

5 Diskussion

5.1 Tierversuch und Ersatzmethode

Der Senat der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) stellte fest, dass „der Einsatz von Alternativmethoden ... bereits zu einer deutlichen Reduktion von Tierversuchen geführt hat, aber nicht immer möglich“ ist. „Die DFG unterstützt alle Bemühungen um eine weitere Reduktion der Zahl von Tierversuchen und steht voll hinter dem geltenden Tierschutzgesetz“ (DFG, 1999). Die Zahl der verwendeten Versuchstiere konnte tatsächlich in den letzten Jahren erheblich verringert werden, jedoch kaum auf dem Gebiet der Grundlagenforschung. Die Forschung ist „mangels alternativer Methoden auf Tierversuche angewiesen“ (DFG, 1999). Unser Modell bietet eine Alternative für die Grundlagenforschung zum Ischämie- Reperfusionsschaden.

Mit der Grundgesetzänderung vom 31. Mai 2002 wurde der Artikel 20a um den Zusatz "und die Tiere" erweitert und lautet jetzt: "Der Staat schützt auch in Verantwortung für die künftigen Generationen die natürlichen Lebensgrundlagen und die Tiere im Rahmen der verfassungsmäßigen Ordnung durch die Gesetzgebung und nach Maßgabe von Gesetz und Recht durch die vollziehende Gewalt und die Rechtsprechung."

Dadurch ist der Tierschutz im Grundgesetz verankert. Damit gewinnt das Thema Alternativmethoden an Bedeutung. Die Kollision mit anderen Artikeln des Grundgesetzes (s.u.) wird nach Ansicht der Max-Planck-Gesellschaft (MPG) zu einer Klageflut führen und Tierversuchsvorhaben erschweren (MPG, 1999). Eine Gefährdung des Forschungsstandortes Deutschland durch "erhebliche Rechtsunsicherheit mit mehrjährigen Verzögerungen bei laufenden und geplanten Forschungsprojekten" wird erwartet (DFG, 1999). Durch die Verwendung von zuverlässigen Ersatzmethoden könnte diesem Missstand begegnet werden.

Auch die Max- Plank- Gesellschaft befürchtet eine wesentliche Einschränkung der Forschungsfreiheit¹ als Folgen der Verankerung des Tierschutzgesetzes in der

¹ Art. 5 Abs. 3 GG

Verfassung. Darüber hinaus sieht sie den "Schutz des Lebens und der körperlichen Unversehrtheit des Menschen"¹ sowie die Einhaltung der Pflicht des Staates, die Gesundheit seiner Bürger zu fördern und zu erhalten, gefährdet² (MPG, 1999).

Im definierten Feld der den Ischämie- Reperfusion- Schaden betreffenden Forschung (Kap. 5.2) kann unser Modell helfen, die Pflicht des Staates zu sichern, die Gesundheit seiner Bürger zu fördern und zu erhalten².

5.2 Perfusion von Schlachthoflungen und Standardisierung

Die Einstellung der druckregulierten Perfusion und die Voraussetzungen der Schlachthofentnahme werden diskutiert (Ischämiezeiten, Gesundheitsstatus, Unterschied zum narkotisierten Schwein und Vergleichbarkeit mit der Perfusion unter Narkose entnommener Lungen). Abschließend wird anhand einer aktuellen Fragestellung die Eignung unseres Modells im Experiment überprüft.

5.2.1 Bedeutung der Ischämiezeiten

Die Zeiträume, in denen die Schlachthoflungen ischämischem Stress ausgesetzt waren, waren für die Gruppen der am Schlachthof entnommenen Lungen nicht verschieden:

Aus dem Rattenmodell ist bekannt, dass eine Aufbewahrung nach Konservierung mit LPD oder Euro Collins für 20 Stunden eine Schädigung der Pneumozyten Typ II bewirkte. Für die LPD Lungen wurden normale Werte der Na^+/K^+ - ATPase- Aktivität in alveolaren Epithelzellen gemessen, und sie konnten durch Terbutalingabe weiter gesteigert werden (SUZUKI et al., 2000). Eine ähnliche Untersuchung bestätigte die unveränderten Na^+/K^+ - ATPase- Aktivitäten der alveolaren Epithelzellen im Maus- und Primaten- Lungentansplantationsmodell nach 24 stündiger Konservierung (FUJIMURA et al., 1996).

Als mit unseren Untersuchungen 1998 zur in vitro Perfusion begonnen wurde, wurde eine Aufbewahrung für 12 Stunden als Standard angesehen (NOVICK et al., 1992).

¹ Art. 2 Abs. 2 GG

² Art. 20 Abs.1 GG i.V.m. Art.2 Abs.2 GG

Bei der weltweiten Verwendung von Lungen für Transplantationen befanden sich die Ischämiezeiten mit einem Median zwischen 6 Stunden¹, 7 Stunden² und 8 Stunden³, je nach verwendeter Konservierungslösung. Dabei schwankten die maximal von den Transplantationszentren akzeptierten Ischämiezeiten zwischen 4 und 12 Stunden (HOPKINSON et al., 1998). Wir setzten deshalb für unsere am Schlachthof entnommenen Lungen die Ischämiezeit im Mittel deutlich unter 6 Stunden an.

Die Ischämiezeiten unserer für die Perfusion verwendeten Schlachthoflungen lagen zwischen 270 ± 42 und 314 ± 81 min. Sie waren für die Gruppen nicht verschieden (Tab. 7). SCHNEUWLY et al. (1999) bewahrten die Schweinelungen für die in vitro Perfusion zwischen 465 ± 18 min und 482 ± 14 min auf. Das Transplantationsmodell des Schweines von STEEN et al. (1997) wies, verglichen mit den von uns verwendeten, längere Ischämiezeiten mit 7h25 min bis 8h59 min auf.

Neuere Untersuchungen an Rattenlungen zeigten, dass Endothelschäden ab einer kalten Ischämiezeit von 4 Stunden signifikant zunehmen (ROONEY et al., 2000). Die Lungenfunktionen erschienen bis zu 4 Stunden Aufbewahrungszeit akzeptabel und nach 6 Stunden zunehmend schlechter (CHIEN et al., 2000). In der klinischen Studie von KHAN et al. (1999) wurden u.a. die Schweregrade eines röntgenologisch auftretenden Lungenödems, pulmonale Hypertension und Überlebenszeiten von 99 Patienten verglichen. Bei den kurzen Ischämiezeiten dieser Studie bestand keine Verbindung zwischen dem Schweregrad dieser Befunde im Bezug auf eine kürzere oder längere Ischämiezeit. Anhand dieser Parameter stellten KHAN et al. (1999) bei 56 Patienten einen Ischämie- Reperfusion- Schaden nach Transplantation fest und bei 44 Patienten nicht (Mediane von 168 min [Quartile 142 und 211] und 180 min [Quartile 150 und 221], Maximum 458 min).

¹ University of Wisconsin-Lösung

² Euro Collins-Lösung

³ Papworth-Lösung

Einflüsse auf die Funktionsparameter der Perfusion sind bei längeren Ischämiezeiten zu erwarten. Für unsere Perfusionsen - mit einer Ischämiezeit von im Mittel 4,5 und 5 Stunden - haben die Ischämiezeiten einen geringeren Einfluss auf die Funktionsparameter als für die in vitro Perfusion von SCHNEUWLY et al. (1999) oder bei Transplantationsversuchen mit 12 Stunden Ischämiezeit (SUNDARESAN et al., 1993) oder mit 18 Stunden Ischämiezeit (MÜLLER et al., 1997; SAKAMAKI et al., 1997).

Für die von uns für die Perfusion verwendeten Lungen lag die Ischämiezeit noch innerhalb des Wiederbelebungsintervalls, da bei erfolgreichen Transplantationen die Ischämiezeiten der Organe teilweise deutlich höher lagen. Ob konservierte Lungen nach Schlachthofentnahme tatsächlich noch vitale Organe sind, können nur zukünftige quantitative Untersuchungen auf zellulärer Ebene prüfen.

▪ **Die warme Ischämie der Lungen vom Schlachthof konnte kurz gehalten werden**

Im Kaninchen- Transplantationsmodell wurde von den Lungen eine warme Ischämie bis zu 1 Stunde toleriert. Bis zu diesem Zeitpunkt unterschieden sich Gefäßwiderstände, Sauerstoffsättigung, Spitzendruck und Massenzunahmen von Lungen mit und ohne warme Ischämie nicht (VAN RAEMDONCK et al., 1998).

SCHNEUWLY et al. (1999) brauchten in ihren Gruppen zwischen 52 ± 3 und 64 ± 7 min für die Entnahme der Lungen, das Einfließen der Konservierung und das Verbringen der Lungen in den Aufbau bis zum Start der Perfusion (SCHNEUWLY et al., 1999). Auch in den Kontrollgruppen, die mit Konservierungslösung gespült, aber nicht für einen Konservierungszeitraum aufbewahrt wurden, wurden 52 ± 3 bis 64 ± 7 min angegeben. Bei den Lungen, die von narkotisierten Tieren entnommen wurden (Gruppe 2) benötigten wir für die Entnahme bis zur Reperfusion nur $18,5 \pm 5,5$ min (Tab. 7). Vergleichbar kurz dauerte die warme¹ Ischämiezeit (Tab. 7) am Schlachthof. Damit konnte die Dauer der warmen Ischämie für unsere Lungen vergleichsweise kurz gehalten werden.

▪ **Das langsame Einfließen der kaliumreichen Konservierungslösung v. Baeyer II gegenüber kaliumarmen Lösungen deutet auf hohe Gefäßwiderstände hin**

Im Mittel 6,4 mal länger als bei allen anderen von uns verwendeten Konservierungslösungen dauerte das Einfließen der v. Baeyer II Konservierungslösung (Tab. 7) in die Schlachthoflungen. Ein sehr viel langsames Einlaufen bei höherem PAP beobachteten MIYOSHI et al. (1992) für kaliumreiche University of Wisconsin-Lösung (338 Sekunden und 3,6 kPa) verglichen mit der LPD-Lösung (108 Sekunden und 1,6 kPa). Sie konnten damit eine Widerstandserhöhung belegen. PUSKAS et al. (1992) fanden im Hunde-Transplantationsmodell keinen Unterschied ($p=0,28$) für die Einfließzeiten zwischen (kaliumreicher) Euro Collins-Lösung (101 ± 18 Sekunden) und der LPD-Lösung ($76,5\pm 11$ Sekunden). Für unsere mit kaliumreichen Lösungen konservierten Lungen (Gruppen 3 und 4) betrug die Einfließzeit im Mittel $25,8\pm 12,8$ min. MÜLLER et al. (1997) konnten in 9 ± 1 min die kaliumreiche Euro Collins-Lösung in die Lungen einfließen lassen². Das Einfließen der kaliumarmen LPD- und NaCl-Lösungen war bei den von uns behandelten Lungen mit nur $4,0\pm 1,1$ min kürzer als bei MÜLLER et al. (1997) oder als bei den von uns mit v. Baeyer II-Lösung behandelten Lungen (Tab. 7). Auch im Primaten-Transplantationsmodell wurden schnelle Einfließzeiten von 1-2 min für 1,5 Liter LPD-Lösung festgestellt (SUNDARESAN et al., 1993). Bei akuter extrazellulärer Hyperkaliämie ist das Ruhemembranpotential zur positiven Seite hin verändert (Depolarisation), und es kommt zu einer K^+ -Kontraktur. Wir vermuten, dass die Gefäße mit einer Widerstandserhöhung reagierten, weil die kaliumreiche Konservierung eine K^+ -Kontraktur der glatten Muskulatur bewirkte. Diese deutliche Reaktion ist erstaunlich, da die Pulmonalgefäße nur einen geringen Anteil an glatter Muskulatur aufweisen. Zukünftige Untersuchungen könnten klären, ob den beobachteten Widerstandserhöhungen tatsächlich eine K^+ -Kontraktur zugrunde liegt.

¹ Zeit von der Betäubung bis zum Einlaufen der entsprechenden Konservierungslösung

² 100 ml/kg Tierkörpermasse bei 20-30 kg schweren Schweinen

5.2.2 Standardisierung und vorgegebene pulmonal arterielle Drücke

Um den Einfluss des hydrostatischen Druckes als Verursacher bei einer Ödementstehung weitestgehend ausschließen zu können, wurden die in vitro Perfusionen mit „physiologischem“ pulmonal arteriellem Druck (PAP) durchgeführt. Die Angaben zum PAP sind in der Literatur nicht einheitlich. Untersuchungen zur Physiologie der Lungendurchblutung und des Blutdrucks beim Schwein belegten einen vergleichsweise hohen systolischen, pulmonal arteriellen Blutdruck von 5,3 kPa bei 35-50 kg schweren Tieren und 6,7 kPa bei 25-35 kg schweren Tieren (WACHTEL, 1963). SAKAMAKI et al. (1997) hatten vor der Transplantation an Schweinen in den verschiedenen Gruppen einen PAP von $3,7\pm 0,4$ bis $3,9\pm 0,4$ kPa gemessen. Andere Autoren hatten im Transplantationsmodell¹ der Schweinelunge vor der Transplantation einen PAP von $3,3\pm 0,2$ kPa beobachtet (MÜLLER et al., 1997). Auch SCHNEUWLY et al. (1999) wählten für die in vitro Perfusion an Schweinelungen einen mittleren Druck von 3,3-3,7 kPa unter Verwendung einer peristaltischen Pumpe. Andere Autoren haben jedoch bei narkotisierten Schweinen niedrigere Werte für den PAP gemessen, HANNON et al. (1990) zwischen 1,5 und 3,2 kPa mit im Mittel 2,1 kPa an Tieren von 20-25 kg und HUGHES (1986) 2-2,5 kPa. In Berufung auf HANNON et al. (1990) und HUGHES (1986) wurde von WRIGHT et al. (2000) ein PAP von 2,4-2,7 kPa als physiologisch angenommen und verwendet.

