

Aus dem Deutschen Herzzentrum Berlin
Stiftung des Bürgerlichen Rechts

ENTWICKLUNG UND CHARAKTERISIERUNG EINES
VIERKAMMER-WORKING-HEARTS ZUR UNTERSUCHUNG EINES NEUEN
VERFAHRENS DES EKG-MAPPINGS

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Romana Melanie Stahn
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Dr. h.c. R. Hetzer
2. Prof. Dr. med. P. Lunkenheimer
3. Prof. Dr. med. G. Siegel

Datum der Promotion: 21. November 2008

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A./Aa.	Arteria/Arteriae
A. cor. sin/dex.	Arteria coronaria sinistra/dextra
ADP	Adenosindiphosphat
art.	arteriell
ATP	Adenosintriphosphat
BSPM	Body Surface Potential Mapping
Ca ⁺⁺	Calciumionen
CO ₂	Kohlendioxid
CPP	Koronarer Perfusionsdruck
CBF	Koronarer Blutfluss
CBF _{100g}	Organfluss (pro 100 g Organgewicht)
cor.	coronaria
dext.	dextra
EDV	Enddiastolisches Volumen
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	et alii
FS	Fettsäure
H ⁺	Wasserstoffionen
HF	Herzfrequenz
HTK	Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat
K ⁺	Kaliumionen
KH	Kohlenhydrate
M./Mm.	Musculus/Musculi
Max	Maximalwert
Med	Median
min	Minute
Min	Minimalwert
mV	Millivolt
Na ⁺	Natriumionen
O ₂	Sauerstoff
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
R.	Ramus
RCX	Ramus circumflexus
RCA	Rechte Koronararterie (Right coronary artery)
RIVA	Ramus interventricularis anterior (Schwein: paraconalis)
s	Sekunde
s.	siehe
sin.	sinistra
ven.	venös
V./Vv.	Vena/Venae

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
2	ZIELSTELLUNG	3
3	THEORETISCHER HINTERGRUND	4
	3.1 Anatomie des humanen und porcinen Herzens.....	4
	3.2 Physiologie und Hämodynamik des Herzens.....	10
	3.2.1 Stoffwechselfysiologie des Herzens.....	10
	3.2.2 Elektrophysiologie des Herzens.....	12
	3.2.2.1 Erregungsbildung und –leitung.....	12
	3.2.2.2 Elektromechanische Kopplung.....	13
	3.2.2.3 Das Elektrokardiogramm.....	13
	3.2.2.4 Das EKG-Mapping-Verfahren.....	15
	3.2.3 Hämodynamik des Herzens.....	16
	3.2.3.1 Die Phasen des Herzzyklus.....	16
	3.2.3.2 Flüsse und Drücke im Herzen.....	17
	3.2.4 Vergleich der Physiologie zwischen Mensch und Schwein.....	21
	3.3 Isoliert perfundierte Herzen	22
	3.3.1 Historische Entwicklung isolierter, perfundierter Herzen.....	23
	3.3.1.1 „Working Heart“	24
	3.3.2 Wahl des Versuchstieres	25
	3.3.3 Kardioplegie	25
	3.3.4 Perfusionslösung	27
	3.3.5 Dialyse im isolierten Herzmodell.....	29
4	MATERIAL UND METHODEN	30
	4.1 Material	30
	4.1.1 Aufbau für die Perfusion isolierter Schweineherzen im Vierkammermodell..	30
	4.1.1.1 Perfusatkreislauf	30
	4.1.1.2 Dialysatkreislauf.....	32
	4.1.1.3 Wärmekreislauf.....	32
	4.1.2 Geräte	33
	4.1.2.1 Defibrillator und Herzschrittmacher.....	33
	4.1.2.2 Blutgasanalyse, Oximetrie und Glucosebestimmung.....	33
	4.1.2.3 Datenaufzeichnung (Fluss, Druck, EKG).....	34
	4.1.2.4 EKG-Mapping-Anlage.....	35
	4.1.3 Verwendete Lösungen – Chemikalien	36
	4.1.3.1 Kardioplegielösung.....	36

4.1.3.2	Perfusionslösung	37
4.1.3.3	Dialysat.....	38
4.1.3.4	Weitere Lösungen	39
4.2	Methode.....	40
4.2.1	Organ- und Blutgewinnung	40
4.2.1.1	Blutgewinnung	40
4.2.1.2	Herzentnahme und Kardioplegie.....	41
4.2.2	Vorbereitung und Durchführung der Perfusion.....	41
4.2.2.1	Präparation des Herzens.....	41
4.2.2.2	Perfusionsaufbau und Vorbereitung.....	44
4.2.2.3	Anschluss des Herzens an das Perfusionssystem.....	45
4.2.2.4	Reperfusion	46
4.2.3	Blutgasanalyse und Laboruntersuchungen	49
4.2.4	Durchführung der Versuche	50
4.2.4.1	Hämodynamische Messungen während der Versuche.....	51
4.2.4.2	EKG-Mapping-Untersuchungen	52
4.2.5	Statistik (Methoden der Auswertung).....	53
5	ERGEBNISSE.....	54
5.1	Normotherme Hämoperfusion isolierter Schweineherzen	54
5.1.1	Hämodynamik im Perfusionssystem	57
5.1.1.1	Vor- und Nachlast im Perfusionssystem	57
5.1.1.2	Flüsse und Drücke während der Perfusion.....	58
5.1.2	Druck- und Flussaufzeichnungen	62
5.1.3	Blutgasanalysen	66
5.1.4	Laboruntersuchungen	70
5.2	EKG-Mapping.....	74
6	DISKUSSION	77
6.1	Normotherme Hämoperfusion isolierter Schweineherzen	77
6.2	Ischämie und Reperfusionsschaden.....	79
6.3	Stabilität des Perfusionssystems.....	83
6.3.1	Hämodynamik im Perfusionssystem	85
6.3.1.1	Flüsse und Drücke während der Perfusion.....	87
6.3.2	Blutgasanalysen	90
6.3.3	Laboruntersuchungen	93
6.3.4	Druck- und Flussaufzeichnungen	95
6.4	EKG-Mapping.....	96
6.5	Kritische Diskussion der Perfusionsmethode.....	98
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	100

8	SUMMARY	103
9	LITERATUR.....	105
10	TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	118
	10.1 Tabellenverzeichnis	118
	10.2 Abbildungsverzeichnis.....	119
11	PUBLIKATIONSLISTE.....	121
12	DANKSAGUNG.....	122
13	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	123
14	LEBENS LAUF	125

1 EINLEITUNG

Isolierte Perfusionen von Herzen werden seit Ende des 19. Jahrhunderts zur Erforschung verschiedenster physiologischer, biochemischer, pharmakologischer und morphologischer Fragestellungen durchgeführt [3, 15, 62, 74, 79, 115]. In zahlreichen Studien wurden Herzen von Tieren [5, 74], aber auch von Menschen [42], isoliert und in entsprechenden Apparaturen perfundiert. Verschiedene Methoden zur Perfusion isolierter Herzen wurden beschrieben, wie die retrograde und antegrade Perfusion, und verschiedene Perfusionsmedien, wie kristalloide Lösungen [3, 15, 42] aber auch Blut [5, 25, 32, 81] wurden verwandt.

Die isolierte Perfusion von Säugetierherzen bietet heute eine Alternative zu Tierversuchen, bei denen die Einflüsse, beispielsweise der Narkose, auf die Herzfunktion berücksichtigt werden müssen [52]. Weiterhin bietet diese Methode den Vorteil einer hohen Reproduzierbarkeit sowie die Unabhängigkeit des Organs von systemischen Einflüssen, wie der neurohumoralen Kontrolle und der systemischen Zirkulation [15, 83, 115].

Die verschiedenen Perfusionsmethoden bieten zudem unterschiedliche Möglichkeiten zur Erforschung kardialer Mechanismen. So wurden im Rahmen des in dieser Arbeit vorgestellten Projekts ebenfalls Untersuchungen zu fluorometrischen Charakterisierungen des Stoffwechselzustandes an ex vivo perfundierten Schweineherzen durchgeführt [84]. Bei der von Langendorff [62] beschriebenen Methode werden hauptsächlich Herzen von Kleinsäugetieren verwendet, die jedoch durch ihre Größe und der damit verbundenen Handhabung sowie durch ihre kurze Perfusionsdauer nur begrenzt einsetzbar sind [12]. Demgegenüber bieten Herzen größerer Säugetiere eine bessere Zugänglichkeit während der Perfusion und ermöglichen daher die Erprobung medizintechnischer Geräte und gewähren die Übertragbarkeit auf das menschliche Herz. Hierbei ist speziell das Schweineherz hervorzuheben, welches in Anatomie und Physiologie dem menschlichen Herzen sehr ähnlich ist.

Als weiteres Modell der isolierten Perfusion wurde von Neely [79] erstmals 1967 das Working-Heart-Modell beschrieben, welches eine komplexere Präparation und die linksventrikuläre Füllung über das Atrium mit nachfolgender Ejektion über die Aorta beinhaltet. Hier kann die Pumpfunktion bei verschiedenen Füllungsdrücken und Nachlasten gemessen werden. Daraus entwickelte sich das Vierkammer-Working-Heart-Modell, bei dem nicht nur die linke Herzhälfte gefüllt ist, sondern auch der rechte Ventrikel Druck-Volumen-

Arbeit verrichtet. Dieses Modell besitzt die höchste Komplexität und wird derzeit weltweit nur in einer weiteren Arbeitsgruppe regelmäßig verwandt [15, 16, 42, 63, 105, 104].

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Methodenentwicklung und Charakterisierung eines Modells für die Hämoperfusion von isolierten Schweineherzen im Vierkammer-Working-Heart-Modus im Rahmen des DFG-Projektes „Verfahren zur Darstellung von EKG-Maps auf der von Ultraschallmessungen definierten Herzoberfläche“ (He 1669/11).

2 ZIELSTELLUNG

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines isolierten Herzmodells und das Erstellen von Rahmenbedingungen für eine Perfusion mit möglichst physiologischer Herzaktivität im Rahmen des DFG-Forschungsprojektes „Verfahren zur Darstellung von EKG-Maps auf der mit Ultraschallmessungen definierten Herzoberfläche“ (He 1669/11).

Für die notwendigen elektrischen Messungen am isolierten Tierherzmodell mussten zwei grundlegende Bedingungen erfüllt werden: Zum einen musste das Tierherz selbständig schlagen. Zum anderen musste es vollständig mit Perfusat gefüllt sein, um eine normale Ausbreitung des elektrischen Feldes zu gewährleisten. Hierfür war ein Vierkammer-Working-Heart erforderlich. Um die Übertragbarkeit der ermittelten Daten zu gewährleisten, wurde das dem Mensch in Anatomie und Physiologie sehr ähnliche Schweineherz verwendet.

Um eine optimierte Darstellung der EKG-Maps mittels 75 Elektroden zu erhalten, mussten störende Einflüsse eliminiert und Messungen in einem elektrisch homogenen Medium durchgeführt werden. Die im EKG-Mapping-Verfahren am isolierten Herzen erfassten Ableitungen dienten der Validierung einer gleichartig gebauten EKG-Mapping-Anlage, die für die kardiologische Klinik verwendet wird.

Zudem sollte die Handhabbarkeit des Modells geprüft und Grundlagen für eine Weiterentwicklung und Optimierung des Modells aufgezeigt werden. Hier bestand ebenfalls das Ziel, die ermittelten Druck- und Flusswerte im Perfusionssystem kontinuierlich aufzuzeichnen und der weiteren Auswertung zugänglich zu machen.

3 THEORETISCHER HINTERGRUND

Herzerkrankungen zählen zu den häufigsten Todesursachen in Deutschland (Tabelle 3.1.1), sodass der Erforschung und Weiterentwicklung neuer Methoden der Prävention und Diagnostik sowie Therapie ein großer Stellenwert zukommt. Das EKG-Mapping-Verfahren stellt dabei eine Methode der nichtinvasiven Diagnostik dar, die detaillierte Aufzeichnungen von Herzaktionen liefert.

Sterbefälle nach den häufigsten Todesursachen insgesamt 2004			
ICD-10 Pos.Nr.	Todesursache	Gestorbene insgesamt	
		Anzahl	Anteil an insgesamt in %
I 25	Chronische ischämische Herzkrankheit	84 163	10,3
I 21	Akuter Myokardinfarkt	61 736	7,5
I 50	Herzinsuffizienz	48 184	5,9

Tabelle 3.1.1 Sterbefälle gemäß dem Statistischen Bundesamt Deutschland 2005

Zur Optimierung und Weiterentwicklung des EKG-Mapping-Verfahrens wurde ein isoliertes Herzmodell benötigt. Die Grundlagen zur Entwicklung dieses Vierkammer-Working-Heart-Models werden in den folgenden Kapiteln dargelegt und auf die Übertragbarkeit des Modells im Hinblick auf Anatomie und Physiologie des humanen und porcinen Herzens eingegangen.

3.1 Anatomie des humanen und porcinen Herzens

Im folgenden Kapitel wird ein Überblick über Anatomie des Herzen gegeben und speziell auf den Vergleich der Anatomie des Herzen zwischen Mensch und Schwein eingegangen. Die Angaben zur allgemeinen Anatomie sind, wenn nicht anders ausgewiesen, den Fachbüchern entnommen [57, 64, 80, 103].

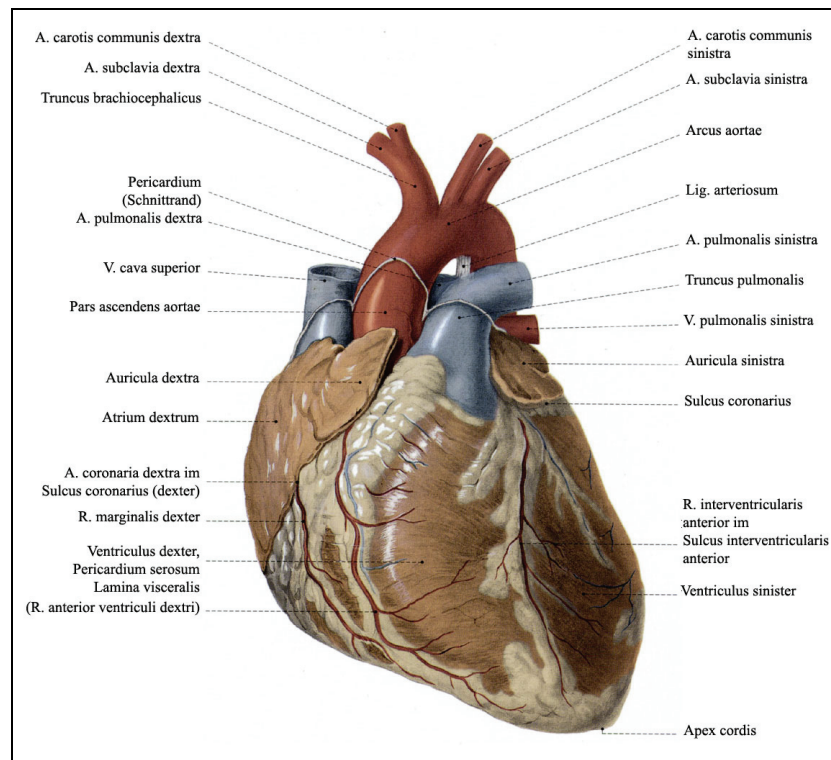


Abbildung 3.1.1 Herz und herznahe GefäÙe nach Köpf-Maier [58]

Das Herz (siehe Abbildung 3.1.1) als muskuläres Hohlorgan dient dem Bluttransport durch den Organismus und wird in eine rechte und eine linke Herzhälfte unterteilt, die dem Lungenkreislauf sowie dem Körperkreislauf zugeordnet sind. Beide Herzhälften unterteilen sich wiederum in Vorhof (Atrium) und Herzkammer (Ventriculus).

In das Atrium dextrum mündet die Vena cava inferior (bzw. Vena cava caudalis beim Schwein), die Vena cava superior (bzw. Vena cava cranialis beim Schwein) und der Sinus coronarius. Durch die Valva atrioventricularis dextra (Trikuspidalklappe) gelangt das venöse Blut aus dem Atrium in den Ventriculus dexter cordis, der eine geringere Wandstärke aufweist als der Ventriculus sinister cordis. Aus dem Ventriculus dexter strömt das Blut durch die Valva trunci pulmonalis in den Truncus pulmonalis und gelangt somit in den Lungenkreislauf. In das Atrium sinistrum cordis münden die Venae pulmonales. Das sauerstoffreiche Blut strömt weiter durch die Valva atrioventricularis sinistra (Mitralklappe) in den Ventriculus sinister cordis. Von dort aus gelangt das Blut durch die Valva aortae in die Aorta und damit in den Körperkreislauf.

KoronargefäÙe und Versorgungstypen

Der Versorgung des Herzens dienen die Herzkranzarterien, die Aa. coronariae cordis, die sich in die A. coronaria sinistra und die A. coronaria dextra (RCA) unterteilen. Diese zwei

subepikardial verlaufenden Koronararterien entspringen als einzige Äste der Aorta ascendens unmittelbar oberhalb der Semilunarklappen sowohl beim Menschen als auch beim Schwein. Die A. coronaria sinistra, die im Sinus aortae sinister entspringt und zwischen Truncus pulmonalis und linkem Herzohr nach ventral zieht, teilt sich weiter auf in den Ramus circumflexus (RCX) und den Ramus interventricularis anterior (beim Mensch; RIVA) bzw. Ramus interventricularis paraconalis (beim Schwein). Die A. coronaria dextra entspringt im Sinus aortae dexter und zieht unter dem rechten Herzohr im Sulcus coronarius dexter bis zur Facies diaphragmatica, und setzt sich dann als Ramus interventricularis posterior (bzw. Ramus interventricularis subsinuus beim Schwein) fort. Die Anatomie der Koronarien ist bei Mensch und Schwein bezüglich ihres Verlaufes und ihrer Verzweigungen vergleichbar [7].

Die Koronararterien versorgen in unterschiedlichem Maße die Gebiete des Herzens. Hierbei werden drei verschiedene Typen unterschieden, die in der Abbildung 3.1.2 dargestellt sind.

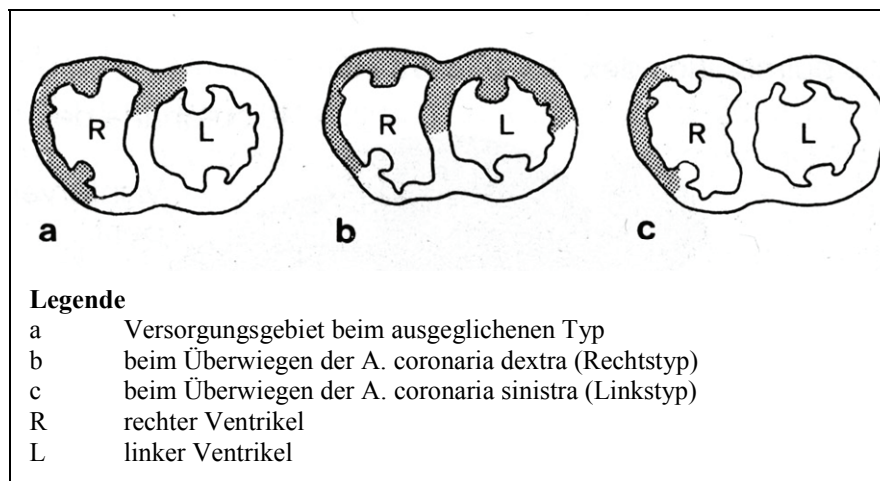


Abbildung 3.1.2 Versorgungsgebiete der A. coronaria sinistra (hell) und der A. coronaria dextra (dunkel) im Bereich der Ventrikel (nach Töndury 1970) [123]

Das Herz des Menschen und des Schweins weisen enorme Ähnlichkeiten in der Art ihrer koronaren Versorgung auf. Hierzu ist in der Abbildung 3.1.3 die Einteilung der Versorgungstypen nach Stolte [113] aufgeführt. Der überwiegende Anteil der menschlichen Herzen weist nach dieser Definition einen Normalversorgungstyp auf.

Koronararterien - Versorgungstypen		
Typ	Vorkommen beim Menschen	Kennzeichen
Normalversorgungstyp = balancierter Typ = Indifferenztyp	60 - 80 %	<ul style="list-style-type: none"> ● R. interventricularis posterior entspringt aus der A. coronaria dextra ● 1-2 postero-laterale Äste zur Versorgung eines schmalen Streifens der linksventrikulären Hinterwand
Rechtsversorgungstyp	12 - 25 %	<ul style="list-style-type: none"> ● R. interventricularis posterior entspringt aus der A. coronaria dextra ● mehrere postero-laterale Äste versorgen die gesamte Hinterwand des linken Ventrikels; oft bis hin zur linken Herzkante
Linksversorgungstyp	10 - 18 %	<ul style="list-style-type: none"> ● R. interventricularis posterior geht aus dem R. circumflexus ab ● A. coronaria dextra ist hypoplastisch; läuft als R. marginalis dexter oder R. posterolateralis dexter aus

Abbildung 3.1.3 Versorgungstypen beim Menschen nach Stolte (1981) [113]

Nach Nickel et al. [80] besteht beim Schwein entsprechend der Verzweigung der Herzkranzarterien ein beidseitig koronaren Versorgungstyp, der mit dem Normalversorgungstyp des Menschen vergleichbar ist. Hierbei sind beide Koronararterien zu gleichen Teilen an der Blutversorgung des Herzmuskels und Septums beteiligt. In der vergleichenden Arbeit von Weaver et al. [133] wurde das Herz des Schweins zu 49 % durch die rechte und zu 51 % durch die linke Koronararterie versorgt. Weiterhin wurde in diesen Untersuchungen bei 20 % der Schweine ein R. intermedius, der der A. coronaria sinister entspringt, gefunden. Dieser R. intermedius, der in Form einer Trifurkation aus der A. coronaria sinister zusammen mit dem R. interventricularis anterior und dem R. circumflexus entspringt, wird ebenfalls bei 20-30 % der Menschen beobachtet. Als Ergebnis dieser Arbeit zeigten sich auffällige Übereinstimmungen in der Versorgung einzelner Herzbereiche durch die Koronarien bei Mensch und Schwein.

Beim menschlichen Herzen bestehen zahlreiche Anastomosen zwischen den Endverzweigungen der Koronararterien, die jedoch aufgrund ihres geringen Durchmessers von 200-350 µm nicht für einen effizienten Kollateralkreislauf ausreichen. Somit werden die Koronararterien beim Mensch als funktionelle Endarterien bezeichnet [103]. Beim Schwein

wurden einige endokardial verlaufende Anastomosen zwischen linker und rechter Koronararterie beschrieben [100, 131]. Bei akutem Verschluss reichen diese jedoch ebenfalls nicht für einen effizienten Kollateralkreislauf aus [80]. Durch Pharmaka sowie körperliches Training kann allerdings die Bildung von Kollateralen bei dieser Spezies induziert werden [100, 131]. Das zuvor in der kardiovaskulären Forschung häufig verwendete Hundeherz zeigt hingegen einen ausgeprägten Kollateralkreislauf und ist daher für Untersuchungen zur myokardialen Ischämie ungeeignet. Für derartige Studien wird vermehrt das Schwein als Modell eingesetzt [1, 29, 41, 130, 134]. Es spiegelt die Gegebenheiten eines jungen menschlichen Herzens wieder. Ischämisch vorerkrankte Herzen werden hingegen besser durch Hundeherzen repräsentiert, da hierbei die Bildung von Kollateralen induziert wird [41, 131].

Venöser Abstrom

Der venöse Abstrom aus dem Herzen wird durch die Herzvenen gesichert. Der überwiegende Anteil des venösen Blutes gelangt durch den Sinus coronarius, der Zuflüsse aus der V. coronaria sinistra, V. ventriculi sinistri posterior, V. interventricularis posterior, V. coronaria dextra und der V. obliqua atrii sinistri erhält, in das rechte Atrium. Weiterhin sind beim menschlichen Herzen [103] als auch beim Schweineherzen [80] kleinere Venae cardiae parvae und minimae (bzw. Venae cordis parvae und minimae) vorhanden, die das Blut direkt in die Herzzräume abgeben.

Einen Hauptunterschied zeigt der venöse Rückstrom zum Herzen: So mündet beim Schwein die Vena azygos sinistra direkt in den Koronarsinus, worauf bei in-vivo-Untersuchungen geachtet werden muss [17, 80, 130, 131]. Die Vena azygos dextra, die nur selten vorhanden ist, mündet in die Vena cava cranialis [57]. Beim Menschen hingegen mündet die Vena hemiazygos auf Höhe des siebenten oder achten Brustwirbels in die Vena azygos, die dann in die Vena cava superior einmündet [103]. Zudem bedingt durch die Lage im Körper des Schweins münden die Vena cava cranialis und caudalis im 90°-Winkel in den rechten Vorhof. Beim Menschen liegen diese Venen in einer Linie zum Herz [17].

Herzklappen

Untersuchungen von Herzklappen verschiedener Säugetierherzen zeigten besonders große Ähnlichkeiten von Schweineherzklappen zu menschlichen Herzklappen bezüglich der Anatomie, Abmessung und Beschaffenheit, so dass schon 1969 diese Klappen für den Einsatz als Xenotransplantate in der Herzchirurgie vorgeschlagen wurden [99]. In den

Untersuchungen von Sim et al. [107] an humanen und porcinen Aortenklappen zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Umfang und Durchmesser. Die einzelnen Taschenklappen hingegen wiesen unterschiedliche Größen auf, was sich auf die Hämodynamik auswirken könnte. Untersuchungen zu hämodynamischen Auswirkungen von künstlichen Mitralklappenprothesen erfolgten ebenfalls am Schweinmodell [128]. Als Bioprothese beim Herzklappenersatz, vor allem der Aortenklappe, wird heutzutage meistens die Schweineherzklappe verwandt [107].

Herzgewichte

Die Herzform des Schweins wird als breit-plumpe Kegelform mit wenig ausgeprägter Spitze - auch als „Valentine Heart“-Form - beschrieben [57]. Dem gegenüber steht die trapezoide Form des menschlichen Herzens, die unter anderem durch die Lage im Thorax bedingt ist [17].

Bezüglich der absoluten und relativen Herzgewichte bei Mensch und Schwein sowie vergleichend zum Schaf, gibt Tabelle 3.1.1 einen Überblick.

Art	Herzgewicht	relativ zum Körpergewicht
Mensch	300-500 g	0,40 - 0,50 %
Schwein	240-500 g	0,23 - 0,28 %
Schaf	220-240 g	0,45 - 0,50 %

**Tabelle 3.1.1 Herzgewicht (Mensch, Schwein, Schaf)
in Anlehnung an KOCH und BERG (1993) [57]**

Bei ausgewachsenen Schweinen (mehr als 100 kg) ist das Verhältnis von Herzgewicht zum Körpergewicht kleiner als bei anderen Tieren, wobei bei den normalerweise in der Forschung verwendeten jungen Schweinen mit einem Körpergewicht von 25-30 kg dieses Verhältnis nahezu dem Verhältnis beim Menschen (0,5 %) entspricht [1, 46, 47, 130]. Zudem ist das kardiovaskuläre System beim Jungschwein ausreichend ausgereift, um sie als Modell in der Forschung einzusetzen [130].

Auch wenn von Crick et al. [17] einige Unterschiede in der Anatomie des humanen und porcinen Herzens fanden, weist das Schweineherz größere anatomische Ähnlichkeiten zum menschlichen Herz als beispielsweise das Hundeherz auf. Dadurch begründet sich die Einsetzbarkeit von porcinen Herzen als ex-vivo-Modell in der kardiovaskulären Forschung.

3.2 Physiologie und Hämodynamik des Herzens

Im folgenden Abschnitt werden die Physiologie und die Hämodynamik des Herzens dargestellt. Die Stoffwechsel- und Elektrophysiologie des Herzens wird kurz dargestellt, um die Voraussetzung für eine effiziente Perfusion der Herzen aufzuzeigen. Weiterhin wird ein Überblick über die Grundlagen der Elektrokardiographie gegeben und speziell auf das EKG-Mapping-Verfahren eingegangen. Wenn nicht anders ausgewiesen, beziehen sich die Angaben in den folgenden Abschnitten auf Mensch und Schwein gleichermaßen.

3.2.1 Stoffwechselphysiologie des Herzens

Die Energiegewinnung des Herzmuskels erfolgt hauptsächlich durch die oxydative Phosphorylierung, durch die dem Herzen Adenosintriphosphat (ATP) als Energiequelle zur Verfügung gestellt wird. Das zum Großteil für die Kontraktion und Erschlaffung des Herzmuskels benötigte ATP muss aus Adenosindiphosphat (ADP) synthetisiert werden. Hierfür benötigt das Herz geeignete Substrate und Sauerstoff [53].

Die Sauerstoffextraktion im Myokard beträgt etwa 65-75 % in Ruhe, so dass sich der Sauerstoffgehalt von 195 ml/l im arteriellen Blut auf nur 50-70 ml/l im Blut des Koronarsinus verringert. Der Sauerstoffpartialdruck (pO_2) im koronaren Venenblut erreicht somit nur etwa 20 mmHg. Zudem ist der myokardiale Sauerstoffverbrauch abhängig von der Größe und Art der zu leistenden Arbeit, so dass bei schwerer Arbeit eine Steigerung der Sauerstoffextraktion bis auf 90 % erfolgt. Dadurch sinkt der venöse Sauerstoffpartialdruck dann bis auf 10 mmHg, wobei der erhöhte Sauerstoffbedarf vornehmlich durch eine gesteigerte Durchblutung und nur in geringem Maße durch die erhöhte Extraktion gedeckt wird [65]. Beim Schwein fand sich in den Untersuchungen von Thielscher et al. [119] sogar eine Sauerstoffausschöpfung aus dem arteriellen Blut von 97 % in Körperruhe. Hiermit wird die zentrale Bedeutung des oxydativen Stoffwechsels deutlich.

Als Substrate für die Energiegewinnung im Herzmuskel beim Menschen werden hauptsächlich Fettsäuren (50-60 %) sowie Glucose (30 %) und Lactat (20 %), aber auch Pyruvat und andere Substrate verwendet [21, 35, 53, 115]. Allerdings unterliegt dieses Verhältnis starken Schwankungen, die durch die Nahrungsaufnahme, körperliche Aktivität oder pathophysiologische Zustände beeinflusst werden, so dass bei verändertem Angebot an Substraten das Herz entsprechend andere Substrate zur Energiegewinnung verwendet. Dies stellt eine Besonderheit des Herzmuskels dar. So ist beispielsweise das Gehirn auf die

Bereitstellung von Glucose angewiesen [53]. Die Umsetzung der Substrate, die unterschiedliche Energiemengen in Form von ATP liefert, wird außerdem durch weitere Faktoren beeinflusst. So wird die Glucoseoxidation durch Fettsäuren gehemmt und die Oxidation der Fettsäuren durch Glucose. Letzteres wird zudem verstärkt durch Insulin, welches die Konzentration von Fettsäuren herabsetzt [21]. Im Gegensatz zum menschlichen Herzen, in dem die Fettsäuren die Hauptenergiequellen darstellen, zeigte sich bei Untersuchungen am Schwein eine Dominanz des Lactats als Substrat [115, 119]. Aber sowohl das humane als auch das porcine Herz ist in der Lage, seine Energiegewinnung entsprechend der arteriellen Substratkonzentration schnell umzustellen, so dass der limitierende Faktor im Stoffwechsel des Herzens die Verfügbarkeit von Sauerstoff ist.

Unter anaeroben Bedingungen erfolgt die Umstellung des Stoffwechsels auf die anaerobe Glykolyse, bei der vermehrt Glucose und Glykogen abgebaut werden. Eine ausreichende Energiegewinnung ist hierbei jedoch nicht möglich, wobei die Fähigkeit, den Energiebedarf anaerob zu decken, vom Ventrikelmyokard über das Vorhofmyokard bis hin zum Reizleitungssystem zunimmt [11]. Weiterhin entsteht vermehrt Lactat, so dass dieses Stoffwechselprodukt oft als Indikator für die Gewebeschädigung im Herzen herangezogen wird. Zeitgleich sinkt der pH-Wert im Myokard ab und es kommt zur Gewebeazidose. Dadurch ist die Reserve von ATP unter anaeroben Bedingungen schnell erschöpft - das Herz kann ohne die Bereitstellung weiterer Reserven nur etwa 10 s schlagen [53, 126].

3.2.2 Elektrophysiologie des Herzens

Zum besseren Verständnis der mechanischen Herzarbeit soll in diesem Abschnitt kurz auf die Erregungsbildung und -leitung des Herzens eingegangen werden. Zudem werden die Charakteristika des Elektrokardiogramms (EKG) sowie des EKG-Mappings dargestellt.

3.2.2.1 Erregungsbildung und -leitung

In Abbildung 3.2.1 ist das Reizleitungssystem des Herzens schematisch dargestellt. Der Sinusknoten liegt hierbei im rechten Vorhof nahe der Einmündung der Vena cava superior und stellt aufgrund hoher Entladungsfrequenz den primären Schrittmacher des Herzens dar [53].

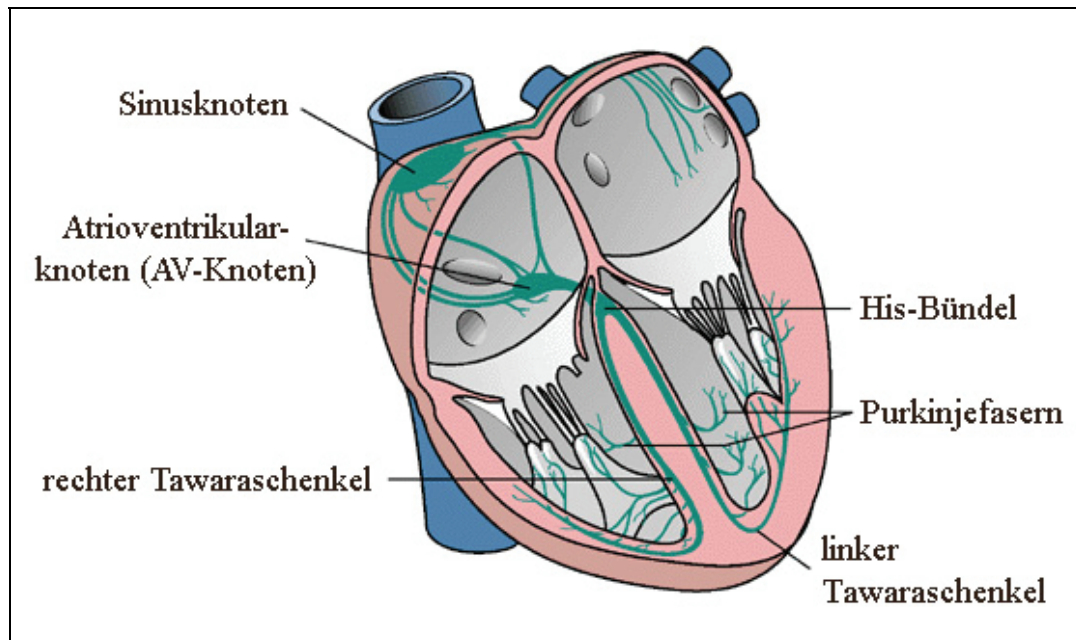


Abbildung 3.2.1 Erregungsleitungssystems des Herzens nach Roche Lexikon Medizin, 5.Auflage [94]

Die Erregung des Herzens breitet sich von diesem Schrittmacher über die gesamte Muskulatur der Vorhöfe aus und erreicht den Atrioventrikularknoten (AV-Knoten), der auf Höhe des Septum auf der Grenze zwischen Vorhof und Ventrikel lokalisiert ist, nach etwa 150 ms. Dieser wird als sekundärer Schrittmacher bezeichnet und besitzt eine verlangsamte Leitungsgeschwindigkeit, die den Ventrikel vor zu hohen Frequenzen schützt. In den nachgeschalteten Leitungsfasern, dem His-Bündel, den Tawara-Schenkeln und den Purkinjefasern, nimmt die Leitungsgeschwindigkeit wieder zu, wodurch die verschiedenen Regionen der Kammermuskulatur gleichmäßig erregt werden [53].

3.2.2.2 Elektromechanische Kopplung

Nach Erregung des Sinusknoten und Erreichen eines Schwellenpotentials von -65 mV wird in der Herzmuskelzelle ein Aktionspotential ausgelöst. Dieses hat im Ventrikelmyokard eine Dauer von etwa 300 ms und besitzt eine charakteristische Form. Es wird in die Phase der Depolarisation, die Plateauphase sowie die Phase der Repolarisation eingeteilt. Am Anfang steht der rasche Na^+ -Einstrom in die Zelle innerhalb von 1-2 ms, der ein Membranpotential von +40 mV hervorruft. Dieser Depolarisationsphase schließt sich die Plateauphase an, in der ein langsamer Ca^{++} -Einstrom entsprechend dem elektromechanischen Gradienten an der Membran erfolgt. Die letzte Phase resultiert durch K^+ -Ausstrom in der Repolarisation der Zelle. Die Mechanismen zwischen Membrandepolarisation und Kontraktion des Herzens werden als elektromechanische Kopplung bezeichnet. Hierbei spielt die Ca^{++} -Konzentration in der Zelle eine wichtige Rolle. Durch den Einstrom der Calcium-Ionen während der Plateauphase werden zusätzlich Calcium-Ionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt. Jedoch bestimmend für die Kontraktionskraft des Herzmuskels ist der Einstrom aus dem Extrazellulärraum, so dass eine Ca^{++} -freie Perfusion des Herzens nach wenigen Schlägen zum Herzstillstand führt. Durch die erhöhte Ca^{++} -Konzentration wird die Aktivierung der Querbrücken in den Myofibrillen vermittelt und es kommt zur Kontraktion in der entsprechenden Muskelfaser. Die Erschlaffung erfolgt dann durch Absinken der Ca^{++} -Ionen in der Zellen. Dies geschieht sowohl durch die ATP-abhängige Aufnahme der Calcium-Ionen in das sarkoplasmatische Retikulum als auch durch den $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Austausch über der Zellmembran [53].

