

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die isoliert autolog hämoperfundierte Schweinelunge:
Untersuchungen an Schlachthoforganen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin
Berlin

von

Dimitrios Koios

aus Leonberg

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr. h. c. mult. D. Groneberg

2. Priv.-Doz. Dr. med. F. C. Dimeo

3. Priv.-Doz. Dr. med. V. Harth

Datum der Promotion: 05. Juni 2011

meiner Frau Linda
und
unseren Kindern
Christo und Raphaelia

Inhaltsübersicht

| | |
|------------------------------------|-------------|
| Inhaltsübersicht | IV |
| Inhaltsverzeichnis | V |
| Abbildungsverzeichnis | VIII |
| Tabellenverzeichnis | IX |
| Abkürzungsverzeichnis | X |
| | |
| 1 Einleitung | 1 |
| 2 Material und Methoden | 10 |
| 3 Ergebnisse | 30 |
| 4 Diskussion | 49 |
| 5 Zusammenfassung | 64 |
| 6 Literaturverzeichnis | 66 |
| 7 Lebenslauf | 94 |
| 8 Danksagung | 95 |
| 9 Eidesstattliche Erklärung | 96 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Geschichtlicher Überblick der isolierte Lungenperfusion | 2 |
| 1.2 | Auswahl des zu perfundierenden Organs | 3 |
| 1.3 | Ischämie-Reperfusionsschaden am Beispiel der Lunge | 4 |
| 1.4 | Das Endothelin-System | 6 |
| 1.5 | Ziel der Arbeit | 9 |
| | | |
| 2. | Material und Methoden | 10 |
| 2.1 | Einführung | 10 |
| 2.2 | Isoliert, autolog perfundierte Schweinelungen vom Schlachthof | 10 |
| 2.2.1 | Kriterien zur Auswahl von Schlachthoftieren und Schlachthoflungen zur Perfusion | 10 |
| 2.2.2 | Organgewinnung | 11 |
| 2.2.3 | Konservierung und Organtransport | 11 |
| 2.3 | Isoliert, autolog perfundierte Schweinelungen unter OP-Bedingungen gewonnen | 12 |
| 2.3.1 | Narkose und Erhebung der Messwerte | 13 |
| 2.4 | Versuchsaufbau | 14 |
| 2.5 | Vorbereitung des Lungenperfusionsaufbaus | 19 |
| 2.5.1 | Perfusionsvorbereitung | 19 |
| 2.5.2 | „Warm rinsing“ und „normotherme Hämoperfusion“ | 19 |
| 2.6 | Versuchsablauf | 20 |
| 2.7 | Messverfahren und Messwerte | 21 |
| 2.7.1 | Messzeitpunkte | 21 |
| 2.7.2 | Probenentnahme | 21 |
| 2.7.3 | Pulmonalarterielle Blutparameter | 21 |
| 2.7.4 | Atemmechanik | 22 |
| 2.7.5 | Messwerte | 22 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 2.8 | Eingesetzte Substanzen | 26 |
| 2.8.1 | Dialysat | 26 |
| 2.8.2 | Blutgerinnungshemmer Heparin | 27 |
| 2.8.3 | Kochsalz-Lösung | 27 |
| 2.8.4 | Konservierungslösung LPD (Perfadex) | 28 |
| 2.9 | Enzyme-linked-Immumosorbent-Assay (ELISA) für Endothelin-1 | 28 |
| 2.10 | Datenanalyse | 29 |
| 3. | Ergebnisse | 30 |
| 3.1 | Funktionelle Parameter | 30 |
| 3.1.1 | Hämodynamik | 30 |
| 3.1.1.1 | Blutfluss | 30 |
| 3.1.1.2 | Pulmonal arterielle Druck | 31 |
| 3.1.1.3 | Pulmonal vaskuläre Widerstand | 32 |
| 3.1.1.4 | Pulmonal arterielle Widerstand | 33 |
| 3.1.1.5 | Pulmonal venöse Widerstand | 34 |
| 3.1.2 | Gaswechsellleistung | 35 |
| 3.1.2.1 | Pulmonal arterielle Sauerstoffsättigung | 35 |
| 3.1.2.2 | Pulmonal venöse Sauerstoffsättigung | 36 |
| 3.1.2.3 | Pulmonal arterieller Sauerstoffpartialdruck | 37 |
| 3.1.2.4 | Pulmonal venöser Sauerstoffpartialdruck | 38 |
| 3.1.2.5 | Pulmonal arterieller Kohlendioxidpartialdruck | 39 |
| 3.1.2.6 | Pulmonal venöser Kohlendioxidpartialdruck | 41 |
| 3.1.3 | Atemmechanik | 42 |
| 3.1.3.1 | Spitzendruck | 42 |
| 3.1.3.2 | Resistance | 43 |
| 3.1.3.3 | Compliance | 44 |
| 3.1.3 | Relative Gewichtszunahme | 45 |
| 3.2 | Blutparameter | 46 |
| 3.2.1 | Endothelin-1 Konzentration | 46 |
| 3.2.1.1 | Endothelin-1 Konzentration vor und nach der Lungenpassage | 47 |
| 3.2.1.2 | Endothelin-1 Konzentration während des Versuchverlaufs | 47 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 4. | Diskussion | 49 |
| 4.1 | Einführung | 49 |
| 4.2 | Diskussion der Methodik | 50 |
| 4.2.1 | Extrakorporale Lungenperusionsmodell | 50 |
| 4.2.2 | Wahl eine geeigneten Versuchstieres | 50 |
| 4.2.3 | Perfusat | 51 |
| 4.2.4 | Organgewinnung | 52 |
| 4.2.5 | Konservierung des Organs | 53 |
| 4.2.5.1 | LPD | 53 |
| 4.2.5.2 | Hypothermie | 54 |
| 4.2.5.3 | Inflation / Blähung der Lunge | 55 |
| 4.2.5.4 | Warme, kalte und totale Ischämie | 56 |
| 4.2.6 | Endothelin | 57 |
| 4.3 | Biologische Bedeutung der Ergebnisse | 58 |
| 4.3.1 | Pulmonal arterieller Druck | 58 |
| 4.3.2 | Pulmonal venöser Sauerstoffpartialdruck | 59 |
| 4.3.3 | Spitzendruck | 60 |
| 4.3.4 | Endothelin-Konzentration | 60 |
| 4.3.5 | Lungengewicht | 61 |
| 4.4 | Schlussfolgerung | 62 |
| 5. | Zusammenfassung | 64 |
| 6. | Literaturverzeichnis | 66 |
| 7. | Lebenslauf | 94 |
| 8. | Danksagung | 95 |
| 9. | Eidesstattliche Erklärung | 96 |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|---------------------|--|----|
| Abbildung 1 | Schematische Darstellung des Perfusionssystems | 17 |
| Abbildung 2 | Blutfluss | 31 |
| Abbildung 3 | Pulmonal arterieller Druck (PAP) | 32 |
| Abbildung 4 | Pulmonal vaskulärer Widerstandes (PVR) | 33 |
| Abbildung 5 | Pulmonal arterieller Widerstand (R_art) | 34 |
| Abbildung 6 | Pulmonal venöser Widerstand (R_ven) | 35 |
| Abbildung 7 | Arterielle Sauerstoffsättigung (Pa_SO ₂) | 36 |
| Abbildung 8 | Venöse Sauerstoffsättigung (Pv_SO ₂) | 37 |
| Abbildung 9 | Pulmonal arterieller Sauerstoffpartialdruck (Pa_PO ₂) | 38 |
| Abbildung 10 | Pulmonal venöser Sauerstoffpartialdruck (Pv_PO ₂) | 39 |
| Abbildung 11 | Pulmonal arterieller Kohlendioxidpartialdruck (Pa_PCO ₂) | 40 |
| Abbildung 12 | Pulmonal venöser Kohlendioxidpartialdruck (Pv_PCO ₂) | 42 |
| Abbildung 13 | Spitzendruck (PIP) | 43 |
| Abbildung 14 | Resistance (R) | 44 |
| Abbildung 15 | Compliance (C) | 45 |
| Abbildung 16 | Relative Gewichtszunahme | 46 |
| Abbildung 17 | Endothelin-1 (ET-1) Konzentration | 48 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabelle 1 | Zeitlicher Ablauf der Organgewinnung am Schlachthof | 12 |
| Tabelle 2 | Zeitlicher Ablauf der Organgewinnung im OP | 14 |
| Tabelle 3 | Zeitlicher Ablauf der Lungenperfusion | 20 |
| Tabelle 4 | Gemessene Parameter, Abkürzungen und Maßeinheiten | 25 |
| Tabelle 5 | Berechnete Parameter, Abkürzungen und Formeln | 26 |
| Tabelle 6 | Zusammensetzung der Dialysatlösung | 27 |
| Tabelle 7 | Zusammensetzung der Konservierungslösung | 28 |
| Tabelle 8 | Irrtumswahrscheinlichkeit p | 29 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------------------|---|
| AMV | Atemminutenvolumen |
| AZV | Atemzugvolumen |
| C | Compliance |
| DAG | Diacylglycerin |
| ECE | Endothelin-Converting-Enzyme |
| ELISA | Enzyme-linked-immunosorbent-Assay |
| ET | Endothelin |
| FiO ₂ | Sauerstoffgehalt der Atemluft |
| IL-8 | Interleukin-8 |
| ILP | Isolierte Lungenperfusion |
| IP ₃ | Inositoltriphosphat |
| LG _{nat} | Lungengewicht nativ |
| LG _{perf} | Lungengewicht perfundiert |
| LG _{rel} | relative Gewichtszunahme |
| LPD | Low Potassium Dextran |
| LPO | Erythrozyten-Lipidperoxidase |
| NHBD | Non-Heart-Beating-Donors |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| P _{art} | Pulmonal arterielle Druck |
| P _{ven} | Pulmonal venöser Druck |
| Pa _{pCO₂} | Pulmonal arterieller Kohlendioxidpartialdruck |
| Pa _{pO₂} | Pulmonal arterieller Sauerstoffpartialdruck |
| Pa _{SO₂} | Pulmonal arterielle Sauerstoffsättigung |
| PAP | Pulmonal arterielle Druck |
| PCP | Pulmonal kapilläre Verschlussdruck |
| PDGF | Platelet-derived growth factor |
| PEEP | Positiver endexpiratorischer Druck |
| PGI ₂ | Prostacyclin (Prostaglandin I ₂) |
| PIP | Spitzendruck |
| Pv _{pCO₂} | Pulmonal venöser Kohlendioxidpartialdruck |

| | |
|--------|--|
| Pv_pO2 | Pulmonal venöse Sauerstoffpartialdruck |
| Pv_SO2 | Pulmonal venöse Sauerstoffsättigung |
| PVP | Pulmonal venöser Druck |
| PVR | Pulmonal vaskulärer Widerstand |
| Q | Blutfluss |
| R | Resistance |
| R_art | Pulmonal arterieller Widerstand |
| R_ven | Pulmonal venöser Widerstand |
| TGF | Transforming Growth Factor |
| TNFa | Tumornekrosefaktor alpha |
| VEGF | Vascular Endothelial growth factor |

1. Einleitung

Bei der Behandlung verschiedener Atemwegserkrankungen wurden und werden eine Vielzahl von Therapiekonzepten in der Humanmedizin angewandt. Es ist dabei von großem Interesse diese im Rahmen der Grundlagenforschung, der Transplantationsmedizin, der pharmakologischen sowie toxikologischen Forschung zu verbessern und neue zu entwickeln. Eine Möglichkeit für die medizinische Forschung ergibt sich aus der Perfusion von isolierten Organen. Bis heute stehen mehrere Perfusionssysteme für die isolierte Lungenperfusion (ILP) zur Verfügung (Wright et al., 2000; Schneuwly et al., 1999; Fehrenbach et al., 2001).

Charakteristisch für die ILP ist, dass dabei die mögliche Einflussnahme durch andere Organe ausgeschlossen wird. Die ILP erlaubt eine Bewertung der Wirkungen von bestimmten Substanzen auf die jeweils zu untersuchenden Organe und ihre Funktionsweise. Die wesentlichen für diese Perfusion eingestellten Parameter können für jeden Versuch kontrolliert, eingestellt und beibehalten werden. Gleichzeitig können eine Vielzahl von Proben des Perfusionsmediums wie auch des Organs selbst entnommen werden (Kimose et al., 1990; Samaja et al., 1990).

Ausgangspunkt für die Perfusion allgemein ist die Tatsache, dass die Anatomie, Größe und Physiologie von einzelnen Tierorganen mit den entsprechenden Organen des Menschen vergleichbar sind. Das trifft zum Beispiel auf die Schweinelunge zu (Rendas et al., 1978). Im Gegensatz zu anderen Tierorganen wurde über die Verwendung von Schweinelungen, die für die ILP von Schlachthöfen bezogen werden, in der Literatur bisher noch nicht umfangreich berichtet (Dittrich et al., 2000). Eine Bedingung für die Beantwortung der wissenschaftlichen Fragestellungen ist die Vergleichbarkeit der funktionellen Parameter von Lungen dieser Schlachthoftiere mit denen von Versuchstieren. Darüber hinaus ist für die Perfusion der isolierten Lungen eine Standardisierung der Ausgangsbedingungen notwendig.

Schlachthof-Organmodelle wie Herz (Moderson et al., 2001), Niere (Dittrich et al., 2000), Leber (Grosse-Siestrup et al., 2002) und einzelne Extremitäten (Grosse-Siestrup et al., 2002) wurden für Pharmakatestungen bereits verwendet und standardisiert. Im Verlauf der medizinischen Forschungen wurde festgestellt, dass die gewonnenen Erkenntnisse auf den Menschen übertragbar sind.

Einleitung

Von der ersten Lungentransplantation am Menschen von Hardy und Webb 1963, über die erste langfristig erfolgreiche Transplantation einer einzelnen Lunge 1986 durch Cooper et al., bis zur ersten klinischen Doppellungentransplantation durch Patterson et al. 1988 konnte das Verfahren durch die dabei gesammelten experimentellen und klinischen Erfahrungen weiterentwickelt, erprobt und etabliert werden. Einer der einschränkenden Faktoren auf die erfolgreiche Funktion des Organs nach der Transplantation, war bzw. ist der nach der Explantation auftretende Ischämie-Reperfusionsschaden. Dieser konnte durch klinische und experimentelle Studien analysiert und durch die daraus gezogenen Schlussfolgerungen eingegrenzt und verringert werden. Die Überlebensrate wurde dadurch erhöht.

1.1 Geschichtlicher Überblick der isolierten Lungenperfusion

Die ILP ist ein Modell, dessen Entstehungsgeschichte bis zum Beginn des zwanzigsten Jahrhunderts zurück zu verfolgen ist, seit dem beständig weiterentwickelt und verbessert wurde. Eine Vielzahl von verschiedenen Perfusionsmodellen sind seit den Studien von Knowlton und Starling (1912) entwickelt worden. Dabei ging es darum, die speziellen Funktionsweisen und Fragestellungen der Physiologie, der Pathophysiologie, der Chirurgie und der Transplantationsmedizin zu erkennen und nach Lösungen zu suchen.

Die Herangehensweise an diese wissenschaftlichen Untersuchungen basierten jeweils auf unterschiedliche Voraussetzungen, Methoden und Zielsetzungen. Leary und Ledingham (1969) untersuchten die In situ Perfusionsmethode mit und ohne Beatmung des Organs, während Bakhle, Reynard und Vane lediglich eine ILP (1969) ohne Beatmung beschrieben. Niemeier und Bingham (1972) perfundierten Lungen mit einem negativen Ventilationsdruck im Gegensatz zu O'Neil und Tierney (1974), deren perfundierte Lungen mit einem positiven Ventilationsdruck beatmet wurden. Die pulsatile Perfusion, die eine physiologische Herzaktion simulieren sollte, wurde durch Hauge (1968) eingeführt. Eine andere Methode wählten Gillis und Iwasawa (1972), die den rechten und linken Lungenlappen getrennt perfundierten, während Niemeier und O'Neil (1972) das ganze Organ als Untersuchungsobjekt nutzten.

Einleitung

Alle Perfusionsmethoden sind nach speziellen Fragestellungen und Zielsetzungen entwickelt und unter Berücksichtigung des jeweiligen Entwicklungsstandes der Technik angepasst und/oder verbessert worden. Aus einer Kombination der zuvor beschriebenen Methoden hat sich das Modell der ILP entwickelt. Charakteristisch für die ILP ist die kontinuierliche Messung einer Vielzahl von vaskulären, respiratorischen und hämatologischen Daten. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit der gleichzeitigen Gewinnung von Lungengewebeproben wie aber auch der Entnahme von Blut zu einem festgelegten Zeitpunkt für eine weitere Bearbeitung und Beurteilung (Nyhlén et al., 1997 und Bernard et al., 1997). Eine besondere Bedeutung noch vor der Perfusion selbst, kommt jedoch der Auswahl eines geeigneten Organs zu.

1.2 Auswahl des zu perfundierenden Organs

Bestimmte Faktoren beeinflussten die Wahl des zu perfundierenden Organs. Zu nennen sind Faktoren, wie die Verfügbarkeit, die genetische Charakteristik und die Kosten. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren stammen die am häufigsten untersuchten und isoliert perfundierten Organe von Kaninchen und Ratten, d.h. kleinere Tiere, die eine hohe Verfügbarkeit gewährleisten, eine bestmögliche genetische Charakteristik besitzen und nur geringe Kosten verursachen. Die Vorteile, die sich bei verschiedenen Organen genau dieser Tierarten bezüglich einzelner Faktoren ergeben, müssen jedoch gegen durchaus vorhandene Nachteile qualitativ und quantitativ abgegrenzt sowie nach deren Verhältnismäßigkeit zueinander abgewogen werden.

So erweist es sich gegenüber der hohen Verfügbarkeit, einer bestmöglichen genetischen Charakteristik und den geringen Kosten bei Kleintieren andererseits als sehr schwierig, chirurgische Eingriffe durchzuführen, wenn die zu perfundierenden Organe nur von geringer Größe sind. Eine weitere Schwierigkeit besteht in der Bereitstellung einer ausreichenden Menge autologen Blutes, vor allem wenn weitere laborchemische Untersuchungen mit dem Perfusionsmedium gemacht werden sollen. Deshalb werden bei Organen von Kleintieren künstlich hergestellte Perfusionslösungen wie die Krebs-Ringer Lösung (Junod et al., 1972) eingesetzt. Da

Einleitung

die Perfusion mit autologem Blut klare qualitative Vorteile gegenüber den künstlich hergestellten Medien besitzt, wird diese bei Organen größerer Tierarten beibehalten. Dieser Vorteil besteht darin, dass durch die Versorgung des Organs mit Sauerstoff durch das Hämoglobin und den Einfluss weiterer Blutbestandteile eine Beibehaltung natürlicher onkotischer Verhältnisse im perfundierten Organ garantiert wird. Das trifft vor allem zu, wenn die Interaktionen der Blutzellen mit dem Gefäßendothel untersucht werden (Nyhlén et al., 1997). Gegen die Benutzung von Organen kleinerer Tiere spricht ihre Größe, Geometrie und Funktionsweise, die denen des Menschen nicht ähneln (Booth, Nielsen und Maaske, 1966).

Es erscheint somit sinnvoll Organe größerer Tiere zu perfundieren. Gleichzeitig sollten jedoch die Zahl der Versuchstiere aus ethischen Gründen minimiert werden, ohne die Forschung einzuschränken. Diese Möglichkeit gewährleistet die Verwendung von Organen aus Schlachthöfen.

Die Perfusion von Organen, speziell des Schweines, gewonnen aus dem Schlachthausbetrieb, könnte dabei eine Ergänzungs-, sogar eine Alternativmethode zu den Tierversuchen sein. Es ist ein ethisch erstrebenswertes Ziel die Anzahl der Tierversuche zu minimieren.

1.3 Ischämie - Reperfusionsschaden am Beispiel der Lunge

Ausgehend von den Forschungsergebnissen von Fridovich (1979), dass Gewebeschäden als Folge einer Ischämie und einer nachfolgenden Perfusion die Funktion der Lunge bis zum Versagen des Organs beeinträchtigen kann, musste über Alternativen bzw. Wege, Mittel und Methoden für eine Einschränkung des Reperfusionsschadens nachgedacht werden. In der Transplantationsmedizin entstand, verbunden mit diesen Erkenntnissen sowie auf Grund der begrenzten Anzahl von OrganspenderInnen und somit der Verfügbarkeit von Transplantaten, ein besonderes Interesse daran, diesen Ischämie-Reperfusionsschaden möglichst gering zu halten.

Die Auswirkungen der Ischämie auf verschiedene Organe sowie der Zeitpunkt, ab dem ein Ischämie-Reperfusionsschaden für die Aufrechterhaltung ihrer Funktion nicht mehr tolerabel ist, unterscheiden sich je nach betrachtetem Organ. Sehr schwierig

Einleitung

gestaltet sich dieses Problem beispielsweise bei der Lunge aufgrund des besonderen histologisch-anatomischen Aufbaus des Organs, seiner besonderen Perfusion und speziellen Sauerstoffversorgung. Die Versorgung der Lunge mit Blut erfolgt über zwei Wege. Sauerstoffarmes Blut wird der Lunge durch die A. pulmonalis und sauerstoffreiches Blut durch die Arterien der Bronchen die von der Brusttaorta ausgehen, zugeführt. Von einem Ischämie-Perfusionsschaden wird lediglich das Lungeninterstitium, als ischämieresistent bezeichnet, da dieses Gewebe den benötigten Sauerstoff durch die Alveolarluft deckt (Amrani et al., 1999).

Generell lässt sich bis heute ein Ischämie-Reperfusionsschaden binnen 72 Stunden nach der Lungentransplantation nicht verhindern, sondern nur begrenzen. Messbare charakteristische Erscheinungen sind ein erhöhter pulmonaler Druck, höhere pulmonale Widerstände, niedrigere Flüsse, eine verringerte Compliance, niedrigere pulmonalvenöse Sauerstoffpartialdrücke sowie -Sättigung (Amrani et al., 1999; King et al., 2000). Sie sind Hinweise auf eine Hypoxie, ein Lungenödem und einen unspezifischen Alveolarschaden. Allein die Reduktion des Blutflusses unter die Bedarfsgrenze kann schon wie bei der Ischämie nach kurzer Zeit eine Gewebhypoxie verursachen (Gros et al., 2004) und niedrige Sauerstoffpartialdrücke eine Vasokonstriktion zur Folge haben (Busse et al., 2000). Dabei zeigt sich in den Parenchym- sowie in den Endothelzellen ein Abfall der intrazellulären ATP-Konzentration, resultierend aus der fehlenden oxidativen Phosphorylierung und der Aktivierung des anaeroben Metabolismus (Grote et al., 2000). Die anaerobe Glykolyse kann diesen Effekt nur kurzzeitig überbrücken. Es folgen ein Anstieg der Lactatkonzentration und ein Abfall des intrazellulären pH-Wertes. Dies führt zum Ausfall der Na/K-ATPase und schließlich zur Ödembildung durch Einstrom von Natrium, Kalzium und Wasser in die Zellen (Fischer et al., 1994). Die Produktion von Surfactant durch den Sauerstoffmangel ist ebenfalls gestört (Barie et al., 1981).

Das Gefäßendothel spielt dabei eine wichtige Rolle bei der Regulation von Gefäßtonus und -wachstum (Remodeling), aufgrund seiner strategischen Lage zwischen Muskulatur und Blut. Bei einer Störung der endothelialen Funktion und des Parenchyms bei Ischämie, kommt es bei der Reperfusion zur Freisetzung von Mediatoren wie Endothelin-1, Angiopoetin-1, NO, PGI₂ sowie Chemokinen (Humbert et al., 2004; Hanusch et al., 2007). Das Verständnis der Funktionsweise dieser

Schlüsselmechanismen ermöglicht die Entwicklung spezifischer pharmakologischer Behandlungsstrategien.

1.4 Das Endothelin-System

Das stark vasokonstriktorisch wirkende Peptid Endothelin-1 (ET-1) wurde erstmalig 1988 von Yanagisawa et al. aus Endothelzellen der Aorta von Schweinen isoliert, erforscht und beschrieben. In der Folge weitergehender Forschungen konnten die Endothelin-Isomere ET-2 und ET-3 isoliert werden (Inoue et al., 1989). Alle Peptide bestehen aus 21 Aminosäuren und zwei Disulfidbrücken. ET-1 und ET-2 unterscheiden sich durch zwei, ET-1 und ET-3 durch sechs Aminosäuren voneinander. Die umfangreichsten Forschungsergebnisse liegen derzeit zum Isopeptid ET-1 vor, u. a. da es einerseits das quantitativ häufigste und andererseits das bedeutendste Isopeptid für das kardiovaskuläre System ist (Taddei et al., 2001). Es wird im Gegensatz zu den anderen auch in Endothelzellen produziert (Sakurai et al., 1990).

Die Biosynthese von ET-1 läuft über mehrere Schritte ab. Zunächst entsteht aus dem Präproendothelin-1, bestehend aus 203 Aminosäuren, durch die Protease Furikonvertase ein bereits schwach wirksames, aus 38 Aminosäuren bestehendes Big-ET-1. Einen weiteren Einfluss auf diese Biosynthese üben die Endothelin-Converting-Enzyme aus, die in 4 Isoformen auftreten (Schweizer et al., 1997) und in den Membranen von Endothelzellen, Epithelzellen, Makrophagen, glatten Muskelzellen sowie Herzmuskelzellen gefunden wurden. Die membrangebundene Metalloendopeptidase, bestehend aus dem Endothelin-Converting-Enzym-1 (ECE-1) und dem Endothelin-Converting-Enzym-2 (ECE-2), transformiert danach das in dem Zytoplasma befindliche Big-ET-1 in das physiologisch aktive ET-1 (Matsumura et al., 1990; Schmidt et al., 1994). Die Menge des entstehenden ET-1 wird durch den Umfang der ECE-1 Expression bestimmt, die durch einen Protein-C-Kinase abhängigen Mechanismus reguliert wird (Xu et al., 1994), ebenso durch Zytokine und/oder durch ET-B-Rezeptoren (Uchida et al., 1997; Naomi et al., 1998). Die Transformation selbst findet hauptsächlich im Zytoplasma aber auch in wesentlich geringerer Menge im zirkulierenden Blut statt (Watanabe et al., 1991). Endothelin-

Einleitung

Converting-Enzyme sind außerdem an der Produktion anderer Proteine wie Insulin, Bradykinin und Substanz P beteiligt.

Die Produktion von Endothelinen wird jedoch nicht nur durch EC-Enzyme beeinflusst, sondern auch durch andere Enzyme, wie zum Beispiel die Chymase und die nicht-ECE-Metalloprotease. Die aus den menschlichen Mastzellen isolierte Chymase, transformiert das Big-ET-1 in ein aus 31 Aminosäuren bestehendes ET-1 um, welches zwar wie ein ET-1 bestehend aus 21 Aminosäuren wirkt, jedoch in abgeschwächter Form (Nakano et al., 1997; Lüscher et al., 2000).

Eine Zunahme der Konzentration von ET-1 wird durch Hypoxie, erhöhtes LDL-Cholesterin, erhöhten Blutzucker, Östrogenmangel, Alterung, Thrombine, Zytokine und/oder Adhäsionsmoleküle ausgelöst. Als Hemmstoffe zählen NO, Prostacyclin, atriales natriuretisches Peptid und/oder Heparin (Cardillo et al., 2000).

ET-1 hat eine biologische Halbwertszeit im Plasma von unter einer Minute, während Big-ET-1 eine Halbwertszeit von ungefähr einer Stunde hat (Niwa et al., 1989). Dafür ist die vasokonstriktorische Wirkung von ET-1 um das 140-fache höher als die von Big-ET-1 (Kimura et al., 1989). Die kurze Halbwertszeit des ET-1 resultiert aus der hohen pulmonalen Clearance, die nach einer pulmonalen Passage bei ungefähr 80-90% liegt. Die Clearance wird fast ausschließlich durch den ET-B-Rezeptor reguliert und ist bei verschiedenen kardiopulmonalen Erkrankungen, wie z.B. der pulmonalen Hypertension oder bei einer chronischen Herzinsuffizienz gestört (Dupuis et al., 1996).

