

### 3 Tiere, Material und Methoden

#### 3.1 Versuchstiere und für die Perfusion verwendete Lungen

##### 3.1.1 Zur Lungenentnahme narkotisierte Schweine

Es wurden 8 "Hybride der Deutschen Landrasse" aus der landwirtschaftlichen Produktion bezogen<sup>1</sup>. Die für unsere Untersuchung<sup>2</sup> bestellten Schweine wurden mit anderen, gleichaltrigen und aus einem Bestand stammenden Tieren in der Tierexperimentellen Einrichtung in Gruppenhaltung zu 5 Tieren für 3 Tage eingestellt. In den Tierhaltungsräumen der Tierexperimentellen Einrichtung erhielten sie Wasser ad libitum. Die Tiergruppen wurden 2 x täglich mit einem Futtermittel für Versuchstiere<sup>3</sup> entsprechend 2,5% ihrer Körpermasse gefüttert.

Wegen eines Narkosezwischenfalls und wegen eines Perfusionsabbruchs nach 30 Minuten konnten zwei der Lungen von den Versuchstieren nicht in die Untersuchungen mit einbezogen werden. In die Auswertung gehen 6 der Tiere ein. Die 3 weiblichen und 3 kastrierten männlichen Tiere hatten ein Gewicht von  $28 \pm 1$  kg. Die Tiere wurden in der Einstellungsuntersuchung als symptomfreie Tiere (Tab. 1 und Kap. 3.2.2.4) und deren Lungen nach der Organbeschau als makroskopisch pathologisch unauffällig beurteilt.

Es wurden Messungen während der Narkose vorgenommen. Die Lungen wurden dann entnommen und anschließend perfundiert. Messungen von zwei Perfusionen wurden trotz Abbruch nach 105 und 120 Minuten bei der Auswertung berücksichtigt. Diese Perfusionen wurden abgebrochen, da Blutungen in den Lungen das Blutvolumen reduziert hatten.

##### 3.1.2 Schlachthoflungen

Am Schlachthof<sup>4</sup> wurden die Schweine<sup>5</sup> in einem für Notschlachtungen vorgesehenen Raum geschlachtet. In Absprache mit dem Schlachthof wurde an den Versuchstagen das von uns angeforderte Schwein in den Notschlachtraum gebracht.

---

<sup>1</sup> Fa. Sommerfeld (Landwirtschaft Sommerfeld GmbH, Seddiner See)

<sup>2</sup> Die von Dr. Meissler (Durchführung anzeigepflichtiger Organentnahmen für die isolierte Organperfusion, Reg. 00094/99) durchgeführten Lungenentnahmen unter Narkose wurden bei der Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales angezeigt (Geschäftszeichen 5.2/315-Reg 0002/99).

<sup>3</sup> ssniff® Pig-H, ssniff-Spezialdiäten, Soest

<sup>4</sup> Eberswalder Fleischwarenfabrik GmbH & Co. KG, Britz

<sup>5</sup> Hybride der Deutschen Landrasse

Die Herkunftsbetriebe, Fütterungs- und Haltungsbedingungen der verwendeten Hybride sind im einzelnen nicht bekannt.

Aufgrund der von den Schlachtbetrieben geforderten Fleischqualität unterscheiden sich die Tiere in Schlachttiermasse (ca. 95 kg) und Alter nur unwesentlich (Kap. 2.4) (ROTH et al., 1997). Die Schlachtkörpermasse und das Geschlecht der Tiere wurden nicht systematisch erfasst. Bei einigen Kontrollen lag die Masse der von uns verwendeten Schweine im Bereich von 100 kg. Es wurden sowohl Lungen von Sauen als auch von Kastraten verwendet. Es wurde ein einfaches Verfahren zur Beurteilung des Gesundheitsstatus für die Gruppenzuordnung verwendet (Kap. 3.2.2.4).

▪ **Befunde, die Lungen von der Perfusion ausschließen**

Pathologisch stark veränderte Lungen wurden nicht für die Perfusionen verwendet. Um Lungen mit einem akut pneumonischen Geschehen auszuschließen und um die Zahl gesunder Lungen bei der Organentnahme zu erhöhen, erfolgte die Lebendbeschau im Hinblick auf respiratorische Symptome. Hierbei wurde auf Husten, Nasenausfluss und abweichenden Geruch in der ausgeatmeten Luft (z.B. faulig, jauchig oder nicht aromatisch) geachtet. Am Brusteingang und beiderseits des Brustkorbs wurde das Tier mit einem Großtierstethoskop abgehört. Atemfrequenz und mögliche Dyspnoe wurden beurteilt. Auffällige Tiere wurden nicht ausgewählt. Großflächige Zyanosen an Ohren und Unterbauch, Dermographismen und kühle Haut kennzeichnen das möglicherweise irreversible Stadium des Kreislaufversagens, das mit einem massiven Lungenödem einhergehen kann. Lungen solcher Tiere wurden von der Perfusion ausgeschlossen.

Auch Lungen mit pathologischen Prozessen, die chronischen Ursprungs zu sein schienen, Lungen, die eine massive Ödematisierung aufwiesen, oder Lungen, die schlecht zusammengefallen waren, wurden nicht zur Perfusion verwendet.

Für die Auswahl der Schweine zur Lungenentnahme wurden Gruppen zu 12 Tieren vorgestellt. Insgesamt standen ca. 266 Schlachttiere zur Auswahl zur Verfügung. Durch Anwendung der Ausschlusskriterien wurden davon 221 Tiere nicht ausgewählt. Es verblieben 45 Tiere und Organe.

In den Untersuchungen wurden von 45 Schlachthoflungen 30 verwendet.

15 Organe wurden nicht in die Untersuchungen aufgenommen.

- davon wurden 10 Lungen für die Methodenentwicklung (Deoxygenatorfunktion, Equilibrierung) verwendet
- davon wurden 3 Lungen wegen unvollständiger Anamnese und fehlender Kenntnis der Lungenmassen verworfen
- davon konnten 2 Lungen wegen Organschäden und Perfusionsabbruch wegen Blutungen nicht in die Untersuchungen einbezogen werden.

### 3.1.3 Gruppenzuordnung

Die Messungen an narkotisierten Organspendern *in vivo*, an von diesen Versuchstieren- sowie an von am Schlachthof entnommenen *in vitro* perfundierten Schweinelungen wurden in 7 Gruppen (Tab. 1) zusammengefasst. In Tab. 1 sind die einzelnen Gruppen und eine Übersicht der Kriterien zur Gruppenbildung aufgeführt. Die Kriterien bei der Gruppenbildung waren die Konservierungen, die Ergebnisse der Lebendbeschau, die Einteilung nach makroskopischen Lungenbefunden und die verwendeten Versuchsmodelle.

Entsprechend der Aufgabenstellung wurden die Gruppen 1 und 2 als unterschiedliche Methode verglichen (*in vivo* – *in vitro* Perfusion der selben Lungen). Die Gruppen 2 und 5 wurden als komplette, unterschiedliche Verfahren verglichen (*in vitro* Perfusion von Versuchstierlungen – *in vitro* Perfusion von Schlachthoflungen). In den Gruppen 3 und 4 wurden im Modell der *in vitro* perfundierten Schlachthoflunge die definierten Kriterien unauffälliger und verdächtiger makroskopischer Lungenbefund verglichen. In den Gruppen 5 und 6 wurden im Modell der *in vitro* perfundierten Schlachthoflunge die definierten Kriterien unauffällige und verdächtige Lebendbeschau verglichen. In den Gruppen 3, 5 und 7 wurden im Modell der *in vitro* perfundierten Schlachthoflunge die unterschiedliche Konservierung/Behandlung der Lungen mit v. Baeyer II- Lösung, mit LPD (low potassium dextran)- Lösung und mit isotoner Kochsalzlösung verglichen.

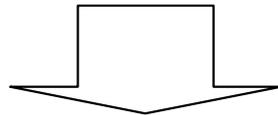
**Tab. 1** Versuchsgruppen und Kriterien der Gruppenzuordnung

Kriterien Gruppen	Konservierung (Kap. 3.2.2.3)	Schweine in der Lebendbeschau (Kap. 3.2.2.4)	Makroskopischer Lungenbefund (Kap. 3.2.2.4)	Versuchsmodell (Kap. 3.2.1; 3.2.2; 3.2.4 und 3.2.7)
Gruppe 1 (N=6)	-	unauffällig	-	in vivo Messungen am Versuchstier
Gruppe 2 (N=6)	ohne	unauffällig	unauffällig	in vitro Perfusion der Versuchstier- lungen
Gruppe 3 (N=6)	v. Baeyer II	unauffällig	unauffällig	in vitro Perfusion der Schlachthof- lungen
Gruppe 4 (N=6)		unauffällig	<b>verdächtig</b>	
Gruppe 5 (N=6)	LPD	unauffällig	unauffällig	
Gruppe 6 (N=6)		<b>verdächtig</b>	unauffällig	
Gruppe 7 (N=6)	0,9% NaCl	unauffällig	unauffällig	

**Tab. 2** Zeitlicher Ablauf der Lungenentnahme am Schlachthof  
(Gruppen 3 bis 7)

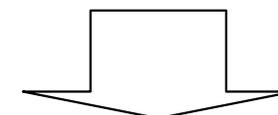
0. – 2.	min	Betäubung, Schäkeln <sup>1</sup> und Entblutung
2. – 8.	min	Organentnahme
8. – 13.	min	Präparation, Wiegen, Kanülierung
13. – 18.	min	Infusion Konservierungslösung bei 4°C
294±59	min	Wiegen, Probenahme für die Histologie, Lagerung und anschließend Präparation

<sup>1</sup> Schäkeln ist das Anschlingen der Hinterbeine und das Hochziehen des Tieres auf eine Transportschiene. Der Schäkel wird auf der Schiene eingehakt.



**Tab. 3** Zeitlicher Ablauf der Lungenentnahme im OP  
(Gruppe 1)

0.– 7.	min	Anästhesie
7.– 45.	min	Katheter zur Blutentnahme und Herzminutenvolumenmessung
45.	min	In vivo Messung: Erhebung der Atem- und Blutparameter, Herzminutenvolumen
60.	min	In vivo Messung: Erhebung der Atem- und Blutparameter, Herzminutenvolumen
60. – 80.	min	Entnahme, Wiegen, Präparation, Lagerung und Probenahme für die Histologie



**Tab. 4** Zeitlicher Ablauf der Lungenperfusion (Gruppen 2 bis 7)

Vorlauf: 5 Minuten lang wird der Aufbau (Abb. 1) mit 37,5°C warmer 0,9 prozentiger Kochsalzlösung gespült.		
Pulmonal- arterieller Anschluß des Blutbeutels. Die Kochsalzlösung läuft aus dem pulmonal arteriellen Schlauchsystem ab. Eine blutrote, deckende Eintrübung der aus Eigenblut des Spendetiers bestehenden Perfusionslösung wird abgewartet. Weitere 100-150 ml werden verworfen. Die Lunge wird angeschlossen und der Kreislauf geschlossen (Abb. 1 Perfusionsaufbau).		
0.– 45.	min	Equilibrierungsphase, Probenahme für die Histologie nach 15 min Perfusion
60.– 135.	min	Messzeitraum: Alle 15 min Analyse der Atem-, Blut-, Dialysatparameter und Gewichtbestimmung
135.- 150.	min	Probenahme für die Histologie, Röntgen, Bestimmung der Lungengewichte über den Perfusionszeitraum

## 3.2 Vorarbeiten und Vorbereitung für die Lungenperfusion

### 3.2.1 Narkose und Lungenentnahme bei den narkotisierten Schweinen

Die Kanülierung und Präparation für Gruppe 2 entsprachen dem Vorgehen (Tab. 2) bei den am Schlachthof entnommenen Lungen. Bei der operativen Lungenentnahme wurde gegenüber der Entnahme am Schlachthof die Kanülierung der Lungen im Tierkörper am schlagenden Herzen vorgenommen. Der Truncus pulmonalis wurde zur Kanülierung mit einem Halteband<sup>1</sup> angehoben, was zu einer kurzen Unterbrechung des Blutflusses führte. Durch einen lungenseitigen kleinen Einschnitt in den Truncus pulmonalis wurde der Absaugkatheter eingeführt und fixiert. Dann wurden das Herz und die Lunge zusammenhängend (Herz-Lungen-Block) entnommen.