3.2.2.3 Das Elektrokardiogramm

Das Elektrokardiogramm (EKG) dient der klinischen Diagnostik kardiologischer Erkrankungen und gibt Auskunft über die Ausbreitung der elektrischen Erregung über Vorhof- und Ventrikelmyokard. Erste Aufzeichnungen gelangen Einthoven um die Jahrhundertwende. Grundlage für die Aufzeichnung eines EKGs ist die Entstehung eines elektrischen Dipols zwischen erregtem und unerregtem Muskelgewebe. Auf der Körperoberfläche lassen sich diese Potentialschwankungen nachweisen. Die jeweiligen Potentialdifferenzen werden als Einzelvektoren, die die Größe und Richtung der Erregung im Herzmuskel angeben, dargestellt und zum Integralvektor summiert. An der Körperoberfläche werden diese Potentiale im zeitlichen Verlauf registriert und ergeben damit die charakteristischen Kurven im Elektrokardiogramm (EKG) [53]. Hierbei spiegelt die P-Welle die Erregung im Vorhof, der QRS-Komplex die Kammererregung und die T-Welle die Repolarisation der Kammer

wider. Schon anhand der Dauer einzelner EKG-Phasen lassen sich Erkrankungen erkennen. So zeigt Tabelle 3.2.1 die Referenzwerte für die EKG-Phasen am Menschen und Schwein (nach Schaub und Dukes [26, 101]).

EKG-Referenzwerte		
	Mensch	Schwein
P-Welle	<0,1 s	0,06 s
PQ-Dauer	0,12-0,2 s	0,12 s
Q-Dauer	<0,04 s	
QRS-Dauer	<0,1 s	0,06 s
QT (abhängig von HF)	~0,3 s	0,24 s

Tabelle 3.2.1 EKG-Referenzwerte für Mensch und Schwein
(nach Schaub, F.A. [101] und Dukes, T.W. [26])

Zudem sind verschiedene invasive und nichtinvasive Ableitungen der Herzaktivität, die in Tabelle 3.2.2 zusammengefasst sind, möglich. Hierbei werden bei den bipolaren Ableitungen die Potentialdifferenzen zwischen zwei Elektroden gemessen, wohingegen bei der unipolaren Ableitung die Messung der Spannung zwischen einer Elektrode und einer Referenzelektrode, die sich aus dem Zusammenschluss der übrigen Elektroden ergibt, erfolgt [53, 87].

Ableitungen des Elektrokardiogramms	
nichtinvasive Verfahren	invasive Verfahren
bipolare Standardableitung nach Einthoven	HIS-Bündel-Ableitung
bipolare Brustwandableitung nach Nehb	Intrakardiales EKG (endo- und epikardiale Ableitung einzelner Herzbereiche)
unipolare Brustwandableitung nach Wilson	
unipolare Extremitätenableitung nach Goldberg	Ösophagus-EKG
orthogonale Ableitung nach Frank	
EKG-Mapping (Body Surface Potential Map)	

Tabelle 3.2.2 Möglichkeiten der Ableitung des EKGs
(nach Pschyrembel 2004 [87] und Roche Lexikon Medizin 2003 [94])

Das EKG-Mapping-Verfahren stellt dabei eine neuere nicht-invasive Untersuchungsmöglichkeit dar, die das elektrische Herzfeld räumlich darstellt. Im folgenden Kapitel wird darauf näher eingegangen.

3.2.2.4 Das EKG-Mapping-Verfahren

Beim EKG-Mapping-Verfahren wird die Erregung im Herzen über zahlreiche Elektroden (bis zu 150) abgeleitet, so dass dreidimensionale Aufzeichnungen der Potentialänderungen möglich sind. Dieses Verfahren fand vor allem Einzug in die Klinik im Rahmen von Katheterablationen bei ventrikulären Tachykardien [23, 95, 136]. Es stehen verschiedene Mapping-Verfahren zur Verfügung. Einerseits können EKG-Maps über einen Linksherzkatheter endokardial (NOGATM, CARTOTM) abgeleitet werden [14, 33, 59]. Andererseits besteht die Möglichkeit der epikardialen Ableitung über so genannte Sockenelektroden oder perkutan eingeführte Katheter [90, 110, 114]. Im Gegensatz zu diesen beiden Methoden stellt das transthorakal abgeleitete EKG-Mapping ein nicht-invasives Verfahren zur Diagnostik von Erregungsstörungen dar. Es wird auch als Body Surface Potential Map (BSPM) bezeichnet und kommt sowohl für Untersuchungen im Rahmen von Katheterablationen als auch zur Diagnostik von Erkrankungen, wie beispielsweise das Wolff-Parkinson-White-Syndrom, zum Einsatz [124, 125]. Zumeist werden hierfür spezielle Matten mit Elektroden versehen und auf dem Thorax anterior und posterior angebracht. Durch unipolare Ableitung, die ähnlich der Ableitung nach Wilson gestaltet ist, werden Darstellungen mit entsprechenden Isopotentiallinien möglich. Das EKG-Mapping-Verfahren, welches in diesem Projekt zur Anwendung kam, erfolgt über die Projektion auf eine Kugel, um individuelle Unterschiede in den Thorax- und Herzformen zu beseitigen.

3.2.3 *Hämodynamik des Herzens*

In diesem Kapitel wird die Hämodynamik des Herzens kurz dargestellt, um im Perfusionssystem gemessene Daten vergleichbar zu machen und die Voraussetzungen für eine stabile Perfusion aufzuzeigen. Die nachfolgenden Angaben zur Hämodynamik sind, wenn nicht anders ausgewiesen, den Fachbüchern entnommen [53, 65, 127].

3.2.3.1 **Die Phasen des Herzzyklus**

Das Herz als zentrales Organ des Kreislaufs durchläuft während eines Herzzyklus in rhythmischer Abfolge eine Kontraktionsphase (Systole) und eine Entspannungsphase (Diastole). Hierbei wird in der Systole in Anspannungsphase und Austreibungsphase sowie in der Diastole in Entspannungsphase und Füllungsphase unterschieden.

Die isovolumetrische Kontraktionsphase, die etwa 0,05 s dauert, wird durch den Druckanstieg im Ventrikel eingeleitet, so dass sich durch den entstehenden Druckgradienten zwischen den Ventrikeln und den Vorhöfen die atrioventrikulären Klappen schließen. Die zunehmende Wandspannung in den Ventrikeln führt zu einem steilen Druckanstieg, wobei die hierbei gemessene Druckanstiegsgeschwindigkeit $(dp/dt)_{\max}$ oft als Index für die kardiale Kontraktibilität verwendet wird.

Die nachfolgende Austreibungsphase, die auch als auxotone Kontraktionsphase bezeichnet wird, dauert etwa 0,3 s und wird durch das Übersteigen des arteriellen Drucks durch den Ventrikeldruck bei etwa 80 mmHg (10,66 kPa) ausgelöst, so dass sich die Semilunarklappen öffnen. In der ersten Hälfte dieser Phase, der so genannten schnellen Ejektionsphase, werden etwa drei Viertel des Schlagvolumens ausgeworfen, wodurch der arterielle Druck sein Maximum erreicht, den so genannten systolischen Wert. Nach etwa zwei Dritteln der Ejektionsphase beginnt die Entspannung des Ventrikels, jedoch aufgrund der Massenträgheit fließt das Blut weiterhin in das arterielle System. Schließlich werden die Klappen durch einen kurzen Rückstrom des Blutes (etwa 5 % des Schlagvolumens) geschlossen, wodurch wiederum ein kurzer Druckanstieg im arteriellen System verzeichnet werden kann. Während dieser Austreibungsphase wird der Ventrikel nicht vollständig entleert, sondern es werden etwa zwei Drittel des Blutvolumens ausgeworfen. Dieser Anteil wird als Auswurffraktion oder Ejektionsfraktion bezeichnet und beträgt beim Menschen normalerweise etwa 0,67. Das entspricht einem Schlagvolumen von 70-80 ml, so dass etwa 50 ml als endsystolisches Restvolumen im Ventrikel verbleiben.

Die anschließende isovolumentrische Erschlaffungsphase bzw. Relaxationsphase dauert etwa 0,08 s und ist gekennzeichnet durch den Schluss der Ventrikelklappen und einem schnellen Druckabfall in den Ventrikeln. Sobald der ventrikuläre Druck unter den Vorhofdruck absinkt, öffnen sich die atrioventrikulären Klappen und die Ventrikelfüllung beginnt. In Ruhe dauert diese Phase 0,5 s, bei der das Blut anfangs passiv aus den großen Venen durch die geöffneten Klappen in die Ventrikel strömt. In den ersten 0,15 s, die auch als schnelle Füllungsphase bezeichnet wird, füllt sich der Ventrikel zu etwa 60 %, wobei der ventrikuläre Druck aufgrund elastischer Wandstrukturen abfällt. Nachfolgend wird der Ventrikel in der langsamen Füllungsphase um 20 % gefüllt und mit der nun einsetzenden Vorhofkontraktion werden weitere 20 % in den Ventrikel gefördert. Das Blutvolumen im Ventrikel beträgt jetzt etwa 120 ml und wird enddiastolisches Volumen (EDV) genannt.

3.2.3.2 Flüsse und Drücke im Herzen

Der linke und rechte Ventrikel des Herzen kontrahieren sich innerhalb des Herzzyklus nahezu gleichzeitig und werfen etwa das gleiche Blutvolumen (in Ruhe etwa 5 l/min nach Urbaszek und Modersohn [127]) aus, jedoch ist der Druck im linken Ventrikel höher. Hierzu gibt Tabelle 3.2.3 einen Überblick gemäß den verschiedenen Herzphasen.

Druckverhältnisse im Herzen			
systemisch	- Mittel	70-105	mmHg
linksventrikulär	- syst.	100-140	mmHg
	- enddiast.	3-12	mmHg
linker Vorhof	- Mittel	2-10	mmHg
Pulmonalarterie	- Mittel	9-18	mmHg
rechtsventrikulär	- syst.	15-30	mmHg
	- enddiast.	2-8	mmHg
rechter Vorhof	- Mittel	2-8	mmHg

**Tabelle 3.2.3 Mittlere Druckwerte im Herzzyklus des Menschen
nach Harrisons Innere Medizin (2003) [22]**

Diese Unterschiede zwischen den Drücken sind auch bei dem Vergleich zwischen Aorta und A. pulmonalis wieder zu finden. Der sich pulsatorisch ändernde Druck sinkt in der Aorta zwischen zwei Austreibungsphasen von 120 mmHg auf 80 mmHg, wohingegen der pulmonale Druck von 25 mmHg auf 10 mmHg abfällt.

Die entsprechenden Druckkurven in den Ventrikeln und Vorhöfen während eines Herzzyklus sind in Abbildung 3.2.2 dargestellt. Die angegebenen Werte sind hierbei Referenzwerte, die durch Herzkatheteruntersuchungen ermittelt werden.

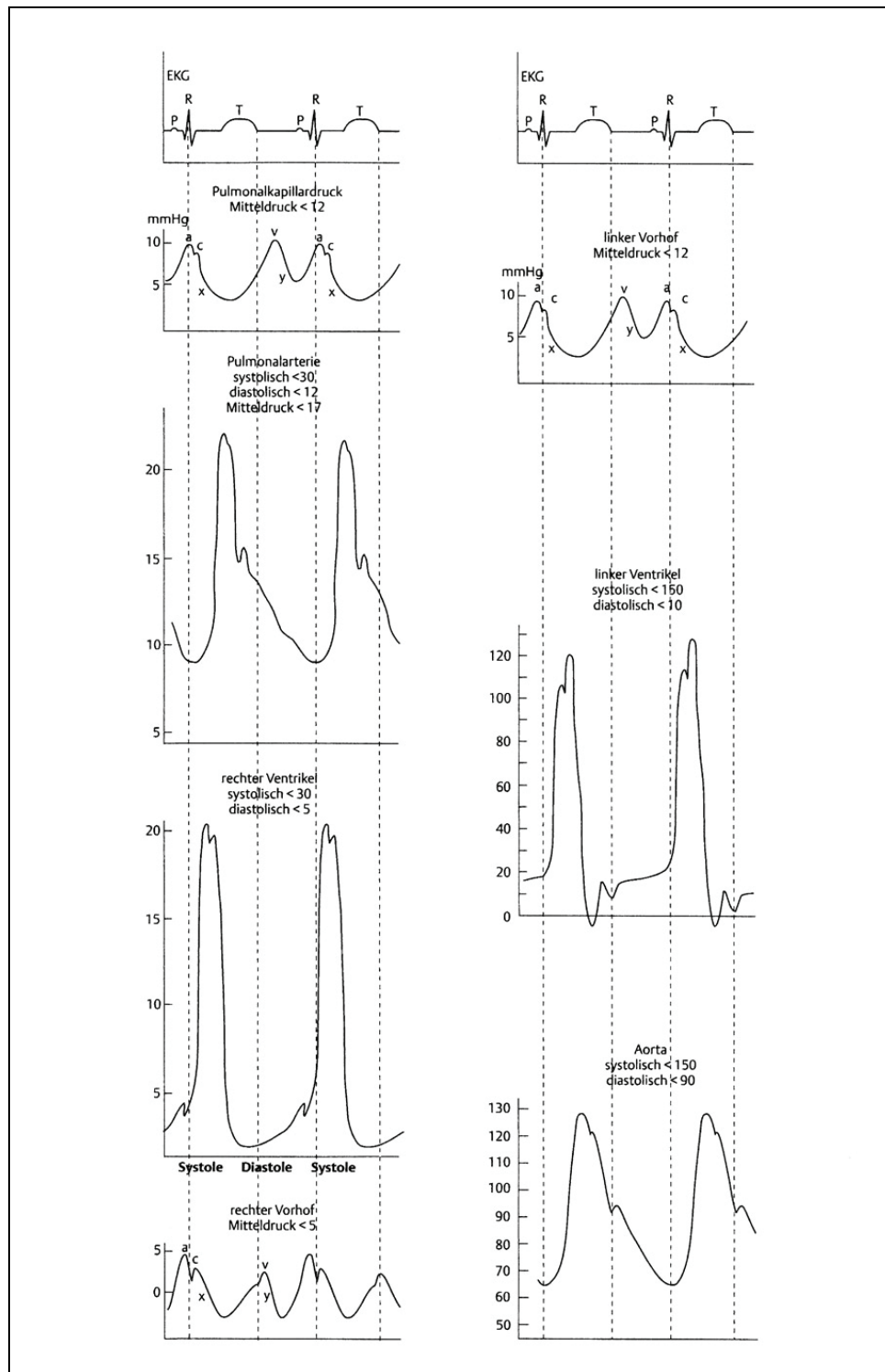


Abbildung 3.2.2 Intrakardiale Druckkurven während eines Herzzyklus nach Spyridopoulos (2006) [112]

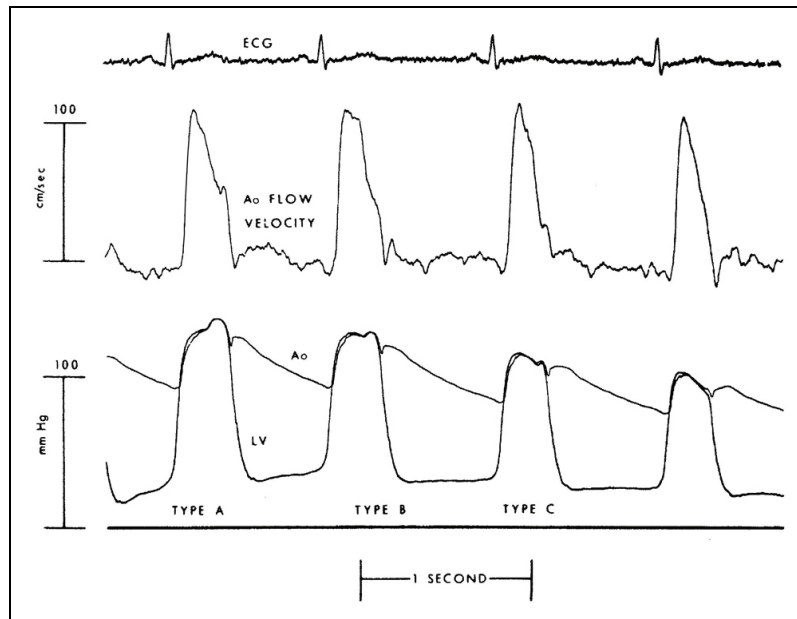


Abbildung 3.2.3 Linksventrikulärer Druck (LV) , Aortendruck (Ao) und Aortenfluß (Ao Flow) am Patienten während eines Valsalva-Manövers (nach Murgo et al. 1981 [77])

Die Abbildung 3.2.3 gibt einen Überblick über die sich während des Herzzyklus verändernden Drücke im linken Ventrikel und der Aorta sowie der Flussgeschwindigkeit in der Aorta. Letztere erreicht maximal einen Wert von 90-110 cm/s. Damit beträgt der Fluss in der Aorta maximal 400-500 ml/s, wobei der Fluss (\bar{Q}) den Durchlauf eines Volumens oder einer Menge pro Zeiteinheit bezeichnet. In der A. pulmonalis hingegen ergeben sich eine Flussgeschwindigkeit von 50 cm/s und ein Fluss von 300 ml/s.

Zur Veranschaulichung der vom Herzen geleisteten Druck-Volumen-Arbeit werden zumeist die Druck- und Volumenänderungen während des Herzzyklus aufgetragen. Dadurch bietet sich die Möglichkeit, wesentliche Myokarderkrankungen, wie die Herzinsuffizienz, deutlich zu machen, da der Ventrikeldruck und das Auswurfvolumen des Herzens aufgrund von Belastungen oder Herzerkrankungen stark variieren können.

Koronarfluss und Autoregulation

Bereits in Ruhe beträgt die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz am Herzen 140 ml/l Blut, so dass ein erhöhter Sauerstoffverbrauch bei gesteigerter Herzarbeit mit Hilfe eines gesteigerten koronaren Blutflusses (CBF) gedeckt wird. In Ruhe beträgt der Koronarfluss $70-80 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ und kann bis auf das fünffache erhöht werden, so dass Werte zwischen $300-400 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ bei maximaler Herzarbeit erreicht werden. Diese Steigerung des

Koronarflusses wird auch als Koronarreserve bezeichnet und stellt somit die Differenz zwischen maximal möglichem Fluss und Koronarfluss in Ruhe dar.

Als Faktoren, die den Koronarfluss beeinflussen, kommen physikalische, metabolische, neurohumorale und endotheliale Faktoren in Betracht (siehe Abbildung 3.2.4). So stellt der Aortendruck beziehungsweise der Perfusionsdruck eine treibende Kraft für den Koronarfluss dar. Eine weitere Rolle spielen die Konzentrationen von H^+ , K^+ , CO_2 , Stickstoffmonoxid (NO) und Adenosin bei der Perfusion der Koronarien, sowie die Katecholamine, die rezeptorvermittelte Reaktionen und Stimulationen der koronaren Endothelzellen hervorrufen. Zudem treten erhebliche Flussschwankungen während eines Herzzyklus auf, die durch die Anspannung der Ventrikel während der Systole bedingt sind. So erfolgt der wesentliche Anteil der Durchblutung in der Diastole (zu 80 % bei Ruheherzfrequenz), während der Fluss in den Koronarien in der Systole sistiert oder sich auch kurzzeitig umkehrt [30].

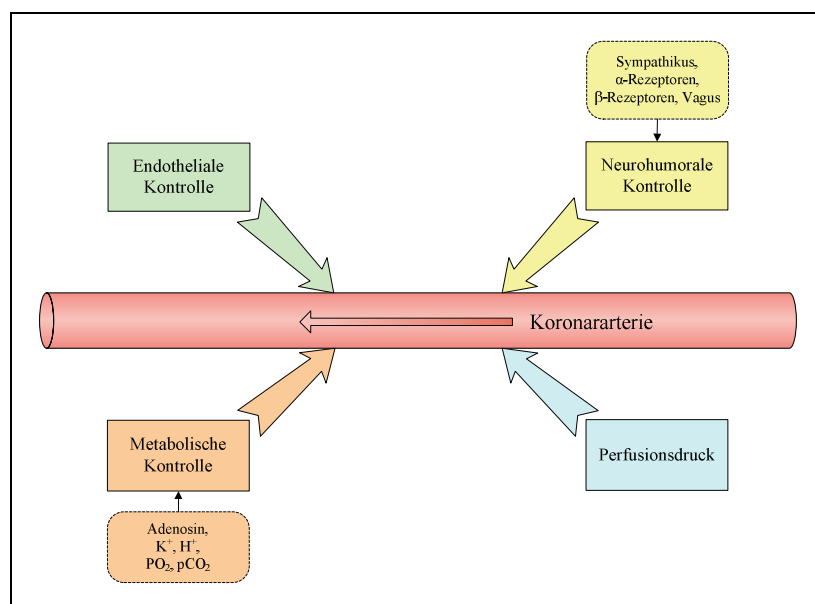


Abbildung 3.2.4 Faktoren zur Beeinflussung der Koronardurchblutung nach Klinke und Silbernagl (2005) [53]

Eine weitere Besonderheit der Koronargefäße ist die Autoregulation, die die Aufrechterhaltung eines konstanten Blutflusses trotz Erhöhung des arteriellen Drucks bezeichnet [44]. So wirkt sich eine Änderung des Perfusionsdruckes im Bereich von etwa 60-140 mmHg nur in geringem Maße auf die Koronardurchblutung aus [30, 44, 76]. Wird der Koronarfluss graphisch aufgetragen, so zeigt sich in diesem Bereich eine flache Kurve, die unterhalb und über diesen Druckwerten steiler verläuft. Jedoch wurden unterschiedliche Druckbereiche, in denen die Autoregulation stattfindet, für verschiedene Spezies beschrieben. Als Ursache für diesen Mechanismus kommen myogene, metabolische sowie Veränderungen

im Gewebedruck in Betracht [30, 44]. Zudem wurde beobachtet, dass im postischämischen Gewebe kein Autoregulationsmechanismus vorhanden ist. Diese Gegebenheit ist auf die Dilatation der Koronarien aufgrund mangelnder Sauerstoffzufuhr zurückzuführen und findet sich auch bei Perfusionen mit kristalloiden Lösungen wieder [20, 86]. Daher kommt es nach Ischämie zu einem gesteigerten Koronarfluss, der auch als reaktive Hyperämie bezeichnet wird. Dieser Zustand ist abhängig von der Dauer der Ischämie [13, 12].

Im Zusammenhang mit dem Koronarfluss im Herzen soll hier kurz der Organwiderstand erwähnt werden. Er berechnet sich aus dem Perfusionsdruck und dem Koronarfluss und wird häufig zur Beurteilung des Versuchsorgans herangezogen. Von Modersohn und Blasig [72] wird ein Normalwert von $1,0 \text{ mmHg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min} \cdot 100\text{g}$ beim menschlichen Herzen angegeben. In Untersuchungen von Budrikis et al. [13, 12] zeigte sich eine Erhöhung des Organwiderstands bei längerer Ischämiedauer, die wahrscheinlich Ausdruck einer endothelialen Dysfunktion im Myokard ist.

3.2.4 Vergleich der Physiologie zwischen Mensch und Schwein

Wie unter anderem von Chinchoy et al. [15] festgestellt wurde, eignen sich große Tierherzen (z.B. Schwein, Hund, Schaf) besser als kleine Tierherzen (z.B. Ratte, Meerschwein) zur Erforschung der Hämodynamik und des Kreislaufs, da sie bezüglich ihrer Flussverhältnisse eher dem menschlichen Herzen entsprechen.

Sowohl das Herzzeitvolumen, als auch die Aktionspotentiale der menschlichen Herzen und der Schweineherzen sind vergleichbar [38]. Die Herzfrequenz beim Menschen beträgt in Ruhe 60-75 /min [53] und der Referenzwert beim Schwein wird mit 70-90 /min angegeben [102]. Das menschliche Myokard wird mit 5 % des Herzzeitvolumens und das des Schweins mit 5 bis 10 % des Herzzeitvolumens versorgt [102]. Es zeigten sich jedoch Unterschiede in der Form des EKGs bei verschiedenen Spezies [25]. Aufgrund der unterschiedlichen Verteilung der Purkinjefaser im porcinen und humanen Herzen zeigen sich auch unterschiedliche Leitungszeiten [17, 47, 131]. So ist das PR-Intervall im Schweineherz kürzer ($70 \pm 113 \text{ ms}$) als im menschlichen Herzen ($120 \pm 200 \text{ ms}$) [17]. Diese Unterschiede in der elektromechanischen Aktivität bestätigten sich ebenfalls in Untersuchungen von Antiarrhythmika, die geringere Wirkung am Schweineherz als am menschlichen Herzen zeigten [131].

Trotz dieser Unterschiede weist das Schweineherz auch in physiologischer Sicht eine enorme Ähnlichkeit zum menschlichen Herzen auf [1, 38, 47]. Dies bestätigen ebenfalls zahlreichen Studien zur Elektrophysiologie im Schweineherzen [5, 27, 50, 90].

Parameter	Referenzbereich	
	Mensch	Schwein
Herzfrequenz - HF	60-75 min ⁻¹	70-90 min ⁻¹
Organfluss - CBF pro 100g	50-80 ml*min ⁻¹ *100g ⁻¹	60-120 ml*min ⁻¹ *100g ⁻¹
Perfusionsdruck - CPP	85-95 mmHg	80-120 mmHg
Organwiderstand - OW	1,00 mmHg*ml ⁻¹ *min*100g	
LVP	100-140 mmHg	100-210 mmHg
LVEDP	3-12 mmHg	4-20 mmHg
RVP	15-30 mmHg	20-40 mmHg
RVEDP	2-8 mmHg	4-15 mmHg

Tabelle 3.2.4 Referenzwerte für Menschen und Schweine nach Scheunert/Trautmann (1987) [102] und Klinke/Silbernagl (2005) [53]

Eine Übersicht zu den jeweiligen Referenzwerten von Mensch und Schwein zeigt die abgebildete Tabelle 3.2.4.

3.3 Isoliert perfundierte Herzen

Isolierte Herzen eignen sich besonders für gut kontrollierbare und reproduzierbare Untersuchungen ohne äußere Einflüsse, wie beispielsweise neuronale, humorale und metabolische Einflussfaktoren, und wurden unter anderem häufig für Studien zu Reperfusionsschäden, Myokardischämien oder Arrhythmien genutzt [5, 60, 82, 115, 130]. Die Perfusionsbedingungen, wie beispielsweise Vorlast, Nachlast, Perfusionsdruck und Herzfrequenz, können hierbei variiert und definiert werden, und weiterhin ist der direkte Zugriff auf das Organ gewährleistet [74]. Jedoch benötigt das in-vitro-Modell einige Zeit bis zum Erreichen einer stabilen Perfusion [130]. Zudem zeigt sich eine Verschlechterung der Herzfunktion über die Zeit, so dass der Untersuchungszeitraum auf wenige Stunden begrenzt ist [5, 25, 52, 74].

Verschiedene Modelle stehen für die unterschiedlichen Fragestellungen zur Verfügung. So wurden bisher verschiedene Methoden der Perfusion beschrieben, bei denen das Herz retrograd [62, 129] oder antegrad perfundiert wurde [15, 42, 74], unterschiedliche Perfusionsmedien sowie Herzen unterschiedlicher Säugetiere und auch Menschen verwendet wurden [42, 105, 139].

3.3.1 Historische Entwicklung isolierter, perfundierter Herzen

Die Entwicklung isoliert perfundierter Herzen geht auf eine weit über hundertjährige Geschichte zurück und wird im Folgenden dargelegt [25, 139, 140].

Im Jahr 1866 entwickelten Elie von Cyon und Carl Ludwig ein System zur Perfusion isolierter Froschherzen zur Erforschung des Einflusses der Temperatur auf die Herzaktion und legten damit den Grundstein in der Entwicklung dieser Perfusionssysteme [18]. Mit Hilfe dieses einfachen Perfusionsaufbaus war es Otto Frank möglich, seine Gesetzmäßigkeiten zum „Frank-Starling-Mechanismus“ des Herzens zu erforschen [31], die einige Jahre später von Starling auch am Wärmblütlerherzen nachgewiesen wurden [25].

Nachdem die Perfusion von Froschherzen, bei denen keine Koronarien und nur ein Ventrikel vorhanden sind, möglich war, wurde an der Perfusion von Säugetierherzen gearbeitet. Dies gelang 1881 Newell Martin mit der Entwicklung einer Perfusion von Hunde- und Katzenherzen, in der Vorlasten und Nachlasten variiert werden können, jedoch der Lungenkreislauf bestehen bleibt. Herz und Lunge verbleiben hierbei im Körper des Tieres, so dass dieser Aufbau als „in-vivo isoliert“ bezeichnet wird [68].

Aus dieser Methode ging 1912 die Herz-Lungen-Präparation (HLP) von Knowlton und Starling hervor, in die ein künstlicher arterieller Widerstand („Starling resistance“) eingebracht wurde und damit Untersuchungen zu Druck-Volumen-Beziehungen möglich wurden [55]. Zahlreiche Experimente zur Druck-Volumen-Arbeit wurden mit Hilfe dieser Präparation Anfang des 20. Jahrhunderts durchgeführt.

Oscar Langendorff entwickelte 1895 [62] eine andere Methode der isolierten Herzperfusion, bei der das Herz komplett vom restlichen Körper („ex-vivo isoliert“) getrennt und die Koronararterien retrograd über die Aorta perfundiert wurden. Hierbei verrichtete das Herz keine Druck-Volumen-Arbeit, da der linke Ventrikel nicht gefüllt wurde und aus dem rechten Ventrikel nur das Blut aus dem Koronarsinus austrat.

Eine Weiterentwicklung dieser Methode erfolgte durch Rhode (1910) [91], bei der die Koronarien separat perfundiert wurden. In den linken Ventrikel wurde ein flüssigkeitsgefüllter Ballon eingeführt, so dass dieser Druck-Volumen-Arbeit verrichtet. Eine andere Methode, die aus der Langendorff-Präparation hervor ging, war das „Vorhofkammerkreislaufpräparat“. Bei diesem von Rigler 1932 entwickelten System wurde der linke Ventrikel über den Vorhof gefüllt und dabei die Koronarien antegrad perfundiert [92]. Der

linke Kreislauf verrichtet Druck-Volumen-Arbeit wobei der rechte nur das Perfusat aus dem Koronarsinus erhält. Daraus ging im Jahr 1967 das von Neely entwickelte „Working-Heart“ hervor [79].

3.3.1.1 „Working Heart“

Die „Working-Heart“-Präparation wurde ebenso wie die Langendorff-Präparation für verschiedenste Fragestellungen modifiziert. Von Neely et al. wurde sie erstmals im Jahr 1967 beschrieben und für Untersuchungen zur Hämodynamik und des Stoffwechsels am Herzen verwandt [79]. In diesem Modell wird der linke Vorhof antegrad mit Perfusat gefüllt und das Herz wirft danach das Perfusat über die Aorta aus. Der linke Ventrikel leistet somit Druck-Volumen-Arbeit und Vor- und Nachlasten im Perfusionssystem können variiert werden [79]. Dabei kann die Pumpfunktion des Herzens bei verschiedenen Füllungen und verschiedenen Nachlasten gemessen werden. Die Vorlast stellt in diesem Versuchsaufbau den Überfluss des Reservoirs zum linken Atrium dar. Die Höhe der Flüssigkeitssäule über der Aorta bezeichnet hierbei die Nachlast des Herzens.

Eine Weiterentwicklung dieser Methode stellte die Vierkammer-Perfusion dar, bei der sowohl der linke also auch der rechte Ventrikel antegrad über die Vorhöfe perfundiert wurden und Druck-Volumen-Arbeit leisteten [15, 130]. Zudem sollte bei dieser Art der Perfusion ein Windkessel über der Aorta angebracht sein, der die Elastizität der Aorta widerspiegelt [25].

Zumeist wird das Herz zu Beginn der „Working-Heart“-Perfusion im Langendorff-Modus (retrograd) perfundiert um dann später in den „Working-Heart“-Modus durch Öffnung des Zuflusses zum linken Atrium übergegangen. Im Folgenden wird ein Druck von 8-12 mmHg im linken Vorhof eingestellt und entspricht damit der Vorlast. Das Herz wird somit antegrad perfundiert und treibt das Perfusat über die Aorta gegen eine Nachlast von 50-80 mmHg (Nachlast) aus. Der Zufluss zum linken Atrium kann in diesem Modell über einen konstanten hydrostatischen Druck oder über einen konstanten Fluss stattfinden. Über Variationen von Vorlast und Nachlast kann hierbei die kontraktile Funktion des Herzens eingehend studiert und Frank-Starling-Kurven konstruiert werden [25, 130, 137].

Gerade im Hinblick auf hämodynamische Untersuchungen bietet das „Working-Heart“ gegenüber der Langendorff-Perfusion Vorteile und wurde für zahlreiche Studien genutzt [3, 74, 86, 117]. Die so genannte Vierkammerperfusion, bei der beide Herzkammern antegrad gefüllt werden und damit Druck-Volumen-Arbeit leisten, stellt eine Sonderform des

„Working-Heart“ dar und wird weltweit nur von einer Arbeitsgruppe regelmäßig für Studien genutzt [15, 42, 105, 104].

3.3.2 Wahl des Versuchstieres

Zur isolierten Perfusion können sowohl Säugetierherzen, als auch Herzen anderer Spezies verwendet werden, wie bspw. von Fröschen und Vögeln [115]. Ebenfalls wurde berichtet von Perfusion großer Säugetierherzen, wie dem Schwein, dem Affen und auch dem Menschen, die jedoch aufgrund größerer Anlagen und erhöhtem Bedarf von Perfusionslösung meistens mit erheblichen Kosten einhergehen [115]. Daher hat die Perfusion von Kleinsäugerherzen einen großen Stellenwert und bietet etablierte Perfusionsmethoden. In diesem Forschungsprojekt war es jedoch nötig ein Modell auszuwählen, welches mit dem Menschen vergleichbare hämodynamische und elektrophysiologische Daten liefert.

Wie schon in den Kapiteln 3.1 und 3.2 aufgeführt, bietet hier das Schweineherz ein dem Menschen sehr ähnliches Modell zur Untersuchung vielseitiger Fragestellungen, insbesondere jedoch bezüglich der Hämodynamik [7, 15, 17, 69, 105, 116]. Daher wurden für die Entwicklung dieses Perfusionsmodells Herzen von Schweinen explantiert und perfundiert.

3.3.3 Kardioplegie

Für die isolierte Perfusion von Herzen ist es wichtig, das Myokard von der Entnahme bis zum Anschluss an das Perfusionssystem effektiv zu schützen. Hier stehen verschiedene Methoden der Kardioplegie zur Verfügung, die in zahlreichen Studien untersucht wurden [6, 24, 118, 122, 121]. Wichtige Ziele dieser Studien sind einerseits die Länge der möglichen Kardioplegiedauer sowie der optimale Schutz des Myokards während des Herzstillstandes [6, 13, 12, 16, 39]. Da die Evaluierung der Kardioplegie-Lösungen nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist, wird für detaillierten Überblick auf die Literatur [24, 56, 118] verwiesen und nur kurz auf die Möglichkeiten der Kardioplegie eingegangen.

Definiert wird die Kardioplegie als künstlich induzierter Herzstillstand bei Operationen am offenen Herzen, wobei drei Formen unterschieden werden [87]:

Formen der Kardioplegie

1. Ischämische Kardioplegie	Abklemmen der Aorta bei Körpertemperatur für 10-20 Minuten ohne Myokardschädigung möglich
2. Kardioplegie durch Hypothermie	Hypothermie (25°C) mit intermittierender Koronarperfusion durch gekühltes Blut führt zu kälteinduziertem Kammerflimmern
3. Kardioplegie durch Lösungen	unter Verwendung myokardprotektiver Lösungen mittels hoher Kaliumkonzentrationen oder durch Entzug von Na ⁺ und Ca ⁺⁺

Tabelle 3.3.1 Formen der Kardioplegie nach Pschyrembel, 260. Auflage

Die Kardioplegie mittels kardioprotektiver Lösung wurde erstmals von Bretschneider im Jahr 1964 erprobt und fand anschließend Einzug in die Klinik [11]. Das Prinzip beruht vor allem auf dem Entzug von Natrium-Ionen, so dass kein Aktionspotential über der Zellmembran aufgebaut wird. Unterstützend hierbei wirken der Entzug von Kalziumionen, der die Kontraktion im Herzen hemmt, sowie die Zugabe von Procain, die eine Stabilisierung der Zellmembran zur Folge hat. Diese Lösung nach Bretschneider wurde in den folgenden Jahren mehrfach modifiziert.

Das Grundprinzip aller kardioplegischen Lösungen ist dabei die elektromechanische Entkopplung durch Beeinflussung der Ionenkonzentrationen, die zum Herzstillstand führt [24]. Dadurch wird der Energieverbrauch im Myokard gesenkt und die Dauer der Ischämie wird verlängert. Heute stehen eine Vielzahl von Lösungen zur Verfügung, wie beispielsweise die modifizierte HTK-Lösung nach Bretschneider, die St.-Thomas-Hospital-Lösung, die University-of-Wisconsin-Lösung und weitere [24, 56]. Zumeist erfolgt die Kardioplegie unter Hypothermie, wodurch der Substratverbrauch weiter gesenkt wird [11, 24].

Um das Myokard während der Ischämie zu schützen und den Reperfusionsschaden zu mindern, wurden zudem weitere Zusätze zu Kardioplegielösungen untersucht [16, 45, 120]. Beispielsweise wurde in einigen Untersuchungen der Cholinesterase-Inhibitor 2,3-Butanedione-Monoxime zugesetzt [4, 51, 74]. Über eine Reduktion der Kontraktionskraft im Herzen wirkt dieser Zusatz protektiv auf das Myokard und vermindert den Reperfusionsschaden [8].