Deshalb wählten wir für die Perfusionen den an den narkotisierten Schweinen gemessenen PAP von 3,36 kPa (Median, Abb. 7). Das 75% Quartil bei den narkotisierten Schweinen betrug 4 kPa. Diesen Wert tolerierten wir für die Perfusion als oberen Grenzwert bei Schwankungen des PAP (Abb. 2 und 7). Bis zum “Steady State”² unserer Perfusion wurde auf den maximalen Blutfluss unter Wahrung eines pulmonal arteriellen Druckes von 3,36 kPa³ justiert und dieser im “Steady State“ beibehalten¹. Ein Druck von 3,3 kPa entspricht dem bekannten mittleren kolloidosmotischen Kapillardruck in Gefäßen des Körperkreislaufs. Damit ist unser

¹ 20-30 kg schwere Tiere

² Anhang Tab. 2; 4; 6; 8; 10 und 12

³ ohne kurzfristig 4 kPa zu überschreiten

Verfahren eine auf niedrige pulmonal arterielle Drücke regulierte Perfusion zur Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens. Da dieser Perfusionsdruck in allen unseren Versuchsgruppen gleich hoch war, ist ein Vergleich der vaskulären Parameter zwischen den Gruppen möglich.

Unsere Wahl für die Grenzen und Zielvorgaben des PAP erschien aus mehreren Gründen sinnvoll. Bei der *in vitro* Reperfusion nach Ischämie der Schweinelunge mit modifiziertem autologen Blut beschrieben HALLDORSSON et al. (2000) für den Druckbereich zwischen 2,7-4 kPa gegenüber 4-6,7 kPa für den PAP eine geringere Ödemausbildung und einen geringeren Anstieg des Widerstandes. Bei Untersuchungen nach linksseitiger Transplantation der Schweinelunge zeigten CLARK et al. (1998 & 1999) in den ersten 6 Minuten der Reperfusion bei einem PAP von 6 kPa gegenüber einer Reperfusion mit niedrigerem Druck von 2,7 kPa eine verstärkte Leukozyten- Sequestration. CLARK et al. (1999) beobachteten, dass die kontrollierte Reperfusion mit niedrigen Drücken zu einer Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens führte.

Die Höhe des PAP kann einen Einfluss auf die pulmonal venösen Drücke (PVP) haben PETAK et al. (2002). SCHNEUWLY et al. (1999) haben die pulmonal venösen Drücke nicht bestimmt. Die Autoren haben den venösen Abfluss offen gelassen, deshalb betrug bei ihnen der pulmonal venöse Druck Null.

In unserem Modell stieg der PVP, wenn sich in dem am Stativ aufgehängten Blutbeutel (Abb. 1) mehr Blut befand als zuvor, oder aus der Lunge mehr Blut zugeführt als abgepumpt wurde. Im "Steady State" wurden die Flüsse nicht mehr geändert. Die Durchblutung der Lunge und damit der PVP können in unserem Modell nur kurzfristig infolge einer Weitstellung der Lungengefäße steigen. *In vitro* wurde der PVP auf *in vivo* vergleichbare Werte eingestellt (Abb. 7).

In jüngsten Untersuchungen an isoliert perfundierten Herz-Lungen-Blöcken von Ratten wurde bei steigendem pulmonal kapillären Druck PCP ein Anstieg des im linken Herzen gemessenen Drucks gemessen, der in unserem Modell dem PVP entspricht

¹ Anhang Tab. 3; 5; 7; 9; 11 und 13

(PETAK et al., 2002). Über weitere Beobachtungen kamen PETAK et al. (2002) zu dem Schluss, dass in ihrem Modell nicht der PAP oder der Fluss die verstärkte Flüssigkeitsansammlung im Lungengewebe bei abnehmender Resistance und Elastizität die Lungenmasse determinierten, sondern der im linken Atrium gemessene Druck. Sie stellten für Drücke im linken Vorhof außerhalb des Bereiches von 0,9-1,3 kPa eine Verschlechterung der Resistance und der Elastizität fest (PETAK et al., 2002). Bei Untersuchungen an humanen Lungen wurden Korrelationen zwischen dem „capillary wedge pressure“ (Messmethode zur Bestimmung des Druckes im linken Atrium) und den radiologischen Befunden hinsichtlich einer Ödematisierung beobachtet (Abb. 7; GLUECKER et al., 1999). Da wir im Median annähernd die Einstellungen des an narkotisierten Tieren gemessenen Druckes von 0,69 kPa für den PVP wählten, unterschritten wir diesen Bereich. Damit konnte auch der PVP in unserem Modell als Verursacher des Lungenödems ausgeschlossen werden.

5.2.3 Pulmonal kapillärer Verschlussdruck

Der pulmonal kapilläre Verschlussdruck entsprach bei in vitro perfundierten caninen Lungen dem hydrostatischen Druck in den Lungenkapillaren (TOWNSLEY et al., 1986). GUSTIN et al. (1992) fanden bei der in vitro Perfusion von Herz-Lungen-Blöcken (im Mittel 1,31 kPa bei der Landrasse Gruppe und 1,23 kPa bei der Minipig Gruppe) niedrigere Verschlussdrücke als die Messungen des PCP in den Gruppen 2-7 von im Mittel 2,12 kPa (Anhang Tab. 2 bis 13). Auch der PAP (1,66 bis 2,84 kPa) war bei GUSTIN et al. (1992) niedriger eingestellt.

Die Werte für den PCP in den Gruppen 2-7 (Abb. 7) sind gegenüber den aus der Literatur bekannten in den Lungenkapillaren vorkommenden hydrostatischen Drücken des Menschen (0,4-0,67 kPa; BUSSE, 2000) um das 3,1 bis 5,3 fache erhöht. Uns sind z.Z. keine in vivo Werte des PCP beim Schwein bekannt. Aber sehr wahrscheinlich beträgt der kapilläre Verschlussdruck des Schweins nicht das 3,1 bis 5,3 fache des Wertes beim Menschen.

Die Werte des PAP und des PVP (Gruppe 2 bis 7) sollten ca. 3,36 kPa und 0,69 kPa (wie an den Tieren in Gruppe 1 gemessen) für die in vitro Perfusion betragen. Dies wurde auch erreicht (Kap. 5.2.2). Auch die Druckdifferenz zwischen pulmonal arteriellem Zufluss und pulmonal venösem Abfluss in unseren Versuchen mit ca. 2,57 kPa war größer als beim Menschen. Die mittlere Druckdifferenz zwischen Pulmonalarterie und linkem Vorhof des Menschen beträgt nur 1 kPa (THEWS, 2000 a). Damit kann der PCP der in vitro perfundierten Lungen (Gruppe 2 bis 7) als erhöht angesehen werden.

Ein erhöhter pulmonal kapillärer Druck bewirkt eine verstärkte Filtration aus den Lungenkapillaren, und es entsteht ein Ödem im Interstitium (Abb.8).

Die Fähigkeit, Flüssigkeit aus dem Alveolarraum abzutransportieren, ist ein Marker für den Schweregrad des Ischämie- Reperfusion- Schadens (WARE et al., 1999). Sie korrelierte mit kürzeren Ischämiezeiten, mit geringeren histologischen Schäden nach Lungentransplantation und einer schnelleren Auflösung des Reperfusionsoedems (WARE et al., 1999). Die Autoren konnten an Patienten nach Lungentransplantationen zeigen, dass mit Beginn der Reperfusion der Proteingehalt der Flüssigkeit in den Alveolen gegenüber dem des Plasmas zunimmt. Dies deutet auf eine zunehmende Permeabilität der Lungenkapillarwand hin (WARE et al., 1999). Durch die erhöhte Permeabilität der Lungenkapillarwände für die Plasmaproteine sind auch die Flüssigkeitsansammlungen im Lungeninterstitium zu erklären (WARE et al., 1999). Die Flüssigkeitsansammlungen im Interstitium und in den Alveolen könnte in unserem Modell zu einer Widerstandserhöhung vor allem am Kapillarende geführt haben. Dies würde zu einem erhöhten PCP führen.

AMRANI und ROYSTON (1999) zeigten in ihrer Übersicht, dass eine Vasodilatation der prä- und postkapillären Widerstandsgefäße sowie der Sphinktergefäße nach Ischämie und Reperfusion in der Lunge nicht weiter aufrecht erhalten werden kann, da die hierfür benötigte Stickoxid (NO)-Produktion vermindert ist (Kap. 2.2.6). Der Euler-Liljestrand-Mechanismus beschreibt eine regulatorische Vasokonstriktion nach

Hypoxie (Kap. 2.2.1). Andererseits besitzen die Pulmonalgefäße nur einen geringen Anteil an glatter Muskulatur (BUSSE, 2000). Ein bedeutender Einfluss dieser glatten Muskulatur auf die Widerstandsentwicklung ist daher fraglich. Da in unserem Modell der Perfusionsdruck (PAP) konstant gehalten wurde, der PCP aber erhöht war, ist zu folgern, dass eine Widerstandserhöhung vor allem am Kapillarende erfolgt sein muss (Kap. 4.2.3 und 5.2.8.2).

5.2.4 Massenzunahmen, pulmonales Ödem und histologische Befunde

Beim Ischämie- Reperfusion- Schaden tritt - nach vorausgehender Ischämie - mit beginnender Reperfusion ein pulmonales Ödem auf. Im wesentlichen wurden daher Volumenzunahmen des Alveolenlumens, der alveolaren Septen und des Peribronchio-vaskularraumes beobachtet (FEHRENBACH et al., 2001 und 1999).

In den vorliegenden Versuchen treten trotz niedrigem PAP und PVP schon 15 min nach Perfusionsbeginn interstitielle Ödeme auf (Gruppe 5). Wie in Gruppe 5 wurde in auch in allen anderen Gruppe eine Massenzunahme (Mperf) im Verlauf der Perfusion deutlich (Abb. 8 und Anhang Tab. 14). Histologisch wurden an den Lungen in Gruppe 5 eine zunehmende Dicke der Alveolenwände beobachtet (Abb. 8). Die Massenzunahme beim Entstehen von Lungenödemen wurde schon von STAUB (1974) beobachtet und mit steigenden transvaskulären Flüssen erklärt.

FEHRENBACH et al. (1999) verglichen ein gravimetrisches¹ und ein histologisches Verfahren zur Beschreibung des Lungenödems. Die von FEHRENBACH et al. (1999) aufgrund ihrer histologischen Untersuchungen berechneten Gefäßvolumen unterlagen starken Schwankungen; sie korrelierten im wesentlichen mit den bei der gravimetrischen Messung gefundenen Massenänderungen der Lungen. Starke Schwankungen bei den Massenzunahmen wurden auch in den vorliegenden Versuchen während der Perfusion beobachtet (Anhang Tab. 14). Die gravimetrische Messung war deshalb für eine differenzierte Ödembetrachtung nicht geeignet, sie

¹ Die wet/dry ratio, ist eine gravimetrische Methode bei der zunächst das Lungengewicht nach Perfusion (Feuchtmasse) gewogen wird. Anschließend wird die Lunge 24 Stunden bei 95°C aufbewahrt (Trockenmasse). Aus den beiden Massen wird die wet/dry ratio berechnet.

korrelierte lediglich mit der Ausbildung eines intraalveolären Ödems (FEHRENBACH et al., 1999). Darüberhinaus konnte lichtmikroskopisch je nach Versuchsgruppe (antegrade oder retrograde Konservierung sowie verschiedene Konservierungslösungen) eine genaue Verteilung der Lokalisation des Lungenödems bestimmt werden (intraalveoläres Ödem, septales Ödem, peribronchiovaskuläres Ödem, intravaskuläres Wasser). Hierüber machte die gravimetrische Messung keine Aussage (FEHRENBACH et al., 1999).

Methodisch verwendeten wir Paraffin für die Einbettung der Präparate (Kap. 3.3), dabei wäre die Kryofixation - bei der Betrachtung der Gefäßfüllung - zur Vermeidung der Gewebeschrumpfung durch Flüssigkeitsverluste geeignet (FEHRENBACH et al., 1999).

Andererseits wurde festgestellt, dass die gravimetrische Messung mit dem Ausmaß des mikroskopisch aufgefundenen intraalveolären Ödems korrelierte. Auch die Volumina des intraalveolären Ödems und des Interstitiums der Alveolarsepten standen miteinander in Beziehung (FEHRENBACH et al., 1999). Dies stimmt bedingt mit unseren Befunden überein; in unseren Versuchen wurde zwar nicht die „wet to dry ratio“ bestimmt, jedoch haben wir Massenzunahmen gemessen und konnten gleichzeitig histologisch eine Zunahme der Wandstärke der alveolären Septen beobachten (Gruppe 5, Abb. 8).

