einer Rollerpumpe (Nr. 2) in einen Membranoxygenator (Nr. 3) eingeleitet, dort mit Sauerstoff und Kohlendioxid angereichert, erwärmt und in ein weiteres Reservoir (Nr. 4) transportiert. Die Einstellung des Sauerstoff- und Kohlendioxidgehaltes konnte dabei über ein fein regulierbares Druckminderer-Ventil (Nr. 3A) erfolgen. Vom Reservoir (Nr. 4) aus wurde das Blut über eine weitere Rollerpumpe (Nr. 5) in eine Druckkammer (Nr. 6) überführt. Der Soll-Druck wurde über einen Druckeinsteller (Nr. 7) geregelt, der Ist-Druck über ein Zeigermanometer (Nr. 8) kontrolliert. Der an der Aortenkanüle tatsächlich vorherrschende Druck wurde über einen Druckaufnehmer (Nr. 9) erfaßt und kontinuierlich online registriert. Der Perfusionsdruck wurde in den ersten zehn Minuten langsam aufgebaut (ca. 50 mmHg) und für die restliche Perfusionszeit auf 75 mmHg eingestellt.

Das Blut gelangte nun mit diesem Druck in die Aorta und von dort in die Koronargefäße. Durch den im Truncus pulmonalis kurz oberhalb der Pulmonalklappe eingesetzten Schlauch wurde das Blut aufgefangen und der Fluss über einen Ultraschallmeßkopf (Nr. 10) in ml/min gemessen. Dieser gemessene Fluss entsprach dem Koronarfluss. Die ersten Milliliter dieses Blutes wurden in einem Gefäß (Nr. 12) aufgefangen und verworfen. Nachdem sich der anfangs hohe koronare Kaliumwert normalisiert hatte, wurde dieses Blut in das Plexiglasgefäß (Nr. 1) geleitet und stand so dem Kreislauf wieder zur Verfügung.

Über den im linken Ventrikel eingeführten Messballon konnte der während den Kontraktionen entwickelte isovolumetrische Druck kontinuierlich während der gesamten Reperusionszeit erfaßt werden. Sorgfältig wurde darauf geachtet, das Meßsystem blasenfrei zu befüllen, da im System eingeschlossene Luftbläschen die dynamischen Druckmesseigenschaften beeinflussen und das Ergebnis verfälschen konnten.

Beim Auftreten von Kammerflimmern wurden die Herzen defibrilliert und bei Bedarf mit einer Frequenz von 120 Schlägen/min über einen externen Schrittmacher elektrisch stimuliert.

2.6 Versuchsauswertung

2.6.1 Funktionsdaten

Die Messwerte der Funktionsparameter wurden über das Datenverarbeitungsprogramm PO-NE-MAH[®] Digital Acquisition Analysis and Archive Systems (PO-NE-MAH Inc., Simsbury, Conn., USA) kontinuierlich erfasst und online auf dem Bildschirm des PC visuell (graphisch und tabellarisch) dargestellt.

Während der warmen Ischämiezeit wurde der Druck in der Aorta [mmHg] registriert, um den Zeitpunkt des Eintritts des Kreislaufstillstands erkennen zu können. Sowohl während der in situ-Kardioprotektion als auch während der Kardioprotektion am Kreislaufmodell wurden der Perfusionsdruck [mmHg] und der Koronarfluss [ml/min] erfasst. Diese Werte dienten als Überwachungsparameter während dieser Versuchsabschnitte.

Während der Blutreperfusion wurde der Druck im linken Ventrikel (**Left Ventricular Pressure**) [mmHg] mit Hilfe des oben beschriebenen Ballonsystems ständig gemessen. Das Programm war in der Lage, aus diesen Werten die Maximalwerte des linksventrikulären Druckanstiegs (**+dP/dt**) und des Druckabfalls (**-dP/dt**) [mmHg/s] zu berechnen. Diese wurden dann gespeichert. Aus dem in einer Tabelle registrierten systolischen und diastolischen Druckwert wurde der im linken Ventrikel entwickelte Druck (**Left Ventricular Developed Pressure**) [mmHg] berechnet. Ferner wurde über dieses System die Herzfrequenz (**HF**) [Schläge/min] erfasst.

Am Anschluss der Aortenkanüle am Perfusionssystem waren die Messinstrumente installiert, die den Druck in der Aorta (**Aortic Pressure**) [mmHg] und den Fluss durch die Aorta (**Aortic Flow**) [ml/min] - also den Perfusionsdruck und den Perfusionsfluss - gemessen haben. Über den Messkopf am Katheter des Truncus pulmonalis wurde der Fluss durch die Koronargefäße (**Coronar Flow**) [ml/min] gemessen.

Um die unterschiedliche Herzmuskelmasse der verschiedenen Versuchstiere mit zu berücksichtigen, wurden bei der Auswertung des CF die Werte auf das

Trockengewicht bezogen. Das Trockengewicht wurde nach dem im Abschnitt 2.6.3 beschriebenen Verfahren bestimmt.

Das Datenverarbeitungsprogramm war in der Lage, 250 Messungen pro zehn Sekunden pro Parameter durchzuführen und deren Mittelwert in einer Tabelle aufzuzeigen und zu speichern. Diese Zehnsekundenwerte wurden dann alle 5 min gemittelt und in einer weiteren Tabelle gespeichert. Diese Fünfminutenwerte wurden dann zum Vergleich der jeweiligen Herzen zum jeweiligen Zeitpunkt herangezogen. Aus den Fünfminutenwerten der Herzen der jeweiligen Gruppe wurde jeweils ein Fünfminutenmittelwert für die gesamte Gruppe gebildet. In den ersten zehn Minuten der Blutreperfusion waren noch keine konstanten Bedingungen geschaffen, so dass diese Zeit nicht dazu genutzt werden konnte, miteinander vergleichbare Daten zu erhalten.

2.6.2 Blutbestimmungen

2.6.2.1 *Blutproben*

Zur Bestimmung der verschiedenen Blutparameter wurden während der Blutreperfusion zu fest vorgeschriebenen Zeitpunkten zeitgleich arterielle und koronare Blutproben entnommen. So konnten arteriokoronare Differenzen gebildet werden. Als Ausgangswert diente jeweils eine Probe vom angesetzten Vollblutrefusat, das nach dem im Abschnitt 2.3 beschriebenen Verfahren gewonnen wurde.

Die erste arterielle Probe wurde gleich nach Einfüllen des Perfusats im System, die erste koronare Probe eine Minute nach Beginn der Langendorff-Reperfusion. 5, 10, 15, 25, 35, 45 und 60 Minuten nach Beginn der Blutreperfusion wurden weitere arterielle und koronare Proben entnommen.

2.6.2.2 *Blutgasanalysen*

Zur Durchführung von Blutgasanalysen wurde das Gerät STAT Profile 9 Analysator der Firma nova biomedical benutzt. Es konnte innerhalb weniger Minuten folgende Werte liefern: pH, pO₂, pCO₂, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, Hämatokrit, Hämoglobingehalt, Glucose und Osmolarität. Dadurch bestand die Möglichkeit, bei Blutveränderungen

rechtzeitig einzugreifen. Bei Abweichung des pH wurde dieser über eine Änderung der CO₂-Begasung oder durch eine Natriumbikarbonatgabe korrigiert, der pO₂ und der pCO₂ über Druckminderer variiert, ein zu hoher Kaliumwert oder Hämatokrit durch die Zugabe von kaliumfreier Krebs-Henseleit-Lösung (siehe Abschnitt 2.4) reduziert .

Die Bestimmung von Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, pH und pCO₂ erfolgte mittels ionenselektiver Elektroden, bei denen die Membranen nur für ein bestimmtes Ion durchlässig waren. Dadurch entstand ein Potential, das gemessen und in einen entsprechenden Wert umgewandelt wurde. Der pO₂ wurde amperometrisch an einer Elektrodenoberfläche bestimmt, an der O₂ reduziert und der dabei entstehende Elektronenverbrauch gemessen wurde. Der Hämatokrit wurde durch eine elektrische Widerstandsmessung unter Berücksichtigung der Natriumkonzentration errechnet. Glucose wurde über eine enzymatische Reaktion bestimmt. Dabei entstand über eine Reaktion, die von der Glucoseoxidase katalysiert wurde, H₂O₂, das an einer Platinelektrode weiteroxidiert wurde. Der Elektronenfluss war proportional zur Glucosekonzentration.

2.6.2.3 *Blutbilder*

Zur Bestimmung der Leukozyten- Erythrozyten- und Thrombozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits wurde das Blut gemäß der Beschreibung in 2.6.2.1 gewonnen und in handelsübliche, in der Klinik benutzte, standardisierte 3ml – EDTA-Röhrchen der Firma Braun gegeben. Diese Proben wurden dann mit dem Gerät Sysmex K – 1000 der Firma Sysmex, einem vollautomatischen Hämatologie – Analysegerät für quantitative in vitro Diagnostik, verarbeitet. Dieses Gerät misst Leukozyten, Erythrozyten, und Thrombozyten nach dem elektrischen Widerstandsmessprinzip, das Hämoglobin nach der Cyanmethämoglobinmethode und den Hämatokrit nach der kumulativen Pulshöhensummierung.

Im Unterschied zu den anderen Blutbestimmungen wurden zu den Zeitpunkten 5, 10, 25, 35 Minuten keine Proben zur Blutbildbestimmung entnommen.

2.6.2.4 Malondialdehyd

Während der Reperfusion kommt es unter Einwirkung von Radikalen zur Peroxidation von Lipiden der Zellmembran und dadurch zur Dysfunktion der Zellmembran und letztendlich der Zelle. Malondialdehyd (MDA) ist ein relativ stabiles Endprodukt der Peroxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren und ihren Estern. Die Plasmakonzentration dieses Produktes korreliert direkt mit dem entstandenen Zellschaden. Es wurde ein kolorimetrischer Assay - Kit der Firma CALBIOCHEM® (San Diego, CA, USA) verwendet, der spezifisch MDA über eine chromogene Substratreaktion bei 586 nm quantifiziert. Dazu wurden EDTA – Blutproben entnommen, bei 2500 g zentrifugiert und 200 µl des Plasmas für den Assay verwendet.

2.6.3 Herzgewicht- und Trockengewichtbestimmungen

Das Herzgewicht wurde nach der Explantation (d.h. nach dem Einstellen der in situ-Kardioprotektion), nach dem Beenden der Kardioprotektion am Kreislaufmodell und nach dem Ende der Blutreperfusion bestimmt [g].

Um das Trockengewicht zu bestimmen, wurde nach dem Ende der Blutreperfusion jeweils ein Stück Myokard aus dem rechten und dem linken Ventrikel entnommen. Diese Stücke wurden mit einer Präzisionswaage gewogen und anschließend für eine Woche in einem Ofen bei 60°C für eine Woche getrocknet. Dann wurden sie aus dem Ofen entnommen und erneut gewogen. Der Wassergehalt wurde nach folgender Formel errechnet: $(1 - (\text{Gewicht nach dem Trocknen} / \text{Gewicht vor dem Trocknen})) / 100$ [%]. Das Trockengewicht nach folgender Formel: $(1 - ((\text{Wassergehalt rechter Ventrikel} + \text{Wassergehalt linker Ventrikel}) / 2)) \cdot \text{Herzgewicht nach dem Ende der Blutreperfusion}$.

2.6.4 Histologie und Elektronenmikroskopie

Nach dem Ende der Blutreperfusion wurden mittels einer Gewebestanze Herzmuskelbiopsien aus dem linken Ventrikel entnommen und zur weiteren elektronenmikroskopischen Aufarbeitung in mit 0,1 M Cacodylat-gepuffertem 2% Glutaraldehyd fixiert. Anschließend folgte nach Zurechtschneiden des Gewebes in Würfel mit einer Kantenlänge von 1mm eine Blockkontrastierung mit 1%

Osmiumtetroxid und gesättigtem Uranylacetat. Nach der Einbettung des Gewebes in Araldit wurden Semidünnschnitte angefertigt, mit 0,5% Toluidinblau gefärbt und lichtmikroskopisch begutachtet. Die in Abhängigkeit von der Beurteilung der Semidünnschnitte ausgewählten Ultradünnschnitte wurden mit 0,2% Bleicitrat nachkontrastiert und im Elektronenmikroskop EM10 der Firma Zeiss, Oberkochen, insbesondere unter dem Aspekt der Kontraktionsbanden und der Gefäßthromben qualitativ ausgewertet.

Das Herz wurde in 4% phosphatgepuffertem Formalin mindestens 4 Stunden fixiert und danach parallel zur Herzbasis lamelliert. Insgesamt wurden pro Herz etwa 9 transmurale Gewebeproben aus der Vorder-, Seiten- und Hinterwand des linken und rechten Ventrikels und des interventrikulären Septums entnommen und paraffiniert. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin, PAS (Perjodsäure-Schiff-Reaktion) und nach Masson-Trichrom gefärbt. Bei der histologischen Beurteilung wurde insbesondere auf Kontraktionsbanden und Gefäßthromben geachtet. Kontraktionsbanden stellen einen tetanischen Hyperkontraktionsschaden der Herzmuskelzelle dar, der sich morphologisch in Form von abschnittsweise verkürzten Sarkomeren mit an dieser Stelle wulstartiger Auftreibung der Herzmuskelzelle äußert. Kontraktionsbandschäden treten insbesondere nach postischämischer Reperfusion auf. Pathogenetisch soll ein Katecholaminüberschuß mit einem gestörten Wechselspiel zwischen Katecholaminen und Kalzium zugrunde liegen. (R. Caesar: Herz. In: W. Remmele (Hrsg.): Pathologie. Band 1 zweite neubearbeitete Auflage Springer Berlin, Heidelberg, New York, 1999: 125-126)

Zur Bewertung der Kontraktionsbanden wurde pro Gewebeblock jeweils ein nach Masson-Trichrom gefärbter Schnitt unter einem Doppelläufer - Mikroskop (Olympus BH-2, Objektiv x10) gleichzeitig von zwei Untersuchern betrachtet und hinsichtlich des Flächenanteils der Kontraktionsbänder aufweisenden Herzmuskelzellen nach folgender Skala semiquantitativ bewertet:

- 0 = keine Kontraktionsbanden
- 1 = mild = wenige Kontraktionsbanden
- 2 = moderate = feinfleckige Kontraktionsbanden

- 3 = severe = großflächige Kontraktionsbanden

Aus der Summe der Bewertungszahlen der einzelnen Schnittpräparate eines Herzens wurde der Mittelwert für jedes Herz gebildet. Von den Mittelwerten der jeweiligen Herzen einer Gruppe wurde ein Mittelwert für die gesamte Gruppe gebildet.

Die Gefäßthrombosen wurden folgendermaßen ausgewertet: Es wurden jeweils fünf PAS-gefärbte Schnittpräparate eines Herzens zufällig ausgewählt. In jedem dieser Präparate wurde in jeweils zwanzig Gesichtsfeldern unter Verwendung einer 10x Objektivvergrößerung die Anzahl der thrombosierten Gefäße bestimmt, so dass am Ende von jedem Herzen hundert Gesichtsfelder ausgezählt waren. Es wurde für jedes Herz ein Mittelwert über die Anzahl der thrombosierten Gefäße pro Gesichtsfeld gebildet. Aus den Mittelwerten für jedes Herz einer Gruppe wurde ein Mittelwert für die gesamte Gruppe errechnet.

2.6.5 Statistische Auswertung

2.6.5.1 Funktionsdaten

Bei der Auswertung der Funktionsdaten wurde die sechzigminütige Reperfusionphase in drei Abschnitte unterteilt. Die ersten zehn Minuten wurden nicht in die Auswertung aufgenommen, weil sich in der Zeit noch keine stabilen Verhältnisse eingestellt hatten. Der erste Abschnitt umfasste die Zeitspanne von 10:01 [min:s] nach Reperfusionbeginn bis 35:00 [min:s] und der zweite Abschnitt den Zeitraum von 35:01 [min:s] bis 50:00 [min:s]. Der dritte Abschnitt beinhaltete die restlichen zehn Minuten der Reperfusion.

Es wurde eine Varianzanalyse durchgeführt, in der sowohl die Gruppe als auch die Tiernummer als nominale Größen berücksichtigt wurden. Jedes Tier wurde eindeutig einer Gruppe zugeordnet (nested-effect) und zusätzlich als Random – Effekt betrachtet. Die Signifikanz der Ergebnisse wurde mit dem Test nach Wilcoxon überprüft. $P < 0,05$ wurde als Signifikanzniveau gewählt.

2.6.5.2 *Blutwerte*

Die durchgeführten Blutgasanalysen und Blutbildbestimmungen dienten eher der Überwachung und wurden deshalb statistisch nicht überprüft.

Um festzustellen, ob die Unterschiede der in den ersten 15 Minuten nach Reperfusionbeginn erhaltenen MDA–Werten signifikant sind, wurden diese Werte genau wie die Funktionsdaten mit dem Wilcoxon-Test überprüft und ab $p < 0,05$ als signifikant erachtet. Auch diese Werte wurden einer Varianzanalyse unterzogen, die genau so strukturiert war wie die der Funktionsdaten.