Die Wirkung des ET-1 beschränkt sich nicht nur auf die Regulierung des Gefäßtonus. Es wirkt synergistisch auf die Funktion von VEGF, PDGF, TGF und Insulin, hat einen mitogenen Effekt (Shubeita et al., 1990) und stimuliert die Produktion u. a. von verschiedenen Zytokinen (Cunningham et al., 1997) und verschiedenen Wachstumsfaktoren (Hofman et al., 1998; Matsuura et al., 1998). Beim hypovolämischen Schock stimuliert es die Aktivierung der Leukozyten (Battistini et al., 1993). Außerdem beeinflusst es die Hypertrophie glatter Muskulatur (Bobik et al., 1990) sowie von Kardiomyozyten (Ito et al., 1993).

Die biologische Wirksamkeit entfalten alle Endotheline auf autokrine sowie parakrine Weise (Hahn et al., 1990). Das ET-1 entfaltet seine biologische Wirkung durch die Bindung an spezifische G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Zunächst wurden 2

Einleitung

Rezeptorsubtypen entdeckt. Auf glatten Gefäß- und Herzmuskelzellen allerdings nur die ET-A-Rezeptoren sowie auf Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Makrophagen, zusätzlich die ET-B-Rezeptoren (Arai et al., 1990; Sakurai et al., 1990). Später konnte man die Unterklassen ET-A1, ET-A2, ET-B1 und ET-B2 spezifizieren (Schmitz-Spanke et al., 2000).

In der Lunge wirken die an allen glatten Muskelzellen befindlichen ET-A- und ET-B2-Rezeptoren direkt vasokonstriktorisch. Dabei wird nach der Bindung des ET-Rezeptor-Komplexes an das G-Protein, die Phospholipase C aktiviert und es kommt zum Anstieg des IP3 und DAG. Dadurch kommt es wiederum zum Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration und zur Vasokonstriktion (Endoh et al., 1998; Cardillo et al., 2000). Über ET-B2-Rezeptoren wird die ET-1 Clearance in der Lunge ausgelöst und die ET-1 Wiederaufnahme in die Endothelzellen und ECE-1 Expression gehemmt (Cardillo et al., 1999). ET-B1-Rezeptoren die auf den Endothelzellen lokalisiert sind, lösen eine NO Freisetzung aus, die durch endothelium-derived-relaxing-factor gesteuert wird. Das NO hemmt den Kalziumeinstrom und es wird eine Vasodilatation ausgelöst (Cardillo et al., 1999; Boscoe et al., 2001). Es hat sich jedoch in Studien gezeigt, dass die über ET-B1-Rezeptor ausgelösten Effekte eher von geringerer Wirksamkeit sind, da sich z.B. bei einer beginnenden pulmonalen arteriellen Hypertension die Rezeptorendichte verändert. Die ET-A-Rezeptorendichte an der glatten Muskulatur wird hochreguliert, so dass sich vasokonstriktorische Effekte zeigen, bei gleichzeitiger Abnahme der ET-B-Rezeptoren. Parallel dazu wird die durch ET-B-Rezeptoren ausgelöste ET-1 Clearance gehemmt (Cardillo et al., 1999; Taddei et al., 1999). Die Tonuserhöhende Wirkung des ET-1 an der glatten Muskulatur konnte auch an den Bronchien nachgewiesen werden (Kadowitz et al., 1991).

Die Beteiligung der Endotheline an weiteren pathologischen Prozessen, in verschiedenen Organen ist bekannt. Im Gehirn konnten ET-1 und ET-3 nachgewiesen und an den cerebralen Gefäßen, Neuronen und Gliazellen zumeist ET-B-Rezeptoren isoliert werden. Erhöhte ET-Konzentrationen führten zu einem gesteigerten cerebralen Gefäßtonus, vor allem nach Subarachnoidalblutungen (Ziv et al., 1992; Touzani et al., 2001). Über ein durch ET-3 und ET-B-Rezeptoren ausgelöstes aganglionäres Megacolon im Gastrointestinaltrakt wird diskutiert (Henry et al., 2001). An der Niere verursachte das ET-1, eine durch ET-A-Rezeptoren

bedingte Perfusionsminderung und somit eine Reduzierung der glomerulären Filtrationsrate. An den Tubuli kam es zu einer erhöhten Natrium und Wasserausscheidung, verursacht durch die Bindung von ET-1 an ET-B-Rezeptoren (Pollock et al., 2001). In der Leber erhöhte ET-1 den portalen Druck (Stansby et al., 1993).

1.5 Ziele der Arbeit

Die Etablierung eines Perfusionsmodells für die isoliert autolog perfundierte Schweinelunge, gewonnen aus dem Schlachthofbetrieb, ist bis heute noch nicht beschrieben worden. Dieses Modell würde pharmakologische Testungen erlauben und neue Erkenntnisse zur Vermeidung und zur weiteren Erforschung des Ischämie-Reperfusionsschadens liefern.

Für die Etablierung des Perfusionsmodells für die isoliert autolog perfundierten Schweinelunge sollen im Einzelnen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

1. Kann ein Tierversuchersatzmodell aus hämoperfundierte Schweinelungen geschaffen werden, die von einem kommerziellen Schlachthofbetrieb gewonnen wurden?
2. Wie verhält sich die Lungenfunktion von isolierten hämoperfundierte Schweinelungen, die vom kommerziellen Schlachthofbetrieb (Ex vivo) bezogen wurden, im Vergleich zu Organen, die operativ von Versuchsschweinen (Ex vivo OP) entnommen wurden?
3. Wie verhält sich die Lungenfunktion vor der Organentnahme unter Narkosebedingungen (In vivo) im Vergleich zur Funktion nach der operativen Entfernung und Perfusion (Ex vivo OP)?
4. Wie wird der Ischämie-Reperfusionsschaden in den isolierten hämoperfundierte Schweinelungen, die vom kommerziellen Schlachthofbetrieb (Ex vivo) bezogen wurden, durch Endothelin-1 im Vergleich zu Organen beeinflusst, die operativ von Versuchsschweinen (Ex vivo OP) entnommen wurden?

2. Material und Methoden

2.1 Einführung

Zur Entwicklung des Tiermodells der isoliert, autolog perfundierten Schweinelunge wurden insgesamt 12 Schlachthoflungen perfundiert.

Als Vergleichsgruppe diente die Gruppe von 6 isoliert, autolog perfundierten Schweinelungen die unter OP-Bedingungen gewonnen wurden.

Die gleichen Parameter die bei beiden Gruppen erhoben wurden, wurden zuvor in narkotisierten und kontrolliert beatmeten Schweinen vor Organentnahme erhoben und mit den beiden Gruppen verglichen.

2.2 Isoliert, autolog perfundierte Schweinelungen vom Schlachthof

2.2.1 Kriterien zur Auswahl von Schlachthoftieren und Schlachthoflungen zur Perfusion

Durch die Anwendung von Ausschlußkriterien sollten gesunde Lungen für die Perfusion verwendet werden. Folgende Kriterien wurden erhoben:

- Lebendbeschau
- makroskopische Untersuchung der Lungen

Bei der Lebendschau sollten kranke Tiere ausgeschlossen werden. Das Tier sollte sich ruhig und aufmerksam verhalten, die Bewegungen sollten ungestört erscheinen, die Gliedmassen sollten im Stand gleichmäßig belastet werden. Das Schwein sollte keinen Husten oder Nasenausfluss aufweisen. Die Nasenform sollte symmetrisch sein, die Konjunktiven rosa-rot, die Episkleralgefäße fein gezeichnet, die Hautfarbe blass-rosa und der After sauber. Auf Gelenkschwellungen und die Schwanzspitzennekrose wurde ebenfalls geachtet. Alle Tiere wurden zudem abgehört.

Material und Methoden

Nach der Entnahme der Lungen wurden die mit pathologischen Prozessen ausgeschlossen. Bei der Präparation sollten die Lungen deutlich kollabieren und sich problemlos vom Thorax lösen lassen. Die Lungen sollten rosafarben sein, deutlich gelappt, scharfrandig sowie von elastischer Konsistenz. Das Herz sollte stumpfkegelförmig erscheinen und die Lymphknoten nicht vergrößert.

2.2.2 Organgewinnung

Zur Organgewinnung wurden in einem kommerziellen Schlachthof Schweine der "Deutschen Landrasse" ausgewählt und entsprechend den Richtlinien der Eberswalder Fleischwaren GmbH geschlachtet. Bei den ausgewählten Tieren handelte es sich um Sauen mit einem Gewicht zwischen 95 und 105 kg.

Mit Hilfe eines Elektroschocks wurde das Tier betäubt und nach Durchtrennung der Carotiden im Hängen ausgeblutet.

Das heraustretende Blut wurde in einer sterilen Metallschüssel aufgefangen und mit 50 ml 3,2 % Natriumcitrat/1ltr. Blut und 10000IE Heparin/1ltr. Blut antikoaguliert (Liquemin, Hofmann - La Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland). Das Blut wurde in Infusionsflaschen abgefüllt und gekühlt aufbewahrt.

Nach der Blutentnahme wurde das Tier in Rückenlage gelegt und der Thorax durch einen Längsschnitt unterhalb des Processus xiphoideus beginnend, nach kranial eröffnet, indem das Diaphragma stumpf durchstoßen wurde. Das Brustbein wurde durchtrennt und mit einem Brustsperrer aufgespreizt. Luftröhre, Speiseröhre und Gefäße wurden abgeklemmt. Nach stumpfer Eröffnung der Pleurahöhle wurde die Lunge zusammen mit dem Herzen entnommen.

2.2.3 Konservierung und Organtransport

Zunächst wurde das Gewicht der Lunge bestimmt und Vorbereitungen für den Transport getroffen. In einer ausreichend großen Metallschüssel wurde ein Eisbett ausgelegt und auf diesem wurde die Lunge, geschützt durch eine stabile Plastikhülle, gelagert.

Material und Methoden

Durch einen Einschnitt im rechten Herzventrikel wurde der Tubus eines Absaugkatheters (Bronchialis „s“ gerade 60 cm, Steridan Hundestedt, Deutschland) bis in den Truncus pulmonalis vorgeschoben und mit Hilfe einer Ligatur fixiert.

Im Anschluss wurden über den Truncus pulmonalis 2 Liter 4°C kalter LPD-Konservierungslösung (low potassium dextran, Perfadex) blasenfrei infundiert. Danach wurde der arterielle Zugang abgeklemmt. Über die Trachea wurde mit Hilfe eines portablen Beatmungsgeräts die Lunge mit einem konstanten Druck von 10 bis 15 cmH₂O im belüfteten Zustand gehalten. Die Lunge wurde bis zum Zeitpunkt der Reperfusion auf Eis gelagert, in einer Styroporbox.

Die „kalte Ischämiezeit“ dauerte inklusive Transportfahrt vom Schlachthof bis zum Institut durchschnittlich 330 Minuten.

Tabelle 1: Zeitlicher Ablauf der Organgewinnung am Schlachthof

| | |
|-------------|---|
| 1.-3. min | Betäubung und Entblutung |
| 4.-8. min | Organentnahme |
| 9.-15. min | Präparation, Wiegung, Kanülierung |
| 19.–20. min | Infusion der Konservierungslösung (4°C) |
| 5,5 h | Lagerung auf Eis |

2.3 Isoliert, autolog perfundierte Schweinelungen unter OP-Bedingungen gewonnen

Es wurden 6 Tiere aus der landwirtschaftliche Produktion bezogen, die in den Tierhaltungsräumen der tierexperimentellen Einrichtung gehalten wurden. Es handelte sich um 3 Sauen und 3 kastrierte Männchen die ein Gewicht zwischen 28 und 30 kg hatten. Es wurden Messungen während der Narkose vorgenommen und anschließend unter OP-Bedingungen die Lungen entnommen, kurzkonserviert und perfundiert.

Material und Methoden

2.3.1 Narkose und Erhebung der Messwerte

Den Tieren wurde zur Sedation i.m. 4 mg/kg Azaperon i.m. (Stresnil®, Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland) und 10 mg/kg Ketamin i.m. (Ursotamin®, Serum-Werk, Bernburg, Deutschland) verabreicht. Zur Narkoseeinleitung wurden 0,4 mg/kg Etomidat i.v. (Etomidat-Lipuro®, Firma Braun, Melsungen, Deutschland) und zur Intubation 15 mg/kg Thiopental i.v. (Trapanal®, Byk Gulden, Konstanz, Deutschland) appliziert. Nach der Intubation mit einem Tubus (5-7,5mm, Länge 30cm, Mallinckrodt Medical, Athöone, Irland) und dem Anschluss an das Beatmungsgerät wurde die Narkose als Neuroleptanalgesie mit 2ml/h/10kg Fentanyl (Fentanyl 0,5mg®, Curamed Pharma, Karlsruhe, Deutschland) und mit 3-4ml/h/10kg Kgw Etomidat aufrechterhalten. Zusätzlich wurde mit repetitiven Dosen nach Bedarf 2ml Pancuronium i.v. (Pancuronium®, Curamed Pharma, Karlsruhe, Deutschland) zur Muskelrelaxierung verabreicht.

Alle narkotisierten Tiere wurden nach Anschluss an das Beatmungsgerät (Servo 900 D, Siemens, München, Deutschland) mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration (FiO_2) von $30,6 \pm 4,2$ % und einem pulmonalen endexpiratorischen Druck (PEEP) von 0,2 kPa beatmet (Monitoring, Hewlett-Packard, Modell 66S). Die Atemfrequenz wurde mit 16 Atemhüben pro Minute auf ein mittleres Atemminutenvolumen von 5 l/min bei einem Quotienten von Expiration zu Inspiration von 33% eingestellt. Der Spitzendruck (kPa) wurde über ein Beatmungsgerät gemessen. Für die Bestimmung des pulmonal-venösen und des pulmonal-arteriellen Drucks, sowie des Herzminutenvolumens wurde ein Swan-Ganz Katheter (Swan-Ganz®-VIP Katheter 5F 0,5 cc CAP, 993-132-5F, Baxter Healthcare Corporation, Irvine, USA) über die Vena jugularis im rechten Ventrikel sowie einer in die Arteria carotis communis platziert. Die korrekte Positionierung wurde durch die Druckamplitude kontrolliert. Das Herzminutenvolumen wurde mit dem Thermodilutionsverfahren berechnet. Die Katheter dienten auch zur Blutentnahme.

Während der Narkose wurden zwei Messungen vorgenommen im Abstand zu je 15 Minuten (Tab. 2)

Tabelle 2: Zeitlicher Ablauf der Organgewinnung im OP

| | |
|-------------|---|
| | Anästhesie und Katheteranlage |
| 0. min | In vivo Messung: Erhebung der Atem-, Blut- und Kreislaufparameter |
| 15. min | In vivo Messung: Erhebung der Atem-, Blut- und Kreislaufparameter |
| 16.–32. min | Entnahme, Wiegung, Vorbereitung für den Anschluss an den Perfusionsaufbau |

Die Organentnahme, Konservierung und Perfusion erfolgte analog dem Vorgehen bei den Schlachthoflungen.

Wie im Kapitel 2.3 beschrieben wurde die Lunge entnommen und im Anschluss mit der LPD-Lösung kurzkonserviert. Anschließend erfolgte analog der Gruppe der Schlachthoflungen, die Integrierung der Lungen in den Perfusionskreislauf.

2.4 Versuchsaufbau

Der Perfusionsaufbau erlaubt eine Perfusion der Lunge mit autologem Vollblut und die Beatmung des Organs mit Hilfe eines Beatmungsgerätes (Servo Ventilator 900D, Siemens Elema, Schweden). Eingestellte Werte und Ergebnisse wurden mit Hilfe von Modulen (Hewlett-Packard Modell 66S) und durch den Monitor (Ventrak, München, Deutschland) angezeigt.

Der Perfusionskreislauf, der den natürlichen Kreislauf simuliert, ermöglicht folgende Bedingungen:

- Zirkulation des Perfusionsmediums
- Austausch von Soluten
- Regulierbarkeit wichtiger Parameter: Perfusionsfluss, Perfusionsdruck, Temperatur und Oxy- / Deoxygenierungsparameter

Das Zentrum des Versuchsaufbaus stellte ein System aus zwei, funktionell zu unterscheidenden Kreisläufen dar aus Silikon bestehend (Abb. 1).

Material und Methoden

Das erste System bestehend aus Blutkreislauf mit der isolierten Schweinelunge und das zweite bestehend aus einem parallelgeschalteten Dialysatkreislauf.

Diese beiden Kreislaufsysteme standen über ein Hohlfasermodule (Modell F7, Fresenius AG, Bad Homburg, Deutschland) miteinander in Verbindung. In diesem Modul flossen Blut und Dialysat, getrennt durch eine semipermeable Membran, im Gegenstromprinzip aneinander vorbei. Die Diffusion von Soluten, der Flüssigkeits- und Wärmeaustausch wurde somit ermöglicht. Durch den Flüssigkeitsaustausch über das Modul wurde der Substrataustausch von Elektrolyten und von Puffersubstanzen. Zudem lies sich der Hämatokrit und das Blutvolumen über zwei blutseitig eingesetzte Rollerpumpen (Doppelkopffrollerpumpen Multiflow 10-20-00, Stöckert Instrumente; München, Deutschland) regulieren.

Das Blut aus dem Dialysemodule floss in den Membrandeoxygenator (COBE VPCML PLUS Cardiovascular inc., USA). Er diente zur Deoxygenierung des Blutes und zur Anreicherung mit einem N₂/CO₂-Gasgemisch (79% N₂; 20%CO₂). Die Anteile der beiden Gase konnten über getrennte Ventile reguliert und über die Membranen abgegeben werden. Durch die Rollerpumpe (R3) wurde das nun pulmonalarterielle (deoxygenierte) Blut über eine Luftfalle, an der Druckmessung, der Abnahmestelle sowie der Temperatursonde (5F-Swan-Ganz Thermodilution 0,5cc CAP, 93-132-5F, Baxter, Unterschleissheim, Deutschland) vorbei, in die Arteria Pulmonalis der Lunge geleitet. Diese Pumpe ermöglichte eine konstante Einstellung des Perfusionsflusses und gleichzeitig die individuelle Anpassung an den Organwiderstand, mit dem Ziel, physiologische Perfusionsdrücke zu erreichen.

Das pulmonalvenöse (arterialisierte) Blut floss über einen in den linken Vorhof eingelegten Katheter in das Blutreservoir zurück. Dazwischen befand sich die pulmonalvenöse Blutentnahme- und Druckmeßstelle. Als Blutreservoir und zur Konstanthaltung des Blutvolumens diente ein Blutbeutel (Leerblutbeutel Biopack Compoplex mit Einstichdorn Art. Nr.P4162, Biotrans GmbH, Dreieich, Deutschland), dessen Gewicht durch Befestigung an einer Hängewaage (Sartorius, Göttingen, Deutschland) kontinuierlich angezeigt wurde. Eine zweite Pumpe (R2) leitete das Blut in das Dialysemodule zurück, mit einem Volumenstrom von 0.5 l/min.

Die Regulation des Hämatokrits und somit des Blutvolumens wurde über die Förderleistung der Rollerpumpen R2 und R3 erreicht, indem dem Blutkreislauf Flüssigkeit entzogen oder zugeführt wurde. Es wurde jedoch nur die Förderleistung

Material und Methoden

der Rollerpumpe R2, die dem Dialysemodul vorgeschaltet war verändert, sodass der Perfusionsfluss der Lunge konstant blieb.

Der Volumenstrom im Dialysatkreislauf wurde mit Hilfe einer weiteren Rollerpumpe (R1) (Multiflow, Typ 10-00-00, Stöckert Instrumente, München, Deutschland) auf 2 l/min eingestellt. Die Temperierung des Kreislaufs wurde mittels eines Wärmeaustauschers realisiert. Mit Hilfe des Gegenstromprinzips wurde das Dialysat erwärmt und die Temperatur von 37,5°C konstant gehalten.

Die Lunge wurde in einem 37,5°C warmen Wasserbad, bestehend aus 0,9%iger Kochsalz-Lösung, aufbewahrt. Das Wasserbad, erwärmt durch einen Heizrührer (GFL- Heizrührer, variable Temperatureinstellung), diente der Warmhaltung des Organs für den Verlauf der Perfusion. Für regelmäßige Gewichtsbestimmungen lag das Organ in einem an einer Waage (Sartorius, Göttingen, Deutschland) befestigten Netz.

Die Lunge wurde während des Versuchsablaufes kontinuierlich beatmet. Die Atemfrequenz wurde für alle Versuche auf 16 min^{-1} bei einem Atemminutenvolumen (AMV) von $7 \pm 0,1 \text{ l/min}$ und auf einen Quotienten Expiration zu Inspiration von 0,33 eingestellt. Beim Start der Perfusion wurde mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration (FiO_2) von zunächst 100% beatmet und anschließend von 21%. Dieser Wert wurde bis zum Ende der Perfusion beibehalten. Der pulmonale endexpiratorische Druck (PEEP) betrug 0,8 kPa. Der Spitzendruck wurde am Beatmungsgerät gemessen kPa.

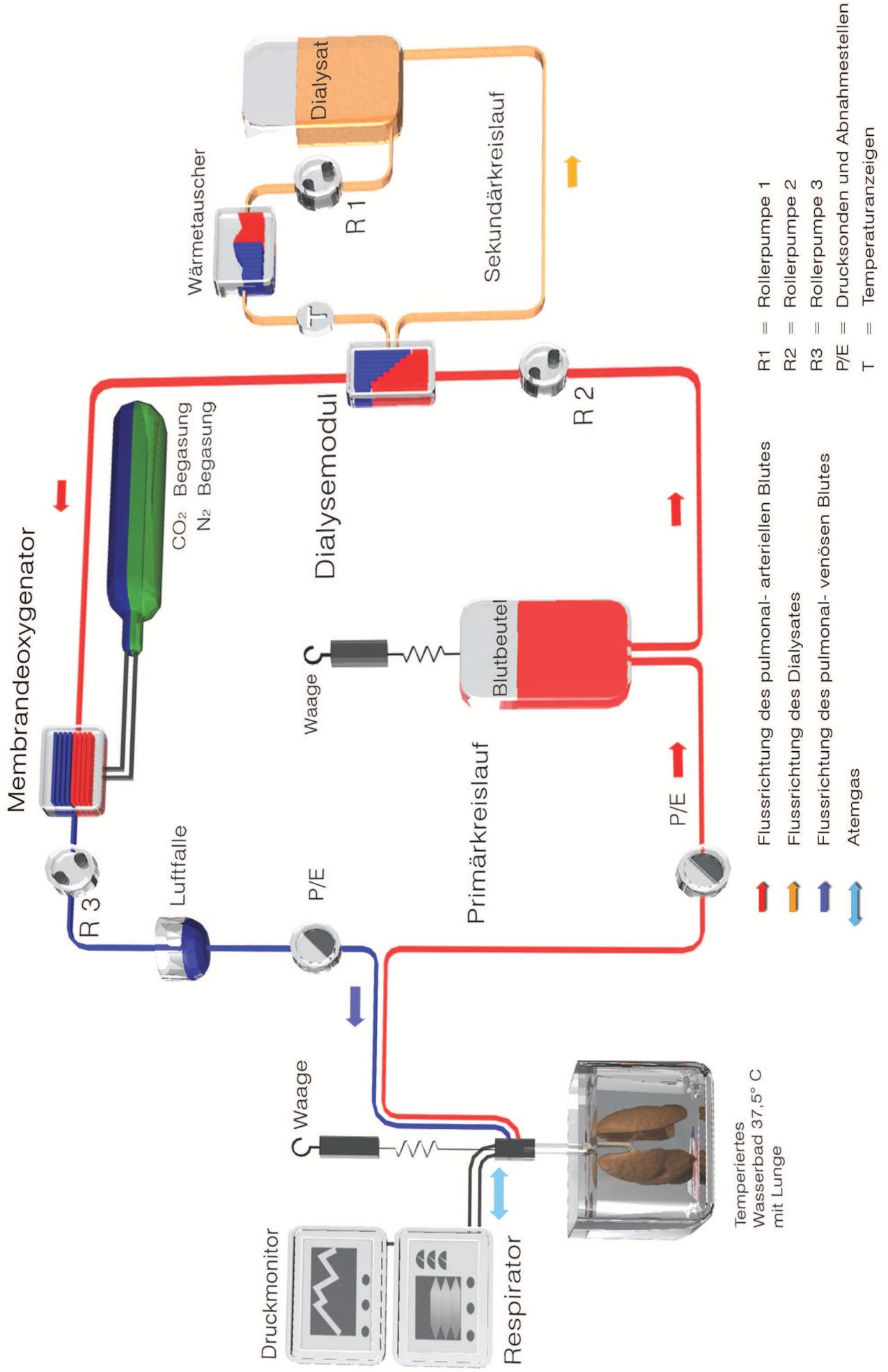


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Perfusionssystems

Das Zentrum der beiden Kreisläufe stellte das Dialysemodul dar. Hier flossen Blut- (rot) und Dialysatkreislauf (gelb) nach dem Gegenstromprinzip aneinander vorbei, zur Dialyse, Erwärmung und Flüssigkeitsaustausch. Von hier aus gelangte das Blut in den Membrandeoxygenator zur Deoxygenierung und Carboxylierung. Das nun pulmonalarterielle (deoxygenierte) Blut (blau) gelangte über eine Luftfalle in die Lunge. Die Lunge befand sich in einer Organkammer, gefüllt mit 37,5°C warmer isotonischer Kochsalzlösung, auf einem Netz liegend zur Gewichtskontrolle. Das aus dem Organ fließende pulmonalvenöse (oxygenierte) Blut (rot) gelangte in ein Blutreservoir. Das Gewicht wurde über eine Hängewaage kontrolliert. Über die Rollerpumpe floss das Blut in das Dialysemodul. Der Lunge sind Blutentnahme- und Druckmessstellen (P/E) vor- und nachgeschaltet. Die Lunge war während des gesamten Versuchsablaufes an ein Beatmungsgerät angeschlossen.

2.5 Vorbereitung des Lungenperfusionsaufbaus

Die Vorbereitung des Lungenperfusionsaufbaus gliedert wie folgt:

- Perfusionsvorbereitung
- Anschluss der Lunge, „warm rinsing“
- Schließen des Kreislaufes, „normotherme Hämoperfusion“

2.5.1 Perfusionsvorbereitung

Der Perfusionsvorbereitung beinhaltet die Befüllung des Perfusionskreislaufes mit heparinisierte 0,9% NaCl-Lösung (20.000 IE Heparin / 1000ml 0,9%NaCl), um eine Gerinnung des später zirkulierenden Blutes zu verhindern und dessen Erwärmung auf 37°C. Der Glaskolben im Dialysatkreislauf wurde mit 3 Litern Dialysat gefüllt.

Anschließend wurden 500ml, im Blutbeutel befindliches, autologes Blut in den Kreislauf gefördert. Dafür wurde der zur zweiten Rollerpumpe (R2) leitende Schlauch an den Ablauf des Blutbeutels angeschlossen und gleichzeitig der pulmonalarterielle Anschluss hergestellt. Das Blut wurde zur Erwärmung durch das Dialysem modul geleitet und vorerst durch den Memrandeoxygenator oxygeniert und der pO₂, pCO₂ und der pH-Gehalt reguliert. Über die Luftfalle wurde die Luftleere im Schlauchsystem gewährleistet.