Die mikroskopischen Untersuchungen zum Ischämie- Reperfusionsschaden legten dar, dass Sauerstoffpartialdruck und Spitzendruck an die Ausmaße des intraalveolären Ödems korreliert waren (FEHRENBACH et al., 1999). Entsprechend den von FEHRENBACH et al. (1999) gefundenen Korrelationen nahm der Spitzendruck im Verlauf unserer Perfusion in Gruppe 5 zu (Anhang Tab. 8 und 9). In unseren Versuchen war die Sauerstoffaufnahme bei den Perfusionen gegenüber in vivo verschlechtert (Abb. 12). Die Ausbildung des peribronchiovaskulären Ödems sowie der Schädigung des Alveolarepithels waren mit Erhöhungen des Gesamtwiderstands verbunden (FEHRENBACH et al., 1999). Ähnliches konnte bei

unseren Versuchen belegt werden; bei der Gegenüberstellung von in vivo und in vitro Perfusion war der Gesamtwiderstand in Gruppe 2 deutlich höher als in Gruppe 1 (Abb. 12).

Die Befunde in unseren histologischen Präparaten (Hämostase, Zellschwellungen, Abschilferungen des Epithels, Erythrozyten im Alveolarlumen, sowie Ansammlungen von im Alveolarlumen liegenden, homogenen rosafarbenen Plaques) sind typisch für den Ischämie-Reperfusionsschaden (FEHRENBACH et al., 2001; FISCHER et al., 2000; MILLS et al., 1992).

Kontrovers wird der Einfluss der neutrophilen Granulozyten bei der Entstehung des Ischämie-Reperfusionsschadens diskutiert. FEHRENBACH et al., (1999) beobachteten trotz fehlender Leukozyten im Perfusionsmedium ein Reperfusionsoedem. MILLS et al., (1992) fanden im Hundetransplantationsmodell ca. eine Verdoppelung der weißen Blutzellen pro Alveole nach Einsetzen der Reperfusion. Trotzdem konnte diese Forschergruppe keine Permeabilitätsänderungen bei der Verwendung von einem Perfusionsmedium mit und ohne Neutrophile ausmachen (STEIMLE et al., 1992). Auch hier zeigt das Hundetransplantationsmodell eine gewisse Ähnlichkeit zu unserem in vitro Perfusionsmodell, da die granulozytären Infiltrate nach der Reperfusion um 33% zunahm (Abb. 8).

Die Neutrophilenaggregation und deren Anheftung an das Endothel scheint bei niedrigen Flüssen und mit entfallender Hemmwirkung des Stickoxids (NO)¹ erleichtert (AMRANI und ROYSTON, 1999). Viele Untersucher beschrieben mit dem Auftreten der Neutrophilen zunehmende Zelldeformationen, Membrandeformationen und Zelltod, sowie kontinuierlich steigende Lungenmassen und zunehmende Ödematisierung (FISCHER et al., 2000 und 1994; AMRANI und ROYSTON, 1999). Die neutrophilen-vermittelte Schädigung soll über deren Radikalenproduktion zustande kommen (AMRANI und ROYSTON, 1999).

¹ Hemmung der Neutrophilenaggregation Kap. 2.2.6

Verglichen mit dem Zustand vor Reperfusion war in unserem Modell eine zunehmende Adhäsion von Leukozyten in den Alveolen aufgetreten (Abb. 8). Verglichen mit Messungen am narkotisierten Tier waren die Gefäßwiderstände in den perfundierten Lungen erhöht (Abb. 12 und 13).

Die Anzahl der Neutrophilen sowie die Wandstärke der Alveolarsepten ließ sich im HPF für unser Modell relativ einfach auszählen (Abb. 8). Für eine differenziertere Betrachtung der Ödembildung scheint sich allerdings das von FEHRENBACH et al. (1999) etablierte Verfahren der stereologischen Volumenbestimmung anzubieten.

Die Änderungen der Lungenmasse (Anhang Tab. 14) während der Perfusion wurden mit der Absicht aufgezeichnet, Flüssigkeitsverschiebungen zu erfassen und damit Hinweise auf den Umfang der entstandenen Ödeme zu erhalten. Zwar nahmen alle Lungen während der Perfusion an Masse zu; es ließ sich aber kein Unterschied zwischen den Gruppen nachweisen. Als einzige Auffälligkeit konnten wir lediglich für die Gruppe 2 eine im "Steady State" fortschreitende Massenzunahme beobachten (Anhang Tab. 14). Dies war für die übrigen Gruppen nicht der Fall. Wie FEHRENBACH et al. (1999) zeigen konnten, beschreibt die histologische Quantifizierung die Ödementstehung genauer und könnte helfen, die Ursachen der Massenänderungen aufzuklären.

5.2.5 Equilibrierung innerhalb der ersten 45 Minuten

In Kapitel 5.2.2 und 5.2.3 wurden im Hinblick auf die druckregulierte Reperfusion, die sich in den ersten Minuten manifestierenden Konsequenzen der Reperfusion diskutiert. Mit unterschiedlichen Aufbewahrungszeiten von Lungen und Blut (Gruppe 2 gegenüber Gruppen 3 bis 7) finden wir die Parameter im Blut bzw. Blutkonserven verändert (Anhang Tab. 2 gegenüber Anhang Tab. 4; 6; 8; 10 und 12).

Die in vitro Perfusion wird von der Organqualität beeinflusst¹. Die Komponenten des Ischämie- Reperfusionsschadens beeinflussen sich gegenseitig, wobei die Schäden und deren Auswirkungen in der Reperusionsphase rapide zunehmen². Das Ausmaß der Schäden und mögliche Einflussfaktoren ließen es fraglich erscheinen, ob sich in unserem Modell die Parameter auf vergleichbare und gleichbleibende Wertebereiche einstellen lassen. Um reproduzierbare Grundvoraussetzungen zu schaffen, sollten die Werte der Messparameter während der Perfusion im Aufbau equilibriert werden.

Die Werte der Parameter in den ersten 45 Minuten³ stellen Stichproben nach den Interaktionen dar. Dieser Equilibrierungsvorgang konnte am deutlichsten bei den Werten des pH-Wertes sowie der Standardabweichung für Sauerstoffdruck und Sauerstoffsättigung aufgezeigt werden (Anhang Tabellen 2 bis 13). Da alle Werte (bis zu 45 Minuten nach Perfusionsbeginn) das Ergebnis dieser Einflussnahme auf verschiedene Parameter waren¹, wurden sie nicht auf das Auftreten statistischer Unterschiede geprüft.

Der pH-Wert ließ sich durch Veränderung des Kohlendioxiddruckes über die Deoxygenierung oder durch Natriumbicarbonatgaben in das Dialysat einstellen. Als Zielwert für den pH betrachteten wir die in unserer in vivo Gruppe gemessenen Werte von $7,36 \pm 0,10$ (Anhang Tab. 1; Abb. 3 und 9). In den am Schlachthof gewonnenen Blutkonserven betragen die Schwankungen von 0 bis 45 Minuten in Gruppe 2: $7,00 \pm 0,08$ gegenüber Gruppen 3; 4; 5; 6 und 7: $7,26 \pm 0,12$ (Anhang Tab. 2; 4; 6; 8; 10 und 12). Die anfänglich differierenden Messungen konnten durch die Equilibrierung im 60- bis 90- Minutenintervall auf einen gleichbleibenden Wertebereich von durchschnittlich $7,30 \pm 0,17$ eingestellt werden (Anhang Tab. 3; 5; 7; 9; 11 und 13; Abb. 3 und 9). Der pH-Wert der extrazellulären Flüssigkeit liegt bei den meisten Tierarten im Bereich von 7,36 und 7,44. Unter physiologischen Bedingungen sind diese Schwankungen äußerst gering (GÄBEL, 2000 b). Die Streuungen der pH-Werte waren

¹ Kap. 5.2.7 und 5.2.8

² Kap. 2.3, 4.3, 5.2.4, 5.2.2 und 5.2.1

³ ermittelt nachdem die Werte nicht mehr schwankten

im Verlauf unserer Perfusionen in allen Gruppen jedoch groß. Die Streuung der pH-Werte nahm in allen Gruppen von 0 bis 90 Minuten nach Perfusionsbeginn fast immer kontinuierlich ab (Anhang Tab. 2 bis 13). Dies zeigt, dass in unseren Versuchen eine befriedigende Equilibrierung der pH-Werte erfolgte². Der manuell regulierte CO₂-Eintrag über die Membran-deoxygenatoren zur Equilibrierung des pulmonal arteriellen pH-Wertes war für die Prüfung dieses Modells vertretbar. Aufgrund unserer Ergebnisse wird für weiterführende Versuche eine automatische Regulation des CO₂-Eintrags mittels kontinuierlicher Messungen des pH-Wertes empfohlen.

Im Gegensatz zu den meisten Transplantations- und in vitro beziehungsweise in vivo Perfusionsmodellen, die, wie in der Klinik üblich, mit maximalen Sauerstoffkonzentrationen in der Beatmungsluft arbeiteten (WRIGHT et al., 2000; GRECO et al., 1999; SCHNEUWLY et al., 1999), reduzierten wir den FiO₂ bis zum "Steady State" stufenweise auf 21%. Deshalb waren nach niedrigen Werten in den Blutbeuteln (Gruppe 2: 5,59±1,47 und Gruppen 3, 4, 5, 6, 7: 7,21±1,22 kPa) die pulmonal arteriellen Sauerstoffdrücke und deren Standardabweichungen zu Beginn der Perfusion hoch (Durchschnitt im 0-45 Minutenintervall der Gruppen 2, 3, 4, 5, 6 und 7: 17,66±23,23), (Anhang Tab. 2; 4; 6; 8; 10 und 12). Der Equilibrierungserfolg zeigt sich nach 45 Minuten in pulmonal arteriell niedriger eingestellten Sauerstoffdrücken (Durchschnitt im "Steady State" für die Gruppen 2, 3, 4, 5, 6, und 7: 7,08±1,54kPa). Die Blutbeutelwerte und deren Standardabweichungen für die pulmonal arteriellen Drücke ähnelten den im "Steady State" eingestellten. Es stellt sich retrospektiv die Frage, ob maximale Sauerstoffdrücke bei Reperfusionbeginn für die Perfusion sinnvoll sind und die Equilibrierungsphase damit unnötig verlängert wird. Andererseits sprechen die trotz eines FiO₂ von 21% realisierten Sauerstoffdrücke für eine zufriedenstellende Sauerstoffaufnahme in das Blut und somit für unser Modell.

Der pulmonal arterielle Sauerstoffdruck und Sauerstoffsättigung wurden bei der Perfusion von Versuchstierlungen (Gruppe 2) gegenüber Schlachthoflungen (Gruppe

¹ Kap. 3.2.5, 3.2.6 und 4.4

² Kap. 5.2.6 und 5.2.8.2

5) nicht verschieden eingestellt (Abb. 12 und 13, sowie Kap. 5.2.8.2). In vitro (Gruppe 2) war der pulmonal arterielle Sauerstoffdruck gegenüber in vivo (Gruppe 1) erhöht. Normalerweise betragen die pulmonal arteriellen Werte des Menschen für den O₂-Partialdruck und O₂-Sättigung 5,3 kPa und 73% (THEWS, 2000 b). Bei der Betrachtung des "Steady States" unserer Perfusionen allen Gruppen (2 bis 7) fallen jedoch pulmonal arteriell hohe O₂-Partialdrücke um 7 kPa und O₂-Sättigungen oft über 75% auf (Anhang Tab. 2 bis 13). Mit den typischerweise recht niedrigen Flüssen des Perfusionsmediums - von ca. 500 ml/min bei den perfundierten Lungen von Schlachthofschweinen - ist die mit den von uns verwendeten Deoxygenatoren mögliche Deoxygenierung begrenzt¹. Auch andere Untersucher, die Schweinelungen in vitro perfundierten, verwenden vergleichbare Flüsse (WRIGHT et al., 2000; SCHNEUWLY et al., 1999; GUSTIN et al., 1992). Außerdem ist bekannt, dass mit der Nutzungsdauer die Deoxygenierungsleistung der Deoxygenatoren abnimmt, da sich die Poren der Membranen zusetzen. Unter Verwendung mehrerer Deoxygenatoren könnte die pulmonal arterielle Sauerstoffsättigung weiter gesenkt werden. Dieses war für unsere Untersuchungen jedoch aus Kostengründen nicht vorgesehen.

Eine Ausnahme der korrekten pulmonal arteriellen Equilibrierung war in Gruppe 4 mit pulmonal arteriell weiter sinkender Sauerstoffsättigung nach dem 60- Minutenwert aufgetreten. Erst bei 75 und 90 Minuten war in den Gruppen 4 ein gleichbleibendes Niveau erreicht. Die Sauerstoffsättigung stieg mit Perfusionsbeginn bis zum 45- Minutenwert auf $84,15 \pm 20,32\%$. Der 60- Minutenwert zeigt, dass die Sauerstoffsättigung zu hoch eingestellt war. Für einzelne Fälle dieser Gruppe war es bis zur sechzigsten Minute nicht möglich, diesen Wert adäquat abzusenken, bedingt durch die träge Reaktion nach Einstellung der Begasung des Deoxygenators auf höhere Leistung. Durch die Verzögerung beobachteten wir eine weiter fallende Sauerstoffsättigung (Anhang Tab. 6; 7; 10 und 11).