Die Sedation der Tiere wurde mit 4 mg/kg Azaperon<sup>2</sup> und 10 mg/kg Ketamin<sup>3</sup> über eine Mischspritze i.m. verabreicht. Zur Narkoseeinleitung wurden 0,4 mg/kg Etomidat<sup>4</sup> i.v. in die Ohrvene appliziert. Zur Intubation wurden 15 mg/kg Thiopental<sup>5</sup> i.v. gegeben.

Für die Intubation wurde ein gebogener Kindertubus mit Cuffsystem<sup>6</sup> verwendet. Das Maul wurde geöffnet, die Zunge vorgezogen und der Larynx mit einem Laryngoskop nach McIntosh dargestellt. Mit dem Löffel des Laryngoskopes wurde die Epiglottis nach ventral gedrückt. Der nach oben gebogene Tubus wurde mit der nach unten zeigenden Spitze über das Laryngoskop hinweg in die Trachea vorgeschoben. Beim Verschieben des Tubus wurde eine leichte Drehbewegung ausgeführt, um vorbei am pharyngealen Diverticulum in die Trachea zu gelangen. Nach der richtigen Platzierung wurde der Ballon des Trachealtubus gebläht und mit der Beatmung begonnen.

---

<sup>1</sup> Mersilene, Ethicon, Norderstedt

<sup>2</sup> Stresnil®, Janssen- Cilag, Neuss

<sup>3</sup> Ursotamin®, Serum- Werk Bernburg

<sup>4</sup> Etomidat®- Lipuro, B.Braun, Melsungen

<sup>5</sup> Trapanal®, Byk Gulden, Konstanz

<sup>6</sup> Kindertubus 5-7,5 mm Innendurchmesser, Länge bis 30 cm, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland

Die Narkose wurde über Perfusoren mit 0,2ml/h/kg Fentanyl<sup>1</sup> und mit 0,3-0,4 ml/h/kg Etomidat aufrechterhalten. Bei Bedarf wurde nachdosiert. Als Muskelrelaxans wurde Pancuronium<sup>2</sup> i.v. nach Wirkung gegeben.

Der Trachealtubus wurde an das Beatmungsgerät<sup>3</sup> angeschlossen. Das Monitoring erfolgte über den Monitor des Hewlett- Packard Modell 66S. Alle narkotisierten Schweine wurden mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration (FiO<sub>2</sub>) von 30,6 ± 4,2 % und einem pulmonalen endexpiratorischen Druck (PEEP) von 0,2 kPa beatmet. Die Atemfrequenz wurde mit 16 Atemhüben pro Minute auf ein mittleres Atemminutenvolumen von 5 [l/min] bei einem Quotienten von Expiration zu Inspiration von 33% eingestellt. Der Spitzendruck [kPa] wurde über das Beatmungsgerät gemessen, und die dynamische Compliance wurde berechnet.

Für die Bestimmung des pulmonal- venösen und des pulmonal- arteriellen Drucks sowie des Herzminutenvolumens wurde ein Swan-Ganz Katheter<sup>4</sup> über die Vena jugularis im rechten Ventrikel platziert. Die richtige Position wurde über die Druckamplitude kontrolliert. Das Herzminutenvolumen wurde mit dem Thermodilutionsverfahren<sup>5</sup> berechnet. Die Arteria carotis communis wurde für die Blutentnahme katheterisiert. Das Auffangen des Blutes im Blutbeutel<sup>6</sup> erfolgte während der Lungenentnahme.

### 3.2.2 Lungenentnahme von Schlachtschweinen

Um die hygienischen Anforderungen zu erfüllen, musste am Schlachthof mit entsprechender Bekleidung und Ausrüstung gearbeitet werden. Das Material wurde gereinigt und anschließend im Autoklaven sterilisiert.

---

<sup>1</sup> Fentanyl 0,5 mg Schwabe- Curamed® Pharma, Karlsruhe

<sup>2</sup> Pancuronium Curamed®, Schwabe- Curamed® Pharma

<sup>3</sup> Servo 900 D, Siemens, München

<sup>4</sup> Swan-Ganz®-VIP Katheter 5F 0,5 cc CAP, 993-132-5F, Baxter Healthcare Corporation, Irvine, USA und Druckmodul 1006 BT für Monitor Hewlett-Packard Modell 66S, Hewlett- Packard, Houston, Californien, USA

<sup>5</sup> Berechnung über die Software des Hewlett- Packard Modell 66S

<sup>6</sup> Leerblutbeutel Biopack- Compoflex mit Einstichdorn Art. Nr. P4162, Biotrans GmbH, Dreieich

### ▪ Blutgewinnung

Nach der Betäubung mit Strom und nach dem Schäkeln (Tab. 2) wurden die Schweine<sup>1</sup> kopfunter hängend entblutet. Mit einem Schlachtermesser wurden durch einen tiefen Schnitt die Gefäße im Drosselbereich eröffnet. In einer sterilen Metallschüssel, die 50 ml einer 3,2% Natriumzitratlösung enthielt, wurden in zehn Sekunden zwei Liter Blut aufgefangen. Die Schüssel wurde geschwenkt und das Blut mit einem Glasstab gerührt. Das Blut wurde unmittelbar danach in bereitstehende Infusionsflaschen umgefüllt. Auf die Innenwände der Infusionsflaschen wurden zuvor 10 000 IE Heparin Natrium<sup>2</sup> durch Drehen der Flaschen aufgetragen. Nach Verschluss der Deckel wurden die Blutkonserven leicht gerollt. Die Flaschen wurden in einer eisgekühlten Styroporbox transportiert.

### ▪ Ischämiezeiten

Der Zeitraum vom Entbluten bis zum Einlaufen der Konservierungslösung wurde als "warme Ischämie" bezeichnet. Da innerhalb von 10 Sekunden schon 2 Liter Blut aufgefangen wurden, dauerte es maximal 30 Sekunden bis mit der Lungenentnahme begonnen werden konnte. Die bei den Entnahmen gemessenen Zeiten für die Dauer der Lungenentnahme, das Einlaufen der Konservierungslösung und den Konservierungszeitraum können Tabelle 7 entnommen werden.

### ▪ Lungenentnahme

Nach der Blutentnahme wurde der Thorax durch einen ca. 10 cm langen Querschnitt unterhalb des Xyphoids eröffnet, um von dort das Diaphragma stumpf durchstoßen zu können. Nach Freilegung des Brustbeins durch einen Skalpellschnitt wurde es mit der Säge geteilt und der Brustkorb eröffnet. Luftröhre, Speiseröhre und Gefäße wurden abgeklemmt und vor der Klemme abgesetzt. Erst bei der Intubation zur Beatmung wird die Klemme auf der Trachea entfernt. Nach Eröffnung der Pleurahöhle wurde die zusammengefallene Lunge auf Verwachsungen überprüft.

---

<sup>1</sup> Da für die Versuche verwendete Schweine nicht gebrüht wurden, musste die äußere Haut abgezogen werden. Dadurch entstand für den Schlachthof (Eberswalder Fleischwarenfabrik GmbH & Co. KG) ein personeller Mehraufwand und Verluste durch geringeres Ausschlachtgewicht. Die Entschädigung betrug je Schwein circa 160 DM.

<sup>2</sup> Liquemin N 25.000, Hoffman- La Roche, Grenzach- Wyhlen

Die Lunge wurde zusammen mit dem Herzen entnommen. Dazu wurden das Perikard und das Herz sternumseitig von der Brustwand abgehoben und der Herz-Lungen-Block wurde mit der Hand ausgelöst. Bevor die Lunge herausgehoben werden konnte, musste beidseitig das vom Ligamentum pulmonale ausgehende Lungenzwerchfellband durchtrennt werden.

### **3.2.2.1 Lungenmassen am Schlachthof**

Im Anschluss wurde die Masse des Herz-Lungen-Blocks ermittelt<sup>1</sup>. Alle später entfernten Gewebe wurden in einem luftdicht verschlossenen Plastikbeutel aufbewahrt. Ihre Masse wurde notiert, und nach Perfusionsende wurde dann die Lungenmasse - abzüglich der entfernten Gewebeteile - berechnet (Tab. 6). Weitere Lungenmassen wurden während der Perfusion bestimmt (Anhang Tab. 14).

Als native Lungenmasse [g] wird die berechnete Masse der Lunge nach der Entnahme bezeichnet (Tab. 6 und Anhang Tab. 14). Die konservierte Lungenmasse [g] ist die nach der Konservierung gewogene Lungenmasse (Tab. 6). Für Gruppe 3 und 4 wurden sowohl halbe als auch ganze Lungen für die Perfusion verwendet. Ihre Massen wurden in Tabelle 6 gesondert aufgeführt. Die Lungen der Gruppe 2 stammten von den jüngeren und leichteren Versuchstieren.

### **3.2.2.2 Kanülierung der Lungengefäße**

Um die Lungen für den Transport konservieren zu können, müssen sie zuvor kanüliert werden. Dafür wurden die Lungen in einer Schale mit 0,9%-iger Kochsalz-Lösung auf einen verschlossenen Eisbeutel gebettet. Durch einen Einschnitt in die rechte Herzkammer wurde die Spitze eines Absaugkatheters<sup>2</sup> bis in den Truncus pulmonalis vorgeschoben. Die rechte Kammer und der Absaugkatheter wurden vorher, zur Vermeidung von Luftembolie mit der jeweiligen Konservierungslösung gefüllt. Aufgrund der Steifheit des mit einer Metallspirale verstärkten Schlauches und des großen Durchmessers des Truncus pulmonalis konnte eine stabile und dichte Verbindung erreicht werden. Das Ligamentum arteriosum wurde zwischen Aorta und

---

<sup>1</sup> Waage, Firma Sartorius, Göttingen

<sup>2</sup> Absaugkatheter für Herz-Lungenmaschinen Bronchialis „s“ gerade 60 cm, Steridan, Hundestedt

Truncus pulmonalis durchstoßen. Durch diese Öffnung wurde ein 4,5 mm breiter Kabelbinder<sup>1</sup> um den Truncus pulmonalis mit darin liegendem Absaugkatheter gelegt und angezogen<sup>2</sup>. Der Absaugkatheter sollte tief im Truncus pulmonalis liegen und die sich aufteilenden Arteriae pulmonales nicht verlegen. Am Schlachthof wurden lediglich die arteriellen Gefäße kanüliert.

### 3.2.2.3 Konservierung der Lungen

Die entnommenen Lungen wurden unterschiedlich konserviert (Tab. 1 und 5). Die Konservierung erfolgte mit v. Baeyer II-Lösung (Gruppen 3 und 4), mit LPD-Lösung (Gruppe 5 und 6) und mit isotoner Kochsalzlösung (Gruppe 7). Die Lungen, die während der Narkose entnommen und unmittelbar danach in den Perfusionsaufbau verbracht wurden, wurden nicht konserviert (Gruppe 2).

Die Baeyer II-Konservierungslösung wurde nach der Rezeptur des Patentes (v. BAEYER, 1998) von der Firma Mediport<sup>3</sup> geliefert. Das Natrium-Kalium Verhältnis ähnelt den in der Transplantationsmedizin verwendeten Intrazellulärlösungen Euro Collins und University of Wisconsin.

