

## 2. Methodik

### 2.1. Aufbau

Gegenstand der Untersuchung in der vorliegenden Arbeit sind Meerschweinchen- und Rattenherzen, die vom Tier isoliert in einen künstlichen Kreislauf eingebunden werden. Dieser ist nach dem Vorbild von LANGENDORFF (1895) und NEELY *et al.* (1967, 1975) im Physiologischen Institut errichtet und wird je nach Fragestellung modifiziert. Die so angepaßte Apparatur liefert Ergebnisse ähnlich denen *in vivo* und erlaubt eine Beurteilung der Koronargefäße, ohne durch indirekte Effekte gestört zu werden (BROADLEY). Zu den Vorteilen der Ganzherz-*in-vitro*-Präparation zählen intakte Muskelzellen und Versorgung des Herzgewebes auf physiologischem Weg durch die Koronarien (NEELY und ROVETTO).

#### 2.1.1. Kreislaufmodelle

Bei einem im *Neely-Modus* arbeitenden Herzen bestimmen der Füllungsdruck des linken Vorhofes und der Aortenwiderstand (Ventrikel-Afterload) den Ventrikeldruck und Auswurf (NEELY und ROVETTO). Die nachfolgend beschriebene Vorrichtung ist auf den Abbildungen 2.1 bis 2.3 am dreigeteilten Weg des Perfusionsmediums nachzuvollziehen.

##### a) Zufluß zum Herzen

Die in den Vorratsreservoirs 1 bzw. 2 oxygenierte Perfusionslösung wird mittels einer Quetschrollenpumpe (Pumpe 1 in Abb. 2.1) herzwärts transportiert. Die Umdrehungszahl und damit das präatriale Volumenangebot sind stufenlos wählbar. Der folgende venöse Windkessel fängt Luftblasen ab und gleicht die durch die Pumpe verursachten Druckschwankungen aus.

Über den Filter (Cellulose Nitrate Filter/Glassfibre Prefilter der Firma Sartorius), der Verunreinigungen größer 3,0 µm am Durchtreten hindert, wird der Membranoxygenator (Abb. 2.1 und 2.3) erreicht. Dessen Aufgabe besteht darin, die Nährlösung über 100 gasdurchlässige Silikon-Kautschuk-Schläuche erneut mit 95 % Sauerstoff aufzusättigen. Dies ist notwendig, da auf der Strecke vom Reservoir bis zum Oxygenator mit Verlust von Sauerstoff aufgrund Diffusion aus den Verbindungsschläuchen gerechnet werden muß. Die über dem Membranoxygenator lokalisierte Luftblasenfalle nimmt eventuell aufsteigende Gasbläschen auf, um das nun unmittelbar folgende Herz vor einer Luftembolie zu schützen.

##### b) Perfusatweg vom Herz zum Vorratsgefäß

Über das linke Atrium erhält der linke Ventrikel Perfusat, welches er an weiteren Stationen vorbei zum Reservoir zurückpumpt. Über der Aortenkanüle ersetzt ein gläserner arterieller