3.3.4 *Perfusionslösung*

Als Perfusionslösungen werden zum einen autologes sowie homologes Blut als auch saline Lösungen verwandt [3, 15, 19, 25, 81]. Saline Lösungen bieten zwar den Vorteil, beispielsweise die Klappenbewegungen während der Perfusion aufzuzeichnen [3], jedoch wird vor allem der Sauerstofftransport beeinträchtigt. In vorangegangenen Untersuchungen von isoliert perfundierten Schweineherzen wurde deshalb ein Perfusionsmedium nach Krebs und Henseleit [61] mit Blut gemischt [4, 5, 73, 74], um einen suffizienten Sauerstofftransport zu gewährleisten und der Ödematisierung des Myokards entgegen zu wirken [115].

Bei der Wahl des Perfusionsmediums sollten verschiedene Aspekte betrachtet werden, die Einfluss auf die Perfusion haben. Hierzu zählt die Viskosität des Perfusats, dessen Ionenkonzentration und die Zugabe von geeigneten Substraten, der kolloidosmotische Druck im Perfusat sowie die Sauerstoffkapazität und die Filterung der Lösung.

Die Viskosität des Perfusionsmediums hat Einfluss auf den Strömungswiderstand und somit auf die Flüsse. Bei erniedrigter Viskosität kann der Perfusionsdruck niedriger gewählt werden, da sich der Organfluss erhöht [25]. Dieser Zusammenhang spiegelt sich im Gesetz von Hagen-Poiseuille wider.

Weiterhin sollten die Ionenkonzentrationen des Perfusats den Gegebenheiten im Organismus entsprechen. Aus diesem Grund wurde häufig die Lösung von Krebs und Henseleit verwendet, die im Gegensatz zu früheren Lösungen entsprechende Calcium- und Magnesiumkonzentrationen enthält [61]. Wichtig ist dies für die Kontraktionskraft des Herzens, die wesentlich von der Calcium-Konzentration abhängt. Weiterhin sollte beachtet werden, dass sich durch Eiweiß im Perfusat die Ionenkonzentration des Calciums ändert, da es an Eiweiß bindet [25, 115].

Wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben werden im Herzen hauptsächlich Fettsäuren als Energiequelle genutzt. Dennoch passt sich das Herz den Gegebenheiten an und es wird in Untersuchungen mit isolierten Herzen hauptsächlich Glucose als Substrat für den Energiestoffwechsel verwendet [25]. Zusätze von Insulin und auch Pyruvat, Lactat und Acetat sind möglich [115]. Eine effiziente Energieversorgung während der isolierten Perfusion ist mit Glucose durchführbar, wobei dieses Substrat gerade bei der Verwendung in ischämischen Herzen Vorteile zeigte [21]. Meistens werden Konzentrationen um 5,5 mmol/l gewählt. Weitere Zusätze, wie beispielsweise Aminosäuren, wurden erprobt, aber gehen mit einer erheblichen Kostensteigerung einher [25].

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Wahl des Perfusionsmediums ist der kolloidosmotische Druck in der Lösung. Durch Verminderung des kolloidosmotischen Drucks in salinen Lösungen kommt es vermehrt zur Ausbildung von interstitiellen Ödemen und Dehiszenzen der Myokardfasern, was im weiteren Verlauf zur Abnahme der Kontraktionskraft führt [12, 25, 115]. Diesem Problem begegnet man mit der Zugabe von Albumin in salinen Lösungen. Zudem vermindert das Eintauchen des Herzens in das Perfusat oder Wasserbad die Ausbildung von Ödemen.

Ferner muss der Sauerstofftransport zum Herzen gewährleistet werden, um den Energiestoffwechsel des Herzens aufrecht zu erhalten. In salinen Lösungen liegt der Sauerstoff gelöst vor und reicht somit für eine effiziente Perfusion aus, allerdings kann es zur Bildung von freien Sauerstoff-Radikalen kommen. Als synthetische Sauerstoffträger wurden Perfluorcarbone genutzt, die jedoch im Gegensatz zu Blut eine lineare Bindungskurve zum Sauerstoff aufweisen und bisher wenig Anwendung fanden [111, 115].

Hieraus ergibt sich der Vorteil der Hämoperfusion isolierter Herzen. Erste Versuche mit hämoperfunden Herzen führten Gamble et al. (1970) durch [32]. Weitere Untersuchungen mit isolierten hämoperfunden Herzen und speziell auch von Schweineherzen wurden in den letzten Jahren durchgeführt [10, 60, 73, 74]. Döring bevorzugt für die isolierte Perfusion autologes sowie homologes Blut, wobei ebenfalls gewaschene Erythrozyten verwendbar sind, deren Gewinnung jedoch mit erheblichem Aufwand und Kosten verbunden sind [25, 82, 86]. Ein Nachteil ergibt sich während der Oxygenierung von Blut. Hierbei kommt es unter konventioneller Begasung mit Sauerstoff zur Schaumbildung [115], jedoch bietet Blut ein ideales und physiologisches Medium für die Perfusion hinsichtlich der genannten Kriterien. Es ermöglicht einen suffizienten Sauerstofftransport sowie annähernd physiologische Koronarflussraten. Weiterhin kann mit Hilfe von Blut als Perfusionsmedium eine stabile Perfusion über mehr als drei Stunden erreicht werden, wohingegen die Perfusionszeit mit salinen Lösungen kürzer ist [74]. Mit Krebs-Henseleit-Lösung diluiertes Blut wurde ebenfalls erfolgreich verwandt [4, 73, 74]. Zudem macht die Rezirkulation von Perfusat im System nur geringe Mengen Perfusatsmengen erforderlich und bewirkt eine effektive Perfusion [74]. Das bluthaltige Perfusat sollte in diesem System jedoch zuvor gefiltert werden, um Mikroembolien zu vermeiden [25]. Eine weitere Möglichkeit der Perfusion bietet ein System, bei dem Spendertiere verwendet werden [13, 12, 32, 83].

3.3.5 Dialyse im isolierten Herzmodell

Die Dialyse im isolierten Herzen bietet die Möglichkeit der kontinuierlichen Entgiftung des Perfusats, so dass Perfusionen mit rezirkulierendem Kreislauf über mehrere Stunden möglich werden [74, 96]. Hier kommt unter anderem die konventionelle Hämodialyse, bei der ein Konzentrationsausgleich über eine semipermeable Membran stattfindet, zu Anwendung. Weiterhin wird der Dialysatkreislauf in vielen Untersuchungen zur Oxygenierung, Temperierung und auch für Zugaben von Substraten genutzt [4, 5, 51, 74].

4 MATERIAL UND METHODEN

Die Versuche zur isolierten Hämoperfusion von Schweineherzen fand im Rahmen des Forschungsprojektes „Verfahren zur Darstellung von EKG-Maps auf der mit Ultraschallmessungen definierten Herzoberfläche“ (He 1669/11) statt. Im Folgenden wird die für dieses Promotionsvorhaben entwickelte Methode der Vierkammer-Perfusion erläutert.

4.1 Material

4.1.1 Aufbau für die Perfusion isolierter Schweineherzen im Vierkammermodell

Die Hämoperfusion der Schweineherzen wurde mittels einer eigengefertigten Perfusionsapparatur (siehe Abbildung 4.1.1) durchgeführt. Die Perfusion der Schweineherzen erfolgte im Vierkammer-Modus, wobei das Perfusat oxygeniert, temperiert und dialysiert wurde.

4.1.1.1 Perfusatkreislauf

Der Perfusatkreislauf diente der Versorgung des Herzens in den einzelnen Perfusionsmodi bis hin zum Vierkammer-Modus, in dem das Herz über beide Vorhöfe antegrad perfundiert wurde.

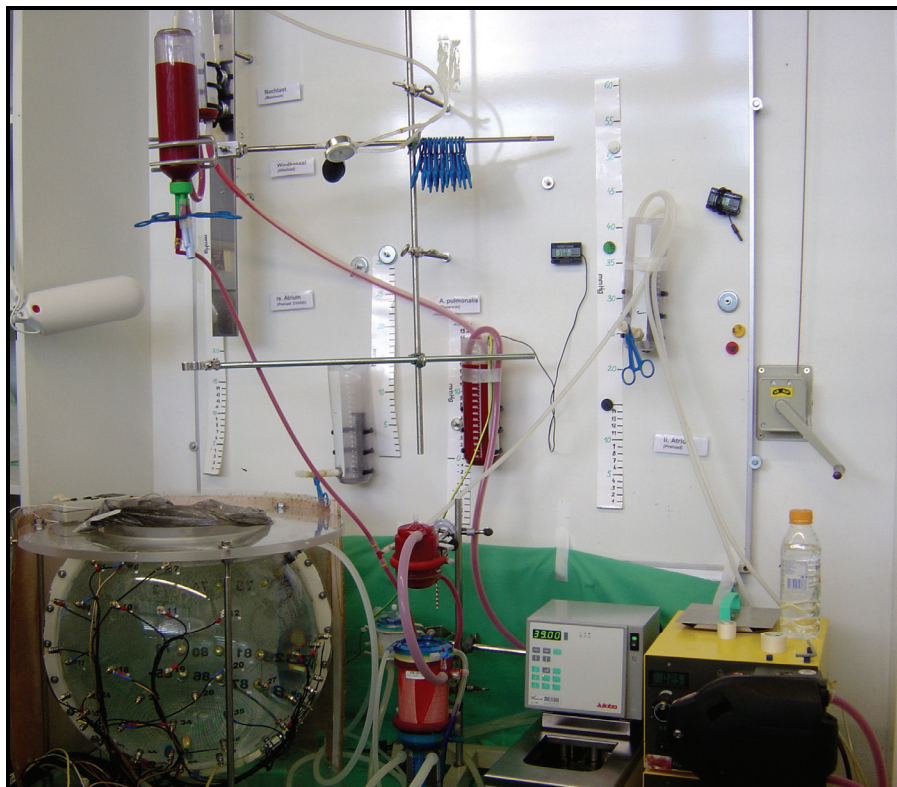


Abbildung 4.1.1 Perfusionsaufbau vor Beginn der Reperfusion

Die Abbildung 4.1.1 zeigt das Perfusionssystem vor Beginn der Perfusion mit den entsprechenden Vorlast- und Nachlastgefäßen, dem selbst gefertigten Kugelbehälter, der Heizung und Rollerpumpe, sowie dem Oxygenator und Blutfilter mit den dazugehörigen Schlauchverbindungen. Auf die einzelnen Elemente wird im Folgenden eingegangen.

Alle Vorlast und Nachlastgefäße sowie der Windkessel der Perfusionsapparatur wurden aus 1000-ml-Drainage-Flaschen gefertigt und mit entsprechenden Schlauchverbindungen versehen. Die Gefäße des Perfusionssystems waren mit Magnethaltern an einer Magnettafel befestigt, die mit Hilfe einer Kurbel angehoben oder abgesenkt werden konnten. Somit konnte das Herz nach Beginn der Perfusion in den mit Wasser gefüllten Kugelbehälter (Eigenanfertigung) abgesenkt werden. Der Kugelbehälter mit den darauf befestigten 75 Elektroden und der Messvorrichtung für das EKG-Mapping wurde in der Offenlegungsschrift DE 101 64 512 A1 patentiert. Die einzelnen Gefäße der Perfusionsapparatur konnten unabhängig voneinander in ihrer Höhe verstellt werden.

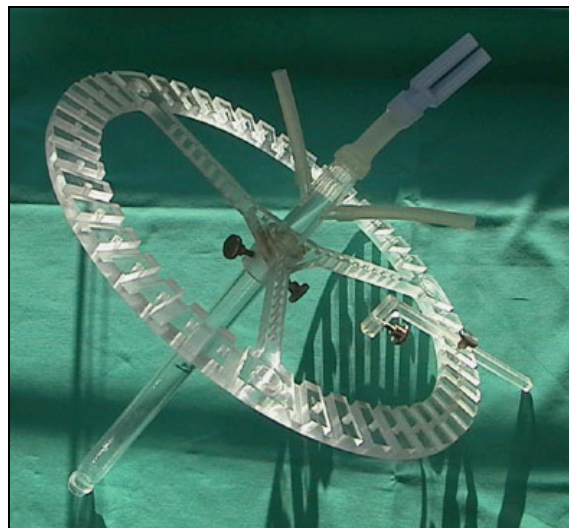


Abbildung 4.1.2 Aortenstutzen mit Ringhalter (Eigenanfertigung)

Die Aorta wurde mit dem Aortenstutzen (Eigenanfertigung, ID: 20 mm, AD: 14 mm; siehe Abbildung 4.1.2) und dem Windkessel (1000 ml Drainage-Flasche) verbunden. Die Perfusatmenge innerhalb des Windkessels wurde mit Hilfe eines Handmanometers (pressure man II, Servoprax®; Wesel, Deutschland) reguliert. Über einen Silikonschlauch (ID: 10 mm, AD: 14 mm) bestand eine Verbindung vom Windkessel zum Nachlastgefäß des linken Kreislaufs. Durch eine Schlauchverbindung (ID: 10 mm, AD: 14 mm) konnte das Perfusat während des „Working-Heart“-Modus aus dem Nachlastgefäß der Aorta in das Gefäß des rechten Vorhofs abfließen. Von diesem Gefäß bestand eine Schlauchverbindung (ID: 6 mm,

AD: 10 mm) zum rechten Vorhof, die mit Hilfe eines Stutzens in die Vena cava superior eingenäht wurde. Die entsprechend in die Arteria pulmonalis eingenähte Schlauchverbindung (ID: 10 mm, AD: 14 mm) wurde in das Nachlastgefäß des rechten Kreislaufs eingebracht. Ein weiterer Silikonschlauch (ID: 10 mm, AD: 14 mm) verband dieses Gefäß mit dem Oxygenator (Dideco module 7500; Mirandola, Italien), der der Temperierung und Oxygenierung diente. Der Blutfluss zum Oxygenator wurde durch eine Rollerpumpe (Watson Marlow 623S) reguliert. Nachfolgend war ein Blutfilter (Dideco micro 20 atrial filter; Mirandola, Italien) in den Kreislauf eingebracht und mit dem Vorlastgefäß des linken Vorhofs (ID: 6 mm, AD: 10 mm) verbunden. Der entsprechende Zuflussschlauch aus diesem Gefäß war in den linken Vorhof eingenäht. Mittels Steckverbindung war eine Anbringung der Vorhofschläuche an die Gefäße nach der Präparation möglich.

Vor Beginn der Perfusion im Vierkammer-Working-Heart-Modus war es nötig das Herz im Langendorff-Modus zu perfundieren. Hierfür konnte der Silikonschlauch aus dem Nachlastgefäß des linken Kreislaufs in das Gefäß der Pulmonalarterie gebracht werden. Außerdem bestand eine Verbindung vom arteriellen Filter zum Windkessel der Aorta, so dass das Vorlastgefäß des linken und rechten Kreislaufs umgangen werden konnte. Im Weiteren wird in Kapitel 4.2.2.4 auf die Perfusionsapparatur und den Gebrauch im „Working-Heart“-Modus eingegangen.

4.1.1.2 Dialysatkreislauf

Der Dialysatkreislauf diente der „Entgiftung“ des Perfusats und erfolgte mit einem konventionellen Dialysegerät (Edwards Lifesciences BM 11 und BM 14; Unterschleißheim, Deutschland). Der Zufluss und Abfluss des Dialysegerätes wurde mit dem Vorlastgefäß des linken Kreislaufs verbunden. Daher kam die Dialyse erst nach Perfusion im „Working-Heart“-Modus zum Einsatz. Zudem wurde dem Perfusat über den Zuflussschlauch von der Dialyse zum Gefäß des linken Vorhofs kontinuierlich mit Hilfe eines Perfusors (Braun perfusor segura; Melsungen, Deutschland) Substrat zugeführt.

4.1.1.3 Wärmekreislauf

Der Wasserkreislauf diente der ausreichenden Temperierung des Perfusats und des Wasserbads und damit des Herzens. Das Wasser in dem Kugelbehälter wurde durch ein Umwälzthermostat (Julabo HD-4; Seelbach, Deutschland) angesaugt und erwärmt. Das Thermostat wurde hierbei auf 39°C eingestellt. Das Wasser gelangte über eine Schlauchverbindung (ID: 10 mm, AD: 14 mm) in den Oxygenator (Dideco module 7500;

Mirandola, Italien), wodurch das durchströmende Perfusat ebenfalls erwärmt wurde. Vom Oxygenator floss das Wasser dann wieder in den Kugelbehälter. Die Temperatur wurde jeweils im Wasserbad und im Perfusatkreislauf mittels Thermometer (digitales Thermometer Thermo Sensor) überprüft und im Bereich von 37-38°C gehalten.

4.1.2 Geräte

4.1.2.1 Defibrillator und Herzschrittmacher

Zu Beginn der Perfusion war es meistens erforderlich das Herz zu defibrillieren, um einen stabilen Herzrhythmus zu erreichen. Hierfür diente ein Defibrillator (GE Medical Systems Responder 1100; Milwaukee, USA), der mit Löffelelektroden verbunden war und damit eine direkte Defibrillation am Herzen ermöglichte.

Um während der Perfusion einen stabilen Herzrhythmus aufrechtzuerhalten war es notwendig, bei Bedarf einen Herzschrittmacher (Medtronic 5375; Minneapolis, USA) einzusetzen. Die Elektroden wurden hierfür vor Beginn der Perfusion in den rechten Ventrikel eingebracht, so dass die Herzen während des Versuches bei Absinken der Eigenfrequenz unter 50 /min mit Frequenzen zwischen 60-90 /min stimuliert werden konnten.

4.1.2.2 Blutgasanalyse, Oximetrie und Glucosebestimmung

Die nachstehende Tabelle (Tabelle 4.1.1) gibt einen Überblick über die zur Blutgasanalyse und Oximetrie verwendeten Geräte in der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité – Campus Virchow sowie das im Labor zum Einsatz gebrachte Glucometer.

Gerät	Typ	Firma	ermittelte Werte
Blutgasanalysegerät	ABL TM 505	Radiometer Copenhagen, Dänemark	pH, pCO ₂ , pO ₂ , HCO ³⁻ , K ⁺ , Na ⁺ , Ca ⁺⁺
Oximetriegerät	OSM TM 3	Radiometer Copenhagen, Dänemark	Hb, sO ₂ , tO ₂
Glucometer	3936 C	Elite Bayer, Leverkusen, Deutschland	Glucose
Teststreifen	Code No. F5	Elite Bayer, Leverkusen, Deutschland	

Tabelle 4.1.1 Verwendete Blutgasanalyse-/ Oximetriegeräte und Glucometer

4.1.2.3 Datenaufzeichnung (Fluss, Druck, EKG)

Zur ständigen Kontrolle über die Funktion des Herzens innerhalb der Versuche wurden die Drücke über die in den linken und rechten Ventrikel eingebrachten Tipkatheter (Pressure Catheter 2 F Sensor Size, Millar Instruments, Inc.; Houston, USA) gemessen und auf einem Patientenmonitor (Siemens Sirecust 960; Erlangen, Deutschland) angezeigt. Herzfrequenz und EKG wurden ebenfalls auf diesem Monitor kontinuierlich während der Versuche dargestellt. Die Flussmessung erfolgte an dem zuleitenden Schlauch zum linken Vorhof (Transonic Systems Inc.; 6XL; Ithaca, USA) sowie über der Aorta (Transonic Systems Inc.; 9XL; Ithaca, USA).



Abbildung 4.1.3 Flussmesser, Transonic System Inc.

Diese Werte wurden am Flowmeter (Transonic Systems Inc., Tubing Flowmeter T110; Ithaca, USA) angezeigt (Abbildung 4.1.3). Im Verlauf des Forschungsprojektes wurde ein Programm zur kontinuierlichen, digitalen Aufzeichnung der Drücke und Flüsse im Herzen entwickelt und eingesetzt. Bei der Aufzeichnung der Daten wurden die Werte mit einer Frequenz von 500 Hz über fünf oder zehn Sekunden eingelesen und standen dann weiteren Auswertungen zur Verfügung.

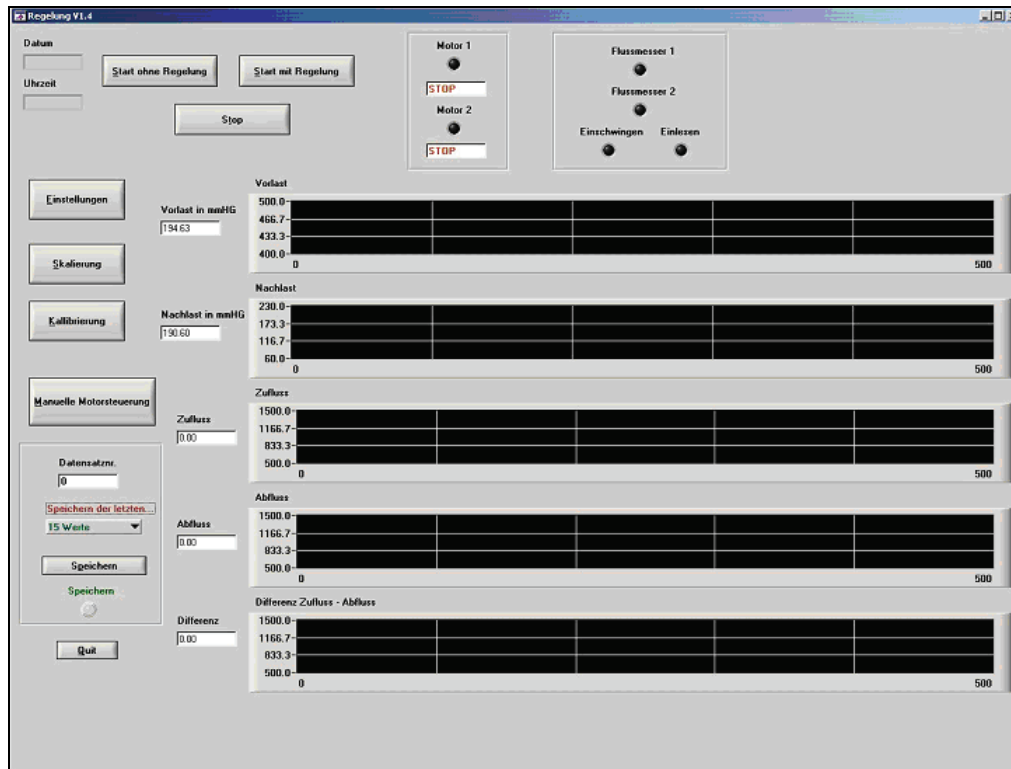


Abbildung 4.1.4 Digitale Fluss- und Druckaufzeichnung

Die Abbildung 4.1.4 zeigt das Monitorbild des Programms zur digitalen Aufzeichnung der Druck- und Flusswerte.

4.1.2.4 EKG-Mapping-Anlage

Um EKG-Mapping-Daten während der isolierten Perfusion zu erhalten, wurde das Schweineherz jeweils in einen eigengefertigten Kugelbehälter, der mit 75 Elektroden versehen war, abgesenkt. Die Abbildung 4.1.5 zeigt die schematische Darstellung dieses in der Offenlegungsschrift DE 101 64512 A1 vom 03.07.2003 abgebildeten Behälters, der den EKG-Mapping-Messungen diente. Mit Hilfe von 75 Elektroden konnten unipolare Ableitungen während der Herzaktion aufgezeichnet werden. Die so genannte Wilson-Elektrode diente hierbei als Referenzelektrode.

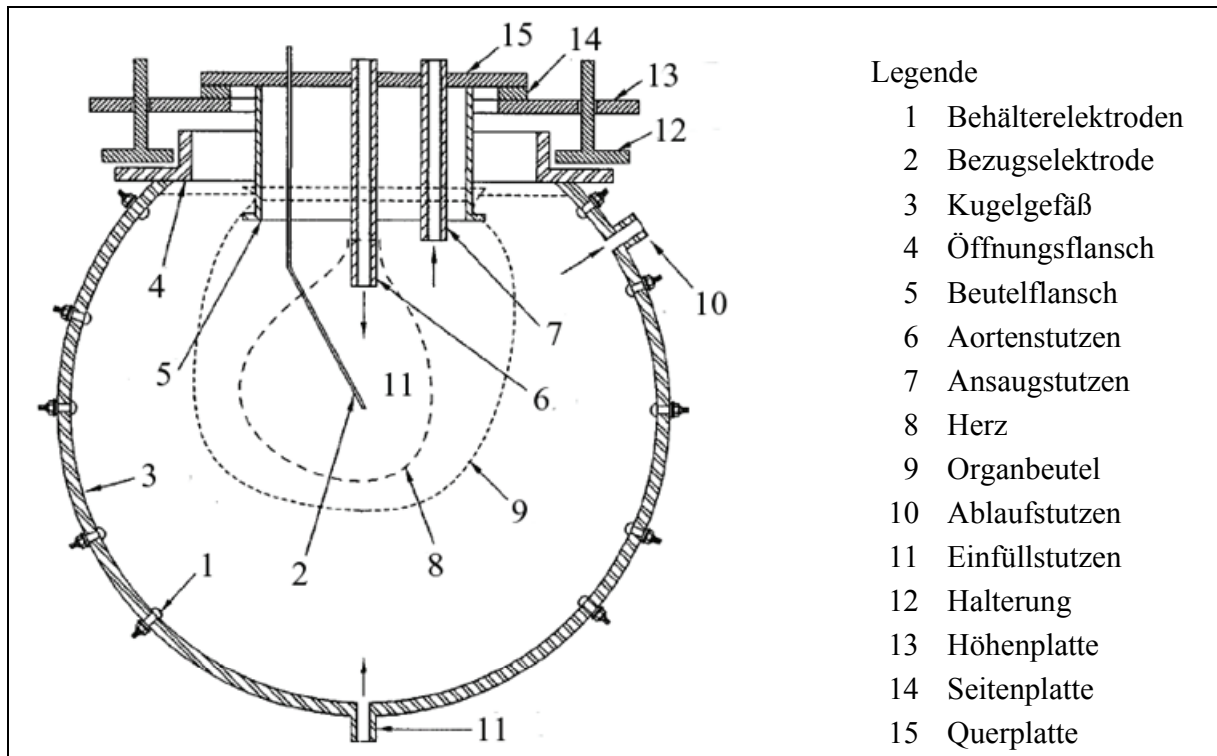


Abbildung 4.1.5 Schema des Kugelbehälters (Auszug aus der Offenlegungsschrift DE 101 64512 A1)

Die Untersuchungen dieses Forschungsprojektes dienen der weiteren Validierung und Optimierung der vorhandenen EKG-Mapping-Anlage (Europäisches Patentamt, Veröffentlichungsnummer: 0 598 945 A1), mit Hilfe derer klinische Untersuchungen stattfinden.

4.1.3 *Verwendete Lösungen – Chemikalien*

Sowohl verschiedene Kardioplegielösungen als auch unterschiedliche Perfusionsmedien eignen sich für die Entnahme von Herzen und deren isolierter Perfusion [25, 51]. Die folgenden Abschnitte geben einen Überblick zu den in den Versuchen verwendeten Lösungen.

4.1.3.1 **Kardioplegielösung**

Zur Kardioplegie des Herzens nach der Entnahme wurde 1 Liter Kardioplegielösung verwendet (Custodiol®, HTK-Lösung nach Bretschneider, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH). Die Zusammensetzung dieser Kardioplegielösungen ist in Tabelle 4.1.2 dargestellt.

Custodiol ® HTK-Lösung nach Bretschneider			
Zusammensetzung			
g pro 1000 ml		mmol	
0,8766	NaCl		15,0
0,671	KCl		9,0
0,8132	MgCl 6 H ₂ O		4,0
3,7773	Histidin-HCL 1 H ₂ O		18,0
27,9289	Histidin		180,0
0,4085	Tryptophan		2,0
5,4651	Mannitol		30,0
0,0022	CaCl 2 H ₂ O		0,015
0,1842	Kaliumhydrogen-2-oxapentandioat		1,0
sonstige Bestandteile:			
Aqua ad injectabile			
Kaliumhydroxidlösung			

Tabelle 4.1.2 Zusammensetzung der Kardioplegielösung (1000 ml)

Die gekühlte Custodiol-Lösung wurde mittels Schlauchsystem und Koronarkatheter an eine Pumpe (Stöckert Instrumente; München, Deutschland) angeschlossen und das System entlüftet. Zur Kühlung des Herzens nach der Entnahme wurde es in einen mit 0,9 % Kochsalzlösung gefüllten Kordelzugbeutel gebracht und anschließend mit der Kardioplegielösung durchspült.

4.1.3.2 Perfusionslösung

Zur Perfusion wurde ein Gemisch aus Krebs-Henseleit-Lösung und autologem Blut im Verhältnis 1:1,5 verwendet. Vor Beginn jedes Versuches wurde die Krebs-Henseleit-Lösung mit Hilfe von 9,6 g Trockensubstanz (Sigma® Krebs-Henseleit buffer K-3753) und 1 Liter Aqua ad injectabilia (DeltaSelect GmbH) hergestellt. Die Zusammensetzung der Lösung ist der Tabelle 4.1.2 zu entnehmen.

Krebs-Henseleit-Lösung - Sigma®	
Inhaltsstoff	Konzentration [g/L]
D-Glucose	2,0
MgSO ₄ (anhyd)	0,141
KH ₂ PO ₄ (anhyd)	0,16
KCl	0,35
NaCl	6,9
Zugabe von:	
CaCl ₂	0,373
NaHCO ₃	2,1

**Tabelle 4.1.3 Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung
Sigma® Product No. K-3753**

Weiterhin wurde zur Herstellung der Perfusionslösung 0,373 g Kalziumchlorid (5,5 %; Baxter Deutschland) sowie 2,1 g Natriumhydrogenkarbonat (8,4 %; B.Braun Melsungen, Deutschland) hinzugefügt. Um eine Thrombenbildung während der Perfusion zu verhindern wurde der Krebs-Henseleit-Lösung 10.000 IE Heparin (Liquemin®, Roche Pharma AG, Deutschland) hinzu gegeben. Vor Beginn der Perfusion wurde diese Lösung mit 1,5 l homologen Blut gemischt und etwa 10 ml Glucose 50 % (DeltaSelect GmbH, Deutschland) zugefügt, um eine ausreichende Substratversorgung des Herzens bei Anschluss an die Apparatur zu gewährleisten.

4.1.3.3 Dialysat

Zur Durchführung der pumpenassistierten Hämofiltration war eine Basislösung (zur Bikarbonat-Hämofiltration SH-BIC 35; 4000 ml von B.Braun) mit Elektrolytlösung (SH-EL 02; 500 ml von B.Braun) nötig. Gemäß der Bedienungsanleitung wurden diese Lösungen gemischt und an das Dialysegerät (Edwards Lifesciences BM 11 und BM 14; Unterschleißheim, Deutschland) angeschlossen. Während der Hämodialyse wurde das Blut entgegen der Dialysierflüssigkeit durch das Dialysem modul (Hemoflow F7 Kapillardialysator, Fresenius Polysulfone UF 6.4; Bad Homburg, Deutschland) gepumpt. Hierbei trennte die Kapillarwand als semipermeable Membran im Inneren des Moduls das Blut von der Dialysierflüssigkeit. Die Konzentrationen der Elektrolyte und des Bikarbonats in dieser Flüssigkeit bestimmen daher durch Diffusion über die semipermeable Membran die Filtration bestimmter Stoffe, so dass eine Hyperkaliämie beispielsweise durch niedrige Kaliumkonzentrationen korrigiert werden konnte.

Für nähere Erläuterungen zur Verwendung des Dialysegeräts und deren Einsatz während der Perfusion wird auf Kapitel 4.2.2.2 verwiesen.

4.1.3.4 Weitere Lösungen

Entsprechend den Blutgasanalysen konnten dem Perfusat zum Ausgleich von Elektrolytstörungen Lösungen zugesetzt werden. Bei starken Blutverlusten während der Perfusion wurde in das Perfusat Thomaejonin®-Lösung (DeltaSelect GmbH) zugegeben, um eine ausreichende Perfusatsmenge in dem System zu behalten. Arterenol® (Aventis Pharma) in Verdünnung mit 0,9 %-NaCl-Lösung (B.Braun Melsungen) diente während der Reperfusion und im gesamten Versuchszeitraum bei Bedarf der Aufrechterhaltung eines stabilen Herzrhythmus. Tabelle 4.1.4 gibt einen Überblick über diese verwendeten Lösungen.

Lösungen	Firma	Zusammensetzung	Verwendungszweck
NaCl-Lösung 11,70%	B.Braun	Na ⁺ 0,5 mmol/ml Cl ⁻ 0,5 mmol/ml	Perfusat
KCl-Lösung 7,45%	B.Braun	K ⁺ 1,0 mmol/ml Cl ⁻ 1,0 mmol/ml	Perfusat
NaHCO ₃ 8,4%	B.Braun	Na ⁺ 1,0 mmol/ml HCO ₃ ⁻ 1,0 mmol/ml	Perfusat
Thomaejonin®-Lösung	DeltaSelect		Perfusat
Arterenol® 1:1000 Verdünnung mit 0,9% NaCl-Lösung 1:10	Aventis Pharma entspricht:	Noradrenalin 100 µg/ml	Reperfusion

Tabelle 4.1.4 weitere Lösungen zur Verwendung während der Perfusion

4.2 Methode

Die Organ- und Blutgewinnung erfolgte in den Tierexperimentellen Einrichtungen der Charité Berlin (Campus Virchow Klinikum). Die anschließende Präparation und Perfusion des Herzens wurde in den Laborräumen des Forschungshauses der Charité (Campus Virchow Klinikum) durchgeführt.

4.2.1 Organ- und Blutgewinnung

Das Wiegen der Tiere sowie die Anästhesie wurden vom Tierarzt der Tierexperimentellen Einrichtung durchgeführt. Hierzu wurde dem Tier als Narkoseprämedikation 6 mg/kg Azaperon (Stresnil®), 10 mg/kg Ketamin und 0,05 mg/kg Atropin in der Mischspritze intramuskulär verabreicht. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit 4 mg/kg Etomidat. Die Beatmung des Tieres wurde mit 4,5 L/min N₂O, 4 L/min O₂ und 1,5 Vol% Isofluran bei einem Atemvolumen von 500 ml und einer Beatmungsfrequenz von 12 min⁻¹ durchgeführt.

4.2.1.1 Blutgewinnung

Vor Beginn der Herzentnahme erfolgte die Blutgewinnung. Hierfür wurde das anästhesierte Schwein mit 10.000 IE Heparin (Liquemin®, Roche, Deutschland) heparinisiert. Der Thorax wurde zuvor bei dem in Rückenlagen befindlichen Schwein median eröffnet, wobei der Herzbeutel geschlossen blieb. Dies diente der Überwachung des Herzens während der Blutentnahme. Zeitgleich wurde dem narkotisierten Schwein Thomaejonin®-Lösung (DeltaSelect GmbH, 1000 ml) intravenös in die Ohrvene verabreicht, um einen durch Volumenmangelschock provozierte Herzschädigung zu vermeiden. Zur Blutentnahme wurde ein Hautschnitt paramedian am Hals des Tieres gesetzt und die Vena jugularis externa freipräpariert. Kranial wurde das Gefäß mit chirurgischem Nahtmaterial (Vicryl V626, Ethicon Products®) abgebunden. Proximal dieser Ligatur wurde das Gefäß mit einer Präparierschere eröffnet und eine Heidelberger-Verlängerung bis vor in die Vena cava cranialis (entsprechend der Vena cava superior beim Menschen) geschoben und anschließend fixiert. Mit einer 20 ml Spritze (B.Braun Injekt) wurde das Blut nun angesaugt und danach in eine heparinisierte 1-Liter-Plastikflasche geleitet. Nach der Entnahme von einem Liter Blut wurde der Herzbeutel eröffnet. Eine zweite heparinisierte Plastikflasche wurde zum Auffangen des Blutes bereitgestellt. Nachdem die zweite Flasche etwa 500 ml Blut enthielt, wurde mit der Herzentnahme begonnen. Bei Auftreten von Kammerflattern oder -flimmern,

wurde das Herz zur Schonung des Organs schon vor Beendigung der Blutentnahme entnommen.

4.2.1.2 Herzentnahme und Kardioplegie

Zur Herzentnahme wurde das Organ von kaudal mit einer Hand umfasst und alle Gefäße (Aorta, Venae cavae, Truncus pulmonalis und Venae pulmonales) durchtrennt. Dabei wurde der Zeitpunkt des Entnahmebeginns als Beginn der warmen Ischämie im Protokoll notiert. Sofort wurde das Herz in den mit 0,9 % Kochsalzlösung gefüllten Kordelzugbeutel gelegt und auf Eis gekühlt. Dann wurden die Koronarostien der Arteria coronaria dextra und der Arteria coronaria sinistra über die Aorta aufgesucht und mittels Koronarkatheter mit gekühlter Custodiol®-Lösung durchspült. Die Pumpe (Stöckert Instrumente; München, Deutschland) wurde dabei auf einen Fluss von 200 ml/min eingestellt und der Zeitpunkt als Beginn der kalten Ischämie notiert. Die Koronararterien wurden mit der Kardioplegielösung so lange durchspült, bis die ablaufende Flüssigkeit klar war. Dann wurden die Kordelzugbeutel ausgewechselt und die Spülung der Koronarien fortgesetzt. Es sollte darauf geachtet werden, dass keine Luft in das Schlauchsystem und damit in die Koronarien gelangt um einer Luftembolie vorzubeugen. Nach Beendigung der Spülung sollten die Koronargefäße auf der Oberfläche keine erkennbaren Blutreste enthalten. Das Herz blieb bis zur weiteren Präparation in dieser Lösung auf Eis gekühlt.