Gleichzeitig wurde die Lunge für den Anschluss an den Kreislauf vorbereitet. Für die Perfusion wurde die Lunge im linken Herzatrium für den pulmonalarteriellen Abgang des Blutes kanüliert. Die LPD-Konservierungslösung wurde über die Einleitung von 1ltr. isotoner Kochsalzlösung über den Truncus pulmonalis ausgespült.

2.5.2 „Warm rinsing“ und „normotherme Hämoperfusion“

„Warm rinsing“ bezeichnet den pulmonalarteriellen Anschluss des Kreislaufes mit der A. pulmonalis der Lunge und somit den Fluss von Blut in die Lunge. Nachdem die gesamte Menge der isotonen Kochsalzlösung ausgeflossen war und das Blut in

gewünschter Konsistenz nachlief, wurde der Perfusionskreislauf geschlossen. Die Perfusionsdauer wurde auf 135 min. festgesetzt.

2.6 Versuchsablauf

Nachdem die Lunge an den arteriellen Schenkel des Perfusionssystems angeschlossen wurde (Perfusionsbeginn), begann die Hämoperfusion mit einem Fluss von 200 ml/min. Der Pumpenfluss wurde in Schritten von 50 ml/min auf 500 ml/min erhöht. Das Durchflussvolumen orientierte sich an dem pulmonal arteriellen Druck (PAP). Es wurde ein pulmonalarterieller Druck kleiner als 25 mmHg angestrebt.

Im Abstand von jeweils 15 Minuten wurden fortlaufend Messdaten erhoben und je 10 ml arterielles und venöses Blut zur Analyse entnommen. Nach 45 Minuten Anlaufphase mussten die Vorgaben für die eingestellten Parameter erfüllt und gehalten werden. Die „steady state“ Phase begann. Nach 135 Minuten endete die Perfusion.

Tabelle 3: Zeitlicher Ablauf der Lungenperfusion

| | |
|--------------|--|
| 1.–135. min | Messzeitraum: Alle 15 min Analyse der Atem-, Blut-, Kreilauf- und Dialyseparameter, Bestimmung des Lungengewichtes |
| 45.–135. min | Nach 45 min Beginn der „steady-state“ Phase bis zum Versuchsende |

2.7 Messverfahren und Messwerte

2.7.1 Messzeitpunkte

Nachdem der Versuchskreislauf geschlossen wurde, erfolgte die Erhebung des ersten kompletten Datensatzes der Messwerte nach 15 Minuten. Das geschah fortlaufend alle 15 Minuten bis zum Perfusionsende nach 135 Minuten.

Ziel war es, nach 45 Minuten der Perfusion, für die eingestellten Werte, Wertebereiche zu erreichen und zu erhalten die im Vorfeld erarbeitet worden sind. Diese orientieren sich an der Physiologie des Menschen.

2.7.2 Probenentnahme

Zu jedem Messzeitpunkt wurde eine Probe des arteriellen und des venösen Blutes entnommen. Es wurde eine Blutgasanalyse durchgeführt (BGA-Messgerät, Radiometer Copenhagen ABL5 und Radiometer Copenhagen OSM 3, Dänemark). Zu den Zeitpunkten nach 15, 90 und 135 Minuten der Perfusion wurde zusätzlich vom entnommenen arteriellen und venösen Blut, Plasma gewonnen. Dies geschah durch 10-minütige Zentrifugation bei 3000U/min von jeweils 2ml Vollblut und der Abpipettierung des Überstandes. Vom gewonnenen Plasma wurden die Endothelin Messungen durchgeführt.

2.7.3 Pulmonalarterielle Blutparameter

Auf der pulmonalarteriellen Blutseite wurden folgende Werte eingestellt: ein pH-Wert von $7,3 \pm 0,02$, eine Hämoglobinkonzentration tHb von $10 \pm 0,2$ g/L, ein Sauerstoffpartialdruck pO₂ von $53 \pm 0,9$ mm Hg, eine Sauerstoffsättigung sO₂ von $76 \pm 1,4$ % und ein Kohlendioxidpartialdruck pCO₂ von $60 \pm 4,2$ mmHg, eine Natriumionenkonzentration von $144 \pm 0,5$ mmol/L, eine Kaliumionenkonzentration von $4,15 \pm 0,1$ mmol/L und eine Kalziumionenkonzentration von $1,09 \pm 0,1$ mmol/L.

2.7.4 Atemmechanik

Alle Lungen wurden mit einem FiO_2 von 21%, einer Inspirationsdauer von 33% und einem PEEP von 8 mbar beatmet. Die Atemfrequenz wurde mit 16 Atemhüben pro Minute auf ein mittleres Atemminutenvolumen (AMV) von $7 \pm 0,2$ L/min eingestellt.

2.7.4 Messwerte

Die Hämodynamik gliederte sich in

- Blutfluss
- Pulmonal arterieller Druck
- Pulmonal vaskulärer Widerstand
- Pulmonal arterieller Widerstand
- Pulmonal venöser Widerstand

Blutfluss (Q)

Der Blutfluß wurde während der ersten 45 Minuten der Perfusion, unter Vorgabe eines PAP von 25 mm Hg nicht zu überschreiten, auf maximale Flüsse alternierend erhöht. Der Blutfluß entsprach dem von den Pumpen erzeugten Fluss im Perfusionsaufbau $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$.

Drücke

Der pulmonal arterielle Druck (PAP), der pulmonal venöse Blutdruck (PVP) und der kapilläre Verschlussdruck (PCP) mmHg wurden über ein Druckmodul auf dem Monitor angezeigt (Druckmodul 1006BT für den Monitor Hewlett-Packard, Model 66S, Houston, California, USA). Der pulmonal arterielle und der pulmonal venöse Perfusionswiderstand wurden unter Zuhilfenahme des PAP, PVP, PCP und Q

Material und Methoden

berechnet. Die Einheiten befanden sich in der Dimension $[\text{mm Hg} * \text{min} * \text{ml}^{-1}] = [\text{mm Hg}] / [\text{ml} * \text{min}^{-1}]$.

Nach Erhebung aller Daten wurde der kapilläre Verschlussdruck (PCP) nach Townsley et al., (1986) bestimmt. Dafür wurde der pulmonalarterielle und pulmonalvenöse Anschluß abgeklemmt, unter kurzfristiger Abschaltung der Pumpen. Der PAP und der PVP equilibrierten sich nach Sekunden. Der ergobene Wert entsprach dem PCP. Der PCP wurde bei den In vivo Versuchen nicht ermittelt.

Atemmechanik

Folgende Parameter für die Atemmechanik wurden bestimmt:

- Spitzendruck
- Compliance
- Resistance

Der Spitzendruck (PIP) mbar, die Resistance (R) mbar/ml und die Compliance (C) ml/mbar wurden am Beatmungsgerät angezeigt (Servo 900D, Siemens, München, Deutschland). In der In vivo- Gruppe wurden die R und C am intrakorporal liegenden Organ gemessen. Eine Vergleichbarkeit mit der R und C der ILP-Gruppen war somit nicht möglich, denn diese wurde zwar am intakten Organ, aber extrakorporal gemessen.

Gaswechselleistung

Folgende Parameter für die Gaswechselleistung wurden bestimmt:

- Pulmonal arterielle/ venöse Sauerstoffsättigung
- Pulmonal arterielle/ venöse Sauerstoffpartialdruck
- Pulmonal arterielle/ venöse Kohlendioxidpartialdruck

Die O₂-Sättigung pulmonal arteriell (Pa_SO₂) und venös (Pv_SO₂) %, der pulmonal arterielle (Pa_PO₂) und venöse (Pv_PO₂) Sauerstoffpartialdruck mmHg und der pulmonal arterielle (Pa_PCO₂) und venöse (Pv_PCO₂) Kohlendioxidpartialdruck mmHg wurden durch die Blutgasanalyse bestimmt.

Material und Methoden

Lungengewichtszunahme

Die relative Gewichtszunahme (LGrel) errechnete sich aus der Differenz des Perfusions-Lungengewichtes (LGperf) und dem Nativgewicht (LGnat), in Relation zum Nativgewicht (LGnat).

Deoxygenierung

Ein Flussmesser zeigte die zugeführte Menge Stickstoff bzw. Kohlendioxid an. Um pulmonal- arteriell einen Sauerstoffpartialdruck zwischen 5,4 und 6,8 kPa und eine Sauerstoffsättigung von 70% zu erreichen, musste im Mittel ein N₂ Fluss von 450 ml/min, variierend zwischen 200 und 800 ml/min, eingestellt sein.

Parameter

Die gemessenen Parameter und die berechneten Parameter werden in Tabelle 4 und 5 aufgeführt.

Tabelle 4: Gemessene Parameter, Abkürzungen und Maßeinheiten

| Parameter | Abkürzung | Maßeinheit |
|--|------------------|-------------------|
| Blutfluß | Q | ml/min |
| Lungengewicht nativ | LGnat | gr |
| Lungengewicht perfusion | LGperf | gr |
| Sauerstoffgehalt der Atemluft | FiO2 | % |
| Atemmechanik | | |
| Atemzugvolumen | AZV | ltr |
| Positiver endexpiratorischer Druck | PEEP | mbar |
| Resistance | R | mbar/ml |
| Compliance | C | ml/mbar |
| Spitzendruck | PIP | mbar |
| Blutgase | | |
| Pulmonalvenöser Sauerstoffpartialdruck | Pv_pO2 | mmHg |
| Pulmonalvenöser Kohlendioxidpartialdruck | Pv_pCO2 | mmHg |
| Pulmonalvenöse Sauerstoffsättigung | Pv_SO2 | % |
| Pulmonalarterieller Sauerstoffpartialdruck | Pa_pO2 | mmHg |
| Pulmonalarterieller Kohlendioxidpartialdruck | Pa_pCO2 | mmHg |
| Pulmonalarterielle Sauerstoffsättigung | Pa_SO2 | % |
| Hämodynamik | | |
| Arterieller Blutdruck | PAP (P_art) | mmHg |
| Venöser Blutdruck | PVP (P_ven) | mmHg |
| Kapillärer Verschlussdruck | PCP | mmHg |
| Mediatoren | | |
| Endothelin-1 | ET-1 | fmol/ml |
| Lungengewicht nativ | LGnat | gr |
| Lungengewicht perfundiert | LGperf | gr |

Tabelle 5: Berechnete Parameter, Abkürzungen und Formeln

| Parameter | Abkürzung | Formel | Maßeinheit |
|---|-----------|------------------------------|---------------|
| Gesamtwiderstand (pulmonal vaskulärer Widerstand) | PVR | $PAP - PVP / Q$ | mmHg*min / ml |
| Pulmonal arterieller Widerstand | R_art | $PAP - PCP / Q$ | mmHg*min / ml |
| Pulmonal venöser Widerstand | R_ven | $PVP - PCP / Q$ | mmHg*min / ml |
| Relative Gewichtszunahme | LGrel | $(LGperf - LGnat) / LGnat$ | |

2.8 Eingesetzte Substanzen

2.8.1 Dialysat

Die Zusammensetzung der Dialysatlösung sollte eine möglichst physiologische Zusammensetzung der Elektrolyte, des Säure-Basen-Verhältnisses und der Blutgase im Perfusionsmedium bewirken. Das Dialysat wurde nach Rezepturen von Baeyer hergestellt (von Baeyer et al., 1997).

Das eingesetzte Dialysat setzte sich aus den Bestandteilen zusammen, die in der folgenden Tabelle (Tab. 6) genannt sind. Die Lösung wurde vor jedem Versuch frisch angesetzt und nur kurzfristig im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

Tabelle 6: Zusammensetzung der Dialysatlösung

| Substanz | Konzentration |
|---|----------------------|
| Na ⁺ | 130, 5 mmol/l |
| K ⁺ | 4 mmol/l |
| Mg ²⁺ | 1 mmol/l |
| Cl ⁻ | 115 mmol/l |
| Ca ²⁺ | 1, 5 mmol/l |
| H ₂ PO ₄ ⁻ | 0, 5 mmol/l |
| HCO ₃ | 20 mmol/l |
| Glucose | 8% |
| Harnstoff | 60 mmol/l |
| Kreatinin | 113 mmol/l |

2.8.2 Blutgerinnungshemmer Heparin

Der eingesetzte Blutgerinnungshemmer Heparin (Liquemin N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) wurde in Form einer handelsüblichen Injektionslösung angewendet. Eine Ampulle enthielt in 5 ml wässriger Suspension 25.000 I.E. Heparin-Natrium sowie 50 mg Benzylalkohol als antimikrobielles Konservierungsmittel. Vor der normothermen Hämoperfusion wurden dem autologen Blut 20.000 I.E. Heparin-Natrium/Liter zugefügt.

2.8.3 Kochsalz-Lösung

Zur Vorbereitung des Blutkreislaufes wurde eine handelsübliche 0,9 %ige Natriumchlorid-Lösung (Ringer-Lactat-Lösung nach DAB 7, Delta-Pharme GmbH, Pfullingen, Deutschland) verwendet.

2.8.4 Konservierungslösung LPD (Perfadex)

Mit einer LPD „low potassium dextran“-Lösung (Tabelle 7) wurde die Lunge konserviert. Perfadexarder (Vitrolife, Uppsala, Schweden) ist der Produktname einer Lösung mit reduziertem Kaliumgehalt und einem Dextranbestandteil, die in Anlehnung an LPD hergestellt wurde.

Tabelle 7: Zusammensetzung der Konservierungslösung

| Substanz | Konzentration |
|---|---------------|
| Na ⁺ | 138 mmol/l |
| K ⁺ | 6 mmol/l |
| Mg ²⁺ | 0,8 mmol/l |
| Cl ⁻ | 142 mmol/l |
| SO ₄ ²⁻ | 0,8 mmol/l |
| HPO ₄ ²⁻ | 0,3 mmol/l |
| H ₂ PO ₄ ⁻ | 0,5 mmol/l |
| Dextran | 5 % |
| Glucose | 0,9 % |

2.9 Enzyme-linked-Immumosorbent-Assay (ELISA) für Endothelin-1

Die Endothelin-1 (ET-1) Konzentration wird im EDTA-Plasma bestimmt (Enzymimmunoassay, Biomedica Gruppe, Biomedica GmbH, Wien, Österreich).

Der für ET-1 spezifische Sandwich ELISA verwendete einen auf Mikrotiterplatten beschichteten immunaffinitätschromatographisch gereinigten polyklonalen Erstantikörper. Ein für ET-1 hochspezifischer monoklonaler Detektionsantikörper wurde gleichzeitig mit der EDTA-Plasma-Probe zugegeben und es bildete sich mit dem in der Probe vorhandenen ET-1 und dem gebundenen Erstantikörper einen Sandwich. Nach einem Waschschrift, der alle nicht spezifisch gebundenen

Substanzen entfernte, wurde die Menge an gebundenen monoklonalen Antikörper bestimmt. Sie entsprach der Menge an in der Probe vorhandenem ET-1. In diesem Schritt wurde ein mit Peroxidase konjugierter anti-Maus Antikörper eingesetzt. Nach abermaligen waschen wurde Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat zugegeben. Die in einem ELISA-Photometer messbare Farbentwicklung war direkt proportional der Konzentration an ET-1 in der Probe.

2.10 Datenanalyse

Es wurden ausschließlich nichtparametrische statistische Tests in der Arbeit verwendet. Für den Vergleich unverbundener Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test, für den Vergleich verbundener Stichproben der Wilcoxon-Test gewählt.

Sämtliche Messdaten wurden als Mittelwerte mit ihrer Standardabweichung [in eckigen Klammern] angegeben. Die Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit p erfolgte nach dem allgemein üblichen Modus (Tab. 8).

Tabelle 8: Irrtumswahrscheinlichkeit p

| Irrtumswahrscheinlichkeit | Bedeutung | Symbol |
|----------------------------------|-------------------|---------------|
| $p > 0,05$ | nicht signifikant | n.s. |
| $p \leq 0,05$ | signifikant | * |
| $p \leq 0,01$ | sehr signifikant | ** |
| $p \leq 0,001$ | hoch signifikant | *** |

3. Ergebnisse

3.1 Funktionelle Parameter

3.1.1 Hämodynamik

3.1.1.1 Blutfluss

Der In vivo Blutfluss (Q) beträgt $3829,17 \pm 454,24$ ml/min. Der Ex vivo OP Blutfluss liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $138,33 \pm 22,42$, nach 90 Minuten bei $226,66 \pm 45,36$ und nach 135 Minuten bei $172,5 \pm 10,31$ ml/min. Der Blutfluss in der Ex vivo- Gruppe liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $293,08 \pm 34,31$, nach 90 Minuten bei $453,85 \pm 31,76$ und nach 135 Minuten bei $453,85 \pm 31,76$ ml/min.

Der Blutfluss ist in den Vergleichsgruppen deutlich (signifikant) niedriger als der In vivo- Gruppe. Zudem ist der Blutfluss zu jedem Kontrollzeitpunkt in der Ex vivo- Gruppe signifikant höher als in der Ex vivo OP- Gruppe. Der Blutfluss steigt in den Ex vivo- Gruppen zwischen der 15ten zur 90ten Minute, bleibt jedoch im weiteren Verlauf nur in der Ex vivo- Gruppe stabil.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,005). Im Vergleich der Gruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 15, 90 & 135 min.= 0,000; In vivo vs. Ex vivo 15, 90 & 135 min.= 0,000; Ex vivo OP 15 min. vs. Ex vivo 15 min.= 0,003; Ex vivo OP 90 min. vs. Ex vivo 90 min.= 0,003, Ex vivo OP 135 min. vs. Ex vivo 135 min.= 0,01).

Ergebnisse

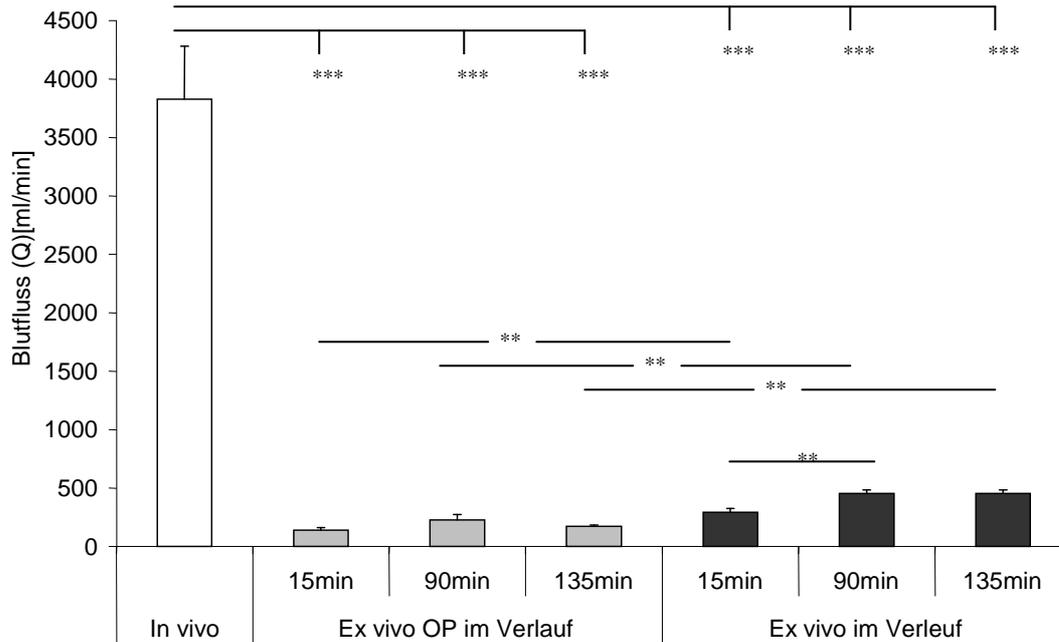


Abbildung 2: Blutfluss (Q). Zwei Sterne „**“ bezeichnen ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „***“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.1.2 Pulmonal arterieller Druck

Der In vivo pulmonal arterielle Druck (PAP) beträgt $25,75 \pm 2,95$ mmHg. Der Ex vivo OP PAP liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $24 \pm 1,57$, nach 90 Minuten bei $26,17 \pm 3,35$ und nach 135 Minuten bei $24,5 \pm 1,71$ mmHg. Der PAP in der Ex vivo- Gruppe liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $20,62 \pm 1,02$, nach 90 Minuten bei $23,31 \pm 1,38$ und nach 135 Minuten bei $24,38 \pm 2,23$ mmHg.

In beiden Vergleichsgruppen sind während der Hämoperfusion PAP-Werte um 25 mmHg zu festzustellen.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,036).

Ergebnisse

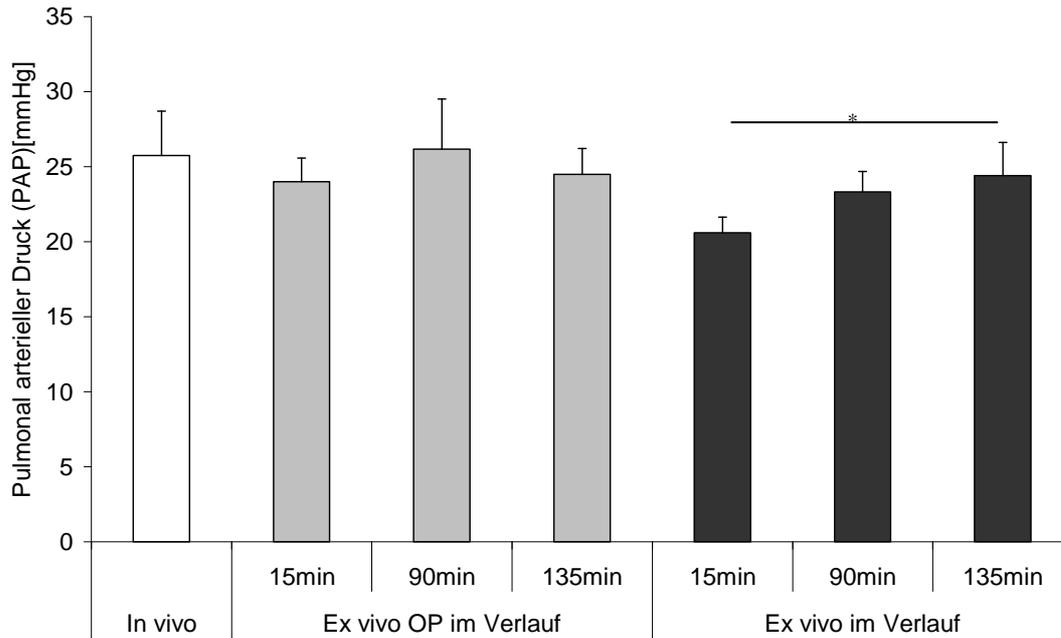


Abbildung 3: Pulmonal arterieller Druck (PAP). Ein Stern „ * “ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$.

3.1.1.3 Pulmonal vaskulärer Widerstand

Der In vivo pulmonal vaskuläre Widerstand (PVR) beträgt $0,52 \pm 0,11$ mmHg * min / ml. Der Ex vivo OP PVR liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $15,01 \pm 4,32$, nach 90 Minuten bei $9,61 \pm 1,64$ und nach 135 Minuten bei $35,33 \pm 24,3$ mmHg * min / ml. Der PVR in der Ex vivo- Gruppe liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $5,98 \pm 1,36$, nach 90 Minuten bei $4,35 \pm 0,76$ und nach 135 Minuten bei $4,65 \pm 0,65$ mmHg * min / ml.

Der PVR ist in der In vivo- Gruppe signifikant niedriger als in den Vergleichsgruppen. Zudem ist der PVR der Ex vivo OP- im Vergleich mit der Ex vivo- Gruppe zu jedem Abnahmezeitpunkt stets signifikant höher. Der PVR verändert sich während des Versuchsverlaufs in den Vergleichsgruppen nicht.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Im Vergleich der Gruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 15, 95 & 135 min.= 0,000; In vivo vs. Ex vivo 15, 90 & 135 min.= 0,000; Ex vivo 15 min. vs. Ex vivo OP

Ergebnisse

15 min.= 0,001; Ex vivo 90 min. vs. Ex vivo OP 90 min.= 0,001; Ex vivo 135 min. vs. Ex vivo OP 135 min.= 0,002).

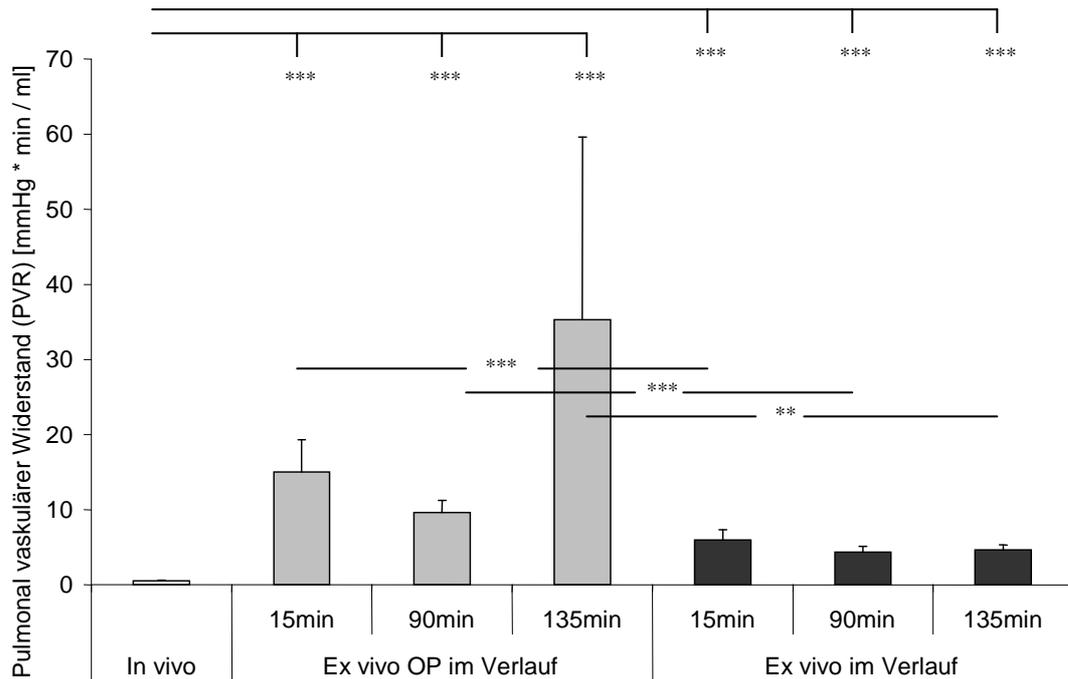


Abbildung 4: Pulmonal vaskulärer Widerstandes (PVR). Zwei Sterne „ ** “ bezeichnen ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „ *** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.1.4 Pulmonal arterieller Widerstand

Der Ex vivo OP pulmonal arterielle Widerstand (R_{art}) liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $35,27 \pm 11,36$, nach 90 Minuten bei $11,64 \pm 6,58$ und nach 135 Minuten bei $74,56 \pm 61,66$ mmHg * min / ml. Der Ex vivo R_{art} liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $21,19 \pm 6,32$, nach 90 Minuten bei $13,64 \pm 3,14$ und nach 135 Minuten bei $12,78 \pm 3,54$ mmHg * min / ml.

Der R_{art} nimmt im Ex vivo OP Versuchsverlauf von der 15ten zur 90ten Minute ab und im weiteren Verlauf bis zum Versuchsende nicht signifikant zu. In der Ex vivo-Gruppe nimmt der R_{art} von 15ten zur 135ten Minute signifikant ab.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo OP 15 min. – 90 min.= 0,043; Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,008).