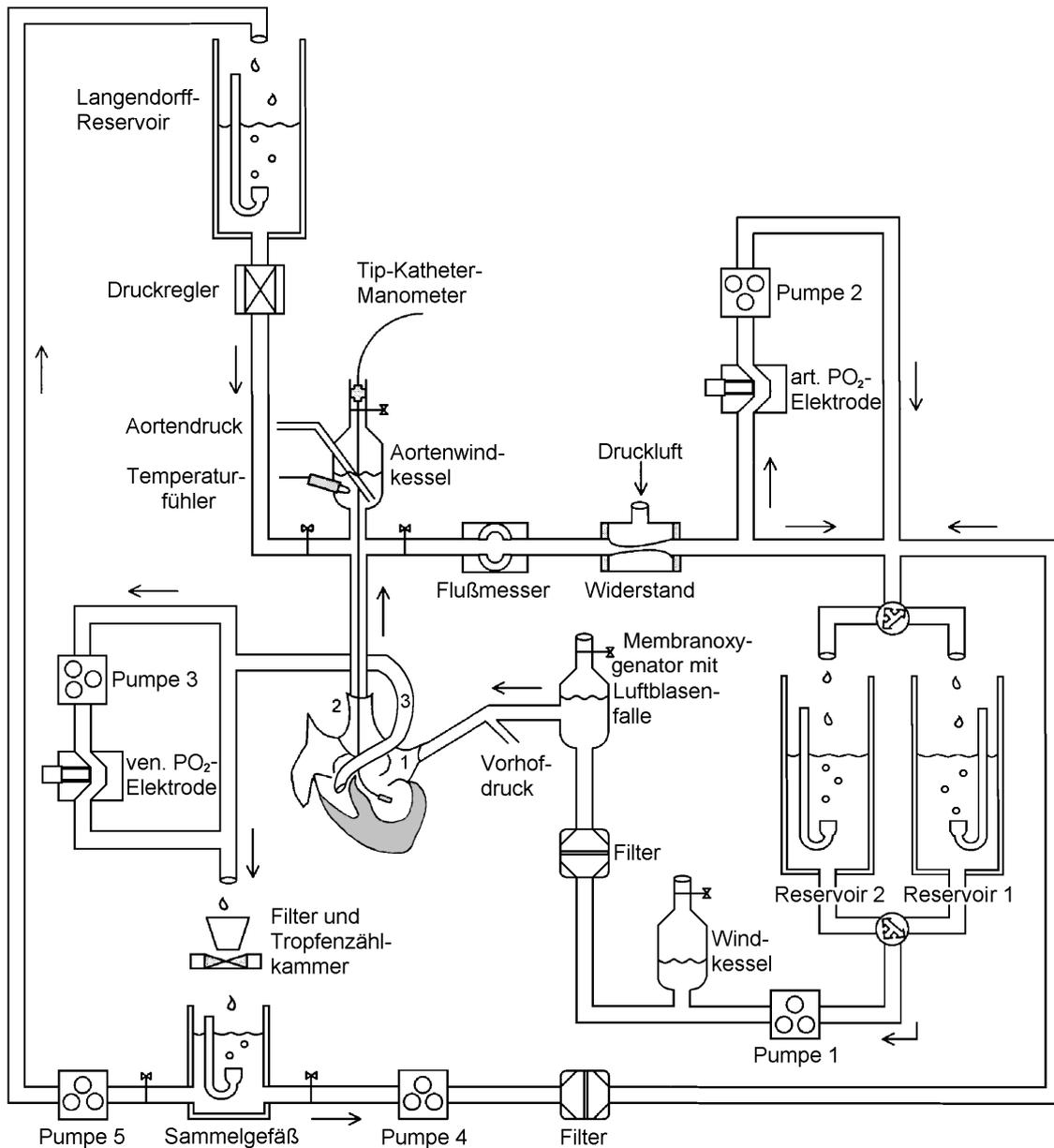


Abb. 2.1 Versuchsaufbau mit isoliertem Herz, 1 = linker Vorhof, 2 = Aorta, 3 = Drainage des Koronarperfusates aus dem rechten Ventrikel über die A. pulmonalis

Windkessel (Luftpolster) die Elastizität der Aorta in vitro. Ein sich anschließender Aortenflußkopf mißt elektromagnetisch das linksventrikulär ausgeworfene Volumen. Die nächste wichtige Passage führt durch einen Widerstand zur Regelung des Aortendruckes bzw. der Nachlast. Dabei kann der Luftdruck in einer mit einem Manometer verbundenen, geschlossenen Kammer so erhöht werden, daß er komprimierend - und auf diese Weise widerstandserhöhend - auf einen von Perfusat durchströmten, elastischen Schlauch wirkt. Hinter diesem flexiblen, peripheren Starling-Widerstand teilt sich der Weg des Perfusionsmediums in einen direkt in das Vorratsgefäß tropfenden Hauptteil und einen Umweg



### 2.1.2. Perfusatfluß während der Präparation

Im *Langendorff-Modus* wird keine externe Arbeit erbracht, jedoch ein Ventrikeldruck aufgebaut, welcher durch Regulierung des Aortenperfusionsdruckes modifiziert werden kann (NEELY und ROVETTO). Die Aorta wird passiv über ein Fallrohr mit Nährlösung gespeist, welche sich in einem etwa 1 m über dem Herzen platzierten Langendorff-Behälter (Abb. 2.1) mit 800 ml Fassungsvermögen befindet. Dieses Arrangement ist durch retrograde, dem hydrostatischen Druck folgende Perfusion charakterisiert und kommt während des Einbindens des Herzens in seinen künstlichen Kreislauf zum Einsatz.

Am Boden des Langendorff-Reservoirs ist ein Filter mit einer Porengröße von 3 µm eingelassen. Kurz vor der Aortenkanüle kann mit einer Stellschraube, die einem Miniaturschraubstock ähnelt, durch Änderung des Fallrohrlumens das zufließende Volumen und damit der gewünschte aortale Druck reguliert werden.

## 2.2. Chemische Substanzen / Pharmaka

### 2.2.1. Perfusionslösung

Die Zusammensetzung des das Herz durchströmenden Blutersatzes basiert auf einer nach Hearse veränderten Krebs-Henseleit-Lösung (KREBS UND HENSELEIT 1932). Der bis zu vier Wochen lagerfähigen Stammlösung werden erst kurz vor Versuchsbeginn Bicarbonat sowie die nötigen Energielieferanten Pyruvat und Glukose zugegeben.

<i>Stammansatz:</i>	- Kaliumchlorid	4,75 mMol/l
	- Natriumchlorid	118,49 mMol/l
	- Kalziumchlorid	2,5 bzw. 1,25 mMol/l
	- Magnesiumsulfat	1,19 mMol/l
	- Kaliumpyrogenphosphat	1,19 mMol/l
<i>Zusätzlich:</i>	- Natriumbicarbonat	25,00 mMol/l
<i>Substrate:</i>	- Pyruvat	2,50 mMol/l
	- Glukose	11,00 mMol/l

Wie BÜNGER *et al.* zeigen konnten, bewahren die Substrate Pyruvat und Glukose in Kombination das isolierte Herz vor Schädigung. Es arbeitet länger als eine Stunde unter stabilen hämodynamischen Verhältnissen betreffs Koronarfluß, spontaner Herzfrequenz,

Sauerstoffverbrauch, linksventrikulärem Druck und Gehalt hochenergetischer Phosphate. Pyruvat und Glukose bzw. Pyruvat allein gewährleisten Autoregulation des Koronarflusses bei Perfusionsdrücken zwischen 50 und 80 cm Wassersäule, Glukose allein ebenfalls, allerdings in einem niedrigeren und engeren Druckbereich. Erhalten sind reaktive Hyperämie, hypoxische Koronardilatation und reproduzierbare Ansprechbarkeit gegenüber gefäßaktiven Substanzen wie Papaverin.

### 2.2.2. Oxygenisation

Dem das isoliert arbeitende Herz durchströmenden Nährmedium fehlen die Erythrozyten, deren Hämoglobin der Sauerstofftransport obliegt. Somit steht lediglich in der Flüssigkeit physikalisch gelöster Sauerstoff zur Verfügung. Dazu wird das kreisende Perfusat kontinuierlich an mehreren Stationen mit Carbogengas - einem aus 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid bestehenden Gasgemisch - äquilibriert. Das Kohlendioxid verhindert die Ausfällung mikropräzipitierender ( $\text{Ca}^{2+}$ -)Komplexe.

Eine kontinuierliche Oxygenisation gewährleistet *in vitro* eine Herzleistung, welche nahezu an die *in vivo* vorherrschende heranreicht (TAEGTMEYER *et al.*).

### 2.2.3. Pharmaka

#### *Papaverin*

In 6 verschiedenen Versuchsanordnungen kommt dieser Wirkstoff (Papaverine hydrochlorid, 99 %, Aldrich Chemie Co., Molgewicht 375) zur Untersuchung seines Einflusses auf isolierte Kleintierherzen zum Einsatz. Papaverin (6,7-Dimethoxy-1-veratryl-isochinolin, Abb. 4.a) wird aus dem als Opium bekannten Milchsaft der Kapseln des Schlafmohns (*Papaver somniferum*) gewonnen. Im Rohopium zählt es zu den wichtigsten der rund 25 darin enthaltenen Alkaloiden und macht etwa 1 % des Trockengewichtes aus.