2.6.5.3 *Histologie*

Die erhaltenen Ergebnisse bei der Auswertung der Kontraktionsbanden und thrombosierten Gefäße wurden mittels eines einseitigen t –Tests (Anova) auf Signifikanz hin geprüft. Auch hier wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ gewählt.

3 Ergebnisse

3.1 Überblick

Alle acht Herzen der Tiere der UW - Gruppe konnten erfolgreich reperfundiert werden. In der PFC - Gruppe konnten nur fünf Herzen reperfundiert werden. Drei Herzen der PFC-Gruppe zeigten bereits während der Kardioprotektion einen Abfall und schließlich einen Abbruch des Coronarflusses. Die Blutreperfusion war nicht möglich.

3.2 Funktionsdaten

3.2.1. LVDP

Wie aus den Daten der Tabelle 8 und deren graphischer Darstellung in der Abbildung 3 zu erkennen ist, schienen die Herzen der PFC-Gruppe initial einen höheren Druck im linken Ventrikel aufbauen zu können. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0,08$). Im weiteren Verlauf näherten sich die beiden Gruppen einander an

Tabelle 8: Fünfminutenwerte des LVDP während der Blutreperfusion in der UW und PFC Gruppe

Left Ventricular Developed Pressure [mmHg]				
	<i>UW</i>		<i>PFC</i>	
Zeitpunkt	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
<i>15 min</i>	65	21,90	103	34,80
<i>20 min</i>	72	23,57	104	32,28
<i>25 min</i>	72	19,25	105	33,34
<i>30 min</i>	71	17,55	100	30,00
<i>35 min</i>	67	15,87	93	29,33
<i>40 min</i>	73	12,70	89	28,43
<i>45 min</i>	72	10,38	81	25,12
<i>50 min</i>	75	11,43	79	21,52
<i>55 min</i>	77	13,45	81	23,69
<i>60 min</i>	78	13,91	82	25,09

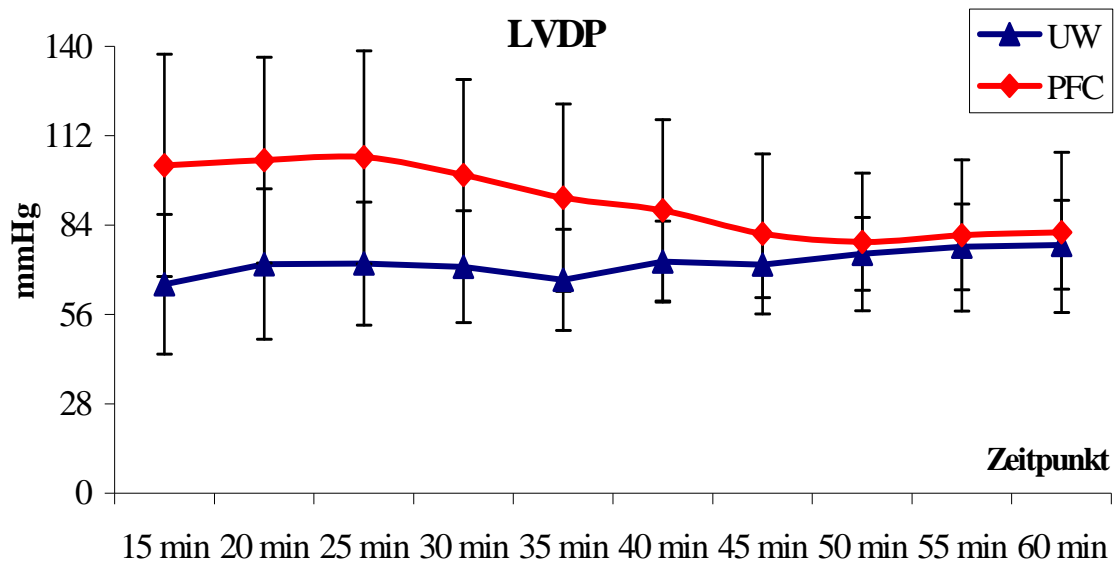


Abbildung 3: Graphische Darstellung der Entwicklung des LVDP während der Blutperfusion in der UW – und der PFC – Gruppe

3.2.2 +dP/dt

Bei der Betrachtung der Ergebnisse des maximalen Druckanstiegs (+dP/dt) in der Tabelle 9 und der Abbildung 4 sieht man ein ähnliches Bild wie beim LVDP. Zu Beginn der Blutperfusion schienen die Herzen der PFC – Gruppe besser abzuschneiden als die Herzen der UW- Gruppe. Auch hier ergab sich keine Signifikanz. Zum Ende hin näherten sich die beiden Kurven einander. Die Herzen der UW – Gruppe hielten sich während der gesamten Reperfusion auf relativ konstantem Niveau, während sich die Herzen der PFC–Gruppe nach einem dem Anschein nach besseren Beginn im weiteren Verlauf den Herzen der UW – Gruppe annäherten.

Tabelle 9: Fünfminutenwerte des +dP/dt in der UW während der Blutreperfusion und PFC Gruppe

+ dP / dt [mmHg/s]				
	<i>UW</i>		<i>PFC</i>	
Zeitpunkt	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
<i>15 min</i>	788	355	1128	438
<i>20 min</i>	836	343	1182	371
<i>25 min</i>	853	291	1154	427
<i>30 min</i>	865	303	1128	408
<i>35 min</i>	876	346	1048	417
<i>40 min</i>	938	368	1009	408
<i>45 min</i>	924	325	951	394
<i>50 min</i>	982	343	923	349
<i>55 min</i>	1054	362	956	354
<i>60 min</i>	1029	292	969	335

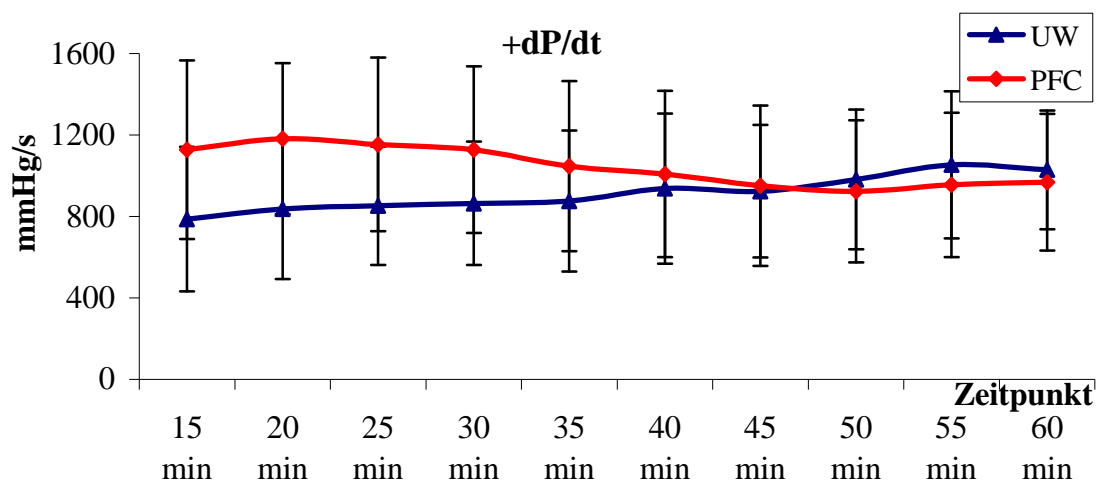


Abbildung 4: Graphische Darstellung der Entwicklung des +dP/dt während der Blutreperfusion in der UW – und der PFC – Gruppe

3.2.3 -dP/dt

Auch die Werte des maximalen Druckabfalls (-dp/dt) verhielten sich ähnlich wie die in den letzten beiden Abschnitten beschriebenen Größen. Wenn man sich die Tabelle 10 und die Abbildung 5 ansieht, erkennt man auch hier initial eine bessere Funktion der Herzen der PFC – Gruppe, wobei jedoch das geforderte Signifikanzniveau nicht erreicht wurde. Die Herzen der UW – Gruppe zeigten eine

gewisse Konstanz im Zeitverlauf, während die der PFC – Gruppe das zu Beginn hohe Niveau nicht halten konnten.

Tabelle 10: Fünfminutenwerte des $-dP/dt$ während der Blutperfusion in der UW und PFC Gruppe

- dP / dt [mmHg/s]				
	<i>UW</i>		<i>PFC</i>	
Zeitpunkt	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
<i>15 min</i>	614	262,34	836	191,61
<i>20 min</i>	640	289,22	903	157,57
<i>25 min</i>	641	247,52	880	214,13
<i>30 min</i>	623	250,36	840	238,68
<i>35 min</i>	589	222,15	797	274,37
<i>40 min</i>	616	245,00	788	301,02
<i>45 min</i>	611	223,02	706	307,80
<i>50 min</i>	634	210,20	685	242,16
<i>55 min</i>	659	201,19	682	236,05
<i>60 min</i>	651	200,48	724	251,26

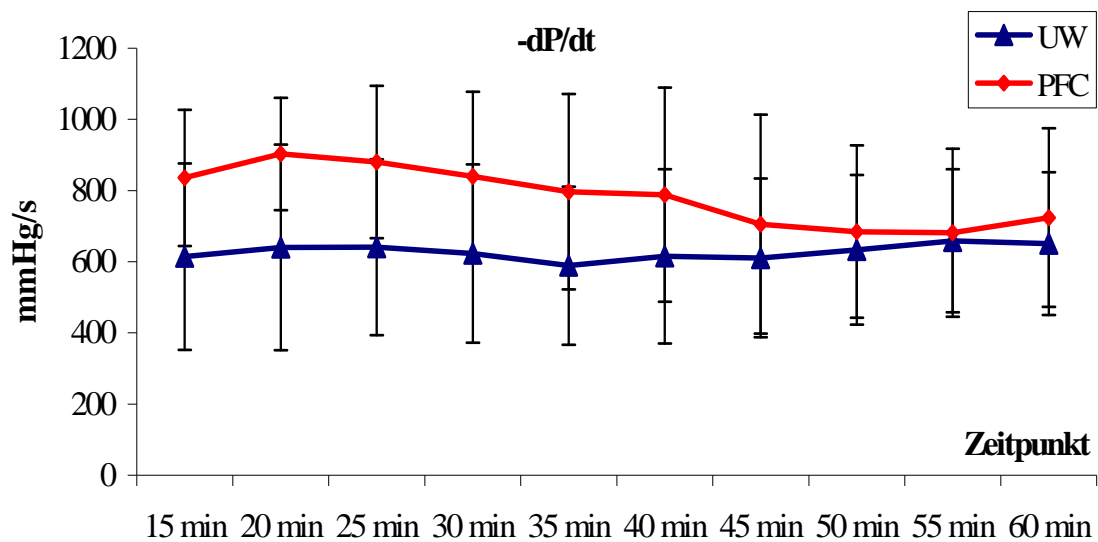


Abbildung 5: Graphische Darstellung der Entwicklung des $-dP/dt$ während der Blutperfusion in der UW – und der PFC – Gruppe

3.2.4 CF

Beim Auswerten des Coronarflusses wurde dieser auf das Trockengewicht der einzelnen Herzen bezogen. Es war deutlich zu sehen, dass die Herzen der PFC – Gruppe einen deutlich niedrigeren Fluss aufwiesen als die Herzen der UW- Gruppe. Dies war auch statistisch signifikant. Lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch wurde versucht hierfür eine Erklärung zu finden.

Tabelle 11: Fünfminutenwerte des Koronarflusses bezogen auf das Trockengewicht in der UW und PFC Gruppe während der Blutperfusion

Coronar Flow [ml/min/g dry weight]				
	<i>UW</i>		<i>PFC</i>	
Zeit	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
<i>15 min</i>	6,892	2,044	4,259	1,541
<i>20 min</i>	7,104	2,133	4,740	0,882
<i>25 min</i>	7,609	2,430	4,994	0,864
<i>30 min</i>	8,041	2,578	4,789	1,013
<i>35 min</i>	8,360	2,640	4,519	0,915
<i>40 min</i>	8,566	2,989	4,228	0,688
<i>45 min</i>	8,861	3,368	4,039	0,727
<i>50 min</i>	9,361	3,588	4,432	0,908
<i>55 min</i>	9,740	3,272	5,333	1,562
<i>60 min</i>	11,088	3,667	6,233	2,243

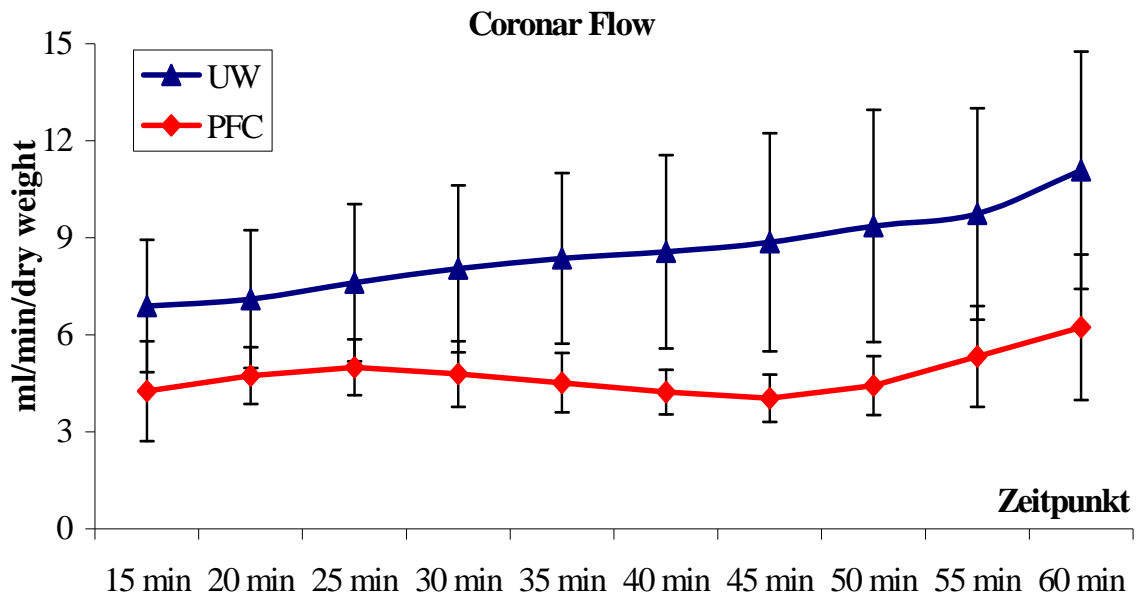


Abbildung 6: Graphische Darstellung der Entwicklung des Koronarflusses bezogen auf das Trockengewicht in der UW – und der PFC – Gruppe während der Blutreperfusion

3.3 Blutbestimmungen

3.3.1 Malondialdehyd

Bei der Auswertung der Malondialdehydwerte als Marker des durch Sauerstoffradikale entstandenen Zellschadens ist deutlich zu erkennen (Tabelle 13 und Abbildung 7), dass in den ersten fünfzehn Minuten der Reperfusion in den Herzen der UW – Gruppe deutlich höhere arteriokoronare Differenzen als in den Herzen der PFC- Gruppe erreicht wurden. Diese Ergebnisse waren statistisch hoch signifikant. Im weiteren zeitlichen Verlauf glichen sich die Werte zwischen den Gruppen an.

Tabelle 13: Arteriokoronare Differenzen bei der Bestimmung von Malondialdehyd zu bestimmten Zeitpunkten während der Blutperfusion in der UW – und in der PFC – Gruppe gemessen in $\mu\text{mol/l}$

arteriokoronare Differenzen bei der Bestimmung von MDA [$\mu\text{mol/l}$]				
	<i>UW</i>		<i>PFC</i>	
Zeitpunkt	Mittelwert	Standardabw.	Mittelwert	Standardabw.
<i>1 min</i>	6,27	2,27	0,21	0,24
<i>5 min</i>	4,10	1,26	0,12	0,12
<i>10 min</i>	1,35	0,76	0,21	0,08
<i>15 min</i>	0,59	0,28	0,14	0,07
<i>25 min</i>	0,36	0,32	0,20	0,12
<i>35 min</i>	0,32	0,30	0,27	0,16
<i>45 min</i>	0,20	0,23	0,16	0,21
<i>60 min</i>	0,15	0,14	0,21	0,16

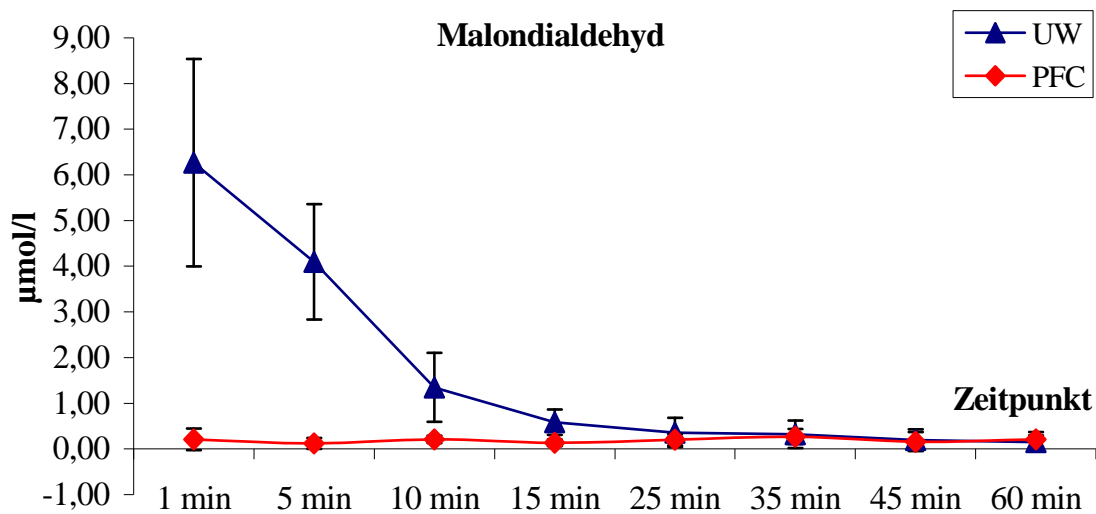


Abbildung 7: Graphische Darstellung der Entwicklung der arteriokoronaren Differenzen der Malondialdehydkonzentration zu verschiedenen Zeitpunkten der Blutperfusion

3.4 Histologie

3.4.1 Kontraktionsbanden

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung in Bezug auf den Kontraktionsbandschaden kann man keinen signifikanten Unterschied zwischen den reperfundierten Herzen der UW- und der PFC-Gruppe erkennen. Die Herzen der PFC-Gruppe, die nicht reperfundiert wurden bzw. reperfundiert werden konnten, zeigen eine signifikant bessere Bewertung.