Ergebnisse

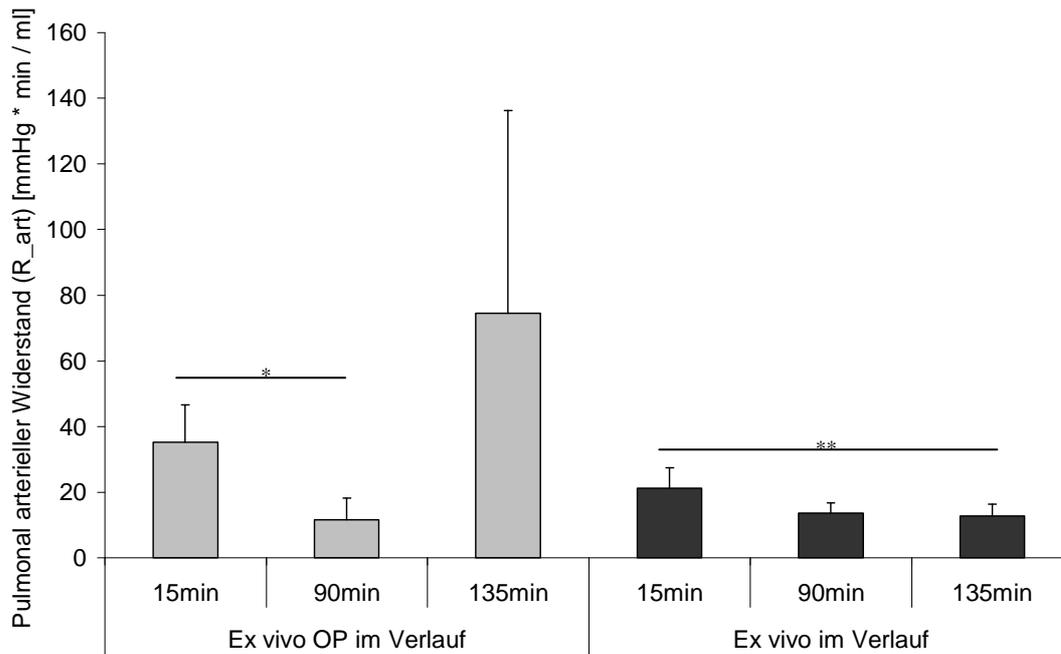


Abbildung 5: Pulmonal arterieller Widerstand (R_art). Ein Stern „ * “ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Zwei Sterne „ ** “ bezeichnen ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$.

3.1.1.5 Pulmonal venöser Widerstand

Der Ex vivo OP pulmonal venöse Widerstand (R_ven) liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $31,7 \pm 17,49$, nach 90 Minuten bei $37,3 \pm 10,68$ und nach 135 Minuten bei $136,76 \pm 89,92$ mmHg * min / ml. Der Ex vivo R_ven liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $24,02 \pm 7,34$, nach 90 Minuten bei $22,83 \pm 6,73$ und nach 135 Minuten bei $25,26 \pm 5,41$ mmHg * min / ml.

Der Ex vivo OP R_ven zeigt im Verlauf keine Veränderung bis zur 90ten Minute mit anschließendem nicht signifikanten Anstieg. Im Ex vivo Versuchsverlauf zeigt sich keine signifikante Veränderung.

Ergebnisse

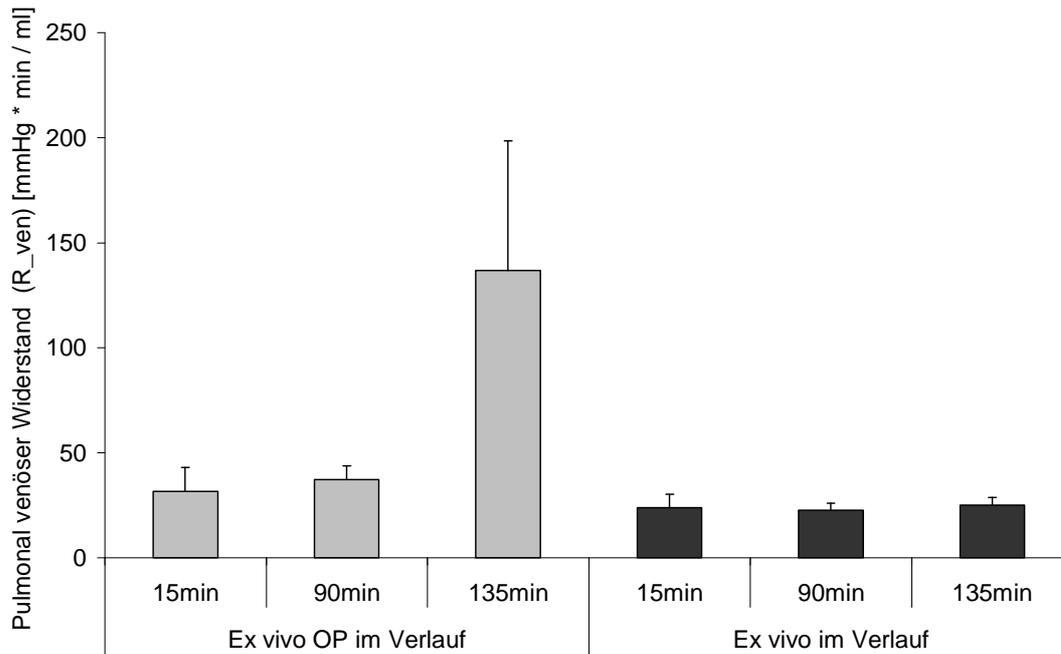


Abbildung 6: Pulmonal venöser Widerstand (R_{ven}).

3.1.2 Gaswechselleistung

3.1.2.1 Pulmonal arterielle Sauerstoffsättigung

Die In vivo pulmonal arterielle Sauerstoffsättigung (Pa_{SO₂}) beträgt $58,78 \pm 4,53$ %. Die Ex vivo OP Pa_{SO₂} liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $68,98 \pm 11,66$, nach 90 Minuten bei $71,27 \pm 4,55$ und nach 135 Minuten bei $52,28 \pm 8,98$ %. Die Ex vivo Pa_{SO₂} liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $83,76 \pm 3,15$, nach 90 Minuten bei $71,77 \pm 2,87$ und nach 135 Minuten bei $66,28 \pm 2,62$ %.

Die Ex vivo OP Pa_{SO₂} weist im Versuchsverlauf im Vergleich mit der In vivo Pa_{SO₂} keine signifikanten Unterschiede auf. Die Ex vivo Pa_{SO₂} ist zur 15ten und 90ten Minute signifikant höher als die In vivo Pa_{SO₂}. Die Ex vivo OP und Ex vivo Pa_{SO₂} nimmt in beiden Versuchsverläufen ab, signifikant jedoch nur in der Ex vivo-Gruppe. Am Ende der Ex vivo OP und Ex vivo Versuchsverläufen gleicht sich die Pa_{SO₂} die der In vivo Lungen an.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,011, Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,002). Im Vergleich der Gruppen miteinander (Mann-

Ergebnisse

Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo 15 min.= 0,000, In vivo vs. Ex vivo 90 min.= 0,019).

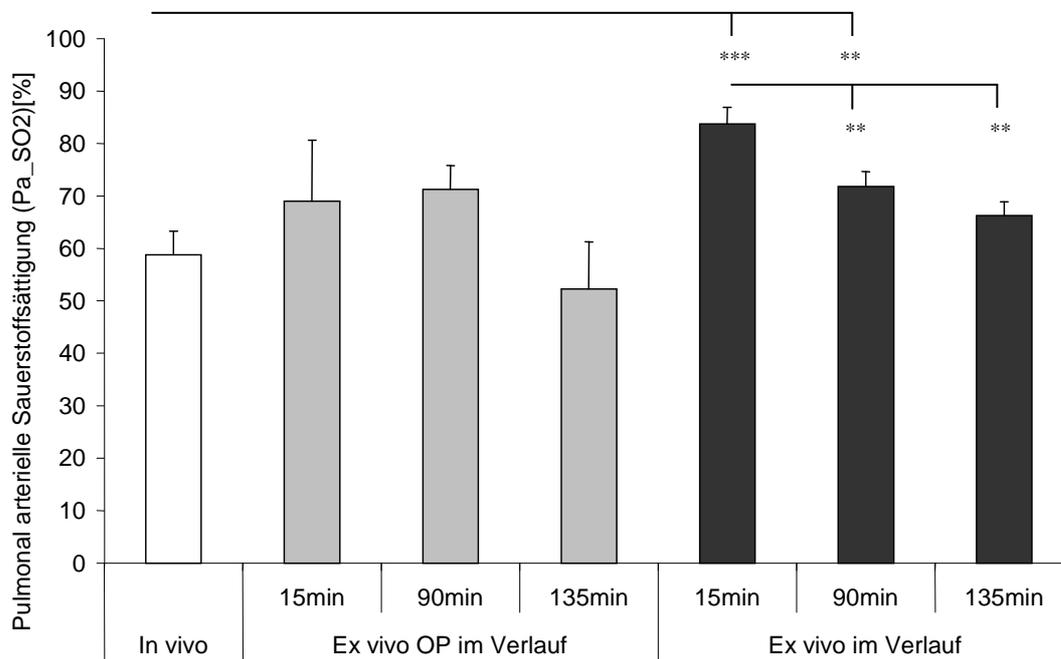


Abbildung 7: Pulmonal arterielle Sauerstoffsättigung (Pa_SO2). Zwei Sterne „ ** “ bezeichnen ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „ *** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.2.2 Pulmonal venöse Sauerstoffsättigung

Die In vivo pulmonal venöse Sauerstoffsättigung (Pv_SO2) beträgt $99,08 \pm 1,29$ %. Die Ex vivo OP Pv_SO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $87,27 \pm 9,87$, nach 90 Minuten $96,28 \pm 3,56$ und nach 135 Minuten $89,18 \pm 3,82$ %. Die Ex vivo Pv_SO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $98,02 \pm 1,06$, nach 90 Minuten bei $88,72 \pm 2,73$ und nach 135 Minuten bei $83,79 \pm 3,64$ %.

Die Ex vivo OP Pv_SO2 im Versuchsverlauf sowie im Vergleich mit der In vivo Pv_SO2 weist keine signifikanten Unterschiede auf. Die Ex vivo Pv_SO2 nimmt im Versuchsverlauf signifikant ab und ist im Vergleich mit der In vivo Pv_SO2 zur 90ten und 135ten Minute signifikant niedriger.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,002, Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,001). Im Vergleich der Gruppen miteinander (Mann-

Ergebnisse

Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo 90 min.= 0,001, In vivo vs. Ex vivo 135 min.= 0,000).

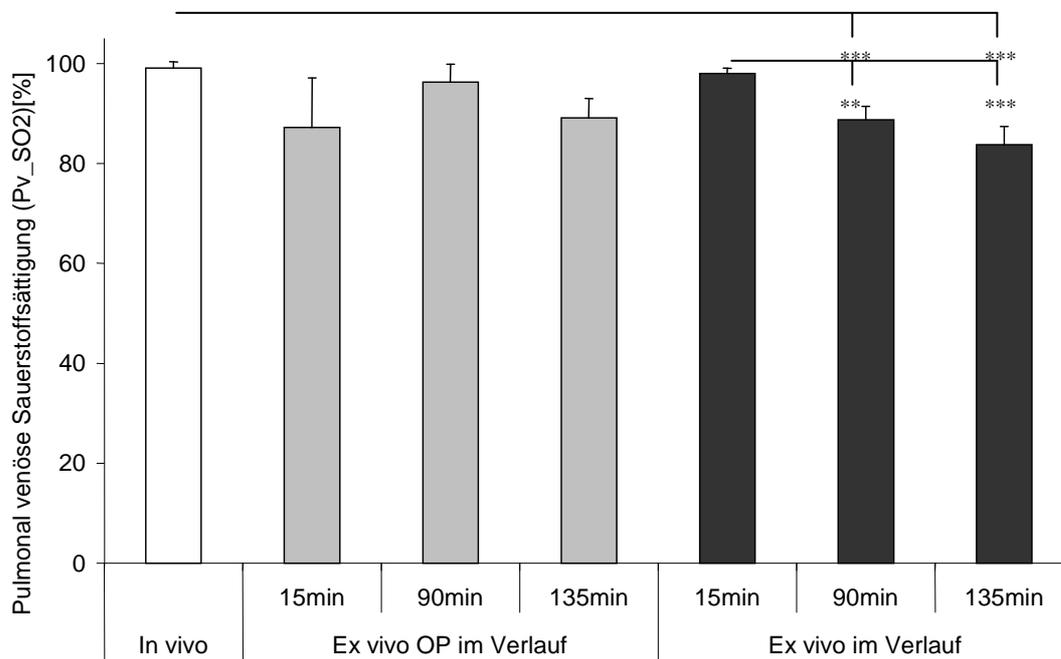


Abbildung 8: Pulmonal venöse Sauerstoffsättigung (Pv_SO2). Zwei Sterne „**“ bezeichnen ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „***“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.2.3 Pulmonal arterieller Sauerstoffpartialdruck

Der In vivo pulmonal arterielle Sauerstoffpartialdruck (Pa_PO2) beträgt $40,17 \pm 1,44$ mmHg. Der Ex vivo OP Pa_PO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $188,65 \pm 89,32$, nach 90 Minuten bei $48 \pm 4,55$ und nach 135 Minuten bei $39,18 \pm 5,86$ mmHg. Der Ex vivo Pa_PO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $89,84 \pm 33,03$, nach 90 Minuten bei $56,75 \pm 6,94$ und nach 135 Minuten bei $46,39 \pm 1,64$ mmHg.

Der Pa_PO2 fällt kontinuierlich im Ex vivo OP sowie im Ex vivo Versuchsverlauf, signifikant jedoch nur im Ex vivo Versuchsverlauf. Die Ex vivo OP Pa_PO2 ist zur 15ten und zur 90ten Minute signifikant höher als die In vivo Pa_PO2. Die Ex vivo Pa_PO2 ist bei jedem Kontrollzeitpunkt signifikant höher als die In vivo Pa_PO2

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 90 min. – 135 min.= 0,028,

Ergebnisse

Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,009). Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 15 min.= 0,007, In vivo vs. Ex vivo OP 90 min.= 0,005, In vivo vs. Ex vivo 15 min.= 0,000, In vivo vs. Ex vivo 90 min.= 0,002, In vivo vs. Ex vivo 135 min.= 0,008).

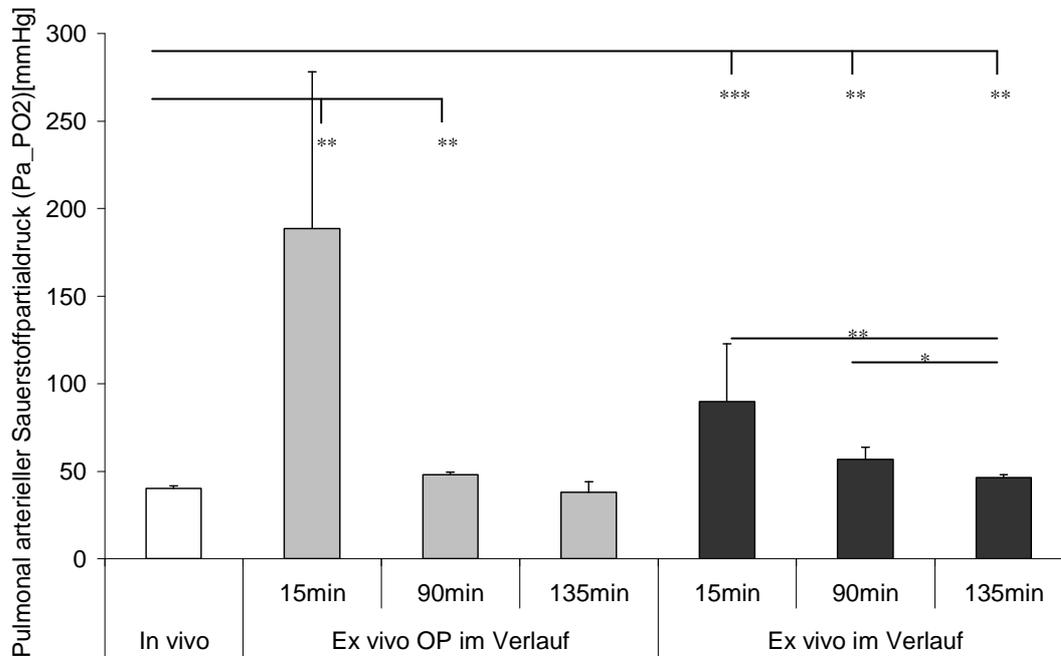


Abbildung 9: Pulmonal arterieller Sauerstoffpartialdruck (Pa_PO2). Ein Stern „ * “ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „ ** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „ *** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.2.4 Pulmonal venöser Sauerstoffpartialdruck

Der In vivo pulmonal venöse Sauerstoffpartialdruck (Pv_PO2) beträgt $135,07 \pm 10,24$ mmHg. Der Ex vivo OP Pv_PO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $154,48 \pm 53,41$, nach 90 Minuten bei $101,47 \pm 17,36$ und nach 135 Minuten bei $50,45 \pm 3,66$ mmHg. Der Pv_PO2 in der Ex vivo Gruppe liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $283,94 \pm 52,19$, nach 90 Minuten bei $68,43 \pm 5,27$ und nach 135 Minuten bei $56,85 \pm 3,19$ mmHg.

Der Pv_PO2 fällt kontinuierlich im Ex vivo OP sowie im Ex vivo Versuchsverlauf, signifikant jedoch nur im Ex vivo Versuchsverlauf. Die Ex vivo OP Pv_PO2 ist im Vergleich zur In vivo Pv_PO2 anfänglich höher (nicht signifikant), fällt im

Ergebnisse

Versuchsverlauf kontinuierlich und ist in der 135ten Minute signifikant niedriger. Ein ähnliches Bild zeigt sich im Ex vivo Versuchsverlauf. Die anfängliche Ex vivo Pv_PO2 ist signifikant höher als die In vivo Pv-PO2, fällt kontinuierlich und ist nach 90 und 135 Minuten signifikant niedriger.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,009; Ex vivo 90 min. – 135 min.= 0,028). Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 135 min.= 0,001; In vivo vs. Ex vivo 15, 90 & 135 min.= 0,000).

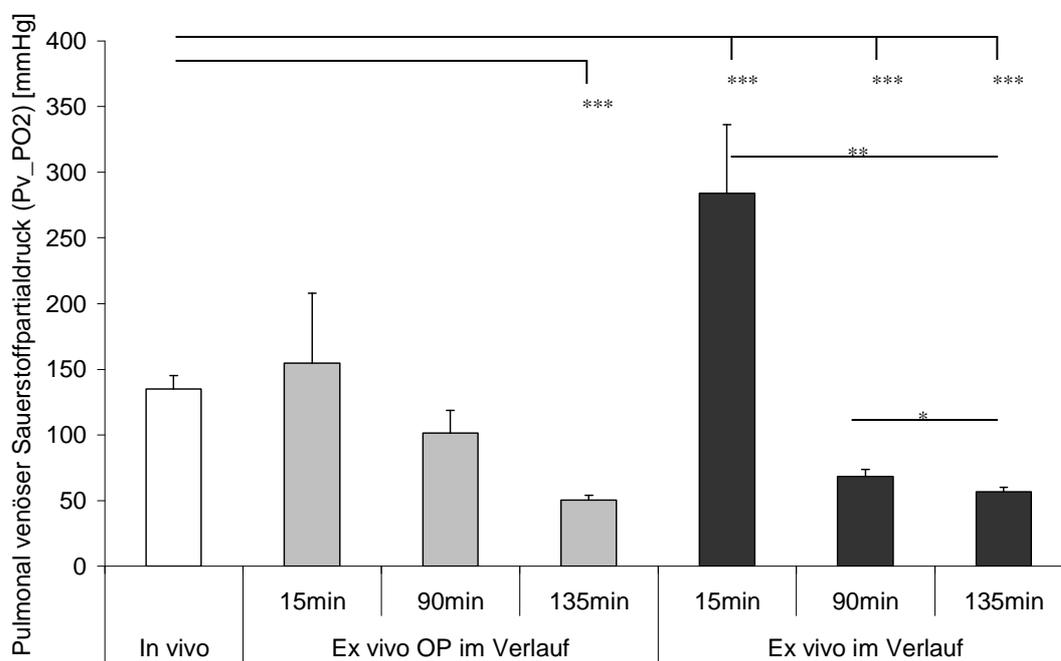


Abbildung 10: Pulmonal venöser Sauerstoffpartialdruck (Pv_PO2). Ein Stern „ * “ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „ ** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „ *** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.2.5 Pulmonal arterieller Kohlendioxidpartialdruck

Der In vivo pulmonal arterielle Kohlendioxidpartialdruck (Pa_PCO2) beträgt $64,78 \pm 5,7$ mmHg. Der Ex vivo OP Pa_PCO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $105,12 \pm 19,93$, nach 90 Minuten bei $67,68 \pm 13,94$ und nach 135 Minuten bei $73,83 \pm 9,25$ mmHg. Der Ex vivo Pa_PCO2 liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei

Ergebnisse

35,63 ± 6,74, nach 90 Minuten bei 43,38 ± 3,99 und nach 135 Minuten bei 43,98 ± 3,9 mmHg.

Der Ex vivo OP Pa_{PCO2} ist im Versuchsverlauf anfänglich signifikant höher als der In vivo Pa_{PCO2}, gleicht sich jedoch im weiteren Verlauf der In vivo Pa_{PCO2} an. Der Ex vivo Pa_{PCO2} bleibt stabil im gesamten Versuchsverlauf, jeweils signifikant niedriger als der In vivo Pa_{PCO2}. Der Ex vivo OP Pa_{PCO2} ist im gesamtem Versuchsverlauf höher als der Ex vivo Pa_{PCO2}, signifikant in der 15ten und 135ten Minute.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 15 min.= 0,032; In vivo vs. Ex vivo 15 min.= 0,003; In vivo vs. Ex vivo 90 min.= 0,010; In vivo vs. Ex vivo 135 min.= 0,008; Ex vivo OP 15 min. vs. Ex vivo 15 min.= 0,015; Ex vivo OP 135 min. vs. Ex vivo 135 min.= 0,015).

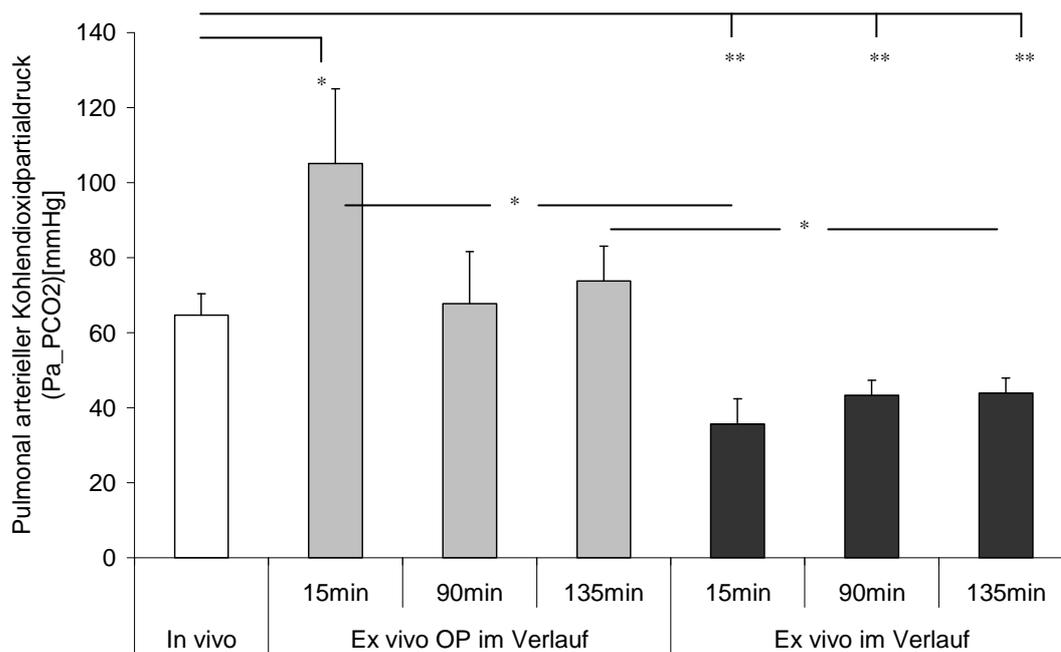


Abbildung 11: Pulmonal arterieller Kohlendioxidpartialdruck (Pa_{PCO2}). Ein Stern „*“ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „**“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$.

Ergebnisse

3.1.2.6 Pulmonal venöser Kohlendioxidpartialdruck

Der In vivo pulmonal venöse Kohlendioxidpartialdruck (Pv_PCO₂) beträgt $53,41 \pm 3,97$ mmHg. Der Ex vivo OP Pv_PCO₂ liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $47,45 \pm 8,29$, nach 90 Minuten bei $28,88 \pm 6,89$ und nach 135 Minuten bei $30,07 \pm 4,69$ mmHg. Der Ex vivo Pv_PCO₂ liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $20,22 \pm 3,18$, nach 90 Minuten bei $23,66 \pm 2,4$ und nach 135 Minuten bei $24,00 \pm 2,31$ mmHg.

Der Ex vivo OP Pv_PCO₂ ist im Vergleich mit dem In vivo Pv_PCO₂ im Versuchsverlauf anfänglich auf gleichen Niveau, fällt jedoch im weiteren Verlauf und ist zur 90ten und 135ten Minute signifikant niedriger als der In vivo Pv-PCO₂. Der Ex vivo Pv_PCO₂ bleibt stabil im Versuchsverlauf und ist immer signifikant niedriger als der In vivo Pv_PCO₂. Der Ex vivo OP Pv_PCO₂ ist signifikant größer nur in der 15 Minute des Versuchsverlaufes als der Ex vivo Pv_PCO₂, nach 90 und 135 Minuten weisen die erhobenen Werte keine signifikanten Unterschiede mehr auf.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 90 min.= 0,018 und In vivo vs. Ex vivo OP 135 min.= 0,008), (In vivo vs. Ex vivo 15/90/135 min.= 0,000), (Ex vivo OP vs. Ex vivo 15 min.= 0,005).

Ergebnisse

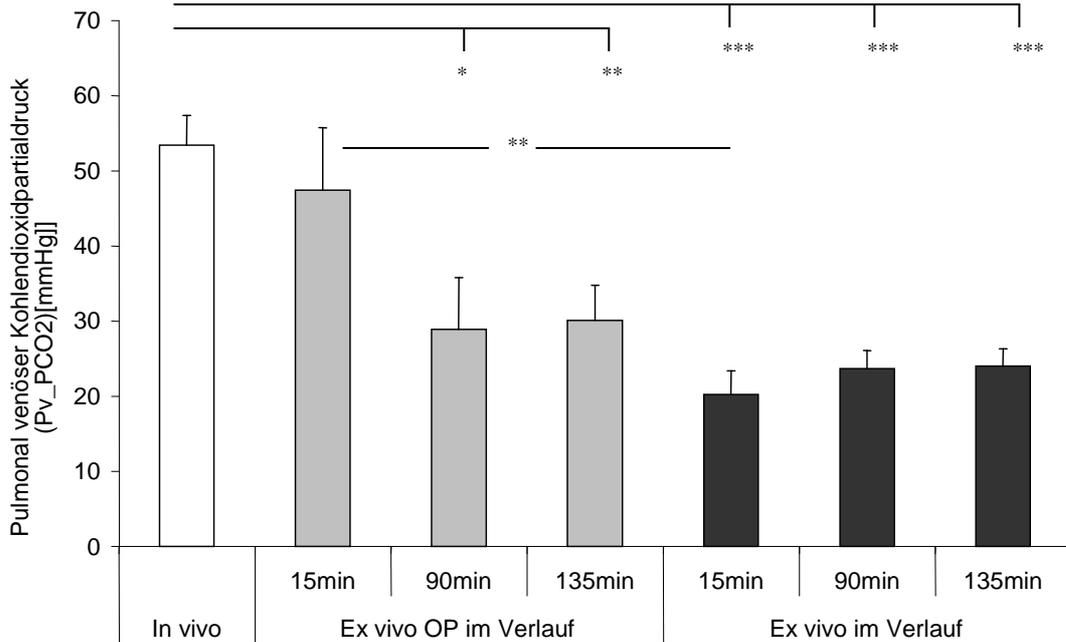


Abbildung 12: Pulmonal venöse Kohlendioxidpartialdruck (Pv_PCO₂). Ein Stern „*“ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „**“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „***“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.3 Atemmechanik

3.1.3.1 Spitzendruck

Der In vivo Spitzendruck (PIP) beträgt $20,72 \pm 0,58$ mbar. Der Ex vivo OP PIP liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $29,45 \pm 1,65$, nach 90 Minuten bei $29,57 \pm 2,85$ und nach 135 Minuten bei $36,96 \pm 2,55$ mbar. Der PIP in der Ex vivo- Gruppe liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $20,85 \pm 1,09$, nach 90 Minuten bei $23,99 \pm 1,39$ und nach 135 Minuten bei $25,76 \pm 1,37$ mbar.