#### *Heparin (Liquemin®)*

Dieses Medikament wird während der Präparation kurz vor Entnahme des Herzens aus dem Tierkörper verabreicht. Die Darreichung erfolgt in einer Dosierung von 25 Internationalen Einheiten intraarteriell über einen Karotiskatheter. Diese Dosis hat sich in der Arbeitsgruppe als ausreichend für eine etwa halbstündige Gerinnungshemmung erwiesen.

Heparin wirkt der Bildung thrombotischen Materials des nach Entnahme stillstehenden und damit der Blutstase ausgesetzten, isolierten Herzens entgegen. Dies ist notwendig, um die Zeit bis zum Einfügen des Organes in seinen neuen, künstlichen Kreislauf zu überbrücken.

### *Urethan*

Diese Substanz (Urethan [Ethylcarbamat,  $\text{H}_2\text{NCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$  ], 99 %, Aldrich-Chemie, Steinheim) wird zur Narkose intraperitoneal gespritzt. Dabei bestimmen Tierart und Körpergewicht die benötigte Menge der 25-prozentigen Lösung: 0,43 ml Urethan /kg Körpergewicht bei Ratten bzw. 0,77 ml Urethan /kg Körpergewicht bei Meerschweinchen.

## **2.3. Präparationstechnik**

### **2.3.1. Operationsvorbereitung**

Meerschweinchen und Wistar-Ratten stammen aus institutseigener Züchtung. Verschieden große Herzen variieren bzgl. mechanischer Leistung und Sauerstoffverbrauch, was ihre Vergleichbarkeit einschränkt (NEELY *et al.* 1967). Daher werden weibliche sowie männliche Tiere mit einem Körpergewicht zwischen 340 und 390 g gewählt, um ähnliche Ausgangsbedingungen zu schaffen.

Die gewünschte Narkosetiefe ist dann erreicht, wenn das Tier keine Reaktion mehr auf Schmerzreize zeigt. Das wird überprüft, indem die Interdigitalfalten der empfindlichen Hinterläufe mit einer Pinzette gezwickt werden. Das Tier wird auf dem Rücken liegend auf einer Metallplatte plaziert und an den ausgestreckten Extremitäten fixiert. Alsdann wird mit einem Rasierapparat im Operationsgebiet das Fell zur Arbeitserleichterung gründlich geschoren.

### **2.3.2. Invasiver Abschnitt**

Im Halsbereich wird die Trachea freigelegt und ein benachbarter Gefäßnervenstrang mobilisiert. Die Arteria carotis externa wird aus ihrer bindegewebigen Verankerung gelöst und mit einem 1 mm Durchmesser starken Kunststoffschlauch katheterisiert.

Die Trachea wird mit einem kleinen Stahltracheotomiekanüle intubiert. Damit beginnt die externe Beatmung mit vorgegebener Frequenz und konstantem Atemzugvolumen. Ein Rippen spreizer hält die Thoraxhöhle offen. Somit ist die Sicht auf das schlagende Herz frei und die großen Gefäße können mühelos lokalisiert werden. Die Aorta wird mit einem losen Faden angeschlossen, um am isolierten, blutleeren Herzen das Auffinden zu erleichtern.

Kurz vor Entnahme der Thoraxorgane wird Heparin intraarteriell verabreicht. Dies soll zusammen mit einer etwa 5-7 ml umfassenden Volumensubstitution (Blutverdünnung) die Entstehung von Thromben hemmen. Gleichzeitig wird durch die Volumengabe die Kreislaufsituation optimiert. Die letzten Schritte vor Entnahme bestehen in Ligatur der oberen Hohlvene - bei den Ratten der Vena cava superior dextra und sinistra.

Das entnommene Organpaket (Herz und Lunge) wird vollständig in ein Eisbad aus modifizierter Krebs-Henseleit-Lösung untergetaucht. Vorsichtig erfolgt die Abtrennung der Lungenflügel. Dann wird die Aorta freipräpariert und ihr Aortenstumpf schräg angeschnitten. So läßt er sich leicht über die Aortenkanüle, aus der kontinuierlich oxygeniertes Perfusat tropft, stülpen. Der Aortenstumpf wird zunächst mit einer Bulldog-Klemme an der Kanüle gesichert und anschließend mit Baumwollfäden endgültig befestigt. Bei dieser Prozedur ist zu berücksichtigen, daß die Aortenkanüle nur so tief vorgeschoben wird, daß die Ostien der Koronararterien und die Taschenklappen nicht verlegt oder beschädigt werden.

Spontane Kontraktionen beginnen, sobald dem Organ im Langendorff-Modus retrograd Lösung angeboten wird. Deren Perfusionsdruck wird per Hand auf die erforderlichen Werte von 80 hPa (= 60,15 mmHg) bei Meerschweinchen und 100 hPa (= 75,18 mmHg) bei Ratten geregelt.

Bei dem an der Aortenkanüle hängenden Herzen werden Trachea, Ösophagus sowie die restlichen, überschüssigen Anteile des Fett- und Mediastinalgewebes entfernt und die gesäuberten Gefäße deutlich dargestellt. Die Arteria pulmonalis läßt sich nach Öffnung ihrer gut zugänglichen Gabelung leicht katheterisieren. Bei akkurat abdichtender Einbindung und nach Verschuß der V. cava inferior vermindert sich die vom Herzen abtropfende Flüssigkeit auf weniger als 1 ml/min.

Beim Einbinden der Kanüle in den linken Vorhof muß darauf geachtet werden, sämtliche vier Venae pulmonales zu erfassen, um Flüssigkeitslecks zu vermeiden. Damit keine Luft in das Herz gelangt, tropft aus der Kanüle während des Einbindens in den Vorhof stetig etwa 5 ml/min Perfusat entsprechend der Einstellung von (Quetschrollen-)Pumpe 1 (Abb. 2.1).