4.2.2 Vorbereitung und Durchführung der Perfusion

Vor Beginn der Präparation erfolgten die Kontrolle der Flusssensoren sowie die Kalibrierung der Tipkatheter. Die entsprechenden Lösungen wurden vorbereitet und das Perfusionssystem aufgebaut.

4.2.2.1 Präparation des Herzens

Während der Präparation verblieb das Herz weitgehend in der gekühlten Lösung. Die Präparation diente dem Anschluss des Herzens an die eigengefertigten Stutzen und dem Verschluss weiterer Gefäße, die nicht für die Perfusion nötig waren.

Die Präparation erfolgte in vier Schritten. Als erstes erfolgte die Präparation der Aorta und der Arteria pulmonalis. Dafür wurde die Aorta von der Arteria pulmonalis stumpf gelöst. Die Aorta wurde dann bis unterhalb des ersten Arterienabgangs zurück geschnitten und die Arteria pulmonalis bis auf eine Länge von etwa 3-3,5 cm gekürzt. Die restlichen Gewebeteile

der Lunge und des Herzbeutels wurden ebenfalls entfernt. Danach wurde das Herz gewogen und das Gewicht im Protokoll notiert.

Als nächstes erfolgte die Präparation der Vorhöfe, die aufgesucht und sondiert wurden, um kleinere Öffnungen der Vorhöfe zu erkennen. Diese Öffnungen, die nicht der Perfusion des Herzens dienen, wurden mit chirurgischem Nahtmaterial (Vicryl V635 2-0; Ethicon Products®) ligiert. Waren alle Öffnungen verschlossen, wurden die Vorhofstutzen (siehe Abbildung 4.2.1) in die verbleibenden Vorhofzugänge mittels Tabaksbeutelnaht (Vicryl V278 2-0; Ethicon Products®) eingenäht, um undichte Stellen auszuschließen. Der Einlaufschlauch zum jeweiligen Vorhof sollte dabei nach oben zeigen.



Abbildung 4.2.1 Vorhofstutzen

Waren beide Vorhöfe entsprechend präpariert, konnte mit dem Anschluss der Aorta und der Arteria pulmonalis begonnen werden. Zuvor wurde der im Aortenstutzen befindliche Tipkatheter durch die Aortenklappe in den linken Ventrikel vorgeschoben (siehe Abbildung 4.2.2). Eine weitere Elektrode wurde etwa 2 cm über der Aortenklappe platziert. Dann wurde die Aorta mit einem Kabelbinder an dem Aortenstutzen befestigt. Hier war es wichtig zu beachten, dass durch den Kabelbinder während der Perfusion keine mechanische Beeinträchtigung der Arteria pulmonalis und der Aortenklappe gegeben war.

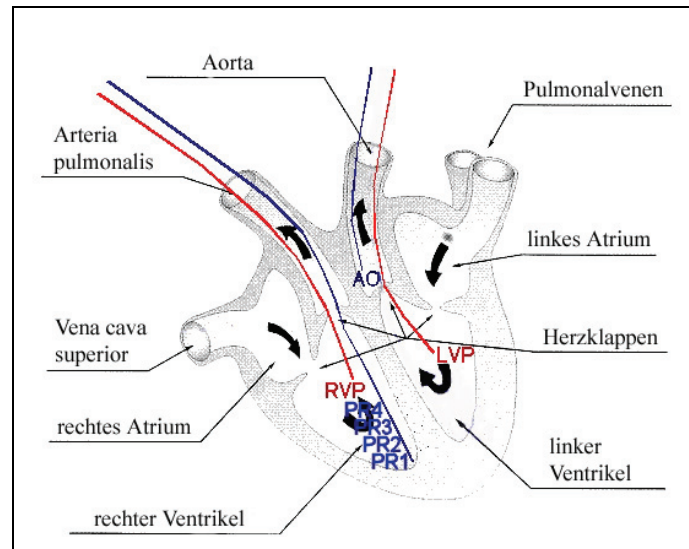


Abbildung 4.2.2 Lokalisation der Elektroden und der Tipkatheter

Bevor die Arteria pulmonalis befestigt wurde, erfolgte hier ebenfalls der Vorschub eines Tipkatheters bis in den rechten Ventrikel sowie die Installation einer Schrittmacherelektrode (siehe Abbildung 4.2.2). Dann wurde die Arteria pulmonalis ebenfalls mit einem Kabelbinder am Pulmonalstutzen (siehe Abbildung 4.2.3) befestigt. Auch hier sollte darauf geachtet werden, dass es zu keiner mechanischen Beeinflussung anderer Herzstrukturen kommt.



Abbildung 4.2.3 Pulmonalstutzen

Nachdem alle Vorhöfe und Kammer befestigt waren, konnte mit der Füllung des Herzens begonnen werden. Dafür wurde mit Hilfe einer Blasenspritze Thomaëjonin®-Lösung in den linken Vorhof gefüllt bis die Lösung über der Aortenklappe aufstieg. Das Herz wurde dabei komprimiert, um den Vorhof und die linke Kammer zu entlüften. Dabei wurde nochmals geprüft, ob es im Bereich des Vorhofs noch Öffnungen gibt, die bisher noch nicht verschlossen worden waren. War dies der Fall, wurde hier nochmals abgebunden, um spätere Blutverluste zu vermeiden. Der Schlauch zum luftleeren linken Vorhof wurde dann mit einer Schlauchklemme versehen.

4.2.2.2 Perfusionsaufbau und Vorbereitung

Vor Beginn der Reperfusion wurde die 1 Liter Krebs-Henseleit-Lösung und 1,5 Liter Blut in das Perfusionssystem eingefüllt und temperiert. Das System wurde auf Durchgängigkeit überprüft und eine Temperatur der Lösung von 38°C war vor der Perfusion zu erreichen. Die Vorlastgefäße des rechten und linken Vorhofs wurden zu diesem Zeitpunkt noch unbefüllt belassen. Die Abbildung 4.2.4 zeigt die schematische Darstellung der Perfusionsapparatur.

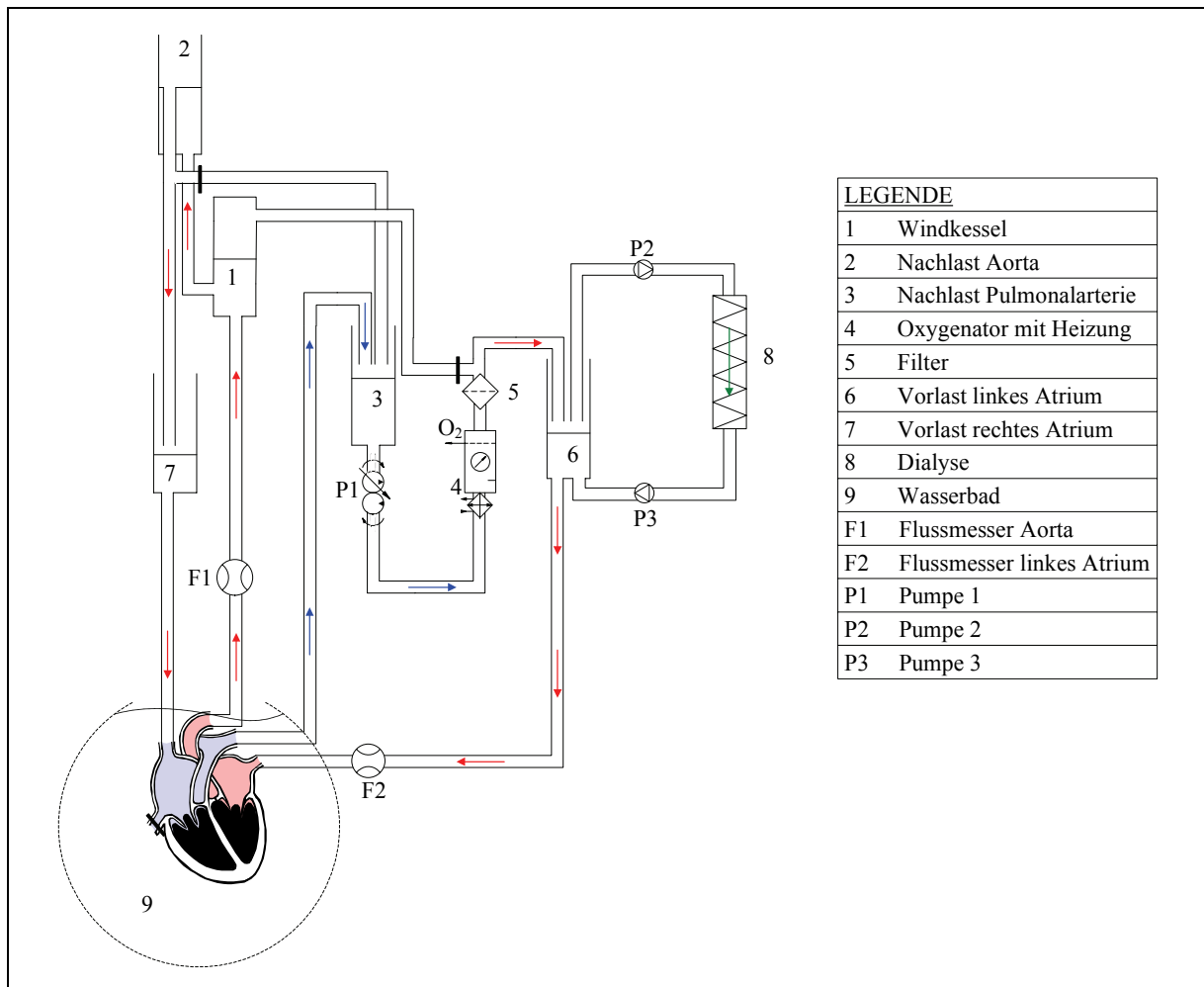


Abbildung 4.2.4 Schema der Perfusionsapparatur (rot: arteriell, blau: venös)

Der Krebs-Henseleit-Lösung wurde das entnommene und heparinisierte Blut hinzugefügt und das Perfusatgemisch vor Anschluss des Herzens mit Sauerstoff begast (Ziel: arterieller pO_2 zwischen 500-600 mmHg).

Zeitgleich wurden Gemäß der Gebrauchsanweisung für die pumpenassistierte Hämofiltration (Edwards Lifesciences BM 11 und BM 14; Unterschleißheim, Deutschland) alle Schlauchsysteme sowie das Dialysemodul (Hemoflow F7 Kapillardialysator, Fresenius Polysulfone UF

6.4; Bad Homburg, Deutschland) an dem Dialysegerät angebracht und befüllt. In eine 50 ml Perfusorspritze wurden 50 ml Glucose (50 %, DeltaSelect GmbH), 20 IE Insulin (Insulin S, Berlin-Chemie) sowie 10 IE Heparin (Liquemin®, Roche) gegeben und mittels Perfusor (Braun perfusor segura; Melsungen, Deutschland) dem Dialysesystem zugeführt. Damit erfolgte die kontinuierliche Substratgabe während der Perfusion. Die Flussgeschwindigkeit zum Dialysegerät ließ sich manuell einstellen, wobei für die Versuche die Geschwindigkeit bei 80 ml/min lag.

Kurz vor Beginn der Reperfusion erfolgte eine Blutgasanalyse zur Kontrolle des Perfusats. Bei Bedarf wurden dem System entsprechende Lösungen zugegeben. Nach ausreichender Oxygenierung, Temperierung und Kontrolle des Perfusats konnte mit dem Anschluss des Herzens begonnen werden. Noradrenalin (Arterenol®, 100 µg/ml) wurde in einer 10 ml Spritze (B.Braun Injekt) bereitgestellt.

4.2.2.3 Anschluss des Herzens an das Perfusionssystem

Vor Beginn der Perfusion wurde die Magnettafel in die oberste Position gebracht. In der Öffnung des Kugelbehälters wurde eine Tüte mit Leukosilk® befestigt, um eventuell austretendes Blut aufzufangen, damit es nicht in den Wasserkreislauf gelangte.

Das präparierte Herz wurde mit dem Aortenstutzen am Stativ befestigt und die Schlauchverbindung zum Windkessel wurde hergestellt. Zwei Schlauchklemmen verhinderten zu diesem Zeitpunkt einen Übertritt des Perfusats in die Aorta. Die Vorhofstutzen wurden ebenfalls an den jeweiligen Gefäßen befestigt und mit Schlauchklemmen versehen. Die Schlauchverbindung der Pulmonalarterie wurde im Nachlastgefäß so positioniert, dass der venöse Rückfluss nach dem Heber-Prinzip erfolgen konnte. Dafür wurde das Nachlastgefäß der Pulmonalarterie unterhalb der Klappenebene angebracht.

Die Tipmanometer und die Elektroden wurden an die jeweiligen Messeinheiten angeschlossen. Der Flussmesser der Aorta wurde zwischen Aortenstutzen und Windkessel installiert, so dass in Phase 1 der Reperfusion der Fluss aus dem Windkessel in die Koronararterien abgelesen werden konnte. Der Flussmesser vom Vorlastgefäß des linken Kreislaufs wurde an der Schlauchverbindung zum linken Vorhof positioniert, jedoch fand eine Messung erst ab Phase 2 der Reperfusion statt.

4.2.2.4 Reperfusion

Nachdem alle Schläuche gemäß der Phase 1 der Reperfusion (siehe Abbildung 4.2.5) mit den jeweiligen Gefäßen verbunden und alle Messsonden angeschlossen waren, wurde mit der Reperfusion begonnen, die sich in drei Phasen gliederte.

Das Nachlastgefäß (2) des linken Kreislaufs wurde bei etwa 50 mmHg (entspricht 68 cmH₂O) eingestellt. Der Windkessel (1) wurde etwa zu einem Drittel gefüllt, wobei darauf geachtet wurde, dass das Ventil des Handmanometers verschlossen war, um ein Überlaufen des Perfusats zu verhindern.

Zur Füllung des Aortenstutzens wurden die Arteria coronaria dextra und Arteria coronaria sinistra am Abgang aus der Aorta mit Daumen und Zeigefinger komprimiert. Dann wurden die Schlauchklemmen zwischen Aortenstutzen und Windkessel vorsichtig gelöst, so dass eine langsame, luftfreie Füllung des Aortenstutzens gewährleistet war.

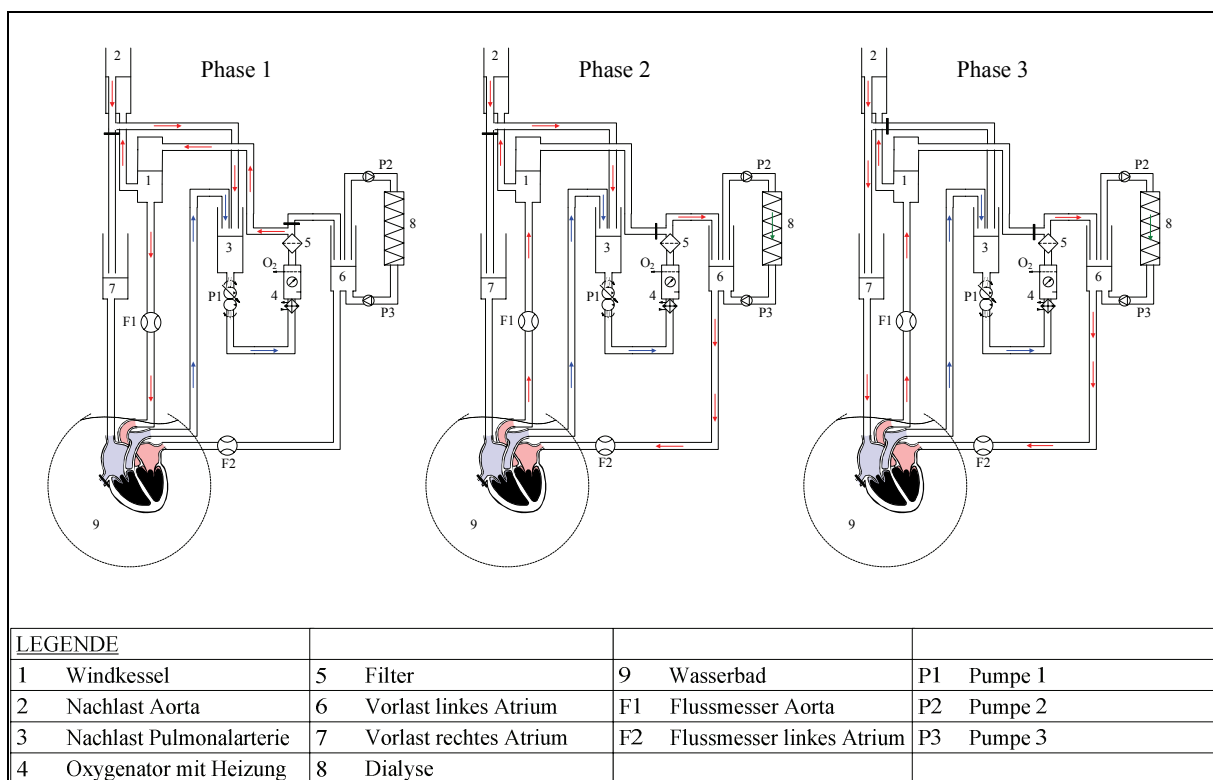


Abbildung 4.2.5 Schema der Reperfusion

Nach vollständiger Füllung des Aortenstutzens wurde die Kompression der Koronararterien gelöst. Dieser Zeitpunkt wurde als Beginn der Reperfusion protokolliert. Um den venösen Abfluss aus der Arteria pulmonalis zu gewährleisten, wurde der Schlauch zum Nachlastgefäß des rechten Kreislaufs (3) gefüllt und das Gefäß unterhalb der Klappenebene positioniert.

Da es nach Beginn der Reperfusion aufgrund der einsetzenden Energie- und Sauerstoffversorgung zu Kammerflimmern kommt [42], wurde das Herz mit Hilfe von zwei Löffelektroden defibrilliert. Der Defibrillator (GE Medical Systems; Responder 1100; Milwaukee, USA) konnte im Bereich von 2 bis 360 J betrieben werden. Bei der internen, epikardialen Defibrillation mit Löffelektroden wurde eine geringe Energie gewählt, da diese direkt am Organ erfolgte. Bei Einsetzen von Kammerflattern oder -flimmern wurde mit der Defibrillation bei 30 J begonnen. Die Löffelektroden wurden dazu ganzflächig an das rechte Herzohr sowie an den linken Ventrikel gebracht, so dass nun das Entladen durch eine zweite Person erfolgen konnte. Waren weitere Defibrillationen aufgrund von weiter bestehendem Kammerflimmern notwendig, wurde die Energie bis auf 50 J erhöht und wiederholt. Die durchgeführten Maßnahmen wurden im Protokoll notiert. Als weitere Maßnahme zur Unterstützung einer synchronen Herztätigkeit wurde Noradrenalin (0,5-1,0 ml, Arterenol®-Verdünnung: 100 µg/ml Noradrenalin) in das Nachlastgefäß des rechten Kreislaufs (3) gegeben werden, da sich in klinischen Untersuchungen zeigte, dass die Gabe von Noradrenalin effektiver ist als die Gabe von Adrenalin [66]. Es hat geringere Auswirkungen auf die Herzfrequenz und den Sauerstoffverbrauch. Die Gabe wurde bis zu einer synchronen Herztätigkeit alle drei Minuten wiederholt. Etwa 10 Minuten nach Beginn der Perfusion wurden eine Blutgasanalyse und eine Oximetrie vorgenommen.

Während der Phase 1 (siehe Abbildung 4.2.5) der Reperfusion gelangte das arterielle Perfusat retrograd aus dem Windkessel über den Aortenstutzen in die Koronarien (Langendorff-Modus). Nach der Perfusion der Koronarien gelangte das venöse Perfusat in den rechten Vorhof und Ventrikel und floss von dort über die Pulmonalarterie in das Nachlastgefäß des rechten Kreislaufs. Mit Hilfe einer Rollerpumpe (P1) wurde es durch den Oxygenator (4), wo es arterialisiert und temperiert wurde, und den arteriellen Filter (5) gefördert. Danach gelangte das Perfusat wieder in den Windkessel (1) und in das Nachlastgefäß des linken Kreislaufs (2). Der Ablauf des Nachlastgefäßes der Aorta erfolgte hierbei in das Nachlastgefäß der Arteria pulmonalis (3). In dieser Phase der Reperfusion waren die Vorlastgefäße noch nicht befüllt und die Dialyse (8) ebenfalls noch nicht angeschlossen.

Schlug das Herz in dieser Phase stabil und bestand ein Organfluss von mindestens $80 \text{ mlmin}^{-1}100\text{g}^{-1}$ konnte mit der Phase 2 der Reperfusion (Zweikammer-Perfusion) begonnen werden. Hierfür wurde der Flussmesser der Aorta (F1) zwischen dem Herzen und dem Windkessel für die Messung des antegraden Flusses umgedreht. Das Vorlastgefäß zum linken Atrium (6) wurde befüllt indem die Schlauchklemme zwischen arteriellem Filter und Gefäß

gelöst und ein Pegelstand von etwa 6 cm erreicht wurde. Die Vorlasthöhe wurde auf 20 mmHg (entspricht etwa 27 cmH₂O) eingestellt, wobei das dem Abstand zwischen Klappenebene und Pegelstand des Vorlastgefäßes entsprach. Vor dem Beginn der Phase 2 wurde nochmals überprüft, ob der Verbindungsschlauch zum linken Atrium luftfrei gefüllt war. Dann wurde die Schlauchklemme entfernt, so dass nun ein Fluss zum linken Vorhof bestand und über den angebrachten Flussmesser (F2) gemessen werden konnte. Außerdem wurde die Klemme zwischen Oxygenator und Vorlastgefäß umgesetzt auf den Verbindungsschlauch zwischen Oxygenator und Windkessel. Ab diesem Zeitpunkt wurde der Pegelstand im linken Vorlastgefäß mit Hilfe der Pumpe (P1) manuell geregelt. Hierbei war darauf zu achten, dass der Pegelstand 5 cm nicht unterschritt, da sonst Luft in den linken Kreislauf gelangen und eine Luftembolie hervorrufen konnte. Da der Windkessel als Reservoir diente, konnte bei abnehmender Perfusatsmenge mit Hilfe des Handmanometers Perfusats dem Kreislauf zugeführt werden.

Während der Phase 2 gelangte das arterielle Perfusats aus dem Vorlastgefäß in den linken Vorhof, weiter in den linken Ventrikel und von dort antegrad in die Aorta und in die Koronararterien. Über den Windkessel und das Nachlastgefäß gelangte das Perfusats in das Nachlastgefäß des rechten Kreislaufs. Von dort wurde das Perfusats mit der Pumpe durch den Oxygenator und den arteriellen Filter in das Vorlastgefäß des linken Atriums gefördert. Der koronarvenöse Rückfluss erfolgte hierbei in den rechten Vorhof und den rechten Ventrikel und weiter in die Arteria pulmonalis. In dieser Phase der Perfusion konnte mit der Dialyse (8) aus dem Vorlastgefäß des linken Kreislaufs begonnen werden. Der Koronarfluss wurde in dieser Phase aus der Differenz zwischen dem Perfusatsfluss in das linke Atrium und dem Aortenfluss berechnet.

Wurde ein optimaler Organfluss (mindestens 80 ml·min⁻¹·100g⁻¹) erreicht, konnte mit der Phase 3 der Perfusion begonnen werden. Dafür wurde der Ablaufschlauch des Nachlastgefäßes der Aorta mit einer Schlauchklemme versehen und aus dem Nachlastgefäß der Arteria pulmonalis in das Vorlastgefäß des rechten Atriums gebracht. Die Klemme wurde nun geöffnet und das Perfusats floss in das Vorlastgefäß bis zu einem Pegelstand von etwa 6 cm. Nach dem die Vorlast des rechten Atrium (7) auf etwa 15 mmHg eingestellt war (Abstand zwischen Klappenebene und Pegelstand im Gefäß), wurde die Klemme am Zulaufschlauch in den rechten Vorhof ebenfalls geöffnet und das Perfusats gelangte in den rechten Vorhof. Nun erfolgte die Perfusion im Vierkammer-Working-Heart-Modus.

Während der Phase 3 gelangte das arterielle Perfusat aus dem Vorlastgefäß des linken Kreislaufs in das linke Atrium und weiter in den linken Ventrikel, von wo es durch die Aorta in den Windkessel und in der Diastole in die Koronarien gelangte. Über den Windkessel und das Nachlastgefäß floss das Perfusat in das Vorlastgefäß des rechten Kreislaufs und gelangte damit in das rechte Atrium. Aus dem rechten Atrium erreichte das Perfusat den rechten Ventrikel und gelangte mit Unterstützung durch das Heber-Prinzip weiter in das Nachlastgefäß der Pulmonalarterie. Von dort wurde das Perfusat mit Hilfe der Pumpe durch den Oxygenator und den arteriellen Filter in das Vorlastgefäß des linken Kreislaufs gefördert. Das venöse Perfusat der Koronararterien gelangte in den rechten Vorhof und Ventrikel und vermischte sich dort mit dem einströmenden arteriellen Perfusat.

Schlug das Herz in diesem Vierkammer-Working-Heart-Modus stabil, wurde nochmals überprüft, ob das Herz im Bereich der Vorhöfe noch undichte Stellen aufweist, die mit einer Ligatur versorgt werden mussten. Wenn kein Perfusat am Herzen austrat, konnte das Herz mit Hilfe der Kurbel an der Magnettafel in den Kugelbehälter (9) abgesenkt werden.

4.2.3 Blutgasanalyse und Laboruntersuchungen

Während der Versuche wurden arterielle und venöse Blutgasanalysen durchgeführt. Diese wurden unmittelbar vor Beginn der Reperfusion (Zeitpunkt 0) und 10-15 Minuten nach erfolgter Reperfusion durchgeführt sowie im weiteren Verlauf in 30-minütigem Abstand. Die Entnahme der arteriellen Blutprobe erfolgte vor dem Zuflussschlauch in das linke Atrium. Aus dem Nachlastgefäß der A. pulmonalis wurde die venöse Blutprobe entnommen. Die Analyse erfolgte dann mit Hilfe des Blutgasanalyse- und Oximetrieegerätes (ABLTM505 und OSMTM3, Radiometer Copenhagen, Dänemark). Die Elektrolyte im Perfusat wurden entsprechend den Referenzwerten (Tabelle 4.2.1) mittels Zugaben in das System angepasst.

Referenzwerte Schwein

pH art.	7,38-7,42
PO ₂ art.	100-200 mmHg
PCO ₂ art.	40 ±4 mmHg
sO ₂ art.	99,00 %
O ₂ -Gehalt art.	12,50 Vol%
Gesamt-Hämoglobin (Hb)	9-13 g/dl
Hämatokrit (Hkt)	36-43 %
Ca ⁺⁺ -Gehalt i.Serum	2,3-2,9 mmol/l
K ⁺ -Gehalt i.Serum	4,4-6,5 mmol/l
Na ⁺ -Gehalt i.Serum	139,2-152,5 mmol/l
HCO ₃ ⁻ -Gehalt i.Serum	18,0-27,0 mmol/l

Tabelle 4.2.1 Referenzwerte des Schweins der Blutgasanalyse und Oximetrie [49, 109]

Weiterhin wurde stündlich der Glucosegehalt des Perfusats mittels Glucometer (Elite Bayer 3936 C und Teststreifen Code No. F5) kontrolliert und bei Werten unter 100 mg/dl erfolgte eine Bolus-Gabe von 10 ml Glucose-Lösung (50 %, DeltaSelect GmbH) in den Perfusat-kreislauf.

Zudem wurde Blut für Laboruntersuchungen im Labor des Deutschen Herzzentrums Berlin dem Perfusatkreislauf entnommen, bei dem LDH, GOT, Gesamt-Protein, Albumin, Kalium, Lactat sowie Myoglobin und Troponin I bestimmt wurden. Die erste Entnahme fand kurz vor Anschluss des Herzens an das Perfusionssystem statt und wurde als Basiswert bezeichnet. Die weiteren Laborproben bezogen sich auf den Anfang des „Steady-State“, der als Zeitpunkt 0 bezeichnet wurde. Es erfolgten weitere Blutentnahmen in 30-minütigem Abstand. Als „Steady-State“ wurde die stabile Herztätigkeit während der Vierkammer-Perfusion benannt, in der das Herz selbständig schlug.

4.2.4 Durchführung der Versuche

Vor Anschluss des Herzens an das Perfusionssystem wurde jeweils eine Blutgasanalyse (Zeitpunkt 0 min) des Perfusats durchgeführt und das Perfusat wenn nötig entsprechend den Referenzwerten substituiert. Wie in Abschnitt 4.2.2.4 beschrieben, wurde zunächst im Langendorff-Modus perfundiert und bei Stabilität des Systems auf den „Working-Heart“-Modus umgeschaltet. Reanimationsmaßnahmen und Zugaben in das Perfusionssystem wurden im Protokoll notiert. Zudem erfolgten Blutgasanalyse und Oximetrie im Abstand von 30 min sowie die Blutglucosebestimmungen mittels Glucometer stündlich. Die

hämodynamischen Parameter wurden alle zehn Minuten protokolliert, wobei aufgrund des Aufbaus erste Messungen erst etwa 30 Minuten nach Reperfusion erhoben werden konnten. Im späteren Verlauf konnte das Herz in das Wasserbad und damit in die mit Elektroden versehene Kugel abgesenkt werden, sodass Messung im Rahmen des EKG-Mapping-Verfahrens erfolgen konnten. Während der Versuche erfolgte eine kontinuierliche Anzeige von EKG sowie LVP und RVP am Patientenmonitor (Siemens Sirecust 960). Eine Übersicht zum Versuchsaufbau bietet die Abbildung 4.2.6.

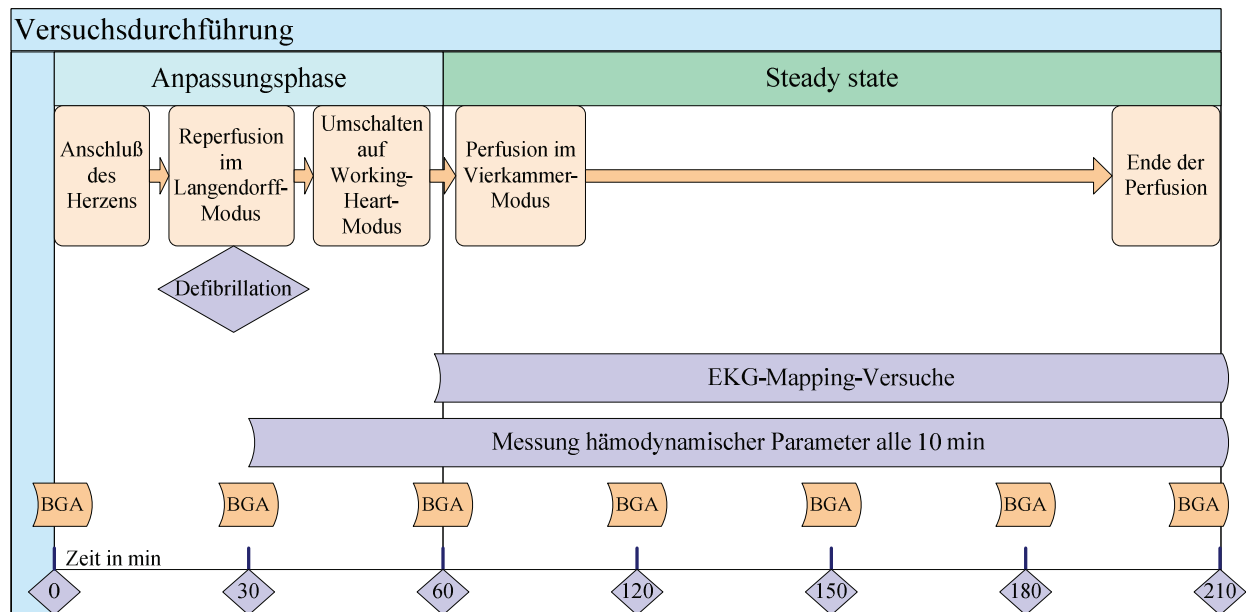


Abbildung 4.2.6 Versuchsdurchführung der isolierten Perfusion

4.2.4.1 Hämodynamische Messungen während der Versuche

Mittels Flowmeter (Transonic Laboratory Tubing Flowmeter T110, Ithaca, USA) wurde sowohl während der Anpassungsphase als auch während des Steady-States der Zufluss in das linke Atrium und der Aortenfluss gemessen. Diese Werte wurden nach erfolgreicher Reanimation in 10 Minuten Abständen protokolliert. Der Koronarfluss errechnet sich in diesem Aufbau aus der Differenz zwischen Zufluss in das linke Atrium und Aortenfluss, wie bei Chinchoy et al. [15] und Podesser et al. [86] beschrieben.

Die Druckmessungen erfolgten mittels der in den linken und rechten Ventrikel eingeführten Tipkatheter (Pressure Catheter 2 F Sensor Size, Millar Instruments Inc.; Houston, USA). Ein Nullabgleich am Patientenmonitor (Siemens Sirecust 960) wurde vor der Präparation durchgeführt. Zeitgleich mit der Protokollierung der Flusswerte wurden die linksventrikulären und rechtsventrikulären Druckwerte (LVP, RVP) notiert. In späteren Versuchen erfolgte zudem die Aufzeichnung dieser Werte mit einem Lab-Windows-basierten Programm. Hierfür

war vor Beginn der Präparation und Reperfusion eine Kalibrierung der Tipkatheter nötig. Die Daten wurden halbstündig eingelesen und konnten mit Hilfe des Programms Excel 2003 weiter verarbeitet werden.

Das EKG sowie die links- und rechtsventrikulären Druckkurven wurden am Patientenmonitor kontinuierlich angezeigt. Die Vorlast und Nachlast wurde jeweils manuell eingestellt und bemessen sich anhand der Höhe des Pegelstandes in den Gefäßen über der Klappenebene des Herzens.

4.2.4.2 EKG-Mapping-Untersuchungen

Nach Absenken des Herzens in das Wasserbad konnten die Untersuchungen zum EKG-Mapping-Verfahren stattfinden. Die unipolaren Ableitungen mit der Referenzelektrode nach Wilson machten eine 3-dimensionale Darstellung der Herzaktivität mit Hilfe von Isopotentiallinien möglich.

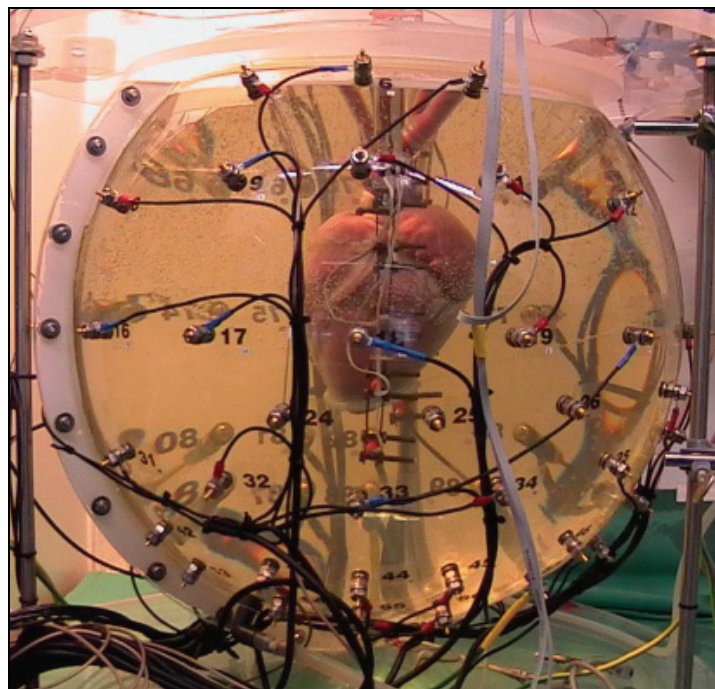


Abbildung 4.2.7 EKG-Mapping-Kugel während des Versuchs

Die Abbildung 4.2.7 zeigt die EKG-Mapping-Kugel mit dem darin befindlichen Herz während eines Versuchs. Die gemessenen EKG-Signale wurden verstärkt und A/D gewandelt. Für den Zeitraum der gesamten Messung wurde fortlaufend ein 4-Sekunden-Bereich auf dem Monitor dargestellt. Im Abstand von jeweils 30 Minuten erfolgte die Aufzeichnung aller Ableitungen der 75 Elektroden über ein Intervall von 4 Sekunden mit

einer Frequenz von 500 Hz. Zudem wurden die ermittelten Signale vor der weiteren Analyse gefiltert (50 Hz) um Störsignale zu vermindern.

4.2.5 Statistik (Methoden der Auswertung)

Für die statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse wurden die Programme Excel 2003 und SPSS 12.0 für Windows genutzt.

Unter Verwendung von SPSS 12.0 wurden die Ergebnisse mit Hilfe von Boxplots grafisch dargestellt. Anhand dieser Abbildungen kann man den Median, das 1. und 3. Quartil (25 %- und 75 %-Quartile) sowie die Minimal- und Maximalwerte in Form von Whiskers entnehmen. In der Box sind somit 50 % aller Daten enthalten. Die Länge der Box, der so genannte Interquartilsabstand, ist ein Maß der Streuung und gibt Auskunft über die Variabilität der Messwerte. Boxplots eignen sich daher gut, um einen visuellen Eindruck über die Symmetrie einer Verteilung und deren Extremwerte zu erhalten.

Liniendiagramme wurden mit Hilfe von Excel 2003 erstellt und zeigen die Mittelwerte mit der Standardabweichung zum jeweiligen Messzeitpunkt. Weiterhin wurden die tabellarisch dargestellten Werte unter Verwendung von Excel 2003 als Minimal- und Maximalwerte sowie Median ermittelt.

5 ERGEBNISSE

Im Folgenden werden die Ergebnisse bezüglich Hämodynamik, Biochemie sowie des EKG-Mappings während der normothermen Hämoperfusion isolierter Schweineherzen dargestellt.