Der Ex vivo OP PIP ist im gesamten Versuchsverlauf signifikant höher im Vergleich zum In vivo PIP. Der Ex vivo PIP steigt im Versuchsverlauf an und im Vergleich zum In vivo PIP, obwohl auf gleichen Niveau beginnend erreicht dieser nach 135 Minuten einen signifikant größeren Wert. Der Ex vivo OP PIP ist während des Versuchsverlaufes höher im Vergleich zum Ex vivo PIP und signifikant zur 15ten und 135ten Minute.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,003,

Ergebnisse

Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,001). Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo vs. Ex vivo OP 15 min.= 0,000, In vivo vs. Ex vivo OP 90 min.= 0,024 und In vivo vs. Ex vivo OP 135 min.= 0,001), (In vivo vs. Ex vivo 135 min.= 0,001), (Ex vivo OP vs. Ex vivo 15 min.= 0,005 und Ex vivo OP vs. Ex vivo 135 min.= 0,006).

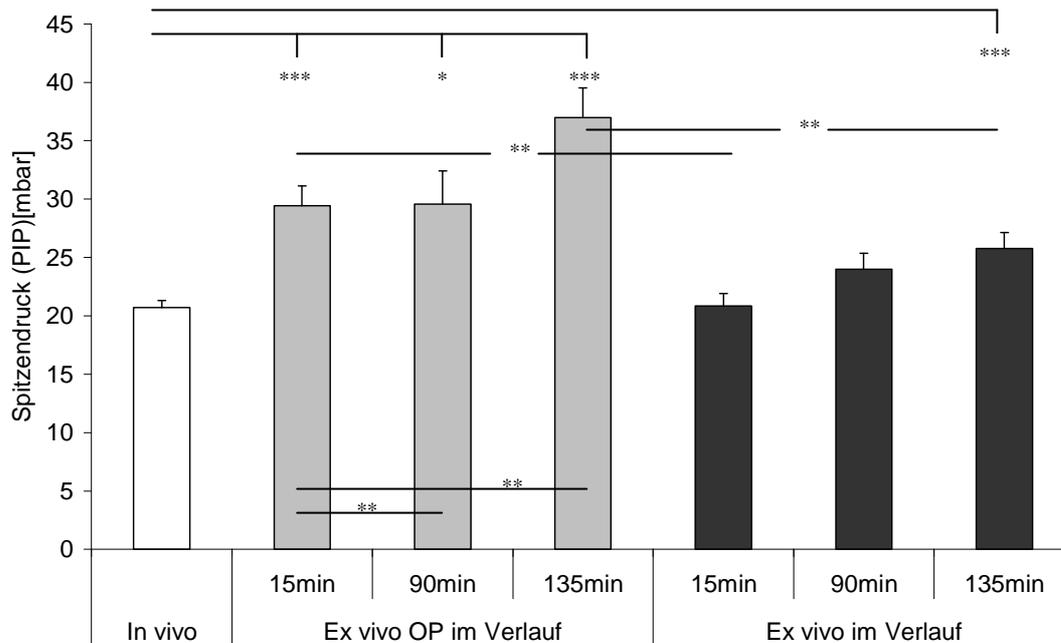


Abbildung 13: Spitzendruck (PIP). Ein Stern „ * “ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „ ** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „ *** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.3.2 Resistance

Die In vivo Resistance (R) beträgt $26,38 \pm 1,1$ mbar/ml. Die Ex vivo OP R liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $35,55 \pm 4,28$, nach 90 Minuten bei $34,94 \pm 3,31$ und nach 135 Minuten bei $43,46 \pm 6,26$ mbar/ml. Die Ex vivo R liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $24,28 \pm 6,66$, nach 90 Minuten bei $28,32 \pm 7,63$ und nach 135 Minuten bei $28,22 \pm 6,2$ mbar/ml.

Die Ex vivo R steigt signifikant von der 15ten zur 90ten Minute im Versuchsverlauf und bleibt dann auf gleichem Niveau. Die Ex vivo OP R ist während des gesamten Versuchsverlaufes signifikant höher als die Ex vivo R.

Ergebnisse

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,008; Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,011). Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (Ex vivo OP 15 min. vs. Ex vivo 15 min.= 0,003; Ex vivo OP 90 min. vs. Ex vivo 90 min.= 0,017; Ex vivo OP 135 min. vs. Ex vivo 135 min.= 0,03).

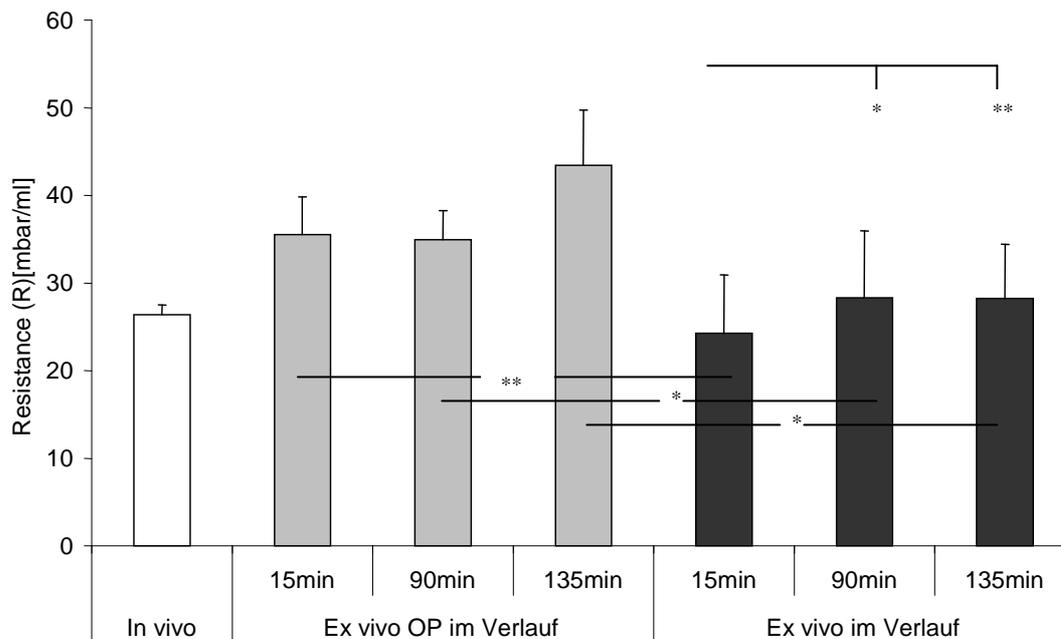


Abbildung 14: Resistance (R). Ein Stern „*“ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „**“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$.

3.1.3.3 Compliance

Die In vivo Compliance (C) beträgt $17,12 \pm 1,24$ ml/mbar. Die Ex vivo OP C liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $10,44 \pm 2,79$, nach 90 Minuten bei $9,33 \pm 1,62$ und nach 135 Minuten bei $8,93 \pm 3,47$ ml/mbar. Die Ex vivo R liegt nach 15 Minuten der Hämoperfusion bei $32,09 \pm 5,06$, nach 90 Minuten bei $27,55 \pm 3,98$ und nach 135 Minuten bei $24,58 \pm 3,39$ ml/mbar.

Die Ex vivo OP C ist während des gesamten Versuchsverlauf im Vergleich zur Ex vivo C signifikant niedriger. Die C fällt in der Ex vivo OP- und in der Ex vivo-Vergleichsgruppe, signifikant jedoch im Ex vivo Versuchsverlauf.

Ergebnisse

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,028; Ex vivo 15 min. – 135 min.= 0,008). Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (Ex vivo OP 15 min. vs. Ex vivo 15 min.= 0,002; Ex vivo OP 90 min. vs. Ex vivo 90 min.= 0,01 und Ex vivo OP 135 min. vs. Ex vivo 135 min.= 0,03).

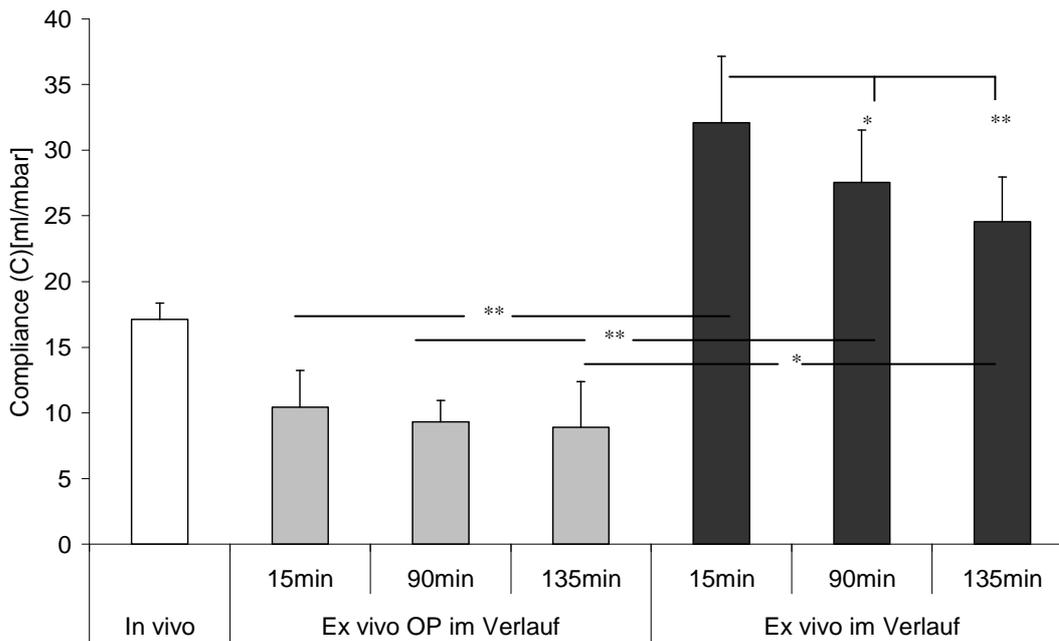


Abbildung 15: Compliance (C). Ein Stern „*“ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „**“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „***“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

3.1.3 Relative Gewichtszunahme

In der Ex vivo OP- Gruppe beträgt die relative Gewichtszunahme (LGrel) nach 15 Minuten der Hämoperfusion $0,42 \pm 0,19$, nach 90 Minuten $0,88 \pm 0,05$ und nach 135 Minuten $1,38 \pm 0,11$. Die LGrel in der Ex vivo- Gruppe beträgt nach 15 Minuten der Hämoperfusion $1,44 \pm 0,21$, nach 90 Minuten $1,81 \pm 0,29$ und nach 135 Minuten $1,99 \pm 0,34$.

In beiden Gruppen zeigt sich im Versuchverlauf ein signifikanter Anstieg der LGrel. Die Ex vivo OP LGrel ist während des gesamten Versuchsverlaufs niedriger als die in der Ex vivo- Gruppe, signifikant niedriger zur 15 Minute des Versuchsverlaufs.

Ergebnisse

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo OP 15 min. – 90 min.= 0,043, Ex vivo OP 90 min. – 135 min.= 0,043), (Ex vivo 15 min. – 90 min.= 0,002, Ex vivo 90 min. – 135 min.= 0,021), im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (Ex vivo OP vs. Ex vivo 15 min.= 0,031).

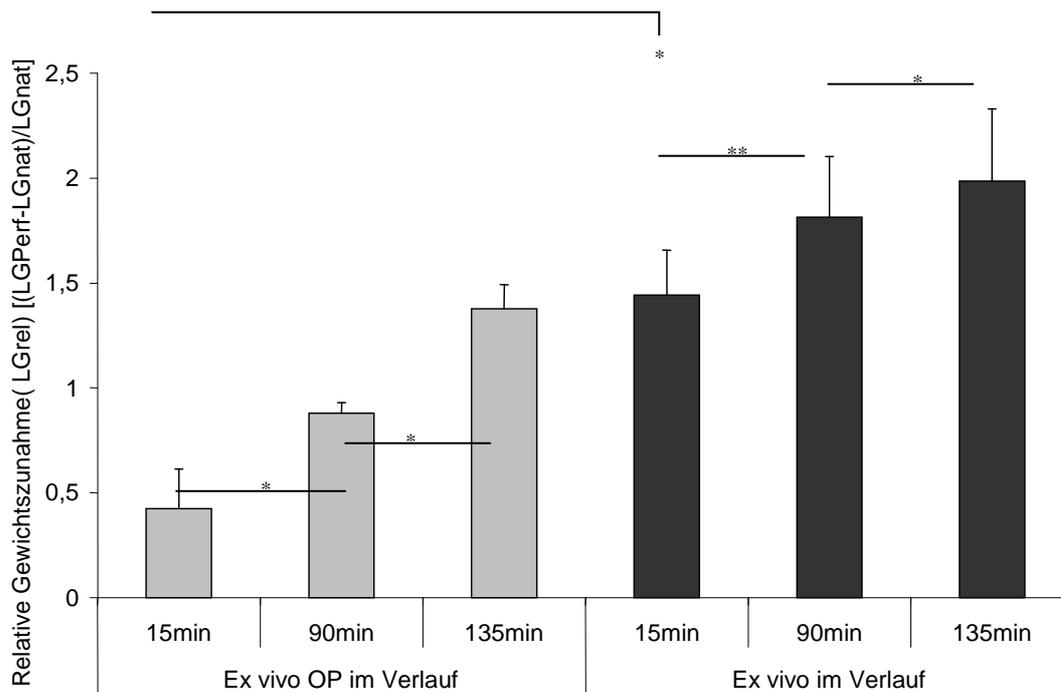


Abbildung 16: Relative Gewichtszunahme (LGrel). Ein Stern „*“ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „**“ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$.

3.2 Blutparameter

3.2.1 Endothelin-1 Konzentration

Die In vivo Endothelin-1 (ET-1) Konzentration arteriell (art.) beträgt $5,63 \pm 0,2$ und venös (ven.) $5,96 \pm 0,18$ fmol/ml. Die Ex vivo OP ET-1 Konzentration beträgt nach 90 Minuten der Hämoperfusion art. $14,65 \pm 5,12$ und ven. $17,02 \pm 6,85$ und nach 135 Minuten art. $23,46 \pm 8,13$ und ven. $25,58 \pm 8,64$ fmol/ml. Die Ex vivo ET-1 Konzentration beträgt nach 15 Minuten der Hämoperfusion art. $33,65 \pm 10,24$ und ven. $33,48 \pm 10,12$, nach 90 Minuten der Hämoperfusion art. $40,33 \pm 9,37$ und ven.

Ergebnisse

43,89 ± 9,89 und nach 135 Minuten art. 55,03 ± 10,99 und ven. 59,09 ± 10,36 fmol/ml.

3.2.1.1 Endothelin Konzentrationen vor und nach der Lungenpassage

In vivo ist die ET-1 Konzentration nach der Lungenpassage signifikant erhöht. In der Ex vivo OP Gruppe steigt die ET-1 Konzentration ebenfalls nach der Lungenpassage, signifikant nach 90 Minuten der Hämoperfusion. In der Ex vivo Gruppe steigt die ET-1 Konzentration während der Lungenpassage signifikant nach 90 und 135 Minuten der Hämoperfusion, wobei nach 15 Minuten die ET-1 Konzentration vor und nach der Lungenpassage auf gleichen Niveau liegt.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (In vivo art. – ven.= 0,018); (Ex vivo OP 90 min. art. – ven.= 0,043), (Ex vivo 90 min. art. – ven.= 0,023, Ex vivo 135 min. art. – ven.= 0,007).

3.2.1.2 Endothelin Konzentrationen während des Versuchverlaufs

Die art. Ex vivo OP ET-1 Konzentration steigt von der 90ten zur 135ten Minute der Hämoperfusion nicht signifikant an. Die art. Ex vivo ET-1 Konzentration steigt von der 15ten zur 90ten Minute und von der 90ten zur 135ten Minute der Hämoperfusion signifikant an.

Die art. In vivo ET-1 Konzentration ist signifikant niedriger im Vergleich zur art. Ex vivo OP ET-1 Konzentration in der 90ten und 135ten Minute sowie zur art. Ex vivo ET-1 Konzentration in der 15ten, 90ten und 135ten Minute der Hämoperfusion.

Die art. Ex vivo OP ET-1 Konzentration ist während der gesamten Hämoperfusion niedriger im Vergleich zur art. Ex vivo ET-1 Konzentration und signifikant niedriger in der 90ten Minute der Hämoperfusion.

Folgende Signifikanzen konnten festgestellt werden: Innerhalb der Kontrollgruppen während des Versuchsverlaufes (Wilcoxon-Test) (Ex vivo art. 15 min. – 90 min.= 0,027 und Ex vivo art. 90 min. – 135 min.= 0,004). Im Vergleich der Kontrollgruppen miteinander (Mann-Whitney-U Test) (In vivo art. vs. Ex vivo OP art. 90 & 135 min.=

Ergebnisse

0,000), (In vivo art. vs. Ex vivo OP art. 15, 90 & 135 min.= 0,000), (Ex vivo OP art. vs. Ex vivo art. 90 min.= 0,019), (In vivo art. vs. Ex vivo OP art. 15 & 135 min.= 0,000).

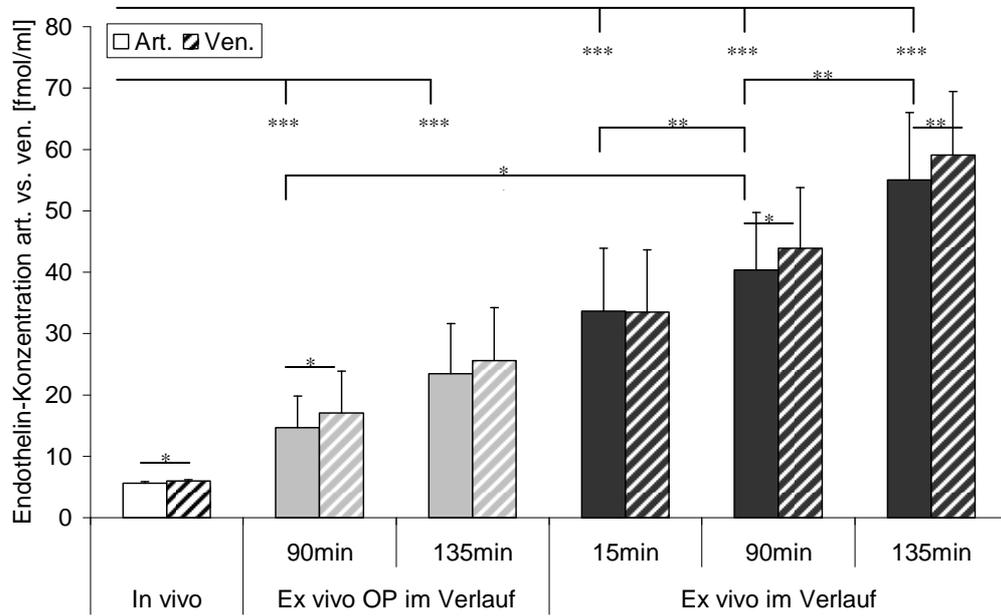


Abbildung 17: Endothelin-1 (ET-1) Konzentration. Ein Stern „ * “ bezeichnet ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$, zwei Sterne „ ** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$, drei Sterne „ *** “ ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

4. Diskussion

4.1 Einführung

Charakteristisch für einen Ischämie-Reperfusionsschaden sind der unspezifische Alveolarschaden, das Lungenödem und die Hypoxie. Durch die Störung der endothelialen Funktion und des Parenchyms kommt es zur Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren (u.a. TNF alpha, IL-8 und das Endothelin) (de Perrot et al., 2002). Die Art der Organgewinnung, die Art der Konservierung der Lunge, die Dauer der Ischämie sowie die Art der Reperfusion beeinflussen den Organschaden (Rega et al., 2004; Ucar et al., 2005). Es wurde in dieser Arbeit ein Modell entwickelt, in dem der Ischämie-Reperfusionsschaden beobachtet und auf diesen gezielt Einfluss genommen werden kann, bei der Organgewinnung und Vorbereitung, sowie durch die Modifikation der Reperfusion.

Der Ischämie-Reperfusionsschaden wird an Transplantationsmodellen sowie an der ILP erforscht. Der Vergleich der in vivo gewonnenen Parameter mit denen der perfundierten OP-Schweinelungen und diese wiederum verglichen mit den Schlachthoflungen, erlauben uns einen genaueren Einblick in den Ischämie-Reperfusionsschaden, sowie eine Vergleichbarkeit der jeweils gegenübergestellten Perfusionsmodelle. Dieses neu entwickelte Modell der isoliert ventilierten und hämoperfunden Schweinelungen gewonnen vom Schlachthausbetrieb, soll eine vergleichbare Alternative zu den bisher bekannten Tierversuchen sein. Gezielt wird dabei der biologische Einfluss von endogenem Endothelin auf die hämoperfundierte Lunge untersucht.

4.2 Diskussion der Methodik

4.2.1 Extrakorporale Lungenperfusionsmodell

Das Modell der ILP wurde aus den bereits bestehenden Systemen der isoliert perfundierten Schweinenieren (Dittrich et al., 2004), Schweineherzen (Modersohn et al., 2001) und Schweinehaut (Grosse-Siestrup et al., 2002) entwickelt.

Dieses Modell sollte auch Untersuchungen am intakten Organ und dadurch das Verständnis der physiologischen Prozesse erlauben. Es wurde somit möglich das Organ isoliert und nicht in einem Organismus integriert, zu betrachten. Es können einzelne Parameter untersucht, aber auch manipuliert werden um spezifische Fragen zu beantworten, unabhängig von der Reaktion des Gesamtorganismus (Kimose et al., 1990; Semaja et al., 1999).

Um molekularbiologische Fragen zu beantworten, wurden Zellkulturen (Boekema et al., 2003), um Fragen auf Zellebene zu beantworten wurden Lungenstücke untersucht (van Alstine et al., 2002). Die ILP erlaubte die interzellulären Regelmechanismen unter physiologischen Parametern bei erhaltener Organstruktur, bei kontrollierter Beatmung und einer normothermen autologen Hämoperfusion, zu erforschen. Physiologische, pathophysiologische, biochemische und pharmakologische Prozesse können betrachtet, spezifische Faktoren variiert und kontrolliert werden.

4.2.2 Wahl eines geeigneten Versuchstieres

Die Schweinelunge eignet sich aufgrund ihrer Größe, Anatomie und Physiologie, die vergleichbar mit der des Menschen sind, hervorragend für experimentelle Studien (Rendas et al., 1978). In Studien zur Erforschung von kardiovaskulären und kardiopulmonalen Erkrankungen, wurden Schweinelungen häufig untersucht (Hannon et al., 1991).

Diskussion

Kleinere Labortiere haben den Vorteil günstig im Unterhalt zu sein, wenig Raum bei relativ einfacher Ausstattung zu beanspruchen, sowie eine hohe Verfügbarkeit aufzuweisen. Es verwundert daher nicht, dass die am häufigsten verwendeten Tiere für die isolierte Organperfusion, Kaninchen und Ratten sind (Ghofrani et al., 2001; Lockinger et al., 2001; Sibelin et al., 2000), auch wenn die Lungen von Kleintieren nicht den anatomischen Voraussetzungen entsprechen.

Ziel ist es aber, durch das Modell der ILP die Anzahl der Versuchstiere zu minimieren und damit als Alternativmodell zu etablieren. Aufgrund dessen werden Schweinelungen aus dem kommerziellen Schlachthofbetrieb verwendet. Dafür spricht auch, dass die aus ethischen Gründen angestrebte Einschränkung der Anzahl der Versuchstiere für experimentelle Zwecke durch den Ersatz durch Organe aus dem Schlachthofbetrieb finanziell vorteilhafter ist.

4.2.3 Perfusat

Im Modell der ILP wurde ausschließlich Blut, gewonnen vom Donortier, zur Perfusion verwendet. Die Bedingungen bei der normothermen Hämoperfusion kommen insgesamt den In vivo Bedingungen am nächsten. In Studien erwiesen sich Perfusionen mit kristallinen Perfusionsmedien (Wittwer et al., 1999; Eckenhoff et al., 1992) einzig durch das unbegrenzte Vorhandensein an Perfusat als Vorteil. Es überwiegen dagegen die Nachteile. So kann der Einsatz von kristallinen Lösungen bei der Perfusion zu einer schnellen Entwicklung eines Pulmonalödems führen (Fukuse et al., 1996; Deng et al., 1997; LoCicero et al., 1990), da sie die Sauerstoffversorgung, insbesondere der parenchymatösen Organe nur unzureichend gewährleisten können (Grosse-Siestrup et al., 1993). Dagegen wird schon beim ersten Gebrauch von Blut anstelle von kristallinen Lösungen als Perfusionsmedium (Wang et al., 1989) ein wesentlicher Vorteil deutlich. Die Perfusion mit autologem Blut erlaubt die problemlose Sauerstoff- und Energiebedarfsversorgung des isolierten Organs (Grosse-Siestrup et al., 1993).

Bei einem Schlachthofschwein können ungefähr 3000 ml Blut gewonnen werden (Grosse-Siestrup et al., 2002). Für die Perfusion von Schweineherzen und Nieren (Dietrich et al., 2000; Modersohn et al., 2001) werden ca. 600 ml autologen Blutes

benötigt und für die Perfusion von Schweineleber ca. 3000 ml. Darüber hinaus wurden in unserem Modell der ILP ca. 2500 ml Blut über einen Zeitraum von 135 Minuten verwendet. Der Erfolg einer ILP wird durch die Geschlossenheit des Systems, welches nur einen geringen Blutverlust zulässt sowie die hohe Menge des gewonnenen Blutes durch das Donortier gewährleistet. Ein vollkommener Verzicht auf Blutersatzstoffe ist somit möglich, ein schon erwähnter Vorteil gegenüber der Verwendung von kleineren Versuchstieren, bei denen die gewonnene Blutmenge von einem Donortier nicht ausreichend ist.

4.2.4 Organgewinnung

Die Verwendung von Organen unmittelbar vom Schlachthof ermöglicht eine Reduktion der Labortierzahlen (Groneberg et al., 2002). Dabei ist auch die Entwicklung von Strategien zur Auswahl von geeigneten Tieren zur Organgewinnung von entscheidender Bedeutung. Schon die genaue Untersuchung der lebenden Tiere, so u. a. durch den Vergleich bestimmter äußerer Merkmale und bestimmter charakteristischer Verhaltensweisen ermöglicht ein standardisiertes Verfahren zur möglichst optimalen Vorabauswahl der Organe. Nach der Schlachtung werden die Lungen makroskopisch untersucht. Inwieweit es sich bei diesen Lungen tatsächlich um pathologisch unauffällige Organe handelt, lässt sich nur durch diese und weitere histopathologische Untersuchungen ermitteln.

