

## **VI. DISKUSSION**

### **VI.1 Diskussion der Methoden**

In der vorliegenden Arbeit werden die Perfusionsergebnisse von 30 Schafherzen mit zwei unterschiedlichen Kardioplegielösungen verglichen. Für diese Versuche wurde ein Versuchsaufbau für isoliert perfundierte Herzen unter konstanten Bedingungen gewählt. Dieses Modell ermöglichte es, unter definierten Rahmenbedingungen unterschiedliche Parameter am Herzen untersuchen.

Der Hauptgrund, Untersuchungen an isolierten Organen durchzuführen, ist die Unabhängigkeit des Organs von neuronalen, humoralen und metabolischen Einflüssen, sowie vom Substratangebot des gesamten Organismus. Ebenso ist hier im Gegensatz zu in vivo-Modellen weder mit kardiovaskulärer peripherer Gegenregulation noch mit größeren Veränderungen der kardialen Vor- und Nachlast zu rechnen. Selbst bei Studien an Tiermodellen, bei denen das autonome Nervensystem blockiert wird, müssen humorale und metabolische Einflüsse berücksichtigt werden.

### **VI.2 Probleme bei der Herzentnahme im Tieroperationssaal**

Bei der Herzentnahme im Tieroperationssaal stellten sich zunächst sowohl bei der Eröffnung des Thorax als auch bei der eigentlichen Herzentnahme Probleme heraus. Die Aufmeißelung des Thorax der verwendeten Merino-Schafe gestaltete sich aufgrund der robusten Anatomie des Sternums als relativ zeitaufwendig. Da die Tiere aber unter Inhalationsnarkose mittels eines Tracheotubus operiert wurden, blieb die Lungenfunktion auch nach Eröffnung des Brustkorbes noch erhalten, wodurch eine Hypoxie des Myokards vermieden wurde.

Da auf eine Unterbindung der herznahen Gefäße vor der Herzentnahme verzichtet wurde, um die warme Ischämiezeit möglichst kurz zu halten, musste manchmal aufgrund der schnellen Blutfüllung des Thorax das Herz blind entnommen werden.

Dadurch kam es häufiger zu kleineren oberflächlichen Myokardverletzungen, die aber die Herzfunktion nicht wesentlich beeinträchtigten.

Ein weiteres Problem stellte die anschließende Kardioplegie dar. Da der Aortenkonus für die spätere Aufhängung des Herzens an der Versuchsapparatur möglichst lang und vor allem intakt bleiben musste, gestaltete sich die Kanülierung durch die Koronarostien als etwas übungsintensiv. Dies machte sich besonders bei der etwas später durchgeführten blinden Kanülierung in der Perfusionsflüssigkeit bemerkbar, die angewendet wurde, um eine Luftinsufflation und damit eine Embolie zu vermeiden.

Zur Einleitung der Kardioplegie wurde bei dem ersten Teilversuch mit 15 Herzen eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung als kristalloide Lösung mit einem Zusatz von 2,3-Butanedione-Monoxime (BDM) verwandt. Diese Lösung hat keine Zulassung zum klinischen Einsatz und kann deshalb nur unter experimentellen Gesichtspunkten eingesetzt werden. Die anderen Herzen wurden mit einer gebrauchsfertigen kristalloiden Kardioplegielösung (Custodiol-Lösung) perfundiert.

Der Einsatz einer kristalloiden Lösung zeigt gegenüber der reinen Blut-Kardioplegie-Lösung sowohl Vorteile als auch Nachteile. So ist als Vorteil zu nennen, dass die Viskosität der kristalloiden Lösung gegenüber der Blutkardioplegie deutlich vermindert ist, was bei gleichem Infusionsdruck eine größere Menge an infundierter Kardioplegie-Lösung bedeutet (Engelman et al. 1981). Dadurch kommt es zu einer besseren Auswaschung des Blutes aus dem Herzen und zu einer sicheren Kardioplegie (Engelman et al 1981). Aus diesem Grund und auch wegen der einfacheren Handhabung der kristalloiden Lösung im Allgemeinen (Buckberg 1987) wurde diese für die dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuche gewählt.