5.1 Normotherme Hämoperfusion isolierter Schweineherzen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das hier verwendete Verfahren der Vierkammerperfusion isolierter Schweineherzen apparativ und methodisch entwickelt. In der Folge wurden sieben Schweineherzen entnommen und über mindestens 170 Minuten mittels standardisierter Methodik perfundiert. Diese Versuche dienten der Charakterisierung des Perfusionssystems. Die für diese Versuche ausgewählten Schweine wurden zum Teil von anderen Arbeitsgruppen genutzt bzw. zur Verfügung gestellt, so dass Schweine unterschiedlichen Alters und Gewichts in die Versuche einbezogen wurden. Auf diese Weise sollte dem § 9 TschG Rechnung getragen und die benötigte Tierzahl gesenkt werden. In Tabelle 5.1.1 wird ein Überblick über die jeweiligen Gewichte der Schweine sowie deren Herzen und der Gewichtszunahmen gegeben.

Versuch Nr.	Gewicht/ Schwein	Herzgewicht vor Versuch	Herzgewicht nach Versuch	Gewichts- zunahme	Herzgewicht (% des Lebendgew.)
	[kg]	[g]	[g]	[%]	[%]
BV-1	39	214	255	19,16	0,55
BV-2	46	226	270	19,47	0,49
BV-3	141	454	645	42,07	0,32
BV-4	131	410	563	37,32	0,31
BV-5	137	436	598	37,16	0,32
BV-6	53	235	314	33,62	0,44
BV-7	40	220	274	24,55	0,55
MIN	39	214	255	19,16	0,31
MAX	141	454	645	42,07	0,55
MEDIAN	53	235	314	33,62	0,44

Tabelle 5.1.1 Übersicht zu Gewicht der Schweine und deren Herzen

Hieraus ist zu entnehmen, dass das Herzgewicht relativ zum Körpergewicht bei großen Schweinen, wie im Versuch BV-3, BV-4 und BV-5, kleiner ist und nur 0,31-0,32 % beträgt.

Zudem kommt es in diesen Versuchen zu einer größeren Gewichtszunahme der Herzen als bei den Herzen kleinerer Schweine. Insgesamt ist eine Gewichtszunahme von mindestens 19,16 % bis maximal 42,07 % zu verzeichnen.

Ischämie- und Perfusionszeiten der isolierten Schweineherzen sind in Tabelle 5.1.2 zusammengefasst. Hierbei wird die Zeit zwischen Herzentnahme und Beginn der Kardioplegie als warme Ischämiezeit bezeichnet und betrug in allen Versuchen weniger als 60 Sekunden. Die kalte Ischämiezeit, in der das Herz präpariert und an das System angeschlossen wurde bis zum Zeitpunkt der Reperfusion, betrug in allen Versuchen bis zu 208 Minuten.

	Min - Max	(Median)
warme Ischämiezeit - [s]	20 - 60	(45)
kalte Ischämiezeit - [min]	95 - 208	(181)
Perfusionszeit - [min]	170 - 280	(197)

Tabelle 5.1.2 Ischämie- und Perfusionszeiten

Die Schweineherzen wurden bis zu 280 Minuten perfundiert, jedoch werden zur statistischen Auswertung im Folgenden die Werte bis zu 200 Minuten nach Reperfusion betrachtet und dargestellt.

Zur Reanimation der Schweineherzen wurde, wie in Kapitel 4.2.2.4 beschrieben, defibrilliert und falls nötig Noradrenalin (Arterenol®, Verdünnung 100 µg/ml) dem Perfusat hinzu gegeben bis eine synchrone Herzrätigkeit zu verzeichnen war. Über den gesamten Versuchszeitraum konnte bei unzureichender Herzrätigkeit Noradrenalin hinzugefügt werden. Dies erfolgte bei fünf Versuchen bis zu eine Menge von 9,25 ml (= 925 µg Noradrenalin). Weiterhin wurde bei starken Blutverlusten in drei Versuchen das Perfusat aufgefüllt. Maximal wurde wie im Versuch BV-3 dem Perfusat 1,5 l Thomaejonin®-Lösung hinzugefügt.

Außerdem wurde bei Herzfrequenzen unter 50 /min der Herzschrittmarker mit einer Frequenz von 80 /min eingesetzt. In vier der sieben Versuche kam dieser bis maximal 60 Minuten zum Einsatz. Die ersten Herzfrequenzen mit synchronen Vorhof- und Kammerkontraktionen wurden 40 Minuten nach Reperfusion protokolliert. Daher ist in Abbildung 5.1.1 der Verlauf der Herzfrequenzen im Zeitraum von 40-200 Minuten dargestellt.

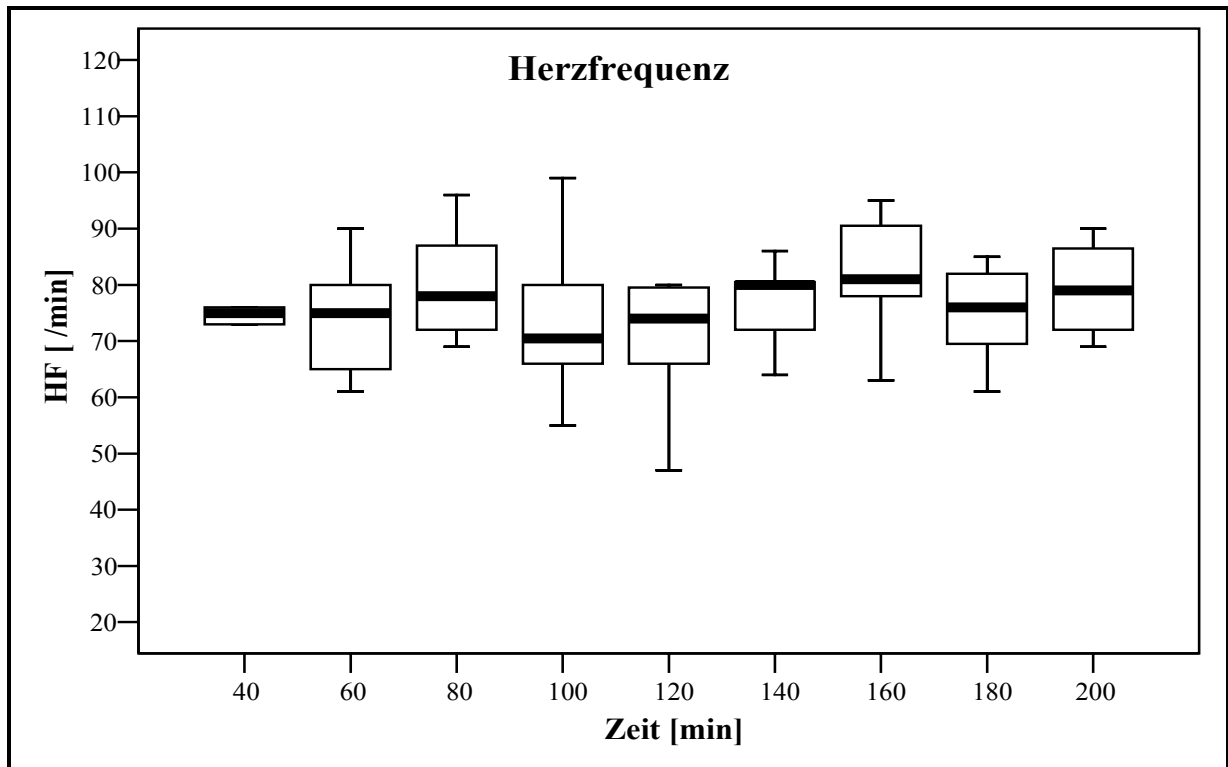


Abbildung 5.1.1 Verlauf der Herzfrequenz der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)

Es zeigt sich minimal eine Herzfrequenz von 46 /min bis maximal 99 /min im gesamten Versuchszeitraum. Der Median bewegt sich dabei zwischen 70 und 81 Schlägen pro Minute. Gleichzeitig wurde am Patientenmonitor (Siemens Sirecust 960) das EKG dargestellt, um die synchrone Herztätigkeit ständig zu kontrollieren.

5.1.1 Hämodynamik im Perfusionssystem

Zur Bewertung der Hämodynamik in diesem System stehen der Fluss in das linke Atrium (Fluss LA), der Fluss aus der Aorta (Fluss AO) sowie der linksventrikulärer Druck zur Verfügung. Da nach Anschluss der Herzen die drei Phasen der Reperfusion durchgeführt und eine stabile Herzaktivität erreicht werden musste, liegen erste Werte zu den Flüssen nach 40 Minuten vor.

5.1.1.1 Vor- und Nachlast im Perfusionssystem

Die jeweiligen Vor- und Nachlasten konnten wie zuvor beschrieben in diesem System manuell verändert werden und sind für den linken Kreislauf in Tabelle 5.1.3 dargestellt.

Zeit in [min]	Vorlast LA in [mmHg]		Nachlast AO in [mmHg]	
	Median	(Min/Max)	Median	(Min/Max)
0				
40	3,7	(3,7/3,7)	55,1	(52,9/57,4)
60	5,5	(3,7/11,0)	57,4	(54,4/77,2)
80	5,5	(3,7/7,4)	56,6	(54,4/77,2)
100	7,4	(3,7/7,4)	57,4	(54,4/77,2)
120	7,4	(7,4/33,1)	57,4	(52,9/77,2)
140	7,4	(7,4/33,1)	57,4	(52,9/77,2)
160	7,4	(7,4/33,1)	55,9	(52,9/77,2)
180	7,4	(3,7/33,1)	55,1	(52,2/57,4)
200	7,4	(3,7/33,1)	55,1	(48,5/57,4)

Tabelle 5.1.3 Vorlasten und Nachlasten im Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)

Der Median der Vorlast des linken Atriums (Vorlast LA) zeigt einen Anstieg von 3,7 mmHg (40 min) bis 7,4 mmHg (100 min) und bleibt anschließend bis 200 Minuten nach Versuchsbeginn konstant. Maximalwerte bis 33,1 mmHg werden ab 120 Minuten nach Reperfusion erreicht.

Der mittlere Wert für die Aortennachlast (Nachlast AO) bewegt sich für den gesamten Versuchszeitraum zwischen 55,1 und 57,4 mmHg, wobei ein Maximalwert von 77,2 mmHg nur in der Zeit zwischen 60 und 160 Minuten erreicht werden konnte.

Die Vor- und Nachlast des rechten Kreislauf wurde während des Versuchszeitraums konstant gehalten und lagen im Bereich von 15 bis 20 mmHg für die Vorlast zum rechten Atrium sowie zwischen 5 bis 10 mmHg für die Nachlast der Pulmonalarterie.

5.1.1.2 Flüsse und Drücke während der Perfusion

In Abbildung 5.1.2 ist der Fluss in das linke Atrium (Fluss LA) während der Vierkammerperfusion im Working-Heart-Modus dargestellt. Es zeigten sich Minimalwerte von 348 ml/min bis 786 ml/min. Maximal wurden Flüsse zwischen 1100 ml/min und 1320 ml/min erreicht. Der Median des Flusses in das linke Atrium bewegt sich im Bereich zwischen 848 und 1085 ml/min.

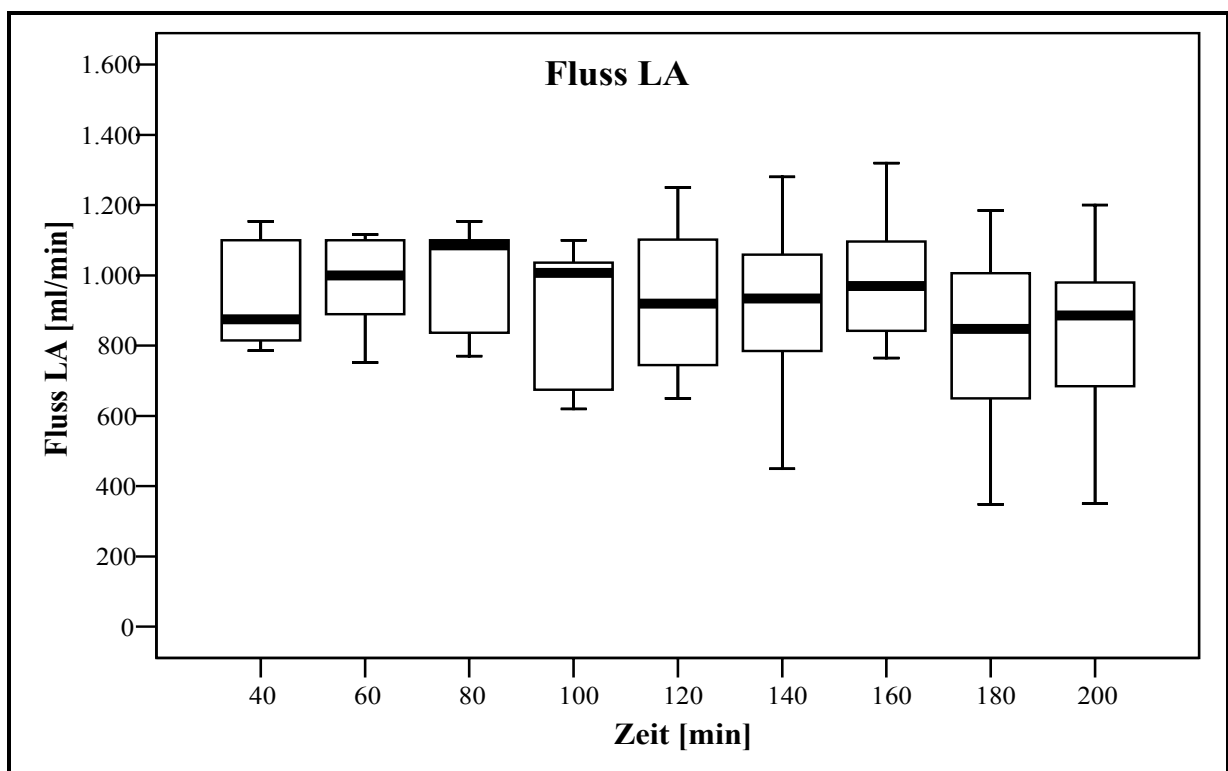


Abbildung 5.1.2 Fluss in das linke Atrium (Fluss LA) im Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)

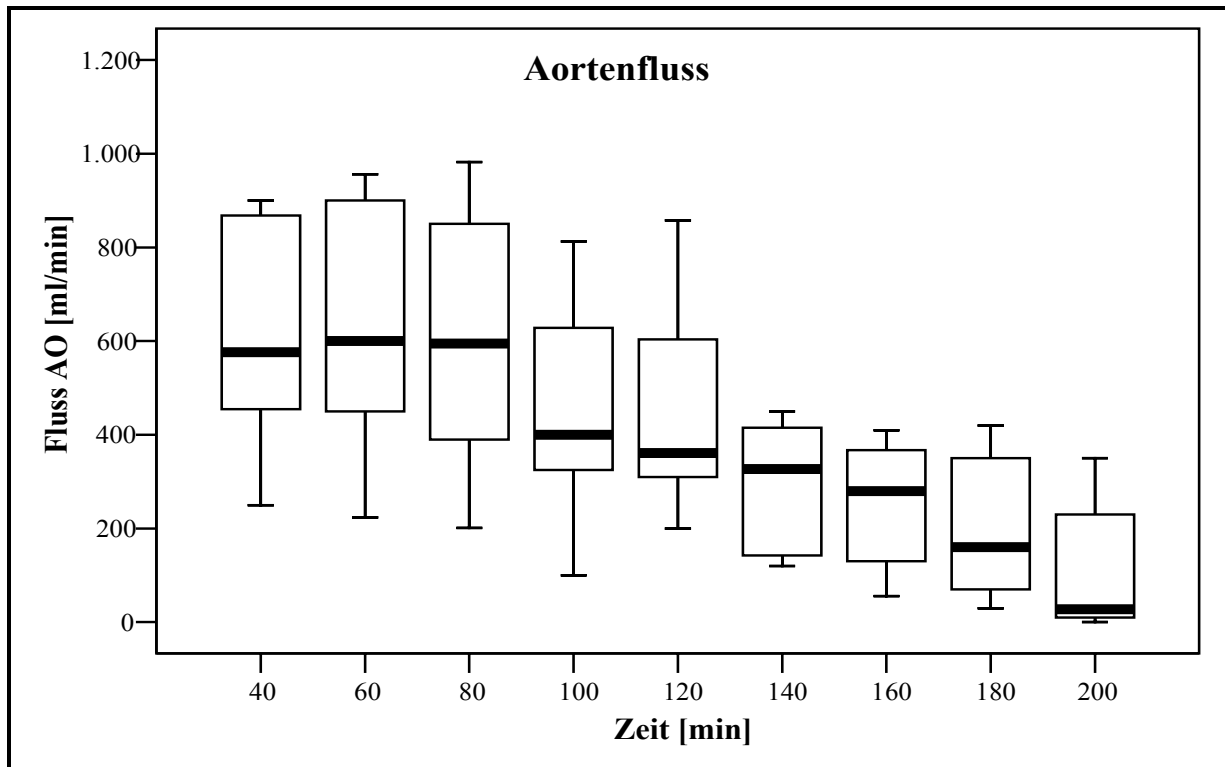


Abbildung 5.1.3 Fluss aus der Aorta (Fluss AO) im Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)

Der Aortenfluss (Fluss AO) ist in Abbildung 5.1.3 über den Versuchszeitraum von 40 bis 200 Minuten dargestellt. Es ist zunächst ein Anstieg des mittleren Flusses von 576 ml/min (40 min) auf 600 ml/min (80 min) zu verzeichnen, worauf der Aortenfluss stetig bis zu einem mittleren Wert von 28 ml/min (200 min) absinkt. Die Abnahme über den Versuchszeitraum zeigt sich gleichfalls in den maximal und minimal erreichten Aortenflüssen, wobei Flüsse über 800 ml/min nur im Zeitraum 40 bis 120 Minuten erreicht wurden. Der absolute Maximalwert wurde zum Zeitpunkt 80 min nach Perfusionsbeginn protokolliert und betrug 982 ml/min. In einem der protokollierten Versuche wurde nach 200 Minuten Perfusion kein Aortenfluss gemessen.

Der Koronarfluss pro 100 g Organgewicht (CBF pro 100 g) wurde aus der Differenz zwischen Aortenfluss und Fluss in das linke Atrium berechnet und bezeichnet das pro hundert Gramm Organgewicht und Minute das Herz durchströmende Perfusat. In Abbildung 5.1.4 ist der Verlauf des Koronarflusses über den Zeitraum von 40 bis 200 Minuten dargestellt. Der mittlere Koronarfluss steigt stetig von $66 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ zum Zeitpunkt 40 Minuten auf $202 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ zum Zeitpunkt 140 Minuten und bewegt sich im weiteren Verlauf zwischen 199 und $226 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Die Spannweite der erreichten Werte im Versuchszeitraum beträgt $24 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ bis $350 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

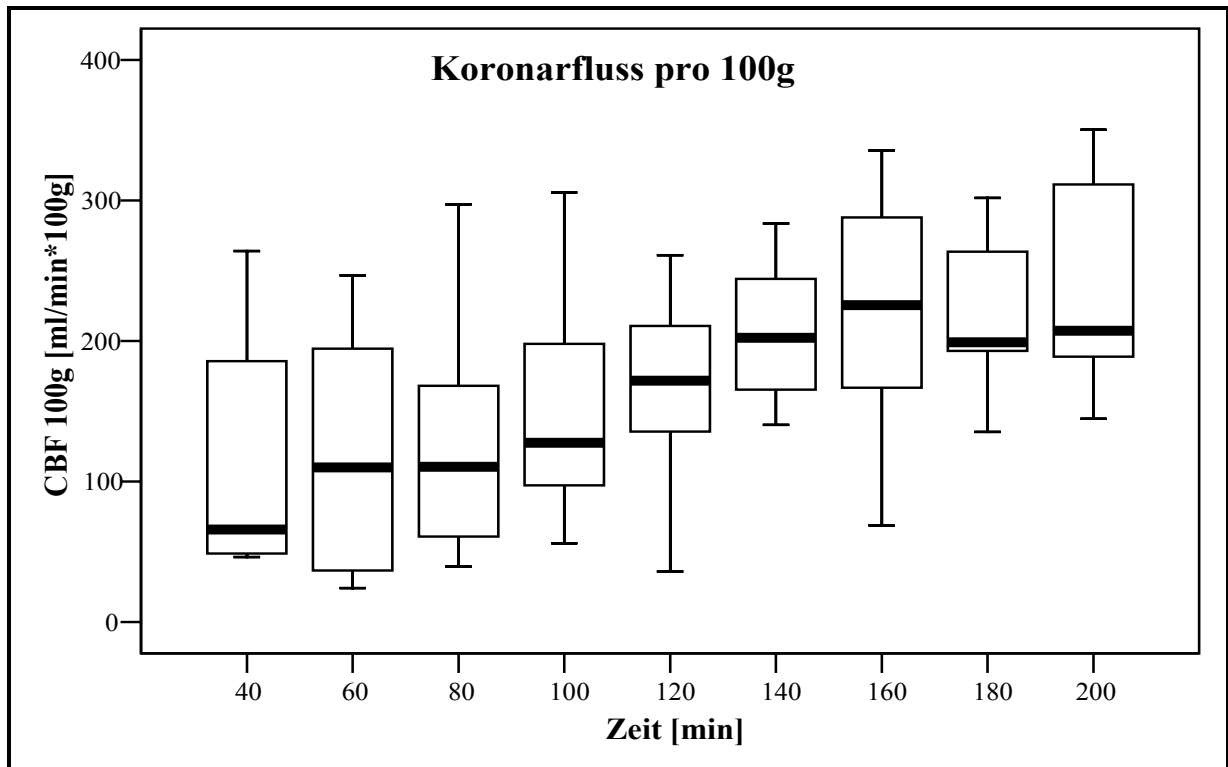


Abbildung 5.1.4 Koronarfluss pro 100 g Organgewicht (CBF_{100g}) über den Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten ($n=7$)

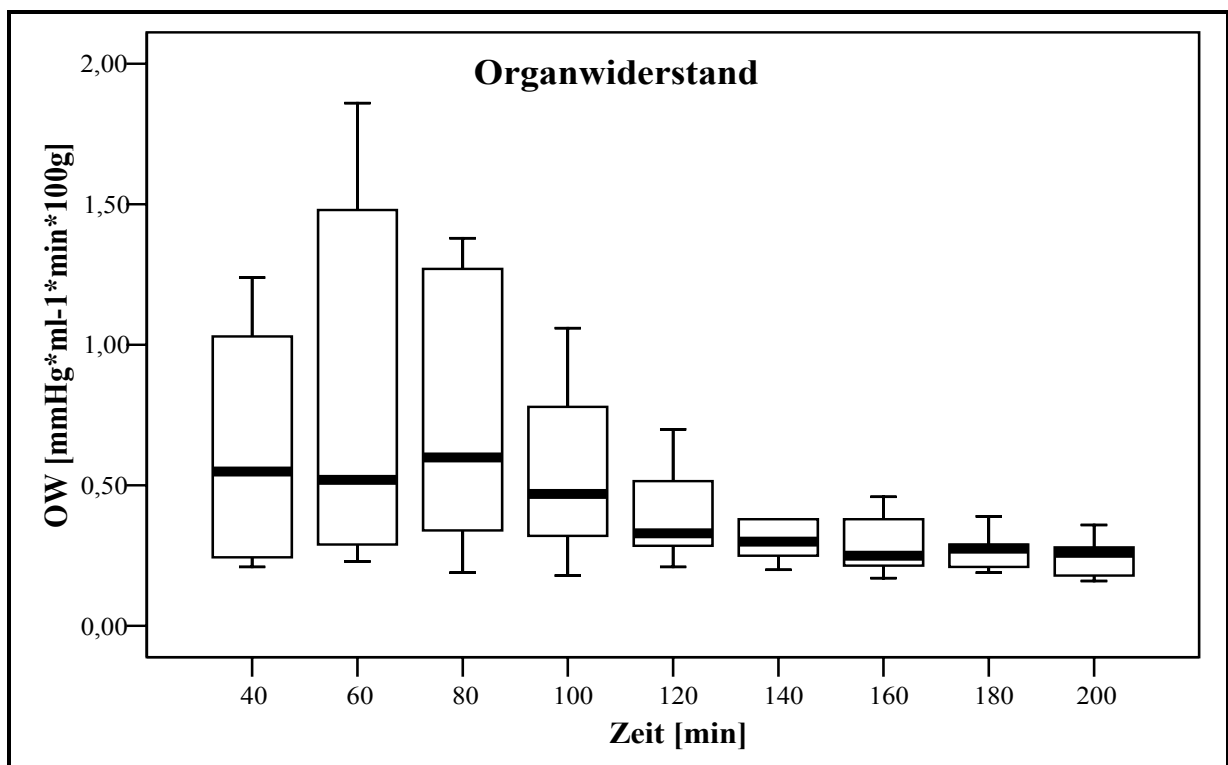


Abbildung 5.1.5 Organwiderstand (OW) über den Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten ($n=7$)

Der Organwiderstand dient der Beurteilung des Versuchsorgans sowie der Systemstabilität und ist in Abbildung 5.1.5 dargestellt. Er berechnet sich aus dem Quotienten der Nachlast

über der Aorta sowie des Organflusses pro 100 g Organgewicht. Zu Beginn zeigte sich eine starke Streuung der Werte mit einem Maximum von $1,86 \text{ mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}\cdot 100\text{g}$ zum Zeitpunkt 60 Minuten. In den ersten 100 Minuten liegt der mittlere Wert im Bereich von 0,47 bis $0,60 \text{ mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}\cdot 100\text{g}$, wohingegen der Median sich anschließend zwischen 0,25 bis $0,33 \text{ mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}\cdot 100\text{g}$ bewegt. Ab dem Zeitpunkt 120 Minuten nach Reperfusion ist eine geringere Streuung mit Spannweiten zwischen 0,16 und $0,79 \text{ mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{min}\cdot 100\text{g}$ zu verzeichnen.

Die Abbildung 5.1.6 zeigt die Mittelwerte der linksventrikulären Drücke (LVP) der isolierten Schweineherzen über den Versuchszeitraum von 40 bis 200 Minuten mit der dazugehörigen Standardabweichung. Die Mittelwerte des systolischen Drücke (LVPs) liegen im Bereich von 53,3 und 61,0 mmHg. Die diastolischen Drücke erreichen Mittelwerte zwischen 3,0 und 14 mmHg. Daraus ergeben sich linksventrikuläre Druckamplituden von 40,7 bis 54,7 mmHg.

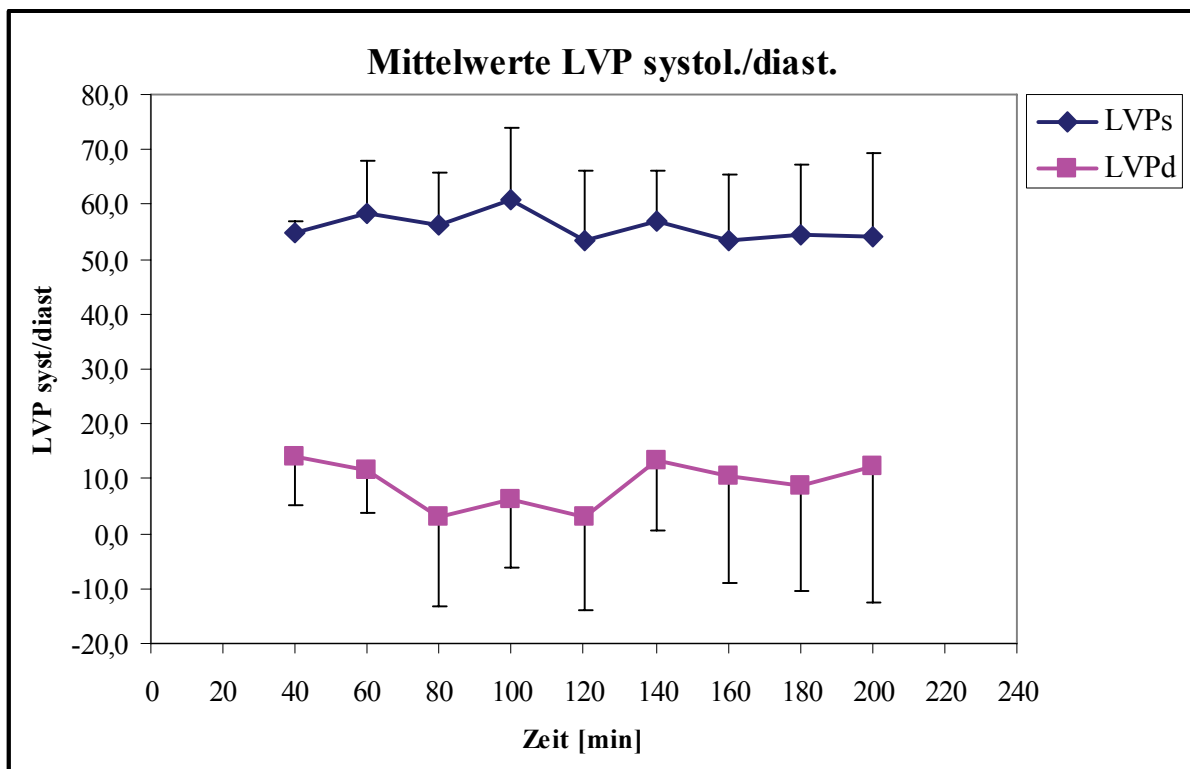


Abbildung 5.1.6 Linksventrikulärer Druck über den Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)

5.1.2 Druck- und Flussaufzeichnungen

Mit Hilfe eines Lab-Windows basierendem Programm war die Aufzeichnung von Druck- und Flusswerten über kurze Zeiträume möglich. Im Abstand von 30 Minuten wurden die Werte mit einer Frequenz von 500 Hz über 5 Sekunden eingelesen und standen der späteren Auswertung zur Verfügung. Die Abbildung 5.1.7 zeigt Ausschnitte dieser Aufzeichnungen linksventrikulärer Drücke über einen Zeitraum von drei Sekunden zu den Versuchszeitpunkten 60 min, 120 min, 180 min und 210 min.

Hierbei ist zu erkennen, dass die Amplituden über die Versuchszeit abnehmen. Zum Zeitpunkt 60 Minuten beträgt die Amplitude etwa 105 mmHg und fällt zum Zeitpunkt 120 Minuten auf etwa 40 mmHg ab. Nach 180 Minuten Perfusionszeit erreicht die Amplitude etwa 30 mmHg und fällt auf etwa 25 mmHg zum Zeitpunkt 210 Minuten. Der Abfall der Amplitude ist zu Beginn der Perfusion zwischen den Messpunkten 60 und 120 Minuten am größten.

Die systolischen Druckwerte erreichen zu Beginn Werte um 120 mmHg und sinken dann auf etwa 66 mmHg (120 min) und weiter auf 60 mmHg (180 min) und erreichen zum Ende Werte von etwa 55 mmHg. Demgegenüber ist bei den diastolischen Druckwerten ein Anstieg über den Versuchszeitraum zu verzeichnen. Nach 60 Minuten Perfusionszeit liegen diese um 18 mmHg. Danach wurden Werte von etwa 28 bis 30 mmHg aufgezeichnet.

Weiterhin ist eine Abflachung der Druckkurven über den Versuchszeitraum erkennbar. Die Spitzen der linksventrikulären Druckkurven flachen zunehmend ab, wohingegen ein Anstieg der Kurven im diastolischen Bereich sichtbar wird. Die Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dLVP/dt$) nimmt ebenfalls erkennbar ab. Zu Beginn wird eine maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit von etwa 800 mmHg/s erreicht.

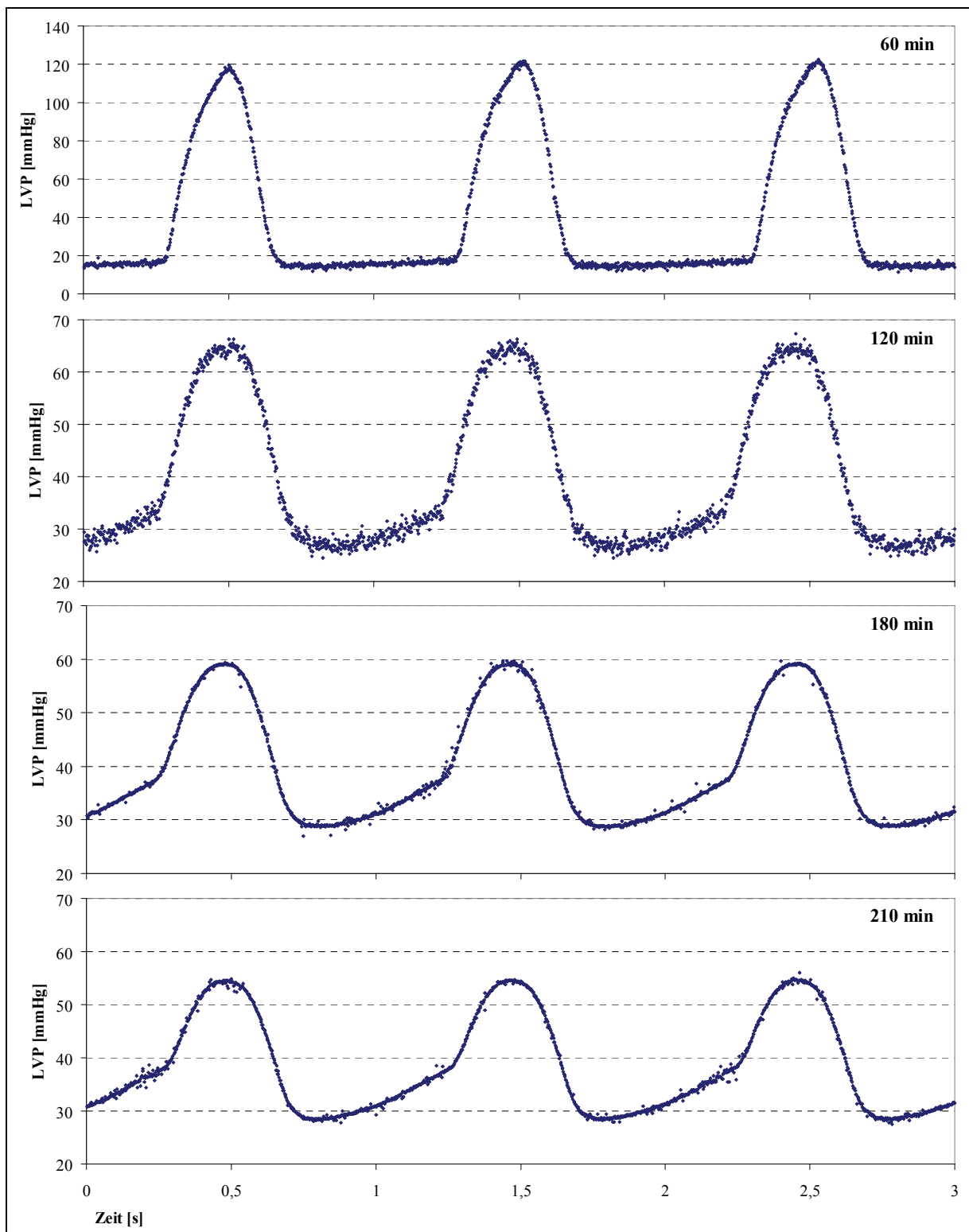


Abbildung 5.1.7 Linksventrikulärer Druck (LVP) am Beispiel eines Versuches zum Zeitpunkt 60, 120, 180 und 210 Minuten nach Perfusion, Aufzeichnung über 3 Sekunden

Entsprechend den linksventrikulären Druckkurven konnten mit Hilfe des Programms die Flüsse aus der Aorta und in das linke Atrium aufgezeichnet und ausgewertet werden. Hier wurden die Werte ebenfalls über 5 Sekunden mit einer Frequenz von 500 Hz eingelesen. In Abbildung 5.1.8 sind die Kurven für den Aortenfluss und den Zufluss in das linke Atrium zu den Zeitpunkten 60 min, 120 min, 180 min und 210 min dargestellt.