Um das Herz auf das Arbeiten im Neely-Modus umzustellen, wird der Zufluß aus dem Langendorff-Behälter langsam geschlossen. Gleichzeitig wird das zum linken Atrium gepumpte Volumen erhöht und mittels Änderung des peripheren Widerstandes der Aortendruck eingestellt.

Ein Tip-Katheter wird retrograd über die Stahlkanüle des arteriellen Windkessels in den linken Ventrikel eingeführt. Die erfolgreiche Platzierung wird auf dem Bildschirm eines Oszillographen (Gould 20 Mhz Digital Storage Type 1421) überprüft und die Position so lange geändert, bis eine störungsfreie Ventrikeldruckkurve gegeben ist.

Das jetzt als arbeitendes Linksherzpräparat bezeichnete Organ ist nach funktioneller Stabilisierung (Dauer etwa 15 Minuten) für den eigentlichen Versuch bereit:

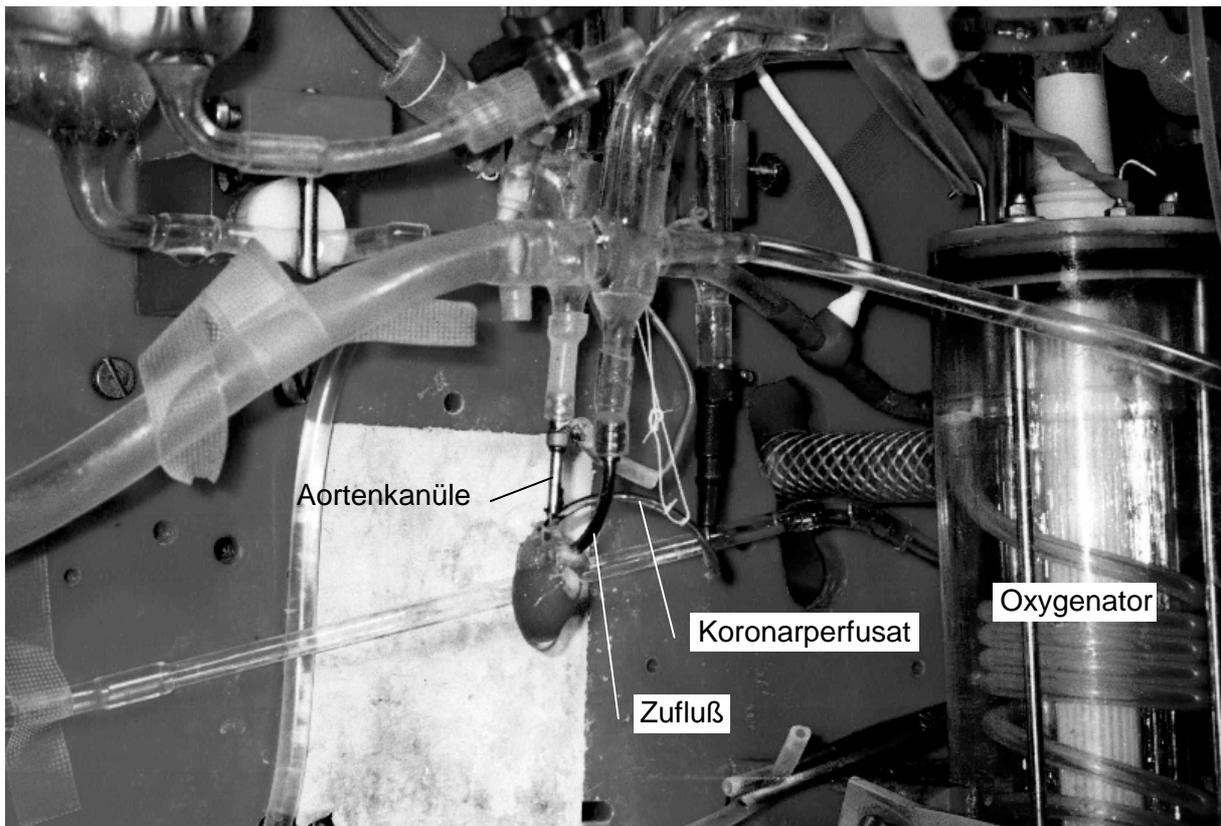


Abb. 2.3 Arbeitendes Linksherzpräparat

## 2.4. Eichungen

Zuerst werden Langendorff- sowie Neely-Reservoirs und Schlauchsysteme mit frisch zubereiteter Nährlösung gefüllt, welche zuvor Filter passierte, um Luftblasen zu entfernen. Aorten- und Vorhofkanüle verbindet dabei ein 5 cm langer Kunststoffschlauch.

Die Druckaufnehmer für die aortalen und linksatrialen Werte sowie das Millar-Tip-Manometer werden mit einem Quecksilbermanometer nach Gauer (arteriell mit 0 kPa und 10 kPa, venös mit 0 kPa und 2 kPa) geeicht. Unter dem Einfluß des atmosphärischen Umgebungsdruckes erfolgt im Aortenwindkessel der Nullpunktgleich (bei 0 kPa) des Tip-Katheters. Dieser ist knapp unter die Oberfläche der auf 37°C erwärmten Lösung platziert. Bei gleicher Katheterlage und Temperatur erfolgt die Eichung mit 10 kPa.

Zur Flußeichung, die für Aorten- und Koronarfluß durch eine Shuntverbindung gemeinsam stattfindet, wird die an dem elektromagnetischen Flußkopf vorbeiströmende Lösung bei verschiedenen Umdrehungszahlen der Quetschrollenpumpe mit Stoppuhr und Meßzylinder bestimmt.