Zahlreiche Autoren haben beide Kardioplegie-Methoden miteinander verglichen (Catinella et al. 1983; Iverson et al. 1984; Nwaneri et al. 1983; Bolling et al. 1997; Prasad et al. 1988; Barner 1991; Mullen et al. 1987), wobei häufiger die Blutkardioplegie als eine für die spätere Herzfunktion geeignetere Lösung herausgestellt wurde. Dagegen stellten Gundry et al. (1989) ein vermehrtes Auftreten von Überleitungsstörungen der Herzerregung nach Verwendung von Blut-Kardioplegie fest. Seine Untersuchungen beziehen sich allerdings auf klinische Studien an Bypass-Patienten. Pearl et al. (1992) beschreiben als weiteren Nachteil der Blut-Kardioplegielösung die Produktion von Sauerstoffradikalen durch die Leukozyten, Thrombozyten und die Komplement-Faktoren des Blutes.

Um die negativen Folgen des Blutes auszuschließen und gleichzeitig auf die Sauerstoffbindung der Erythrozyten nicht verzichten zu müssen, beschreiben u.a. Bhayana et al. (1997) die Verwendung von Fluosol als Sauerstoffträger.

Über die Konzentration und den Applikationszeitpunkt des oben bereits erwähnten 2,3-Butanedione-Monoxime (BDM) existieren in der Literatur ebenfalls unterschiedliche Angaben.

So beschreiben einige Autoren einen positiven Effekt bei Zugabe von BDM zu Kardioplegielösungen, wodurch vor allem die Kardioplegiezeit verlängert werden kann (Lopukhin et al. 1993; Zhang et al. 1997; Kivisto et al. 1995; Fagbemi et Northover 1995; Stringham et al. 1994). Andererseits erwähnen Habazettl et al. (1998), dass eine BDM-Gabe v.a. in der initialen Reperfusionphase durch eine Verminderung des myokardialen Sauerstoffbedarfs zu geringeren Reperfusionsschäden führen kann. Dieser Effekt kann nach ihrer Aussage nicht noch durch eine BDM-Gabe schon während der Kardioplegie gesteigert werden (Habazettl et al. 1999).

Eine Luftinsufflationsgefahr während der Kardioplegie bestand durch das Verwenden von Perfusorspritzen zur Kanülierung, da es durch das häufige Wechseln der Spritzen zu Störungen kam. Durch diese Spritzen war es ferner nicht möglich einen gleichmäßigen Perfusionsdruck während der Kardioplegie zu gewährleisten. Die Nachteile wurden durch die Verwendung einer auf circa 150 cm Höhe aufgehängte Infusionsflasche und die Verwendung von Absaugkathetern zur Kanülierung behoben.

### **VI.3 Fehlermöglichkeiten während der Konservierung und der Präparation**

Obwohl die Eröffnung des Thorax der Schafe unter sterilen Kautelen vorgenommen wurde, kam es sicherlich zu einer Kontamination des Herzens mit Keimen der Haut des Tieres. Eine Kontamination durch die Kardioplegie konnte weitestgehend ausgeschlossen werden, da die Lösungen für jeden Versuch frisch angesetzt und die für die Zubereitung nötigen Stammlösungen vor ihrem Verfallsdatum ausgetauscht wurden. Trotzdem wurde um einer Keimvermehrung während der Kardioplegiezeit entgegen zu wirken, ein antibiotischer Zusatz in Form eines Cephalosporins

[Cephazolin Fresenius1g®; Fresenius-Kabi Deutschland GmbH, 61352 Bad Homburg v.d.H.) in die Lösung gegeben.

Die Konservierung der Schafherzen fand in einem Kühlschrank bei einer gleichbleibenden Temperatur von 4° C statt.

Ursprünglich sollte in der Versuchsserie die Herzperfusion über Perfusionskatheter erfolgen, die in die Koronarostien eingnäht werden sollten. Dies erwies sich beim Schafherzen als schwierig bis unmöglich, da das erkaltete Fett einen fest-krümeligen Charakter hatte und somit eine Freilegung und Darstellung der Koronarien ohne deren Verletzung nicht möglich erschien. Aus diesem Grund wurde von uns die anterograde Perfusion über die Aorta favorisiert.