Nicht nur innerhalb der Gruppen sondern auch gruppenübergreifend konnten befriedigend konstante Werte für die Voreinstellungen bei der Perfusion erreicht

¹ COBE® VPCML PLUS, Catalog No. 050-125-500, Instructions for use

werden¹ (Abb. 10 bis 14). Abweichungen können erklärt und bei zukünftigen Versuchen ausgeschlossen werden². Daher schlussfolgern wir, dass die druckregulierte Perfusion durch die Equilibrierung die vergleichende Gegenüberstellung aller Parameter im "Steady State" erlaubt. Da bei der Erforschung des Ischämie- Reperfusion- Schadens besonders die Interaktionen unmittelbar nach Beginn der Reperfusion von Interesse sind (WARE et al. 1999), ist auch eine flussbezogene Modifikation unseres Modells vorstellbar.

5.2.6 "Steady State"- Phase im 60 bis 90 Minuten-Intervall

Nachdem gezeigt wurde, dass vergleichbare Voreinstellungen für den Versuch hergestellt werden können³, muss überprüft werden, ob zwischen 60 und 90 Minuten nach Beginn der Perfusion ein ausreichendes "Steady State" erreicht wird. Sowohl die pulmonal arteriell gemessenen Werte, als auch die pulmonal venös gemessenen Ergebnisparameter stellten sich in den einzelnen Gruppen im 60- bis 90-Minutenintervall auf weitgehend konstante Werte ein. Dies wird nachfolgend beschrieben. Zwischen den einzelnen Versuchsgruppen sind dabei gewisse Unterschiede vorhanden.

Bei den Versuchstieren entnommenen Lungen (Gruppe 2) waren die pulmonal venös im Blut gemessenen Parameter im 60- bis 90- Minutenintervall meist nicht voneinander verschieden und die Werte zu einer gemeinsamen Grundgesamtheit gehörig (Anhang Tab. 3). Das heißt, nachdem pulmonal arteriell vergleichbare Voreinstellungen gewährleistet waren³, nahmen die dazugehörigen Ergebnisparameter an den drei aufeinander folgenden Zeitpunkten 60, 75 und 90 Minuten nicht voneinander differierende Werte an. Damit zeigten wir, dass bei entsprechenden Voreinstellungen die Ergebnisparameter in einem definierten Wertebereich lagen und die Messungen reproduzierbar sind. Diese Eigenschaft konnte in den Gruppen 2 bis 7 beobachtet werden (Anhang Tab. 3, 5, 7, 9, 11 und 13),

¹ Kap. 5.2.7, 5.2.8, 5.2.9

² Kap. 5.2.6 und 5.2.8

³ Kap. 5.2.2 bis 5.2.5

jedoch konnten gruppenbezogen für einzelne Parameter im „Steady State“ folgende Abweichungen beobachtet werden:

Bei den Lungen der Gruppe 2 waren alle Parameter mit Ausnahme der pulmonal venösen Widerstände nicht verschieden eingestellt. In Gruppe 3 und 5 fand sich ein von der sechzigsten zur neunzigsten Minute pulmonal venös steigender Kohlendioxidpartialdruck, der erwartungsgemäß einen fallenden pH-Wert bewirkte (Anhang Tab. 5 und 9). Gruppe 5 kennzeichnete außerdem ein fallender pulmonal arterieller O₂-Partialdruck sowie ein zunehmender Spitzendruck und abnehmende dynamische Compliance (Anhang Tab. 5). Ein zunehmender Spitzendruck wurde bei der ebenfalls mit LPD konservierten Gruppe 6 festgestellt (Anhang Tab. 11). In Gruppe 4 nahmen die pulmonal venösen Werte für Sauerstoffdruck und Sauerstoffsättigung im „Steady State“ ab¹. Ein blutungsbedingter Hämoglobinabfall verursachte in Gruppe 6 eine pulmonal arteriell und pulmonal venös abfallende O₂-Sättigung, der auch pulmonal venös ein Absinken des O₂-Partialdruckes folgte (Anhang Tab. 11). Bei Gruppen 5, 6 und 7 waren vernachlässigbare Unterschiede in der Natriumionenkonzentration, Kaliumionenkonzentration und Kalziumionenkonzentration aufgetreten (Anhang Tab. 9;11 und 13). In Gruppe 7 stieg der Gesamtwiderstand im „Steady State“ (Anhang Tab. 13). Sonst konnten für die übrigen Parameter-Triplets keine Unterschiede nachgewiesen werden (Anhang Tab. 5).

Die meisten der genannten Unterschiede, waren charakteristisch für die betreffende Gruppe. So änderten sich in den Gruppen LPD- konservierter Lungen (Gruppe 4 und 5) im „Steady State“ die Parameter der Atemmechanik (der Spitzendruck nahm zu und die dynamische Compliance nahm ab), was in unserem Modell eine Eigenheit der LPD- Konservierung ist (Anhang Tab. 9 und 11). Dies wurde bei keiner anderen Gruppe beobachtet² (Anhang Tab. 3; 5; 7 und 13).

Als Eigenheit wiesen die mit v. Baeyer II konservierten Lungen verdächtiger Qualität einen stark steigenden und die mit 0,9%iger NaCl-Lösung konservierten gesunden

¹ Kap. 5.2.5

² Kap. 5.2.9

Lungen einen gering steigenden Gesamtwiderstand im "Steady State" auf (Anhang Tab. 7 und 13). Wie in Kapitel 5.2.8.2 diskutiert, war auch bei diesen Lungen der Gesamtwiderstand zu Beginn der Perfusion hoch¹. Im Verlauf der Perfusion sank der Gesamtwiderstand auf im Mittel niedrigere Werte². Diese gegenüber Perfusionsbeginn niedrigeren Widerstände stiegen bei Gruppe 4 und 7 im "Steady State" wieder an, was für eine weitere Eskalation des Ischämie- Reperfusions- Schadens spricht (Anhang Tab. 7 und 13). Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den Lungen der Gruppen 2, 3, 5 und 6 im "Steady State" ein gleichmäßiges Niveau der Gesamtwiderstände (Anhang Tabellen 2 bis 13). Ein Anstieg des pulmonal venösen Widerstands konnte bei den von narkotisierten Schweinen entnommenen Lungen im 60- bis 90- Minutenintervall nachgewiesen werden (Anhang Tab. 3). Die Erhöhung des Perfusionswiderstandes dieser Lungen war, wie ALLISON et al. (1990) schon im Hunderversuch nachweisen konnten, auch in unserem Modell maßgeblich in einer postkapillären Widerstandserhöhung begründet (Anhang Tab. 3 und Kap. 5.2.8.2).

Kritikwürdig sind die wiederholt im „Steady State“ nicht gleichbleibenden Werte von O₂-Partialdruck, O₂-Sättigung, CO₂-Partialdruck und pH-Wert (Gruppe 3 und 5). Pulmonal venös sinkende O₂-Partialdrücke, O₂-Sättigungen oder steigende CO₂-Partialdrücke könnten auf sich verschlechternde Gaswechsellleistungen der Lungen hinweisen.

Dagegen spricht jedoch die für alle Gruppen im „Steady State“ nicht veränderliche Sauerstoffaufnahme. Dass die Sauerstoffaufnahme ein geeigneter Parameter zur Beschreibung der in vitro Perfusion ist, wurde in Kap. 5.2.8.2 gezeigt. Darüber hinaus ist sie ausreichend sensibel um Unterschiede zwischen Gruppen nachzuweisen, selbst wenn O₂-Partialdruck, O₂-Sättigung und CO₂-Partialdruck vergleichbar waren³. Nach unserer Auffassung waren die Änderungen dieser Werte durch die manuell begrenzten Möglichkeiten der pH-Wert Regulation bestimmt¹. Sicher ist die pulmonal arterielle Einstellung vergleichbarer Wertebereiche notwendig, um die pulmonal

¹ Gesamtwiderstand nach 15 Minuten: v. Baeyer II (Gruppe4) 15,62±10,2 kPa*min*g/ml und NaCl 7,75±5,49 kPa*min*g/ml

² nach 60 Minuten: v. Baeyer II (Gruppe4) 11,70±11,88 kPa*min*g/ml und NaCl (Gruppe 7) nach 45 Minuten 4,72±2,07 kPa*min*g/ml

³ Kap. 5.2.7.1 und 5.2.7.2

venösen Parameter auswerten zu können. Bei hohen Standardabweichungen insb. des pH-Wertes, sowie von O₂-Partialdruck, O₂-Sättigung und CO₂-Partialdruck scheint die isolierte Betrachtung dieser Parameter nicht sinnvoll, da sich CO₂ und O₂ in ihrer Affinität zum Hämoglobin gegenseitig beeinflussen und vom pH-Wert abhängig sind². In diesem Fall ist die Sauerstoffaufnahme für die Beurteilung aufgrund der Differenzbildung aus venösem und arteriellem Anteil geeigneter.

Aus den Ergebnissen folgern wir, dass der Zeitraum von 60 bis 90 Minuten nach Perfusionsbeginn als befriedigende "Steady State"- Phase angesehen werden kann. Die Messungen in Abständen von 15 Minuten sind aufgrund unserer Erfahrungen eine gute Basis für zuverlässige Aussagen. Eine Optimierung des Modells mit verbesserter pH-Regulation ist anzustreben³.

GUSTIN et al. (1992) sahen im Erreichen eines "isogravimetrischen" Zeitpunktes³ den Erfolg der Equilibrierung. Davon ausgehend, dass zu diesem Zeitpunkt eine maximale Anzahl der Lungengefäße geöffnet seien, definierten sie die folgenden 30 Minuten als "Steady State"- Phase. Eine von drei untersuchten Gruppen erreichte die "Isogravimetrie" jedoch nicht (GUSTIN et al., 1992). Dies bestätigten auch die von uns aufgefundenen Schwankungen der Lungenmassen während der Perfusion und die von FEHRENBACH et al. (1999) histologisch nachgewiesene prominente Streuung der intravaskulären Flüssigkeit. Deshalb erscheint das von uns gewählte Verfahren sicherer. Bei unseren in vitro Perfusionen konnte während des „Steady States“ nur in Gruppe 2 eine Massenzunahme festgestellt werden (Anhang Tab. 14).

Andere Untersucher (WRIGHT et al., 2000; GRECO et al., 1999; SCHNEUWLY et al., 1999) führten ebenfalls mehrere Messungen in einem Zeitintervall durch. Sie etablierten jedoch keine "Steady State"- Phase und überprüften nicht die

¹ Kap. 3.2.5 und 5.2.8.3

² Kap. 5.2.5

³ Der Zeitpunkt, an dem die Lungenmassen weder zu- noch abnehmen

Zugehörigkeit zu einer gemeinsamen Grundgesamtheit, was sich in unserem Modell für die Bewertung als günstig oder sogar notwendig erwiesen hat.

5.2.7 Organqualität und im “Steady State“ gemessene Parameter

Obwohl die Lungen der verschiedenen Versuchsgruppen nur geringgradige Veränderungen aufwiesen oder die Tiere nur in der Lebendbeschau auffällig waren, zeigten sich bei den Messparametern Unterschiede.

5.2.7.1 Makroskopisch unauffällige und makroskopisch verdächtige Lungen

Die von uns makroskopisch erhobenen pathologischen Befunde an den Schweinelungen (Gruppe 3) stellten eine Auswahl aus dem typischen Spektrum in Schweinebeständen auftretender Infektionen dar (Kap. 3.2.2.4). Das Auffinden der veränderten Lungen entsprechend der beschriebenen Pathologie (Kap. 3.2.2.4) sowie die deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen in den Werteparametern (Abb. 10) bestätigten die Kriterien zur Gruppenbildung.

DAVIES et al. (1995) ermittelten bei Untersuchungen zur enzootischen Pneumonie bei der subjektiven Einschätzung (lediglich anhand der Adspektion der Lungen) pathologischer Veränderungen einen Fehler zur Überschätzung von 18-23% ($R^2 = 0,93-0,99$). Die Autoren entdeckten, dass durch eine adspektorische Bewertung von Lungen lungenpathologische Veränderungen gut erkannt werden.

Unsere einfache Auswahlmethode beschränkte sich auf definiert gering veränderte Lungen, die im Gruppenvergleich mit als makroskopisch unveränderten Lungen bestimmte Parameteränderungen aufwiesen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit, möglichst biologisch einwandfreies Material für Perfusionen auszuwählen. Inwieweit es sich bei makroskopisch unauffälligen Lungen tatsächlich um pathologisch einwandfreies Material handelt, könnten weitere Untersuchungen zeigen.

Nach klinischen Erfahrungen der Transplantationsmedizin kommen letztlich nur 20% der Spenderlungen für die Transplantation in Frage, da sie Traumata, Ödeme oder

Aspirationspneumonien aufweisen (SUNDARESAN et al., 1995). Wie auch in unserem Modell ist die Entwicklung von Strategien zur Auswahl geeigneter Organe essentiell.