Tabelle 14: Darstellung der durchschnittlichen Bewertung der verschiedenen Versuche in Bezug auf Kontraktionsbanden unter besonderer Hervorhebung der Mittelwerte und der Standardabweichungen bezogen auf die jeweilige Gruppe

Kontraktionsbanden			
	<i>UW</i>	<i>PFC reperfundiert</i>	<i>PFC nicht reperfundiert</i>
Versuch Nr.	Durchschnittsnote	Durchschnittsnote	Durchschnittsnote
<i>1</i>	1,00	1,94	0,06
<i>2</i>	0,78	1,00	0,56
<i>3</i>	0,61	2,00	0,56
<i>4</i>	1,06	0,89	
<i>5</i>	2,06	0,61	
<i>6</i>	0,72		
<i>7</i>	1,67		
<i>8</i>	1,89		
Mittelwert	1,22	1,29	0,39
Standardabw.	0,56	0,64	0,29

Kontraktionsbanden

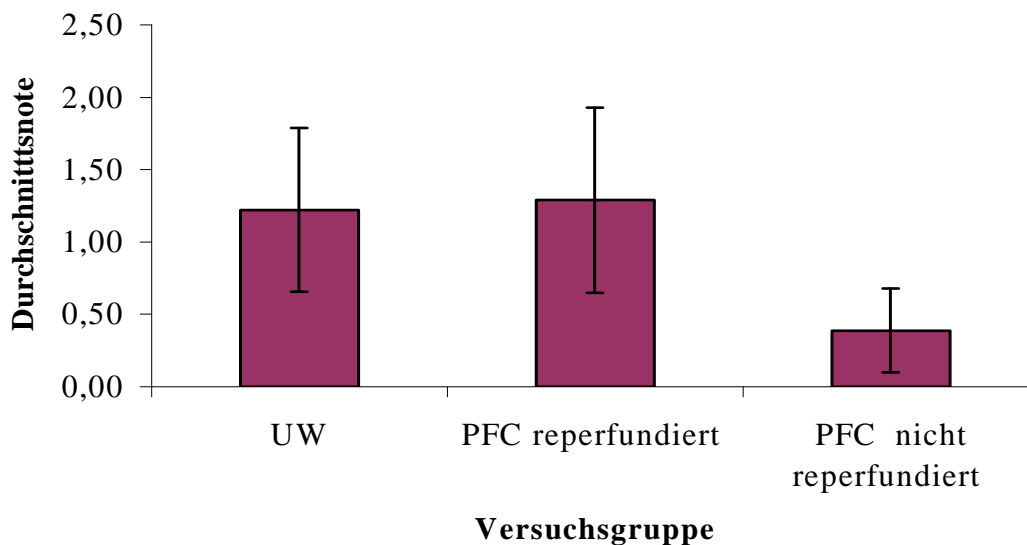


Abbildung 8: Graphische Darstellung der Mittelwerte und deren Standardabweichung der Bewertung der Kontraktionsbanden in der jeweiligen Versuchsgruppe

3.4.2 Thrombosierte Gefäße

Bei der Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die Anzahl der thrombosierte Gefäße gab es bei den erfolgreich mit Blut reperfundierten Herzen der UW- und PFC-Gruppe keine signifikanten Unterschiede. Bei den Herzen der PFC – Gruppe, die nicht mit Blut reperfundiert wurden, fanden sich deutlich mehr thrombosierte Koronararterienäste als in den beiden anderen Gruppen (statistisch hochsignifikant). Die Koronararterienhauptäste waren unauffällig. In der Tabelle 15 und der Abbildung 9 wird dies zahlenmäßig und graphisch dargestellt.

Tabelle 15: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl thrombosierter Gefäße pro Gesichtsfeld nach Auszählung von insgesamt fünfhundert Gesichtsfeldern pro Versuch (fünf Präparate je hundert Gesichtsfelder je Versuch) unter besonderer Hervorhebung der Mittelwerte und der Standardabweichungen bezogen auf die jeweilige Gruppe

Thrombosierte Gefäße			
	<i>UW</i>	<i>PFC reperfundiert</i>	<i>PFC nicht reperfundiert</i>
Versuch Nr.	Durchschnitt der Anzahl thrombosierter Gefäße pro Gesichtsfeld		
<i>1</i>	0,00	0,06	2,46
<i>2</i>	0,10	0,05	1,47
<i>3</i>	0,14	0,15	3,30
<i>4</i>	0,11	0,13	
<i>5</i>	0,02	0,02	
<i>6</i>	0,15		
<i>7</i>	0,08		
<i>8</i>	0,15		
Mittelwert	0,09	0,08	2,41
Standardabw.	0,06	0,06	0,92

Thrombosierte Gefäße

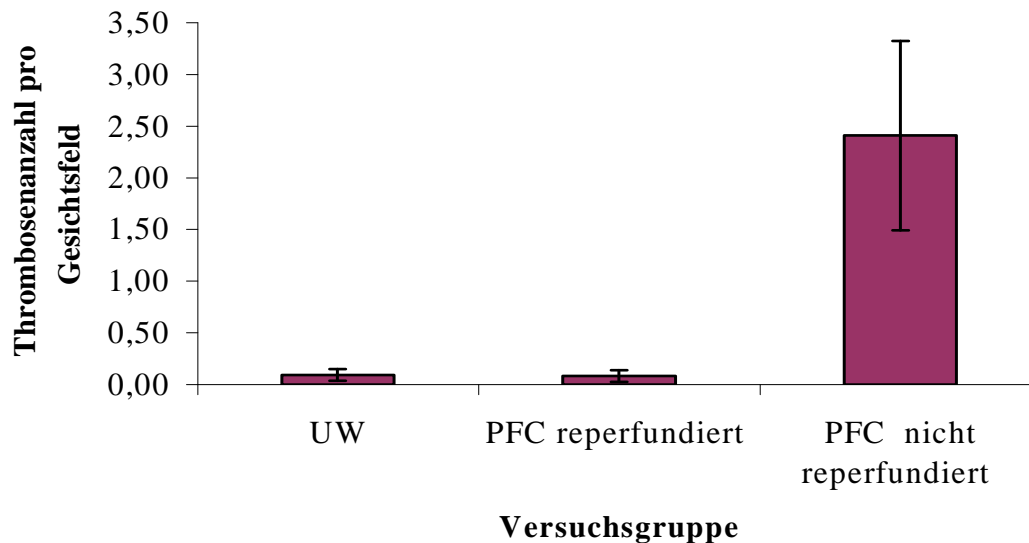


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Mittelwerte und deren Standardabweichung der Anzahl thrombosierter Gefäße pro Gesichtsfeld bezogen auf die jeweilige Versuchsgruppe

3.4.3 Elektronenmikroskopie

Elektronenmikroskopisch konnte der Kontraktionsbandschaden bestätigt werden. Die in den nicht reperfundierten Herzen der PFC-Gruppe bereits lichtmikroskopisch nachgewiesenen, in unterschiedlich großen Koronararterienästen und Kapillaren gelegenen Thromben stellten sich auch elektronenmikroskopisch dar und waren aus elektronendichtem Material mit dazwischen gelegenen, etwa 500 nm großen Vakuolen aufgebaut (siehe Abbildung 10). Das elektronendichte Material könnte aus Fibrin oder Hydroxyethylstärke bestehen. Die Vakuolen könnten bei der Einbettung herausgelöstes Perfluorcarbone darstellen.

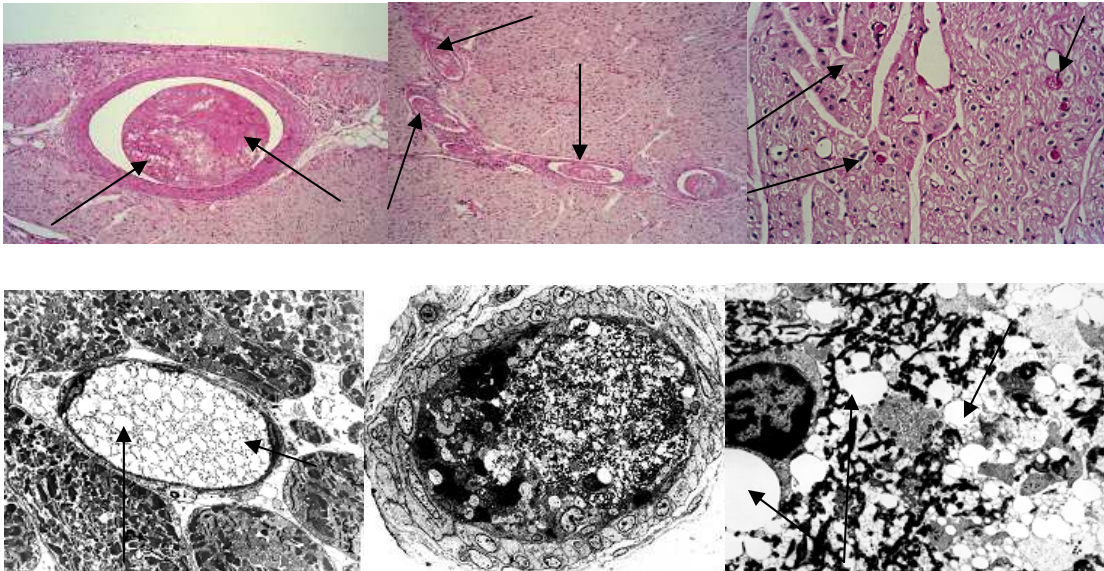


Abbildung 10: Koronararterienäste und Kapillaren mit thrombusartigem Verschluss bei Schweineherzen nach Perfusion mit Perfluorcarbon - Emulsion

Obere Reihe: PAS-positives fibrinartiges Material in unterschiedlich großen Koronararterienästen und Kapillaren (Lichtmikroskopie)

Untere Reihe: Elektronendichtes, fibrinartiges Material und an herausgelöste Fetttropfen (Perfluorcarbonelösung) erinnernde Hohlraumstrukturen (Elektronenmikroskopie).

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methodik

4.1.1 Das Schwein als Versuchstier

Aufgrund der anatomischen (84) und funktionellen (85) Ähnlichkeit des Schweineherzens mit dem menschlichen, ist es für solche Fragestellungen ein sehr geeignetes Objekt. Es besteht eine große Sensibilität gegenüber Ischämieschäden (31). Als Unterschied ist die direkte Einmündung der Vena azygos sinistra in den Coronarsinus anzumerken (64).

4.1.2 Kontinuierliche in situ Kardioprotektion

Um eine rasche und ausreichende Kühlung und damit gute Organprotektion zu erreichen, müssen einerseits über einen geeigneten Zugangsweg die gewünschten Gefäße einfach erreichbar sein und andererseits braucht man Katheter, die gewisse Voraussetzungen erfüllen müssen.

Als Zugangsweg wählten wir die Halsgefäße, da diese beim Ferkel besonders gut auch perkutan darzustellen sind. Im Gegensatz zum Menschen sind die Femoralisgefäße beim Ferkel aufgrund der Anatomie als Zugangsweg eher ungeeignet. Bei einem möglichen Übertrag dieser Methode auf den Menschen würden sich die Femoralisgefäße anbieten. Studien (7; 34; 44) haben bereits gezeigt, dass durch eine rasche Applikation von speziell entwickelten Kathetern eine gute Perfusion von Nieren in situ möglich ist.

Die Kontrolle der korrekten Platzierung erfolgte in dieser Studie manuell am eröffneten Thorax, der dann für die in situ Protektion durch grobe Nähte verschlossen wurde. In einer der folgenden Entwicklungsphasen im Hinblick auf die klinische Übertragbarkeit sollte die Platzierung unter sonographischer (transhorakal /transoesophageal) oder radiologischer Kontrolle erfolgen.

An die Katheter wurden folgende Ansprüche gestellt. Um einen maximalen Fluss zu ermöglichen wird das Verhältnis von Innen- zu Außendurchmesser möglichst groß gewählt. Sie sollten ausreichend flexibel sein um einfach optimal platziert werden zu können und gleichzeitig noch eine gewisse Steifigkeit gegen Torsion und Druck

besitzen (51). Zu diesem Zwecke entwickelte speziell für unsere Studie die Firma Jostra geeignete Kathetersets.

4.1.3 Kardioprotektionslösungen

4.1.3.1 *University of Wisconsin vs. Perfluorocarbone*

Bei der Entwicklung der University of Wisconsin Lösung als Organprotektionslösung wurde eine intrazelluläre Elektrolytzusammensetzung gewählt. Das enthaltene Magnesium soll als Calciumantagonist die Stoffwechselrate senken. Zur Vermeidung der kälteinduzierten Zellschwellung wurde Lactobionat und Raffinose eingesetzt. Die Ausdehnung des interstitiellen Ödems soll durch die kolloidosmotische Hydroxaethylstärke verhindert werden, ein Phosphatpuffer dient zur Verhinderung der Azidose und Adenosin soll als Substrat zur ATP – Synthese fungieren. Allopurinol und Glutathion sollen die Bildung von Sauerstoffradikalen verhindern. (10;11; 75; 78; 86)

Perfluorocarbone stellen als künstliche Sauerstoffträger ursprünglich als Blutersatzmittel entwickelt wurden (26; 61) eine Substanzklasse dar, durch die man sich erhofft durch das ermöglichte Sauerstoffangebot am zu protektionierenden Gewebe positive Effekte in dessen Funktion nach der Reperfusion zu erreichen (59). Der größte Vorteil im Vergleich zu den kristalloiden Lösungen besteht darin, dass durch die Partikeleigenschaft Sauerstoff zu transportieren und im Gewebe als Energiesubstrat abzugeben ein aerober Stoffwechsel während der Protektionsphase ermöglicht wird (25; 26; 68). Im Vergleich zu Blut wird durch die Abwesenheit zellularer Elemente und Plasmabestandteile der Einfluss endogener Substanzen, die eine immunologische Reaktion begünstigen würden, eliminiert. Die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und die Abgabe zellschädigender lysosomaler Enzyme und toxischer Sauerstoffradikale wird unterbunden(27; 36; 43; 45; 69; 83). Die Schwierigkeit in dieser Substanzgruppe besteht jedoch darin, für den Einsatz im Blutgefäßsystem geeignete Emulsionen zu erstellen. (76)

4.1.4 Langendorff- Modell

Schon seit der Jahrhundertwende wird das Langendorffsche Modell (55) zur Untersuchung mechanischer und physiologischer Parameter am schlagenden

Herzen von Warmblütern angewendet. Durch die Weiterentwicklung in den Folgejahren gehört es nun zu den wissenschaftlich international anerkannten Untersuchungsmethoden wenn es um die Erfassung von Kurzzeitergebnissen geht. (40;46). Einschränkend ist zu sagen, dass durch diese Methode keine Aussage hinsichtlich der Langzeiteffekte am Herzen zu machen sind.

4.1.5 Blut als Reperfusat

Grundsätzlich ist es möglich Herzen auch mit salinen Lösungen zu reperfundieren. (53). Ihr Vorteil besteht darin, dass keine unkontrollierten endogenen Substanzen enthalten sind, die die Herzfunktion beeinflussen können. Von den meisten Forschungsgruppen wird jedoch Blut als Reperfusat bevorzugt, da es als physiologischer und geeigneter für die Erfassung von Ischämie-Reperfusionsschaden erachtet wird (39; 82)

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Um die Qualität der Organprotektion beurteilen zu können wurden Messungen hinsichtlich funktioneller Parameter durchgeführt, sowie biochemische und histopathologische Faktoren untersucht.