Die in Parallelkreisläufen angeordneten Clark-Elektroden erhalten nacheinander aus drei Glasbehältern Eichflüssigkeit. Diese zirkuliert je eine halbe Stunde in einem separaten Kreislauf, ist Kalzium-frei und enthält drei unterschiedliche Sauerstoffkonzentrationen:

	Behälter 1	Behälter 2	Behälter 3
Gas-Äquilibration mit:	Stickstoff	Raumluft	Carbogen
Sauerstoffkonzentration:	0 %	21 %	95 %

Das durch ein Umwälzthermostat (Kryo Thermostat WK 5 der Fa. Colora Meßtechnik) kontinuierlich erwärmte, ständig rotierende Wasser versorgt die doppelwandigen Vorratsbehälter, den Membranoxygenator und die Blutgaselektroden. Das Prinzip funktioniert nach dem des "water jacketing" und sorgt für eine konstante Temperatur der Nährlösung von  $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$ .

## 2.5. Gemessene Parameter

Einige Werte lassen sich sowohl digital auf dem Computermonitor als Mittelwert darstellen, als auch auf dem Acht-Kanal-Multifunktionsschreiber (vergleiche Originalregistrierung in Abb. 2.4) fortlaufend aufzeichnen. Andere können nur vom Digital-Display abgelesen und regelmäßig notiert werden. Die digital registrierten Meßwerte werden auf dem Abschnitt des Schreiberpapiers notiert, der bei Erreichen eines jeweiligen steady state durch einen kurzfristig beschleunigten Papiervorschub (50 mm/sec) markiert wird. Dazu gehören der venöse und arterielle Sauerstoffpartialdruck, der linksatriale Druck und die Pumpenumdrehungszahl.

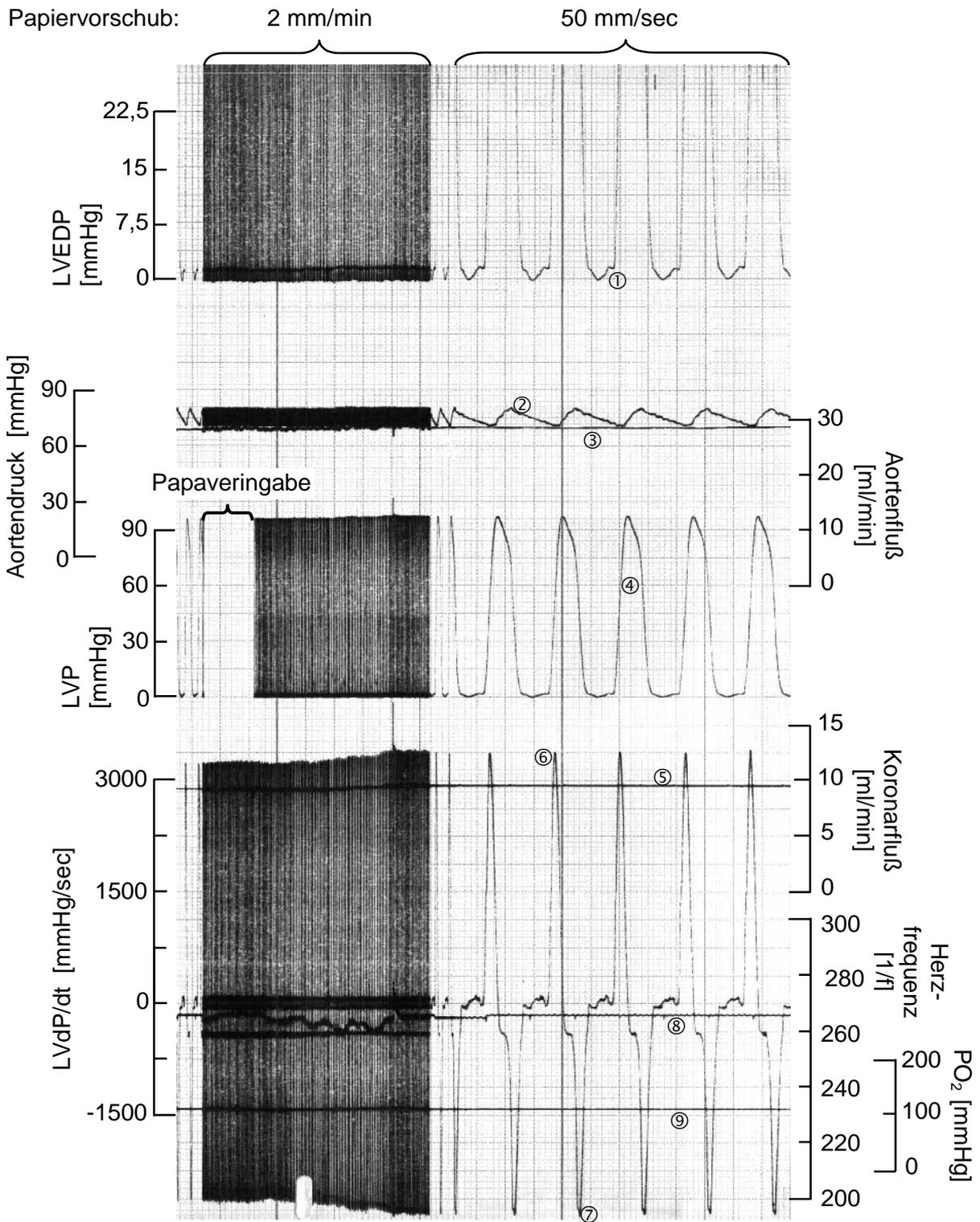


Abb. 2.4 Originalregistrierung der Papaverinwirkung an einem bei 1,25 mMol/l Kalzium arbeitenden, isolierten Rattenherzen (weibliche Ratte, 365 g)

① = LVEDP, ② = Aortendruck, ③ = Aortenfluß, ④ = LVP, ⑤ = Koronarfluß,  
 ⑥ = LVdP/dt<sub>max</sub>, ⑦ = LVdP/dt<sub>min</sub>, ⑧ = Herzfrequenz, ⑨ = Koronarvenöser PO<sub>2</sub>

Auf dem Acht-Kanal-Multifunktionsschreiber erscheinen folgende Parameter in analoger Darstellung (① bis ⑨ in Abb. 2.4) von oben nach unten:

linksventrikulärer enddiastolischer Druck (①), phasischer Aortendruck (②), mittlerer Aorten- (③) und Koronarfluß (⑤), phasischer Ventrikeldruck (④), linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit ( $LVdP/dt_{max}$  ⑥ und  $LVdP/dt_{min}$  ⑦) mit den darüber liegenden Kurven der Herzfrequenz (⑧) und des venösen Sauerstoffpartialdruckes (⑨).