Die Lungen der Gruppe 5 und 6 wurden mit LPD („low potassium dextran“)-Lösung<sup>4</sup> konserviert (Tab. 1 und 4). LPD wird mit reduziertem Kaliumgehalt und einem Dextrananteil hergestellt und ist eine Lösung, die den Ionenkonzentrationen der extrazellulären Flüssigkeit entspricht. Die LPD-Lösung wurde über die Apotheke der Charité, Campus- Virchow Klinikum, bezogen. Die Lungen der Gruppe 7 wurden mit isotoner Kochsalzlösung<sup>5</sup> konserviert (Tab. 1 und 4). Die während der Narkose entnommenen und unmittelbar danach perfundierten Lungen (Tab. 1 und 2) wurden nicht konserviert (Gruppe 2). Diese Lungen entsprechen mit minimaler Ischämiezeit

---

<sup>1</sup> Kabelbinder 4,5 mm x 120 mm, Allplastik Blitzbinder, Herrenberg

<sup>2</sup> Cable tape gun KTK KBZ 817, ktk-technik, Emskirchen

<sup>3</sup> Mediport Biotechnik Berlin

<sup>4</sup> Perfadex®

<sup>5</sup> Kochsalzlösung 0.9%, Braun, Melsungen

(Tab. 7) der Entnahme vom lebenden Spender (GRECO et al., 1999), im Gegensatz zum herztoten Spender bei der Lungenentnahme am Schlachthof (Tab. 1; 2 und 8).

Am Schlachthof wurden direkt im Anschluss an die Entnahme pulmonal arteriell in die Lungen je zwei Liter auf 4°C temperierte Konservierungslösung blasenfrei infundiert (GROSSE-SIESTRUP et al., 2002 a). Über ein Infusionsbesteck<sup>1</sup> wurde der für die Kanülierung verwendete Absaugkatheter mit der Infusionsflasche verbunden. Die Infusionsflasche mit der Konservierungslösung wurde einen Meter über der auf Bodenniveau gelagerten Lunge gehalten. Die Rollklemme wurde geöffnet, um die Konservierungslösung in die Lungenarterien einlaufen zu lassen. Pulmonal venös blieb der Gefäßabfluss geöffnet, pulmonal arteriell wurde das verbundene Schlauchset nach Beendigung der Konservierung jedoch zugeklemmt, um eine Luftembolie zu vermeiden.

Ab wann die Konservierung in der gesamten Lunge erfolgte, hing von der Infusionsdauer der Konservierungslösung in das Organ ab. Die Zeiten für den Konservierungsvorgang sind in Tabelle 7 mit der Bezeichnung „Dauer der Konservierung“ zusammengefasst.

---

<sup>1</sup> Schlauchset: Katheter für Herzlungenmaschinen, Stöckert Instrumente, München

**Tab. 5** Zusammensetzung der Konservierungslösungen und des Dialysates<sup>1</sup>

	<b>v. Baeyer<sup>1</sup> II</b>	<b>LPD (Perfadex®)</b>	<b>NaCl 0,9%</b>	<b>Dialysat<sup>1</sup></b>
Na <sup>+</sup> , mmol/l	<b>22</b>	<b>138</b>	154	130,5
K <sup>+</sup> , mmol/l	<b>150</b>	<b>6</b>		4
Mg <sup>2+</sup> , mmol/l	10	0,8		1
Cl <sup>-</sup> , mmol/l	10	142	154	115
Ca <sup>2+</sup> , mmol/l				1,5
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mmol/l	85	0,8		
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mmol/l	6	0,3		
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , mmol/l		0,5		0,5
HCO <sub>3</sub> , mmol/l				20
Dextran 40, mmol/l		1,3		
Glucose mmol/l		50		8
Saccharose mmol/l	40			
PEG 4000 <sup>2</sup> mmol/l	25			
Harnstoff mmol/l				5
Kreatinin, µmol/l				0,5
<b>Osmolarität, mosmol/l</b>	<b>283</b>	<b>288</b>	<b>300</b>	<b>272,5</b>

<sup>1</sup> Konservierungslösung- v. Baeyer II und das Dialysat wurden hergestellt und geliefert durch Mediport Biotechnik Berlin.

<sup>2</sup> Das Molekulargewicht von Polyethylenglykol (PEG) schwankt zwischen 3500 und 4500 g/mol.

**Tab. 6** Massen der Lungen bei Entnahme aus dem Tierkörper und nach Konservierung

	Native Lungenmasse [g]		Konservierte Lungenmasse [g]	
	Halbe Lunge	Ganze Lunge	Halbe Lunge	Ganze Lunge
(Gruppe 2)	- -	231±96 N = 6	- -	Nicht konserviert
(Gruppe 3)	321±112 N = 5	600 N = 1	204; 464 N = 2	750 N = 1
(Gruppe 4)	547±73 N = 4	770; 970 N = 2	440; 540 N = 2	1170 N = 1
(Gruppe 5)	- -	648±211 N = 6	- -	865±355 N = 6
(Gruppe 6)	- -	963±111 N = 6	- -	1018±160 N = 6
(Gruppe 7)	- -	981±275 N = 6	- -	1030±365 N = 6

Zu Tab. 6

Für den Vergleich:

- der in vitro Perfusion an je 6 Lungen vom Versuchstier und vom Schlachthof (Kap. 4.6.4) wurde in Gruppe 2 eine geringere native Lungenmasse gegenüber Gruppe 5 festgestellt ( $p < 0,01$ ; Mann-Whitney-U-Test).
- der in vitro Perfusion 6 makroskopisch unauffälliger und 6 verdächtiger Lungen (Kap. 4.6.1) wurde in Gruppe 3 (N=5 Lungenhälften) eine geringere native Lungenmasse gegenüber Gruppe 4 (N=4 Lungenhälften) festgestellt ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney-U-Test).
- der in vitro Perfusion an je 6 Lungen von in der Lebendbeschau unauffälligen und verdächtigen Tieren (Kap. 4.6.2) wurde in Gruppe 5 eine geringere native Lungenmasse gegenüber Gruppe 6 festgestellt ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney-U-Test).
- der in vitro Perfusion von je 6 unterschiedlich konservierten Lungen (Kap. 4.6.5) wurde in Gruppe 5 eine geringere native Lungenmasse gegenüber Gruppe 7 festgestellt ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney-U-Test). Aufgrund der Perfusion halber und ganzer Lungen in Gruppe 3 gingen deren Gewichte nicht in diese statistische Untersuchung ein.

Der Wilcoxon-Test für verbundene Paare stellte lediglich für Gruppe 5 eine Zunahme der Lungenmasse durch die Konservierung heraus ( $p = 0,03$ ). Jedoch zeigte die Paarung nach Wilcoxon für alle Lungen der Gruppen 5, 6 und 7 mit im Mittel  $864 \pm 253$  g eine Zunahme ( $p = 0,02$ ) dieser Lungen durch die Konservierung auf  $971 \pm 299$  g.

### 3.2.2.4 Qualität der entnommenen Lungen

Nach den Erfahrungen der Vorversuche zu den Perfusionsversuchen wurde deutlich, dass über die vorgeschriebene Lebendbeschau hinaus für die Auswahl der Lungen für die Perfusion weitere Auswahlkriterien notwendig sind. Die hohe Rate endemischer pulmonaler Infektionen und auch die stressbedingte Kreislaufanfälligkeit erschweren die Auswahl von geeigneten Organen für wissenschaftliche Experimente bei Schweinen aus landwirtschaftlichen

Nutztierbeständen. Deshalb wurde die Auswahl der Lungen (Tab. 1) am Schlachthof nach diagnostischen Kriterien standardisiert. Die Einflüsse geringgradiger Organ- und Verhaltens- Veränderungen, die unter praxisnahen Bedingungen übersehen werden könnten, wurden untersucht. Daraus resultierten die in Tabelle 1 gezeigten Kriterien für die Einteilung der Lungen in die Versuchsgruppen:

- a) Makroskopisch unauffällige Lungen von in der Einstellungsuntersuchung bzw. Lebendbeschau symptomfreien Tieren (Gruppen 2, 3, 5 und 7)
- b) Makroskopisch verdächtige Lungen (Gruppe 4)
- c) Lungen von Tieren mit in der Lebendbeschau verdächtiger Symptomatik (Gruppe 6)

▪ **Makroskopisch unauffällige Lungen nach symptomfreier Einstellungsuntersuchung bzw. Lebendbeschau (Gruppen 2, 3, 5 und 7)**

Dieses Kriterium wurde als vorläufiger Standard definiert. Die in der Lebendbeschau als unauffällig definierten Schweine verhielten sich überwiegend ruhig und zeigten neugieriges Erkundungsverhalten während der Untersuchung. Auf stärkere Reize reagierten sie lebhaft bis aufgeregt. Die Atemfrequenz befand sich unter 16 [1/min], und es konnten keine Atemgeräusche auskultiert werden. Die Herzfrequenz lag um 90 Schläge pro Minute. Bei der Präparation kollabierten die Lungen deutlich, ließen sich leicht auslösen und zeigten eine leichte Fältelung der Pleura. Auch die der Brustwand anliegende Serosa war feucht, glatt und glänzend. Die Lungen waren rosafarben, deutlich gelappt, von homogen puffig-elastischer Konsistenz und scharfrandig. Die Herzen waren stumpfkegelförmig. Die Lymphknoten waren beige- bis ockerfarben, erbsengroß und von derb-elastischer Konsistenz. Es kann daher von einer nicht-entzündlichen Lungensituation ausgegangen werden.

▪ **Makroskopisch verdächtige Lungen nach symptomfreier Lebendbeschau (Gruppe 4)**

Die der Gruppe 4 zugeordneten Lungen wiesen definiert makroskopisch sichtbare pathologische Befunde auf (Tab. 1). Die Schweine, von denen diese Lungen entnommen wurden, waren in der Lebendbeschau unauffällig<sup>1</sup>. Als makroskopisch auffällig wurden die folgenden Lungenbefunde definiert: Die makroskopisch verdächtigen Lungen durften bei der Entnahme schlechter kollabieren als die

---

<sup>1</sup> Untersuchung in der Lebendbeschau s.h. unter makroskopisch unauffällige Lungen nach symptomfreier Lebendbeschau

makroskopisch unauffälligen Lungen oder maximal vier leicht ablösbare Verwachsungen der Serosa aufweisen. Die Serosa der Lungen durfte matt oder die Lunge gerötet erscheinen. Bei der Adspektion und Palpation der Lungen durften maximal vier in Farbe, Struktur und/oder Konsistenz veränderte Bezirke aufgefunden werden. Farb- und Konsistenzänderungen der Lymphknoten, (weiße, hell- bis dunkelrote oder schwarze Färbung) sollten ebenfalls zu einer Zuordnung in Gruppe 4 führen.