4.2.1 Funktionsdaten

4.2.1.1 LVDP, $+dP/dt$, $-dP/dt$

Der linksventrikular entwickelte Druck (LVDP) dient zur Beurteilung der postischämischen Kontraktionskraft der Herzen. Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit ($+dP/dt$) (43) und die maximale Relaxationszeit ($-dP/dt$) (4) dienen zur Abschätzung der Kontraktilität. $+dP/dt$ entspricht der Kraft-Geschwindigkeitsrelation der Einzelfasern, während $-dp/dt$ einen Marker für Störungen in der Erschlaffungsphase darstellt, die auf eine beeinträchtigte Elimination von Kalzium aus dem Myoplasma zurückzuführen ist. Durch Hypoxie und Ischämie in Zusammenhang mit ATP- Mangel und intrazellulärer Kalziumakkumulation ist die Relaxation gestört, was sich im $-dP/dt$ frühzeitig vor allen anderen Parametern widerspiegelt.

In dieser Studie konnten wir sehen, dass die Herzen der PFC- Gruppe im Vergleich zur UW- Gruppe während der Reperfusion initial tendenziell besser abschnitten ohne jedoch das geforderte Signifikanzniveau zu erreichen, um sich im weiteren Verlauf anzugleichen. Dies lässt zumindest die Vermutung zu, dass durch die Organprotektion mittels der oxygenierten Perfluorocarbone - Emulsion ein positiver Effekt in der initialen Phase der Blureperfusion zu erreichen ist. Ähnliche positive Effekte auf die Funktionsparameter des Herzens nach Protektion mit Perfluorocarbone werden auch von anderen Studiengruppen berichtet (12; 37; 59; 62).

4.2.1.2 Coronarfluss

In vielen Studien, in denen, die sich mit dem Reperfusionsschaden befassen, kommt es nach Beendigung der Ischämie nicht mehr zur vollständigen Durchblutung im ischämischen Bereich. Nach initialer reaktiver Hyperämie kam es im weiteren Verlauf zum Absinken des Coronarflusses (60). Störungen auf mikrovaskulärer Ebene (3) wurden hierfür ursächlich angenommen.

In dieser Studie wiesen die Herzen der PFC – Gruppe einen statistisch signifikant niedrigeren Coronarfluss auf, was durch die Annahme einer vermehrte Ablagerung von Perfluorocarbonpartikeln an den Wänden vor allem der kleinen Gefäße erklärt werden könnte. Eine Ursache hierfür könnte in der Zusammensetzung der Perfluorocarbone - Emulsion gesucht werden. International wird rege Forschung in der Entwicklung einer optimalen Emulsionszusammensetzung betrieben (32; 76)

4.2.2 Blutbestimmungen

4.2.2.1 Malondialdehyd

Sauerstoffradikale gelten als Mitursache für den Ischämie-Reperfusionsschaden (2; 14). So führt die Einwirkung von Radikalen während der Reperfusion unter anderem zur Peroxidation von Zellmembranlipiden, was über eine Schädigung der Membran zur Zelldysfunktion führt. Malondialdehyd ist ein relativ stabiles Endprodukt der Peroxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren und ihren Estern. Die Plasmakonzentration dieses Produktes korreliert direkt mit der erfolgten

Lipidperoxidation und ist somit ein direktes Maß für den dadurch entstandenen Zellschaden (28).

Es ist beschrieben, dass der Zellschaden, der durch Sauerstoffradikale entsteht in den ersten 60 Sekunden nach Beginn der Reperfusion am höchsten ist (13). Dieses Erkenntnis stimmt mit unserer Beobachtung überein, dass die höchste MDA-Konzentration eine Minute nach der Reperfusion in der UW – Gruppe gemessen wurde, die im weiteren Verlauf weiter absinkt. In der PFC- Gruppe wurde in den ersten 60 Sekunden eine hochsignifikant niedrigere Konzentration gemessen, die sich im weiteren Verlauf auf demselben Niveau, wie die der UW-Gruppe bewegt. Daraus kann angenommen werden, dass die Perfluorcarbone einen höheren Schutz gegen den durch Sauerstoffradikale direkt nach der Reperfusion entstandenen Zellschaden bieten ein Phänomen, das auch in der Literatur mehrfach beschrieben wird (59; 62; 81).

4.2.3 Histopathologie

4.2.3.1 Kontraktionsbanden

Kontraktionsbanden sind Aggregate von eosinophilen, hyperkontrahierten Sarkomeren, die bei der Reperfusion eines über eine längere Zeit ischämischen Myokardareals entstehen (56). Im Gegensatz zur typischen Koagulationsnekrose treten Kontraktionsbanden schon wenige Minuten nach Reperfusion auf (9) und scheinen das morphologische Korrelat der massiven intrazellulären Kalziumakkumulation zu sein (33; 50).

Hinsichtlich der Kontraktionsbanden zeigten die Herzen der beiden Gruppen, die erfolgreich reperfundiert wurden, keinen signifikanten Unterschied untereinander. Die Herzen, der PFC – Gruppe, die nicht erfolgreich reperfundiert wurden, zeigten eine deutlich bessere Bewertung. Das unterstreicht den Wert der Kontraktionsbanden als Marker für postischämischen Reperfusionsschäden.

4.2.3.2 *Thrombosen*

Die Herzen der PFC- Gruppe, die nicht erfolgreich reperfundiert wurden, zeigen eine hochsignifikant erhöhte Anzahl thrombosierter Gefäße im Vergleich zu den Herzen beider Gruppen, die erfolgreich reperfundiert wurden. Das erklärt auch warum, der Coronarfluss bereits während der Kardioprotektion kontinuierlich sank und schließlich sistierte und somit auch die erfolgreiche Blutperfusion unmöglich wurde. Die Herzen der UW – Gruppe und der PFC – Gruppe, die erfolgreich reperfundiert wurden weisen keinen Unterschied hinsichtlich der Anzahl der thrombosierten Gefäße. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der thrombosierten Gefäße an den nicht erfolgreich reperfundierten Herzen der PFC-Gruppe deuten daraufhin, dass das thrombotische Material von der Perfluorocarbone - Emulsion stammen könnte. Eine Erklärung, warum in den Gefäßen mancher Herzen durch die in allen Versuchen in ihrer Zusammensetzung identische Perfluorocarbone - Emulsion Thrombosen entstanden, mit dem Resultat der gesamten Funktionseinbuße und in anderen nicht, konnte in dieser Studie nicht gefunden werden.

Bei der Betrachtung der internationalen Literatur fällt auf, dass bei der Suche nach geeigneten Komponenten für Perfluorocarbone - Emulsionen gesehen wurde, dass diese sich hinsichtlich ihres Löslichkeitsverhaltens bei verschiedenen Temperaturen unterschiedlich verhalten, was je nach Anwendungsgebiet zu Vor- oder Nachteilen führt (35). Komponenten mit niedrigem Kondensationsdruck (hoher Flüchtigkeit), bilden intravaskulär und intraalveolär Gasbläschen, die zur Embolisation und damit zu Gewebeschäden führen können. (15; 73). Diese Erkenntnisse sind hilfreich bei der weiteren Forschung nach dem für das jeweilige Anwendungsgebiet optimalen Perfluorocarbone - Emulsion.

4.3 Schlussfolgerung

Nach eingehender Analysierung der gewonnenen Erkenntnisse aus dieser Studie kann der Schluss gezogen werden, dass die Perfluorocarbone grundsätzlich dafür geeignet sind als Kardioprotektionslösung in dem hier angewendeten in situ Protektionsverfahren eingesetzt zu werden. Eine standardisierte Emulsion mit

konstantem Flussverhalten müsste jedoch noch vorzugsweise in industrieller Form hergestellt werden.

Beim Vergleich der Perfluorocarbone mit der University of Wisconsin Lösung, was das Verhalten der Herzen nach dem Ende der Kardioprotektion bei der Blutreperfusion im standardisierten Kreislaufmodell angeht, konnten Tendenzen erkannt werden, dass die mit Perfluorocarbone protektionierten Herzen in der Anfangsphase der Blutreperfusion gewisse Vorteile hinsichtlich ihrer mechanischen Funktion, aufweisen könnten, jedoch deutliche Nachteile in Bezug auf den Coronarfluss.. Was die Bildung von Sauerstoffradikalen unmittelbar nach Beginn der Blutreperfusion angeht, konnten die Vorteile bei den Herzen der PFC Gruppe statistisch hochsignifikant nachgewiesen werden. Aussagen über Langzeitergebnisse können in dieser Studie aufgrund der gewählten Methodik nicht getroffen werden.

5 Zusammenfassung

5.1 Problemstellung und Zielsetzung

Eines der größten Probleme der modernen Transplantationsmedizin stellt die Organknappheit dar. Es gibt sehr viele verschiedene Ursachen hierfür, jedoch nur wenige Punkte an denen angesetzt werden kann, um die Anzahl zur Verfügung stehenden Organe zu erhöhen.

Einer davon ist die Erweiterung des Spenderpools um die so genannten marginalen und kreislauftoten Spender. Dabei handelt es sich um Spender, deren Organe nach Eintritt des Kreislaufstillstandes entnommen werden. Dabei kann der Kreislaufstillstand als alleiniges oder gemeinsam mit dem Hirntod als Todeskriterium genommen werden. Durch die Entwicklung geeigneter Protektionsverfahren könnten Organe, die aus solchen Spendern stammen für Transplantationszwecke genutzt werden. Im Bereich der Nierentransplantation wird dies bereits durchgeführt, für die Herztransplantation ist das noch nicht der Fall.

Neben dem Protektionsverfahren bieten auch die Organprotektionslösungen einen interessanten Ansatzpunkt, wenn es darum geht, die Organe so zu erhalten, dass sie ihre Funktion in einem möglichst optimalen Zustand wiederaufnehmen können. Es stehen zahlreiche kristalloide Lösungen zur Verfügung. Lösungen in denen künstliche Sauerstoffträger enthalten sind, wie die Perfluorocarbone, könnten eine Weiterentwicklung darstellen.

Ziel dieser Studie war es in einem tierexperimentellem Modell zu erforschen, ob Perfluorocarbone als Kardioprotektionslösung in einem in situ Protektionsverfahren für Herzen für Transplantationszwecke geeignet sind und wie sich Herzen, die in einem solchen Verfahren mit einer Perfluorocarbone – Emulsion protektioniert wurden im Vergleich zu Herzen die mit demselben Verfahren, aber mit der University of Wisconsin Lösung als Protetektionslösung behandelt wurden in einem standardisiertem Kreislaufmodell nach der Blutreperfusion verhalten.

5.2 Methodik

In dieser Studie wurden 16 Ferkel in zwei Gruppen aufgeteilt. Allen Ferkeln wurden die Herzen über perkutan gelegte Katheter, die speziell zu diesem Zweck entwickelt worden sind, in einem in situ Konservierungsverfahren kontinuierlich über 60 Minuten mit Kardioprotektionslösung perfundiert. In der UW Gruppe wurde die University of Wisconsin Lösung als Kardioprotektionslösung genutzt, in der PFC Gruppe eine speziell für diese Fragestellung hergestellte Perfluorocarbone – Emulsion. Nach der Explantation wurden die Herzen nach entsprechender Präparation kontinuierlich ,ex situ, an dem für unsere Arbeitsgruppe konzipierten Kreislaufmodell mit der jeweiligen Kardioprotektionslösung perfundiert, so dass sich eine Gesamtdardioprotektionsdauer von 2,5 Stunden ergab. Anschließend wurden alle Herzen im bereits vorgenannten Kreislaufmodell im Langendorff – Modus mit Blut über 60 min reperfundiert. Dabei konnten kontinuierlich der linksventrikulär entwickelte Druck und dessen Ableitungen (+dP/dt, -dP/dt) und der Coronarfluss gemessen werden und die Werte mit einem Rechnerprogramm erfasst und gespeichert werden. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden Blut (arteriell und koronar) und Gewebeproben zu Untersuchungszwecken entnommen.

5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerung

In der UW Gruppe konnten alle acht Herzen der dazugehörigen Gruppe erfolgreich mit Blut reperfundiert werden, in der PFC Gruppe fünf von acht. Als Ursache hierfür fand sich histologisch eine massive Thrombosierung der großen und kleinen Gefäße dieser drei Herzen, die eine Blutreperfusion unmöglich machte, was makroskopisch am Sistieren des Koronarflusses ersichtlich wurde. Eine genaue Ursache über die auslösenden Faktoren und den Mechanismus der Thrombusentstehung konnte in dieser Studie nicht gefunden werden.

Beim Vergleich der erfolgreich blutreperfundierten Herzen beider Gruppen untereinander, konnte man Tendenzen erkennen, bei denen die mit Perfluorocarbone protektionierten Herzen in den ersten Zeitabschnitten der Blutreperfusion besser abschnitten was die mechanischen Parameter anging, ohne jedoch das hierfür geforderte Signifikanzniveau zu erreichen, um sich im weiteren Versuchsablauf wieder anzugleichen. Der Koronarfluss war bei den Herzen der

PFC Gruppe signifikant niedriger als bei den Herzen der UW Gruppe. Die Bildung von Sauerstoffradikalen war in der PFC Gruppe zu Beginn der Reperfusion hochsignifikant geringer als in der UW Gruppe.

In Anbetracht dieser Ergebnisse kann man sagen, dass das hier angewandte Protektionsverfahren durchaus für die Konservierung von Herzen für Transplantationszwecke geeignet ist. Perfluorocarbene-Emulsionen in ihrer Eigenschaft als künstliche Sauerstoffträger könnten als Protektionslösungen vorteilhafte Effekte aufweisen. Voraussetzung jedoch für einen weiteren Einsatz wäre die Erforschung der thrombogenen Mechanismen und deren erfolgreiche Bekämpfung und somit die Schaffung von Voraussetzungen für die industrielle Fertigung dieser Emulsionen.

5.4 Ausblick

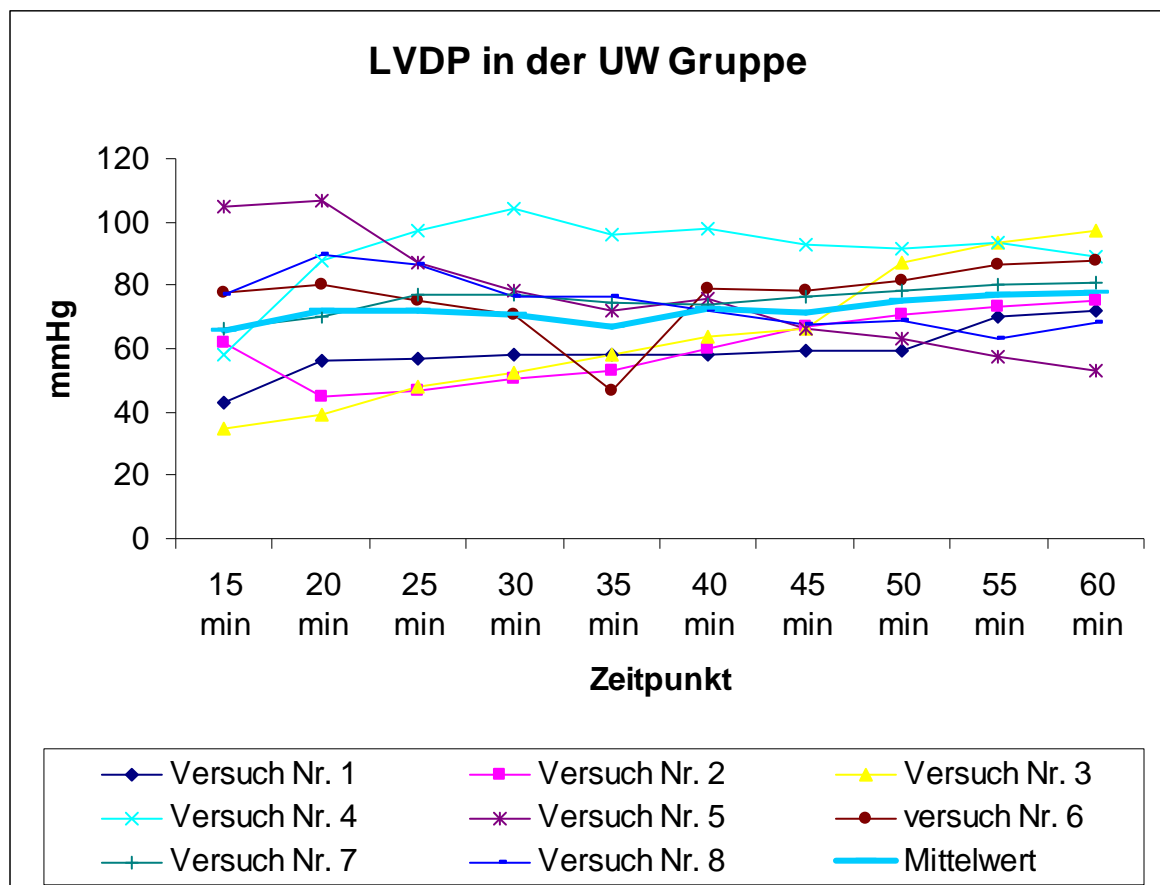
Durch die Entwicklung von beim Menschen anwendbaren Kathetersystemen könnte dieses Verfahren zu einem späteren Zeitpunkt auch beim Menschen übertragen werden, was zu einer Erweiterung des Spendepools auf Patienten der Maastricht Kategorien III und IV führen könnte. Das sind Patienten, die sich im Krankenhaus befinden und als hirntot erklärt wurden und bei denen der Herzstillstand unter kontrollierten Bedingungen eintritt (Kategorie IV), und Patienten, die noch nicht hirntot sind, aber bei denen aufgrund der infausten Prognose, in Absprache mit den Angehörigen, die lebenserhaltenden Maßnahmen abgebrochen werden und somit der Herzstillstand wiederum unter kontrollierten Bedingungen eintritt (Kategorie III). Bei einer Weiterentwicklung des Verfahrens könnten dann auch Patienten bei denen eine Reanimation erfolglos blieb (Maastricht Kategorie II) als potentielle Spender in Betracht gezogen werden.