Makroskopisch war nach der Perfusion der Schweinelungen nicht zu unterscheiden, ob es sich um zuvor gering veränderte Organe oder um makroskopisch pathologisch unauffällige Lungen handelte (Kap. 3.2.2.4). Die Lebendbeschau allein stellt keine Gewähr für das Auffinden lungenkranker Schweine dar. Trotz unauffälliger Lebendbeschau fanden wir bei zehn von 16 Lungen einen pathologischen Lungenbefund. Davon waren vier stark verändert, sie wurden nicht für die Perfusion verwendet. Die Ursachen dieser Befunde wurden in klinisch inapparent verlaufenden Pneumonien gesehen (SITJAR et al., 1996). Ohne eine Organbeschau könnten Pneumonien übersehen werden, die einen Einfluss auf die Funktionsparameter der Perfusion haben (Abb. 10). Da die Ergebnisparameter der Perfusion im Bezug auf die Fragestellung durch pneumonische Artefakte überlagert werden können (Kap. 3.2.2.4), ist eine sorgfältige Organbeschau bei der Auswahl wichtig.

Gegenüber Versuchen am lebenden Versuchstier, mit erst am Versuchsende beurteilbarem Organstatus, ist durch unsere Beschau der pathologische Status der Einzellunge noch vor Versuchsbeginn definiert. Schon vor der Reperfusion steht fest, dass es sich um definiert gesunde Lungen handelt. Die Lungenperfusion bietet durch die vorausgehende Organbeschau den Vorteil, eine makroskopisch und symptomatisch definierte Qualität wählen zu können.

Am auffälligsten war die Verschlechterung der Sauerstoffaufnahme pathologisch veränderter Lungen gegenüber gesunden Lungen. Obwohl die Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck, Kohlendioxidspannung, pH-Wert und Hämoglobinkonzentration pulmonal arteriell nicht verschieden eingestellt waren, und auch im pulmonal venösen Blut keine Differenz zwischen beiden Gruppen deutlich wurde, haben die makroskopisch pathologisch verdächtigen Lungen eine im Mittel um 50% geringere Sauerstoffaufnahme gegenüber den unverdächtigen Lungen (Abb. 10). Es ist bekannt, dass eine interstitielle Exsudatanhäufung bei Pneumonien eine Verlängerung der Diffusionsstrecke von der Blutseite zum Alveolarraum bewirken

kann. Darüberhinaus können intraalveoläre Exsudate die für den Gasaustausch zur Verfügung stehende Oberfläche verringern.

Für den Blutfluss pro Gramm Lungenmasse und die Widerstände traten in beiden Gruppen weite Streuungen auf (Abb. 10), die für diese Parameter die Grenzen der Signifikanz beeinflussen könnten. Auch bei den übrigen Parametern werden große Streuungen der Messwerte deutlich (Abb. 10; Anhang Tabelle 2 bis 13). Für die Gesamtwiderstände der verdächtigen Lungen wurde zwischen 60 und 90 Minuten kein "Steady State" erreicht. Im Gegensatz zu den unauffälligen Lungen stieg der Gesamtwiderstand der verdächtigen Lungen in diesem Zeitraum um 24%, was auf eine Verschlechterung der Perfusionsbedingungen der Lungen in Gruppe 4 hinweist (Anhang Tab. 7). Diesen Schluss erlauben die von FEHRENBACH et al. (1999) gefundenen Korrelationen von Gesamtwiderstand und histologischem Befund¹. Bei gestörter Ventilation und Diffusion bei Lungenerkrankungen erfolgt zur Kompensation meistens eine Verschiebung des Blutstroms in die ventilerten Areale. Im unterventilierten Alveolarbereich wird die Blutperfusion über einen erhöhten Widerstand reflektorisch gedrosselt². Dieser Mechanismus könnte die im "Steady State" steigenden Gesamtwiderstände makroskopisch pathologisch verdächtiger Lungen erklären (Anhang Tab. 7).

Die bei Lungenentnahme gewogenen nativen Lungenmassen in den Gruppen 3 und 4 ließen sich nicht vergleichen da teilweise Lungenhälften verwendet wurden. Anhand der pathologischen Auswahlkriterien kann von einer Vorschädigung ausgegangen werden die im „Steady State“ zu einer schlechteren Sauerstoffaufnahme in das Blut führte.

¹ Kap. 5.2.4

² Kap. 2.2.1

5.2.7.2 Lungen von in der Lebendbeschau unauffälligen und verdächtigen Tiere

Alle Tiere mit Verdacht auf eine dekompensierte Kreislaufsituation sind in der Lebendbeschau auffällig. Vier dieser Lungen waren makroskopisch unauffällig. Wäre nur eine auf die Lunge beschränkte Organbeschau durchgeführt worden, wären drei funktionsgestörte Lungen übersehen worden, da ihr makroskopischer Befund unauffällig war. Diese Tiere waren nur in der Lebendbeschau auffällig. Das macht die Lebendbeschau zu einem wesentlichen Auswahlkriterium.

Obwohl die Lebendbeschau in Kombination mit der Organbeschau nur begrenzt makroskopisch pathologische Befunde zuließ, wogen die Lungen von Tieren mit unauffälliger Symptomatik bei Entnahme weniger als Lungen von Tieren mit verdächtiger Symptomatik (Tab. 6). Damit könnte die native Lungenmasse ein wertvolles Kriterium für die Auswahl geeigneter Lungen sein. Um dies in unserem Modell zu überprüfen, sind weitere Untersuchungen notwendig.

In Gruppe 5 wurde anhand geringerer Gesamtwiderstände, geringeren pulmonal venösen Widerständen, höheren Blutflüssen und besseren Sauerstoffaufnahmen eine bessere Lungenfunktion als in Gruppe 6 festgestellt (Abb. 11).

Bei den Lungen von unauffälligen gegenüber verdächtigen Tieren wurde ein geringerer Gesamtwiderstand gemessen (Abb. 11). Deshalb muss im „Steady State“ in Gruppe 6 eine stärkere Ausbildung des peribronchiovaskulären Ödems als in Gruppe 5 vorgelegen haben¹. Da der pulmonal venöse Widerstand in Gruppe 6 gegenüber Gruppe 5 erhöht war, traten die Widerstandserhöhungen vor allem am Kapillarende auf. Wegen Schäden an den Präparaten konnten wir diesen histologischen Nachweis leider nicht erbringen. Aber unter Berufung auf die von FEHRENBACH et al. (1999) gefundenen Korrelationen zwischen Widerstandsentwicklung, sowie Spitzendruck zu der Ödemausbildung² ist die Richtigkeit dieser Annahme sehr wahrscheinlich.

¹ Kap. 5.2.4

² alveolär, septal und peribronchiovaskulär, Kap. 5.2.4

Die Perfusionen der Gruppen 5 und 6 unterschieden sich bei geringerer Streuung deutlicher in den Perfusionsparametern als dies beim Vergleich der Gruppen 3 und 4 der Fall war. Wie in Kap. 5.2.9 beschrieben, muss hierbei jedoch der hämodynamisch relevante Kaliumeinfluss beachtet werden. Die mit v. Baeyer II konservierten Lungen waren durch enorme Standardabweichungen des Blutflusses und der Widerstände charakterisiert (Abb. 10). Außerdem war der pulmonal arterielle Widerstand gegenüber LPD- konservierten Lungen erhöht und das Einlaufen der Konservierungslösung infolge schneller Gefäßkonstriktion verzögert¹. Zukünftige Untersuchungen mit kaliumarmen Konservierungen könnten zeigen, ob makroskopisch pathologisch veränderte Lungen auch hämodynamisch relevante Änderungen aufweisen, die in unserer Untersuchung durch die Kaliumwirkung auf die glatte Muskulatur der prä- und postkapillären Widerstandsgefäße überdeckt wurden.

Unsere Versuche haben gezeigt, dass Lebend- und Organbeschau für die Verwendung von Schlachthoflungen für die Perfusion notwendig sind.

5.2.8 In vitro Perfusion und Ischämie- Reperfusions- Schäden

Der pulmonale Ischämie-Reperfusions-Schaden wird neben Transplantationsmodellen überwiegend anhand von isolierten Lungenperfusions erforscht². Wir fragten uns, in wieweit unser Modell Übereinstimmungen mit dem Bild des Ischämie-Reperfusions-Schadens zeigt. Deshalb verglichen wir die Parameter der in vitro Perfusion mit den an den Spendertieren erhobenen Messergebnissen.

5.2.8.1 Messungen an narkotisierten Schweinen (Gruppe 1)

Sämtliche Parameter, die an den narkotisierten Schweinen bestimmt wurden, unterschieden sich nicht zwischen der ersten und der nach 15 Minuten durchgeführten zweiten Messung (Anhang Tab. 1). Es fielen jedoch teilweise erhebliche

¹ Kap. 5.2.9 und 5.2.1

² Kap. 2.2 und 2.3

Standardabweichungen auf, insbesondere für die Bestimmung des Herzminutenvolumens (Anhang Tab. 1).

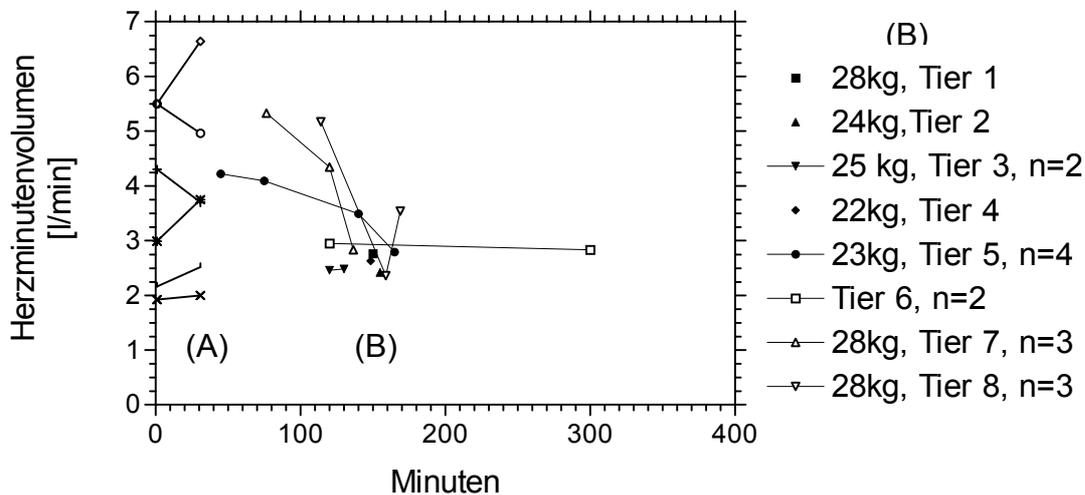
In den Tierexperimentellen Einrichtungen der Charité werden regelmäßig Akutversuche für das „Herzchirurgische Training“ durchgeführt¹. Bei einigen dieser Akutversuche an Schweinen wurde das Herzminutenvolumen gemessen² (Abb. 15). Das methodische Vorgehen bei diesen narkotisierten Tieren war im Bezug auf den Narkosebeginn und dessen Zeitabstand zu den Messungen nicht standardisiert. Das gemessene Herzminutenvolumen nahm mit der Dauer der Narkose ab (Abb. 15). Die Messwerte bei diesen Akutversuchen unterschieden sich nicht von der Gruppe 1 ($p > 0,05$). HANNON und BOSSONE (1991) beschrieben einen morphininduzierten, kurzfristigen Anstieg des Herzminutenvolumens, der Herzfrequenz und des PAP. Da die beatmete Narkose nach der Einleitung über einen Etomidat/Fentanyl- Perfuser aufrecht erhalten wurde, sind diese zeitabhängigen Schwankungen des Herzminutenvolumens möglicherweise durch die anfängliche Opiatgabe verursacht. Für Gruppe 1 wurde der Zeitraum zwischen den zwei Messungen festgelegt; es war aber leider versäumt worden, den Zeitpunkt von Beginn der Narkose bis zu ersten Messung zu bestimmen. Wir sehen bei den in Abb. 15 gezeigten Werten Schwankungen in Abhängigkeit vom Narkosebeginn, und wir vermuten darin eine Erklärung für die Schwankungen des Herzminutenvolumens in unseren Versuchen. 120 bis 160 Minuten nach Einleitung der Narkose scheint das Herzminutenvolumen auf 2,5-3 Liter pro Minute zu sinken (Abb.15). Möglicherweise sind höhere Herzminutenvolumen in der Gruppe 1 durch früher (bezogen auf die Narkoseeinleitung) vorgenommene Messungen bedingt.

Da die Standardabweichung des Herzminutenvolumens teilweise erklärt werden konnte und die Messungen 1 und 2 nicht voneinander verschieden waren, konnten die ermittelten Werte für den Vergleich zwischen den in vivo Versuchen (Gruppe 1) und den Lungen dieser Tiere in der in vitro Perfusion (Gruppe 2) verwendet werden.

¹ Kurs: Prof. Hetzer et al., DHZB

² unveröffentlichte Mitteilung Dr. Meissler

Abb. 15 Einfluss der Narkosedauer auf das Herzminutenvolumen an 8 Schweinen aus einer anderen Versuchsserie (B) gegenüber den Ergebnissen der Schweine der Gruppe 1 (A)



Zu Abb. 15

(A) Messung des Herzminutenvolumens im Abstand von 15 Minuten in Gruppe 1. Die Dauer vom Beginn der Narkose im Verhältnis zu den Messungen wurde nicht festgehalten.

(B) Das Herzminutenvolumen und Narkosedauer (0 Minuten = Infusion der Injektionsnarkose) gemessen an Schweinen in Akutversuchen des herzchirurgischen Trainings (Dr. Meissler, unveröffentlichte Mitteilung, gemessen während des Kurses von Prof. Hetzer et al., DHZB).