Die Lungen wurden dem Kriterium makroskopisch verdächtige Lungen nach symptomfreier Lebendbeschau zugeordnet,

- da eine Lunge von drei Knoten durchsetzt war
- der kranioventrale Bereich einer anderen Lunge wies drei dunkelrote atelektatische Läppchenbezirke neben einem emphysematösen Läppchen auf
- bei einer weiteren Lunge gab es an vier Stellen Pleuraverwachsungen
- an noch einer Lunge fanden sich verteilt drei, maximal bis fünfmarkstückgroße, karnifizierte Bereiche
- eine der Lungen kollabierte bei der Entnahme nur mäßig
- bei der letzten Lunge war die Farbe von zwei sulzigen bis pflaumengroßen Lymphknoten hellrot

▪ **Lungen von Tieren mit in der Lebendbeschau verdächtiger Symptomatik (Gruppe 6)**

Bei der Lebendbeschau wurde auf Verhaltensanomalien geachtet und ihre pathologische Relevanz überprüft. Das Kriterium „in der Lebendbeschau verdächtige Tiere“ war durch folgende Befunde definiert: Die Tiere wurden Gruppe 6 dann zugeordnet, wenn sie in der Lebendbeschau durch hundesitzige Haltung, aufgekrümmten Rücken, fehlende Oberflächensensibilität der Rückenmuskelpartie, Hinterhandschwäche, apathisches Verhalten, Schnappatmung oder Zyanosen auffällig waren und/oder wenn die physiologische Herzfrequenz die Erfahrungswerte für Ruhe/Stress überschritt<sup>1</sup>. Wegen dieser Voraussetzungen konnten Lungen von Tieren mit Verdachtsmomenten in der Lebendbeschau Organveränderungen aufweisen, wie einen dilatierten Herzventrikel oder ein geringgradiges Lungenödem. Die Lymphknoten durften keine Anzeichen einer Aktivierung aufweisen.

---

<sup>1</sup> Herzfrequenzen in Ruhe > 100 und in Aufregung > 200 [1/min]

Entsprechend der Definition wurden alle Tiere, die in der Lebendbeschau nach den beschriebenen Symptomen verdächtig waren, der Gruppe 6 zugeordnet. Im einzelnen wurden bei den Tieren, die Gruppe 6 zugeordnet wurden folgende Befunde erhoben: Eines der Tiere lag häufig, die anderen wählten meist eine hundesitzige Körperhaltung. Alle Tiere hatten eine erhöhte Herzfrequenz um 200 [1/min] und palpatorisch im Vergleich zu anderen Schweinen eine erhöhte Oberflächen-temperatur. Zwei der sitzenden Tiere zitterten im Bereich der Hinterhand und atmeten mit erhöhter Frequenz. Ein sitzendes und das liegende Schwein waren zyanotisch. Vier Lungen wurden makroskopisch als unverändert befunden. Eine Lunge war leuchtend rot verfärbt, sie wies an drei Stellen blutige Imbibitionen auf. Die Lunge war nicht vollständig in sich zusammengefallen, da die Oberfläche nicht die typische Fältelung aufwies. Zwei Tiere hatten ein dilatiertes Herz trotz makroskopisch befundfreier Lunge. Die Lymphknoten waren beige-ockerfarben, erbsengroß und von derb- elastischer Konsistenz. Es kann daher von einem nicht-entzündlichen Geschehen ausgegangen werden.

▪ **Bedeutung der Organinspektion für die Auswahl der Lungen für die Perfusionen**

Verletzungen an den Lungen und Probenahme für die Histologie führten zu Blutungen und damit fehlgeschlagenen Versuchen. Dieses Problem trat kaum noch auf, nachdem für den Verschluss des Gebietes nach Probenahme eine Methode gefunden wurde. Die Versiegelung nach Trocknung erfolgte mit einem Sekundenkleber auf Basis von Cyanoacrylat<sup>1</sup>. Nach gründlichem Abtrocknen dieser Stellen wurde ein dünner, deckender Film des Klebers aufgetragen, und es wurde gewartet bis der Klebstoff aushärtete. Diese Technik wurde auch bei Verletzungen der Lunge angewendet.

### **3.2.2.5 Transport und Dauer der Konservierung**

Die Lungen mussten 73 km vom Schlachthof in Britz/Eberswalde in die Tierexperimentelle Einrichtung der Charité gebracht werden. Die Fahrzeit betrug durchschnittlich 75 Minuten.

---

<sup>1</sup> Super Glue®, Melco, Bremen

Als kalte Ischämie ist die Dauer der Konservierung (Zeit der konservierten Aufbewahrung) anzusehen. Die kalte Ischämie endete mit dem Ausspülen der Konservierungslösung durch isotone Kochsalzlösung während der "warmen Ausspülung" im Labor. Konservierungszeitraum und Dauer der Lungenentnahme unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen (Tab. 7). Demgegenüber war die Geschwindigkeit, mit der die Konservierungslösung einlief, für mit v. Baeyer II-Lösung konservierte Lungen (Gruppen 3 und 4) deutlich langsamer als für alle anders behandelten Lungen (Gruppen 5, 6 und 7).

**Tab. 7** Ischämiezeiten der Lungen

Ischämiezeiten (MW±SD) (Median)	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	Gruppe 6	Gruppe 7
Dauer der Lungenentnahme [min]	entfällt	18,5±5,5 17	16,4±5,1 14	14,5±4,8 14	11,1±4,1 9	11,8±2,6 11	14,3±3,1 14
Einlaufen der Konservierungslösung [min]	entfällt	entfällt	29,2±9,4 35	21,5±16,5 17	4,4±0,9 5	3,3±1,4 4	4,2±0,8 4
Konservierungszeitraum [min]	entfällt	entfällt	290±60 263	304±85 293	270±42 270	314±81 293	290±26 288

Zu Tab. 7

Es konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen für die Dauer der Lungenentnahme (Gruppen 2-7) und für den Konservierungszeitraum (Gruppen 3-7) nachgewiesen werden. Bei den Messungen in vivo (Gruppe 1) gab es keine Ischämie und die Lungen der Gruppe 2 wurden weder aufbewahrt noch konserviert. Dargestellt wurden die jeweils in den Gruppen gemessenen Zeiten (N=6). In Gruppe 3 fehlten die Zeitmessungen einer Lunge; in Gruppe 4 wurde an 2 Lungen das Einlaufen der Konservierungslösung nicht gemessen.

Gruppenweise Gegenüberstellung:

Die Dauer der Lungenentnahme, das Einlaufen der Konservierungslösung und der Konservierungszeitraum in Gruppe 3 und 4 war nicht verschieden ( $p=0,8$ ; Mann-Whitney-U-Test).

Die Dauer der Lungenentnahme in Gruppe 5 und 6 war nicht verschieden ( $p=0,04$ ; Mann-Whitney-U-Test)

Die Dauer der Lungenentnahme in Gruppe 2 und 5 war verschieden ( $p=0,04$ ; Mann-Whitney-U-Test).

Die Dauer der Lungenentnahme und der Konservierungszeitraum in Gruppe 3, 5 und 6 waren nicht verschieden ( $p>0,05$ ; Kruskal-Wallis-Test). Das Einlaufen der Konservierungslösung war für Gruppe 6 und 5 nicht verschieden, jedoch für Gruppe 3 und 5 ( $p<0,05$ ), sowie für Gruppe 3 und 7 ( $p<0,01$ ; Kruskal-Wallis-Test und mehrfach Vergleichstest nach Dunn).

### 3.2.3 Perfusionsaufbau (Abb. 1)

Der Aufbau (Abb. 1) erlaubt eine Perfusion der Lunge mit autologem Vollblut und eine Beatmung über das Beatmungsgerät. Die Werte der Atemmechanik konnten von der Anzeige des Beatmungsgerätes abgelesen werden und wurden für unsere Versuche wie dort beschrieben eingestellt.

In Abb. 1 ist die Flussrichtung von pulmonal venösem Blut (rot = von der Lunge weg), von pulmonal arteriellem Blut (blau = auf die Lunge zu) und Dialysat (gelb) durch Pfeile gekennzeichnet. Unmittelbar dem Lungenkreislauf vor- und nachgeschaltet befinden sich die Drucksonden und Blutentnahmestellen.

Die Drücke im Perfusionskreislauf wurden vom Hewlett- Packard Monitor über Module<sup>1</sup> angezeigt. Blutgas-, Oximetrie, Elektrolyt- und Metabolitbestimmungen erfolgten in der Gerätekombination aus Blutgasanalysegerät und Hemoximeter<sup>2</sup>.

Dem Blutkreislauf im Perfusionsaufbau steht als Flüssigkeitsreservoir ein Dialysatkreislauf gegenüber (Abb. 1). Dialysat- und Blutkreislauf waren über ein Dialyse- Hohlfasermodule<sup>3</sup> miteinander verbunden. Blut und Dialysat wurden getrennt durch eine permeable Membran im Gegenstrom aneinander vorbeigeleitet. Das Dialysat (Tab. 5) diente dem Aufrechterhalten der pH-Werte in der Perfusionslösung und der Bluttemperatur.

Die Deoxygenierung wurde mit einem Plattenmembran- Oxygenator<sup>4</sup> erreicht. Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) Begasung wurden getrennt dosiert und über die Membran an das Blut abgegeben.

Der Dialysatkreislauf wurde aus einem 10 Liter fassenden und mit 3 Litern Dialysatflüssigkeit (Tab. 5) gefüllten, Plexiglaszylinder<sup>5</sup> gespeist. Der Volumenstrom im Dialysatkreislauf wurde von einer Rollenpumpe<sup>6</sup> 1 auf 2 l/min eingestellt und regelte über einen Thermostat gesteuerten Wärmetauscher<sup>7</sup> die Bluttemperatur auf durchschnittlich 37,5°C (kontrolliert über Temperaturfühler der Swan- Ganz- Sonde). Die Lunge ist in einem körperwarm temperierten<sup>8</sup> Wasserbad<sup>9</sup> mit isotonem Kochsalzgehalt gelagert. Um Massenmessungen der Lunge während des Versuches durchführen zu können, ist über dem Wasserbad an einem Galgen eine elektronische Hängewaage<sup>10</sup> befestigt. Der Blutbeutel<sup>11</sup> wurde an der Waage aufgehängt und hatte einen Abgang für die pulmonal- arterielle Blutzufuhr. Über eine

---

<sup>1</sup> Druckmodul 1006 BT für Monitor Hewlett-Packard Modell 66S, Hewlett- Packard, Houston, Californien, USA

<sup>2</sup> BGA- Messgerät, Radiometer Copenhagen ABL 5 und Hemoximeter Radiometer Copenhagen OSM 3, Radiometer Copenhagen, Brønshøj, Dänemark

<sup>3</sup> Dialyse- Hohlfasermodule F7 low flux modul, Fresinus AG, Bad Homburg

<sup>4</sup> COBE VPCML PLUS, Cardiovascular inc., Lakewood, Colorado, USA

<sup>5</sup> Mediport Biotechnik, Berlin

<sup>6</sup> Doppelkopfpumpen Multiflow, Typ 10-00-00, Stöckert Instrumente, München

<sup>7</sup> Kapillarwärmetauscher, Eigenbau, Mediport Biotechnik, Berlin

<sup>8</sup> Wasserheizer und Temperaturfühler HP, JULABO Labortechnik GmbH, Seelbach

<sup>9</sup> Plexiglasbehälter, Mediport Biotechnik, Berlin

<sup>10</sup> Firma Sartorius, Göttingen

<sup>11</sup> Leerblutbeutel Biopack- Compoflex mit Einstichdorn Art. Nr. P4162, Biotrans GmbH, Dreieich

Rollerpumpe<sup>1</sup> 2 wurde das Blut aus dem Blutbeutel in das Dialysem modul befördert. Der Volumenstrom betrug maximal 0,5 l/min. Vom Dialysem modul wurde das Blut über eine weitere Rollerpumpe<sup>12</sup> 3 in den “De“-Oxygenator eingespeist und über eine Luftfalle<sup>2</sup> an der pulmonal arteriellen Druckmessung und Abnahmestelle vorbei in die Lunge gepumpt. Um die Blutschädigung gering zu halten, bestand das Schlauchsystem aus Silikonschläuchen<sup>3</sup>. Vom Sog der Rollerpumpe 2 wurde vor dem Blutbeutel das pulmonal venöse Blut (von der Lunge kommend) wieder in den Blutbeutel zurück transportiert. Zwischen Lunge und Blutbeutel befand sich eine Einheit zur Blutabnahme und zur Messung des pulmonal venösen Partialdruckes.