In weiteren Studien müssten die Eigenschaften der Perfluorocarbene – Emulsionen genauer analysiert werden und deren thrombogenes Potential ausgeschaltet werden. Das würde ihren Weg zu einem klinischen Einsatz für diese Indikation ebnen. Dann könnten sie in Kombination mit einem in situ Konservierungsverfahren dazu beitragen nicht nur mehr Organe für Transplantationszwecke zu erhalten, sondern auch die Qualität der Protektion zu steigern.

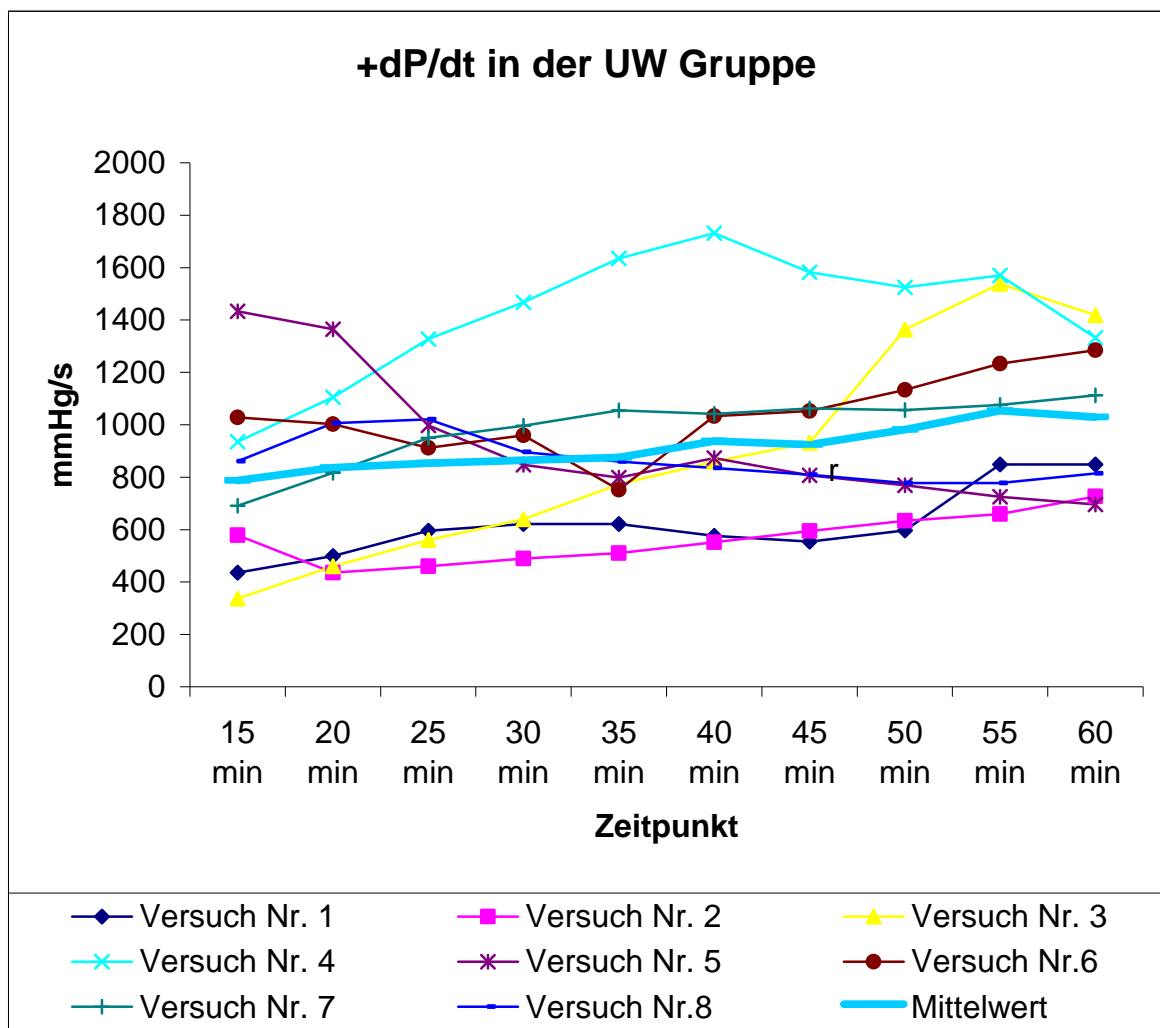
6 Anhang

6.1 Funktionsdaten

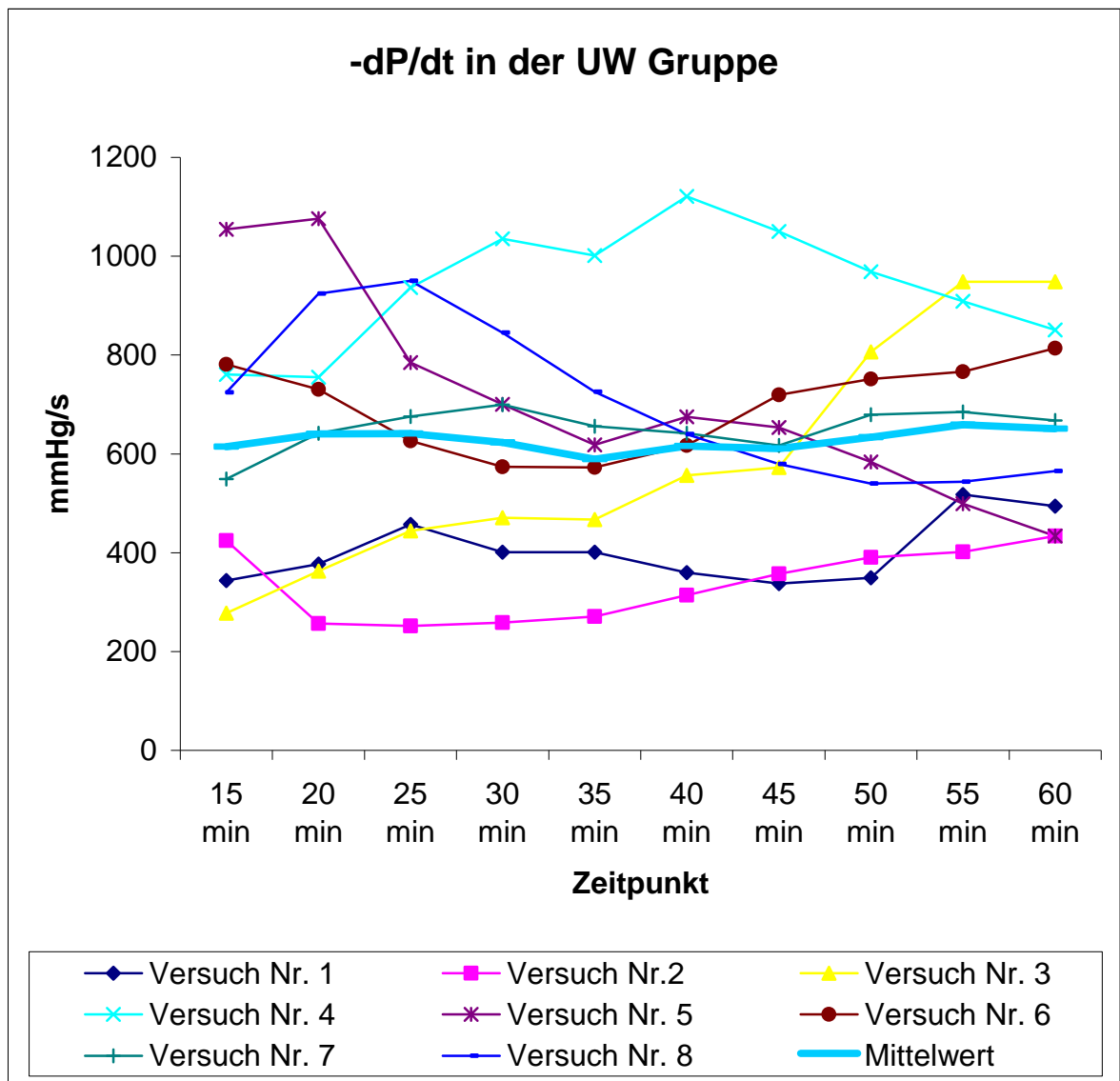
Left Ventricular Developed Pressure [mmHg]										
UW										
Versuch Nr.										
Zeit	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittelwert	Standardabw.
15 min	43	62	35	58	105	78	66	77	65	21,90
20 min	56	45	39	88	106	81	70	89	72	23,57
25 min	57	46	48	98	87	75	77	87	72	19,25
30 min	58	51	52	104	78	70	77	77	71	17,55
35 min	58	53	58	96	72	47	74	76	67	15,87
40 min	58	60	64	98	76	79	74	72	73	12,70
45 min	59	67	66	93	66	78	76	67	72	10,38
50 min	59	71	87	91	63	81	79	69	75	11,43
55 min	70	73	93	93	57	87	80	63	77	13,45
60 min	72	75	97	89	53	88	81	68	78	13,91



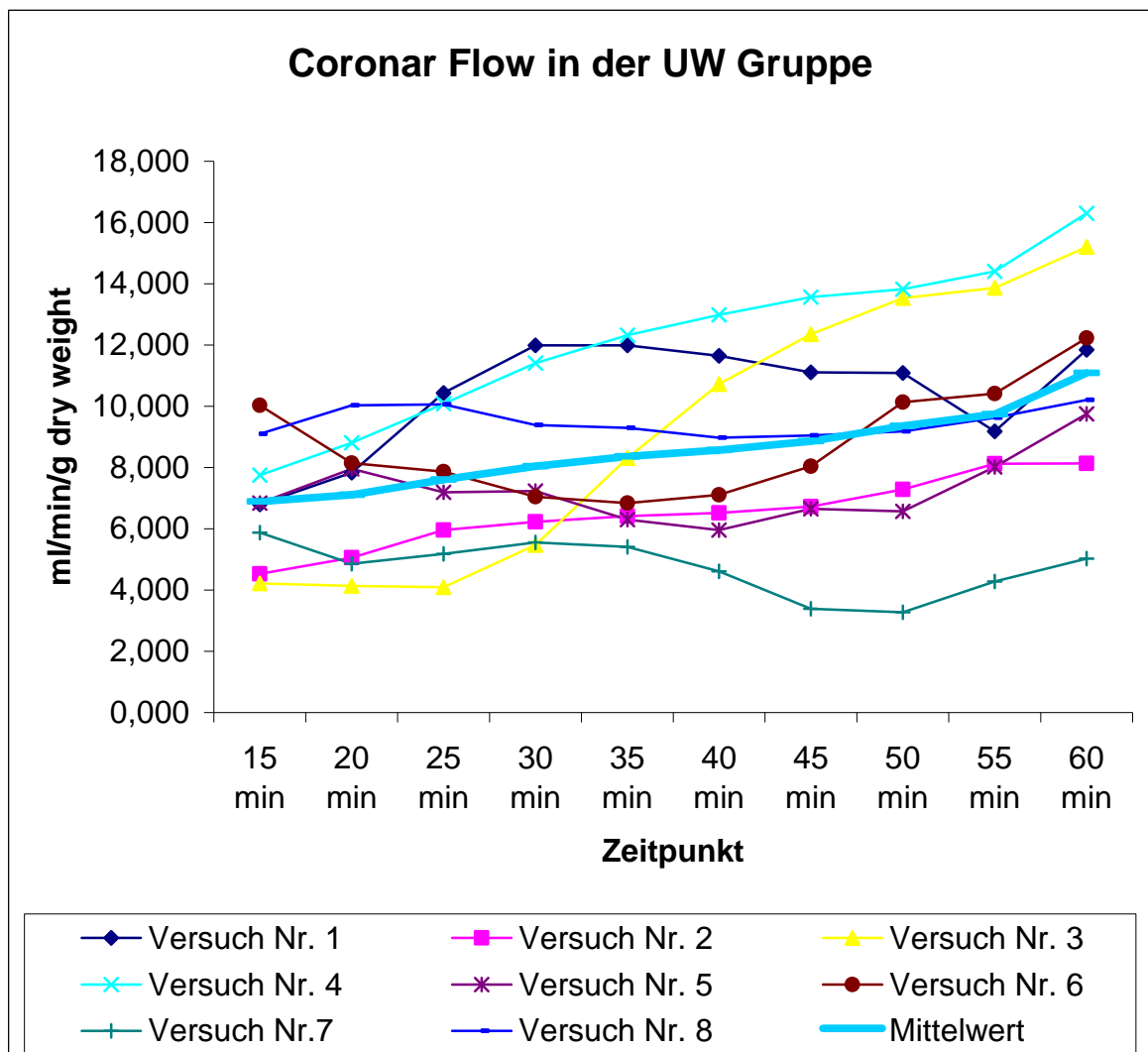
+ dP / dt [mmHg/s]										
UW										
Versuch Nr.										
Zeit	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittelwert	Standardabw.
15 min	436	578	337	935	1433	1028	691	861	788	354,86
20 min	499	436	460	1105	1365	1002	816	1006	836	342,97
25 min	596	461	560	1328	998	912	950	1020	853	291,06
30 min	622	489	640	1468	847	960	996	896	865	302,79
35 min	622	510	774	1634	798	753	1055	860	876	345,97
40 min	576	552	859	1731	873	1032	1041	835	938	368,27
45 min	555	594	932	1582	808	1052	1062	810	924	325,25
50 min	598	634	1364	1525	770	1133	1057	777	982	343,32
55 min	849	659	1538	1571	725	1233	1076	778	1054	361,85
60 min	849	726	1419	1332	697	1285	1112	815	1029	291,98



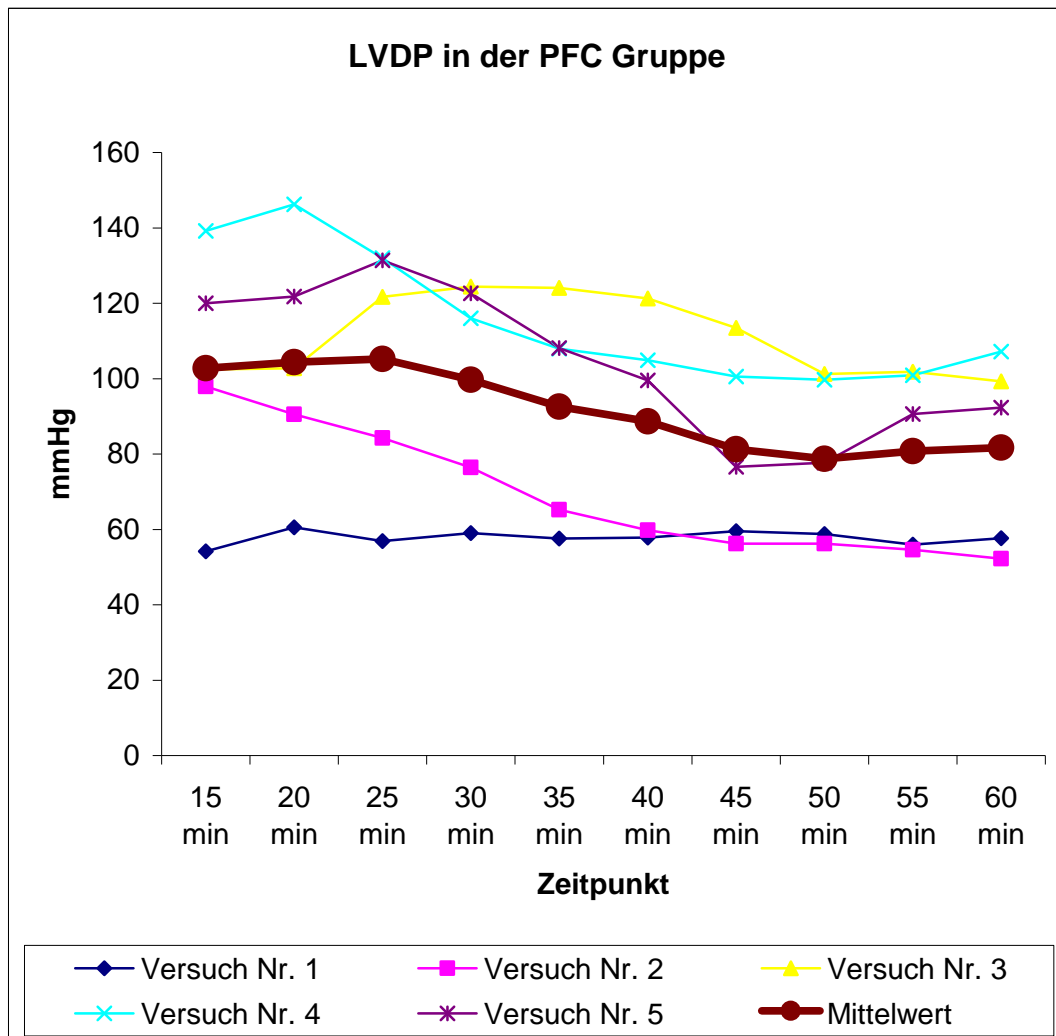
- dP / dt [mmHg/s]										
UW										
Versuch Nr.										
Zeit	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittelwert	Standardabw.
15 min	344	424	278	761	1054	781	549	724	614	262,34
20 min	377	257	363	755	1076	731	641	924	640	289,22
25 min	457	252	444	937	785	626	676	950	641	247,52
30 min	401	259	471	1035	700	574	699	846	623	250,36
35 min	401	271	467	1001	618	573	656	726	589	222,15
40 min	360	314	556	1121	675	617	642	640	616	245,00
45 min	338	357	572	1050	654	719	617	579	611	223,02
50 min	349	391	807	968	583	751	679	540	634	210,20
55 min	518	402	948	909	499	767	685	544	659	201,19
60 min	494	434	948	851	434	814	668	565	651	200,48