#### **VI.4 Probleme während der normothermen Hämoperfusion**

Während der Perfusion der Herzen kam es hin und wieder zu einer Ablagerung von Fibrinkoagula im Filtersystem trotz der Heparinisierung des Blutes. Dieses Verstopfen der Filter führte temporär zu einer Veränderung in der Pumpendilution und damit zu einer Flüssigkeitsnettoverschiebung zur Dialysatseite, der manuell entgegengeregelt werden musste. Um dieses zu beheben, wurde eine zweite Druckanzeige in das System eingebaut, womit der tatsächliche Druck angezeigt werden konnte. Um eine bakteriell bedingte Bildung von Koagula auszuschließen, wurde ein antibiotischer Zusatz, ebenfalls in Form von Cefazolin auch zur Perfusionslösung gegeben.

Probleme bereiteten weiterhin vor allem zu Beginn der Versuche die Rhythmusstörungen der Herzen. Direkt nach dem Anschluss des Herzens an die Apparatur dauerte es stets einige Minuten, bis das Herz mit einer konstanten Eigenrhythmik schlug, wobei es nötigenfalls durch einen Schrittmacher unterstützt wurde. Zur weiteren Unterstützung wurde ferner großer Wert auf die Konstanthaltung der Blutelektrolyte und Blutgasparameter gelegt.

Zu Beginn unserer Versuchsreihe kam es immer wieder zu Embolisierungen und zu ödematösen Schwellungen des Herzens vor allem bei längeren Versuchen, die wir an Hand von Schnittpräparaten nachweisen konnten. Die Blutgerinnsel ließen sich besonders im Bereich der kleineren und mittelgroßen Herzkranzgefäße und deren näherem Versorgungsgebiet feststellen.

Diese Probleme konnten durch den Einsatz von Blutfiltern der Perfusionsapparatur vermieden werden. Zusätzlich benutzten wir einen Leukozytenfilter bei der Instillation des Blutes in die Apparatur.

Eine Schädigung des Blutes findet vor allem in der Perfusionsapparatur statt. Hier kommt es zu einer Traumatisierung der Membranen sämtlicher Blutzellen insbesondere durch die Duokopfpumpen aber auch durch den direkten Kontakt des Blutes mit Luftsauerstoff im Auffanggefäß, sowie durch das „Hineinfallen“ des Blutes von der Herzoberfläche in das Gefäß und auch durch den Kontakt des Blutes mit den Silikonschläuchen.

Der Nachweis der Blutzellschädigung erfolgte indirekt während des Versuches durch die photometrische Messung des aus den zerstörten Erythrozyten freigesetzten Hämoglobins im Blutserum. Durch den Vergleich mit den Anfangswerten des freien Hämoglobins zu Versuchsbeginn ergab sich so ein Gradmesser für die Blutzellschädigungsstärke.

Da durch die Dialyse gegen ein kalziumhaltiges Dialysat die Zitratantikoagulation nach einiger Zeit unwirksam wird, heparinisierten wir die Perfusionsflüssigkeit vor der Zugabe des Blutes noch zusätzlich.

Durch diese Maßnahmen konnte eine Koagulation des Blutes ganz vermieden werden.

## **VI.5 Systemstabilität**

Nach Verdouw et al. (1998) können zur Beurteilung der Systemstabilität die Herzschlagfrequenz, der Blutfluss und der entwickelte Druck des Herzens herangezogen werden.

Als weitere Stabilitätskriterien wurden in der Arbeit die Werte der Blutgasanalysen von Dialysat und Blut und der Organwiderstand berücksichtigt.

Als Herzschlagfrequenz unter Ruhebedingungen werden beim Schaf 70-90 Schläge, beim Schwein 60-90 Schläge in der Minute angegeben (Kolb 1989). Vor allem zu Beginn der Versuchsphase trat in der der Arbeit zugrundeliegenden Versuchsreihe eine große Schwankungsbreite auf, deren höchste Frequenzen bis über 200 Schläge pro Minute lagen. Eine Hauptursache für diese zum Teil starken Schwankungen innerhalb der ersten 15 Minuten der Versuchsphase sind sicherlich in der erst

beginnenden Erwärmung des Herzens und der damit einhergehenden Anpassung an die Versuchsbedingungen zu sehen (steady state). Ein weiterer Grund ist sicherlich die bei einem isoliert schlagenden Herz fehlende nervale bzw. humorale Stimulation. Die Perfusion aller Herzen in der Versuchsreihe geschah flussgesteuert. Dieses Vorgehen hatte den Sinn, ein zu hohes Ansteigen des Perfusionsdruckes mit Folgen einer Organschädigung oder Schäden am Versuchsaufbau zu verhindern. Wie aus den Tabellen ersichtlich, sind die Fluss- und Druckdifferenzen sämtlicher Herzen aber gering und liegen alle im von Scheunert und Trautmann (1987) vorgegebenen Bereich von 80-120 mmHg.