5.2.8.2 Messungen in vivo und in vitro an Lungen von denselben Tieren

Bei dem Vergleich der Messungen im Tiermodell mit der in vitro Perfusion der selben Lungen wurde eine erhebliche Massenzunahme während der Perfusion von bis zu 100% deutlich (Anhang Tab. 14; Abb. 5). Auch in dem in vitro Perfusions-Modell von SCHNEUWLY et al. (1999) nahmen die unter Narkose entnommenen Lungen - während 90 Minuten Perfusion bei einer Tierkörpermasse von 36 ± 3 kg ($n=8$) und pulmonal arteriellen Drücken von 3,32-3,74kPa - im Mittel zwischen ca. 80 und 190% zu. Diese Lungen wurden ebenfalls direkt nach der Entnahme perfundiert. Im Transplantationsmodell wurden bei etwas über 7 kg schweren Tieren sogar 200% Massenzunahme gemessen (GRECO et al., 1999). Unser Modell weist übereinstimmend mit diesen Untersuchungen zum Ischämie-Reperfusionsschaden erhebliche Massenzunahmen während der Perfusion auf.

Der Blutfluss blieb bei einem mittleren Perfusionsdruck wie er auch in vivo in der Arteria pulmonalis gemessen worden war, mit $1,20 \pm 0,86$ [ml/min/g] während der Perfusion deutlich unter den in vivo Werten von $21,0 \pm 15,1$ [ml/min/g] (Abb. 12). Die geringeren Flüsse sind typisch für die in vitro Perfusion (Kap. 5.2.8.3). Entsprechend war bei Transplantationen ein gemindert Herzminutenvolumen (GRECO et al., 1999) bei steigendem pulmonal arteriellem Druck beobachtet worden (MÜLLER et al., 1997; SAKAMAKI et al., 1997; STEEN et al., 1997).

Die Erhöhung des Perfusionswiderstandes der Lungen, wie ALLISON et al. (1990) schon im Hunderversuch nachweisen konnten, war auch in unserem Modell maßgeblich in einer postkapillären Widerstandserhöhung begründet (Abb. 12 und Anhang Tab. 3). Dies wurde auch bei der in vitro Perfusion von Schweinelungen beobachtet (GUSTIN et al., 1992). Nach einstündiger Reperfusion fanden ALLISON et al. (1990) einen Anstieg des Gesamtwiderstands von $1,47 \pm 0,27$ auf $7,18 \pm 2,06$ [kPa*min/L/100g], wobei sich eine Verschiebung der pulmonal arteriellen zu den pulmonal venösen Widerständen von 53% zu 47% (vor Beginn der Perfusion) auf 32% zu 68% (nach einer Stunde Perfusion) einstellte. In unserem Modell setzte sich der Gesamtwiderstand im „Steady State“ zu ca. 30% aus den pulmonal arteriellen und zu 70% aus den pulmonal venösen Anteilen zusammen (Abb. 12 und Anhang Tab. 3). Diese Anordnung dürfte in unserem Modell u.a. für die Ausbildung eines hydrostatischen Ödems verantwortlich sein. Wir weisen jedoch darauf hin, dass mit dem Wilcoxon-Rang-Test für verbundene Paare für die Gesamtwiderstände (wegen fehlender Messungen an einer von sechs Lungen) in Gruppe 1 kein Unterschied ($p=0,063$) gegenüber Gruppe 2 errechnet wurde. Jede einzelne Messungen des Gesamtwiderstandes in Gruppe 2 war jedoch deutlich höher als in Gruppe 1.

In Übereinstimmung zum Ischämie-Reperfusionsschaden war in unserem in vitro Modell der Spitzendruck (Abb. 12) erhöht. Von GRECO et al. (1999) wurden nach Transplantation von Lungen von 7 kg schweren Schweinen Spitzendrücke zwischen 3,4 und 3,8 kPa gemessen. Vor der Transplantation lagen sie nur bei 1,8 kPa. Die

Spitzendrücke bei unseren in vitro perfundierten Lungen mit $2,83 \pm 0,38$ kPa waren gegenüber den Verhältnissen in vivo mit $2,03 \pm 0,11$ kPa ebenfalls erhöht, jedoch nicht so stark wie bei GRECO et al. (1999). MÜLLER et al. (1997) beobachteten ähnlich erhöhte Spitzendrücke wie GRECO et al. (1999). Bei ihren narkotisierten Schweinen mit einer Körpermasse zwischen 20 und 30 kg wurden $2,55 \pm 0,10$ kPa [hier Mittelwert \pm Standardfehler!] und nach Transplantation der Lungen dieser Schweine $4,91 \pm 0,39$ kPa [hier Mittelwert \pm Standardfehler] gemessen. FEHRENBACH et al. (1999) fanden eine Korrelation des Spitzendrucks zur intraalveolären- sowie septalen Ödematisierung¹. Auch wir sehen den erhöhten Spitzendruck bei den Perfusionen in einem alveolären und septalen Ödem begründet¹.

Bei den von SCHNEUWLY et al. (1999) in vitro perfundierten unterschiedlich konservierten aber nicht aufbewahrten Schweinelungen mit einer Masse von 36 ± 3 kg wurden Compliancewerte zwischen ca. 173 und 122 [ml/kPa] gemessen. MÜLLER et al. (1997) fanden bei narkotisierten Schweinen eine dynamische Compliance von $183,3 \pm 7,13$ ml/kPa [hier Mittelwert \pm Standardfehler]. In der zugehörigen Placebogruppe (Sternotomie, aber keine Pneumonektomie) wurde eine Compliance von $214,0 \pm 6,1$ ml/kPa [hier Mittelwert \pm Standardfehler] gemessen. Dieser Wert entspricht unseren Messungen in Gruppe 1. Für die dynamische Compliance war wegen der großen Streuung zwischen unseren narkotisierten Schweinen² und den direkt nach Entnahme perfundierten Lungen dieser Tiere¹ kein Unterschied nachzuweisen (Abb. 12). Der Vergleich zeigt, dass die von uns gemessenen Compliancewerte mit den in der Literatur veröffentlichten Werten meistens gut übereinstimmen.

Die von MÜLLER et al. (1997) gemessene Compliance nahm jedoch nach 18 Stunden Konservierungszeit (Euro Collins) und anschließender Transplantation auf $101,9 \pm 10,2$ [ml/kPa] [hier Mittelwert \pm Standardfehler] ab. Eine nach Transplantation abnehmende dynamische Compliance fanden auch GRECO et al. (1999).

¹ Kap. 5.2.4

² Gruppe 1: $225,8 \pm 48,7$ ml/kPa; N=5

Obwohl der pulmonal arterielle Sauerstoffdruck der in vitro perfundierten Lungen mit 6,5 kPa höher war als bei den narkotisierten Schweinen in Gruppe 1 mit 5,5 kPa, konnten zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 keine Unterschiede für die pulmonal arterielle und pulmonal venöse Sauerstoffsättigung sowie den pulmonal venösen Sauerstoffdruck festgestellt werden (Abb. 12). Wir nehmen an, dass die pulmonal venösen Sauerstoffdrücke und Sauerstoffsättigungen wegen der verlängerten Kontaktzeit des Blutes mit der Alveolaroberfläche als Folge des reduzierten Blutflusses während der Perfusionen sich von den in vivo gemessenen Werten nicht unterschieden (Abb. 12). GRECO et al. (1999) konnten in der ersten Stunde nach Transplantationen aufgrund anfänglich höherer Shuntfraktionen Abfälle des Sauerstoffpartialdruckes beobachten. Auch in der Transplantationsmedizin ist der Ischämie-Reperfusionsschaden durch reduzierte Sauerstoffpartialdrücke gekennzeichnet (KEMMING et al., 1998). Trotzdem gibt es Transplantationsversuche, bei denen sich die Sauerstoffpartialdrücke über Stunden auf physiologischen Werten hielten (STEEN et al., 1997). In unseren Perfusionsversuchen war eine deutlich abgesenkte Sauerstoffaufnahme gegenüber den Messungen in vivo kennzeichnend (Abb. 12). Die geringeren Sauerstoffaufnahmen erfolgten, obwohl das Blut noch ausreichend mit Sauerstoff gesättigt wurde.

Der pulmonal venöse Kohlendioxiddruck war in Gruppe 2 um die Hälfte niedriger als in Gruppe 1. Dies führen wir auf die längere Kontaktzeit und damit auf eine stärkere CO₂-Diffusion in die Alveolen zurück. Dies kann mit dem Kroghschen Diffusionskoeffizienten erklärt werden. Er ist für CO₂ rund 23 mal größer als der für O₂.

Die Bereiche der gemessenen pulmonal arteriellen und pulmonal venösen pH-Werte unterschieden sich in den Gruppen 1 und 2 nicht. Mit Werten von pulmonal arteriell 7,17 bis 7,44 und pulmonal venös 7,26 bis 7,50 in Gruppe 1 sowie pulmonal arteriell 7,10 bis 7,48 und pulmonal venös 7,13 bis 7,76 in Gruppe 2 war es möglich, in vitro vergleichbare Werte mit denen in vivo einzustellen. Der Blut pH-Wert wird normalerweise in engen Grenzen zwischen 7,36 bis 7,44 reguliert. Werte außerhalb

¹ Gruppe 2: 147,6±51,9 ml/kPa; p=0,06

dieses Bereichs werden als Azidose bzw. Alkalose bezeichnet (GÄBEL, 2000 b und Kap. 5.2.3). Die von uns gemessenen in vivo Werte und noch deutlicher die Werte der in vitro Perfusion streuen über den Normbereich hinaus. Ein länger anhaltender Abfall unter 7,0 bzw. ein Anstieg über 7,8 kann beim lebenden Tier zu systemischen Störungen führen (GÄBEL, 2000 b). Es muss deshalb in weiteren Untersuchungen überprüft werden, ob die von uns beobachtete Azidose oder Alkalose die Verwertbarkeit der Ergebnisse der in vitro Perfusion einschränken. Eine kontinuierliche Kontrolle besonders des pulmonal arteriellen pH-Wertes halten wir für die Verbesserung unseres Modells für erforderlich (Kap. 5.2.3).

Eine verstärkte CO₂-Abatmung über das physiologische Maß hinaus muss zu erhöhten pH-Werten führen. Bei einem im Mittel auf 3,3 kPa (Abb. 12) gesenkten CO₂-Partialdruck im pulmonal venösen Blut kann die Konzentration freier H⁺-Ionen nach der Henderson-Hasselbach-Gleichung berechnet werden.

Mit einer Bicarbonatkonzentration von 24 mmol/l und dem pK-Wert von 6,1 sowie einem Löslichkeitskoeffizienten für CO₂ bei 37°C von 0,228 mmol/(kPa*l) (GÄBEL, 2000 b) ergibt sich bei einem CO₂-Partialdruck von 3,3 kPa ein pH-Wert von 7,6.

$$\text{pH} = 6,1 + \log \left(\frac{[24 \text{ mmol/l}]}{[0,228 \text{ mmol/(kPa} \cdot \text{l)}] \cdot 3,3 \text{ kPa}} \right) = 7,60$$

Der Mittelwert des von uns gemessenen pulmonal venösen pH-Wertes lag bei 7,59. Diese Alkalose ist eine Schwäche unserer in vitro Perfusion. Bei weiterführenden Untersuchungen sollten die pH-Werte fortlaufend gemessen und so weit möglich auf Normalwerte abgesenkt werden.

Azidose oder Alkalose müssen auch bei der Beurteilung der O₂- Partialdrücke und der O₂-Sättigung berücksichtigt werden, da hiervon das Bindungsverhalten von Sauerstoff (Bohr-Effekt) und von Kohlendioxid (Haldane-Effekt) beeinflusst wird.

Eine Zunahme der H⁺-Konzentration (pH-Abnahme) verursacht eine Verminderung der Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität; dies wird als **Bohr-Effekt** oder **Bohr-Verschiebung** bezeichnet (THEWS, 2000b). Kohlendioxid bildet mit Wasser Kohlensäure und reagiert mit NH₂-Gruppen von Hämoglobin zu Carbamino-Verbindungen. Die Zunahme des CO₂-Partialdrucks vermindert daher die Affinität des Hämoglobins auf zweierlei Weise: zum einen durch die Verminderung des pH-Wertes (Bohr-Effekt), zum anderen durch die direkte chemische Verbindung mit dem Hämoglobin, wobei Carbamino-Verbindungen entstehen. Wenn also CO₂ aus den Geweben ins Blut übertritt,

erleichtert es damit die O₂-Abgabe vom Hämoglobin; wenn das CO₂ in der Lunge das Blut verlässt, wird die O₂-Aufnahme in das Blut begünstigt.

Die Abhängigkeit der CO₂-Bindung vom Oxygenierungsgrad des Hämoglobins wird als **Haldane-Effekt** bezeichnet. Während sich die O₂-Bindungskurve asymptotisch einem Maximalwert nähert, zeigt die CO₂-Bindung keine Sättigungscharakteristik. Mit steigendem Partialdruck nimmt die Menge des gebundenen CO₂ immer weiter zu (THEWS, 2000b).