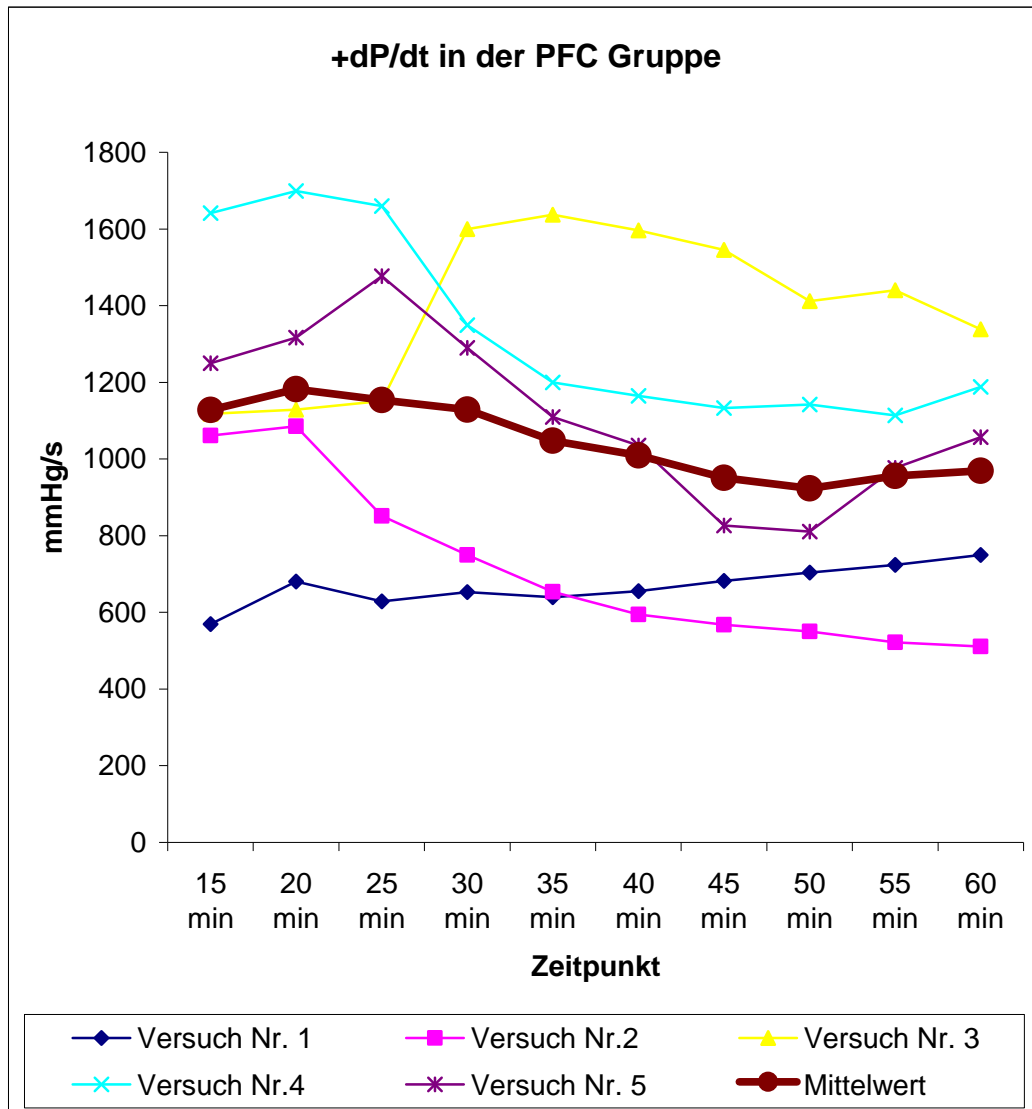
Coronar Flow [ml/min/g dry weight]										
U W										
Versuch Nr.										
Zeit	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittelwert	Standardabw.
15 min	6,794	4,532	4,213	7,754	6,837	10,028	5,876	9,100	6,892	2,044
20 min	7,836	5,061	4,133	8,810	7,964	8,141	4,861	10,031	7,104	2,133
25 min	10,435	5,960	4,093	10,080	7,187	7,866	5,186	10,067	7,609	2,430
30 min	11,990	6,224	5,471	11,414	7,234	7,047	5,555	9,391	8,041	2,578
35 min	11,990	6,417	8,313	12,324	6,301	6,836	5,409	9,290	8,360	2,640
40 min	11,649	6,520	10,724	12,979	5,958	7,112	4,613	8,974	8,566	2,989
45 min	11,113	6,730	12,351	13,561	6,650	8,043	3,392	9,045	8,861	3,368
50 min	11,089	7,283	13,531	13,827	6,565	10,132	3,274	9,183	9,361	3,588
55 min	9,178	8,127	13,868	14,407	8,024	10,413	4,280	9,623	9,740	3,272
60 min	11,849	8,134	15,206	16,305	9,751	12,227	5,025	10,205	11,088	3,667



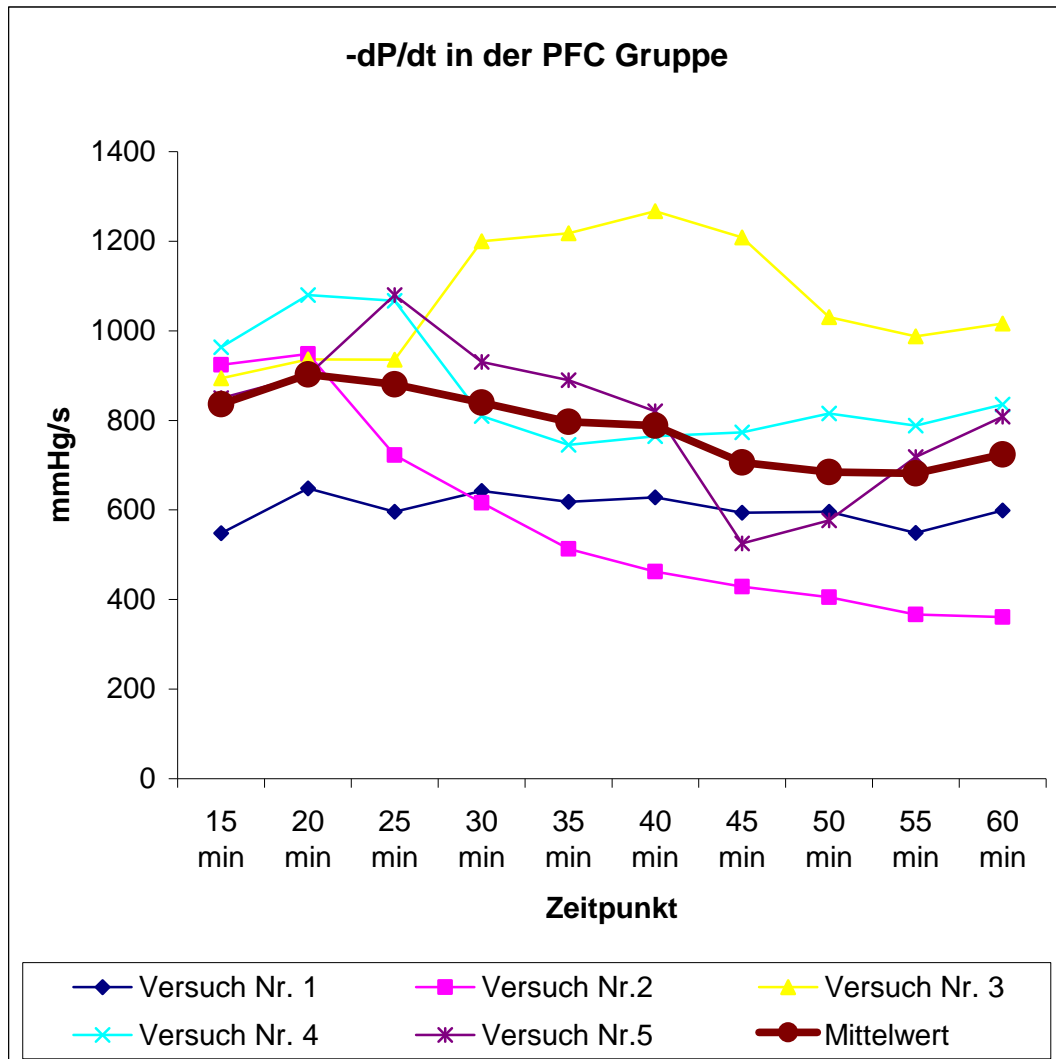
Left Ventricular Developed Pressure [mmHg]							
<i>PFC</i>							
Versuch Nr.							
Zeit	1	2	3	4	5	Mittelwert	Standardabw.
15 min	54	98	102	139	120	103	34,80
20 min	61	91	103	146	122	104	32,28
25 min	57	84	122	132	131	105	33,34
30 min	59	76	124	116	123	100	30,00
35 min	58	65	124	108	108	93	29,33
40 min	58	60	121	105	100	89	28,43
45 min	60	56	113	101	77	81	25,12
50 min	59	56	101	100	78	79	21,52
55 min	56	55	102	101	91	81	23,69
60 min	58	52	99	107	92	82	25,09



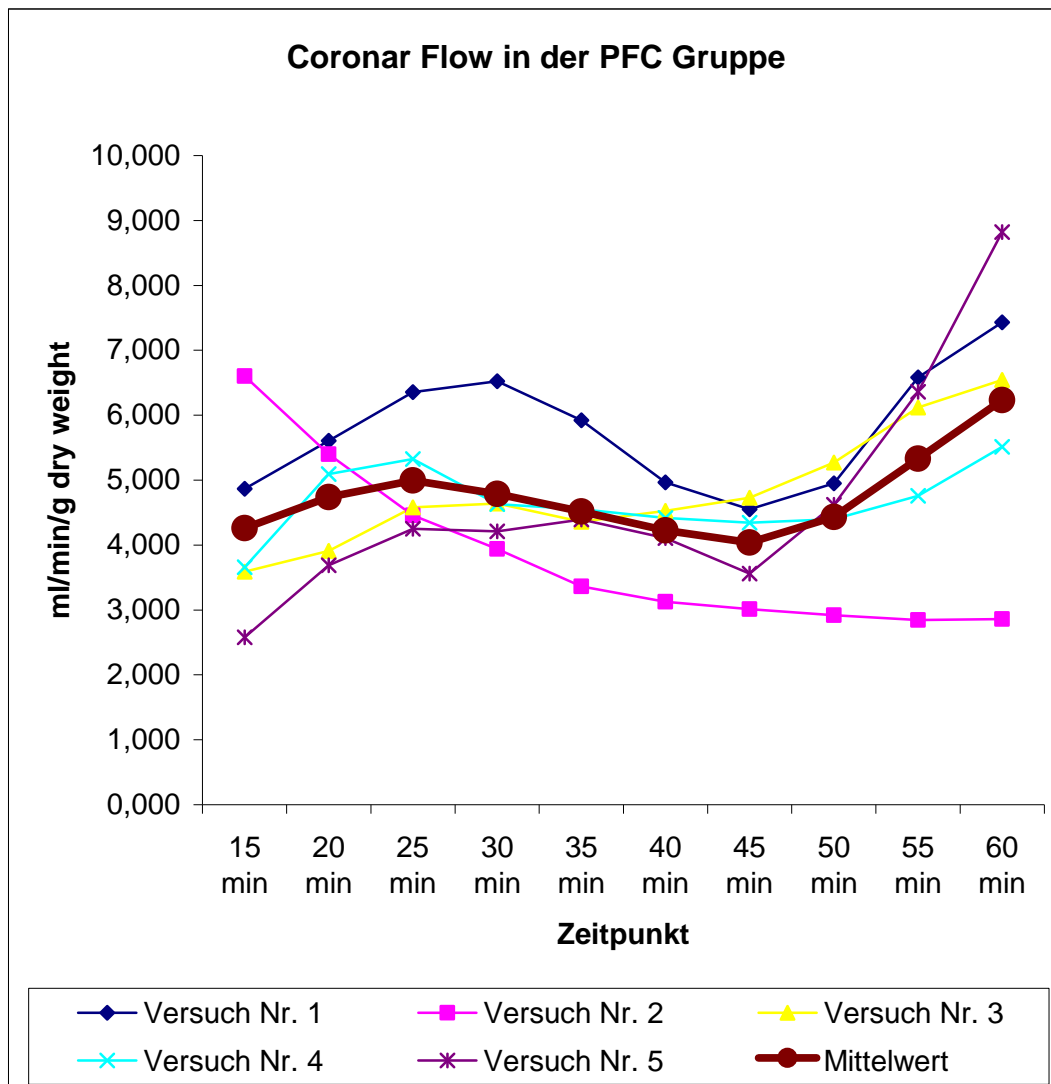
+ d P / d t [mmHg/s]							
PFC							
	Versuch Nr.						
Zeit	1	2	3	4	5	Mittelwert	Standardabw.
15 min	569	1061	1118	1641	1250	1128	438,43
20 min	680	1086	1129	1699	1317	1182	370,68
25 min	629	851	1151	1660	1477	1154	426,54
30 min	653	750	1600	1349	1290	1128	408,22
35 min	639	654	1638	1200	1110	1048	417,47
40 min	656	595	1597	1165	1035	1009	408,30
45 min	682	568	1545	1133	826	951	394,19
50 min	704	550	1411	1142	810	923	348,73
55 min	724	522	1441	1114	977	956	354,32
60 min	750	511	1339	1188	1057	969	335,41



- d P / d t [mmHg/s]							
PFC							
	Versuch Nr.						
Zeit	1	2	3	4	5	Mittelwert	Standardabw.
15 min	548	924	894	963	850	836	191,61
20 min	648	948	936	1080	902	903	157,57
25 min	596	722	935	1067	1080	880	214,13
30 min	642	616	1200	810	930	840	238,68
35 min	618	513	1218	746	889	797	274,37
40 min	628	462	1267	765	820	788	301,02
45 min	594	429	1208	773	525	706	307,80
50 min	596	405	1031	816	577	685	242,16
55 min	549	367	987	788	718	682	236,05
60 min	599	361	1017	835	809	724	251,26