Als Organfluss geben Scheunert und Trautmann einen Referenzbereich von 60-120  $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100\text{g}^{-1}$  Herzmasse an (Scheunert und Trautmann 1987). Auch dieser Wertebereich wird in allen Versuchen eingehalten.

Als weitere Charakterisierungen der Systemstabilität wurden die Ergebnisse der Blutgasanalysen des Perfusionsmediums und des Dialysates herangezogen. Es wurden gemessen der pH-Wert, der Partialdruck des Kohlendioxids und der myokardiale Sauerstoffpartialdruck. Aus diesen Werten ließen sich die Sauerstoffextraktion und der damit verbundene Sauerstoffverbrauch rechnerisch ermitteln.

Der pH-Wert des Blutes beträgt nach Kolb (1988) bei allen Haustieren im Ruhezustand 7,35-7,45 und kann bei körperlicher Arbeit bei Schweinen Werte von 6,88 erreichen. Nach Thielscher (1985) tritt bei Schweinen eine arteriovenöse Differenz der pH-Werte mit höherem arteriellen Werten auf, die durch einen hohen Kohlendioxid-Partialdruck beim Schwein in vivo verursacht wird. In den der Arbeit zugrundeliegenden Versuchen traten zu Versuchsbeginn regelmäßig sehr niedrige pH-Werte mit einem Mittel von 7,29 bei den Schafherzen auf. Dieses deutet darauf hin, dass sich in der Kardioplegiezeit saure Metabolite im Herz gesammelt haben und diese zu Beginn der Perfusion durch das Blut abtransportiert werden. Dabei kann sich eine Azidose während der Kardioplegiezeit nach Piper et al. (1998) aber durchaus positiv als Schutz vor Reperfusionsschäden auswirken. Während der Messphasen lagen die pH-Werte aber immer im von Kolb (1988) angegebenen physiologischen Bereich.

Thielscher (1985) gibt für den arteriellen  $\text{PCO}_2$  45 mmHg und für den venösen Werte um 65 mmHg an. Bei allen Versuchen, die dieser Arbeit zugrunde liegen, sind beide Werte aber deutlich unterschritten mit Mittelwerten von arteriell 20,6 mmHg und

venös 38,5 mmHg. Dieses ist vor allem damit zu erklären, dass zur ständigen Begasung des Dialysates, das über das Dialysem modul auch mit dem Perfusionsmedium in Kontakt steht, reiner Sauerstoff benutzt wurde, wodurch es zur Austreibung von CO<sub>2</sub> sowohl aus dem Dialysat, als auch aus dem arteriellen Blut kam. Die Begasung mit reinem Sauerstoff schlug sich ebenfalls auch auf den Sauerstoffpartialdruck des Dialysates und Blutes nieder, dessen Mittelwerte bei beiden Lösungen bei allen Versuchen deutlich höher lagen als die Vergleichswerte in der Literatur. Der Grund der hohen Sauerstoffpartialdrücke bei allen Versuchen liegt in der nur sehr grob einstellbaren Regulierung des Flussreglers der Sauerstoffflasche. Ein feinerer Regler könnte hier eine bessere Äquilibration schaffen.

Als ein weiterer Parameter zur Beurteilung der Systemstabilität und der Veränderung des Versuchsorgans wurde der Organwiderstand herangezogen. Er definiert sich durch das Verhältnis von Perfusionsdruck und Organfluss. Modersohn und Blasig (1985) geben als Normalwert beim gesunden Menschen  $1\text{mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}\cdot 100\text{g}$  an. In den der Arbeit zugrundeliegenden Versuchen lagen die Werte des Organwiderstandes stets geringfügig unter diesen für den Menschen angegebenen Werten. Beeinflusst wird der Widerstand eines Organs durch die Blutviskosität und den Gefäßwiderstand. Für den Widerstand der Gefäße ist neben der Endothelbeschaffenheit vor allem der Durchmesser von Bedeutung. So hängt nach dem Hagen-Poiseuillschen-Gesetz der Strömungswiderstand von der Viskosität und der vierten Potenz des Röhrenradius ab. Nach Budrikis et al. (1998) kann es zu ischämiebedingten Endothelschäden während der Kardioplegie kommen, die dann zu einem erhöhten Organwiderstand führen. Ebenso kann es bei der Reperfusion durch transiente Ischämie zu koronaren Vasospasmen kommen, die den Widerstand erhöhen (Kloner und Jennings 2001). Auch ist die Viskosität des Blutes für den Organwiderstand verantwortlich. Da in den Versuchen kein reines Blut verwendet wurde, sondern eine Hämodilution aus autologem Blut und Perfusionslösung, kommt es zu einer Hämatokritsenkung und damit zu einer niedrigeren Viskosität des Blutes. Der höhere Organwiderstand zu Versuchsbeginn bei allen Versuchen kann ebenfalls über die Viskositätssteigerung bei sinkender Strömungsgeschwindigkeit des Blutes erklärt werden (Silbernagl 1991). Ein anderes Phänomen, das mit Subhämolyse bezeichnet wird, kann zu verminderter Perfusion der Kapillaren des Herzens führen. Dabei kommt es durch die in den Versuchen verwendeten Rollerpumpen zu