### *Parameter und Meßvorrichtung*

#### *Aortendruck: PAo [hPa bzw. mmHg]*

Am Boden des Aortenwindkessels, im Anschluß an die Aortenkanüle, liegt ein flüssigkeitsgefüllter Katheter, der mit einem Statham-Druckwandler (Typ P 23 DB) verbunden ist. Dessen Impulse werden durch einen BMT-Gleichspannungsverstärker potenziert. Aufzeichnungen erscheinen auf dem Schreiber und der digitalen Anzeige des Computers in hPa.

#### *Linksatrialer Druck: LAP [hPa bzw. mmHg]*

Auch hier wird ein Statham-Druckwandler P 23 DB verwendet. Der Ort der Messung befindet sich unmittelbar vor der Vorhofkanüle. Dieser Wert erlaubt die Beurteilung des Belastungszustandes des isolierten Herzens.

#### *Linksventrikulärer Druck: LVP [hPa bzw. mmHg]*

Ein über die Aorta direkt in den linken Ventrikel vorgeschobenes Katheter-Tip-Manometer (Typ SPR 249, 3F/2F, Millar Instruments Inc., Houston, Texas, USA) übermittelt seine Registrationen einem BMT-Linearverstärker.

#### *Linksventrikulärer enddiastolischer Druck: LVEDP [hPa bzw. mmHg]*

Der LVEDP wird vom linksventrikulären Druck abgeleitet. Er kann an der dazugehörigen, durch den Schreiber aufgezeichneten Kurve ausgewertet werden. Die dreifache Vergrößerung des relevanten Abschnittes erleichtert die Bestimmung des Wertes auf dem Millimeterpapier. Im Versuch wird er außerdem fortlaufend mit Hilfe einer von Dr. Langer in der Arbeitsgruppe entwickelten Software berechnet und digital auf dem Computerbildschirm als Mittelwert einer 4-Sekunden-Herzperiode angezeigt.

#### *Aortenfluß [ml/min]*

Der zwischen Windkessel und Starling-Widerstand lokalisierte Flußkopf (Statham Blood Flowmeter, Typ SP 2200) mißt auf elektromagnetischem Wege. Die Grenzfrequenz der Aufzeichnung liegt bei 100 Hz.

*Koronarfluß* [ml/min]

Das von dem rechten Herzen ausgeworfene koronarvenöse Perfusat sammelt sich in einem der Meßstelle vorgeschalteten Filter. Ein Trichter ist mit einem manuell perforierten Filterpapier (Firma Schleicher und Schnell) ausgekleidet, um eine gleichmäßige Tropfenbildung zu erreichen. Der Tropfenzähler nach KÜHNBERG mißt die Anzahl der Unterbrechungen einer Lichtschranke, ausgelöst durch die fallenden Tropfen, die in einem darunter befindlichen Becherglas aufgefangen werden. Die so pro Zeiteinheit ermittelte Tropfenzahl wird in ml/min analog aufgezeichnet.

*Linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit:* LVdP/dt [kPa/s bzw. mmHg/s]

Der erste Differentialquotient des Ventrikeldrucks ergibt die Druckanstiegsgeschwindigkeit. Aus der Aufzeichnung der Originalregistrierung lassen sich die maximalen (LVdP/dt<sub>max</sub>) und minimalen Druckanstiegsgeschwindigkeiten (LVdP/dt<sub>min</sub>) ablesen. Der Verstärker arbeitet mit einer Grenzfrequenz von 80 Hz und einer zeitlichen Verzögerung von 2 ms. Gemittelte Werte werden außerdem auf dem Computerbildschirm digital angezeigt.

*Herzfrequenz:* HR [Schläge/min]

Die Messung der digital ablesbaren Herzfrequenz führt ein im institutseigenen Elektroniklabor hergestelltes Herzratenmeter durch, welches mit dem phasischen Ventrikeldruck getriggert ist. Das Herzratenmeter wertet die durch zwei aufeinanderfolgende Herzschläge erzeugten Eingangsimpulse im Bereich von 0 bis 999/min aus, rechnet sie in Schläge pro Minute um und zeigt sie digital an.

Bei bekannter Papiervorlaufgeschwindigkeit kann die Bestimmung der Herzschläge auch durch Auszählen gleichmäßiger Ausschläge einer Druckkurve erfolgen.

*Temperatur:* T [°C]

Die mit einer Empfindlichkeit von  $\pm 0,1^\circ\text{C}$  arbeitenden Meßfühler befinden sich am Boden des Aortenwindkessels. Sie dienen der kontinuierlichen Temperaturkontrolle des Nährmediums und sind gleichzeitig Indikator für die exakte Einstellung und regelrechte Funktion des Thermostates.

*venöser und arterieller Sauerstoffpartialdruck:* PO<sub>2ven./art.</sub> [kPa bzw. mmHg]

Die mit einer aus Propylen bestehenden Membran (Typ D 604) überzogenen Clark-Meß- und -Bezugselektroden fungieren in arterieller und venöser Parallelschaltung zum Hauptkreislauf. Der aortale PO<sub>2</sub>-Gehalt wird von einem Amperemeter abgelesen, notiert und später in kPa umgerechnet. Der koronarvenöse PO<sub>2</sub>-Gehalt erscheint in digitaler Form auf dem Blutgasmonitor (Radiometer Copenhagen, Typ PHM 73).

## 2.6. Berechnete Größen

Die unter 2.5. aufgeführten, durch Messung erhaltenen Werte dienen der Berechnung von Größen, die das jeweils untersuchte Herz näher charakterisieren und den Vergleich der Herzen untereinander ermöglichen.