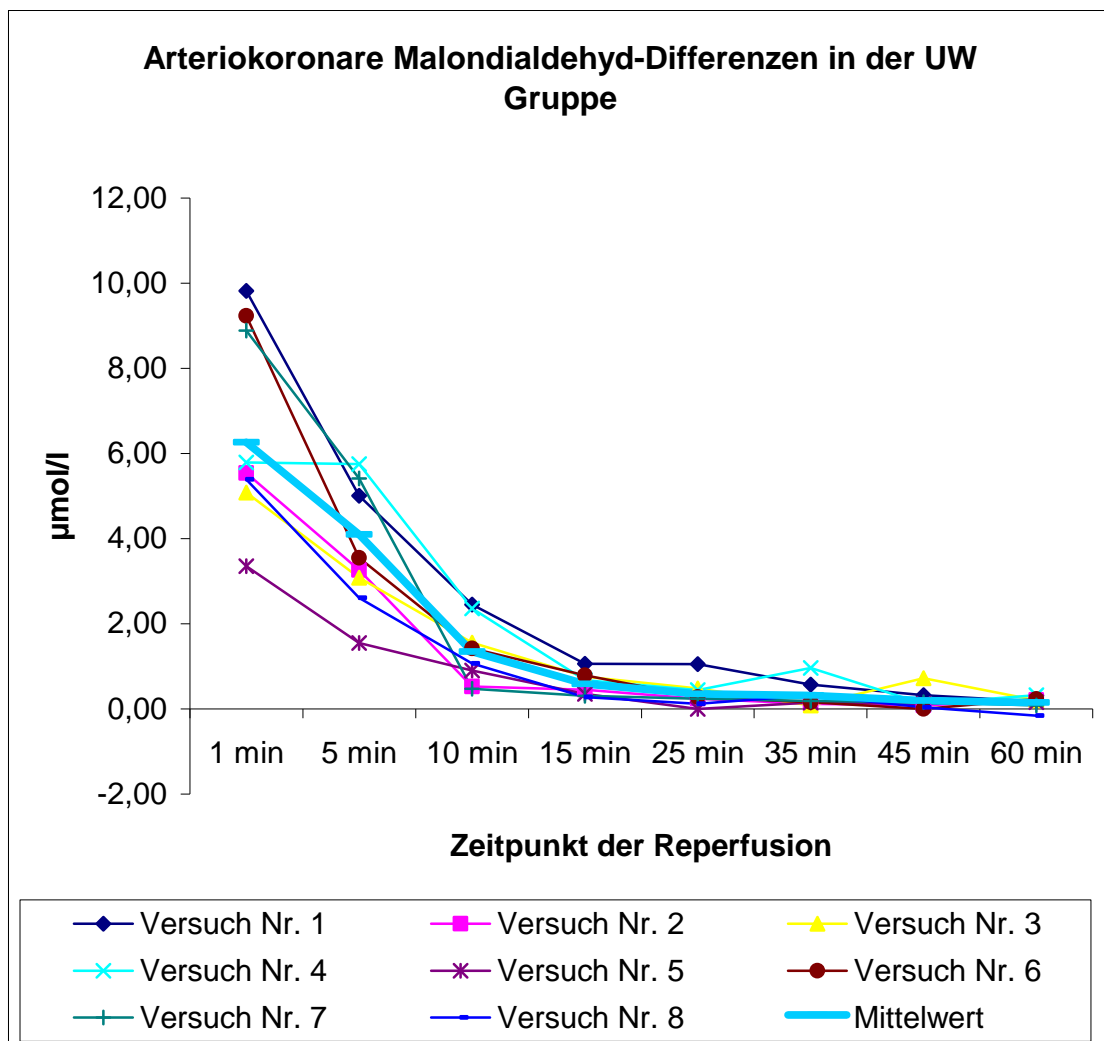


Coronar Flow [ml/min/g dry weight]							
PFC							
	Versuch Nr.						
Zeit	1	2	3	4	5	Mittelwert	Standardabw.
15 min	4,868	6,604	3,588	3,657	2,580	4,259	1,541
20 min	5,608	5,402	3,911	5,092	3,686	4,740	0,882
25 min	6,357	4,458	4,580	5,327	4,249	4,994	0,864
30 min	6,524	3,941	4,638	4,630	4,212	4,789	1,013
35 min	5,924	3,365	4,361	4,552	4,393	4,519	0,915
40 min	4,964	3,128	4,526	4,417	4,107	4,228	0,688
45 min	4,552	3,012	4,729	4,343	3,561	4,039	0,727
50 min	4,950	2,918	5,271	4,400	4,622	4,432	0,908
55 min	6,582	2,844	6,118	4,760	6,359	5,333	1,562
60 min	7,429	2,858	6,545	5,511	8,819	6,233	2,243

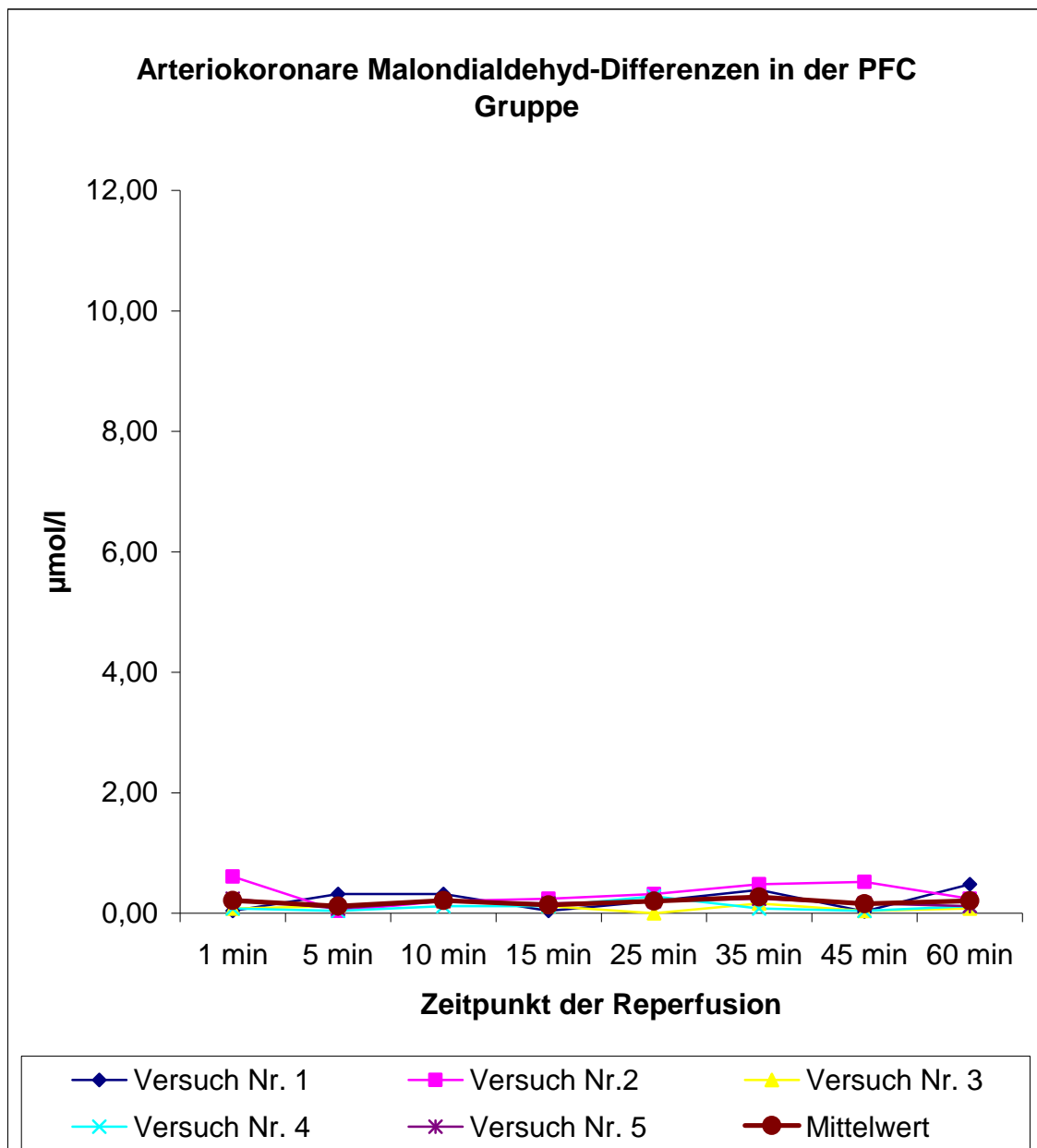


6.2 Blutdaten

Arteriokoronare Malondialdehyd-Differenzen [$\mu\text{mol/l}$]								
UW								
Versuch Nr.	1 min	5 min	10 min	15 min	25 min	35 min	45 min	60 min
1	9,82	5,01	2,45	1,06	1,05	0,57	0,32	0,17
2	5,54	3,26	0,53	0,45	0,24	0,12	0,08	0,21
3	5,08	3,08	1,56	0,76	0,48	0,08	0,72	0,20
4	5,79	5,75	2,36	0,68	0,44	0,96	0,12	0,32
5	3,35	1,55	0,90	0,35	0,00	0,15	0,12	0,16
6	9,23	3,55	1,42	0,79	0,28	0,16	0,00	0,23
7	8,89	5,41	0,47	0,31	0,24	0,19	0,16	0,08
8	5,39	2,61	1,07	0,28	0,12	0,32	0,04	-0,16
Mittelwert	6,27	4,10	1,35	0,59	0,36	0,32	0,20	0,15
Standardabw.	2,27	1,26	0,76	0,28	0,32	0,30	0,23	0,14



Arteriokoronare Malondialdehyd-Differenzen [$\mu\text{mol/l}$]								
PFC								
Versuch Nr.	1 min	5 min	10 min	15 min	25 min	35 min	45 min	60 min
1	0,04	0,32	0,32	0,04	0,20	0,39	0,03	0,48
2	0,61	0,04	0,20	0,24	0,32	0,48	0,52	0,24
3	0,08	0,12	0,20	0,12	0,00	0,16	0,04	0,08
4	0,08	0,04	0,12	0,12	0,28	0,08	0,04	0,12
5	0,24	0,08	0,20	0,16	0,20	0,24	0,16	0,12
Mittelwert	0,21	0,12	0,21	0,14	0,20	0,27	0,16	0,21
Standardabw.	0,24	0,12	0,08	0,07	0,12	0,16	0,21	0,16



6.3 Histologie

Kontraktionsbandnekrosen in der UW Gruppe								
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Präparat Nr.	<i>Wertung</i>							
<i>1</i>	1,0	0,5	0,0	1,5	2,5	0,5	1,5	2,0
<i>2</i>	1,0	0,5	0,0	0,5	2,0	0,0	1,5	2,0
<i>3</i>	0,5	1,0	0,5	1,5	2,5	1,0	2,5	2,0
<i>4</i>	1,5	1,0	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0	1,5
<i>5</i>	1,0	0,5	0,5	0,5	2,5	1,5	1,5	2,5
<i>6</i>	1,0	0,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5
<i>7</i>	1,0	0,5	0,5	1,5	2,0	1,0	2,0	2,0
<i>8</i>		1,5	1,0	0,5	1,5	0,5	2,0	1,5
<i>9</i>		1,0	1,5	0,5	2,0	0,5	1,0	2,0
Mittelwert	1,00	0,78	0,61	1,06	2,06	0,72	1,67	1,89
Standardabw.	0,29	0,36	0,49	0,58	0,39	0,44	0,50	0,33

Kontraktionsbandnekrosen in der PFC Gruppe								
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Präparat Nr.	<i>Wertung</i>							
<i>1</i>	3,0	1,0	2,5	0,5	0,5	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>2</i>	1,0	0,0	1,0	0,5	0,5	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>3</i>	1,5	0,5	2,0	1,5	0,5	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>4</i>	2,5	1,0	2,0	1,5	0,5	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>5</i>	2,0	1,5	2,0	0,5	0,5	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>6</i>	2,5	0,5	1,5	1,5	0,5	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>7</i>	1,0	1,5	2,0	0,5	1,0	<i>0,0</i>	<i>1,0</i>	<i>1,0</i>
<i>8</i>	2,0	1,5	2,5	1,0	1,0	<i>0,0</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
<i>9</i>	2,0	1,5	2,5	0,5	0,5	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>
Mittelwert	1,94	1,00	2,00	0,89	0,61	0,06	0,56	0,56
Standardabw.	0,68	0,56	0,50	0,49	0,22	0,17	0,25	0,18

Bei den Versuchsnummern 6, 7 und 8 (*kursiv*) handelt es sich um die nicht erfolgreich reperfundierten Herzen der PFC Gruppe.

Thrombosierte Gefäße in der UW Gruppe								
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Präparat Nr.	<i>Durchschnittliche Anzahl thrombosierter Gefäße pro Gesichtsfeld</i>							
<i>1</i>	0,00	0,20	0,25	0,05	0,05	0,15	0,10	0,10
<i>2</i>	0,00	0,10	0,00	0,25	0,00	0,10	0,15	0,05
<i>3</i>	0,00	0,05	0,10	0,15	0,05	0,15	0,05	0,10
<i>4</i>	0,00	0,05	0,25	0,10	0,00	0,10	0,05	0,15
<i>5</i>	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	0,25	0,05	0,25
Mittelwert	0,00	0,10	0,14	0,11	0,02	0,15	0,08	0,15
Standardabw.	0,00	0,30	0,40	0,37	0,14	0,39	0,27	0,34

Thrombosierte Gefäße in der PFC Gruppe								
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Präparat Nr.	<i>Durchschnittliche Anzahl thrombosierter Gefäße pro Gesichtsfeld</i>							
<i>1</i>	0,05	0,10	0,15	0,05	0,05	<i>3,40</i>	<i>2,00</i>	<i>5,15</i>
<i>2</i>	0,05	0,15	0,10	0,10	0,45	<i>2,15</i>	<i>1,50</i>	<i>2,35</i>
<i>3</i>	0,05	0,25	0,00	0,00	0,05	<i>2,30</i>	<i>1,00</i>	<i>3,30</i>
<i>4</i>	0,10	0,05	0,05	0,15	0,20	<i>1,15</i>	<i>1,30</i>	<i>2,40</i>
<i>5</i>	0,05	0,00	0,05	0,05	0,15	<i>3,30</i>	<i>1,55</i>	<i>3,30</i>
Mittelwert	0,06	0,05	0,15	0,13	0,02	2,46	1,47	3,30
Standardabw.	0,24	0,26	0,46	0,42	0,14	2,01	1,31	2,14

Bei den Versuchsnummern 6, 7 und 8 (*kursiv*) handelt es sich um die nicht erfolgreich reperfundierten Herzen der PFC Gruppe.

6.4 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ATP	Adenosinriphosphat
AF	Aortic Flow (Aortenfluss)
BGA	Blutgasanalyse
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca ⁺⁺	Kalzium
CF	Coronar Flow (Koronarfluss)
Cl ⁻	Chlorid
d. h.	das heißt
(+/-) dP/dt	Druckänderung über die Zeit
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Hk	Hämatokrit
I. E.	Internationale Einheiten
i.m.	intramuskulär
K ⁺	Kalium
KG	Körpergewicht
LVDP	left ventricular developed pressure (linksventrikulärer entwickelter Druck)
MDA	Malondialdehyd
Na ⁺⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NADH	Nikotinamidnukleotid
o. g.	oben genannt
pCO ₂	Kohlendioxid-Partialdruck
PFC	Perfluorocarbone
pH	Wasserstoffpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
s.	siehe
Standardabw.	Standardabweichung
U/min	Umdrehungen pro Minute
UW	University of Wisconsin
v. a.	vor allem
vgl.	vergleiche
vs.	versus
z. B.	zum Beispiel

7 Literaturverzeichnis

1. Alexander, J. W., and Zola J. C. (1996)
Expanding the donor pool: use of marginal donors for solid organ transplantation.
Clin.Transplant. 10 1-19
2. Ambrosio, G. and Chiariello, M. (1991)
Myokardial reperfusion injury: mechanisms and management – a review.
Am.J.Med.91, 86S-88S.
3. Ambrosio G. and Tritto I. (8-1999)
Reperfusion injury experimental evidence and clinical implications.
AmHeart.J. 138(2 Pt 2), 69-75
4. Amende I., Coltart, D. J., Krayenbuehl, H.P., and Rutishauer, W. (6-1975)
Left ventricular contraction and relaxation in patients with coronary heart disease.
Eur.J.Cardiol 3(I), 37-45
5. Angell, W. W., Rikkers, L., Dong, E., Jr., and Shunway, N. E. (1969)
Organ viability with hypothermia.
J.Thorac.Cardiovasc.Surg. 58, 619-24 passim.
6. Baldwin, J. C., Anderson, J. L., and Boucek, M. M. (1993)
Task force 2: donor guidelines.
J.Am.Coll.Cardiol. 22, 15
7. Banowsky, L. H. , Sullivan, M., and Moorehouse, J. (1971)
Renal perfusion for cadaver kidney preservation.
Invest.Urol. 9, 199
8. Barnard, C. N. (1967)
The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town.
S.Afr.Med.J. 41, 1271-1274
9. Barrabes, J. A., Garcia Dorado, D., Ruiz Meana, m., Piper, H.M., Solares, J., Gonzalez, M. A., Oliveras, J., Herejon, M. P. ,and Soler, J.. (1996)
Myocardial segment shrinkage during coronary reperfusion in situ. Relation to hypercontracture and myocardial necrosis.
Pflugers Arch. 431, 519-526
10. Belzer, F.O. (1988)
Principles of organ preservation.
Transplant Proc 20(1), 925-927
11. Belzer F. O. Soulhard J. H. (1988)
Principles of solid-organ preservation by cold storage.
Transplantation 45(4), 673-676
12. Bhayana, J. N., Tan Z. T., Bergsland J., Balu D., Singh J., K., and Hoover E. L. (1997)
Beneficial Effects of Fluosol-Polyethylene Glycol Cardioplegia on Cold, Preserved Rabbit Heart.
Ann.Thorac.Surg 63, 459-64

13. Bolli, R. Jeroudi. M. O. Patel, B. S., Aruoma, O. I., Halliwell, B., Lai, E.K., and McCay P. B. (1989)
Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion. Evidence that myocardial "stunning" is a manifestation of reperfusion injury.
Circ.Res. 65, 607-622
14. Boli, R. and Marban, E. (4-1999)
Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning.
Physio.Rev. 79(2), 609-634
15. Clark L. C. (1981)
Emulsion of perfluorinated solvents for intravenous gas transport
Fed Proc 34, 1468-1477
16. Cope, J. T., Mauney, M. C., Banks, D., Binns, O. A. R., De Lima N. F., Buchanan, S. A., Schockey K. S., Wilson S. W., Kron I. L., and Tribble, C. G. (1996)
Controlled reperfusion of cardiac grafts from non-heart-beating donors.
Ann Thorac Surg 62, 1418-1423
17. Cope, J. T., Mauney, M. C., Banks, D., Binns, O. A. R., Moore, C. L., Rentz, J. J., , Schockey K. S., King, L. C., Kron I. L., and Tribble, C. G. (1997)
Intravenous phenylephrine preconditioning of cardiac grafts from non-heart beating donors.
Ann Thorac Surg 63, 1664-1668
18. Copeland J. G. (9-1988)
Cardiac transplantation.
Curr.Probl.Surg 25(9), 607-672
19. Costanzo, M. R. (1996)
Current status of heart transplantation: Editorial review.
Current opinion in Cardiology 11, 161-165
20. Costanzo, M.R., Augustine, S., Bourge, R., Bristow, m., O'Connell, J.B., Driscoll, D., and Rose, E. (12-15-1995)
Selection and treatment of candidates for heart transplantation. A statement for health professionals from the Committee on Heart Failure and Cardiac Transplantation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association.
Circulation 92(12), 3593-3612
21. Cutler, J. A., David, S. D., Kress, C J., Stocks, L. M., Lewino, D.M., Fellows, G. L., Messer, S. S., Zavala, E. Y., and Halasz, N. A. (1993)
Increasing the availability of cadaveric organs for transplantation maximizing the consent rate.
Transplantation 56, 25-228
22. D'Alessandro, A. M., Hoffmann R. M., Knechtle, S. J., Eckhoff, D. E., Love, R. B., Kalayoglu, M., Sollinger, H. W., and Belzer F. O. (1995)
Successful extrarenal transplantation from non-heart-beating-donors.
Transplantation 59, 977-982
23. Daemen J. H., de Wit, R. J., Bronkhorst, M. W., Yin, M., Heinemann, E., and Kootstra G. (1996)
Non-heart-beating donor program contributes 40% kidneys for transplantation.
Transplant.Proc. 28, 105-106