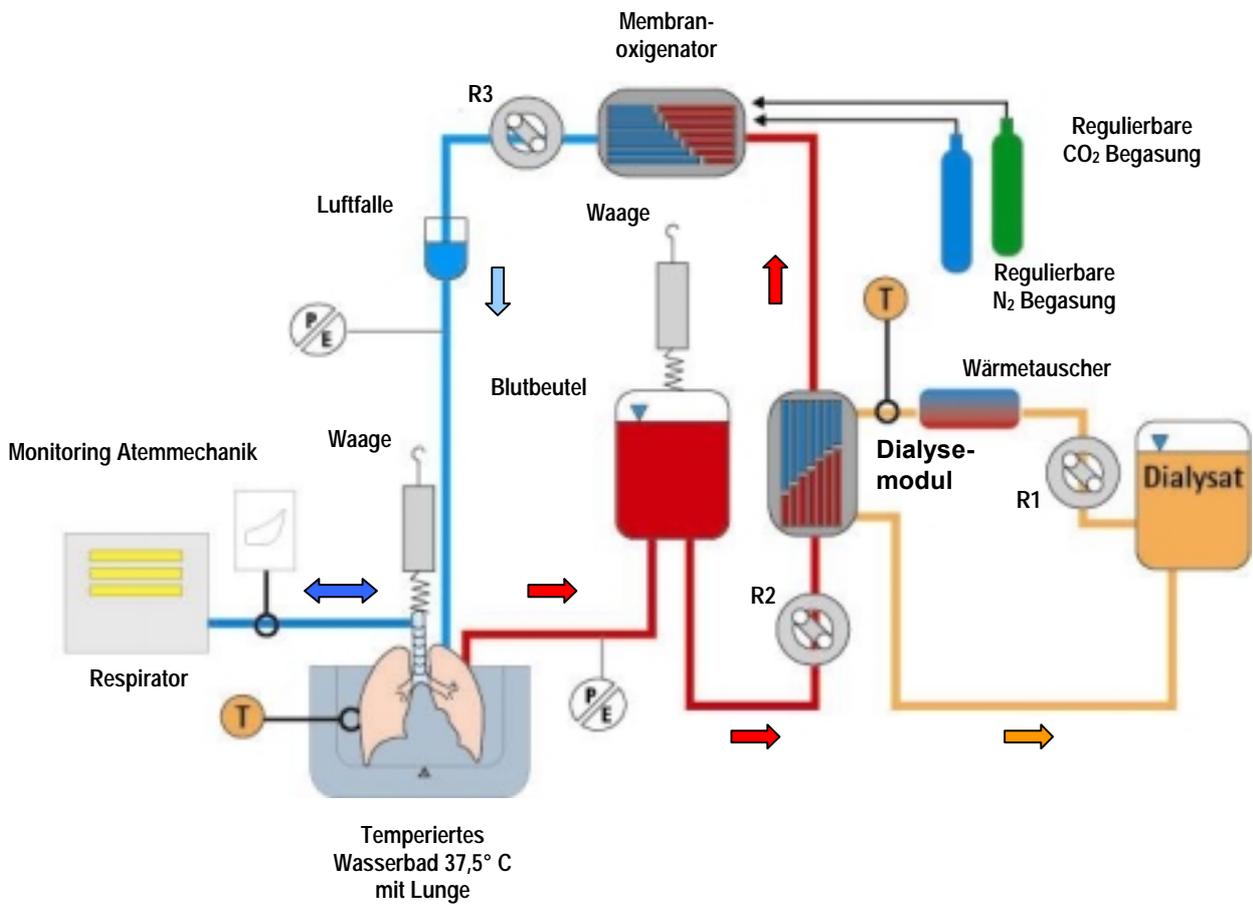
---

<sup>1</sup> Doppelkopffrollenpumpe Stöckert Multiflow 10-20-00, München

<sup>2</sup> Schlauchset, Herzlungenmaschinen, Stöckert Instrumente, München

<sup>3</sup> Durchmesser 5/16" und 3/8", Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, USA

**Abb. 1** Der Perfusionsaufbau



Zu Abb. 1:

➔ Flussrichtung des pulmonal- arteriellen Blutes

➔ Flussrichtung des Dialysates

➔ Flussrichtung des pulmonal- venösen Blutes

↔ Atemgas (im Zeitraum von 0 bis 45 Minuten wurde, ausgehend von 100% Sauerstoff, das Atemgasverhältnis auf Raumluftniveau abgesenkt)

R1 = Rollenpumpe 1

R2 = Rollenpumpe 2

R3 = Rollenpumpe 3

P/E = Anschlüsse der Drucksonden und Abnahmestellen für pulmonal- arterielles und pulmonal- venöses Blut

T = Temperaturanzeigen

### 3.2.4 Lungenperfusion

#### ▪ **Aufbereitung der Lunge im Labor**

Die Lungen wurden vom Schlachthof Eberswalde in das Labor der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité transportiert. Hier wurden die Perfusionsversuche durchgeführt. Nach Ankunft wurde die Stabilität der Fixierung des Truncus pulmonalis durch den Kabelbinder überprüft und nötigenfalls korrigiert. Der linke Vorhof wurde kanüliert, und die linke Herzkammer wurde abgesetzt. Bei Verwendung eines starren, weitleumigen Absaugkatheters konnte die Vorhofmuskulatur mit einem Kabelbinder sicher und schnell auf dem Katheter fixiert werden.

Einige Versuche der Gruppen 3 und 4 wurden nur an halben Lungen durchgeführt (Tab. 6). Bei der Kanülierung der einzelnen Lungenflügel mussten die Arteriae und Venae pulmonalis dargestellt werden. Je nachdem, wie das Herz abgesetzt wurde, und auch wie viele Gefäßabzweigungen vorhanden waren, mussten am rechten Lungenflügel 1-3 Arterien und Venen oder am linken 1-2 Arterien mit mehreren Infusionsschläuchen<sup>1</sup> kanüliert werden. Die Gefäße wurden umstochen, und die Infusionsschläuche wurden eingebunden<sup>2</sup>. Die Trachea wurde mit einem Trachealtubus intubiert und fixiert<sup>3</sup>.

Das Blut aus den Blutkonserven vom Schlachthof wurde über ein Transfusionsbesteck mit 200µm Filter<sup>4</sup> in die Blutbeutel umgefüllt. Es wurde eine Blutanalyse vorgenommen. Die Messwerte wurden als Ausgangswert und als Orientierung für die Equilibrierung herangezogen.

#### ▪ **Perfusionsvorlauf und "warmes Spülen"**

Bevor die Lunge in den Versuchsaufbau integriert werden konnte, wurde der Aufbau in einer Vorlaufzeit mit isotoner Kochsalzlösung betrieben. Dadurch wurden alle Teile des Aufbaus, die später von Blut durchflossen wurden, benetzt und auf die Betriebstemperatur von 37,5 °C aufgewärmt. Dieses Vorgehen sollte eine verstärkte Hämolyse verhindern. Die Lunge wurde pulmonal-arteriell blasenfrei mit den Konnektoren verbunden. Gleichzeitig erfolgte der Anschluss des Trachealtubus an

---

<sup>1</sup> Infusionsschlauch R 87 plus P Luer-Lock IG-P, Ohmeda GmbH

<sup>2</sup> Vicryl, 4-metric, Ethicon, Norderstedt

<sup>3</sup> Kabelbinder 4,5 mm x 120 mm, Allplastik Blitzbinder, Herrenberg

<sup>4</sup> Sangofix ES, B Braun, Melsungen

das Beatmungsgerät. Die restliche Konservierungslösung wurde mit einem Liter isotoner Kochsalzlösung innerhalb von 3 Minuten aus der Lunge gespült. Mit dem Anschließen des Blutbeutels begann die Perfusion. Die im pulmonal-arteriellen Schlauchsystem befindliche Kochsalzlösung wurde durch das nachfließende Blut verdrängt. Um abschätzen zu können, wann das Vorlaufmedium vollständig ausgetreten war, wurde es in einem Messgefäß aufgefangen (Tab. 4).

Nachdem die gesamte Menge 0,9%iger Kochsalzlösung ausgeflossen war und das Blut in gewünschter Konsistenz nachlief, wurde die Lunge in den Kreislauf integriert. Dabei wurden die pulmonal-venösen Konnektoren luftblasenfrei verbunden und damit der Perfusionskreislauf geschlossen.

### **3.2.5 Equilibrierung im Perfusionskreislauf**

#### **3.2.5.1 Drücke**

Im Lumen der Gefäßzugänge und -abgänge der Lunge befanden sich die Drucksonden<sup>1</sup>. Der pulmonal arterielle (PAP), der pulmonal venöse (PVP) Blutdruck und der zentralvenöse Blutdruck in vivo [kPa] wurden über ein Druckmodul<sup>2</sup> angezeigt. Die Eichung der Drücke erfolgte über einen Null- Abgleich auf Höhe des Lungenhilus.

#### **▪ Pulmonal arterieller Druck**

Das Durchflussvolumen des Blutes während der Perfusionen (Abb. 4) wurde am pulmonal arteriellen Druck (PAP) ausgerichtet. In der Anlaufphase wurde der Fluss erhöht, woraufhin der PAP kurzfristig stark anstieg, um sich dann wieder auf den Ausgangswert einzupendeln. Für unser Modell, mit nicht pulsatilen Flüssen, wurde ein PAP von 3,3 kPa angestrebt. 4 kPa sollten nicht überschritten werden. Der Blutfluss wurde kontinuierlich auf den für jede Lunge existierenden individuellen Grenzwert bei einem PAP von 3,3 kPa angehoben (Abb. 2). Bei Überschreiten dieses Grenzwertes stieg der Druck ohne rückläufige Tendenz sprunghaft an (Versuche zur technischen Modellentwicklung, Kap. 3.1). In der Zeit zwischen 0 bis 45 Minuten der Perfusion wurde versucht, den höchst möglichen Fluss bei einem

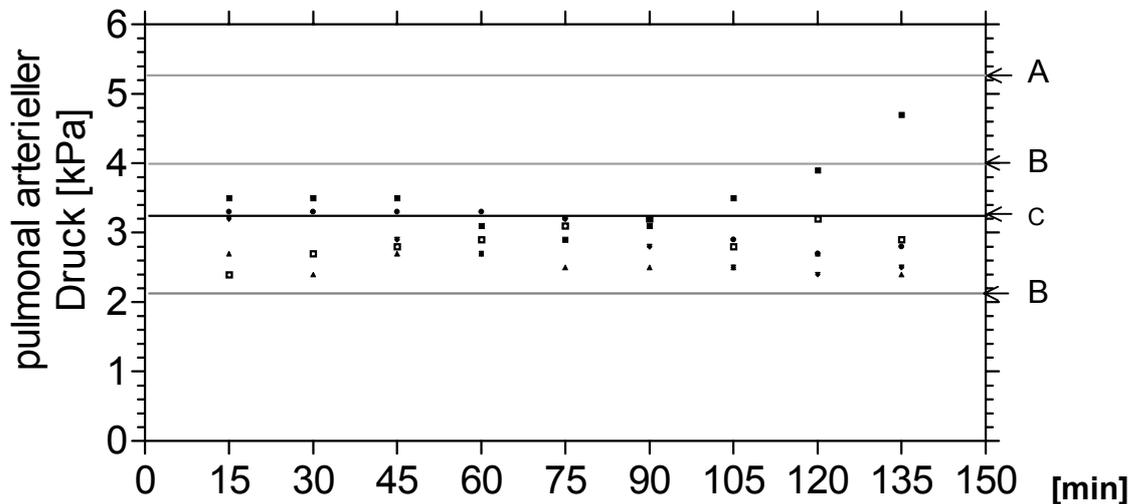
---

<sup>1</sup> Swan-Ganz®-VIP Katheter 5F 0,5 cc CAP, 993-132-5F, Baxter Healthcare Corporation, Irvine, USA

<sup>2</sup> Druckmodul 1006 BT für Monitor Hewlett-Packard Modell 66S, Hewlett-Packard, Houston, Californien, USA

mittleren Druck von 3,3 kPa zu erreichen (Abb. 2). Der PAP lag im Mittel aller Perfusionen bei  $3,12 \pm 0,78$  kPa.