Erythrozytenschäden, die nicht zu Hämolyse führen, aber eine geringere Verformbarkeit dieser Blutzellen bewirken (Kameneva et al. 1995).

## **VI.6 Kritik und Grenzen der Methode**

Der von der Firma Mediport in der Zusammenarbeit mit unserer Gruppe entwickelte Versuchsaufbau, der auch unter anderer Fragestellung zur Perfusion von Schweineherzen (Ast 2000, Stolte 2001) Verwendung fand, eignete sich zur Perfusion der Schafherzen gut. Ebenso ist die Bedienung des Aufbaus einfach und überschaubar und lässt sich schon nach relativ kurzer Zeit beherrschen.

Grundsätzlich ist der jeweilig gewählte Versuchsaufbau aber immer von der Fragestellung abhängig. Eine umfangreiche Literaturübersicht über die unterschiedlichen Modelle und deren Einsatzmöglichkeiten werden von Verdouw et al. (1998) beschrieben.

Die beiden verwendeten Kardioplegielösungen, deren eine einer modifizierten Lösung nach Krebs-Henseleit mit BDM-Zusatz entsprach, die andere eine gebrauchsfertige Lösung nach Bretschneider war, eignen sich im Bezug auf eine Kardioprotektion über einen längeren Zeitraum gut. So sind die Lösungen nach Jynge et al. (1978) v.a. für die hypotherme Langzeitkonservierung geeignet. Auch das beschriebene Kalzium-Paradoxon (Ruigrok et al. 1975), das bei Lösungen vorkommt wie den oben genannten, die einem intrazellulären Typ entsprechen, trat bei den in der Versuchsserie verwendeten Herzen nicht auf. Für eine noch größere Sicherheit im Bezug auf einen raschen Herzstillstand in Diastole ist der Einsatz einer Lösung nach der Zusammensetzung der University of Wisconsin-Lösung oder die Zugabe eines Kalziumantagonisten zu überlegen. Letzteres hat aber den Nachteil einer verzögerten Aktivität zu Beginn der Reperfusion (Sperelakis et al. 2001). Eine Alternative anderer Art stellt eine Apparatur zur kontinuierlichen Perfusion eines Herzens dar, die es ermöglicht das Herz während der gesamten Plegiezeit mit Sauerstoff und Substraten zu versorgen. Dies ist insbesondere in Betracht zu ziehen, wenn Entnahme- und Perfusionsort gleich sind und damit ein Herztransport entfällt.

Ein größeres Problem stellte die Applikation der Kardioplegielösungen dar. Die zu Beginn der Versuchsserie durchgeführte Applikation der Kardioplegie über Katheter mittels Spritzen stellte sich als wenig praktikabel heraus, da so der Perfusionsdruck

nicht abschätzbar war. Eine Verbesserung könnte eine über einen Perfusor zugeführte Lösung bringen.

Die anschließende Herzkonservierung in der hypothermen Kardioplegielösung bei 4°C ließ sich mit einem vor Ort stehenden Kühltank problemlos durchführen.

Die während der Perfusion auftretenden Schwellungen und Ödematisierungen des Herzens könnten durch eine Zugabe von Albumin zum Blut-Perfusionsgemisch vermindert werden. Dadurch kann eine Erhöhung des onkotischen Druckes erreicht werden, was v.a. für Langzeitversuche von Bedeutung ist.