*Herzzeitvolumen (HZV)*

$$\text{Herzzeitvolumen} = \text{Aortenfluß} + \text{Koronarfluß} \quad [\text{ml/min}]$$

*Schlagvolumen (SV)*

$$\text{Schlagvolumen} = \text{Herzzeitvolumen} / \text{Herzfrequenz} \quad [\text{ml}]$$

*Mittlerer Aortendruck ( $P_M$ )*

$$P_M = \text{diastolischer Druck} + \frac{(\text{systolischer} - \text{diastolischer Druck})}{3} \quad [\text{mmHg}]$$

*Systolischer Mitteldruck ( $S_M$ )*

$$S_M = \frac{\text{Systolischer Druck} + \text{mittlerer Aortendruck}}{3} + \text{mittlerer Aortendruck} \quad [\text{mmHg}]$$

*Herzleistung (MP)*

$$MP = 0,1 \times \text{HZV} \times (\text{SM} - \text{linksventrikulärer enddiastolischer Druck})$$

$$[\text{mJ/min} = 0,1 \times \text{ml/min} \times (\text{hPa} - \text{hPa})]$$

*Arterio-venöse Sauerstoffdifferenz ( $avDO_2$ )*

$$avDO_2 = \frac{\text{arterieller} - \text{venöser Sauerstoffpartialdruck}}{\text{aktueller Luftdruck}} \times \alpha$$

$\alpha$  ist der Bunsensche Löslichkeitskoeffizient für  $O_2$ , für den bei  $37^\circ\text{C}$  gilt:  
 $= 1,059 \mu\text{mol Gas/ml Lösungsmittel}$  bzw.  $= 0,024 \text{ ml Gas/ml Lösungsmittel}$

*Sauerstoffverbrauch ( $VO_2$ )*

$$\text{Sauerstoffverbrauch} = \text{arterio-venöse Sauerstoffdifferenz} \times \text{Koronarfluß} \quad [\text{ml/min}]$$

*Wirkungsgrad (EF)*

$$\text{Wirkungsgrad} = \frac{\text{abgegebene Energie}}{\text{aufgenommene Energie}} \times 100 \quad [\%]$$

Der abgegebenen Energie entspricht die Herzarbeit, der aufgenommenen der mit dem kalorischen Wärmeäquivalent multiplizierte Sauerstoffverbrauch.

Da weder Fett noch Eiweiß, sondern Kohlenhydrate als Substrate für die Energiegewinnung zur Verfügung stehen, beträgt der Wert des kalorischen Wärmeäquivalentes 21,1 kJ/l Sauerstoff für reine Kohlenhydratverbrennung.

Das Verhältnis von externer Arbeit des linken Ventrikels zum Sauerstoffverbrauch des Ventrikelmyokards entspricht dem mechanischen Wirkungsgrad des Herzens:

$$\text{Efficiency} = \frac{\text{Herzleistung}}{\text{Sauerstoffverbrauch}} \times 0,004739$$

## 2.7. Einteilung der Versuche

Die Herzen wurden unter verschiedenen Aspekten untersucht und dementsprechend 6 Versuchsblöcken zugeteilt. In 2 Blöcken wurden Ratten-, in 4 Meerschweinchenherzen verwendet. Mindestens 6 Herzen bildeten eine Gruppe bzw. einen Block.

Die Gabe von Papaverin gemäß Tab. 2.1 erfolgte in das circa 300 ml Lösung enthaltende Vorratsgefäß. Unter Berücksichtigung des 200 ml Flüssigkeit fassenden Schlauchsystems ergab sich ein Verteilungsvolumen von insgesamt 500 ml.

Tab. 2.1 Dosierschema

Kalziumapplikation			Papaveringabe			
Einzel-dosis ml	Mol/l	Σ Konzentra- tion in Mol/l	Einzel-dosis ml	mg	Σ Dosis in mg	Σ Konzentra- tion in Mol/l
0	0	2,5	*0	*0	*0	*1,33 × 10 <sup>-7</sup>
2,5	1,25	3,75	0,1	0,05	0,05	2,66 × 10 <sup>-7</sup>
2,5	1,25	5,0	0,1	0,05	0,1	5,32 × 10 <sup>-7</sup>
2,5	1,25	6,25	0,2	0,1	0,2	1,064 × 10 <sup>-6</sup>
2,5	1,25	7,5	0,4	0,2	0,4	2,128 × 10 <sup>-6</sup>
2,5	1,25	8,75	0,8	0,4	0,8	4,256 × 10 <sup>-6</sup>
2,5	1,25	10,0	1,6	0,8	1,6	8,512 × 10 <sup>-6</sup>
:	:	:	3,2	1,6	3,2	1,702 × 10 <sup>-5</sup>

\*Um die Übersichtlichkeit in den graphischen Abbildungen zu verbessern, wurde dem jeweiligen Ausgangswert vor Papaveringabe (entsprechend 0 Mol/l Papaverin) der Wert 1,33 × 10<sup>-7</sup> Mol/l Papaverin zugeordnet, eine tatsächlich wirkungslose Dosis.

**Gruppe 1** Der Nährlösung im Neely-Modus arbeitender Meerschweinchenherzen wurde in Abständen von etwa 4-5 Minuten Papaverin in ansteigenden Konzentrationen zwischen  $10^{-7}$  und  $10^{-5}$  mol/l zugeführt, indem die Injektionsvolumina bei jeder Applikation verdoppelt wurden. Die Nährlösung enthielt eine Standardkalziumkonzentration von 2,5 mMol/l.

**Gruppe 2** Hier wurde Rattenherzen in der in Gruppe 1 beschriebenen Art und Weise das Alkaloid unter Standardkalziumbedingungen (2,5 mMol/l) verabreicht.

**Gruppe 3** An Meerschweinchenherzen wurde die Dosis-Wirkungskurve von Papaverin bei auf die Hälfte reduzierter Kalziumkonzentration bestimmt. Dazu wurde Perfusionslösung einem zweiten Reservoir entnommen, welches nur 1,25 mMol/l Kalzium enthielt.