24. Davies, M. K. and Hollman, A. (1997)
Christian Neethling Barnard (1922-)
Heart 77, 406-406
25. Deutschmann W., Linder E., and Deutshlander N. (1984)
Perfluorochemical perfusion in isolated guinea pig heart.
Pharmacology 28, 336-42
26. Engelmann R. M., Rousou J. H. and Dobbs W. A (1981)
Fluosol-Da: an artificial blood for totola cardiopulmonary bypass.
Ann Thorac Surg 32, 528-35
27. Engler R.L., Dahlgren M.D., Morris D., Peterson M.A., and Schmid-Schoenbein G.W. (1986)
Role of leukocytes in the response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs.
Am J Physiol 251, H314-H323
28. Esterbauer, H., and Cheeseman, K. H. (1990)
Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal.
Methods Enzymol. 186, 407-421
29. Evans (1991)
The national Heart Transplantation Study: Final report.
Seattle; Battelle Human Affairs Research Center.
30. Faithfull N. S., (1992)
Oxygen delivery from fluorocarbon emulsions-aspects of convective and diffusive transport.
Biomater. Artif. Cells Immobilization Biotechnol. 20, 797-804
31. Ferrera R., Marcsek, P., Guidollet, J., Berthet, C., and Dureau G. (1995)
Lack of successful reanimation of pig hearts harvested more than 10 minutes after death.
J.Heat Lung Transplant. 14, 322-328
32. Frietsch T, Lenz, C.und Waschke, K. F. (2000)
Intravenöse Perfluorocarbone. Künstliche Sauerstoffträger und ihre medizinischen Anwendungen.
Dtsch.Med.Wschr. 125, 465-472
33. Ganote, C. E. (2-1983)
Contraction band necrosis and irreversible myocardial injury.
J.mol.Cell Cadiol 15(2), 67-73
34. Garcia Rinaldi R., Lefrak, E. A., Defore W. W., Feldmann, L., Noon, G. P., Jachimczyk, J. A., and DeBakey, M. E. (1975)
In situ preservation of cadaver kidneys for transplantation: laboratory observations and clinical application.
Ann Surg 182, 576-584
35. Geyer R.P., (1978)
Substitutes of blood and its components.
Clin Biol Res 19, 1-26
36. Go L. O., Murry C.E., Richard V.J., Weischedal G. R., Jennings R.B., and Reimer K. A., (1988)

- Myocardial neutrophil accumulation during reperfusion after reversible or irreversible ischemic injury.
Am J Physiol 255, H1188-98
37. Gohra H., Fujimura Y., Hamano K. noda H., Katoh T., Zepo N., and Esato K. (1997)
The effects of Fluorocarbon emulsion on 24-Hour Canine heart Presevation by Coronary Perfusion.
Ann Thorac Surg 63, 594-5
 38. Gonzalez Segura, C., Castelao, A. M., Torras j., Gil Vernet, S., Lopez Costea m., Riera, L., Franco E., Fulladosa X., Grino J. m., and Alsina, J. (1995)
Long-term follow up of transplanted non-heart-beating donor kidneys.
Transplant.Proc. 28, 2948-2950
 39. Goto, Y., Slinker, B. K., and LeWinter, M. M., (1988)
Accuracy of volume measurment of rabbit left ventricle by ballon method.
Am.J.Physiol. 255, 394-396
 40. Gottlieb R. and Magnus R. (1904)
Digitalis und Herzarbeit. Nach Versuchen am überlebenden Warmblüterherzen.
Arch.exper.Path.u.Pharmakol.51, 30-63
 41. Gundry, S. R., Alonso de Begona, J., Kawauchi, M., Liu, H., Razzouk, A. J., and Bailey, L.L. (1993)
Transplantation and reanimation of hearts removed from donors after warm, asystolic "death".
Arch.Surg. 128, 989-991
 42. Gundry, S. R., Fukushima. N., Eke, C.C., Hill, A. C., Zuppan, C., and Bailey, L. L. (1995)
Successful survival of primates receiving transplantation with "dead", nonbeating donor hearts [see comments]
J. Thorac.Cardiovasc.Surg. 109, 1097-1110
 43. Harlan J. M. (1985)
Leukocyte-endothelial interactions.
Blood 65, 513-25
 44. Heinemann, E., Daemen, J. H., and Kootstra G. (1995)
Non-heart-beating-donors: methods and techniques.
Transplant.Proc. 28, 2895-2896
 45. Hernandez L. A., Grisham M.D., Twohig B.; Arfos K. E., Harlan J. M., and Granger D. N., (1987)
Role of neutrophils in ischemia-reperfusion induced microvascular injury.
Am J Physiol 253, H699-703
 46. Heubner, W., and Mancke, R. (1928)
Ein Apparat für vergleichende Untersuchungen am Warmblüterherzen in der Versuchsanordnung nach Langendorff.
Arch.exper.Path.u.Pharmakol. 137, 257-263
 47. Hosenpud, J. D., Bennett, L. E., Keck, B. M., Fiol, B., and Novick, R. J. (1997)
The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Fourteenth Official Report – 1997
J.Heart lung Transplant 16, 691-712

48. Illes, R. W., Asimakis G. K., Inners McBride, K., and Buckingham E. D., (1995)
Recovery of nonbeating donor hearts.
J.Heart Lung transplant. 14, 553-561
49. Jacob, R., Gulch, R., Kissling, G., and Raf, U. (1-1-1973)
[Muscle physiology as a basis for the evaluation of heart capacity]
Muskelfysiologische Grundlagen für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit des
Herzens.
Z.Gesamte.Inn.Med 28(1), 1-11
50. Jennings, R. B. and Ganote, C. E. (1974)
Structural changes in myocardium during acute ischemia.
Circ.Res. 35 Suppl 3, 156-172
51. Kehrer, G., Kallerhof, M., Probst, R., Siekmann, W., Blech, m., Bretschneider, H. J.,
and Helmchen, U.(1985)
Construction and Experimental Application o aCatheter for Selective Arterial kidney
Perfusion in Situ.
Urol.Res 13, 85-89
52. Kootstra, G., Daemen, J. H., and Oomen, A. P. (1995)
Categories of non-heart-beating donors.
Transplant.Proc. 28, 2893-2894
53. Krebs, H. A. (1932)
Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
Z.Physiol.Chem 210, 33-66
54. Kron, I. L., Tribble, C. G., Kern J. A., Daniel, T. M., Rose C. E., Truwit, J. D.,
Blackbourn, L. H., and Bergin, J. D. (5-1993)
Succesful transplantation of marginally acceptable thoracic organs.
Ann.Surg 217(5), 518-522
55. Langendorff, O. (1895)
Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen.
Pflügers Arch. 61, 291-307
56. Lee, J. A. (1995)
The pathology of cardiac ischemia: cellular and molecular aspects.
J.Pathol. 175, 167-174
57. Lundsgaard Hansen, P., Schilt, W., Heitmann, L., Oroz, M., Buchler, A. and
Lemeunier A. (1971)
Influence of the agonal period on the postmortem metabolic state of the heart. A
problem in cardiac preservation.
Ann. Surg. 174, 744-754
58. Lutz, J. and Henrich, H. A. (1970)
Gefäßkontraktionen in situ bei druck- und stromkonstanter Perfusion der intestinalen
Strombahn und ihre Abhängigkeit vom Ausgangsdruck.
Pflügers Arch. 319, 68-81
59. Martin S. M., Laks H., Drinkwater D. C., Stein Darryl G., Capoya Eli R., Pearl J.M.,
Barthel S. W., Chang p., Kaczer E., and Bhuta S. (1993)
Perfluorocarbone Reperfusion Yields Improved Myocardial Recovery After Global
Ischemia.
Ann Thorac Surg 55, 954-60

60. Maxwell, S. R. and Lip G. Y. (1997)
Reperfusion injury: a review o the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options.
Int.J.Cardiol. 58, 95-117
61. Mitsuno T., Ohyanagi H., and Naito R. (1982)
Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute (Fluosol-DA).
Ann.Surg 195, 60-9
62. Mosca R. S., Robs T. J., Waterford R. R., Childs K.F., Brunsting L. A., and Bolling S. F., (1996)
Perfluorocarbon supplementation and postischemic cardiac function
Surgery 120, 197-204
63. Nicholson , M. (1996)
kidney transplantation from asystolic donors.
Br.J.Hosp.med. 55, 51-56
64. Nickel, R., Schummer, A., and Seiferle E. (1984)
Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane.
2(3), 57. Berlin und Hamburg, Paul Parey. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band 3
65. Pearl J. M., Laks H., Drinkwater D. C. (1992)
Fluosol cardioplegia results in a complete functional recovery: a comparison with blood cardioplegia.
Ann Thorac Surg. 54, 1144-50
66. Primo G., Le Clerc, J. L., Antoine, M., De Smet J. m., and Joris, M. (1991)
A survey of nine year heart transplantation at Erasme Hospital, University of Brussels.
Acta Cardio 46, 555
67. Rousou J.H., Dobbs W. A., engelmann R.M., (1982)
Fluosol cardioplegia – a method of optimizing aerobic metabolism during arrest.
Circulation 66 (suppl I), 55-9
68. Rude R. E., Glogar D., Khuri S. (1982)
Effects of intravenous fluorocarbons during and without oxygen enenhacement on acute myocardial ischemic injury asessed by measurement of intramyocardial gas tensions.
Am Hert J 103, 986-95
69. Sacks T., Moldow c. f., Caddock P. R., Bowers T.K.and Jacob H.S. (1978)
Oxygen radicals mediate endothelial damage by complement-stimulated granulocytes.
J Clin Invest 61, 1161-7
70. Scheule A. M., Strotmann C., Vogel U, Miller S., Wendel H. P., and Ziemer G. (1999)
Evaluation of a New Protection Technique for Heart Preservation of Non-heart-Beating Donors
Transpl Proc 31, 118-119
71. Sharples L. D., Caine N., and Mullins P. (1991)
Risk factor analysis for the major hazards following heart transplantation – rejection,

- infection and coronary occlusive disease.
Transplantation 52, 244
72. Shirakura, R., Matuda, H., Nakata, S., Kaneko, M., Miyagawa, S., Fukushima, n., Kitagawa, S., Fukushima, N., and Kawahima, Y. (1992)
Cardiac function and myocardial performance of 24-hour-preserved asphyxiated canine hearts.
Ann.Thorac.Surg. 53, 440-444
 73. Sloviter H. A., Petkovic M., andOgoshi S. (1969)
Dispersed fluorochemicals as substitutes for erythrocytes in intact animals.
J Appl Physiol 27, 666-668
 74. Smit, H., Schoeppe, W. and Zickgraf , T. (1997)
Organspende und Transplantation in Deutschland.
Deutsche Stiftung Organtransplantation
 75. Southard J. H., van Gulik T. M., Ametani M.S., Vreugdenhil P. K., Lindell S. L., Pienaar B.L., and Belzer F.O. (1990)
Important components of the UW solution.
Transplantation 49 (2), 251-257
 76. Spiess B. D., and Cochran R. P. (1996)
Perfluorocarbon Emulsions and Cardiopulmonary Bypass: A Technique for the Future.
J Cardiothorac Vasc Anesth 10(1), 83-90
 77. Stevenson L. W. (1996)
Selection and management of candidaates for heart transplantation.
Current Opinion in Cardiology. 11, 166-173
 78. Sumimoto R., and Kamada N., (1990)
Lactobionate as the most important component in UW solution for the liver presrevation.
Transplant Proc 22(5), 2198-2199
 79. Sweeney, M. S., Lammermeier, D. E., Frazier, O. H., Burnett, C. M., Haupt, H. M. and Duncan J. M. (7-1990)
Extension of donor criteria in cardiac transplantation: surgical risk versus supplyside economics [see comments].
Ann. Thorac.Surg. 50(1), 7-10
 80. UNOS (1998)
UNOS OPTIN data June, 1998
www.unos.org
 81. Virmani R., Fink L. m., Gunter K. and English D. (1984)
Effects of perfluorochemical blood substitutes on human neutrophil function.
Transfusion 24, 343-7
 82. Walters H. I. 3d, Digerness S. B., Naftel, D. C., Waggoner, J. R. 3d, Blackstone, E. H., and Kirklin J. W. (1992)
The response to ischemia in blood perfused vs. crystalloid perfused isolated rat heart preparations.
J.Mol.Cell Cardiol 24, 1064-1077

83. Weiss S. J. (1989)
Tissue destruction by neutrophils.
N Engl J Med 320, 365-76]
84. White F. C., and Bloor C. M. (1981)
Coronary collateral circulation in the pig. Correlation of collateral flow and coronary bed size.
Basic Res. Cardiol 76, 189-196
85. White F. C., and Bloor C. M. (1986)
The pig as a model for myocardial ischemia in exercising swine.
Lab Anim Sci 36, 351-356
86. Yu, W.M., Coddington D. and Bitter-Suermann H. (1990)
Rat liver preservation. – I. The components of UW solution that are essential to its success.
Transplantation 49(6), 1060-1066

Danksagung

Für die Überlassung des Themas möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Ziemer danken. Herrn PD Dr. med. Scheule möchte ich für die ausgezeichnete Betreuung in Verbindung mit seinem großem Motivations- und Begeisterungsvermögen ganz besonders danken.

Großen Dank möchte ich Herrn Dr. rer. nat. Wendel und seinem gesamten Laborteam, insbesondere Herrn Neumann und Frau Armbruster für Ihre großartige Unterstützung vor allem im apparativen und labortechnischen Fragen der Arbeit aussprechen. Frau Wolf möchte ich für die Einbringung ihres großen Erfahrungsschatzes im tieroperativen Bereich danken. Christian Strotmann und Dominic Jost gilt mein Dank für die ausgezeichnete Zusammenarbeit.

Herrn Dr. med. Vogel möchte ich für sein unermüdliches Engagement die hervorragende Kooperation und seinen zahlreichen Anregungen danken.

Der Firma Hugo Sachs möchte ich für die Betreuung vor allem in technischen Problemem mit der Apparatur des Kreislaufmodells und der Firma Jostra für die Entwicklung und Bereitstellung der in der Arbeit verwendeten Kathetersets danken.

Meiner Ehefrau Niki Argiriou bin ich zu allergrößtem Dank verpflichtet, da sie mit ihrer Motivationskraft vor allem in den letzten Abschnitten der Arbeit enorm zum Erfolg der Arbeit beigetragen hat.

Der größte Dank gebührt jedoch meinen Eltern Agelos und Theodora Pappas, die durch ihre Lebensart die Rahmenbedingungen für das erfolgreiche Medizinstudium und die Promotion in diesem Fach geschaffen haben, weshalb diese Arbeit auch ihnen gewidmet ist.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Pappas
Vorname: Ioannis
Geburtsdatum/ -ort: 04.03.1976, Leonberg
Eltern: Agelos Pappas, geb. am 15.10.1930
(Rentner)
Theodora Pappa, geb. am 16.11.1936
(Rentnerin)
Geschwister: Athanassios Pappas, geb. am 08.10.1967
(Psychotherapeut)
Familie: seit dem 01.10.2001 verheiratet mit Niki
Argiriou (Zahnärztin), am 28.02.2004 Geburt
des Sohnes Theodoros Noe

Schulbildung:

Juni 1993 Erlangung der Deutschen Allgemeinen
Hochschulzugangsberechtigung an der
Deutschen Schule Thessaloniki /
Griechenland.

Hochschulbildung:

April 1994 – November 2000 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-
Karls Universität zu Tübingen
8. November 2000 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Arzt im Praktikum:

März 2001 – August 2002 Klinik für Kinder und Jugendliche im
Städtischen Klinikum Pforzheim

Assistenzarzt:

November 2002 – April 2003 Klinik für Kinder und Jugendliche im Klinikum
Nürnberg
Mai 2003 – November 2003 Klinik für Kinder und Jugendliche im
Kreis Krankenhaus Böblingen
Seit April 2004 Klinik für Kinder und Jugendliche im Klinikum
Lüdenscheid