Mit $5,33 \pm 0,51$ kPa wurden von uns in Gruppe 1 pulmonal arterielle Sauerstoffdrücke innerhalb der physiologischen Normwerte gemessen. Gegenüber Gruppe 1 war der pulmonal arterielle O₂-Partialdruck in Gruppe 2 mit $6,27 \pm 0,76$ kPa erhöht. Der bei den Perfusionen hohe pulmonal venöse pH-Wert (ca. 7,59) im Blut (Abb. 12) bewirkte eine verminderte O₂-Abgabe des Hämoglobins an den Membrandeoxygenator (Bohr-Effekt). Andererseits war mit dem geringen pulmonal venösen CO₂-Partialdruck von 3,3 kPa in Gruppe 2 die Sauerstoffaufnahme begünstigt. Der CO₂-Partialdruck ($7,72 \pm 2,95$ kPa) im pulmonal arteriellen Blut war mit in vivo ($8,62 \pm 2,61$ kPa) vergleichbar (Normwert des Menschen pulmonal arteriell pCO₂ = 6,13 kPa; THEWS, 2000 b). Da die CO₂-Bindung keine Sättigungscharakteristik aufweist (Haldane-Effekt), ließ sich der CO₂-Partialdruck über den Deoxygenator auf mit in vivo vergleichbare Werte einstellen. Den geringeren O₂-Partialdruck führen wir auf die begrenzte Leistungsfähigkeit der bei den Perfusionen verwendeten Membrandeoxygenatoren zurück (Kap. 5.2.5).

Kritisch müssen die in Gruppe 2 geringeren Hämoglobinkonzentrationen beurteilt werden. Bei unseren narkotisierten Schweinen (Gruppe 1) mit einer Tierkörpermasse von 28 ± 1 kg wurden 500- 800 ml Blut für die Perfusionen gewonnen. Während des „warm rinsing“ wurde der Perfusionskreislauf mit isotoner Kochsalzlösung gespült. Vor Beginn der Perfusion wurde die Kochsalzlösung durch das Einfließen des Blutes verdrängt (Kap. 3.2.4; 4.5.2 und Tab. 1). Bei einer vorhandenen Blutmenge von 2 bis 3 Litern bewirkte dieser Vorgang fast keine Blutverdünnung (Kap. 5.2.8.3). Aufgrund der geringeren Blutmenge in Gruppe 2 trat eine Verdünnung des Blutes ein. Dies senkte den Kalziumionen- und den Hämoglobinanteil um circa 20%. Die infolgedessen gering angehobene Natriumionenkonzentration auf 150 mmol/l Blut dürfte keinen entscheidenden Effekt auf die Parameter der Perfusion gehabt haben. Die Erhöhung

der Kaliumionenkonzentration ist wahrscheinlich auf eine geringe Hämolyse bei der Blutverdünnung zurückzuführen. Die Absenkung der Kalziumionenkonzentrationen könnten bezüglich der Auswirkungen auf das Membranpotential bedenklich sein. Bei zukünftigen Versuchen sollten derartige Blutverdünnungen vermieden werden.

Da in Gruppe 2 der Hämoglobinanteil infolge Verdünnung erniedrigt war, war auch der Gehalt des Blutes an Erythrozyten erniedrigt. Eine hierdurch bedingte geringere Viskosität und damit eine Abnahme der Gesamtwiderstände war bei diesen Werten (Anhang Tab. 2 und 3) nicht zu erwarten. Die Widerstände waren gegenüber in vivo vielmehr erhöht.

Bei der in vitro Perfusion der Lungen der Gruppe 2 wurde ein Ischämie- Reperfusionsschaden beobachtet, gekennzeichnet durch die Zunahme der Gefäßwiderstände und des Spitzendruckes, abnehmende Flüsse, niedrigere Sauerstoffaufnahmen und Massenzunahmen. Vergleichbares trat auch nach Transplantationen auf und wurde als Konsequenz der Lungenreperfusion beschrieben (AMRANI und ROYSTON, 1999; GRECO et al., 1999). Nach Lungentransplantationen entwickelten sich ein alveoläres und interstitielles Lungenödem, Mikrozirkulationsstörungen und eine Erhöhung der elastischen Widerstände (FISCHER et al., 2000; MILLS et al., 1992).

Sowohl die Messungen an Tieren in vivo als auch die Messungen an in vitro perfundierten Lungen wiesen erhebliche Streuungen bei den Parametern auf. Große Streuungen in den Werteparametern sind ein Problem bei der Beurteilung von Untersuchungen an biologischem Material.

Viele der in vitro im Blut gemessenen Parameter waren nicht von den unter Narkose an denselben Tieren gemessenen Werten verschieden. Abweichende Parameter können erklärt werden. Die Funktionseinschränkungen der perfundierten Lungen entsprechen denen nach Ischämie und Reperfusion. Das verwendete Modell sollte durch eine pulmonal arterielle pH-Einstellung verbessert werden. Charakteristische Unterschiede bei der in vitro Perfusion gegenüber in vivo waren erhöhte Gesamtwiderstände, niedrigere Flüsse, niedrigere Sauerstoffaufnahmen, erhöhte

Spitzendrücke und eine verstärkte CO₂- Abatmung. Durch pulmonal venös erniedrigte CO₂-Partialdrücke ist die beobachtete Alkalose zu erklären.

5.2.8.3 Messungen in vitro an Lungen von Versuchstieren und von Schlachthoftieren der Gruppe 5

Für die Aufbewahrung von Lungen während eines ischämischen Zeitraums erscheint die Konservierung mit LPD-Lösung vorteilhaft, da in der Literatur bessere Funktionsparameter der Lungen bei vitro Perfusionen und bessere Ergebnisse bei Transplantationen diskutiert wurden, als bei der Verwendung von Intrazellulärlösungen (Kap. 2.3). Deshalb wurden die gemessenen Parameter bei der Perfusion der Lungen von den Versuchstieren (Gruppe 2) und von den Schlachthoftieren der Gruppe 5 verglichen.

Bei der Perfusion der Schlachthoflungen (Gruppe 5) unterschieden sich die Natriumionenkonzentrationen, die Kaliumionenkonzentrationen und die Kalziumionenkonzentrationen von Gruppe 2 (Abb. 13). Es sollten mit in vivo vergleichbar eingestellte Parameter erreicht werden. In Kap. 5.2.8.2 gelang es nicht in Gruppe 2 mit in vivo Messungen (Gruppe 1) vergleichbare Werte einzustellen. In Gruppe 5 waren diese Parameter mit Ausnahme der gering höheren Kaliumionenkonzentrationen $3,4 \pm 0,4$ mmol/l) in Gruppe 1 ($3,92 \pm 0,37$ mmol/l) mit in vivo vergleichbar. Diese Schwäche der in vitro Perfusion der Gruppe 2 trat in Gruppe 5 weitestgehend nicht auf.

Durch die höheren Hämoglobinkonzentrationen in Gruppe 5 war der pulmonal arterielle Sauerstoffpartialdruck gegenüber Gruppe 2 erhöht (Abb. 13) und konnte wegen der begrenzten Kapazität des im Perfusionsaufbau verwendeten Deoxygenators nicht weiter abgesenkt werden (Kap. 5.2.5 und 5.2.8.2). PAP, pH-Werte, Kohlendioxiddrücke und Sauerstoffsättigungen waren jedoch pulmonal arteriell in Gruppe 5 und Gruppe 2 gleichartig eingestellt und erreichten pulmonal venös vergleichbare Werte (Abb. 13).

Besonders muss bei diesem Vergleich das unterschiedliche Alter der Tiere in Gruppe 2 und der Tiere in Gruppe 5 hervorgehoben werden. Die Körpermasse betrug bei den Versuchstieren nur 28 ± 1 kg, bei Schlachttieren betrug sie im Mittel 94 kg (ROTH et al., 1997). Da der Blutfluss (Qt) pro native Lungenmasse (Tab. 6) dargestellt wurde und Widerstände und Sauerstoffaufnahme auf diesen Blutfluss bezogen berechnet wurden, waren die Parameter der schwereren Lungen (Tab. 6) in Gruppe 5 mit denen der leichteren Lungen in Gruppe 2 vergleichbar. Andere Untersucher wie GUSTIN et al. (1992) und ALLISON et al. (1990) stellten ihre Widerstandsmessungen auf die Lungenmasse bezogen dar $[\text{kPa} \cdot \text{min} / \text{L} / 100\text{g}]$. Zum Vergleich haben wir im Anhang (Anhang Tab. 15) die von uns berechneten Perfusionswiderstände auch in der Einheit $[\text{kPa} \cdot \text{min} / \text{L} / 100\text{g}]$ dargestellt. Die Aussagen in Kap. 5.2.7 und 5.2.8.2 wurden durch die Darstellung $[\text{kPa} \cdot \text{min} / \text{L} / 100\text{g}]$ nicht beeinflusst (Anhang Tab. 15). Die Messungen der Gruppe 2 stimmten mit denen von GUSTIN et al. (1992) überein (Anhang Tab. 15), da sich die Gruppen in Hinsicht auf die Tierkörpermassen und die Ischämiezeiten ähnelten.

Gruppe 2 hatte einen höheren pulmonal venösen Widerstand - in der Einheit $[\text{kPa} \cdot \text{min} / \text{L} / 100\text{g}]$ - als Gruppe 5 (Anhang Tab. 15). Wir meinen, dass sich mit der Darstellung $[\text{kPa} \cdot \text{min} / \text{L} / 100\text{g}]$ gegenüber $[\text{kPa} \cdot \text{min} \cdot \text{g} / \text{ml}]$ deutlichere Unterschiede herausstellen lassen. Dies wurde auch in Kap. 5.2.9 gezeigt. Die Wahl eines auf die Lungenmasse bezogenen Flusses, wie wir sie angewendet haben, scheint wegen der unterschiedlichen Lungenmasse in Gruppe 2 gegenüber Gruppe 5 in unserem Modell geeigneter, als ein Bezug auf den Fluss.

Bei den von uns am Schlachthof entnommenen und mit LPD-Lösung konservierten Lungen der Gruppe 5 wurde ein niedrigerer Spitzendruck ($2,08 \pm 0,41$ kPa) und eine höhere dynamische Compliance ($369,8 \pm 87,9$ ml/kPa) gegenüber den lebend entnommenen, unkonservierten Lungen ($2,83 \pm 0,38$ kPa und $147,6 \pm 51,9$ ml/kPa) gefunden (Abb. 13). Die Massenzunahmen in Gruppe 2 und Gruppe 5 waren nicht verschieden, aber nur in Gruppe 2 traten im „Steady State“ weiter zunehmende Massenzunahmen auf (Anhang Tab. 14). Dies kann mit den von FEHRENBACH et al. (1999) gefundenen Korrelationen von Spitzendruck und der Zunahme der

intravaskulären Flüssigkeit sowie dem zunehmenden Ödem der alveolaren Septen begründet werden (Kap. 5.2.4).

Da beim Menschen die dynamische Compliance von der Körpermasse abhängig ist (im Alter zwischen 6 Tagen und 5 Jahren), wird in der Kinderheilkunde die Compliance auf die Körpermasse bezogen dargestellt (OLSSON und LINDAHL, 1985). Im Literaturvergleich konnte ebenfalls eine höhere dynamische Compliance für schwere Schweine gegenüber leichteren gefunden werden. In den Versuchen von STEEN et al. (1997) betrug die dynamische Compliance bei narkotisierten schwereren Schweinen (59 ± 3 kg) $397,6 \pm 132,5$ ml/kPa gegenüber Messungen an leichteren Schweinen (20 bis 30 kg) bei MÜLLER et al. (1997) mit nur $183,3 \pm 7,13$ ml/kPa [hier Mittelwert \pm Standardfehler]. Die Unterschiede von Spitzendruck und dynamischer Compliance der Lungen in Gruppen 5 und 2 kann mit dem Altersunterschied und der differierenden Körpermasse der verwendeten Tiere erklärt werden. Es ist anzunehmen, dass das Bindegewebe der Schlachthoflungen weniger elastische Fasern und mehr kollagene Fasern enthielt als bei den Lungen der Versuchstiere. Eine Modellverbesserung durch eine auf die Körpermasse bezogene Darstellung der dynamischen Compliance sollte in Zukunft angestrebt werden. Es bleibt zu prüfen, ob die bei den leichteren Versuchstieren während des „Steady States“ beobachtete weitere Zunahme der Masse der perfundierten Lungen durch den höheren Spitzendruck bedingt sein könnte.

Am Schlachthof entnommene Schweinelungen (Gruppe 5) und die von den Versuchstieren (Gruppe 2) waren bei der in vitro Perfusion in den wichtigsten Parametern (den Massenzunahmen (M_{perf}), den Blutflüssen, den Sauerstoffaufnahmen, den Gesamtwiderständen, den pulmonal arteriellen Widerständen und den pulmonal venösen Widerständen) vergleichbar (Abb. 13). Da sich diese Parameter der perfundierten Schlachthoflungen und der Versuchstierlungen nicht unterscheiden, können in Zukunft Schlachthoflungen und Versuchstierlungen gleichermaßen berechtigt für in vitro Perfusionen bei der Erforschung wissenschaftlicher Fragestellungen verwendet werden. Dies setzt allerdings eine

Auswahl der Lungen nach Kriterien der Lebend- und Organbeschau voraus (Kap. 5.2.7).