**Gruppe 4** Die Versuchsdurchführung entsprach der in Gruppe 3, jedoch wurden Rattenherzen verwendet.

**Gruppe 5** Dem Perfusionsmedium wurde in 3-minütigen Abständen 2,5 ml einer Kalziumchlorid-Lösung verabreicht, was mit jeder Gabe eine Konzentrationserhöhung von 1,25 mMol/l bewirkte. Ziel war das Erreichen einer gegenüber dem Standardwert vierfach höheren Kalziumkonzentration von 10 mMol/l, wozu es 6 Einzeldosen bedurfte. Danach wurde Papaverin in ansteigenden Dosen appliziert.

**Gruppe 6** In diesem Versuchsblock mit Meerschweinchenherzen wurde so lange Papaverin appliziert, bis sich ein beginnender negativ inotroper Effekt - am Abfall der maximalen Druckerhöhungsgeschwindigkeit erkennbar - ergab.

Danach wurden nacheinander 6 Kalziumchlorid-Einzeldosen zu je 2,5 ml zugegeben, um die Kalziumkonzentration auf 10 mMol/l anzuheben. Dabei sollte insbesondere der Effekt auf die Kontraktilität nach Papaveringabe geprüft werden.

## 2.8. Belastungstest

Vor dem eigentlichen Eingriff wird jedes Herz einem Test unterzogen, um eine Güte- bzw. Qualitätsbeurteilung zu ermöglichen. Der Frank-Starling-Mechanismus befähigt das arbeitende Organ, gemäß seiner individuellen Belastbarkeit, auf schrittweise Erhöhung der Vorlast bei konstantem Aortendruck mit erhöhtem Herzzeitvolumen und  $LVdP/dt_{max}$  bei gleichzeitig steigendem LVEDP zu reagieren. Mit einem Volumenangebot von etwa  $20 \pm 3$  ml/min startet der Test. Dies entspricht einer die Pumpenumdrehungszahl regulierenden Skaleneinstellung von 2,0. Nach Stabilisierung und Aufzeichnen der Meßwerte wird der

Pumpenknopf um je 0,4 Skaleneinheiten weiter gedreht. Dadurch wird das Perfusatangebot jeweils um 4-5 ml erhöht. Bei sich abzeichnender Überlastung - erkennbar an einem starken Anstieg des enddiastolischen Druckes oder bei nicht weiter steigendem  $LVdP/dt_{max}$  - endet der Test. Die Drehknopfmarkierung beträgt zu diesem Zeitpunkt meist 5,6 auf der Skala, entsprechend einem Herzzeitvolumen von ca. 70 ml/min.

Die jeder Belastungsstufe zugeordneten Meßwerte LVEDP,  $LVdP/dt_{max}$  und Herzzeitvolumen dienen der Erstellung von Starling-Kurven, deren Steigung als Kontraktilitätskriterium herangezogen wird. Mittels einer Regressionsanalyse können die Zusammenhänge der erwähnten Größen linearisiert dargestellt werden.

## 2.9. Statistische Auswertung

### 2.9.1. Beschreibende Statistik

$x_i$  = Meßwert bei der i-ten Messung; n = Index des letzten Meßwertes = Anzahl der Meßwerte

arithmetisches Mittel

$$\bar{x}_A = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Standardabweichung

$$s_x = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Standardfehler des arithmetischen Mittels

$$SEM = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

### 2.9.2. Statistische Testverfahren

#### 2.9.2.1. Wilcoxon-Test

Dieser Paardifferenztest für zwei abhängige Stichproben setzt keine Normalverteilung voraus, d.h. er ist nicht parametrisch.

Durchführung: Zunächst werden Wertepaare von mindestens 6 Differenzen gebildet:

$$d_i = x_{i1} - x_{i2} \quad d_i \neq 0$$

Anschließend wird eine Rangfolge erstellt:

Die absoluten Differenzbeträge werden in aufsteigender Rangfolge angeordnet. Dann werden jeweils die Rangzahlen der positiven ( $R_p$ ) und der negativen ( $R_n$ ) Differenzen aufsummiert und der kleinere Wert als Prüfgröße herangezogen.

$R_n + R_p = \frac{n \times (n+1)}{2}$	Prüfgleichung zur Rechenkontrolle $n = \text{Gesamtzahl Differenzen} \neq 0$
--	---

Die Nullhypothese - beide Komponenten eines Wertepaares sind symmetrisch mit dem Null-Median verteilt:  $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu$  - wird zurückgewiesen, wenn die Prüfgröße kleiner oder gleich dem kritischen Tabellenwert  $R_0$  bzw. im Intervall zwischen 0 % und 5 % gelegen ist.

In diesem Fall wird die Alternativhypothese - entweder keine symmetrische oder aber unterschiedliche Verteilung liegt vor - akzeptiert. Das bedeutet, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 5\%$  besteht ein signifikanter Unterschied.

### 2.9.2.2. U-Test (Wilcoxon, Mann und Whitney)

Dieser nicht parametrische Test vergleicht zwei unabhängige Stichproben derselben Verteilung. Er dient dazu herauszufinden, ob sich die Mittelwerte beider Stichproben signifikant oder nur zufällig voneinander unterscheiden.

#### Durchführung:

Zur Bildung von Rangzahlen werden beide Stichproben in einer gemeinsam aufsteigenden Reihe angeordnet und durch Markierung die Zugehörigkeit zur entsprechenden Stichprobe 1 oder 2 gekennzeichnet. Die Rangzahlen der Reihe 1 und 2 - bezeichnet als  $R_1$  und  $R_2$  - werden aufsummiert und daraus die jeweiligen Prüfgrößen  $U_1$  und  $U_2$  errechnet.

$U_{1(2)} = n_1 \times n_2 \frac{n_{1(2)}(n_{1(2)} + 1)}{2} - R_{1(2)}$	Prüfgrößen beim U-Test $n_{1(2)} = \text{Umfang der Stichprobe 1(2)}$
---	--

$U_1 + U_2 = n_1 \times n_2$	Prüfgleichung zur Rechenkontrolle
------------------------------	-----------------------------------

Die kleinere der Prüfgrößen  $U_1$  und  $U_2$  wird mit dem kritischen Tabellenwert verglichen. Ist sie kleiner oder gleich, so muß die Nullhypothese -  $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu$  - zurückgewiesen werden. Dann besteht mit der Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,05$  ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte beider Reihen.