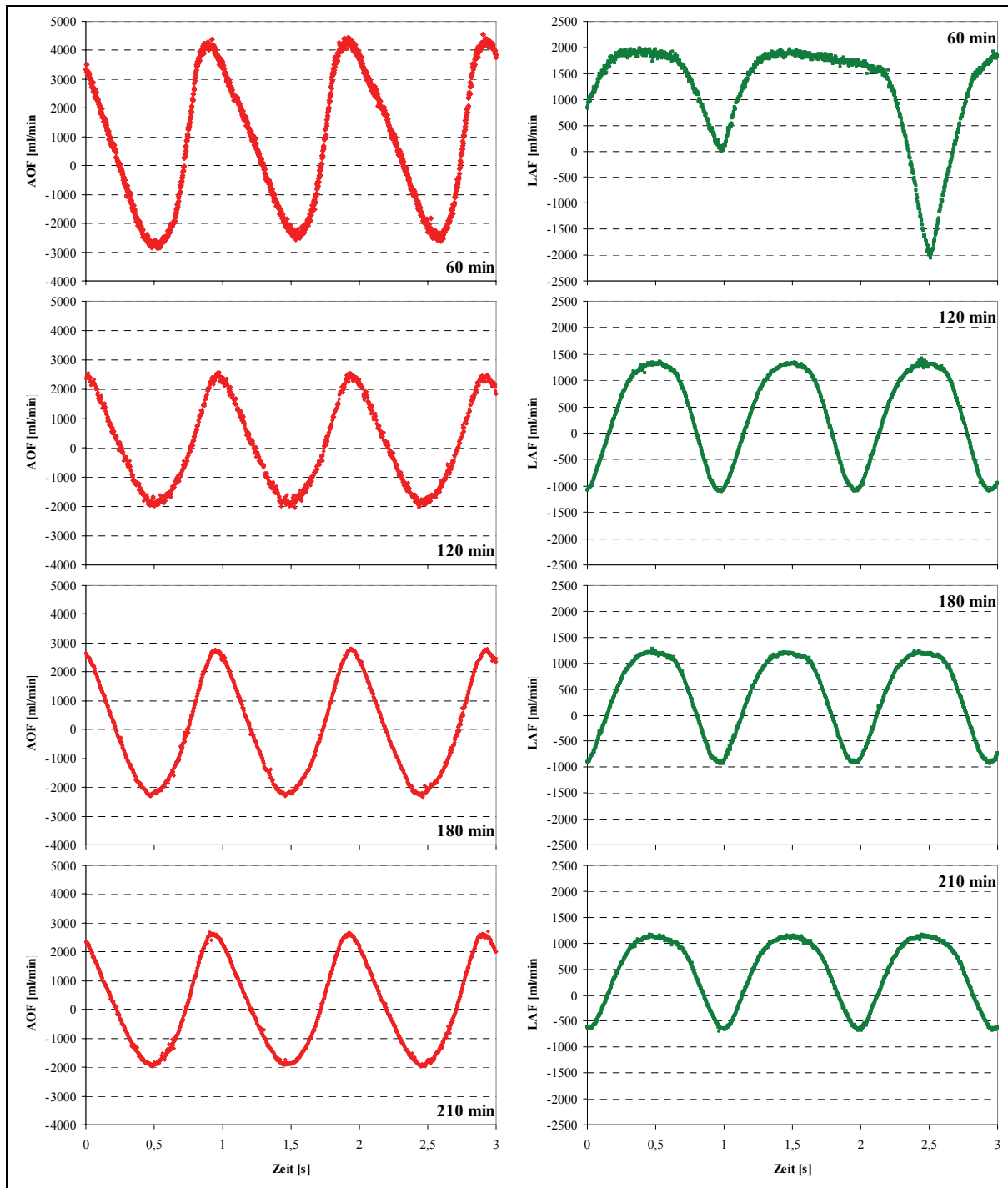


Abbildung 5.1.8 Aortenfluss (AOF, rot) und Fluss in das linke Atrium (LAF, grün) am Beispiel eines Versuches zum Zeitpunkt 60, 120, 180 und 210 Minuten nach Perfusion, Aufzeichnung über 3 Sekunden

Nach 60 Minuten Perfusionszeit erreicht der Aortenfluss einen Maximalwert von etwa 4400 ml/min. Danach liegen diese Werte bei etwa 2500 ml/min (120 min), 2800 ml/min (180 min) und nach 210 Minuten bei etwa 2700 ml/min. Dementsprechend wird die größte Amplitude zwischen systolischen und diastolischen Werten zum Zeitpunkt 60 min erreicht. Diese beträgt etwa 7200 ml/min. Nachfolgend wurden Werte zwischen 4500 und 5100 ml/min verzeichnet, wobei ein leichter Anstieg der Amplitude zum Zeitpunkt 180 min erkennbar war. Die Form und damit die Flussgeschwindigkeit bleibt über den Versuchszeitraum weitgehend gleich.

Der Maximalwert für den Zufluss zum linken Atrium beträgt zum Zeitpunkt 60 Minuten etwa 2000 ml/min und sinkt über den weiteren Versuchszeitraum ab. Nach 120 Minuten beträgt der maximale Fluss 1300 ml/min, danach bei 180 Minuten etwa 1200 ml/min und nach 210 Minuten etwa 1100 ml/min. Die größte Amplitude zwischen systolischen und diastolischen Werten ist zum Zeitpunkt 120 min zu verzeichnen. Hier beträgt sie etwa 2350 ml/min und fällt danach auf 2200 ml/min (180 min) und weiter auf 1700 ml/min (210 min) ab. Entsprechend flachen die Kurven im Versuchszeitraum sichtbar ab.

Aufgrund zeitlich versetzter Aufzeichnung der Druck- und Flusswerte ist eine Aussage über den Zusammenhang des Druckverlaufs mit dem Flussverlauf nur eingeschränkt möglich. Die Frequenzen beider Aufzeichnungen waren gleich und betragen 1 pro Sekunde, was auf eine Herzfrequenz von 60 /min zurückzuführen ist.

5.1.3 Blutgasanalysen

Im Folgenden sind die Ergebnisse der halbstündigen Blutgasanalysen des Perfusats während der isolierten Perfusion dargestellt.

Die Abbildung 5.1.9 zeigt den Verlauf der arteriellen und venösen pH-Werte im Mittel während der Perfusion mit der dazugehörigen Standardabweichung. Der Zeitpunkt 0 bezeichnet hierbei den Wert unmittelbar vor Beginn der Reperfusion, der ein Maximalwert von 7,72 erreicht. Bis zum Zeitpunkt 60 Minuten fällt der arterielle pH-Wert auf 7,56 ab, um danach wieder leicht anzusteigen. Der venöse pH-Wert liegt unterhalb der arteriellen Werte und schwankt im Bereich von 7,53 bis 7,58.

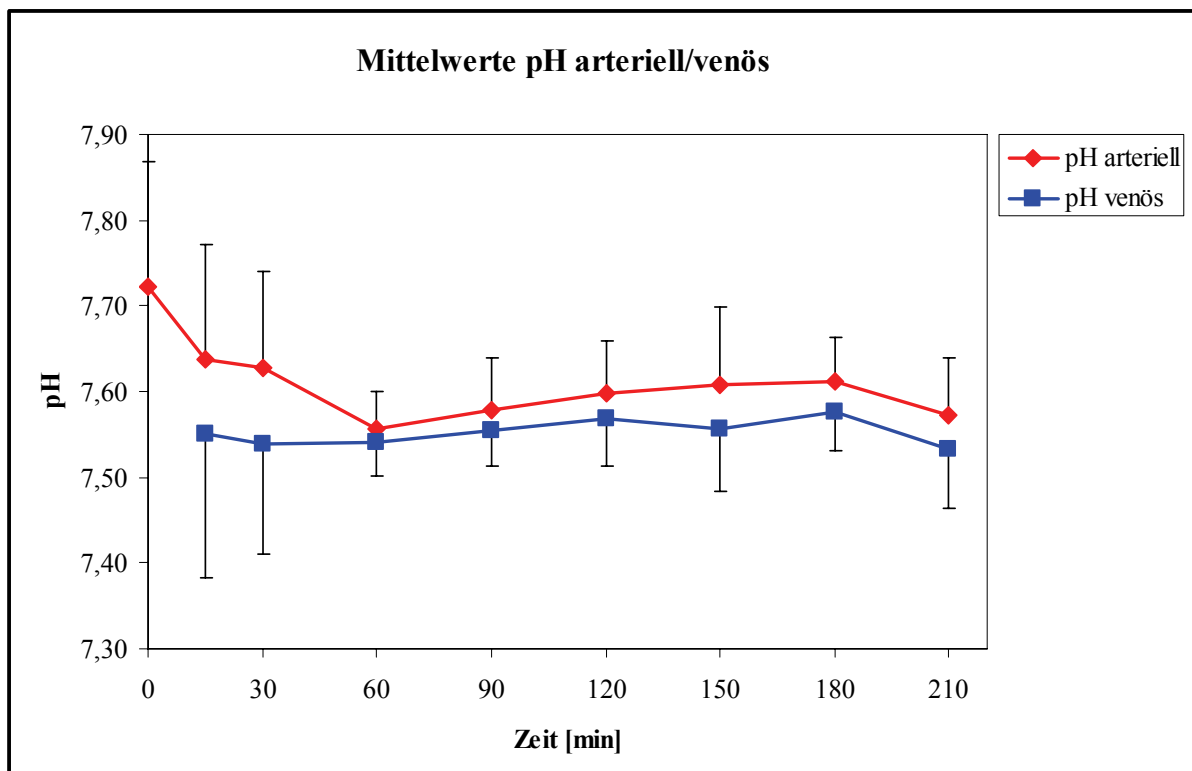


Abbildung 5.1.9 pH-Werte arteriell/venös der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); Referenzbereich: 7,38-7,42.

Bei der Betrachtung der arteriovenösen Differenz der pH-Werte ist eine Abnahme von 0,09 zu Beginn der Perfusion auf 0,01 zum Zeitpunkt 60 Minuten zu erkennen. Anschließend bewegt sich diese Differenz bei Werten zwischen 0,02 bis 0,05.

Die Mittelwerte mit Standardabweichungen der arteriellen und venösen pO_2 -Werte im Zeitraum von 0 bis 210 Minuten sind in Abbildung 5.1.10 dargestellt. Der arterielle Sauerstoff-Partialdruck zeigt im Verlauf Werte zwischen $443,0 \pm 154,2$ und $550,0 \pm 18,3$ mmHg. Die Mittelwerte des venösen Sauerstoffpartialdrucks bewegen sich im Bereich von 97 bis 162,3 mmHg und weisen einen Anstieg über den Versuchszeitraum auf. Die arteriovenöse Differenz des pO_2 liegt zwischen 330,0 und 439,8 mmHg und ist am höchsten zu Beginn der Reperfusion.

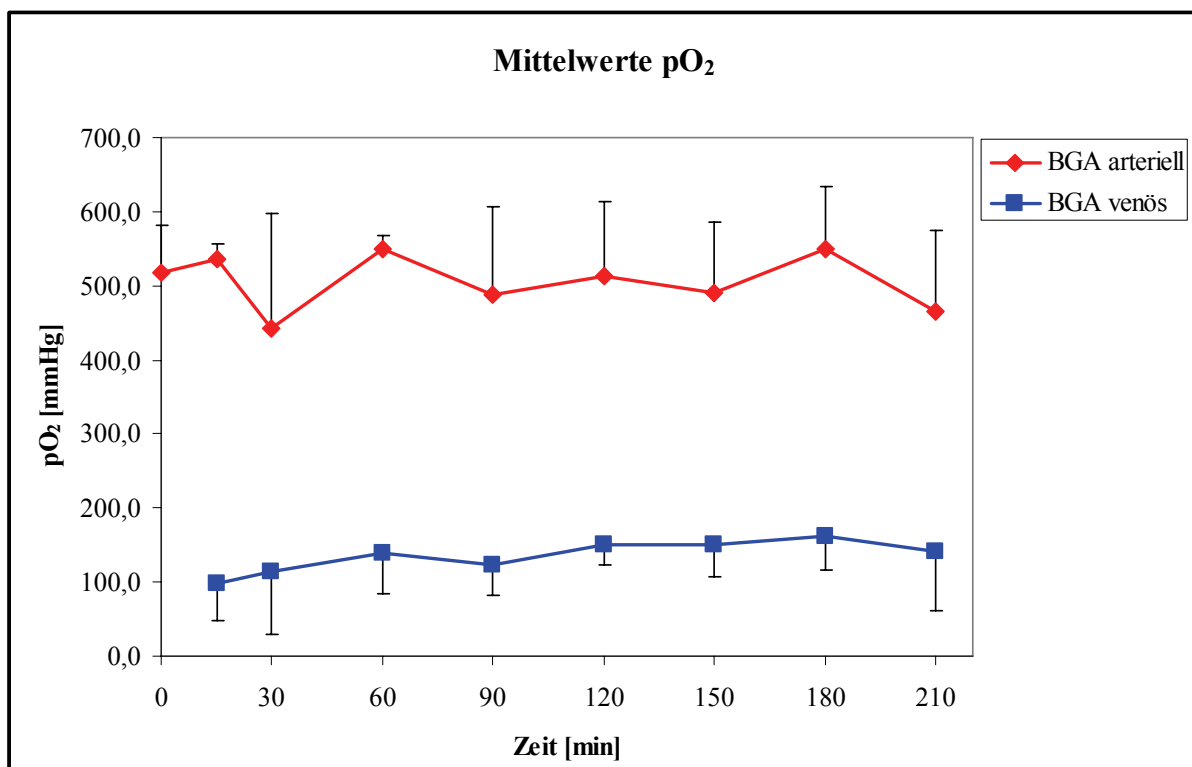


Abbildung 5.1.10 pO_2 -Werte der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); Referenzbereich 100-200 mmHg (art.)

Den Verlauf der arteriellen und venösen Kohlendioxid-Partialdrücke ($p\text{CO}_2$) zeigt die Abbildung 5.1.11. Bis auf den Wert zum Zeitpunkt 180 Minuten steigen die venösen Werte stetig an. Der maximale Wert beträgt 24,5 mmHg nach 210 Minuten Perfusion und minimal werden zu Beginn 16,3 mmHg registriert. Die arteriellen $p\text{CO}_2$ -Werte bleiben im gesamten Verlauf unterhalb der venösen Werte und steigen im Mittel von 16,2 auf 22,2 mmHg an. Sowohl arteriell und venös sind die kleinsten Werte zu Beginn der Perfusion zu verzeichnen. Die arteriovenöse Differenz liegt im Bereich von 0,7 bis 3,0 mmHg.

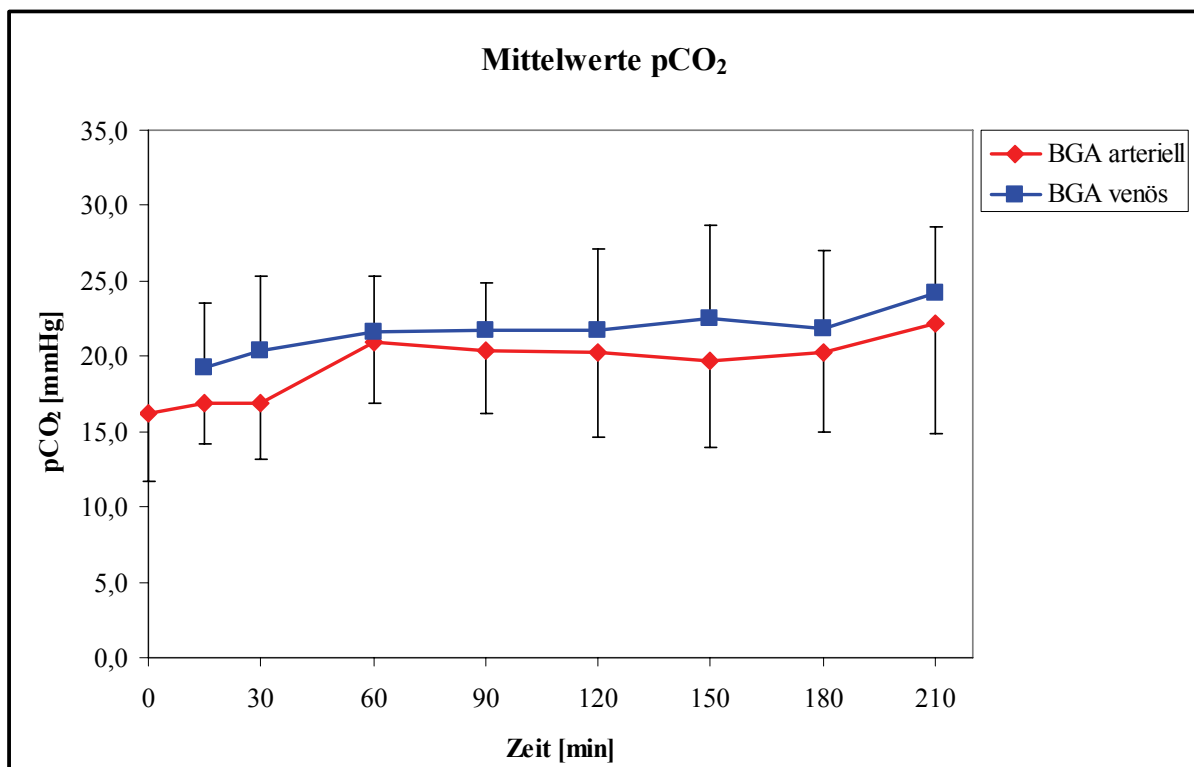


Abbildung 5.1.11 $p\text{CO}_2$ -Werte der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); Referenzbereich 36-44 mmHg

Den Verlauf der arteriellen Hämoglobin-, Kalium- und Kalzium-Werte während der Perfusion der Schweineherzen gibt die Tabelle 5.1.4 wieder. Durch die Mischung aus autologem Blut und Krebs-Henseleit-Lösung ergeben sich Hämoglobin-Werte (Hb) von 4,6 bis 5,1 mg/dl. Ein Abfall der Hämoglobin-Werte über den Versuchszeitraum ist nicht zu verzeichnen.

Die Kalium-Werte (K^+) erreichen 15 Minuten nach Perfusionsbeginn ihr Maximum mit 5,3 mmol/l und fallen dann kontinuierlich auf bis zu 4,2 mmol/l ab.

Die Kalzium-Werte (Ca^{++}) zeigen zu Beginn Mittelwerte zwischen 0,88 und 0,98 mmol/l und ab 90 Minuten nach Reperfusion zwischen 1,24 und 1,35 mmol/l.

Zeit	0	15	30	60	90	120	150	180	210
Hb [mg/dl]	4,6 ± 0,8	4,6 ± 0,3	5,1 ± 1,1	5,1 ± 1,2	4,9 ± 1,0	4,8 ± 0,8	4,6 ± 0,7	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,6
K⁺ [mmol/l]	4,9 ± 0,5	5,3 ± 0,8	5,2 ± 0,8	4,6 ± 0,8	4,5 ± 0,5	4,2 ± 0,7	4,2 ± 0,7	4,2 ± 0,5	4,3 ± 0,4
Ca⁺⁺ [mmol/l]	0,98 ± 0,40	0,96 ± 0,47	0,94 ± 0,35	0,88 ± 0,42	1,35 ± 0,65	1,24 ± 0,22	1,25 ± 0,20	1,28 ± 0,14	1,27 ± 0,15

Tabelle 5.1.4 Hämoglobin, Kalium und Kalzium der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); (Mittelwert ± Standardabweichung)

5.1.4 Laboruntersuchungen

Wie zuvor in Abschnitt 4.2.3 beschrieben, bezeichnet der Basiswert bei den Laboruntersuchungen den unmittelbar vor der Reperfusion ermittelten Laborwert. Die jeweiligen Zeitpunkte 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten beziehen sich auf den Beginn des Steady-States und werden im Folgenden als Basis, s0, s30, s60, s90 und s120 bezeichnet. Sie dienen der Beurteilung des Organs und damit auch der Qualität der Perfusion über den Versuchszeitraum.

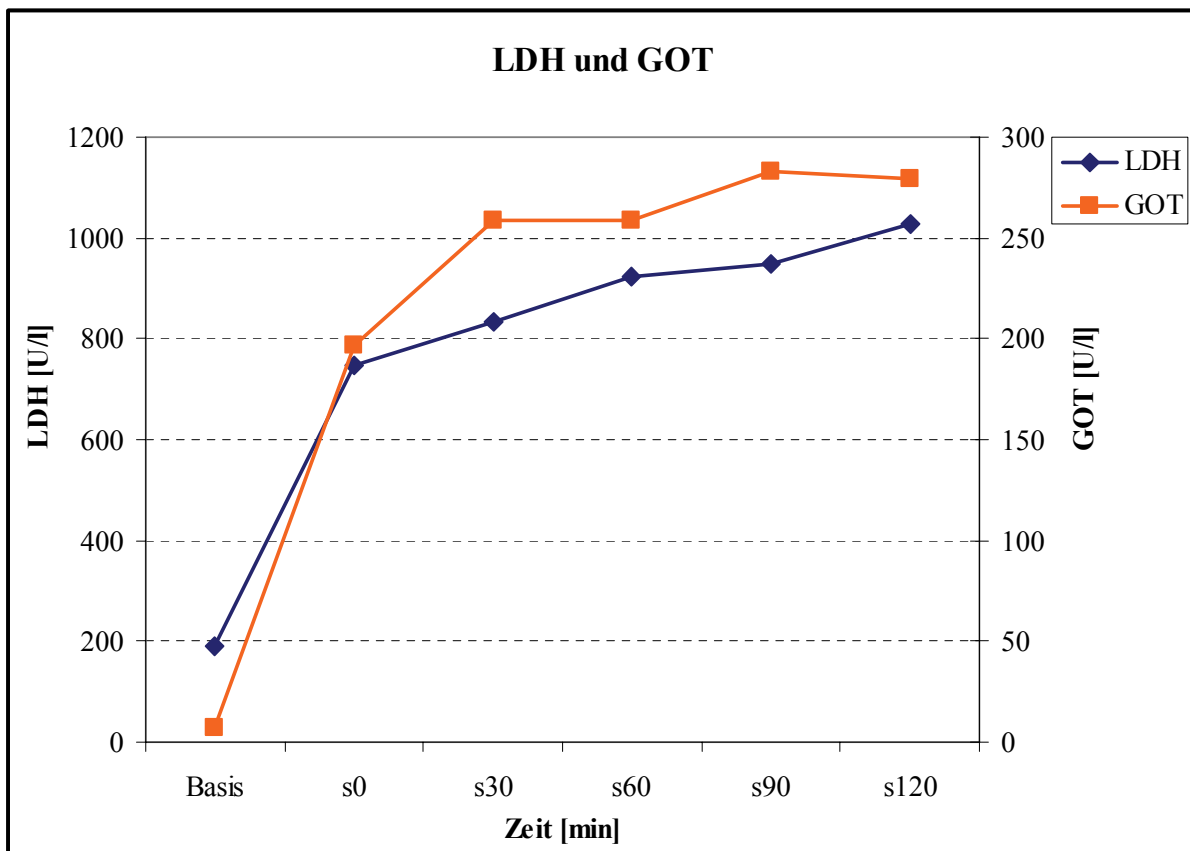


Abbildung 5.1.12 LDH und GOT der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7); Referenzbereiche: LDH: 480-740 U/l, GOT: 14-50 U/l

Hierzu wurden Lactatdehydrogenase (LDH) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) während des Versuches aus dem Perfusat bestimmt. Deren Verlauf ist in Abbildung 5.1.12 dargestellt. Zwischen Basiswert und s0 zeigt sich der stärkste Anstieg dieser Parameter, der im weiteren Verlauf mit reduzierter Steigung bestehen bleibt. Zum Ende zeigt sich ein Mittelwert von 1029 U/l LDH und 279 U/l GOT. Diese Werte liegen 1,5- bzw. 2,4-fach über dem oberen Wert des Referenzbereichs. Der Korrelationskoeffizient für die hier dargestellten Werte beträgt 0,98.

Troponin I und Myoglobin sind bei in der Enzymdiagnostik des Herzinfarktes und somit der Herzschädigung von großer Bedeutung. Diese Proteine wurden vor Beginn der Reperfusion (Basis), zum Beginn des Steady-States (s0) sowie 120 Minuten (s120) danach bestimmt. In Tabelle 5.1.5 sind die entsprechenden Mediane sowie Minimal- und Maximalwerte dargestellt. Es zeigt sich hierbei ein starker Anstieg diese Parameter im Verlauf der Perfusion.

	Troponin I [ng/ml]		Myoglobin [ng/ml]	
	Min - Max	(Median)	Min - Max	(Median)
Basis	0 - 4,3	(0,2)	9,0 - 43,0	(18,0)
s0	18,1 - 975,0	(237,4)	338,0 - 4057,0	(635,0)
s120	59,0 - 6110,0	(1044,0)	393,0 - 5716,0	(1019,0)

Tabelle 5.1.5 Troponin I und Myoglobin der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7); Referenzbereiche: Troponin < 0,1 ng/ml, Myoglobin < 110 ng/ml

120 Minuten nach Beginn des Steady-States erreicht Troponin I einen Median von 1044 ng/ml und Myoglobin 1019 ng/ml, so dass diese Werte deutlich über dem für den Menschen angegebenen Referenzbereich liegen.

Weiterhin wichtig für die Beurteilung des Perfusats und des osmotischen Gleichgewichts im System sind der Gesamt-Eiweiß-Gehalt (tP) und Albumin. Abbildung 5.1.13 zeigt deren Verlauf über den Versuchszeitraum. Beide Parameter weisen eine stetige Abnahme über die Versuchzeit auf und liegen 38 bis 44 % (Gesamt-Eiweiß) bzw. 33 bis 40 % (Albumin) unterhalb der Referenzbereiche. Die Mittelwerte des Gesamt-Eiweißes liegen zwischen 2,25 und 2,6 g/dl. Die ermittelten Albuminwerte bewegen sich im Bereich von 1,13 bis 1,37 g/dl.

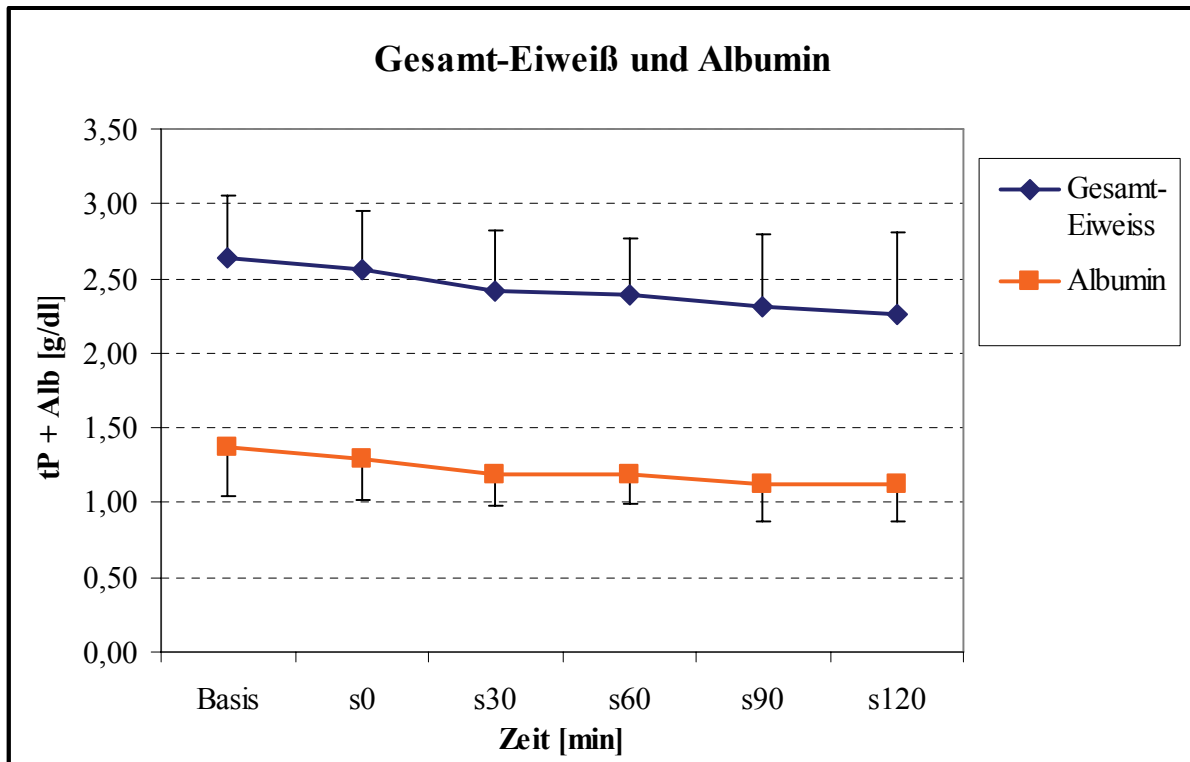


Abbildung 5.1.13 Gesamt-Eiweiß und Albumin der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7), Referenzbereich: Gesamt-Eiweiß: $6,4 \pm 0,5$ g/dl, Albumin: $3,8 \pm 0,4$ g/dl

	Lactat [mg/dl]		Glucose [mg/dl]	
	Min - Max	(Median)	Min - Max	(Median)
Basis	12 - 33	(25)		
s0	13 - 57	(29)	211 - 568	(312,5)
s60			217 - 533	(296,5)
s120	11 - 59	(35)	184 - 405	(311,5)

Tabelle 5.1.6 Lactat und Glucose der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7); Referenzbereiche: Lactat: 5-20 mg/dl, Glucose: 90-110 mg/dl

Als Parameter der Stoffwechsellage im isolierten Herzen dienten die Werte von Lactat und Glucose im Perfusat. Der mittlere Wert für Lactat im Versuchszeitraum bewegt sich im Bereich von 25 bis 35 mg/dl. Glucose wurde dem System hinzu gegeben und diente dem Herzen als Substrat. Der Median von Glucose liegt zwischen 296 bis 312 mg/dl und liegt damit über dem für den Menschen angegebenen Referenzbereich. Beide Werte zeigen nur eine geringe Spannweite über den Versuchszeitraum.

5.2 EKG-Mapping

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der EKG-Mapping-Aufzeichnungen dargestellt. In der Abbildung 5.2.1 sind ausgewählte EKG-Kurven der Vorhöfe und Ventrikel während des Versuchszeitraums abgebildet.

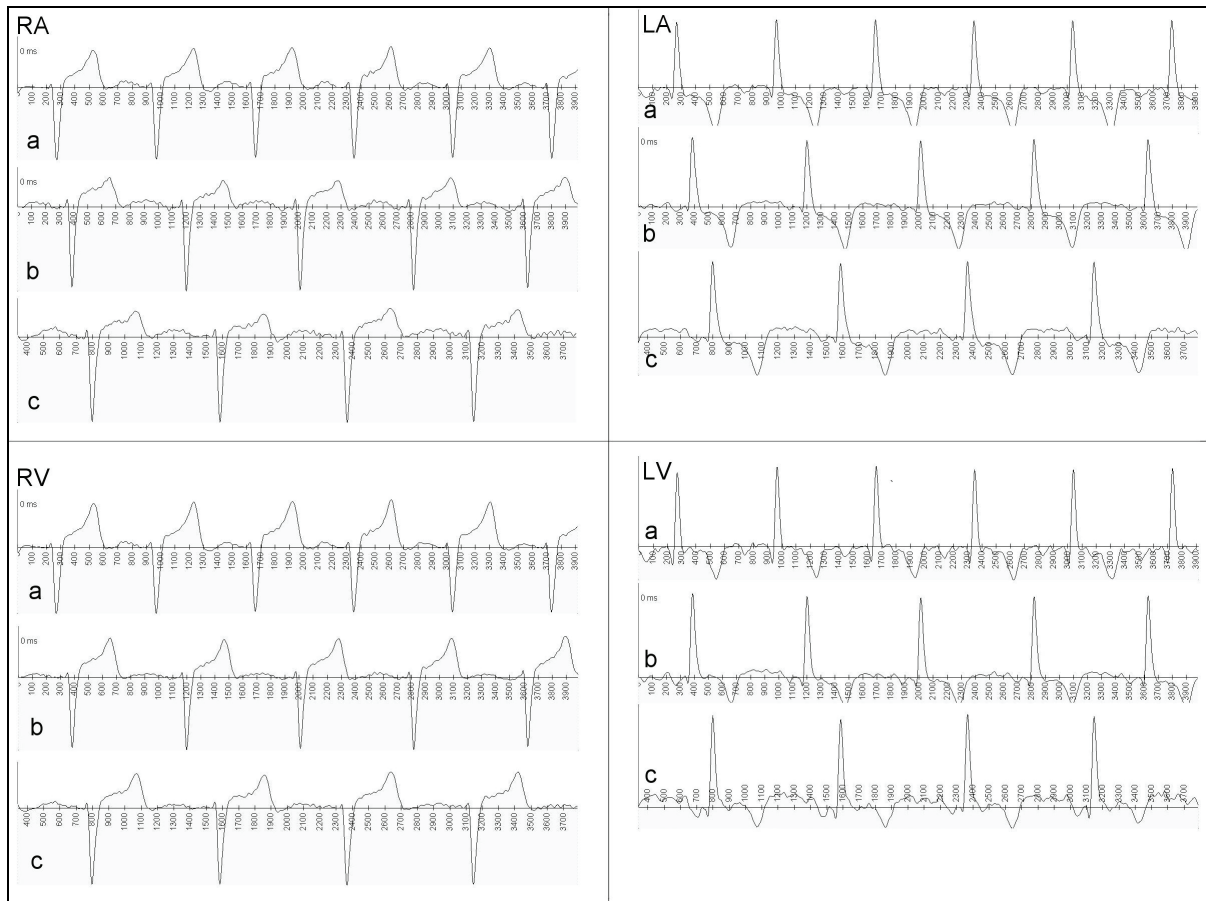


Abbildung 5.2.1 EKG-Mapping-Kurven während der Perfusion von ausgewählten Elektroden am rechten und linken Atrium (RA, LA) sowie am rechten und linken Ventrikel (RV, LV) nach 120 (a), 150 (b), und 180 (c) Minuten

Hier zeigen sich gleichförmige EKG-Kurven über den Versuchszeitraum in allen vier Kammern. Die Mittelwerte der RR-Intervalle schwanken im Bereich von 663 bis 1071 ms, wobei ein leichter Abfall von 60 bis 150 Minuten zu beobachten ist (Tabelle 5.2.1). Die Dauer der P-Welle liegt im Bereich von 85 bis 120 ms und erreicht zum Zeitpunkt 90 min ihr Minimum. Das PQ-Intervall beträgt im Mittel 159 bis 190 ms, wobei ein leichter Anstieg über die Versuchszeit zu verzeichnen ist. Demgegenüber zeigen die Werte für die QRS-Dauer nahezu konstante Werte im Bereich von 115 bis 129 ms. Die QT-Dauer sinkt von 462 ms nach 60 Minuten bis auf 417 ms nach 120 Minuten ab und zeigt darauf folgend einen Anstieg

auf einen Mittelwert von 429 ms nach 180 Minuten. Weiterhin wurden die Amplituden der EKG-Kurven ausgewertet. Hier zeigt sich ebenfalls ein Anstieg der QRS-Amplitude von 1164 μV nach 60 Minuten auf Werte von 1549 μV nach 120 Minuten. Diese fallen danach auf Mittelwerte von 988 μV ab. Die Amplitude der T-Welle liegt im Bereich von 535 bis 885 μV , wobei der Maximalwert zum Zeitpunkt 90 min erreicht wurde und nachfolgend ein Abfall auf 535 μV nach 180 Minuten zu beobachten ist.

Perfusionszeit [min]	60	90	120	150	180
RR Intervall [ms]	1071 \pm 256	771 \pm 154	700 \pm 224	663 \pm 59	765 \pm 163
P-Dauer [ms]	115 \pm 58	85 \pm 27	102 \pm 14	98 \pm 34	120 \pm 41
PQ Intervall [ms]	159 \pm 56	178 \pm 74	177 \pm 10	183 \pm 58	190 \pm 43
QRS Intervall [ms]	115 \pm 14	123 \pm 4	129 \pm 11	125 \pm 17	127 \pm 14
QT Intervall [ms]	462 \pm 58	446 \pm 108	417 \pm 85	418 \pm 15	429 \pm 65
QRS Ampli. [μV]	1164 \pm 434	1484 \pm 803	1549 \pm 759	1058 \pm 153	988 \pm 409
T Ampli. [μV]	662 \pm 342	885 \pm 335	673 \pm 52	549 \pm 218	535 \pm 222

Tabelle 5.2.1 EKG-Mapping-Auswertung im Versuchszeitraum von 60 bis 180 min, n=7

Damit liegen die ermittelten Werte der P-Welle, des QRS-Intervalls und des QT-Intervalls über den für den Referenzbereichen. Die PQ-Dauer hingegen entspricht den Referenzwerten für normale EKG-Kurven.

Mit den durch die 75 Elektroden gewonnenen Ableitungen konnten Abbildungen entsprechend den Erregungszuständen des Herzens erstellt werden. Zur Veranschaulichung dienten hier die Isopotentiallinien, die auf eine virtuelle Kugel projiziert werden und damit Felder gleichen Erregungszustandes darstellen. Die Abbildung 5.2.2 zeigt diese Darstellung exemplarisch.

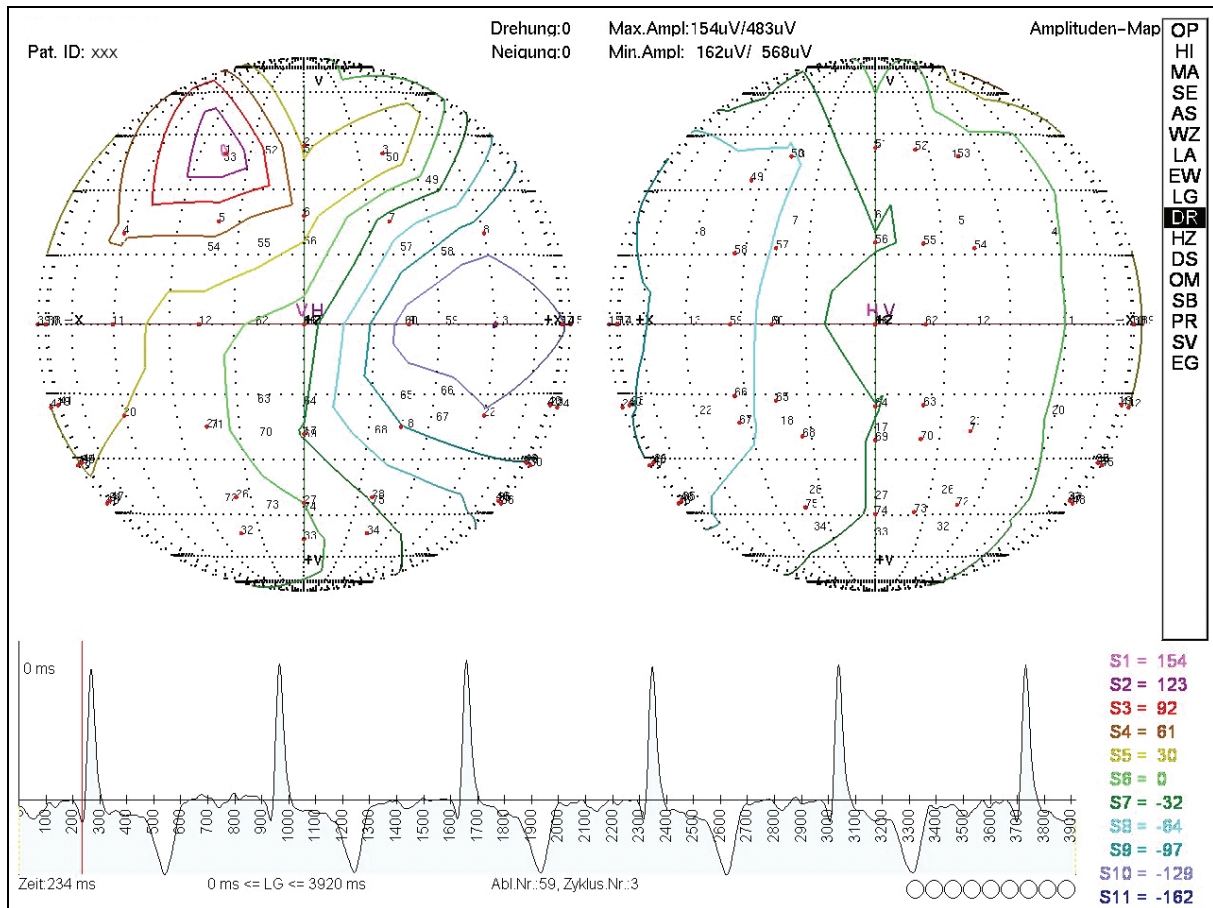


Abbildung 5.2.2 Darstellung der EKG-Mapping-Aufzeichnungen mittels Isopotentiallinien

6 DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung des verwendeten Perfusionssystems zur normothermen Hämoperfusion von Schweineherzen im Working-Heart-Modell, welches die Möglichkeit bietet, reproduzierbare in-vitro Untersuchungen mit einem neu entwickelten EKG-Mapping-Verfahren durchzuführen.