**Abb. 2** Der pulmonal arterielle Druck über 135 min Perfusion



Zu Abb. 2

Beispiel für den pulmonal arteriell eingestellten Druck in Gruppe 5 (N=6).

A: Von Wachtel (1963) ermittelter physiologischer mittlerer systolischer Blutdruck in der A. pulmonalis <sup>1</sup>beim Schwein.

B: Für die Lungenperfusion festgelegte obere und untere Grenzwerte des PAP, die nicht über- bzw. unterschritten werden sollten.

C: Für die Perfusion angestrebter PAP.

#### ▪ Pulmonal venöser Druck

Die Aufhängung des Blutbeutels an einem Stativ erlaubte es, durch Höhenverstellung den pulmonal venösen Druck (PVP) [kPa] zu beeinflussen. Der mit einem Einschwemmkatheter im linken Atrium gemessene mittlere Druck der narkotisierten Schweine wurde als vergleichbar mit dem pulmonal venösen Druck der in vitro Perfusion (PVP) angenommen.

#### ▪ Pulmonal- kapillärer Verschlussdruck

Nach Erhebung aller Daten am Ende eines Messintervalls wurde der pulmonal kapilläre Verschlussdruck (PCP) nach TOWNSLEY et al., (1986) gemessen. Gleichzeitig wurde pulmonal arteriell direkt vor und pulmonal venös hinter der Druckabnahmestelle der für das Blut zu- bzw. abführende Silikonschlauch

abgeklemmt (dabei mussten die Pumpen kurzfristig abgeschaltet werden, um ein Platzen der Schläuche zu vermeiden). PAP und PVP equilibrierten sich in Sekundenschnelle. Mit Hilfe des PCP ließen sich in unserem Modell Widerstände in der Lunge differenzierter beschreiben. Der PCP wurde bei den narkotisierten Schweinen nicht gemessen. Bei der Verwendung der Lungen aus diesen Tieren in Gruppe 2 sollten möglicherweise schädigende Auswirkungen der „double occlusion“ Technik ausgeschlossen werden. Die Konsequenzen für das Organ durch die Equilibrierung von PAP und PVP infolge dieser „double occlusion“ Messung sind nicht bekannt.

### 3.2.5.2 Atemmechanik

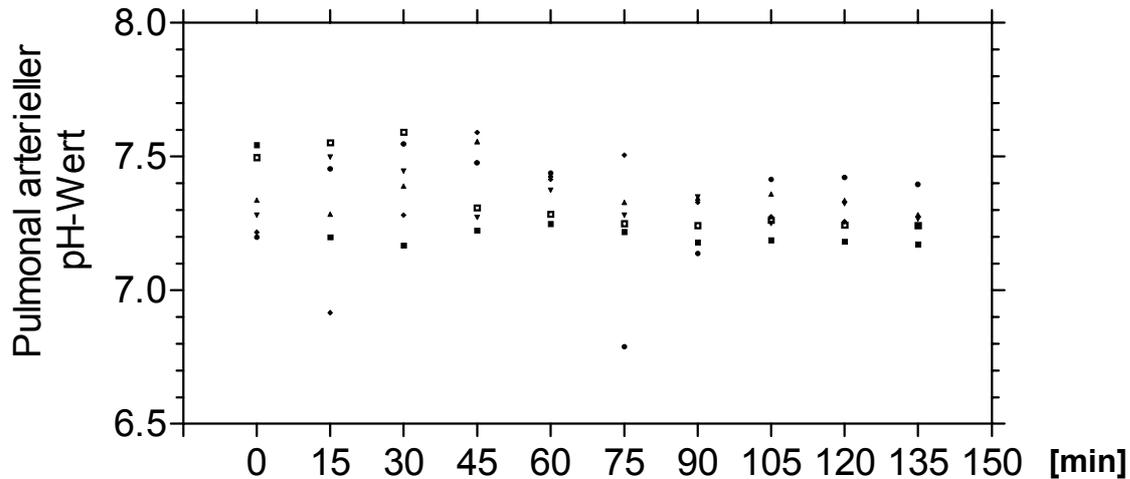
Die Atemfrequenz war für alle Versuche auf 16 [1/min] bei einem Atemminutenvolumen (AMV) von  $7 \pm 0,1$  [l/min] und auf einen Quotienten Expiration zu Inspiration von 0,33 eingestellt. Beim Start der Perfusion wurde mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) von zunächst 100% beatmet und anschließend von 21%. Dieser Wert wurde bis zum Ende der Perfusion beibehalten. Der pulmonale endexpiratorische Druck (PEEP) betrug 0,8 [kPa]. Der Spitzendruck wurde vom Beatmungsgerät<sup>1</sup> gemessen [kPa].

### 3.2.5.3 pH- Wert

Der pulmonal arterielle pH wurde durch Modulation der CO<sub>2</sub> Begasung im Mittel zwischen 7,3 und 7,35 gehalten (Abb. 3 und 9). Veränderungen des CO<sub>2</sub> Einstroms in das Blut zwischen 20 und 80 ml/min beeinflussten die Nachkommastellen des pH-Wertes. Der Gesamtfluss der CO<sub>2</sub> Begasung variierte zwischen 10 und 300 ml/min. Er betrug im Mittel 115 ml/min. Insbesondere bei niedrigen Blutflüssen war es schwer den Blut pH über den CO<sub>2</sub> Einstrom zu regulieren. Der pH konnte durch Gaben von 30 bis 100 ml 8,4 prozentigem Natriumbicarbonat in das Dialysat oder in das Blut angehoben werden.

---

<sup>1</sup> Servo 900 D, Siemens, München

**Abb. 3** Der pulmonal arterielle pH-Wert über 135 min Perfusion

Zu Abb. 3

Beispiel für den pulmonal arteriell eingestellten pH-Wert in Gruppe 5 (N=6).

#### 3.2.5.4 Elektrolyte

Auf die Ionengehalte im Blut konnte von der Dialysatseite her Einfluss genommen werden. Mit Gaben von Natriumbicarbonat, Kalium oder Kalzium konnten die Ionengehalte im Blut eingestellt werden.

#### 3.2.5.5 Hämatokrit

Massenänderungen des Blutes im Blutbeutel machen auf Nettoflüssigkeitsverschiebungen aufmerksam. Die Rollenpumpe 3 zwischen Dialysem modul und Oxygenator kann zur Regulation des Hämatokrit verwendet werden (Abb. 1). Ist ihre Pumpleistung höher eingestellt als die der Rollenpumpe 2, wurde das Blut verdünnt und der Hämatokrit gesenkt. Eine niedrigere Pumpleistung bewirkte eine Hämatokriterhöhung.

#### 3.2.5.6 Deoxygenierung

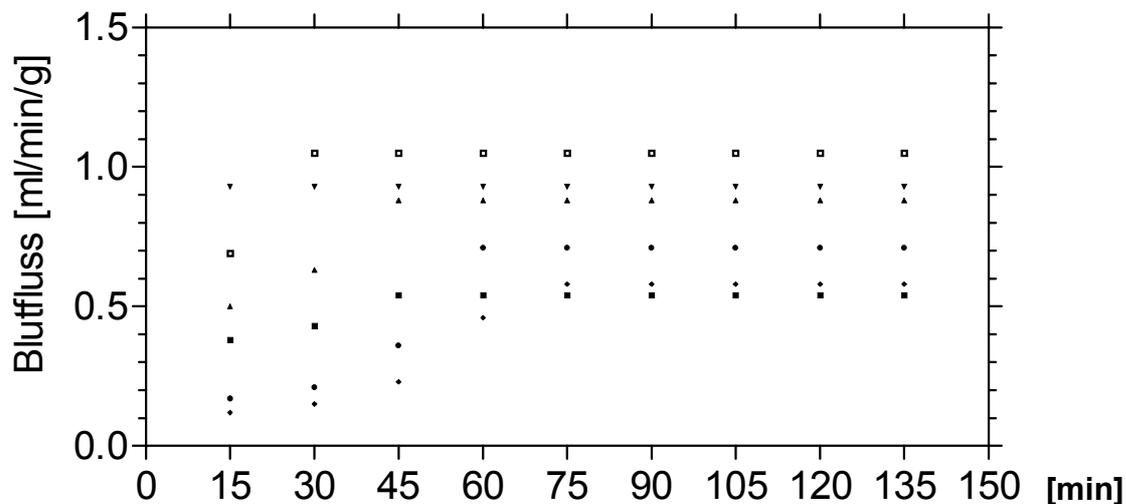
Ein Flussmesser zeigte die zugeführte Menge  $N_2$  bzw.  $CO_2$  an. Da die Deoxygenierung flussabhängig ist, die Leistung des Deoxygenators stetig abnimmt, und die Lungen unterschiedlich gut oxygenieren, war es notwendig, die Deoxygenierung regulieren zu können. Um pulmonal-arteriell einen Sauerstoffpartialdruck zwischen 5,4 und 6,8 kPa und eine Sauerstoffsättigung von

70% zu erreichen, musste im Mittel ein  $N_2$  Fluss von 450 ml/min, variierend zwischen 200 und 800 ml/min, eingestellt sein.

### 3.2.6 Messungen während der Plateauphase

Das Messintervall von 60 bis 90 Minuten stellte den eigentlichen Versuch dar. In dem Zeitraum nach 45 Minuten wurde nicht mehr regulatorisch in die Perfusion eingegriffen. Für eine "ideale Lungenperfusion" sollten sich die Werte der Parameter (Anhang Tabellen 2 bis 13) während der folgenden Zeit auf einem kontinuierlichen Plateau "Steady State" befinden (Abb. 2;3;4;6;7 und 9). Der Blutfluss (Abb. 4) veranschaulicht das Erreichen eines Plateauwertes der ab der sechzigsten Minute beibehalten wird, nachdem der Fluss während der Equilibrierungsphase kontinuierlich bis zu einem Maximum gesteigert wurde.

**Abb. 4** Der pulmonal arterielle Blutfluss pro Gramm Lungenmasse über 135 Minuten Perfusion



Zu Abb. 4

Beispiel für die Equilibrierung des Blutfluss pro Gramm Lungenmasse in Gruppe 5 (n=6).

### 3.2.7 Messmethoden und daraus berechnete Parameter

Ischämiezeiten (Tab. 7) und Lungenmassen (Tab. 6 und Anhang Tab. 14) mussten erfasst werden, damit sie für die Beurteilung der Messungen während der Perfusion und für Berechnungen herangezogen werden konnten.

#### ▪ **Messungen während der Narkose**

Während der Narkose wurden eine Reihe von Messungen durchgeführt, die einen Vergleich der Lungen in vivo (Gruppe 1) und der in vitro Perfusion (Gruppe 2) erlaubten. Die Zeitpunkte der Erhebungen lagen 15 Minuten auseinander (Anhang Tab. 1) und wurden unmittelbar vor der Thoraxöffnung bestimmt. Es wurden dieselben Geräte und Messvorrichtungen verwendet wie bei den Perfusionen.