Das Gleiche gilt auch für die Lungen von narkotisierten Schweinen der In vivo Gruppe. Zwar wurden die Tiere in der Einstellungsuntersuchung als symptomfrei und deren Lungen nach der Organbeschau als makroskopisch unauffällig beurteilt, trotzdem lässt sich auch hier nur durch weitere Untersuchungen ermitteln, inwieweit es sich tatsächlich um unauffällige Lungen handelt. Die Lungenentnahme und Vorbereitung zur Präparation entsprach dem Vorgehen bei den Schlachthoflungen mit der Ausnahme, dass diese nur kurzkonserviert wurden.

4.2.5 Konservierung des Organs

4.2.5.1 LPD

Die LPD (low potassium dextran) ist speziell für die Lungenkonservierung entwickelt worden und hat sich im klinischen Gebrauch bewährt, mit dem Ziel den Verlust der strukturellen Integrität der Organe zu verhindern. Die Euro-Collins-Lösung war für einen langen Zeitraum die führende Konservierungslösung. Aufgrund jedoch des hohen Kalium- und niedrigen Natrium-Gehaltes kam es zu Endothelschäden und zur Surfactant Dysfunktion (Strüber et al., 2000). Ende der achtziger Jahre wurde erkannt, dass die modifizierte extrazelluläre Lösung (LPD) der bekannten intrazellulären Lösung (Euro-Collins, University of Wisconsin) überlegen war (Fujimara et al., 1987; Keshavjee et al., 1989; Moriyasu et al., 1995). Dies wurde in den folgenden Jahren in weiteren Studien mehrmals bestätigt (Brandes et al., 2001; Wittwer et al., 2005; Okada et al., 2006).

Durch den niedrigen Kalium-Gehalt der LPD-Lösung gegenüber der Euro-Collins-Lösung bleiben die Zellintegrität der Endothelzellen und das Ruhemembranpotential erhalten. Dies beruht auf einer geringeren Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren (Bando et al., 1998; Fujimara et al., 1996) und von Sauerstoffradikalen, die unter anderem durch die Abnahme der Lipidperoxidase (LPO) bedingt ist, in den LPD konservierten Lungen. Somit wird eine organprotektive Wirkung erreicht (Torres et al., 2009). Es wurde weiterhin nachgewiesen dass LPD effektiv die intralveoläre, septale und peribronchovasuläre Ödemneigung sowie die Verletzung der Blut-Luft-Sperre verhindert (Mühlfeld et al. 2007; Schneuwly et al., 1999; Berlotti et al., 2007) und zudem eine verbesserte Reperfusion und Compliance (Okada et al., 2006) ermöglicht.

Das Dextran im LPD verhindert die Erythrozytenaggregation, induziert die Auflösung von aggregierten Zellverbänden und hat darüber hinaus antithrombotische Eigenschaften (Keshavjee et al., 1989).

Sauerstoffradikale werden in der Mehrzahl der Lungenzellen (Endothelzellen, Epithelzellen, alveoläre Makrophagen) bei Ischämie gebildet (McCord et al., 1985; Al-Mehdi et al., 1997). Die Verwendung eines Radikalfängers, der zur Optimierung

der LPD-Lösung zugesetzt wird, hat sich in experimentellen Studien bewährt. Sommer (2005) zeigte, dass die Myeloperoxidase- Aktivität am geringsten war, wenn Gluthation zugesetzt wurde. Durch die damit verbundene Abnahme des Gefäßwiderstandes, verbesserte sich die Surfactant-Funktion und somit der Gasaustausch. Ähnliches ist auch über die N-Acetylcystein Applikation zu berichten (Inci et al., 2007). Als Resultat aus der Zugabe von 1%iger Glucose, fand Date (1995) heraus, dass sich die Ischämiezeit auf 24 Stunden verlängern lies. Weitere Studien bestätigten dieses Ergebnis (Stehen et al., 2001). Der Zusatz des Prostacyclinanalogons Iloprost in die Konservierungslösung, verursachte bei der ILP von Schweinelungen einen deutlich geringeren Ischämie-Reperfusionsschaden, verbesserte die Surfactant-Funktion und die rheologischen Eigenschaften (Gohrbandt et al., 2005).

Für die Wahl von LPD als Konservierungslösung sprechen die Ergebnisse aus den experimentellen und klinischen Studien, sowie die Nutzung im Rahmen der Lungentransplantation (de Perrot et al., 2001).

4.2.5.2 Hypothermie

Für die Konservierung der Lunge zur Transplantation wird eine Temperatur zwischen 4 bis 8°C aus Gründen der Praktikabilität empfohlen (de Perrot et al., 2003). Diese Temperatur wird auch für die ILP gewählt. Trotzdem in zahlreichen Studien nachgewiesen werden konnte, dass im Gegensatz zur klinischen Praxis (4 bis 8°C) eine Konservierungstemperatur von 10°C deutlich bessere Ergebnisse erzielt, hat sich dieser Umstand bisher in der Praxis nicht durchgesetzt (Way et al., 1989; Datz et al., 1992; Kayano et al., 1999). Dadurch wird weiterhin, die Abnahme der inaktiven Na-K-ATP-ase Funktion bei einer Absenkung der Temperatur unter 10 °C (Wang et al., 1989; Ware et al., 1999) in Kauf genommen. Es kommt somit zu einer Natrium- und Wasserakkumulation im Zellinneren und dadurch zu einer massiven Störung der Zellhomöostase. Die Lagerung von Blut bei einer Temperatur von 4 °C löst dagegen keine dieser negativen Begleiterscheinungen aus.

4.2.5.3 Inflation / Blähung der Lunge

In der klinischen Praxis werden mit dem Ziel der Konservierung die Lungen zur Transplantation mit Luft versorgt (de Perrot et al., 2002). Bezogen auf das Modell der ILP werden die Organe zu Beginn der Reperfusion mit Raumluft belüftet (10 bis 15 cm H₂O Luftdruck). Das entspricht einer mittleren Inspirationsstellung (ca. 50 % der totalen Lungenkapazität) und soll ein Barotrauma vermeiden (de Perrot et al., 2001).

Ausgangsthese der Belüftung der Lungen bildet die Annahme, dass aufgrund eines effizienteren aeroben Metabolismus die Lungen in der Lage sind Sauerstoff zu verarbeiten und somit den Ischämie-Reperfusionsschaden geringer zu halten (Akashi et al., 1993; Kayano et al., 1999). Die Benetzung der Alveolen mit Surfactant sowie der epitheliale Flüssigkeitstransport (Haverich et al., 1999) wird aufrecht erhalten.

Unter der Annahme, dass die Lungenblähung eine protektive Funktion für die Verringerung des Ischämie-Reperfusionsschadens übernimmt, spielt die Zusammensetzung der Gasmischung eine vorrangige Rolle. Um den aeroben Metabolismus zu unterstützen, zeigte sich in mehreren Studien ein klarer Vorteil der Sauerstoff-Gasgemische gegenüber Stickstoff-Gasgemischen (Date et al., 1995; Kayano et al., 1999). In anderen Studien wiederum zeigte sich kein Unterschied zwischen Sauerstoff- und Stickstoffmonoxid (NO) -Gasgemischen (Watanabe et al., 1997; Sakuma et al., 1999) bzw. zwischen Sauerstoff- und Stickstoff-Gasgemischen (Kao et al., 2004).

Die Lungenblähung mit Luft bei einer Sauerstoffsättigung von 50 Prozent oder weniger wird in der Transplantationschirurgie empfohlen (de Perrot et al 2002), da eine über 50-prozentige Sauerstoffsättigung eine vermehrte Lipidperoxidation (Haniuda et al., 1996) zur Folge hat. Dies beeinträchtigt die Lungenfunktion (DeCampos et al., 1998).

Eine weitere Variante zur Verringerung des Ischämie-Reperfusionsschadens stellt die kurzzeitige inhalative Verabreichung von Stickstoffmonoxid (NO) kurz vor der Organgewinnung bei Schweinen für die ILP dar, wodurch ein verbesserter Gasaustausch sowie Compliance erreicht wird (Waldow et al., 2004; Gómez et al., 2005).

4.2.5.4 Warme, kalte und totale Ischämie

Die Ischämie, definiert als die Reduzierung des Blutflusses und der Sauerstoffversorgung unter die Bedarfsgrenze, führt zu einer primären Schädigung der Gewebestrukturen. Resultat ist eine Organ-Minderfunktion oder ein komplettes Organversagen. Nach dieser eingetretenen Schädigung der zellulären Strukturen folgt einer verspäteten Reperfusion ein inflammatorischer Vorgang. Eine lokale Schädigung wird akzelleriert und im Gesamtorganismus getragen.

Die Warme Ischämie tritt in der Transplantationsmedizin im Zeitraum zwischen Herzstillstand und Durchspülung der Pulmonalarterie auf. Kalte Ischämie dagegen findet im Zeitraum zwischen der Spülung der Pulmonalarterie und der erneuten Reperfusion des Organs statt. Die totale Ischämie ist die Addition beider Zeiträume.

Das Modell der ILP von Schlachthoflungen beschreibt als Warme Ischämie den Zeitraum zwischen der Entblutung des Tieres und der Infusion der Konservierungslösung über die Pulmonalarterie. Dieser beträgt zwischen 15 und 20 Minuten. Bei den unter OP-Bedingungen gewonnenen Lungen wird der Zeitraum zwischen dem Abklemmen der zuführenden Blutgefäße und der Kurzkonservierung gemessen, der ebenfalls vergleichbar lang ist ($18,5 \pm 5,5$ Minuten).

Abweichend davon ist z. B. bei Lungen von Kaninchen-Transplantationsmodellen eine Warme Ischämie von bis zu einer Stunde möglich. Bis zu diesem Zeitpunkt unterscheiden sich Gefäßwiderstände, Sauerstoffsättigung, Spitzendrücke und Gewichtszunahme von Lungen mit oder ohne Warmer Ischämie nicht (van Raemdonck et al., 1998). Gleiches gilt auch für NHBD (non-heart-beating donors) bei denen eine warme Ischämiezeit von einer Stunde, die Lungenorganfunktion nicht beeinflusst (Rega et al., 2004).

Im Modell der ILP von Schlachthoflungen lag die Zeit der kalten Ischämie bei ungefähr 4,5 bis 5 Stunden. Diese Zeitspanne lässt sich durch den relativ langen Transportweg vom Schlachthof zur experimentellen Einrichtung erklären.

Auch hier zeigen sich Unterschiede zu anderen Modellen. Bei Rattenlungen z. B. wurde festgestellt, dass eine Überschreitung des Zeitraumes der kalten Ischämie über 4 Stunden hinaus Endothelschäden hervorruft (Rooney et al., 2000). Die Lungenfunktion während der Reperfusion bei einer Dauer der kalten Ischämie von

über 6 Stunden wird zunehmend eingeschränkt (Chien et al., 2000; Hannisch et al., 2007).

In Transplantationszentren liegen die tolerierten Zeiten für eine totale Ischämie von Humanlungen zwischen 4 und 8 Stunden (Hopkinson et al., 1998). Mit einer gemessenen totalen Ischämiezeit für die ILP von Schweinelungen vom Schlachthof, lag dieser Wert bei einem Mittel von 5 Stunden deutlich unter den Zeiten, die bei erfolgreichen Lungentransplantationen gefordert werden.

Eine wichtige Strategie zur Aufrechterhaltung der Organqualität und somit auch zur Verminderung der Ödembildung stellt die inhalative Gabe des Prostacyclinanalogons Iloprost dar, die in der täglichen Klinik Anwendung gefunden hat (Wittwer et al., 2006). Verbunden ist damit auch die Möglichkeit zur Erweiterung der Zeit für die Warme Ischämie.

4.2.6 Endothelin

Endotheline stellen als stärkste Vasokonstriktoren speziell für die Transplantation von Organen ein schwerwiegendes Problem dar. Sie wirken bis zu 10-mal stärker als Angiotensin II oder Vasopressin. Von den 3 bekannten Isomeren ist Endothelin-1 (ET-1) das am häufigsten vorkommende und meist untersuchte Endothelin. Freigesetzt werden können ET-1 aus Endothelzellen, glatten Muskelzellen (Boscoe et al., 2000), Pneumozyten Typ II oder Alveolarmakrophagen (Durham et al., 1993; Kobayashi et al., 1997).

Endotheline werden einerseits im Rahmen des Ischämie-Reperfusionsschadens gemeinsam mit anderen Zytokinen freigesetzt (TNF α , IL-8) (de Perrot et al., 2002). Andererseits wird neben den vasokonstriktorischen Eigenschaften von Endothelinen durch sie die Produktion von Zytokinen in Monozyten und Makrophagen und die Retention von neutrophilen Granulozyten in der Lunge angeregt (Sato et al., 2000). Es folgt eine inflammatorische Reaktion verbunden mit einem konsekutivem Anstieg des Spitzendrucks (Pons et al., 1991), der Resistance (White et al., 1991; Polakowski et al., 1996) und des pulmonal vaskulären Widerstandes (Duffy et al., 2005). Die Entstehung des pulmonalen Ödems im Rahmen von Lungentransplantationen ist auch Folge einer nachgewiesenen Akkumulation des

ET-1-Spiegels (Taghavi et al., 2002), die zu einem Anstieg des VEGF (vascular endothelial growth factor) und der Gefäßpermeabilität führen.

4.3 Biologische Bedeutung der Ergebnisse

4.3.1 Pulmonal arterieller Druck

Die Entscheidung für eine Perfusion von Schweinelungen mit einem pulmonalarteriellen Druck (PAP) von ca. 25 mmHg resultiert aus Schlussfolgerungen, die aus der Diskussion um Forschungsergebnisse verschiedener Autor_innen mit narkotisierten Schweinen gezogen wurden (Hannon et al., 1990; Hughes et al., 1986; Wright et al., 2000). Dabei galt es zwei Diskussionsansätze zu berücksichtigen. Die eine basiert auf der Annahme, dass bei einer Erhöhung des PAP- Wertes auf ca. 35 bis 50 mmHg eine deutliche Ödemausbildung sowie eine verstärkte Leukozyten Sequestration festzustellen sei (Halldorson et al., 2000; Clark et al., 1999), die zu einer Zunahme des Ischämie-Reperfusionsschadens führen soll. Durch die Schädigung des Endothels soll es zu einer Freisetzung von Mediatoren und somit zu einer erhöhten Kontraktion der glatten Muskulatur kommen, die einen erhöhten PAP-Wert zur Folge hätte (Grace et al., 1994; Novick et al., 1996). Der Blutfluss in der In vivo Perfusion war mit fast 4 l/min., 10-fach höher als in der Ex vivo OP- und Ex vivo-Gruppe. Diese Werte entsprachen anderen Perfusionsmodellen. In diesen Studien wurde der Blutfluss durch einen gleichzeitig ansteigenden PAP limitiert (Sakanaki et al., 1997; Steen et al., 1997).

Dagegen steht allerdings die Annahme, dass der PAP-Wert und der Blutfluss für die Entstehung des Ischämie-Reperfusionsschadens nicht ausschlaggebend sein soll, sondern der Druck im linken Atrium („capillary wedge pressur“). So wird in Studien beschrieben, dass bei einer Erhöhung von diesem Druck eine vermehrte Ödembildung, eine abnehmende Compliance und eine zunehmende Resistance zu verzeichnen sein soll (Petak et al., 2002; Fehrenbach et al., 1999). Beide Diskussionsansätze spiegeln zwar verschiedene Erklärungsmöglichkeiten wieder, führen aber zum gleichen Ergebnis, der Anwendung des oben genannten pulmonalarteriellen Druck (PAP) von ca. 25 mmHg.

Der gemessene PAP- Wert in der In vivo Gruppe entsprach den gemessenen Drücken in den beiden anderen Perfusionsgruppen, der Ex vivo- und Ex vivo OP-Gruppe. Unabhängig davon konnte innerhalb der Ex vivo- Gruppe während des Versuchsverlaufes ein leichter, jedoch signifikanter Anstieg des PAP nachgewiesen werden. Parallel dazu war der pulmonalvaskuläre Widerstand (PVR) in der Ex vivo OP- Gruppe zu jedem Messzeitpunkt höher als der in der Ex vivo- Gruppe. Das lässt die Schlussfolgerung zu, dass der erhöhte pulmonalvenöse Druck bei sich nicht verändertem Blutfluss in der Steady-State-Phase ursächlich verantwortlich für die PVR-Erhöhung ist und somit auch für die vermehrte Ödembildung (Fehrenbach et al., 1999, Allison et al., 1999).

4.3.2 Pulmonal venöser Sauerstoffpartialdruck

Wie bereits erwähnt korreliert der venöse Sauerstoffpartialdruck mit den Ausmaßen des intraalveolaren Ödems, der Hypoventilation, der Diffusionsstörung sowie des erhöhten Rechts-Links-Shuntes der Lunge. In beiden Reperfusiongruppen kommt es zu einem Abfall des venösen Sauerstoffpartialdruckes im Versuchsverlauf, der aber in der Ex vivo- Gruppe signifikant ist. Zudem ist der pulmonalvenöse Sauerstoffpartialdruck ab der 90. Minute des Versuchverlaufes in beiden Reperfusiongruppen deutlich niedriger, als in der In vivo Gruppe.

Parallel dazu stellten Greco et al. (1989) fest, dass im Rahmen der primären Transplantatdysfunktion aufgrund von hohen Shuntfraktionen sinkende Sauerstoffpartialdrücke zu beobachten waren. Das steht im Gegensatz zu Steen et al. (1997), die in ihren Transplantationsversuchen zeigten, dass sich der Sauerstoffpartialdruck über Stunden auf einem physiologischen Wert halten ließ. In der Transplantationsmedizin ist der Ischämie-Reperfusionsschaden durch den sinkenden venösen Sauerstoffpartialdruck gekennzeichnet (Lau et al., 2004).

4.3.3 Spitzendruck

In beiden Reperfusiongruppen stieg der Spitzendruck während des Versuchsablaufes signifikant an, jedoch zeigte sich in der Ex vivo OP- Gruppe verglichen mit der Ex vivo- Gruppe regelmäßig ein höherer Spitzendruck. Zu Versuchende wiesen beide Reperfusiongruppen einen deutlich höheren Wert auf, als der in der In vivo- Gruppe, wobei dieser Spitzendruck als Maß für den endexpiratorischen Atemwegsdruck explizit in der Ex vivo OP- Gruppe signifikant höher war. Ähnlich wurden in den Studien von Möller (1997) und Schneuwly (1999) um die Hälfte niedrigere Werte der pulmonalen Spitzendrücke von narkotisierten Schweinen gegenüber denen während der ILP nachgewiesen.

Konsekutiv lies sich ein Anstieg der Resistance während des Versuchsverlaufes innerhalb beider Reperfusiongruppen nachweisen (dabei signifikant in der Ex vivo Gruppe), bei gleichzeitig signifikant höheren Werten der Ex vivo OP- im Vergleich zu der Ex vivo- Gruppe. Die Compliance hingegen sinkt in beiden Reperfusiongruppen im Versuchsverlauf ab (hierbei signifikant in der Ex vivo- Gruppe), bei signifikant höherer Compliance in der Ex vivo- Gruppe im Vergleich zu der Ex vivo OP-Gruppe. Diese Abnahme der Compliance im Rahmen der Reperfusion und die konsekutive Zunahme des Spitzendrucks lassen sich als unmittelbares Ergebnis der Zunahme des Lungenödems erklären. Histologische Untersuchungen legten dar, dass der Spitzendruck und der Sauerstoffpartialdruck mit den Ausmaßen des intraalveolären Ödems korrelieren (Fehrenbach et al., 1999).

4.3.4 Endothelin-Konzentration

Im Rahmen des Ischämie-Reperfusionsschaden, wird ET-1 in der Lunge freigesetzt. Es wurde während der Lungenpassage in der In vivo- wie auch während des Versuchverlaufes in der Ex vivo OP- und der Ex vivo- Gruppe eine signifikante Zunahme der ET-1-Produktion aus der Messung einer erhöhten ET-1 Konzentration geschlussfolgert. Beide Reperfusiongruppen weisen gemeinsam eine höhere ET-1-Konzentration als die in der In vivo Gruppe auf. Zudem war die ET-1 Konzentration in der Ex vivo- Gruppe signifikant höher als in der Ex vivo OP- Gruppe.

Offen bliebe die Frage, ob sich die höheren ET-1-Werte in den Reperfusiongruppen durch eine höhere ET-1-Produktion erklären lassen oder durch eine gestörte Klärfunktion der Lunge. Die Halbwertszeit für ET-1 beträgt nur wenige Minuten (Fukuroda et al., 1994). Diese resultiert aus der hohen Klärfähigkeit der Lunge für ET-1, die bei der ersten Lungenpassage 80-90% beträgt (Boscoe et al., 2000). Durch eine selektive ET-B-Rezeptor Blockade kann die Lungenclearance komplett blockiert werden, wodurch die ET-1-Konzentration zunimmt (von Lueder et al., 2004).

Beim Ischämie-Reperfusionsschaden konnte man eine Störung des Gasaustausches und der Compliance feststellen, die mit einem gleichzeitigen Anstieg der alveolären Oberflächenspannung verbunden war. Dieser Anstieg ist ursächlich verantwortlich für den Alveolarkollaps, welcher die Bildung von Atelektasen nach sich zieht. Daraus wiederum resultiert ein funktioneller Rechts-Links-Shunt, eine verminderte Clearance und somit eine Hypoxie (Kimblad et al., 1996). Der Ischämie-Reperfusionsschaden, dargestellt in den diskutierten Parametern der Reperfusiongruppen, ist in der Ex vivo OP- Gruppe schwerwiegender als in der Ex vivo- Gruppe. Gleichzeitig zeigt sich eine niedrigere ET-1-Konzentration in der Ex vivo OP- als in der Ex vivo- Gruppe. Somit wird deutlich, dass der Ischämie-Reperfusionsschaden nicht nur die Folge der erhöhten ET-1-Konzentration sein kann, sondern weitere Faktoren und deren Zusammenwirken eine wichtige Rolle, womöglich in unserem Fall eine gewichtigere Rolle spielen könnten.

4.3.5 Lungengewicht

Die Lungengewichtszunahme ist ein wichtiges Maß des Entwicklungsstandes eines Lungenödems. Im Verlauf des postischämischen Entzündungsprozesses ist ein erhöhter mikropillärer Druck festzustellen, verbunden mit einer gesteigerten Kapillarpermeabilität (West et al., 1991; Sirois et al., 1992). Es resultiert ein alveoläres Ödem, eine Volumenzunahme der alveolären Septen und des Peribronchialvasculärraumes. Die Folge ist eine Diffusionsstörung mit einer Beeinträchtigung der Sauerstoffaufnahme (Fehrenbach et al., 1999 und 2001).

Das relative Lungengewicht steigt in beiden Perfusionsgruppen im Verlauf signifikant an, wobei sich die relative Gewichtszunahme in der Ex vivo OP- Gruppe verdreifacht und in der Ex vivo- Gruppe um die Hälfte ansteigt. Somit ist die Ödembildung in der Ex vivo OP- Gruppe in Relation zur Ex vivo- Gruppe deutlich ausgeprägter.

Übereinstimmend mit der Ex vivo- Gruppe nahmen die unter OP-Bedingungen gewonnen und perfundierten Schweinelungen bis zu 190% an Gewicht zu (Greco et al., 1999; Schneuwly et al. 1999).

Um das Lungenödem genauer zu beschreiben, sind histologische Untersuchungen notwendig. Dabei müssten sich Zell- und Membranveränderungen feststellen lassen. Das Ödem könnte in ein intraalveolares, septales, peribronchiovasculäres, sowie intravasculäres eingeteilt werden (Fehrenbach et al., 1999). Erst dann ließe sich eine genaue Korrelation mit einem biologischen Parameter feststellen. (Fischer et al., 2000; Amrani und Rouston, 1999).

4.4 Schlussfolgerung

Die ILP von Schlachthoflungen erweist sich im Vergleich zur ILP mit Organen, die unter OP-Bedingungen gewonnen wurden und vom Tierbestand einer experimentellen Einrichtung stammen, als eine lohnende, alternative Methode. Dabei konnte festgestellt werden, dass der Ischämie-Reperfusionsschaden in der Ex vivo OP- Gruppe ausgeprägter als in der Ex vivo- Gruppe war.

Die Ursache könnte in der protektiven Wirkung der längeren LPD-Konservierung für die Reperfusion in der Ex vivo- Gruppe zu finden sein. Außerdem könnte sie bei der Ex vivo OP- Gruppe sowohl aus einer fehlerhaften Durchführung, wie aber auch aus dem fehlenden Know-how resultieren, da dort die ILP am Anfang der Versuchsreihe durchgeführt wurde.

Gleichzeitig ist die ET-1-Konzentration in der Ex vivo OP- niedriger als in der Ex vivo- Gruppe. Folglich lässt sich erkennen dass der Ischämie-Reperfusionsschaden nicht nur die Folge der erhöhten ET-1-Konzentration sein kann, sondern die weiterer

Diskussion

Faktoren und deren Zusammenwirken, die eine wichtige Rolle, womöglich in unserem Fall eine gewichtigere Rolle spielen könnte.

Unter Berücksichtigung aller Ergebnisse bzw. Daten lässt sich der Schluss ziehen, dass die Organgewinnung aus Schlachthöfen eine effiziente Methode ist und der Bedarf an Labortieren minimiert werden kann.

5. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde ein Ersatzmodell für Tierversuche untersucht, deren Grundlage autolog hämoperfundierte Schweinelungen in einem geschlossenem Kreislaufsystem bilden, die in kommerziellen Schlachthofbetrieben gewonnen wurden. Als Ausgangsbasis dienten die bereits bekannten Modelle der Organperfusion. Für die Auswertung des Ersatzmodells wurden 12 isoliert autolog hämoperfundierte Schweinelungen aus dem Schlachthofbetrieb (Ex vivo) mit 6 isoliert autolog hämoperfundierten Schweinelungen verglichen, die unter OP-Bedingungen gewonnen (Ex vivo OP) wurden. Die gleichen dabei erhobenen Vitalparameter der beiden Vergleichsgruppen, wurden vor der Lungenentnahme, in den narkotisierten und kontrolliert beatmeten Schweinen (In vivo) erhoben und ebenfalls verglichen. Dieses Reperfusionssystem (hier auch als Ersatzmodell bezeichnet) erlaubt eine neue Möglichkeit zur Erfassung und Erforschung respiratorischer sowie zirkulatorischer Parameter, ohne die Beeinflussung durch andere Organsysteme.

Für die Lungentransplantationsmedizin ist der Ischämie-Reperfusionsschaden, den erhöhte pulmonale Widerstände, eine eingeschränkte Gaswechselleistung sowie eine schlechte Atemmechanik kennzeichnen, von vordergründiger Bedeutung. Zudem ist der Ischämie-Reperfusionsschaden mit einer deutlichen Ödemneigung in den verschiedenen Lungenkompartimenten verbunden. Durch diese Studie ist es möglich, an einem intakten Organ ohne Zerstörung der strukturellen Integrität, physiologische Eigenschaften zu untersuchen und die wesentlichen Parameter zu kontrollieren, einzustellen und beizubehalten. Aus dem Vergleich der gewonnenen Parameter der beiden Reperfusiongruppen mit denen der narkotisierten Schweine resultiert, dass der Ischämie-Reperfusionsschaden sich in beiden ILP-Gruppen reproduzieren und somit besser untersuchen lässt. In zukünftigen Studien wäre dadurch die Möglichkeit gegeben, sowohl im Rahmen der Grundlagen- als auch der pharmakologischen Forschung Substanzen zu testen, unabhängig bzw. isoliert vom Gesamtorganismus.

Die Möglichkeit der Verwendung eines Organs, gewonnen in einem kommerziellen Schlachthofbetrieb, stellt damit eine sinnvolle Ergänzung der bereits vorhandenen

Zusammenfassung

Modelle dar. Als Alternativlösung zu Tierversuchen besteht der große Vorteil in der hohen Verfügbarkeit unter Berücksichtigung ethischer Belange bei gleichzeitiger Minimierung der Einschränkung der Forschung.