5.2.9 Bedeutung der Konservierungslösung

In der Literatur werden unterschiedliche Konservierungslösungen diskutiert, da man die Lungen möglichst schonend aufbewahren möchte (SCHNEUWLY et al, 1999). Wir verglichen die Funktionsparameter im „Steady State“ der in vitro Perfusion von am Schlachthof entnommenen Schweinelungen, nach Konservierung mit v. Baeyer II-Lösung, mit LPD- Lösung und mit 0,9%iger NaCl-Lösung (Gruppe 3, 5 und 7).

Im Folgenden soll hervorgehoben werden, dass der Einfluss der verglichenen Konservierungslösungen auf das Entstehen des Ischämie-Reperfusionsschadens häufig überbewertet wird. Die in vitro Perfusion mit isotoner Kochsalzlösung konservierter Lungen unterschied sich in nahezu allen Parametern weder von der Perfusion nach Konservierung mit der Extrazellulärlösung LPD noch von der Perfusion nach Konservierung mit unserer Intrazellulärlösung v. Baeyer II (Kap. 4.6 und Abb. 14). Lediglich die dynamische Compliance in Gruppe 7 war höher als in Gruppe 3 (Abb. 14). Wir empfehlen bei zukünftigen Untersuchungen, bei denen Vor- und Nachteile von Konservierungslösungen verglichen werden sollen, eine mit 0,9%iger NaCl- Lösung konservierte Kontrollgruppe.

In unsern Gruppen fanden sich bei den Widerstandsmessungen nur Unterschiede für den pulmonal arteriellen Widerstand. Während des „Steady States“ war der pulmonal arterielle Widerstand der Lungen in Gruppe 3 höher als in Gruppe 5 (Abb. 14).

Jedoch war bei einer Darstellung der Widerstände in der Einheit [kPa*min/L/100g], (Anhang Tab. 15) - der pulmonal arterielle Widerstand der mit v. Baeyer II-Lösung konservierten Lungen nicht nur gegenüber der LPD- Konservierung sondern auch gegenüber der NaCl- Konservierung erhöht. Außerdem ergab sich in der Darstellung [kPa*min/L/100g] (Kap. 5.2.8.3; Anhang Tab. 15) auch ein pulmonal venös erhöhter

Widerstand bei den mit v. Baeyer II konservierten Lungen gegenüber den LPD konservierten.

Da MIYOSHI et al. (1992) beim Einfließen kaliumreicher gegenüber kaliumarmer Lösung eine langsamere Einfließzeit bei steigendem PAP beobachteten, konnten sie eine Widerstandserhöhung belegen. Wie die längeren Einfließzeiten unserer v. Baeyer II-Lösung in die Lungen zeigten, war schon durch das Einfließen kaliumreicher Lösung der Gefäßwiderstand erhöht (Kap. 4.1, 5.2.1.3; Tab. 7). Bei den in vitro perfundierten Lungen von SCHNEUWLY et al, (1999) hatten die kaliumreichen Euro Collins konservierten Lungen gegenüber einer LPD-Gruppe und einer Konservierung mit leukozytenfreiem Blut den höchsten Gesamtwiderstand. Unser Modell bestätigte den ungünstigeren Einfluss kaliumreicher Konservierungen auf den Widerstand des Gefäßbettes. Darüber hinaus zeigen unsere Versuche, wo die Widerstandszunahmen im Gefäßbett auftraten. Die erhöhten pulmonal arteriellen Widerstände (N=4) sind verständlich, da für Kalium eine muskelkonstringierende Wirkung bekannt ist. In den pulmonal venösen Gefäßen sind jedoch nur wenig glatte Muskelzellen vorhanden. Deshalb kann vermutet werden, dass Kalium in diesem Gefäßabschnitt keine nennenswerte Konstriktion bewirkt. Dies bestätigte das langsame Einfließen der v. Baeyer II- Lösung gegenüber der LPD- Lösung und der isotonen Kochsalzlösung (Tab. 7) sowie der erhöhte pulmonal arterielle Widerstand der Gruppe 3 gegenüber der Gruppe 5 (Abb. 14).

Im Herz- Lungen- Transplantationsmodell am Hund bewirkte die Infusion von Prostaglandin E_1 ¹ nach Reperfusion bei Verwendung der Intrazellulärlösung Euro Collins gegenüber der Konservierung mit LPD- Konservierung (PUSKAS et al., 1992) keine Widerstandserhöhung. Ohne die Infusion von Prostaglandin E_1 wurde bei Euro Collins konservierten Lungen eine Widerstandserhöhung nach der Reperfusion gegenüber den mit LPD- Lösung konservierten Lungen beobachtet (PUSKAS et al., 1992). Dies bestätigt die muskelkonstringierende Wirkung kaliumreicher Konservierungslösungen auf die Widerstandsgefäße konservierter Lungen.

¹ Pulmonal arterieller Druck und Sauerstoffpartialdruck waren zwischen den Konservierungslösungen weder am ersten noch am dritten Tag verschieden.

Die Streuung des Gesamtwiderstandes bei den mit NaCl- konservierten Lungen wird durch die im "Steady State" nicht gleichbleibenden Widerstände erklärt (Abb. 14 und Anhang Tab. 13). Die große Streuung des Gesamtwiderstandes bei den mit v. Baeyer II konservierten Lungen scheint typisch für diese Konservierung zu sein (Kap. 5.2.7.1). Die geringere Streuung im "Steady State" bei nicht verschiedenen Medianen der jeweiligen Konservierungslösungen würde für die Verwendung der LPD-Lösung und gegen eine Verwendung von v. Baeyer II- und NaCl-Lösung sprechen.

Die Spitzendrücke in den Gruppen 3, 5 und 7 waren nicht voneinander verschieden (Abb. 14). Viele Autoren bescheinigten der LPD-Konservierung sowohl in klinischen Studien nach Transplantationen, in Tier-Transplantationsmodellen und auch bei der in vitro Perfusion eine höhere dynamische Compliance gegenüber der kaliumreichen Euro Collins-Lösung (STRUBER et al., 2001 und 2000; SCHNEUWLY et al., 1999). Auch wir haben eine niedrigere dynamische Compliance der kaliumreichen v. Baeyer II- Konservierung ($202,6 \pm 53,8$ ml/kPa, N=5) gegenüber der mit LPD konservierten ($369,8 \pm 87,9$ ml/kPa) und der mit NaCl konservierten Gruppe ($350,2 \pm 95,8$ ml/kPa) gemessen. Einschränkend müssen wir darauf hinweisen, dass in Gruppe 3 auch halbe Lungen perfundiert wurden, was die dynamische Compliance beeinflusst haben könnte (Tab. 6). Bei der in vitro Perfusion LPD konservierter Lungen wurde jedoch kein "Steady State" für die Parameter Spitzendruck und dynamische Compliance erreicht (Anhang Tab. 9 und 11). Diese Änderungen bei den Parametern Spitzendruck und dynamische Compliance waren typisch für die mit LPD konservierten Lungen (Kap. 5.2.6) und wären ein Indiz zu Ungunsten der LPD Konservierung.

Die für den Ischämie-Reperfusions-Schaden typischen Massenzunahmen (Kap. 5.2.4 und 5.2.8.2) waren, soweit beurteilbar, in den Gruppe 3, 5 und 7 nicht verschieden (Kap. 4.6.5). Auch SCHNEUWLY et al. (1999) fanden diesbezüglich bei der in vitro Perfusion von Schweinelungen keinen Unterschied für die Konservierung mit intra- und extrazellulären Lösungen.

Die uneinheitliche Verwendung von Konservierungslösungen für Lungentransplantationen bei hoher Übereinstimmung bezüglich der Ischämiezeiten und vergleichbarem Transplantationserfolg (HOPKINSON et al., 1994) zeigte, dass eine Betonung begünstigender Effekte der üblicherweise verwendeten Konservierungslösungen nicht immer berechtigt ist. Im Transplantationsmodell am Schwein stellten MÜLLER et al. (1997) als auch STEEN et al. (1994) die Überlegenheit einer ausschließlichen Kühlung der Lungen zur Aufbewahrung gegenüber der Konservierung mit Euro Collins- Lösung fest. Folglich können Lungen auch ohne eingebrachte Konservierungslösung nach einer Aufbewahrungszeit erfolgreich transplantiert werden. Zahlreiche vergleichende Untersuchungen belegten jedoch eine Schädenseingrenzung bei Reperfusion nach Ischämie durch die jeweiligen Konservierungslösungen (MÜLLER et al., 2002 und 1999; STRUBER et al., 2001 und 2000; SUZUKI et al., 2000).

Für die pulmonal arteriellen Widerstände und die dynamische Compliance waren in Gruppe 3 die Werte von nur 4 bzw. 5 Lungen gemessen worden. Deshalb ist die folgende Aussage nur eingeschränkt zulässig.

Die Extrazellulärlösung LPD zeichnete sich gegenüber der Intrazellulärlösung v. Baeyer II durch geringere Widerstandsentwicklung beim Einfließen der Konservierungslösung, durch geringere pulmonal arterielle Widerstände bei geringeren Streuungen aller Widerstände und höhere dynamische Compliance im „Steady State“ aus. Vergleichbares wurde von Schneuwly et al. (1999) für die in vitro Perfusion von Schweinelungen beschrieben.

Die in vitro Perfusion nach Konservierung mit LPD- Lösung unterschied sich nicht von der Perfusion nach Konservierung mit 0,9%iger NaCl- Lösung. Dadurch stellt unsere Untersuchung verschiedener Konservierungen die von vielen Autoren der Konservierung zugeschriebene Bedeutung in Frage. Auch MÜLLER et al. (1997) stellten die entscheidende Bedeutung der Konservierungslösungen in Frage; da im Schweine-Transplantationsmodell kein Unterschied für Euro Collins- konservierte

Lungen und lediglich hypotherm aufbewahrte Lungen nachgewiesen werden konnte. Keine der bisherigen Arbeitsgruppen stellte den Konservierungserfolg in Relation zu einer mit isotoner Kochsalzlösung konservierten Kontrollgruppe.

Wir kommen zu der Schlussfolgerung, dass die in vitro Perfusion von Schlachthoflungen eine gute Alternative zur in vitro Perfusion von Versuchstierlungen ist. Das Modell eignet sich zur Untersuchung der Ischämie-Reperfusionsschäden.

6 Schlussfolgerung

Bei der in vitro Lungenperfusion sind viele der Parameter mit in vivo gemessenen Werten vergleichbar. Die in vitro Lungenperfusion weist aber auch deutliche Funktionseinschränkungen gegenüber dem lebenden Tier auf. Die Funktionseinschränkungen bei der Lungenperfusion und das sich zunehmend entwickelnde Lungenödem entsprechen dem Bild des Ischämie- Reperfusions- Schadens und damit auch den Beobachtungen nach Lungentransplantationen.

Trotz dieser Einschränkungen ist die in vitro Perfusion von Schweinelungen vom Schlachthof für Untersuchungen des Ischämie-Reperfusions-Schadens aus folgenden Gründen als versuchstiersparendes Modell geeignet:

- Die gegenüber dem narkotisierten Tier veränderten Parameter und Befunde sind charakteristisch für den Ischämie- Reperfusions- Schaden.
- Unter Berücksichtigung von Altersentwicklung und Konservierungszeitraum sind die Perfusionsparameter von Lungen, die narkotisierten Schweinen entnommen wurden, mit denen der am Schlachthof gewonnenen vergleichbar.
- Im Model ist eine befriedigende "Steady State" Phase einstellbar, die den Vergleich zwischen den Gruppen erlaubt.
- Für die Gruppen 2 bis 7 konnten die Perfusionsdaten bei gleichbleibenden und an Messwerte von narkotisierten Schweinen angepassten PAP eingestellt werden. Bei den in vitro Perfusionen können auch die pulmonal arteriellen Parameter auf Werte, die an narkotisierten Tieren gemessen wurden, angepasst werden.
- Die pulmonal venös gemessenen Parameter und die funktionellen Parameter (ohne den eingestellten PAP) ermöglichen aufgrund der gleichbleibenden Voreinstellungen eine vergleichende Betrachtung zwischen den Versuchsgruppen.
- Die Funktionsparameter der definiert unauffälligen Lungen unterschieden sich von qualitativ verdächtigen Lungen.
- Pathologisch veränderte Lungen können und müssen vor Perfusionsbeginn aussortiert werden.

Die Lebendbeschau in Kombination mit der makroskopischen Beschau der Lungen auf dem Schlachthof ist essentiell für eine gleichbleibend befriedigende Perfusion von Schweinelungen aus der landwirtschaftlichen Produktion.

Die Perfusionen von Schlachthoflungen führten zu der Erkenntnis, dass die LPD-Konservierung der kaliumreichen Konservierung überlegen ist. Die Konservierung mit kaliumreichen Konservierungen führten zu einer Erhöhung des pulmonal arteriellen Widerstandes. Die Werte nach LPD-Konservierung waren von denen nach Konservierung mit isotoner Kochsalzlösung nicht verschieden. Wir stellen die These auf, dass der Einfluss der Konservierung auf die Ausprägung des Ischämie-Reperfusionsschadens häufig überschätzt wird. Wir empfehlen für zukünftige Versuche, beobachtete Erfolge vermeintlich präventiv wirksamer Konservierungen anhand einer mit isotoner NaCl-Lösung konservierten Kontrollgruppe zu überprüfen.