#### ▪ **Messungen während der Perfusion**

Alle 15 Minuten wurden während der Perfusion Messungen der Messparameter vorgenommen. Abgesehen von den vor der Perfusion festgehaltenen Messungen<sup>1</sup>, erfolgte die erste Erhebung der Messparameter mit dem Schließen des Kreislaufs. Dieser Datensatz wurden als "0 Minuten Wert" gewählt. Die Messparameter während der Plateauphase der Perfusion (60-90 Minuten) wurden dargestellt und vergleichend ausgewertet<sup>2</sup>. Nach 135 Minuten endete die Perfusion.

### **3.2.7.1 Nicht eingestellte Parameter der Lungenperfusion**

#### ▪ **Blutgas-, Oximetrie-, Elektrolyt- und Metabolitbestimmungen im pulmonal-arteriellen und pulmonal-venösen Blut**

Im Blut wurden Blutgas-, Oximetrie-, Elektrolyt- und Metabolitbestimmungen mit der Kombination aus Blutgasanalysegerät und Hemoximeter<sup>3</sup> bestimmt. Die Proben wurden aus den Entnahmestellen im Aufbau bzw. aus den arteriellen und venösen Kathetern des narkotisierten Tieres entnommen. Die Blutprobenahme erfolgte alle 15 Minuten.

Eine Kalibrierung wurde vor Versuchsbeginn und automatisch alle 2 Stunden durchgeführt. Das Blutgasanalysegerät und Hemoximeter verwendete eine Kontroll-Lösung<sup>4</sup> des Herstellers<sup>1</sup>, gegen die die Blut-Proben kalibriert wurden. Die Elektrolytanalyse (Referenzhandbuch<sup>3</sup>) ermittelte den Elektrolytstatus der Proben durch Messung der Konzentrationen von ionisiertem Kalium, Natrium, Kalzium und

---

<sup>1</sup> Ischämiezeiten Tab. 7, Lungenmassen Tab. 6, Analyse der Blutkonserven Kap. 3.2.7.1

<sup>2</sup> Anhang Tab. 3; 5; 7; 9; 11; 13; 14 und 15 sowie Abb. 5; 7; 8; 10; 11; 12; 13 und 14

<sup>3</sup> BGA- Messgerät, Radiometer Copenhagen ABL 5 und Hemoximeter Radiometer Copenhagen OSM 3, Radiometer Copenhagen, Brønshøj, Dänemark

<sup>4</sup> zellfreie Lösung

Chlorid anhand der ionenselektiven Elektroden. Zur Berücksichtigung der Spezies wurde die Einstellung Schwein gewählt.

Im Anhang (Anhang Tab. 1 bis 13) und in den Abbildungen 3 sowie 9 bis 14 sind folgende pulmonale Werte dargestellt:

arterieller pH- Wert (Part pH), venöser pH-Wert (Pven pH), arterieller Kohlendioxidpartialdruck [kPa] (Part pCO<sub>2</sub>), venöser Kohlendioxidpartialdruck [kPa] (Pven pCO<sub>2</sub>), arterieller Sauerstoffpartialdruck [kPa] (Part pO<sub>2</sub>), venöser Sauerstoffpartialdruck [kPa] (Pven pO<sub>2</sub>), arterielle Sauerstoffsättigung [%] (Part sO<sub>2</sub>), venöse Sauerstoffsättigung [%] (Pven sO<sub>2</sub>), arterielle Hämoglobinkonzentration [g/l] (Part tHb), venöse Hämoglobinkonzentration [g/l] (Pven tHb), arterielle Natriumionenkonzentration [mmol/l] (Part Na<sup>+</sup>), venöse Natriumionenkonzentration [mmol/l] (Pven Na<sup>+</sup>), arterielle Kaliumionenkonzentration [mmol/l] (Part K<sup>+</sup>), venöse Kaliumionenkonzentration [mmol/l] (Pven K<sup>+</sup>), arterielle Kalziumionenkonzentration [mmol/l] (Part Ca<sup>2+</sup>) und venöse Kalziumionenkonzentration [mmol/l] (Pven Ca<sup>2+</sup>).

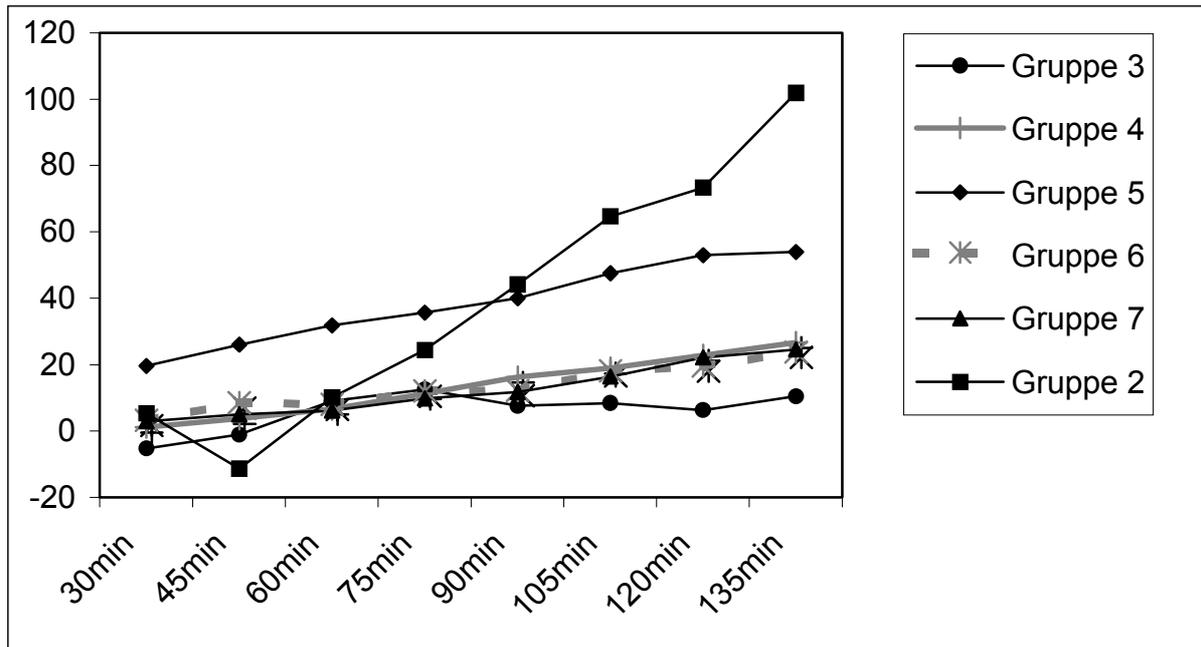
### 3.2.7.2 Berechnete Parameter

#### 3.2.7.2.1 Änderung der Lungenmassen während der Perfusion

Die erste Wägung der Lungenmassen im Perfusionsaufbau wurde nach 15 Minuten Perfusion erhoben. Dieser Wert ist die Bezugsgröße für die Massenänderungen während der Perfusion  $M_{\text{perf}}$  [%] (Tab. 4; Abb. 5; Anhang Tab. 14). Die native Lungenmasse (Tab. 6) wurde nicht als Bezugsgröße verwendet, da die Wägungen nach Perfusionsbeginn an der im Perfusionsaufbau gelagerten Lunge erfolgten. Es erfolgte eine Darstellung der Massenänderungen in Prozent bezogen auf die erste Wägung nach Perfusionsbeginn, da die nativen Lungenmassen von den Versuchstieren in Gruppe 1 niedriger waren als die der Schlachthoflungen.

$$M_{\text{perf}} [\%] = \left( \frac{\text{15 Minuten Werte der Lungenmasse während der Perfusion}}{\text{Erste Bestimmung der Lungenmasse während der Perfusion}} - 1 \right) \times 100$$

<sup>1</sup> Radiometer Copenhagen, Brønshøj, Dänemark

**Abb. 5** Massenzunahme [%] der Lungen während der Perfusion

Zu Abb. 5

Da die kontinuierliche Massenzunahme ein wesentliches Merkmal der Methode der in vitro Lungenperfusion ist, werden an dieser Stelle die Verläufe zur Methodenbeschreibung dargestellt.

Die Erstwägung in der Perfusionsapparatur erfolgte nach 15 Minuten. Einzelne Wertepunkte stellen den Gruppenmittelwert dar. In den Gruppen traten erhebliche Streuungen auf (Anhang Tab. 14). Es wurde bei den Gruppenvergleichen (Kap. 5.2.7, 5.2.8 und 5.2.9) kein signifikanter Unterschied gefunden.

### 3.2.7.2.2 Blutfluss

Der Blutfluss  $Q_t$  [ml/min/g] wurde während der ersten 45 Minuten der Perfusion alternierend auf maximale Flüsse erhöht (Abb. 4). Da wir in den verschiedenen Gruppen Lungen von unterschiedlich schweren Tieren vergleichen wollten, wurde der Fluss auf das Lungengewicht bezogen dargestellt. Der Blutfluss pro Gramm nativen Lungengewichts entsprach dem von den Pumpen erzeugten Fluss pro Gramm nativen Lungengewichts [ml/min/g]. Die Pumpen wurden vor Versuchsbeginn entsprechend der Bedienungsanleitung geeicht (gelitert) und gemäß den Herstellerangaben zu den Wartungsintervallen eingesendet. Bei den narkotisierten Tieren wurde für die Berechnung von  $Q_t$  das Herzminutenvolumen (Kap. 3.2.1) an die Stelle des pumpenregulierten Blutflusses eingesetzt.

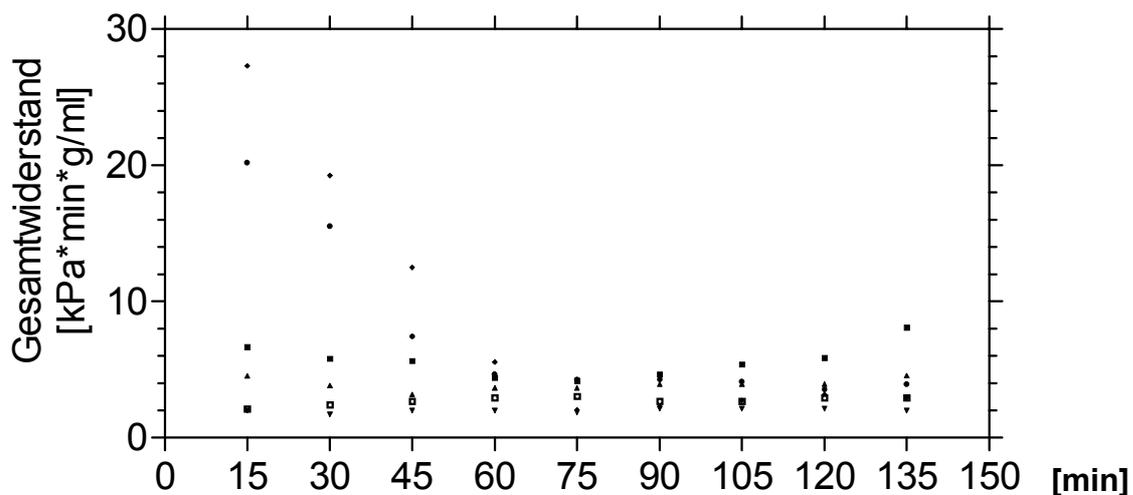
$$Q_t [ml / min/g] = \frac{\text{Blutfluss (pumpenreguliert)}}{\text{Native Lungenmasse}}$$

**3.2.7.2.3 Gefäßwiderstände, Gesamtwiderstand, pulmonal arterieller und pulmonal venöser Widerstand**

Die Gefäßwiderstände wurden in Abhängigkeit von Druck (Kap. 3.2.5.1 und Abb. 2) und Blutfluss (Qt) dargestellt (Abb. 6). Die Einheiten haben die Dimension [kPa\*min\*g/ml]. Analog dem Ohmschen Gesetz ist der Durchfluss gleich dem intravasalen Druck über dem Abflusswiderstand. Der PVR der Lunge lässt sich aus den hydrostatischen Druckdifferenzen aus PAP und PVP pro Fluss berechnen. ALLISON et al. (1990) stellten die folgenden Formeln für die Berechnung der Gefäßwiderstände auf. Jedoch berechnen wir die Gefäßwiderstände in Abhängigkeit des auf die Lungenmasse bezogenen Blutflusses, wohingegen ALLISON et al. (1990) den mit dem Blutfluss errechneten Gesamtwiderstand nachträglich durch die Lungenmasse dividieren.

$$PVR_{Qt} [kPa * min * g / ml] = \frac{PAP - PVP}{Qt}$$

**Abb. 6** Der Gesamtwiderstand über 135 min Perfusion



Zu Abb. 6

Beispiel für die Equilibrierung des Gesamtwiderstandes in Gruppe 5 (N=6).