Durch die gewonnenen Daten während der ILP ist nachgewiesen worden, dass die Organe von Schlachthoftieren, im Vergleich zu denen, die unter OP.-Bedingungen gewonnen wurden, einen geringeren pulmonal vaskulären Widerstand, eine höhere Compliance, eine geringere Ödemneigung, vergleichbare pulmonal-venöse Sauerstoffpartialdrücke sowie pulmonal-arterielle Drücke aufwiesen und demzufolge einen geringeren Ischämie-Reperfusionsschaden auslösten.

Im Rahmen der Erforschung des Ischämie-Reperfusionsschadens bei Humanlungen nach einer Transplantation wurde festgestellt, dass Endothelin diesen Prozess darüber hinaus negativ beeinflusst. In verschiedenen Studien konnte eine Verstärkung der massiven Beeinträchtigung der Lungenfunktion durch dieses Peptid nachgewiesen werden.

Zu jedem Entnahmezeitpunkt der Proben aus beiden ILP-Vergleichsgruppen wurden im Vergleich zu den narkotisierten Schweinen, erhöhte ET-1-Werte festgestellt. Des Weiteren war im Versuchsverlauf ein weiterer Anstieg der ET-1-Konzentration nach der Lungenpassage in der Ex vivo OP- und in der Ex vivo- Gruppe zu verzeichnen. Somit ist erwiesen, dass in der Lunge ET-1 produziert wird und dessen Produktion im Versuchsverlauf mit dem Ischämie-Reperfusionsschaden zunimmt. Gleichzeitig war die ET-1-Freisetzung in der Ex vivo OP- Gruppe geringer als in der Ex vivo- Gruppe und das trotz schlechter Vitalparameter. Folglich lässt sich der Ischämie-Reperfusionsschaden nicht nur durch das Endothelin erklären, sondern als das komplexe Zusammenspiel von verschiedenen Schlüsselmechanismen, reguliert durch mehrere Mediatoren.

6. Literaturverzeichnis

Akashi, A.; Nakahara, K.; Kamiike, W.; Matsumura, A.; Hatanaka, N.; Kawashima, Y.; Yoshida, Y. und Tagawa, K.

Attenuation of warm ischemic injury of rat lung by inflation with room air--assessment of cellular components and the surfactant in the bronchoalveolar lavage fluid in relation to changes in cellular adenosine triphosphate.

Transplantation (Band 55), Nr. 1, Seite 24-30. (1993).

Allison, R. C.; Kyle, J.; Adkins, W. K.; Prasad, V. R.; McCord, J. M und Taylor, A. E.

Effect of ischemia reperfusion or hypoxia reoxygenation on lung vascular permeability and resistance.

J Appl Physiol (Band 69), Nr. 2, Seite 597-603. (1990).

Al-Mehdi, A. B. und Fisher, A. B.

Invited editorial on "tumor necrosis factor-alpha in ischemia and reperfusion injury in rat lungs".

J Appl Physiol (Band 85), Nr. 6, Seite 2003-4. (1998).

Al-Mehdi, A. B.; Zhao, G. und Fisher, A. B.

ATP-independent membrane depolarization with ischemia in the oxygen-ventilated isolated rat lung.

Am J Respir Cell Mol Biol (Band 18), Nr. 5, Seite 653-61. (1998).

Amrani, Y. und Panettieri, R. A., Jr.

Cytokines induce airway smooth muscle cell hyperresponsiveness to contractile agonists.

Thorax (Band 53), Nr. 8, Seite 713-6. (1998).

Amrani, M.; Yacoub, M. H. und Royston D.

Myocardial protection for cardiac surgery: classical views and new trends.

Int Anesthesiol Clin (Band 37), Nr. 2, Seite 39-53. (1999).

Literaturverzeichnis

Arai, H.; Hori, S.; Aramori, I.; Okhubo, H. und Nakanishi, S.

Cloning and expression of cDNA encoding an endothelin receptor.

Nature (Band 348), Nr. 6303, Seite 730-2. (1990).

Bakhle, Y.S.; Reynard, A.M. und Vane, J.R.

Metabolism of the angiotensins in isolated perfused tissues.

Nature (Band 222), Nr. 5197, Seite 956-9. (1969).

Bando, T.; Albes, J. M.; Fehrenbach, H.; Nusse, T.; Schafers, H. J. und Wahlers, T.

Influence of the potassium concentration on functional and structural preservation of the lung: where is the optimum?

J Heart Lung Transplant (Band 17), Nr. 7, Seite 715-24. (1998).

Barie, P. S. und Malik, A. B.

Effect of pulmonary arterial occlusion on lung fluid and protein exchange.

J Appl Physiol (Band 53), Nr.1, Seite 543-548. (1981).

Battistini, B.; Chailier, P.; D'Orléans-Juste, P.; Brière, N. und Sirois, P.

Growth regulatory properties of endothelins.

Peptides (Band 14), Nr. 2, Seite 385-99. (1993).

Bertolotti, A.; Gómez, C.; Lascano, E.; Negroni, J.; Cuniberti, L.; Yannarelli, G.; Laguens, R.; Shiraishi, J. und Favaloro, R.

Effect of preservation solution on graft viability in single-lung transplantation from heart-beating donors in pigs.

Transplant Proceedings (Band 39), Nr. 2, Seite 355-7. (2007).

Bernard, E.; Dahlby, R. und Hoener, B.

An isolated perfused lung model with real time data collection and analysis of lung function.

J Pharmacol Toxicol Methods (Band 38), Nr. 1, Seite 41-46. (1997).

Literaturverzeichnis

Bobik, A.; Grooms, A.; Millar, J. A.; Mitchell, A. und Grinpukel, S.
Growth factor activity of endothelin on vascular smooth muscle.
Am J Physiol (Band 258), Nr. 3 Pt 1, Seite C408-15. (1990).

Boekema, B. K.; Stockhofe-Zurwieden, N.; Smith, H. E.; Kamp, E. M.; van Putten, J. P. und Verheijden, J. H.
Adherence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to primary cultures of porcine lung epithelial cells.
Vet Microbiol (Band 93), Nr. 2, Seite 133-44. (2003).

Booth, N. H.; Maaske, C. A. und Nielsen, T. W.
Ventricular weight ratios of normal swine and from swine with pulmonic stenosis.
J Appl Physiol (Band 21), Nr. 4, Seite 1256-60. (1966).

Boscoe, M. J.; Goodwin, A. T.; Amrani, M. und Yacoub, M. H.
Endothelins and the lung.
Int J Biochem Cell Biol (Band 32), Nr. 1, Seite 41-62. (2000).

Brandes, H.; Albes, J. M.; Conzelmann, A.; Wehrmann, M. und Ziemer, G.
Comparison of pulsatile and nonpulsatile perfusion of the lung in an extracorporeal large animal model.
Eur Surg Res (Band 34), Nr. 4, Seite 321-9. (2002).

Brandes, H.; Albes, J. M.; Haas, B. und Ziemer, G.
Influence of high molecular dextrans on lung function in an ex vivo porcine lung model.
J Surg Res (Band 101), Nr. 2, Seite 225-31. (2001).

Busse, W. W.; Stessel, H.; Watzinger, N.; Loffler, B. M. und Opie, L. H.
Binding of Endothelin to plasma proteins and tissue receptors: effects on endothelin determination, vasoactivity and tissue kinetics.
FEBS Lett (Band 373), Nr. 1, Seite 97-101. (1995).

Literaturverzeichnis

- Cardillo, C.; Kilcoyne, C. M.; Cannon, R. O. 3rd. und Panza, J. A.
Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo.
Hypertension (Band 35), Nr.6, Seite 1237-41. (2000).
- Cardillo, C.; Kilcoyne, C. M.; Waclawiw, M.; Cannon, R. O. 3rd. und Panza, J. A.
Role of endothelin in the increased vascular tone of patients with essential hypertension.
Hypertension (Band 33), Nr. 2, Seite 753-8. (1999).
- Chien, C. T.; Hsu, S. M.; Chen, C. F.; Lee, P. H. und Lai, M. K.
Prolonged ischemia potentiates apoptosis formation during reperfusion by increase of caspase 3 activity and free radical generation.
Transplant Proc (Band 32), Nr.7, Seite 2065-6. (2000).
- Chien, S.; Zhang, F.; Niu, W.; Tseng, M. T. und Gray, L. Jr.
Comparison of university of wisconsin, euro-collins, low-potassium dextran, and krebs-henseleit solutions for hypothermic lung preservation.
J Thorac Cardiovasc Surg (Band 119), Nr.5, Seite 921-30. (2000).
- Clark, S. C.; Sudarshan, C.; Roughan, J.; Flecknell, P. A. und Dark, J. H.
Modulation of reperfusion injury after single lung transplantation by pentoxifylline, inositol polyanions, and sin-1.
J Thorac Cardiovasc Surg (Band 117), Nr 3, Seite 556-64. (1999).
- Cooper, J. D. und Vreim, C. E.
NHLBI workshop summary. Biology of lung preservation for transplantation.
Am Rev Respir Dis (Band 146), Nr.3, Seite 803-7. (1992).
- Cunningham, M. E.; Huribal, M.; Bala, R. J. und McMillen, M. A.
Endothelin-1 and endothelin-4 stimulate monocyte production of cytokines.
Crit Care Med (Band 25), Nr. 6, Seite 958-64. (1997).

Literaturverzeichnis

- Date, H.; Izumi, S.; Miyade, Y.; Andou, A.; Shimizu, N. und Teramoto, S.
Successful canine bilateral single-lung transplantation after 21-hour lung preservation.
Ann Thorac Surg (Band 59), Nr.2, Seite 336-41. (1995).
- Date, H.; Lima, O.; Matsumura, A.; Tsuji, H.; d'Avignon, D. A. und Cooper, J. D.
In a canine model, lung preservation at 10 degrees C is superior to that at 4 degrees C. A comparison of two preservation temperatures on lung function and on adenosine triphosphate level measured by phosphorus 31-nuclear magnetic resonance.
J Thorac Cardiovasc Surg (Band 103), Nr. 4, Seite 773-80. (1992).
- Date, H.; Matsumura, A.; Manchester, J. K.; Obo, H.; Lima, O.; Cooper, J. M.; Sundaresan, S.; Lowry, O. H. und Cooper, J. D.
Evaluation of lung metabolism during successful twenty-four-hour canine lung preservation.
J Thorac Cardiovasc Surg (Band 105), Nr. 3, Seite 480-91. (1993).
- DeCampos, K. N.; Keshavjee, S.; Liu, M. und Slutsky, A. S.
Optimal inflation volume for hypothermic preservation of rat lungs.
J Heart Lung Transplant (Band 17), Nr. 6, Seite 599-607. (1998).
- DeCampos, K. N.; Waddell, T. K.; Slutsky, A. S.; Post, M. und Patterson, G. A.
Assessment of postpreservation rat lung function using a new model for extended venous reperfusion.
J Appl Physiol (Band 75), Nr.4, Seite 1890-6. (1993).
- de Perrot, M.; Fischer, S.; Liu, M.; Jin, R.; Bai, X. H.; Waddell, T. K. und Keshavjee, S.
Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines.
Transplantation (Band 72), Nr. 9, Seite 1505-12. (2001).

Literaturverzeichnis

de Perrot, M.; Imai, Y.; Volgyesi, G. A.; Waddell, T. K.; Liu, M.; Mullen, J. B.; McRae, K.; Zhang, H.; Slutsky, A. S.; Ranieri, V. M. und Keshavjee, S.

Effect of ventilator-induced lung injury on the development of reperfusion injury in a rat lung transplant model.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 124), Nr. 6, Seite 1137-44. (2002).

de Perrot, M. und Keshavjee, S.

Lung preservation.

Ann Thorac Surg (Band 74), Nr. 2, Seite 629-31. (2002).

de Perrot, M.; Keshavjee, S.; Tabata, T.; Liu, M.; Downey, G.P. und Waddell, T. K.

A simplified model for en bloc double lung xenotransplantation from hamster to rat.

J Heart Lung Transplant (Band 21), Nr. 2, Seite 286-9. (2002).

de Perrot, M.; Sekine, Y.; Fischer, S.; Waddell, T. K.; McRae, K.; Liu, M. und Keshavjee, S.

Interleukin-8 release during ischemia-reperfusion correlates with early graft function in human lung transplantation.

J Heart Lung Transplant (Band 20), Nr. 2, Seite 175-6. (2001).

de Perrot, M.; Sekine, Y.; Fischer, S.; Waddell, T. K.; McRae, K.; Liu, M.; Wigle, D. A. und Keshavjee, S.

Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation.

Am J Respir Crit Care Med (Band 165), Nr. 2, Seite 211-5. (2002).

Deng, Q.; Scicli, A. G.; Lawton, C. und Silverman, N. A.

Coronary flow reserve after ischemia and reperfusion of the isolated heart. Divergent results with crystalloid versus blood perfusion.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 109), Nr. 3, Seite 466-72. (1995).

Literaturverzeichnis

Dittrich, S.; Groneberg D.A.; von Loeper, J.; Lippek, F.; Hegemann O.; Grosse-Siestrup, C. und Lange, P. E.

Influence in immunoreactivity to endothelin-1 in the mucosal vasculature and epithelium of the large intestine during chronic hypoxia.

Nephron Exp Nephrol (Band 5), Nr. 3, Seite e97-102. (2004).

Dittrich, S.; Schuth, A.; Aurich, H.; von Loeper, J.; Grosse-Siestrup, C. und Lange, P. E.

Haemodilution improves organ function during normothermic cardiopulmonary bypass: investigations in isolated perfused pig kidneys.

Perfusion (Band 15), Nr. 3, Seite 225-9. (2000).

Dittrich, S.; Schuth, A.; von Baeyer, H.; Grosse-Siestrup, C.; Lange, P. E. und Kaczmarczyk, G.

Effect of blood viscosity on the function of isolated perfused porcine kidney after cold preservation.

Zentralbl Chir (Band 123), Nr. 7, Seite 809-13. (1998).

Duffy, J. Y.; Schwartz, S. M.; Lyons, J. M.; Bell, J. H.; Wagner, C. J.; Zingarelli, B. und Pearl, J. M.

Calpain inhibition decreases endothelin-1 levels and pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass with deep hypothermic circulatory arrest.

Crit Care Med (Band 33), Nr. 3, Seite 623-8. (2005).

Dupuis, J.; Cernacek, P.; Tardif, J.C.; Stewart, D. J.; Gosselin, G.; Dyrda, I.; Bonan, R. und Crepeau, J.

Reduces pulmonary clearance of endothelin-1 in pulmonary hypertension.

Am Heart J (Band 135), Nr. 4, Seite 614-20. (1998).

Dupuis, J.; Goresky, C.A. und Fournier, A.

Pulmonary clearance of circulating endothelin-1 in dogs in vivo: exclusive role of ETB receptors.

J Appl Physiol (Band 81), Nr. 4, Seite 1510-5. (1996).

Literaturverzeichnis

- Durham, S. K.; Goller N. L. ; Lynch, J. S.; Fisher, S. M. und Rose, P. M.
Endothelin receptor B expression in the rat and rabbit lung as determined by in situ hybridization using nonisotopic probes.
J Cardiovasc Pharmacol (Band 22 Suppl 8), Seite S1-3. (1993).
- Eckenhoff, R. G.; Dodia, C.; Tan, Z. und Fisher, A. B.
Oxygen-dependent reperfusion injury in the isolated rat lung.
J Appl Physiol (Band 72), Nr. 4, Seite 1454-60. (1992).
- Endoh, M.; Fujita, S.; Yang, H. T.; Talukder, M. A. H.; Maruya, J. und Norota, I.
Endothelin: receptor subtypes, signal transduction, regulation of Ca²⁺ transients and contractility in rabbit myocardium.
Life Sci (Band 62), Nr. 17-18, Seite 1485-9. (1998).
- Fehrenbach, A.; Fehrenbach, H.; Wittwer, T.; Ochs, M.; Wahlers, T. und Richter, J.
Evaluation of pulmonary edema: stereological versus gravimetric analysis.
Eur Surg Res (Band 33), Nr.4, Seite 270-8. (2001).
- Fehrenbach, A.; Ochs, M.; Wittwer, T.; Cornelius, J.; Fehrenbach, H.; Wahlers, T. und Richter, J.
Stereological estimation of the volume weighted mean volumes of alveoli and acinar pathways in the rat lung to characterise alterations after ischaemia/reperfusion.
J Anat (Band 194), Nr.1, Seite 127-35. (1999).
- Fehrenbach, H.; Schepelmann, D.; Albes, J. M.; Bando, T.; Fischer, F.; Fehrenbach, A.; Stolte, N.; Wahlers, T. und Richter, J.
Pulmonary ischemia/reperfusion injury: a quantitative study of structure and function in isolated heart-lungs of the rat.
Anat Rec (Band 255), Nr.1, Seite 84-9. (1999).

Literaturverzeichnis

Fischer, S.; Cassivi, S. D.; Xavier, A. M.; Cardella, J. A.; Cutz, E.; Edwards, V.; Liu, M. und Keshavjee, S.

Cell death in human lung transplantation: apoptosis induction in human lungs during ischemia and after transplantation.

Ann Surg (Band 231), Nr.3, Seite 424-31. (2000).

Fisher, A. B.; Dodia, C.; Ayene, I. und al-Mehdi, A.

Ischemia-reperfusion injury to the lung.

Ann N Y Acad Sci (Band 723), Seite 197-207. (1994).

Fridovich, I.

Hypoxia and oxygen toxicity.

Adv Neurol (Band 26), Seite 255-9. (1979).

Fujimura, S.; Handa, M.; Kondo, T.; Ichinose, T.; Shiraishi, Y. und Nakada, T.

Successful 48-hour simple hypothermic preservation of canine lung transplants.

Transplant Proc (Band 19), Nr. 1 Pt 2, Seite 1334-6. (1987).

Fujimura, S.; Kondo, T.; Handa, M.; Ohura, H.; Saito, R.; Sugita, M. und Suzuki, S.

Development of low potassium solution (EP4 solution) for long-term preservation of a lung transplant: evaluation in primate and murine lung transplant model.

Artif Organs (Band 20), Nr. 2, Seite 1137-44. (1996).

Fukuroda, T.; Fujikawa, T.; Ozaki, S.; Ishikawa, K.; Yano, M. und Nishikibe M.

Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats.

Biochem Biophys Res Commun (Band 199), Nr. 3, Seite 1461-5. (1994).

Fukuroda, T.; Kobayashi, M.; Ozaki, S.; Yano, M.; Miyauchi, T.; Onizuka, M.; Sugishita, Y.; Goto K. und Nishikibe M.

Endothelin receptor subtypes in human versus rabbit pulmonary arteries.

J Appl Physiol (Band 76), Nr. 5, Seite 1976-82. (1994).

Literaturverzeichnis

Fukuse, T.; Albes, J. M.; Brandes, H.M.; Takahashi, Y.; Demertzis, S. und Schafers, H. J.

Comparison of low potassium Euro-Collins solution and standard Euro-Collins solution in an extracorporeal rat heart-lung model.

Eur J Cardiothorac Surg (Band 10), Nr. 8, Seite 621-7. (1996).

Fukuse, T.; Albes, J. M.; Wilhelm, A.; Bando, T.; Fischer, F.; Hausen, B.; Rohde, R.; Wahlers, T. und Schafers, H. J.

Influence of dextrans on lung preservation: is the molecular weight important?

J Heart Lung Transplant (Band 15), Nr. 9, Seite 903-10. (1996).

Ghofrani, H. A.; Kohstall, M. G.; Weissmann, N.; Schmehl, T.; Schermuly, R. T.; Seeger, W. und Grimminger, F.

Alveolar epithelial barrier functions in ventilated perfused rabbit lungs.

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol (Band 280), Nr. 5, Seite L896-904. (2001).

Gillis, C. N. und Iwasawa, Y.

Technique for measurement of norepinephrine and 5-hydroxytryptamine uptake by rabbit lung.

J Appl Physiol (Band 33), Nr.3, Seite 404-8. (1972).

Gohrbandt, B.; Sommer, S. P.; Fischer, S.; Hohlfeld, J.M.; Warnecke, G.; Haverich, A. und Strueber, M.

Iloprost to improve surfactant function in porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 129), Nr. 1, Seite 80-6. (2005).

Gómez, C. B.; del Valle, H. F.; Bertolotti, A.; Negroni, J. A.; Cuniberti, L.; Martínez, V.; Ossés, J.; Laguens, R. P. und Favaloro, R. R.

Effects of short-term inhaled nitric oxide on interleukin-8 release after single-lung transplantation in pigs.

J Heart Lung Transplant (Band 24), Nr. 6, Seite 714-22. (2005).

Literaturverzeichnis

Grace, P.A.

Ischaemia-reperfusion injury.

Br J Surg (Band 81), Nr. 5, Seite 637-47. (1994).

Greco, R.; Benito, J.; Gonzalez, M.; De Miguel, E. und Vazquez, J.

Hemodynamics and oxygenation in experimental lung lobe transplantation.

Cir Pediatr (Band 12), Nr. 1, Seite 16-21. (1999).

Greco, R.; Benito, J.; Gonzalez, M.; De Miguel, E. und Vazquez, J.

Lung transplantation from ventilated non-heart-beating donors: experimental study in a neonatal swine model.

J Pediatr Surg (Band 34), Nr. 2, Seite 360-6. (1999).

Groneberg, D. A.; Grosse-Siestrup, C. und Fischer, A.

In vitro models to study hepatotoxicity.

Toxicol Pathol (Band 30), Nr. 3, Seite 394-9. (2002).

Gros, D.; Dupays, L.; Alcolea, S.; Meysen, S.; Miquerol, S.; und Theveniau-Ruissy, M.

Genetically modified mice: tools to decode the functions of connexins in the heart- new models for cardiovascular research.

Cardiovasc Res (Band 62), Nr. 2, Seite 299-308. (2004).

Grosse-Siestrup, C.; Fehrenberg, C.; von Baeyer, H. und Groneberg, D. A.

Multiple-organ harvesting for models of isolated hemoperfused organs of slaughtered pigs.

Altex (Band 19), Nr. 1, Seite 9-13. (2002).

Grosse-Siestrup, C.; Nagel, S.; Unger, V.; Meissler, M.; Pfeffer, J.; Fischer, A. und Groneberg, D. A.

The isolated perfused liver. A new model using autologous blood and porcine slaughterhouse organs.

J Pharmacol Toxicol Methods (Band 46), Nr. 3, Seite 163-8. (2001).

Literaturverzeichnis

Grosse-Siestrup, C.; Pfeffer, J.; Unger, V.; Nagel, S.; Witt, C.; Fischer, A. und Groneberg, D. A.

Isolated hemoperfused slaughterhouse livers as a valid model to study hepatotoxicity.

Toxicol Pathol (Band 30), Nr. 6, Seite 749-54. (2002).

Grosse-Siestrup, C.; Unger, V.; Fehrenberg, C.; Baeyer, H. v.; Fischer, A.; Schäper, F. und Groneberg, D. A.

A model of isolated autologously hemoperfused porcine slaughterhouse kidneys.

Nephron (Band 92), Nr. 2, Seite 414-21. (2002).

Grosse-Siestrup, C.; Unger, V.; Meissler, M.; Nagel, S.; Wussow, A.; Peiser, C.; Fischer, A.; Schmitt, R. und Groneberg, D. A.

Hemoperfused isolated porcine slaughterhouse kidneys as a valid model for pharmacological studies.

J Pharm Sci (Band 92), Nr. 6, Seite 1147-54. (2003).

Grosse-Siestrup, C.; Wiemer, P. M.; Fischer, T. C.; Fehrenberg, C.; Unger, V.; Fischer, A. und Groneberg, D. A.

Isolated hemoperfused porcine skin as a valid model to assess percutaneous absorption.

J Invest Dermatol (Band 119), Nr. 1, Seite 197-9. (2002).

Grote, L.; Kraiczi, H. und Hedner, J.

Reduced alpha- and beta(2)-adrenergic vascular response in patients with obstructive sleep apnea.

Am J Respir Crit Care Med (Band 162), Nr. 4 Pt 1, Seite 1480-7. (2000).

Hahn, A. W.; Resink, T.J.; Scott-Burden, T.; Powell, J.; Dohi, Y. und Bühler F. R.

Stimulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function.

Cell Regul (Band 1), Nr. 9, Seite 649-59. (1990).

Literaturverzeichnis

Halldorsson, A. O.; Kronon, M. T.; Allen, B. S.; Rahman, S. und Wang, T.
Lowering reperfusion pressure reduces the injury after pulmonary ischemia.
Ann Thorac Surg (Band 69), Nr. 1, Seite 198-203. (2000).

Haniuda, M.; Hasegawa, S.; Shiraishi, T.; Dresler, C. M.; Cooper, J. D. und
Patterson, G. A.
Effects of inflation volume during lung preservation on pulmonary capillary
permeability.
J Thorac Cardiovasc Surg (Band 112), Nr. 1, Seite 85-93. (1996).

Hannon, J. P. und Bossone, C. A.
Cardiovascular and pulmonary effects of morphine in conscious pigs.
Am J Physiol (Band 261), Nr. 5 Pt 2, Seite R1286-93. (1991).

Hannon, J. P.; Bossone, C. A. und Wade, C. E.
Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research.
Lab Anim Sci (Band 40), Nr. 3, Seite 293-8. (1990).

Hanusch, C.; Nowak, K.; Gill, I. S.; Torlitz, P.; Rafat, N.; Mueller, A. M.; Van Ackern,
K. C.; Yard, B. und Beck, G. C.
Hypothermic preservation of lung allograft inhibits cytokine-induced chemoattractant-
1, endothelial leucocyte adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule-1 and
intracellular adhesion molecule-1 expression.
Clin Exp Immunol (Band 149), Nr. 2, Seite 364-71. (2007).

Hardy, J. D.; Webb, W. R.; Dalton, M. L., Jr. und Walker, G. R., Jr.
Lung Homotransplantation in Man.
JAMA (Band 186), Seite 1065-74. (1963).

Hauge, A
Conditions governing the pressor response to ventilation hypoxia in isolated perfused
rat lungs.
Acta Physiol Scand. (Band 72), Nr. 1, Seite 33-44. (1968).

Literaturverzeichnis

Haverich, A.

Experience with lung transplantation.

Ann Thorac Surg (Band 67), Nr. 2, Seite 305-12. (1999).

Henry PJ and Goldie. Warner TD, ed. Endothelin and Its Inhibitors.

Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag Seite 73-76, (2001).

Hofman, F. M.; Chen, P.; Jeyaseelan, R.; Incardona, F.; Fisher, M. und Zidovetzki, R.
Endothelin-1 induces production of the neutrophil chemotactic factor interleukin-8 by
human brain-derived endothelial cells.

Blood (Band 92), Nr. 9, Seite 3064-72. (1998).

Hopkinson, D. N.; Bhabra, M. S. und Hooper, T. L.

Pulmonary graft preservation: a worldwide survey of current clinical practice.

J Heart Lung Transplant (Band 17), Nr. 5, Seite 525-31. (1998).

Hopkinson, D. N.; Odom, N. J.; Bridgewater, B. J. und Hooper, T. L.

Lung graft preservation. Comparison of phosphate-buffered sucrose, modified
EuroCollins, and University of Wisconsin solutions.

Transplantation (Band 58), Nr. 7, Seite 763-8. (1994).

Hughes, H. C.

Swine in cardiovascular research.

Lab Anim Sci (Band 36), Nr. 4, Seite 348-50. (1986).

Humbert, M.; Sitbon, O. und Simonneau, G

Treatment of pulmonary arterial hypertension.

N Engl J Med (Band 351), Nr. 14, Seite 1425-36. (2004).

Inci, I.; Zhai, W.; Arni, S.; Hillinger, S.; Vogt, P. und Weder, W.

N-acetylcysteine attenuates lung ischemia-reperfusion injury after lung
transplantation.