Der Gesamtwiderstand lässt sich auch aus der Summe von pulmonal arteriellem und pulmonal venösem Widerstand berechnen.

$$\mathbf{PVR = Rart + Rven} \quad (\text{BARIE und MALIK, 1982})$$

Über die Differenzbildung der Widerstände mit Hilfe des pulmonal kapillären Verschlussdruckes kann eine Änderung des Gesamtwiderstands ( $PVR_{Qt}$ ) als mehr arteriell ( $Rart_{Qt} > Rven_{Qt}$ ) oder mehr venös ( $Rart_{Qt} < Rven_{Qt}$ ) bedingt beurteilt werden (ALLISON et al., 1990).  $Rart$  beschreibt die präkapillär auftretenden Widerstände und  $Rven$  die postkapillären Widerstände (ALLISON et al., 1990).

$$Rart_{Qt} \text{ [ kPa } \cdot \text{ min } \cdot \text{ g / ml ]} = \frac{PAP - PCP}{Qt}$$

$$Rven_{Qt} \text{ [ kPa } \cdot \text{ min } \cdot \text{ g / ml ]} = \frac{PCP - PVP}{Qt}$$

Nach ALLISON et al. (1990).

#### 3.2.7.2.4 Sauerstoffaufnahme

Einerseits beschreiben Blutgas-, Oximetrie- und Metabolitbestimmungen den Atemgaswechsel der Lungen, andererseits benötigen wir einen Wert, der den transpulmonalen Sauerstofftransfer und das Zusammenwirken der einzelnen Parameter darstellt.

Mit der O<sub>2</sub>- Aufnahme ( $O_{2 \text{ (ven-art) } Q_t} \left[ \frac{\text{ml O}_2}{\text{g} \cdot \text{min}} * \text{ml Blut} \right]$ ) wird ersichtlich, wieviel Milliliter

Sauerstoff pro Gramm Lungenmasse in das Blut übertragen werden. Dieser Wert errechnet sich aus der Differenz von pulmonal arteriellem zu pulmonal venösem O<sub>2</sub>-Gehalt der durchflossenen Lungenmasse. Der Sauerstoffgehalt ist definiert als chemisch und physikalisch gebundener Sauerstoff im Blut.

### Sauerstoffaufnahme

$$O_2(\text{ven} - \text{art})_{Qt} \left[ \frac{\text{ml } O_2}{\text{g} * \text{min}} * \text{ml Blut} \right] =$$

$$\left\{ \left[ \left( 1,34 \frac{p_{\text{ven } tHb}}{1000} \times \frac{p_{\text{ven } sO_2}}{100} \right) + \frac{2,763}{10000} \times p_{\text{ven } pO_2} \right] - \left[ \left( 1,34 \frac{p_{\text{art } tHb}}{1000} \times \frac{p_{\text{art } sO_2}}{100} \right) + \frac{2,763}{10000} p_{\text{art } pO_2} \right] \right\} * Qt$$

#### Legende:

$p_{\text{ven } tHb}$ =	Pulmonal- venöse Hämoglobin- Konzentration [g/l]
$p_{\text{ven } sO_2}$ =	Pulmonal- venöse Sauerstoffsättigung [%]
$p_{\text{ven } pO_2}$ =	Pulmonal- venöser Sauerstoffpartialdruck [kPa]
$p_{\text{art } tHb}$ =	Pulmonal- arterielle Hämoglobin- Konzentration [g/l]
$p_{\text{art } sO_2}$ =	Pulmonal- arterielle Sauerstoffsättigung [%]
$p_{\text{art } pO_2}$ =	Pulmonal- arterieller Sauerstoffpartialdruck [kPa]
$Qt$ =	Blutfluss pro Gramm nativer Lungenmasse [ml/min/g]

Für die Berechnungen wurde der von Hüfner ermittelte *Hüfnerfaktor* 1,34 ml Sauerstoff pro Gramm Hämoglobin verwendet (THEWS, 2000 b). (Dieser Wert berücksichtigt nicht den stets in geringen Mengen vorhandenen, an Methämoglobin und Carboxihämoglobin gebundenen Sauerstoff. Die maximale Sauerstoffbindungskapazität des Blutes lässt sich mit dem Faktor 1,39 berechnen.)

Der physikalisch gelöste Sauerstoff errechnet sich aus dem Produkt von Sauerstoffspannung und dem Löslichkeitsfaktor nach Bunsen pro ml Blut. (*Bunsen-Löslichkeitskoeffizient für Blut nach THEWS, (2000 b)* bei 37° C für Sauerstoff  $\alpha = 0,028$  [ml  $O_2$  / ml Blut / atm] =  $2,763 * 10^{-4}$  [ml  $O_2$  / ml Blut / kPa].

### 3.2.7.2.5 Dynamische Compliance

Die effektive dynamische Compliance ( $C_{dyn}$  [ml/kPa]) wird aus den Daten des Beatmungsgerätes, als Quotient aus Atemzugvolumen und Spitzendruck abzüglich des manuell eingestellten PEEP's berechnet .

$$C_{dyn}[ml / kPa] = \frac{\text{Atemzugvolumen}}{\text{Spitzendruck} - \text{PEEP}}$$

### 3.3 Histologische Untersuchungen der entnommenen Proben

Gewebeproben der Gruppe 5 wurden am Schlachthof von der Spitze des Mittellappens der rechten Lunge gewonnen (Tab. 2; 3 und 4). Nach 15 und 135 Minuten Perfusion wurden weitere Proben von den perfundierten Lungen entnommen. Die Proben wurden in 5%iger gepufferter Formalinlösung<sup>1</sup> mindestens zwölf Stunden fixiert und nach Paraffineinbettung<sup>2</sup> in 2  $\mu$ m Stufenserienschnitten<sup>3</sup> aufgearbeitet. Die Färbung der Präparate erfolgte nach BÖCK, (1989), mit Hämalaun<sup>4</sup>- Eosin<sup>5</sup> (H&E).

Um die Auswirkungen der Perfusion auf das Gewebe von Schlachthoflungen darzustellen, wurden Proben der Gruppe 5 direkt bei Entnahme und nach 15 und 135 Minuten Perfusion verglichen. Die Breite der Alveolarsepten wurde im hochauflösenden Gesichtsfeld „High Power Fields“ HPF<sup>6</sup> gemessen. Ein Gesichtsfeld in 400 facher Vergrößerung entspricht 0,39 [mm<sup>2</sup>]. Von 5 der Lungen wurden je Lunge für jeden Entnahmezeitpunkt die Septenbreite in 50 High Power Fields ausgezählt. Nach demselben Verfahren wurden die Neutrophilen/ HPF ausgezählt. Hierfür wurden jedoch je Lunge und Zeitpunkt 6 Gesichtsfelder ausgezählt.

---

<sup>1</sup> Herbeta, BRD

<sup>2</sup> Thermo Shandon Inc., Pittsburgh, USA

<sup>3</sup> Microtom, Leica, Bensheim

<sup>4</sup> Hämalaun, Merck, Darmstadt

<sup>5</sup> Eosin: Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster

<sup>6</sup> Mikroskop, Leitz DL, Leica, Bensheim

### 3.4 Statistische Prüfverfahren

Für die Auswertung der Daten und für die Darstellung der “Box-and-Whisker-Plots“ wurde das Programm Prism Version 3.0<sup>1</sup> verwendet.

#### ▪ Werte im Text und in den Tabellen

Die für die Berechnung der Lungenfunktion gemessenen oder berechneten Funktionsparameter werden im Text und in den Tabellen als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) angegeben. Im Text und in den Tabellen verwendeten wir die Darstellungsweise  $MW \pm SD$ , da sie in der Literatur häufig verwendet wurde. In den meisten Tabellen wurde außerdem der Median dargestellt. Als “N“ definierten wir die Anzahl der einzelnen Lungen. Mit “n“ bezeichneten wir die Anzahl der Messungen eines Parameters im “Steady State“ bzw. in Gruppe 1 die Messungen 1 und 2. Da im “Steady State“ bei 60, 75 und 90 min Messungen durchgeführt wurden, konnten an einer Lunge  $N=1$  maximal  $n=3$  Messwerte des Parameters erhoben werden.

#### ▪ Werte in den Abbildungen

Für Abbildungen wurde die Darstellung in Form des “Box-and-Whisker-Plot“ gewählt. Die Begrenzung der Boxen zeigt die Quartile bei 25 und 75 % und die Linie im Inneren den Median an. Markierungen außerhalb der Box kennzeichnen Minimum und Maximum. Bei Fehlen von einzelnen Messwerten ( $N < 6$ ) wurden die Boxplots ohne die Box der 25 und 75 % Quartile aufgezeichnet. Median, Minimum und Maximum bezeichneten dann den Wertebereich. Es wurde keine Signifikanz (n.s) für Mediane mit  $p > 0,05$  angenommen. Ein  $p$  von  $< 0,05$  wurde als signifikanter Unterschied gewertet.

#### ▪ Verteilung der Messwerte

Die Gruppen wurden aus den Ergebniswerten von 6 Lungen gebildet. Damit bietet die Stichprobengröße ( $N=6$ ) nicht ausreichend Daten, um die Annahme oder Ablehnung einer Gauß'schen Verteilung zu belegen.

---

<sup>1</sup> 1994-1999 by GraphPad Software

Für die statistische Untersuchung der Daten wurden aus folgenden Gründen ausschließlich nichtparametrische Testverfahren verwendet:

- Parametrische Testverfahren setzen eine Gauß'sche Verteilung der Daten voraus.
- Die meisten nichtparametrischen Testverfahren vergleichen die Verteilung der Daten bezüglich des Medians. Der Median reagiert auf "Ausreißer" weniger empfindlich und ist bei einer schiefen Verteilung oder kleiner Intervallskalierung geeigneter.

#### ▪ **Verbundene nichtparametrische Testverfahren**

Für den Vergleich der Mediane von 2 versetzten Messungen an denselben Lungen wurde der Wilcoxon-Rang-Test für verbundene Paare verwendet.

Der Vergleich von Medianen und Rängen der Messungen 60, 75 und 90 Minuten nach Perfusionsbeginn an denselben Lungen wurde mit dem Friedman-Rang-Test verbundener Paare in Kombination mit dem mehrfach Vergleichstest nach Dunn durchgeführt.

#### ▪ **Unverbundene nichtparametrische Testverfahren**

Bei der Betrachtung zweier nicht verbundener Stichproben wird der Mann-Whitney-U-Test für die Statistik verwendet. Eine Beschränkung der Freiheitsgrade bei mehr als 2 ungepaarten Gruppen wird durch den Kruskal-Wallis-Test in Kombination mit dem Dunn-Test berücksichtigt.

Für alle Testverfahren wurde ein  $p < 0,05$  als signifikanter Unterschied gewertet.