Ann Thorac Surg (Band 84), Nr. 1, Seite 240-6. (2007).

Literaturverzeichnis

Inoue, A.; Yanasigawa, M.; Kimura, S.; Kasuya, Y.; Miyauchi, T.; Goto, K. und Masaki, T.

The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes.

Proc Natl Acad Sci USA (Band 86), Nr. 8, Seite 2863-7. (1989).

Ito, H.; Hirata, Y.; Adachi, S.; Tanaka, M.; Tsujino, M.; Koike, A.; Nogami, A.; Murumo, F. und Hiroe, M.

Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes.

J Clin Invest (Band 92), Nr. 1, Seite 398-403. (1993).

Junod, A. F.

Accumulation of 14 C-imipramine in isolated perfused rat lungs.

J Pharmacol Exp Ther (Band 183), Nr. 1, Seite 182-7. (1972).

Kadowitz, P. J.; McMahon, T. J.; Hood, J. S.; Feng, C. J.; Minkes, R. K. und Dyson, M. C.

Pulmonary vascular and airway responses to endothelin-1 are mediated by different mechanisms in the cat.

J Cardiovasc Pharmacol (Band 17 Suppl 7), Seite 374-7. (1991).

Kao, S. J.; Wang, D.; Yeh, D. Y.; Hsu, K.; Hsu, Y. H. und Chen, H. I.

Static inflation attenuates ischemia/reperfusion injury in an isolated rat lung in situ.

Chest (Band 126), Nr. 2, Seite 552-8. (2004).

Kayano, K.; Toda, K.; Naka, Y. und Pinsky, D. J.

Identification of optimal conditions for lung graft storage with Euro-Collins solution by use of a rat orthotopic lung transplant model.

Circulation (Band 100), Nr. 19 Suppl, Seite II257-61. (1999).

Literaturverzeichnis

Keshavjee, S. H.; Yamazaki, F.; Cardoso, P. F.; McRitchie, D. I.; Patterson, G. A. und Cooper, J. D.

A method for safe twelve-hour pulmonary preservation.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 98), Nr. 4, Seite 529-34. (1989).

Kimblad, P. O.; Sjöberg, T.; Massa, G.; Solem, J. O. und Steen, S.

High potassium contents in organ preservation solutions cause strong pulmonary vasoconstriction.

Ann Thorac Surg (Band 52), Nr. 3, Seite 523-8. (1991).

Kimblad, P. O.; Gréen, K.; Sjöberg, T. und Steen S.

Prostanoid release after lung transplantation.

J Heart Lung Transplant. (Band 15), Nr. 10, Seite 999-1004. (1996).

Kimose, H. H.; Ravkilde, J.; Knudsen, M. A.; Helligso, P. und Baandrup, U.

Recovery after cold cardioplegic arrest of isolated blood-perfused hearts excised from non-anesthetized pigs.

Eur Surg Res (Band 22), Nr. 6, Seite 323-35. (1990).

Kimura, S; Kasuya, Y.; Sawamura, T.; Shinimi, O.; Sugita, Y.; Yanagisawa, M.; Goto, K. und Masaki, T.

Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1.

J Cardiovasc Pharmacol (Band 13), Suppl 5, Seite 5-7. (1989).

King, R. C.; Binns, O. A.; Rodriguez, F.; Kanithanon, R. C.; Daniel, T. M.; Spotnitz, W. D.; Tribble, C. G. und Kron, I. L.

Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation.

Ann Thorac Surg (Band 69), Nr. 6, Seite 1681-5. (2000).

Literaturverzeichnis

Knowlton, F. P. und Starling, E. H.

The influence of variations in temperature and blood-pressure on the performance of the isolated mammalian heart.

J Physiol (Band 44), Nr. 3, Seite 206-19. (1912).

Kobayashi, Y.; Sakamoto, Y.; Shibasaki, M.; Kimura, I. und Matsuo, H.

Human alveolar macrophages synthesize endothelins by thrombin.

J Immunol (Band 158), Nr. 11, Seite 5442-7. (1997).

Lau, C. L.; Patterson, G. A. und Palmer, S. M.

Critical care aspects of lung transplantation.

J Intensive Care Med (Band 19), Nr. 2, Seite 83-104. (2004).

Leary, W. P. und Ledingham, J. G.

Removal of angiotensin by isolated perfused organs of the rat.

Nature (Band 222), Nr. 5197, Seite 959-60. (1969).

LoCicero, J. 3rd; Massad, M.; Matano, J.; Khasho, F. und Greene, R.

Aerodynamic evaluation of crystalloid and colloid flush perfusion for lung preservation.

J Surg Res (Band 49), Nr. 6, Seite 469-75. (1990).

Lockinger, A.; Schutte, H.; Walmrath, D.; Seeger, W. und Grimminger, F.

Protection against gas exchange abnormalities by pre-aerosolized PGE1, iloprost and nitroprusside in lung ischemia-reperfusion.

Transplantation (Band 71), Nr. 2, Seite 185-93. (2001).

Lüscher, T. F. und Barton, M.

Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs.

Circulation (Band 102), Nr. 19, Seite 2434-40. (2000).

Literaturverzeichnis

Matsumura, Y.; Ikegawa, R.; Tsukahara, Y.; Takaoka, M. und Morimoto, S.
Conversion of big endothelin-1 to endothelin-1 by two types of metalloproteinases
derived from porcine aortic endothelial cells.
FEBS Lett (Band 272), Nr. 1-2, Seite 166-70. (1990).

Matsuura, A.; Yamochi, W.; Hirata, K.; Kawashima, S. und Yokoyama, M.
Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1
on each gene expression.
Hypertension (Band 32), Nr. 1, Seite 89-95. (1998).

McCord, J. M.
Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury.
N Engl J Med (Band 312), Nr. 3, Seite 159-63. (1985).

Modersohn, D.; Eddicks, S.; Grosse-Siestrup, C.; Ast, I.; Holinski, S. und Konertz, W.
Isolated hemoperfused heart model of slaughterhouse pigs.
Int J Artif Organs (Band 24), Nr. 4, Seite 215-21. (2001).

Moriyasu, K.; McKeown, P. P.; Novitzky, D. und Snow, T. R.
Preservation of competent rabbit lung function after 30 hours of storage with a low-
potassium dextran solution.
J Heart Lung Transplant (Band 14), Nr. 1 Pt 1, Seite 75-9. (1995).

Mühlfeld, C.; Müller, K.; Pallesen, L. P.; Sandhaus, T.; Madershahian, N.; Richter, J.;
Wahlers, T.; Wittwer, T. und Ochs, M.
Impact of preservation solution on the extent of blood-air barrier damage and edema
formation in experimental lung transplantation.
Anat Rec (Hoboken) (Band 290), Nr. 5, Seite 491-500. (2007).

Müller, C.; Fürst, H.; Reichenspurner, H.; Briegel, J.; Groh, J. und Reichart, B.
Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury.
Munich Lung Transplant Group.
Transplantation (Band 68), Nr. 8, Seite 1139-43. (1999).

Literaturverzeichnis

- Nakano, A.; Kishi, F.; Minami, K.; Wakabayashi, H.; Nakaya, Y. und Kido, H.
Selective conversion of big endothelins to tracheal smooth muscle-constricting 31-amino acid-length endothelins by chymase from human mast cells.
J Immunol (Band 159), Nr. 4, Seite 1987-92. (1997).
- Naomi, S.; Iwaoka, T.; Disashi, T.; Inoue, J.; Kanesaka, Y.; Tokunaga, H. und Tomita, K.
Endothelin-1 inhibits endothelin-converting enzyme-1 expression in cultured rat pulmonary endothelial cells.
Circulation (Band 97), Nr.3, Seite 234-6. (1998).
- Niemeier, R. W. und Bingham, E.
An isolated perfused lung preparation for metabolic studies.
Life Sci (Band 11), Nr. 16, Seite 807-20. (1972).
- Niwa, Y.; Nagata, N.; Oka, M.; Toyoshima, T.; Akiyoshi, H.; Wada, T. und Nakaya, Y.
Production of nitric oxide from endothelial cells by 31-amino-acid-length endothelin-1, a novel vasoconstrictive product by human chymase.
Life Sci (Band 67), Nr. 9, Seite 1103-9. (2000).
- Novick, R. J.; Menkis, A. H. und McKenzie, F. N.
New trends in lung preservation: a collective review.
J Heart Lung Transplant (Band 11), Nr. 2 Pt 1, Seite 377-92. (1992).
- Nyhlén, K.; Rippe, B. und Hultkvist-Bengtsson, U.
An isolated blood-perfused guinea-pig lung model for simultaneous registration of haemodynamic, microvascular and respiratory variables.
Acta Physiol Scand (Band 159), Nr. 4, Seite 293-302. (1997).
- O'Neil, J. J. und Tierney, D. F.
Rat lung metabolism: glucose utilization by isolated perfused lungs and tissue slices.
Am J Physiol (Band 226), Nr. 4, Seite 867-73. (1974).

Literaturverzeichnis

Okada, Y. und Kondo, T.

Impact of lung preservation solutions, Euro-Collins vs. low-potassium dextran, on early graft function: a review of five clinical studies.

Ann Thorac Cardiovasc Surg (Band 12), Nr. 1, Seite 10-4. (2006).

Patterson, G. A.; Cooper, J. D.; Dark, J. H. und Jones, M. T.

Experimental and clinical double lung transplantation.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 95), Nr.1, Seite 70-4. (1988).

Peták, F.; Habre, W.; Hantos, Z.; Sly, P. D. und Morel, D. R.

Effects of pulmonary vascular pressures and flow on airway and parenchymal mechanics in isolated rat lungs.

J Appl Physiol (Band 92), Nr. 1, Seite 169-78. (2002).

Polakowski, J. S.; Opgenorth, T. J. und Pollock, D. M.

ETA receptor blockade potentiates the bronchoconstrictor response to ET-1 in the guinea pig airway.

Biochem Biophys Res Commun (Band 225), Nr. 1, Seite 225-31. (1996).

Pollock, D. M.

Endothelin antagonists in the treatment of renal failure.

Curr Opin Investig Drugs (Band 2), Nr. 4, Seite 513-20. (2001).

Pons, F.; Loquet, I.; Touvay, C.; Roubert, P.; Chabrier, P. E.; Mencia-Huerta, J. M. und Braquet, P.

Comparison of the bronchopulmonary and pressor activities of endothelin isoforms ET-1, ET-2, and ET-3 and characterization of their binding sites in guinea pig lung.

Am Rev Respir Dis (Band 143), Nr. 2, Seite 294-300. (1991).

Rega, F. R.; Neyrinck, A. P.; Verleden, G. M.; Lerut, T. E. und Van Raemdonck, D. E.

How long can we preserve the pulmonary graft inside the nonheart-beating donor?

Ann Thorac Surg (Band 77), Nr. 2, Seite 438-44. (2004).

Literaturverzeichnis

Rendas, A.; Branthwaite, M. und Reid, L.

Growth of pulmonary circulation in normal pig- structural analysis and cardiopulmonary function.

J Appl Physiol (Band 45), Nr. 5, Seite 806-17. (1978).

Rooney, S. J.; Levine, A. J.; Parkes, K.; Revell, M.; Shimada, I. und Bonser, R. S.

Differential time scale of fluid and solute permeability following hypothermic lung preservation.

J Heart Lung Transplant (Band 19), Nr. 2, Seite 179-84. (2000).

Sakamaki, F.; Hoffmann, H.; Munzing, S., Krombach, F.; Messmer, K. und Schildberg, F. W.

Effects of lung preservation solutions on PMN activation in vitro.

Transpl Int (Band 12), Nr. 2, Seite 113-21. (1999).

Sakuma, T.; Takahashi, K.; Ohya, N.; Kajikawa, O.; Martin, T. R.; Albertine, K. H. und Matthay, M. A.

Ischemia-reperfusion lung injury in rabbits: mechanisms of injury and protection.

Am J Physiol (Band 276), Nr. 1 Pt 1, Seite L137-45. (1999).

Sakurai, T.; Yanagisawa, M.; Takuwa, Y.; Miyazaki, H.; Kimura, S.; Goto, K. und Masaki, T.

Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor.

Nature (Band 348), Nr. 6303, Seite 732-5. (1990).

Samaja, M.; Rovida, E.; Motterlini, R.; Tarantola, M.; Rubinacci, A. und diPrampo, P. E.

Human red cell age, oxygen affinity and oxygen transport.

Respir Physiol (Band 79), Nr. 1, Seite 69-79. (1990).

Literaturverzeichnis

Sato, Y.; Hogg, J. C.; English, D. und van Eeden, S. F.

Endothelin-1 changes polymorphonuclear leukocytes' deformability and CD11b expression and promotes their retention in the lung.

Am J Respir Cell Mol Biol (Band 23), Nr. 3, Seite 404-10. (2000).

Schmidt, M.; Kröger, B.; Jacob, E.; Seulberger, H.; Subkowski, T.; Otter, R.; Meyer, T.; Schmalzing, G. und Hillen, H.

Molecular characterization of human and bovine endothelin converting enzyme (ECE-1).

FEBS Lett (Band 356), Nr. 2-3, Seite 238-43. (1994).

Schmitz-Spanke, S. und Schipke, J. D.

Potential Role of endothelin-1 and endothelin antagonists in cardiovascular diseases.

Basic Res Cardiol (Band 95), Nr. 4, Seite 290-8. (2000).

Schneuwly, O. D.; Licker, M.; Pastor, C. M.; Schweizer, A.; Slosman, D. O.; Kapanci, Y.; Nicod, L. P.; Robert, J.; Spiliopoulos, A. und Morel, D. R.

Beneficial effects of leukocyte- depleted blood and low- potassium dextran solutions on microvascular permeability in preserved porcine lung.

Am J Respir Crit Care Med (Band 160), Nr. 2, Seite 689-97. (1999).

Schweizer, A.; Valdenaire, O.; Nelböck, P.; Deuschle, U.; Dumas Milne Edwards, J. B.; Stumpf, J. G. und Löffler, B. M.

Human endothelin-converting enzyme (ECE-1): three isoforms with distinct subcellular localizations.

Biochem J (Band 328), Nr. Pt 3, Seite 871-7. (1997).

Shubeita, H. E.; McDonough, P. M.; Harris, A.N.; Knowlton, K. U.; Glembotski, C.C.; Brown, J. H. und Chien, K. R.

Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression in ventricular myocytes. A paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy.

J Biol Chem (Band 265), Nr. 33, Seite 20555-62. (1990).

Literaturverzeichnis

Sibeliuss, U.; Schulz, E. C.; Rose, F.; Hattar, K.; Jacobs, T.; Weiss, S.; Chakraborty, T.; Seeger, W. und Grimminger, F.

Role of *Listeria monocytogenes* exotoxins listeriolysin and phosphatidylinositol-specific phospholipase C in activation of human neutrophils.

Infect Immun (Band 67), Nr. 3, Seite 1125-30. (1999).

Sirois, M. G.; Filep, J. G.; Rousseau, A.; Fournier, A.; Plante, G. E. und Sirois, P.

Endothelin-1 enhances vascular permeability in conscious rats: role of thromboxane A₂.

Eur J Pharmacol (Band 214), Nr. 2-3, Seite 119-25. (1992).

Sommer, S. P.; Gohrbandt, B.; Fischer, S.; Hohlfeld, J. M.; Warnecke, G.; Avsar, M. und Struber, M.

Glutathione improves the function of porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 130), Nr. 3, Seite 864-9. (2005).

Stansby, G.; Fuller, B.; Jeremy, J.; Cheetham, K. und Rolles, K.

Endothelin release--a facet of reperfusion injury in clinical liver transplantation?

Transplantation (Band 56), Nr. 1, Seite 239-40. (1993).

Steen, S.; Ingemansson, R.; Budrikis, A.; Bolys, R.; Roscher, R. und Sjoberg, T.

Successful transplantation of lungs topically cooled in the non-heart-beating donor for 6 hours.

Ann Thorac Surg (Band 63), Nr. 2, Seite 345-51. (1997).

Steen, S.; Sjoberg, T.; Ingemansson, R. und Lindberg, L.

Efficacy of topical cooling in lung preservation: is a reappraisal due?

Ann Thorac Surg (Band 58), Nr. 6, Seite 1657-63. (1994).

Strüber, M.; Hohlfeld, J. M.; Fraund, S.; Kim, P.; Warnecke, G. und Haverich, A.

Low-potassium dextran solution ameliorates reperfusion injury of the lung and protects surfactant function.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 120), Nr. 3, Seite 566-72. (2000).

Literaturverzeichnis

- Taddei, S.; Viridis, A.; Ghiadoni, L.; Sudano, I.; Magagna, A. und Salvetti, A.
Role of endothelin in the control of peripheral vascular tone in human hypertension.
Heart Fail Rev (Band 6), Nr. 4, Seite 277-85. (2001).
- Taddei, S.; Viridis, A.; Ghiadoni, L.; Sudano, I.; Notari, M. und Salvetti, A.
Vasoconstriction to endogenous endothelin-1 is increased in the peripheral circulation of patients with essential hypertension.
Circulation (Band 100), Nr. 16, Seite 1680-3. (1999).
- Taghavi, S.; Abraham, D.; Riml, P.; Paulus, P.; Schäfer, R.; Klepetko, W. und Aharinejad, S.
Co-expression of endothelin-1 and vascular endothelial growth factor mediates increased vascular permeability in lung grafts before reperfusion.
J Heart Lung Transplant (Band 21), Nr. 5, Seite 600-3. (2002).
- Torres, R. L.; Beló-Klein, A.; Andrade, C. F. und Cardoso, P. F.
Effect of systemically administered low potassium dextran solution on oxidative stress in a rat model of lung ischemia.
Interact Cardiovasc Thorac Surg (Band 8), Nr. 1, Seite 3-6. (2009).
- Touzani, O.; Galbraith, S.; Siegl, P. und McCulloch, J.
Endothelin-B receptors in cerebral resistance arterioles and their functional significance after focal cerebral ischemia in cats.
J Cereb Blood Flow Metab (Band 17), Nr. 11, Seite 1157-65. (1997).
- Townsley, M. I.; Korthuis, R. J.; Rippe, B.; Parker, J. C. und Taylor, A. E.
Validation of double vascular occlusion method for P_c in lung and skeletal muscle
J. Appl. Physiol (Band 61), Nr. 1, Seite 127-32. (1986).
- Ucar, G.; Topaloglu, E.; Kandilci, H. B. und Gumusel, B.
Effect of ischemic preconditioning on reactive oxygen species-mediated ischemia--reperfusion injury in the isolated perfused rat lung.
Clin Biochem (Band 38), Nr. 7, Seite 681-4. (2005).

Literaturverzeichnis

Uchida, K.; Uchida, S.; Nitta, K.; Yumura, W. und Nihei, H.

Regulated expression of endothelin converting enzymes in glomerular endothelial cells.

J Am Soc Nephrol (Band 8), Nr. 4, Seite 580-5. (1997).

Van Alstine, W. G.; Popielarczyk, M. und Albregts, S. R.

Effect of formalin fixation on the immunohistochemical detection of PRRS virus antigen in experimentally and naturally infected pigs.

J Vet Diagn Invest (Band 14), Nr. 6, Seite 504-7. (2002).

Van Raemdonck, D. E.; Jannis, N. C.; De Leyn, P. R.; Flameng, W. J. und Lerut, T. E.

Warm ischemic tolerance in collapsed pulmonary grafts is limited to 1 hour.

Ann Surg (Band 228), Nr. 6, Seite 788-96. (1998).

von Baeyer, H.; Stahl, K.; Hausler, M.; Meissler, M.; Unger, V.; Frank, J., Grosse-Siestrup, C.; Kaczmarczyk, G.; Affeld, K.; Flaig, H. J. und Steinbach, B.

A new method of ex vivo whole blood perfusion of isolated mammalian organs, exemplified by the kidney of swine.

Biomed Tech (Berl) (Band 42), Nr. 3, Seite 61-8. (1997).

von Lueder, T. G.; Kjekshus, H.; Edvardsen, T.; Øle, E.; Urheim, S.; Vinge, L. E.; Ahmed, M. S.; Smiseth, O. A. und Attramadal, H.

Mechanisms of elevated plasma endothelin-1 in CHF: congestion increases pulmonary synthesis and secretion of endothelin-1.

Cardiovasc Res (Band 63), Nr. 1, Seite 41-50. (2004).

Waldow, T.; Alexiou, K.; Witt, W.; Wagner, F.; M. Gulielmos, V.; Matschke, K. und Knaut, M.

Attenuation of reperfusion-induced systemic inflammation by preconditioning with nitric oxide in an in situ porcine model of normothermic lung ischemia.

Chest (Band 125), Nr. 6, Seite 2253-9. (2004).

Literaturverzeichnis

Wang, L. S.; Yoshikawa, K.; Miyoshi, S.; Nakamoto, K.; Hsieh, C. M.; Yamazaki, F.; Guerreiro Cardoso, P. F.; Schaeffers, H. J.; Brito, J.; Keshavjee, S. H. und et al.

The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 98), Nr. 3, Seite 333-42. (1989).

Ware, L. B.; Golden, J. A.; Finkbeiner, W. E. und Matthay, M. A.

Alveolar epithelial fluid transport capacity in reperfusion lung injury after lung transplantation.

Am J Respir Crit Care Med (Band 159), Nr. 3, Seite 980-8. (1999).

Watanabe, A.; Kawaharada, N.; Kusajima, K.; Komatsu, S.; Abe, T. und Takahashi, H.

Influence of oxygen in inflation gas during lung ischemia on ischemia-reperfusion injury.

J Thorac Cardiovasc Surg (Band 114), Nr. 3, Seite 332-8. (1997).

Watanabe, Y.; Naruse, M.; Monzen, C.; Naruse, K.; Ohsumi, K.; Horiuchi, J.; Yoshihara, I.; Kato, Y.; Nakamura, N.; Kato, M.; Sugino, N. und Demura, H.

Is big endothelin converted to endothelin-1 in circulating blood?

J Cardiovasc Pharmacol (Band 17), Suppl 7, Seite S503-5. (1991).

West, J. B.; Tsukimoto, K.; Mathieu-Costello, O. und Prediletto, R.

Stress failure in pulmonary capillaries.

J Appl Physiol (Band 70), Nr. 4, Seite 1731-42. (1991).

White, S. R.; Hathaway, D. P.; Umans, J. G.; Tallet, J.; Abrahams, C. und Leff, A. R.

Epithelial modulation of airway smooth muscle response to endothelin-1.

Am Rev Respir Dis (Band 144), Nr. 2, Seite 373-8. (1991).

Literaturverzeichnis

Wittwer, T.; Fehrenbach, A.; Meyer, D.; Brandes, H.; Albes, J.; Richter, J. und Wahlers, T.

Retrograde flush perfusion with low-potassium solutions for improvement of experimental pulmonary preservation.

J Heart Lung Transplant (Band 19), Nr. 10, Seite 976-83. (2000).

Wittwer, T.; Franke, U. F.; Fehrenbach, A.; Ochs, M.; Sandhaus, T.; Schuette, A.; Richter, S.; Dreyer, N.; Knudsen, L.; Muller, T.; Schubert, H.; Richter, J. und Wahlers, T.

Experimental lung transplantation: impact of preservation solution and route of delivery.

J Heart Lung Transplant (Band 24), Nr. 8, Seite 1081-90. (2005).

Wittwer, T.; Franke, U. F.; Fehrenbach, A.; Sandhaus, T.; Pfeifer, F.; Dreyer, N.; Mueller, T.; Schubert, H.; Petrow, P.; Richter, J. und Wahlers, T.

Lung retrieval from non-heart-beating donors: first experience with an innovative preservation strategy in a pig lung transplantation model.

Eur Surg Res (Band 36), Nr. 1, Seite 1-7. (2004).

Wittwer, T.; Franke, U. F.; Sandhaus, T.; Groetzner, J.; Strauch, J. T.; Wippermann, J.; Ochs, M.; Mühlfeld, C.; Börner, A.; Streck, S. und Wahlers, T.

Endobronchial donor pre-treatment with ventavis: is a second administration during reperfusion beneficial to optimize post-ischemic function of non-heart beating donor lungs?

J Surg Res (Band 136), Nr. 1, Seite 136-42. (2006).

Wittwer, T.; Wahlers, T.; Fehrenbach, A.; Cornelius, J. F.; Elki, S.; Ochs, M.; Fehrenbach, H.; Albes, J.; Haverich, A. und Richter, J.

Combined use of prostacyclin and higher perfusate temperatures further enhances the superior lung preservation by Celsior solution in the isolated rat lung.

J Heart Lung Transplant (Band 18), Nr. 7, Seite 684-92. (1999).

Literaturverzeichnis

Wright, N. C.; Hopkinson, D. N.; Shaw, T. E. und Hooper, T. L. (2000):
24-hour lung preservation: simplified versus conventional University of Wisconsin
solution in a porcine model.
Transplantation (Band 69), Nr. 7, Seite 1261-5. (2000).

Wright, N. C.; Hopkinson, D. N.; Shaw, T. E. und Hooper, T. L.
A porcine ex vivo paracorporeal model of lung transplantation.
Lab Anim (Band 34), Nr. 1, Seite 56-62. (2000).

Xu, D.; Emoto, N.; Giaid, A.; Slaughter, C.; Kaw, S.; deWit, D. und Yanagisawa, M.
ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation
of big endothelin-1.
Cell (Band 78), Nr. 3, Seite 473-85. (1994).

Yanagisawa, M.; Kurihara, H.; Kimura, S.; Tomobe, Y.; Kobayashi, M.; Mitsui, Y.;
Yazaki, Y.; Goto, K. und Masaki, T.
A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.
Nature (Band 332), Nr. 6163, Seite 411-5. (1988).

Ziv, I.; Fleminger, G.; Djaldetti, R.; Achiron, A.; Melamed, E. und Sokolovsky, M.
Increased plasma endothelin-1 in acute ischemic stroke.
Stroke (Band 23), Nr. 7, Seite 1014-6. (1992).

7. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

8. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. David Groneberg, dem Direktor des Institutes für Arbeitsmedizin der Charité, möchte ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas danken. Er stand jederzeit mit freundlichem Rat an meiner Seite, vermittelte Zuversicht und gab jedwede vertrauensvolle Unterstützung.

Ebenso möchte ich auch Herrn Prof. Dr. Sven Dittrich, Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin an der Universität Freiburg danken, der mich im praktischen Teil dieser Arbeit, vor seinem Wechsel nach Freiburg, betreute und mich in die Thematik einführte.

Herrn Privatdozent Dr. Christian Große-Siestrup, Leiter der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, möchte ich sehr herzlich für die Möglichkeit der Mitarbeit in seiner Einrichtung sowie für die freundliche und geduldige Unterstützung danken.

Ich danke Frau Dr. med. Juliane v. Massenbach, Herrn Dr. med. Peter Kamusella und Herrn Dipl.-Ing. Olaf Hegemann, sowie den weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe „Isolierte Organperfusion“ der tierexperimentellen Einrichtung, Charité, für die gute, freundschaftliche und ermutigende Zusammenarbeit und Hilfe bei den Versuchen.

Meinen lieben Kollegen und Freunden Dirk Wildenhus, Dirk Stegemann, Heiko Schmidt, Attef AlDasouky und Timucin Gülensoy möchte ich besonders für Ihre Unterstützung bedanken.

Ich richte hiermit großen Dank an meine Eltern, die mir mein Studium ermöglicht haben und immer an meiner Seite standen. Meinen Bruder möchte ich für seine Ermutigungen und Unterstützung bedanken.

Ich danke meiner Frau Linda und unseren Kindern Christo und Raphaelia, für Ihre Liebe und Unterstützung.

9. Eidesstattliche Erklärung

Ich, Dimitrios Koios, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die isoliert autolog hämoperfundierte Schweinelunge: Untersuchungen an Schlachthoforganen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, den 21.06.2010

Dimitrios Koios