Neuronale, humorale und metabolische Einflüsse werden in einem isoliert perfundierten Herz ausgeschlossen, so dass die Untersuchungen bei definierten Versuchsbedingungen stattfinden können [73, 96, 115].

6.1 Normotherme Hämoperfusion isolierter Schweineherzen

Aufgrund großer Ähnlichkeiten in Anatomie und Physiologie mit dem menschlichen Herzen wurde für diese Arbeit das Schweineherz gewählt [15]. Es zeigt eine ähnliche koronare Versorgung und Kollateralbildung, ähnliche Herzgewichte sowie annähernd gleiche hämodynamische Parameter. Daher kommt es gerade in Untersuchungen zu ischämischen Herzerkrankungen zum Einsatz und ist hier dem ebenfalls häufig verwendeten Hundeherz überlegen [41, 130, 134].

Nicht zuletzt aufgrund ökonomischer und ethischer Aspekte wird das Schweineherz zunehmend in der kardiologischen Forschung eingesetzt. Zudem sind Schweineherzen bei Gewinnung auf dem Schlachthof in höherem Maße verfügbar [131]. Der Einsatz von Schlachtierherzen verringert ethische Bedenken, da die Tiere der Fleischgewinnung zugeführt werden, so dass viele Arbeitsgruppe diese für ihre Untersuchungen nutzen [4, 37, 52, 60, 74]. Die Herzgewinnung auf dem Schlachthof weist jedoch auch Nachteile auf. So sind die Tiere aufgrund der Massentierhaltung vermehrt Krankheiten und Stresssituationen ausgesetzt, die Einfluss auf die Qualität des Herzens haben können [131]. Daneben ist mit längeren Ischämiezeiten bei der Organgewinnung im Schlachtbetrieb zu rechnen, wodurch Schädigungen der Herzen resultieren [4, 52]. Zu beachten sind ebenfalls die unsterilen Bedingungen der Herzentnahme, denen in einigen Studien mit der Gabe von Antibiotika entgegen gewirkt wird [36, 51, 86]. Weiterhin geht die Blutentnahme im Schlachthof mit einer erhöhten Schädigung von Blutzellen einher und ist nicht immer problemlos im Schlachtbetrieb durchführbar. Die Organ- und Blutgewinnung für die Versuche zu dieser Arbeit wurde daher in den Tierexperimentellen Einrichtungen der Charité Berlin (Campus Virchow-Klinikum) durchgeführt. Bei der Kanülierung der Vena cava wurde darauf geachtet,

eine mechanische Schädigung der Blutzellen zu minimieren. Auf diese Weise konnte autologes Blut gewonnen werden, so dass immunologische Reaktionen ausgeschlossen werden konnten. Während der Blutentnahme erfolgte zeitgleich der Volumenersatz mit isotonen Lösungen, um eine stressinduzierte Katecholaminausschüttung und damit einhergehender Herzschädigung entgegen zu wirken. Der Zustand des Herzens wurde zu jedem Zeitpunkt kontrolliert und bei beginnenden Arrhythmien die Entnahme begonnen um nachfolgende Schädigungen zu verringern.

Für die vorliegende Arbeit wurden Herzen von Schweinen aus einem Schweine-Aufzuchtbetrieb verwendet. Die Nutzung möglichst vieler Organsysteme eines getöteten Schweines durch unterschiedliche Arbeitsgruppen war ein wichtiges Anliegen, um dem § 9 des TSchG Rechnung zu tragen. Aus diesem Grund wurden Schweine unterschiedlicher Gewichte verwendet. Einerseits vermindert sich dadurch die Vergleichbarkeit einzelner Herzen, jedoch werden ethischen Bedenken verringert, indem die Schweine verschiedenen Forschungsgruppen zur Verfügung gestellt werden. Zumeist kamen Herzen von Jungschweinen zum Einsatz, die ein dem Menschen annäherndes, relatives Herzgewicht von 0,5 % haben. Größere Tieren weisen ein geringeres relatives Herzgewicht auf, wie es sich auch in unseren Versuchen zeigte. Hier fand sich ein relatives Herzgewicht von 0,31-0,32 % bei den Tieren mit mehr als 130 kg Gewicht. Außerdem wiesen diese Herzen eine größere Gewichtszunahme über den Versuchszeitraum auf. Dieser Aspekt kann auf eine verlängerte Kardioplegiezeit bei erhöhter Herzmasse und damit verbundener vermehrter ischämischer Schädigung zurückgeführt werden.

Nach erfolgter Perfusion der Herzen wurden diese gewogen und die prozentuale Gewichtszunahme über den Versuchszeitraum wurde errechnet. Hierbei zeigte sich für alle Versuche eine Gewichtszunahme von mindestens 19,16 %. Das Phänomen der Ödembildung im Myokard während der isolierten Perfusion ist bekannt [2, 25, 115]. Zudem wurde in Untersuchungen von Hassanein et al [39] nachgewiesen, dass größere Ischämiezeiten ebenfalls mit einer vermehrten Ödembildung und damit verbundener Organschädigung einhergehen. Dieser wurde in der vorliegenden Studie mit dem Absenken des Herzens während der Perfusion in das Wasserbad entgegen gewirkt, zum Anderen erfolgte die Perfusion mit einem Blut-Lösung-Gemisch, welches gegenüber kristalloiden Perfusionslösungen einen höheren onkotischen Druck besitzt und damit ebenfalls den Austritt von Wasser in das Gewebe vermindert [12, 115]. Die Perfusion mit salinen Lösungen bietet zwar die Möglichkeit, Klappenbewegung während des Versuches aufzuzeichnen [42], der reduzierte onkotische

Druck des Perfusats resultiert jedoch in einer vermehrten Ödembildung [12, 19, 25]. Dieser Problematik wird in einigen Studien mit der Zugabe von Albumin begegnet [37], und auch der Zusatz von Perfluorkarbonen geht mit verminderter Ödembildung einher [25]. Die Perfusion mit autologem Blut als physiologisches Perfusionsmedium bietet hier sowohl in ökonomischer als auch physikalischer Sicht - aufgrund seiner Fliesseigenschaften - enorme Vorteile gegenüber salinen Lösungen. Auf die Auswirkungen der Hämodilution in diesem Perfusionsaufbau wird im Kapitel 6.3.2 näher eingegangen.

6.2 Ischämie und Reperfusionsschaden

Sowohl die Dauer der warmen als auch kalten Ischämie hat entscheidende Bedeutung für die Qualität des Organs und damit auf die anschließende Perfusion [10, 11, 75, 130]. In dieser Arbeit konnten die Herzen innerhalb von maximal 60 Sekunden nach Entnahme mit gekühlter Kardioplegielösung gespült werden. Diese kurzen Ischämiezeiten konnten durch geplante Eingriffe in der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité (Campus Virchow) und geübte Handhabung erreicht werden. Die nachfolgende kalte Ischämiezeit betrug maximal 208 Minuten und ist auf die aufwendige Präparation des Herzens zurückzuführen. Die maximal sichere Konservierungszeit für Spenderherzen beim Menschen, die von Hassanein et al. mit 4-6 Stunden angegeben wird, wurde jedoch nicht überschritten [39].

Für die Kardioplegie der Herzen wurde die gebrauchsfertige kristalloide Custodiol[®]-Lösung verwendet, die auch in der Klinik zur Anwendung kommt. Über die Koronarostien wurden die Herzen unmittelbar nach Entnahme mit dieser Kardioplegielösung perfundiert. Sie bietet den Vorteil einer geringeren Viskosität und damit verbunden einer erhöhten Flussgeschwindigkeit bei gleichem Perfusionsdruck im Vergleich zur Blut-Kardioplegie-Lösung. Damit kann eine sichere und schnelle Kardioplegie erreicht werden. Daneben ermöglicht die gebrauchsfertige kristalloide Kardioplegie-Lösung eine bessere Handhabbarkeit und die Infusion der Lösung wird am Herzen deutlich sichtbar. Schädigungen des Herzens können hierbei jedoch durch Luftembolien erfolgen, so dass eine geübte Handhabung mit dem System Voraussetzung ist, um dies zu vermeiden.

Während der Ischämie, die als Zustand bezeichnet, bei dem die Durchblutung eines Organs oder Gewebeteils vermindert oder unterbrochen ist [87], kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen Angebot und Bedarf an Sauerstoff und Substraten im entsprechenden Gewebe. Sowohl der Transport von Sauerstoff und Substraten zum Gewebe als auch der Abtransport von Stoffwechselmetaboliten ist hierbei eingeschränkt. Demgegenüber steht der Zustand der

Hypoxie, der durch einen verminderten Sauerstoffgehalt im Blut oder Perfusionsmedium gekennzeichnet ist. Ein Abtransport der Metaboliten bleibt hierbei erhalten [130]. Die Schädigung des Gewebes ist vor allem von der Dauer der Ischämie aber auch von der Toleranz des Gewebes gegenüber dem Sauerstoffmangel und der Gefäßarchitektur abhängig. Nach wenigen Minuten der Ischämie kommt es zu reversiblen Schäden im Myokard. Erhöht sich die Ischämiezeit jedoch, so ist mit irreversiblen Schäden zu rechnen und Myokardzellen werden zerstört. Durch eine Hypothermie im Herzen kann die tolerierte Ischämiezeit erhöht werden [11]. Das Ausmaß und die Dauer der Ischämie beeinflussen sowohl die metabolischen und die ionische Zusammensetzung als auch die Funktionsfähigkeit nach Reperfusion [13, 12, 21].

Ein weiteres Problem, dem auch mit Hilfe der Kardioplegie begegnet werden kann, ist der so genannte Reperfusionsschaden. Die Reperfusion bezeichnet den Vorgang, bei dem der Blutfluss im ischämischen Gewebe wieder einsetzt [85]. Der Transport von Sauerstoff und Substraten sowie der Abtransport von Stoffwechselprodukten wird ermöglicht. Hierbei kann es jedoch auch zu Schädigungen am Gewebe kommen, die als Reperfusionsschaden („reperfusion injury“) bezeichnet werden und die mechanische Dysfunktion des Myokards durch Zellschädigung beinhalten [9, 85, 88, 129]. Sie umfassen die Schäden, die im reversibel durch die vorangegangene Ischämie geschädigten Gewebe mit Einsetzen der Reperfusion eintreten [85]. Hierzu zählen vaskuläre und mikrovaskuläre Schädigung, endotheliale Dysfunktion, eine Zunahme der Zellnekrose sowie die Aktivierung von Granulozyten [70]. Funktionelle Auswirkungen dieser Schäden können Arrhythmien, myokardiales „stunning“ sowie der letale Reperfusionsschaden sein [70, 75, 85]. Als eine Ursache in der Entstehung des Reperfusionsschadens wird die Bildung von freien Radikalen, die Auswirkungen auf die Zellintegrität haben, angesehen. Aber auch die Elektrolytverteilung in den Herzmuskelzellen und Endothelschädigung spielt eine wichtige Rolle [70, 85]. Die Hypothesen zur Ursache des Reperfusionsschadens werden kontrovers diskutiert [9, 70, 85].

Wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben, beginnt bei Mangel an Sauerstoff und Substrat in der Herzmuskelzelle die anaerobe Glykolyse, die den Energiebedarf nur unzureichend deckt. Unter diesen Bedingungen kommt es zu einem Anstieg von Lactat und H^+ -Ionen, wodurch die Kontraktionskraft des Herzens sinkt [98]. Durch zusätzliche Hemmung der ATP-abhängigen Ionenpumpen kommt es schließlich zu einem Na^+ - und Ca^{++} -Ionen-Anstieg in der Myokardzelle, dem nicht ausreichend durch Aufnahme von Ca^{++} -Ionen in das Sarkoplasmatische Retikulum entgegen gewirkt werden kann. Nach Wiederherstellung der

Sauerstoffzufuhr beginnt der Stoffwechsel und bedingt durch Aktivierung der Myofibrillen sowie der Ionenpumpen kann eine Hyperkontraktur des Myokards hervorgerufen werden. Daher wird der Einsatz von Calcium-Antagonisten zur verbesserten Calcium-Homöostase im Myokard diskutiert [70]. In unseren Versuchen wurde die Calcium-Konzentration zu Beginn der Reperfusion auf niedrigen Werten gehalten, um auf diese Weise einer Hyperkontraktur entgegen zu wirken. Anschließend wurde die Konzentration entsprechend dem Referenzbereich angehoben. Außerdem besitzt die ischämische Azidose einen protektiven Effekt auf das Gewebe [85]. Durch eine schnelle Normalisierung des pH-Wertes während der Reperfusion kann eine Hyperkontraktur des Myokards verstärkt werden. Weiterhin erhöhte sich während der Ischämie die Osmolarität intra- und extrazellulär, wobei hier eine schnelle Normalisierung bei Reperfusion des Gewebes zu Zellschwellungen und Schädigungen des Sarkolemms sowie Membranläsionen führen kann [85]. Auf diese Gegebenheiten ist während der Reperusionsphase besonders zu achten.

Als weitere Ursache für die Entstehung von Reperfusionsschäden werden freie Radikale, die sich durch Zufuhr von Sauerstoff nach Ischämie bilden, genannt. [70, 85] Sie aktivieren verschiedene Mediatoren in den Zellen, die im weiteren Verlauf das Gewebe im Sinne des Reperfusionsschadens weiter schädigen. Daher werden Substanzen, die die Produktion oder Aktivität von freien Radikalen herabsetzen, zur Verminderung des Reperfusionsschadens eingesetzt. In diesem Zusammenhang wird die protektive Wirkung von Superoxiddismutase, Catalase, Vitamin E sowie Xanthin-Oxidase-Hemmer diskutiert [70]. Weitere Ansätze zur Verminderung des Reperfusionsschadens und damit einhergehender Infarktgröße und ventrikulärer Tachykardien sind die Präkonditionierung des Myokards durch wiederholte kurzfristige Ischämien und die Gabe von Katecholaminen [40]. Zudem sollte dem Herzen während der Reperfusion ausreichend Substrat für den Energiehaushalt zur Verfügung gestellt werden. Hierfür erweist sich Glucose als geeignetes Substrat, dem protektive Effekte in diese Phase zugeschrieben werden [21].

Allerdings scheinen Blutplättchen und neutrophile Granulozyten sowie das Renin-Angiotensin-System ebenfalls eine Rolle in der Entstehung des Reperfusionsschadens zu spielen [75]. Daher bieten sich verschiedenste Möglichkeiten der Minimierung dieses Schadens an [70, 75]. Ein protektiver Effekt auf das Myokard wird für das Narkosemittel Halothan diskutiert [85]. Als weitere Möglichkeit zur Protektion des Herzen gegen den Reperfusionsschaden wurde in einigen Studien 2,3-Butanedione-Monoxime (BDM) als Zusatz zur Kardioplegie-Lösung gewählt, welcher die Kontraktion im Myokard durch

Hemmung der Aktin-Myosin-Verbindungen effektiv vermindert [74, 75, 85]. Bisher besitzt dieser Zusatz keine Zulassung für den klinischen Einsatz, jedoch zeigten sich Vorteile im Rahmen von Untersuchungen isolierter Herzen [51]. Für detaillierte Informationen zu weiteren Zusätzen und verschiedene Kardioplegie-Lösungen wird auf die Literatur verwiesen, da dies nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit war [6, 12, 24].

6.3 Stabilität des Perfusionssystems

Gerade durch die Ausbildung von Ödemen im isolierten Herzmodell ist eine Limitation des Systems gegeben [25]. Bei Perfusionen mit kristalloiden Lösungen ist der Wassergehalt im Myokardgewebe höher als in hämoperfundierte Herzen [20], so dass sich daraus Auswirkungen auf die Perfusionszeit der Herzen ergeben. So zeigte sich, dass Perfusionen mit kristalloiden Lösungen nur über einen kurzen Zeitraum möglich sind [25, 74]. Die Zeit, in der das System stabil gehalten werden kann, ist bei hämoperfundierte Herzen größer, so dass Perfusionszeiten von über drei Stunden erreicht werden können [5, 74, 81]. Neuere Untersuchungen erzielten zwar ebenfalls höhere Perfusionszeiten mit kristalloiden Lösungen, jedoch ist dies auf Zusätze, die die Osmolarität der Lösung anheben und daher mit erhöhten Kosten einhergehen, zurückzuführen [15, 42]. In unseren Versuchen wurde eine Perfusionszeit von maximal 280 Minuten erreicht, in denen synchrone Kontraktionen beider Herzhälften und ein Aortenfluss registriert werden konnten. In nachfolgenden Untersuchungen konnten die Herzen regelmäßig über 240 Minuten perfundiert werden. Die Stabilität des Systems kann anhand der Herzfrequenz, den ventrikulären Drücken sowie der Blutflüsse überprüft werden [130]. Zusätzlich bietet sich die Möglichkeit der Beurteilung des Systems anhand biochemischer Parameter.

Wie schon von Verdouw et al. [130] beschrieben, wird eine Stabilität des Systems erst 15 bis 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion erreicht. So konnten auch in unseren Versuchen hämodynamische Messungen regelmäßig erst nach 40 Minuten erfolgen. Zusätzlich bedingt ist diese Zeit durch die aufwendige Perfusionsmethode, die eine geübte Handhabung des Systems voraussetzt. In nachfolgenden Versuchen konnten die entsprechenden Messungen früher erfolgen und ermöglichen damit unter anderem Aussagen zur reaktiven Hyperämie nach Reperfusion. Dieses Phänomen ist regelmäßig nach Reperfusion zu beobachten und bezeichnet den gesteigerten Koronarfluss nach Ischämie [12]. Bei hämoperfundierte Herzen ist die Hyperämie jedoch geringer [20].

Der Median der Herzfrequenzen als Parameter für die Stabilität im System lag während des Versuchszeitraums im Bereich von 70-81 /min und damit in dem für Schweine angegebenen Referenzbereich von Scheunert und Trautmann [102]. Es ist jedoch anzumerken, dass bei Absinken der Herzfrequenz unter 50 /min ein Herzschrittmacher zum Einsatz kam. In drei der sieben Versuche wurde er für 5-10 Minuten mit einer Frequenz von 80 /min angestellt sowie in einem Versuch für einen Zeitraum von 60 Minuten. Damit konnte eine synchrone

Herztätigkeit aufrechterhalten werden. Nachteilig wirkt sich der Einsatz des Herzschrittmachers jedoch auf die Aufzeichnungen zum EKG-Mapping aus, bei dem störende Signale ausgeschlossen werden sollten. Daher ist eine Stabilität des Systems ohne Herzschrittmacher anzustreben. Im isolierten Herzmodell liegt die Herzfrequenz meistens unterhalb der physiologischen Frequenz [115], so dass Herzschrittmacher oder Katecholamine nötig werden.

Während der Reperfusion kam Noradrenalin, welches sich gegenüber Adrenalin bei der Reanimation von Herzen als effektiver erwies [66] und den myokardialen Blutfluss erhöht [43], zur Anwendung. Noradrenalin konnte in geringeren Dosen erfolgreich während der Reanimation in klinischen Untersuchungen eingesetzt werden und zeigte zudem bessere Auswirkungen auf die Hämodynamik des Herzens [66, 93]. In zahlreichen weiteren Versuchen mit isolierten perfundierten Herzen kam Noradrenalin zum Einsatz [4, 51, 74, 81], wobei Modersohn et al. [74] eine kontinuierliche Applikation von Noradrenalin zur Aufrechterhaltung der Hämodynamik bevorzugten.

6.3.1 Hämodynamik im Perfusionssystem

Die Hämodynamik des Perfusionssystems kann mit Hilfe der Flusswerte sowie der Drücke beurteilt werden. Auf diese Werte haben sowohl die zuvor erfolgte Narkose des Tieres und die Manipulation am entnommenen Organ als auch die eingestellten Vor- und Nachlasten während der Perfusion sowie biochemische und technische Parameter der Apparatur Einfluss.

Bei unzureichender Narkose des Tieres während der Herzentnahme ist mit einer vermehrten Ausschüttung von Katecholaminen [134] und damit verbundener Herzschädigung infolge von Tachykardien oder Arrhythmien zu rechnen. Diese Schädigungen können daher nachfolgend auf die Ventrikelfunktion Einfluss haben. Eine ausreichende Narkosetiefe und entsprechende Prämedikation zur Reduzierung von Stress ist daher anzustreben [134]. In unseren Versuchen erfolgte die Prämedikation der Tiere unter anderem mit Stresnil®. Zur Aufrechterhaltung der Narkose stehen verschiedene Anästhetika zur Verfügung, die unterschiedliche Wirkung auf das Herz-Kreislauf-System zeigen. Für volatile Anästhetika, wie Isofluran, Sevofluran und Halothan, wurde eine dosisabhängige Senkung der linksventrikulären Funktion des Herzens beschrieben [105, 108, 134]. Allerdings zeigte sich eine bessere Wiederherstellung der kontraktilen Funktion nach Gabe von volatilen Anästhetika [130]. Eine Narkose mit Barbituraten führt auch in Kombination mit anderen Anästhetika zu einer Verminderung des Herzzeitvolumens und kardiovaskulärer Depression [134]. Pentobarbital wird jedoch häufig in der kardiovaskulären Forschung verwendet [48] und eine Narkose unter Verwendung von Barbituraten bewährten sich ebenfalls in der isolierten Perfusion von Herzen [25]. Im Gegensatz dazu wurde unter Anwendung von Ketamin ein vermehrtes Auftreten von ventrikulären Tachykardien und Kammerflimmern beschrieben [48]. So zeigen sich für verschiedene Anästhetika unterschiedliche Wirkungen auf das Herz-Kreislauf-System mit entsprechenden Vor- und Nachteilen [48, 115, 134], die Einfluss auf die Herzqualität haben können. Eine effektive und herzschonende Anästhesie während der Organentnahme sollte jedoch angestrebt werden.

Für Halothan als Inhalationsnarkotikum wird ein protektiver Effekt in Bezug auf den zuvor beschriebenen Reperfusionsschaden am Herzen diskutiert [85]. Für Isofluran in Kombination mit Lachgas, wie es in unseren Versuchen verwandt wurde, wurde von Swindle et al. [116] der geringste kardiodepressive Effekt beschrieben. Wenngleich es keine idealen Anästhetika zur Aufrechterhaltung der Narkose während der Herzentnahme bereitstehen [115], könnte das Anästhesieprotokoll für weitere Versuche überdacht werden, um die hieraus resultierende

Herzschädigung zu minimieren. In unseren Untersuchungen konnten keine ventrikulären Arrhythmien vor der Herzentnahme beobachtet werden.

Die Vorlast und Nachlast in diesem Perfusionssystem wurde wie in anderen Arbeitsgruppen [15, 42, 82] aus der Höhe der Flüssigkeitssäule über der Klappenebene bestimmt, die manuell eingestellt wurde. Für die Aufrechterhaltung der Herzfunktion, das heißt die Aufrechterhaltung eines Aortenflusses, war während des Versuchszeitraumes eine geringe Erhöhung der Vorlast erforderlich. Dies ist auf die abnehmende Herzfunktion über die Perfusionszeit zurückzuführen, wobei der mittlere Wert der Vorlasten im physiologischen Bereich blieb. Ab 120 Minuten nach Perfusionsbeginn zeigten sich in einem Versuch Maximalwerte der Vorlast, die eingestellt werden mussten, um einen Aortenfluss aufrecht zu erhalten und den Referenzbereich überschritten. Diese Maximalwerte wurden jedoch nur in einem Versuch beobachtet. In den übrigen Versuchen wurde die Vorlast bis auf maximal 15 mmHg eingestellt. In anderen Arbeitsgruppen wurde von einer Vorlast zwischen 10-15 mmHg berichtet [3, 82, 106]. Bei Erreichen höherer Vorlasten ist von einer zunehmenden Herzschädigung auszugehen.

Die Nachlast über der Aorta konnte während des Versuchszeitraums im Bereich von 55 bis 57 mmHg stabil gehalten werden. Das entspricht in etwa den gleichen Werten von 60 mmHg Nachlast, die in anderen Arbeitsgruppen verwendet wurden [36]. In einem Versuch konnte eine Nachlast von 77,2 mmHg erreicht werden. Die möglichen Ursachen für die erniedrigten Werte sind vielschichtig. Zum Einen kann eine Vorschädigung des Herzens während der Entnahme, Konservierung und Präparation verantwortlich sein. Zum Anderen ist die Ursache auch in der Perfusionsanlage und damit verbundener mechanischer Beeinträchtigung zu suchen. Der Aortenstutzen, der aus einem Plastikrohr bestand, bietet nicht genügend Flexibilität und kann dadurch den Widerstand auf das ausgeworfene Volumen erhöhen. Weiterhin wurde ein kleines Widerstandsgefäß mit einem Liter Fassungsvermögen gewählt und kann diesen Widerstand weiter erhöhen. Die Stabilität der Nachlast ist ebenfalls auf die Erhöhung der Vorlast bei abnehmender Herzfunktion zurückzuführen. Hier muss eine weitere Optimierung für weitere Perfusionen im Vordergrund stehen.

6.3.1.1 Flüsse und Drücke während der Perfusion

Mit Hilfe eines Flusssensors wurde der Zufluss zum linken Atrium während des „Working-Heart“-Modus gemessen. Der Median der ermittelten Werte war hierbei im Versuchszeitraum weitgehend stabil, wobei sich nach etwa 120 Minuten eine starke Streuung der Flusswerte zeigte. Als Ursache hierfür ist ebenfalls die abnehmende Herzfunktion mit steigender Versuchszeit anzunehmen. Durch Steigerung der Vorlast konnte der Zufluss erhöht und dadurch ein anhaltender Fluss in das linke Herz gewährleistet werden.

Bei dem Aortenfluss ist eine stetige Abnahme über den Versuchszeitraum zu beobachten. Nach 200 Minuten ist maximal ein Fluss von 350 ml/min erreichbar gewesen, was die abnehmende Kontraktionskraft des Herzens widerspiegelt. Hier sollte für weitere Versuche überdacht werden, das Versiegen des Aortenflusses als Abbruchkriterium des „Working-Heart“-Modus zu bestimmen, wie es in anderen Arbeitsgruppen erfolgte [36].

Ursächlich hierfür kann eine Schädigung des Herzens durch die Organentnahme und weiterführend durch das komplexe System der Vierkammer-Perfusion sein. Aber auch die fehlende nervale Steuerung kann als Grund für die Abnahme des Aortenflusses angenommen werden. Hier könnte für weitere Versuche, wie im Kapitel 6.3 erwähnt, eine kontinuierliche Gabe von Noradrenalin notwendig werden.

Demgegenüber steht der zunehmende Koronarfluss, der sich in unserem Versuch, wie auch in anderen Publikationen beschrieben, aus der Differenz des Aortenflusses und des Zuflusses zum linken Vorhof errechnet [15, 86]. Zu Beginn der Versuche lag der Median mit $64 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ etwa in dem von Scheunert und Trautmann [102] angegebenen Referenzbereich des Ruheflusses. Danach stieg der Koronarfluss weiter an bis auf Maximalwerte von $350 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Ein erhöhter Koronarfluss wird auch bei Perfusionen mit kristalloiden Lösungen, die eine verminderte Viskosität aufweisen, beschrieben, so dass hier aufgrund der vorherigen Hämodilution mit Krebs-Henseleit-Lösung ein leichter Anstieg zu erklären ist. Weiterhin erhöht sich bei gesteigertem Sauerstoffverbrauch der Organfluss im Herzen, wobei kaum einer Erhöhung der Sauerstoffextraktion stattfindet [65]. Einerseits kann dies eine Ursache für die Zunahme des Koronarflusses über den Versuchszeitraum sein. Andererseits kann der Fluss durch Zugabe von kristalloiden Lösungen während der Versuchsphase und damit verbundener Abnahme der Viskosität gesteigert werden [20]. In unseren Versuchen erfolgte bei starken Blutverlusten die Zugabe von Thomaëjonin®-Lösung, um ausreichend Perfusat in der Apparatur bereitzustellen. Bei drei Versuchen erfolgte die Zugabe von

kristalloider Lösung bis zu maximal 1500 ml. Durch geübte Handhabung und Präparation können Blutverluste vermieden werden und damit die Hämodilution unterbleiben. Dennoch kann eine weitere Ursache für die ermittelten Werte des Koronarflusses ebenfalls in der Methodik zu sehen sein.

Weiterhin wurde in späteren Versuchen durch die dynamischen Aufzeichnungen der Flüsse deutlich, dass über der Aorta ein erheblicher Rückfluss zu verzeichnen war. Grund hierfür könnte eine Aorteninsuffizienz, die durch das Einbringen von Kathetern über die Aortenklappe verursacht sein kann, sein. Jedoch konnten zur Berechnung des Koronarflusses nur die gemessenen Mittelwerte verwendet werden, so dass hierbei fehlerhafte Berechnungen resultieren können. Eine direkte Messung des Koronarflusses ist daher sinnvoll und für weitere Versuche anzustreben. Hierzu könnten während der Präparation Flusssensoren an die Abgänge der Koronarien angebracht werden. Auffällig war zudem ein häufig prall gefülltes linkes Herzohr, welches auf erhöhten Druck im linken Kreislauf hinweisen könnte. Möglicherweise steht diese Erhöhung in Zusammenhang mit einer Mitralinsuffizienz, die durch das Anbringen des Herzens in der Apparatur bedingt ist. Eine Verbesserung des Modells für weitere Versuche ist hier notwendig.

Eine Einstellung des Perfusionsdruckes der Koronarien erfolgte in unserem Aufbau nicht separat wie in anderen Versuchsaufbauten [4, 74]. In der vorliegenden Studie entspricht der hydrostatische Druck über der Aorta dem Perfusionsdruck der Koronarien. Der Organwiderstand kann ebenfalls der Beurteilung des Organs und deren Zellintegrität dienen [4, 51]. In diesen Versuchen wurde er errechnet aus dem Quotienten von Nachlast und dem Organfluss des Herzens. Der Referenzwert von $1,00 \text{ mmHg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min} \cdot 100\text{g}$ [72] wurde im Mittel zu jedem Versuchszeitpunkt unterschritten, wobei bis zum Zeitpunkt 100 Minuten nach Reperfusion noch eine deutliche Streuung der Werte zu erkennen ist.

Einerseits steht der Organwiderstand in direktem Zusammenhang mit dem Koronarfluss, der in dieser Versuchreihe keiner direkten Messung zugänglich war und stets über den Ruhewerten eines intakten Herzens lag. Andererseits ist ein systemischer Fehler in der Ermittlung der Nachlast nicht auszuschließen. Wie zuvor beschrieben kann ein erhöhter Druck ebenfalls durch das verwendete System bedingt sein.

Als äußere Einflussfaktoren ist weiterhin die erniedrigte Viskosität des Perfusats zu sehen, die mit einem erhöhten Koronarfluss einhergeht. Außerdem zeigten sich niedrige Organwiderstände bei Untersuchungen von isolierten Herzen, die zuvor mit Custodiol®-Lösung

kardioplegiert wurden im Gegensatz zur Verwendung von Kardioplegie-Lösung mit Zusatz von BDM [51].

Die anfängliche Streuung der Werte bis 120 Minuten nach Perfusion kann weiterhin auf das reagible Perfusionssystem und in diesem Zusammenhang indirekt erfolgte Messung des Organwiderstands hinweisen. Danach fallen die Werte kontinuierlich unter $0,52 \text{ mmHg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min} \cdot 100\text{g}$ ab. Plausibel scheint hierfür lediglich eine zunehmende Hämodilution im Versuchsverlauf mit nachfolgend erhöhter Flussgeschwindigkeit zu sein. Von anderen Studien ist bekannt, dass durch eine längere Ischämiedauer und vermehrte Ödembildung ein Zunahme des Organwiderstands zu erwarten ist [13, 97]. Daher sollte in folgenden Versuchen eine direkte Messung des Organwiderstands erfolgen, die eine Aussage über die Organqualität zulässt.

Zur Beurteilung der mechanischen Herzfunktion in diesem „Working-Heart“-Modell dienen des Weiteren die ermittelten Druckwerte. Das Herz verrichtet hierbei Druck-Volumen-Arbeit, was den physiologischen Verhältnissen im Gegensatz zur Langendorff-Präparation am ehesten entspricht [25]. Dennoch konnten mit dem verwendeten Modell in keinem Versuch systolischen Werte im Referenzbereich von 100 – 140 mmHg erreicht werden [22]. Die Mittelwerte des systolischen Drucks in unseren Versuchen schwankten im Bereich von 53,3 bis 61,0 mmHg und blieben über den Versuchszeitraum weitgehend stabil. Diastolisch wurden Werte zwischen 4,0 und 13,0 mmHg erreicht, die sich demgegenüber im physiologischen Bereich befinden. Daraus ergibt sich eine Amplitude der Druckwerte von 41 bis 55 mmHg. Mögliche Ursache der verminderten Druckentwicklung im linken Ventrikel kann die Vorschädigung des Herzens sein, die durch die Ischämiezeiten und auch den Reperfusionsschaden hervorgerufen wird. Zudem bewirkt die Perfusionsanlage durch die Limitierung des Zuflussschlauches wie bereits von Rosenstrauch et al. [96] beschrieben eine Verminderung des Schlagvolumens und ermöglicht hierdurch verringerte Vordehnung des Herzens, was nach Frank [31] und Starling ursächlich für eine verminderte Druckentwicklung sein kann (Frank-Starling-Mechanismus). Nicht zu vernachlässigen ist die fehlende neurale und humorale Versorgung des isolierten Herzens, die eine übergeordnete Steuerung der Hämodynamik unterbindet. Ein Abnahme der linksventrikulären Drücke ist jedoch auch in anderen Arbeitsgruppen beschrieben [15, 42, 51, 74, 129] und bietet damit einen Ansatz zur kritischen Diskussion der Ursache dieses Phänomens. Die standardmäßige Zugabe von inotropen Substanzen wird in diesem Zusammenhang von verschiedenen Experimentatoren erwogen [42, 74].

Rechtsventrikuläre Drücke wurden zum Ende der Versuchsreihe ebenfalls gemessen, jedoch reichten diese Werte zur statistischen Auswertung und Prüfung nicht aus. Zur Beurteilung der mechanischen Herzarbeit scheint allerdings der linksventrikuläre Druck besser geeignet.

6.3.2 Blutgasanalysen

Zur weiteren Charakterisierung der Stabilität im Perfusionssystem konnten Blutgasanalysen und Laboruntersuchungen herangezogen werden. Vor allem der pH-Wert des Perfusats und auch der Partialdruck des Kohlendioxids sowie der myokardiale Sauerstoffpartialdruck bieten eine große Aussagekraft bezüglich der Perfusionslösung und des Stoffwechsels im Herzen.

Zu Beginn der Perfusion lag der pH-Wert im Mittel bei 7,722 und sank nach Anschluss der Herzen auf 7,638. Im weiteren Versuchverlauf befanden sich die Werte im Bereich von 7,556 und 7,612 und damit über dem Referenzbereich von 7,38 bis 7,42 [109]. Dabei hemmt der erhöhte pH-Wert die Herzfrequenz und vermindert gegebenenfalls auftretende Arrhythmien [98]. Zu Beginn der Perfusion scheint ein basischer pH-Wert den Reperfusionsschaden durch einen Anstieg der intrazellulären Calcium-Konzentration und dadurch bedingte Hyperkontraktur des Myokards zu begünstigen [85, 129]. Daher ist gerade zu Beginn der Reperfusion auf eine genaue Einstellung des pH-Werts zu achten. Im weiteren Verlauf des Versuchs könnte jedoch ein leicht basisches Perfusionsmedium im Hinblick auf die Kontraktilität und Herzfunktion Vorteile bieten [25, 28].

Eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Herzens während der Perfusion ist essentiell. Anhand des Sauerstoffpartialdrucks im arteriellen und venösen Perfusat wurde diese kontrolliert. Der arterielle pO_2 lag hier zwischen 443 und 576 mmHg und somit deutlich über den Referenzwerten in vivo. Durch die Hämodilution des Perfusats steht weniger Hämoglobin für die Bindung des Sauerstoffs zur Verfügung, so dass durch die Erhöhung des physikalisch gelösten Sauerstoffs die ausreichende Versorgung des Herzens für einen aerobem Stoffwechsel gewährleistet werden sollte [3, 82, 115]. Bis zu einem kritischen venösen Sauerstoffpartialdruck von 17 mmHg, der in unseren Versuchen nie unterschritten wurde, erfolgt die Energiegewinnung nach Walley et al. [132] durch den aeroben Stoffwechsel. Weiterhin war zu erkennen, dass der venöse pO_2 im Versuchszeitraum leicht ansteigt. Das ist auf eine ausreichende Sauerstoffversorgung und dementsprechend verminderter Extraktion im Myokard über die Perfusionsdauer zurück zu führen. In einigen Arbeitsgruppen wurde ein Anstieg des Sauerstoffverbrauchs nach Reperfusion der Herzen beobachtet [4, 82]. In den eigenen Untersuchungen konnte dies nicht nachgewiesen werden. Zwar war nach 30 Minuten

ein Abfall auf 443 mmHg pO₂ zu verzeichnen, der allerdings durch eine Messung während des vierten Versuchs bedingt ist. Diese ergab einen Wert von 196 mmHg und kann durch einen Fehler während der Probenabnahme oder eine verspätete Messung erklärt werden. Ähnliche Werte zeigten sich zu keinem weiteren Zeitpunkt während der Untersuchungen. Außerdem liegen keine ausreichenden Werte der Blutgasanalysen kurz nach Anschluss der Herzen vor, die einen erhöhten Sauerstoffverbrauch nach Reperfusion nachweisen können.

Ebenso dient der Kohlendioxidpartialdruck als Maß für die Stoffwechselaktivität im Myokard. Sowohl arteriell als auch venös lagen diese Werte unterhalb des Referenzbereichs von 36 bis 44 mmHg [109, 119]. Dies ist durch die hohen Sauerstoffpartialdrücke zu begründen, der zur Austreibung von CO₂ im Perfusat führen. Außerdem lag der pH-Wert in unseren Untersuchungen im alkalischen Bereich und bewirkt durch das Bikarbonat-Puffersystem ein weiteres Absinken des Kohlendioxidgehalts im Blut [53]. Hier besteht die Möglichkeit durch Regulierung des CO₂ in den Säure-Base-Haushalt während der Perfusion einzugreifen, die in weiteren Studien genutzt werden sollte.

Wie zuvor beschrieben, wurde das autologe Blut mit Krebs-Henseleit-Lösung im Verhältnis 1:1,5 gemischt, wodurch sich ein reduzierter Hämoglobin-Gehalt im Perfusat ergab. Im Versuchsverlauf lag der Hb-Wert im Mittel zwischen 4,6 und 5,1 mg/dl und damit unterhalb des Referenzbereichs in vivo [49]. Jedoch blieb dieser Wert weitgehend konstant. Ferner ist beim Einsatz von Roller pumpen darauf zu achten, dass keine vermehrte Schädigung der Blutzellen eintritt und sich dadurch der Gehalt an freiem Hämoglobin erhöht [51]. Ein Abfall des Hämoglobins im Perfusat würde die Sauerstoffversorgung des Herzens einschränken [25], so dass dieser Wert regelmäßig kontrolliert werden muss und gegebenenfalls die Okklusion der Roller pumpen überprüft werden sollte. Weitere Ursache eines Hb-Abfalls wäre durch einen Blutverlust am Herzen möglich. Wie bereits in Kapitel 6.3.1.1 beschrieben, wurden hohe Blutverluste, die eine Zugabe von kristalloider Lösung nötig machten, nur in drei Versuchen beobachtet. Durch Zugabe von kristalloiden Lösungen und damit verbundener Erniedrigung der Viskosität ändern sich ebenfalls die Fließeigenschaften des Perfusats. Optimal scheint hier eine Einstellung des Gesamt-Hämoglobin-Gehalts von 8,5 bis 10 mg/dl [54, 111]. Dieser Wert konnte nicht erreicht werden, da zur Betreibung unserer Apparatur eine große Menge an Perfusat nötig war und daher das zuvor gewonnene autologe Blut in dem angegebenen Maße diluiert werden musste. Dennoch zeigte die Hämoperfusion von Herzen gegenüber Perfusionen mit kristalloiden Lösungen erhebliche Vorteile, vor allem aufgrund verminderter Ödembildung im Myokard [20, 25, 89].

Als Indikator für den Zelluntergang dient der Kalium-Gehalt im Perfusat, der ebenfalls regelmäßig durch die Blutgasanalyse bestimmt wurde. Es zeigte sich ein konstanter Verlauf des Kalium-Gehalts im Bereich von 4,2 bis 5,3 mmol/l während der Versuche, die bis 120 Minuten nach Reperfusion im Referenzbereich von 4,4-6,5 mmol/l lagen [49]. Danach schwanken die Werte zwischen 4,2 und 4,3 mmol/l. Ein Grund für diesen leichten Abfall des Kalium-Gehalts ist die durchgeführte Dialyse in diesem Modell. Die Bikarbonat-Hämo-filtration bewirkte eine Auswaschung des Kaliums aus dem Perfusat. Anhand des konstanten Kalium-Gehalts ist die effektive Dialyse in diesem System nachweisbar. Zu Beginn der Perfusion ist ein geringer Anstieg des Kalium-Gehalts von 4,9 auf 5,3 mmol/l zu verzeichnen, der sowohl auf die Auswaschung des Kaliums aus dem perfundierten Herzen, als auch auf die Zellschädigung während der Reperfusion zurückzuführen ist. Weiterhin konnte die Dialyse erst bei erfolgter Vierkammer-Perfusion in Betrieb genommen werden, so dass hierdurch der leichte Anstieg des Kaliums zu Beginn erklärbar ist. Die Kalium-Freisetzung durch Hämolyse kann in diesem System nur eingeschränkt beurteilt werden, da die eingesetzte Dialyse dem entgegen wirkt. Daher scheint es sinnvoll, das freie Hämoglobin für eine solche Analyse heranzuziehen. Des Weiteren wurde auf eine zellschonende und kontrollierte Blutentnahme am Versuchstier geachtet, um eine Hämolyse und damit verbundene Kaliumfreisetzung zu verhindern.

Weiterhin wurde der Calcium-Gehalt im Perfusat regelmäßig bestimmt. Hierzu wurde der Gehalt des ionisierten Calciums mit Hilfe der Blutgasanalyse gemessen. Als Referenzwert für den Gesamt-Calcium-Gehalt im Blut wird 2,3 bis 2,9 mmol/l angegeben [49]. Entsprechend hierzu beträgt der Gehalt an ionisiertem Calcium etwa die Hälfte [115]: 1,15 bis 1,45 mmol/l. Bis 60 Minuten nach Reperfusion wird dieser Referenzbereich unterschritten, und bewegt sich anschließend im Mittel zwischen 1,24 und 1,35 mmol/l. Der sprunghafte Anstieg des Calciums nach 90 Minuten Perfusion wurde durch die Zugabe von Calcium 30 – 60 Minuten nach Beginn der Perfusion hervorgerufen. Wie schon in Kapitel 6.2 erläutert, spielt Calcium eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Reperfusionsschadens im Myokard. Durch niedrige Werte zu Beginn der Perfusion sollte diesem entgegengewirkt werden. Zudem ist ein starker Anstieg des intrazellulären Calcium-Gehaltes Ausdruck eines irreversiblen Schadens am Herzen während der Reperfusion [129]. Dies konnte in den vorliegenden Versuchen nicht untersucht werden. Jedoch spielt die Calcium-Homöostase im Bezug auf den Reperfusionsschaden eine wichtige Rolle [70] und sollte daher einer strengen Kontrolle während der Perfusion unterliegen.

6.3.3 Laboruntersuchungen

Die Laboruntersuchungen dienten zum Einen der Kontrolle des Stoffwechsels und zum Anderen der Verifikation einer Herzschädigung im Versuchszeitraum anhand spezifischer Herzenzyme.

Der Gehalt an Lactatdehydrogenase (LDH) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) gibt Auskunft über die Zellschädigung im Myokard. Verschiedene Isoenzyme der LDH sind bekannt und sind in verschiedenen Organen vorhanden [87]. In unseren Untersuchungen spielt vor allem die herzspezifische LDH eine wichtige Rolle. Bei Erhöhung dieses Parameters ist von einer Herzschädigung auszugehen. Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase kommt ebenfalls in verschiedenen Organen und auch in den Erythrozyten vor. Daher muss hier unterschieden werden, ob es sich bei Erhöhung des Wertes um eine Schädigung an den Herzmuskelzellen oder an den Erythrozyten handelt. Hier scheint die Korrelation zwischen GOT und LDH hilfreich, die für die dargestellten Kurven 0,98 beträgt. Somit stellen die ermittelten Werte dieser beiden Parameter die Schädigung des Herzens dar. Es ist zu erkennen, dass beide Werte schon mit Erreichen des Steady-State die Referenzwerte überschreiten. Es sei jedoch angemerkt, dass im Vergleich zu in-vivo-Untersuchungen das zirkulierende Perfusat geringer ist und somit eine gegenüber physiologischen Bedingungen erhöhte Konzentration plausibel erscheint. Für weitere Untersuchungen scheint die Aussagekraft eines Parameters zu genügen, um die Herzschädigung und damit die Perfusionsmethode zu beurteilen.

Zur weiteren Beurteilung des Perfusats und des damit verbundenen kolloidosmotischen Drucks wurde der Gesamt-Eiweiß-Gehalt sowie Albumin bestimmt. In vielen Untersuchungen mit kristalloiden Lösungen wurde das Problem der Ödematisierung des Herzen deutlich, dem mit Zugabe von Albumin oder Mannitol begegnet wurde [15, 25, 106, 129]. Hier zeigte die Hämoperfusion einen großen Vorteil [115]. Eine verminderte Ödembildung durch Erhöhung des kolloidosmotischen Drucks im Perfusat ist bekannt [20, 89]. In unseren Versuchen liegen die Werte des Gesamt-Eiweiß und des Albumin unter dem angegebenen Referenzbereich, wobei die Ursache hierfür ebenfalls in der Hämodilution des Perfusats zu sehen ist. Dennoch zeigen diese Parameter nur einen leichten Abfall über den Versuchszeitraum. Der Eiweiß-Gehalt sinkt von 2,64 auf 2,25 g/dl und Albumin von 1,37 auf 1,12 g/dl. Ursache hierfür kann sowohl die Filterung des Perfusats am arteriellen Filter als auch die durchgeführte Dialyse sein. Eine Adhäsion von Eiweißen an den Oberflächen des in-

vitro-Kreislaufes kann ebenfalls möglich sein. Zur weiteren Prophylaxe einer Ödembildung im Myokard [25] wurde das Herz in das Wasserbad des Kugelbehälters abgesenkt. Eine Gewichtszunahme der Herzen von im Mittel 33,6 % über den Versuchszeitraum war dennoch zu verzeichnen. Für nachfolgende Versuche sollte eine Verbesserung der koronaren Perfusion angestrebt werden, die durch direkte Messung belegt werden kann und damit eine Reduktion der Ödembildung zur Folge hat [25]. Der Perfusionsdruck in den Koronarien sollte hier so gering wie möglich gehalten werden [25, 86].

Als spezifische Herzenzyme, die auch in der klinischen Diagnostik eingesetzt werden [88], wurden die Proteine Troponin I und Myoglobin bestimmt, die vor allem in Muskelzellen vorkommen. In vivo besitzt Troponin eine höhere Spezifität für Schädigungen am Myokard als Myoglobin [53]. Da in unserem Versuch das Organ vollständig isoliert wurde, spielt diese Tatsache eine untergeordnete Rolle. In der Diagnostik des Herzinfarkts ist bekannt, dass zunächst nach 2-3 h ein Anstieg von Myoglobin zu verzeichnen ist. Danach steigt ebenfalls der Troponin-Gehalt im Blut [87]. Für beide Parameter werden zu Beginn des Steady-States die Referenzwerte überschritten, so dass von einer Myokardschädigung auszugehen ist. Aufgrund hoher Kosten für die Bestimmung konnten nur jeweils drei Proben entnommen werden, so dass die Aussagekraft dieser Parameter eingeschränkt ist. Zudem findet sich auch hier eine höhere Konzentration aufgrund verminderter Perfusatmenge im Vergleich zu in-vivo-Untersuchungen. Es bleibt zu überdenken, ob eine Bestimmung von LDH und GOT zur Einschätzung der Herzschädigungen ausreichend ist. Eine erhöhte oder sensiblere Aussagekraft ist in diesem Zusammenhang während der isolierten Perfusion nicht zu erwarten. Im Gegensatz zu in-vivo-Messungen werden in diesem Modell Einflüsse von anderen Organsystemen ausgeschaltet. Zur Beurteilung der tatsächlichen Myokardschädigung ist ebenfalls eine histologische Untersuchung des Organs in Betracht zu ziehen.

Zur Bewertung des Stoffwechsels wurden Lactat und Glucose im Perfusat bestimmt. Der Lactat-Gehalt im Perfusat stieg nur geringgradig von im Mittel 25 auf 35 mg/dl an und lag damit leicht über dem von Thielscher [119] angegebenen Referenzwert von $21,7 \pm 9,1$ mg/dl (entspricht $2,41 \pm 1,0$ mmol/l). Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Energiegewinnung im Myokard überwiegend durch aeroben Stoffwechsel stattfand. Außerdem standen dem Herzen genügend Substrate zur Energiegewinnung zu Verfügung, wie sich an dem Glucose-Gehalt im Perfusat erkennen lässt. Der Median befand sich im Bereich von 296,5 und 312,5 mg/dl während der Versuche. Zudem ist bekannt, dass die Gabe von Noradrenalin im isolierten Modell die Glucoseaufnahme in die Zelle erhöht und den Glykogengehalt senkt.

Ein erhöhter Lactat-Spiegel wirkt dem mit einer Inhibition der Glucoseoxidation entgegen [21]. Die ausreichende Versorgung des Präparates mit Glucose und Sauerstoff zur Aufrechterhaltung des aeroben Stoffwechsels war daher zu jedem Zeitpunkt während der isolierten Perfusion erforderlich und – wie die Ergebnisse zeigen – auch gewährleistet.

6.3.4 Druck- und Flussaufzeichnungen

Ein Ziel der hier vorgestellten Versuchsserie war die Optimierung des Modells – insbesondere der Datenerfassung. Es wurde daher während der Versuchsserie im Rahmen einer Diplomarbeit ein auf Lab-Windows basiertes Programm zur Druck- und Flussaufzeichnung entwickelt, das das Einlesen und die Aufarbeitung der Druck- und Flussdaten mit Excel 2003 ermöglichte. Dieses Programm stand für Folgeversuche zur Verfügung. Exemplarisch wurde einer dieser Folgeversuche ausgewählt und die Druck- und Flusswerte dargestellt.

Anhand der Kurven lässt sich erkennen, dass mit zunehmender Versuchsdauer die Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel abnimmt. Zudem sanken die systolischen Druckwerte im Versuchsverlauf, wie in Abschnitt 6.3.1.1 beschrieben, ab und die diastolischen Druckwerte zeigten eine leichte Steigung. Weiterhin ist gerade in diesen Aufzeichnungen zu erkennen, dass der diastolische Anstieg zunehmend steiler wird. Dieser beschriebene Kurvenverlauf macht die zunehmende myokardiale Dysfunktion deutlich.

Anhand der Flussaufzeichnungen sind die maximalen Flüsse aus der Aorta und in das linke Atrium während der Perfusion zu erkennen. Hier erreichte der Aortenfluss zu Beginn der Reperfusion die höchste Amplitude und bewegt sich danach im Bereich zwischen 4500 bis 4600 ml/min. Der Zufluss zum linken Atrium zeigte nach 120 Minuten die größte Amplitude. Nach 240 Minuten sind in beiden Flussaufzeichnungen eine Abnahme der Amplitude und ein geringerer maximaler Fluss zu verzeichnen. Weiterhin auffällig waren die negativen Flusswerte. Hier kann einerseits ein Fehler in der Kalibration aufgetreten sein. Andererseits wäre der negative Fluss in der Aorta durch einen Rückfluss in das Herz erklärbar. Durch Einbringen der Elektroden durch die Aortenklappen kann hier eine Insuffizienz ausgelöst werden. Andere Arbeitsgruppen bevorzugen daher die Einbringung von Elektroden über den Apex [3, 36].

Für weitere Untersuchungen sind kontinuierliche und hoch auflösende Aufzeichnungen geplant, die mehr Interventionsmöglichkeiten während der Versuche bieten, da sie beispielsweise eine Aorten- oder Mitralinsuffizienz aufzeigen können.

6.4 EKG-Mapping

Die Auswertung der aufgezeichneten EKG-Mapping-Daten erfolgt im Rahmen eines gesonderten Dissertationsvorhabens und soll daher nur kurz dargestellt werden.

Die beispielhaft dargestellten EKG-Mapping Erregungskurven zeigen einen gleichförmigen und konstanten Verlauf über den Versuchszeitraum. Nicht-invasive EKG-Aufzeichnungen an isolierten Herzen wurden bereits beschrieben [138] und bieten den Vorteil, dass sie die mechanische Herzarbeit nicht beeinflussen und aufgrund verringerter äußerer Einflüsse durch den Thorax gut reproduzierbar sind. Das sich ändernde RR-Intervall im Versuchszeitraum spiegelt die Herzfrequenz des Organs wider, die im Versuch variiert. In vivo wird die Herzfrequenz durch neuronale und humorale Faktoren beeinflusst, die in unseren Untersuchungen nicht vorhanden sind. Durch Zugabe von Noradrenalin zum Perfusat resultiert eine Herzfrequenzzunahme, die demzufolge ein verringertes RR-Intervall nach sich zieht. Daher wurde das Augenmerk auf die sich ändernden Amplituden und auch EKG-Kurvenformen gelegt.

Die Dauer der P-Welle im Versuchszeitraum variiert im Bereich von 85 ± 27 ms bis 120 ± 41 ms und bewegt sich somit um den Referenzbereich von 50 bis 100 ms im menschlichen Herzen [53]. Eine Erhöhung der P-Dauer kann Hinweis für eine Leitungsstörung innerhalb des Vorhofs sein.

Das im EKG-Mapping bestimmte PQ-Intervall erreicht Werte zwischen 159 ± 56 ms und 190 ± 43 ms. Damit liegen diese Werte im physiologischen Bereich von weniger als 200 ms [53]. Jedoch ist eine kontinuierliche Erhöhung über den Versuchszeitraum zu beobachten. Diese Gegebenheit kann Ausdruck für eine zunehmende Überleitungsstörung sein. Ein geringeres PR-Intervall im Schweineherzen gegenüber dem menschlichen Herzen wurde von Crick et al. bereits beschrieben und sollte bei der Interpretation der EKG-Kurven bedacht werden [17]. Hier spielt die Verteilung der Leitungsbahnen, wie in Kapitel 3.2.4 beschrieben, eine entscheidende Rolle.

Bezüglich des QRS-Intervalls zeigten sich in unseren Versuchen ähnliche Ergebnisse wie in anderer Publikation. Von Ast et al. [5] wurden am isolierten Schweineherzen eine QRS-Dauer von 127 ± 18 bis 132 ± 22 ms beschrieben, demgegenüber ein QRS-Intervall von 115 ± 14 bis 129 ± 11 ms in unseren Untersuchungen steht. Die Dauer des QT-Intervalls hingegen ergab in unseren Untersuchungen höhere Werte als in anderen Arbeitsgruppen [5]. Die Erhöhung ist auf eine Ödembildung im Myokard sowie ischämische Vorschädigung zurück zu führen [71,

78]. Zudem war eine Zunahme der QRS-Amplitude zu Beginn der Perfusion von $1164 \pm 434 \mu\text{V}$ auf $1549 \pm 759 \mu\text{V}$ zu verzeichnen. Die T-Welle stieg ebenfalls in diesem Zeitraum von $662 \pm 342 \mu\text{V}$ auf $885 \pm 335 \mu\text{V}$. Beide Werte zeigten nachfolgend einen Abfall auf $988 \pm 409 \mu\text{V}$ bzw. $535 \pm 222 \mu\text{V}$. Schwankungen der Amplituden während des Versuchszeitraumes sind einerseits auf Lageänderungen des Herzens in der mit Wasser gefüllten Kugel zurückzuführen, aber auch die Ausbildung von Ödemen im Myokard und Ischämien sowie das umgebende Medium kann hierfür ursächlich sein [34, 67]. Dementsprechend ist eine noch weitergehende Standardisierung der Einbringung des Herzens in den Kugelbehälter anzustreben und Myokardschädigungen zu minimieren.

Dennoch zeigen die erfolgten EKG-Mapping-Aufzeichnungen gut vergleichbare EKG-Kurven, die es möglich machen, regionale Änderungen der Herzaktivität unabhängig von den umgebenen anatomischen Besonderheiten aufzuzeigen.

6.5 Kritische Diskussion der Perfusionsmethode

Die isolierte Perfusion von Herzen ist eine etabliertes Methode, die in der Vergangenheit für vielfältige Fragestellungen verwendet wurde [4, 15, 51, 73]. Sie bietet den Vorteil, dass äußere Einflussfaktoren, wie die neuronale und humorale Steuerung unterbleiben und anatomische und metabolische Gegebenheiten ausgeschaltet werden [115, 130]. Auf weitere Vor- und Nachteile werden auch in den Arbeiten von Verdouw et al. [130] und Modersohn et al. [74] eingegangen. In unserem Versuchsaufbau fanden sich im Verlauf der Untersuchungen Besonderheiten, die in diesem Abschnitt kritisch betrachtet werden sollen.

In unseren Versuchen zur Validierung des EKG-Mapping-Verfahrens war es notwendig ein Vierkammer-Modell zu etablieren, um Messungen im homogenen Medium mit einem vollständig perfundierten Herzen durchzuführen. Dieses Modell birgt aber aufgrund seiner Komplexität eine hohe Anzahl an Fehlermöglichkeiten. Zum Einen ist eine geübte Handhabung des Experimentators notwendig, um beispielsweise Ischämiezeiten zu verkürzen und eine schnelle und gute Präparation zu gewährleisten. Nachfolgend wirkt sich dies auf die Funktion des Herzens während der Versuchszeit aus, bei der Vorschädigungen vermieden werden müssen. Weiterhin ist eine geübte Handhabung des Perfusionssystems erforderlich, um die manuell veränderbaren Parameter entsprechend den Anforderungen des einzelnen Herzens anzupassen. Hier kann eine Automatisierung zum Teil hilfreich sein, jedoch sollten die individuellen Unterschiede der Herzen nicht außer Acht gelassen werden.

Technisch bedingt ist beispielsweise auch das freie Hängen des Herzens zu Beginn der Perfusion, welches morphologische Schädigungen beim Einsetzen der Kontraktionen verursachen kann. Jedoch ist zu diesem Zeitpunkt der Zugriff zum Herzen erforderlich, so dass das Herz erst bei stabiler Perfusion in das Wasserbad abgesenkt werden kann. Weitere Grenzen des Perfusionssystems, die die Handhabung beeinträchtigten und gegebenenfalls Schädigungen am Herzen verursachen, wie beispielsweise der verwendete Aortenstutzen, der möglicherweise den Widerstand über der Aortenklappe erhöht, stellten sich im Verlauf der Untersuchungen heraus. Ebenso sind aufgrund der vorhandenen Schlauchlängen die Variationen der Vorlast- und Nachlastgefäße begrenzt und die verwendeten Schlauchdurchmesser limitieren den Zufluss zum Herzen [96].

Durch das gesamte System ist ebenfalls ein hohes Perfusatvolumen nötig, welches dementsprechend durch die erfolgte Hämodilution einen erniedrigten Hämoglobinwert nach sich zieht. Ferner muss das Einbringen der Elektroden und Katheter über die Herzklappen

überdacht werden. Eine Klappeninsuffizienz ist hierbei nicht auszuschließen. Dem kann mit dem Einbringen von Kathetern über die Herzspitze, wie es in anderen Arbeitsgruppen erfolgte, begegnet werden [3, 36].

Außerdem besteht während der Herzkontraktion ein komplexes Zusammenspiel der Herzkammern und den vorhandenen Drücken und Flüssen *in vivo*, welches in unserem System unterbrochen wurde. Die angegebenen Vor- und Nachlasten sowie Flüsse konnten unabhängig voneinander eingestellt werden. Bei dem hier verwendeten komplexen Vierkammer-Modell könnte in diesem Zusammenhang auch die fehlende humorale und nervale Steuerung eine Rolle spielen. Die kontinuierliche Gabe von Katecholaminen kann für folgende Versuche diskutiert werden. Im Hinblick auf die Hämodynamik in dem vorgestellten Modell scheint eine Gabe von positiv inotropen Substanzen sinnvoll [42]. Dies könnte ebenfalls ursächlich sein für die geringere Perfusionsdauer von Working-Hearts im Gegensatz zu retrograd perfundierten Herzen nach der Langendorff-Methode [1]

Dennoch erlaubte die verwendete Perfusionsmethode entsprechend der Zielvorgaben die Ableitung von EKG-Maps ohne Kontakt der Elektroden mit der Herzoberfläche in einem elektrisch homogenen Medium bei vollständiger Füllung der Herzkammern. Es konnten Messungen zum EKG-Mapping-Verfahren durchgeführt werden, die Grundlage für die Validierung der EKG-Mapping-Anlage im klinischen Einsatz sowie die Optimierung und Weiterentwicklung des Modells bildeten. Weiterhin konnten im Rahmen eines physikalischen Dissertationsvorhabens fluorimetrische Messungen zur Charakterisierung der Stoffwechsellage von *ex vivo* perfundierten Herzen gemacht werden [84].

Diese sowohl technischen als auch versuchsbedingten Grenzen des Modells zeigen nur einen Ausschnitt aus der Komplexität des Systems. Für die Durchführung der Untersuchungen im Rahmen des DFG-Projektes „Verfahren zur Darstellung von EKG-Maps auf der mit Ultraschallmessungen definierten Herzoberfläche“ (He 1669/11) war diese hohe Komplexität erforderlich und gefordert. Für weitere Untersuchungen sollte entsprechend den jeweiligen Versuchsanforderungen ein geeignetes, weniger komplexes und an die jeweilige Fragestellung angepasstes Modell ausgewählt werden. In der Literatur sind hierzu zahlreiche Perfusionsmodelle beschrieben, die auch in ökonomischer Sicht praktikabler erscheinen [4, 82, 115, 135, 139].

7 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines isolierten Herzmodells und das Erstellen von Rahmenbedingungen für eine Perfusion mit möglichst physiologischer Herzaktivität im Rahmen des DFG-Forschungsprojektes „Verfahren zur Darstellung von EKG-Maps auf der mit Ultraschallmessungen definierten Herzoberfläche“ (He 1669/11).

Zur Validierung einer klinisch eingesetzten Mappinganlage sollte ein selbstständig schlagendes, isoliert perfundiertes Tierherzmodell entwickelt werden, das die reproduzierbare Aufzeichnung von Erregungsabläufen am vollständig gefüllten Herzen in einem elektrisch homogenen Medium ermöglicht. Für die Charakterisierung und Evaluation des konstruierten Systems wurden sieben Schweineherzen unter OP-Bedingungen explantiert und für maximal 280 Minuten unter Betrachtung hämodynamischer, biochemischer und elektrophysiologischer Parameter im Vierkammer-Working-Heart-Modus perfundiert.

Das als Perfusat verwendete Blutgemisch gewährleistete einen physiologischen Sauerstofftransport und einen im Vergleich zu kristalloiden Perfusaten höheren onkotischen Druck, der einer Ödematisierung des Myokards entgegen wirkt. Das Perfusat wurde oxygeniert, dialysiert und temperiert. Nach erfolgreicher Reperfusion konnten die Schweineherzen in einen mit Wasser gefüllten und mit 75 Elektroden versehenen Kugelbehälter abgesenkt werden, der die Aufzeichnung von EKG-Maps in einem elektrisch homogenen Medium ermöglichte.

Die explantierten Schweineherzen wurden nach Präparation und Anschluss an das System zunächst im Langendorff-Modus perfundiert und nach Stabilisierung der Herzaktion über beide Vorhöfe antegrad gefüllt. In diesem Working-Heart-Modus schlugen die Herzen selbstständig (HF im Mittel $70\text{-}81\text{ min}^{-1}$) und verrichteten Druck-Volumen-Arbeit. Während der Perfusion wurden regelmäßig eine Oximetrie und Blutgasanalyse des Perfusats durchgeführt sowie Laborparameter zur Qualitätsbeurteilung des Präparates und der Perfusion bestimmt.

Die mittleren Vorlasten links ($3,7\text{-}7,4\text{ mmHg}$) und der Median der Aortennachlasten ($55,1\text{-}57,4\text{ mmHg}$) resultierten in einem mittleren Einstrom ins linke Atrium zwischen $848\text{-}1085\text{ ml/min}$. Der mittlere Aortenfluss änderte sich während der ersten 80 min der Perfusion relativ gering ($576\text{-}600\text{ ml/min}$) und nahm danach kontinuierlich ab. Durch die Isolierung des Herzens und die dadurch bedingte Ausschaltung neuronaler und humoraler Steuerungsmechanismen konnten nicht für alle Parameter physiologische Werte erzielt

werden. Besonders die hämodynamischen Werte lagen – wie auch bei anderen Arbeitsgruppen beschrieben – unterhalb des Referenzbereiches. Eine zunehmende Schädigung der Herzen, die bei isolierter Perfusion bekannt ist, zeigte sich in erhöhten Werten unter anderem von LDH (MW: 1029 U/l nach 120 min Perfusion im Steady State) und GOT (MW: 279 U/l nach 120 min Perfusion).

Das beschriebene Modell wurde für die Untersuchung eines neuen Verfahrens des EKG-Mappings entwickelt und es zeigte sich, dass während der Dauer der Perfusion gut vergleichbare, gleichförmige EKG-Kurven aufgezeichnet werden konnten. Diese bieten die Möglichkeit, regionale Veränderungen der Herzaktivität unabhängig von anatomischen Besonderheiten und Wechselwirkungen zwischen Elektroden und Herzoberfläche zu zeigen.

Die P-Wellen-Dauer (85 ± 27 ms – 120 ± 41 ms) liegt während des Versuchszeitraumes ebenso um den Referenzbereich wie das PQ-Intervall (159 ± 56 ms – 190 ± 43 ms). Die QRS-Dauer (115 ± 14 ms – 129 ± 11 ms) war im Vergleich zu Ergebnissen anderer Untersuchungen an isolierten Herzen ähnlich, wohingegen die QT-Dauer (417 ± 85 ms – 462 ± 58 ms) sowohl im Vergleich zu anderen Arbeitsgruppen als auch zu in-vivo-Bedingungen erhöht war. Die QRS- (988 ± 409 μ V – 1549 ± 759 μ V) und T-Amplitudenhöhen (535 ± 222 μ V – 885 ± 335 μ V) zeigten tendenziell in der ersten Hälfte der Perfusion eine Zunahme mit nachfolgender Abnahme zum Ende der Perfusion hin. Die EKG-Voltagen und -Intervallauern werden durch eine Vielzahl an Faktoren beeinflusst. Während der Perfusion bei gleich bleibenden Versuchsbedingungen spielen aber insbesondere sich verändernde Leitungseigenschaften des Myokards, z.B. durch die Entstehung eines myokardialen Ödems oder einer myokardialen Ischämie eine Rolle.

Die verwendete Perfusionsmethode ermöglichte entsprechend der Zielvorgabe die Ableitung von EKG-Maps ohne Kontakt der Elektroden mit der Herzoberfläche in einem elektrisch homogenen Medium bei vollständiger Füllung der Herzkammern. Es konnten Messungen zum EKG-Mapping-Verfahren durchgeführt werden, die Grundlage für die Validierung der EKG-Mapping-Anlage im klinischen Einsatz sowie die Optimierung und Weiterentwicklung des Modells bildeten. Weiterhin konnten im Rahmen eines physikalischen Dissertationsvorhabens fluorometrische Messungen zur Charakterisierung der Stoffwechsellage von ex vivo perfundierten Herzen gemacht werden.

Bei der Evaluation des Modells zeigten sich sowohl technische als auch versuchsbedingte Grenzen, die durch die hohe Komplexität des Modells bedingt sind. Für die Durchführung der Untersuchungen im Rahmen des DFG-Projekts war diese hohe Komplexität erforderlich und

gefordert. Für weitere Untersuchungen sollte entsprechend den jeweiligen Versuchsanforderungen ein geeignetes, weniger komplexes und an die jeweilige Fragestellung angepasstes Modell ausgewählt werden. In der Literatur sind hierzu zahlreiche Perfusionsmodelle beschrieben, die auch in ökonomischer Sicht praktikabler erscheinen.

8 SUMMARY

Carried out within the project of the German Research Foundation (DFG) “ECG Mapping Proceedings on a Heart Surface Defined by Ultrasound” (He 1669/11), this study aimed at developing and characterising an isolated heart model. In particular, basic conditions for a perfusion with preferable physiological cardiac activity should be established.

In order to validate a clinically used ECG mapping system, a model of an independently beating and perfused heart had to be developed, aiming at recording reproducibly the excitation cycle of a filled heart in an electrically homogeneous medium. Seven porcine hearts were surgically explanted and perfused for 280 minutes in a four-chamber working heart mode so as to make haemodynamic, biochemical and electrophysiological measurements, which were used to validate and characterise the perfusion system.

A blood mixture was used as perfusate, allowing oxygen transportation to occur in a physiological way. Furthermore, a higher oncotic pressure was provided compared to crystalloid solutions, preventing thus oedema development within the myocardium. The perfusate oxygenated, dialysed and tempered. After reperfusing the porcine heart, it was inserted into a spherical bowl fitted with 75 electrodes, which allowed recording the ECG mapping data in an electrically homogeneous medium.

The heart was prepared and connected to the system. First, it was perfused using the Langendorff mode. After stabilization of heart activity it was filled antegradly via the atrium while independently beating in the working-heart modus (average heart rate of 70-81 min⁻¹) and performing pressure-volume work. While perfusing the heart, oxymetries and blood gas analyses were carried out in regular intervals, and other parameters were checked in the laboratory in order to examine the organ's quality.

A left atrial preload of 3,7-7,4 mmHg and a median aortic afterload of 55,1-57,4 mmHg lead to an average inflow of 848-1085 ml/min into the left atrium. The average aortic flow remained stable during the first 80 minutes of perfusion (576-600 ml/min), decreasing continuously thereafter. Since the heart was isolated and not subjected to neuronal or humoral control, it was not possible to attain physiological values for all parameters. Haemodynamic values did not reach the reference values, coinciding with results of other studies. Proceeding deterioration, a known issue with isolated perfusion, was indicated by increasing values of

LDH (MW: 1029 U/l after 120 minutes of steady-state) and GOT (MW: 279 U/l after 120 minutes of steady-state).

The presented model was developed in order to examine a new method of ECG mapping, delivering well comparable and proportionate ECG curves for the interval of perfusion, thus providing the opportunity of showing local changes in heart activity independent from anatomical features or interaction of the electrodes and the heart's surface.

During the experiment, P duration (85 ± 27 ms – 120 ± 41 ms) and the PQ interval (159 ± 56 ms – 190 ± 43 ms) remained close to reference values. The QRS interval (115 ± 14 ms – 129 ± 11 ms) was similar to the results presented in other studies with isolated hearts. However, the QT interval (417 ± 85 ms – 462 ± 58 ms) was larger than in other studies with isolated hearts and in vivo. The QRS (988 ± 409 μ V – 1549 ± 759 μ V) and T amplitudes (535 ± 222 μ V – 885 ± 335 μ V) tended to increase during the first half of the perfusion, decreasing afterwards. ECG voltages and intervals are affected by various factors. Under constant perfusion conditions however, varying conductivity of the myocardium, which changes due to myocardial oedema or myocardial ischaemia, remains a main factor.

The perfusion method applied in this study permitted the conduction of ECG maps in an electrically homogeneous medium without attaching electrodes to the surface of a completely filled heart. ECG mapping data was collected in order to validate the clinical usage of ECG mapping systems and to enhance the model. A physical doctoral thesis carried out in the same framework aimed at the fluorimetric characterisation of metabolic activity of ex vivo perfused pig hearts.

At the stage of evaluation, technical as well as experimental limitations arising from the model's complexity became evident. Complexity, however, was a requisite within the DFG project. It is advisable for further research to choose a suitable model for the respective question, which is less complex and adapted to the experimental framework. Many perfusion models are described in literature and seem more viable from an economical point of view.

9 LITERATUR

1. **An, M.Y., Canel, E. P., Jang, I. H., Revel, D., Fossum, T. W., Chung, N. S., Janier, M. F.,** *Development and evaluation of a new apparatus for continuous perfusion of isolated perfused pig heart.* J Vet Sci, 2002. **3(3)**: p. 219-32.
2. **Apstein, C.S., Deckelbaum, L., Mueller, M., Hagopian, L., Hood, W. B., Jr.,** *Graded global ischemia and reperfusion. Cardiac function and lactate metabolism.* Circulation, 1977. **55(6)**: p. 864-72.
3. **Araki, Y., Usui, A., Kawaguchi, O., Saito, S., Song, M. H., Akita, T., Ueda, Y.,** *Pressure-volume relationship in isolated working heart with crystalloid perfusate in swine and imaging the valve motion.* Eur J Cardiothorac Surg, 2005. **28(3)**: p. 435-42.
4. **Ast, I.,** *Normotherme Hämoperfusion isolierter Schweineherzen - Charakterisierung eines neuen Modells mit Berücksichtigung des intramyokardialen Sauerstoffpartialdruckes bei regulärer Perfusion und Okklusion eines Koronararterienastes.* 2000, Freie Universität Berlin, Veterinärmedizinische Dissertation.
5. **Ast, I., Heydeck, D., Mothes, E., Christ, B.,** *Standardised in vitro electrophysiologic measurements using isolated perfused porcine hearts--assessment of QT interval alterations.* Altex, 2002. **19(1)**: p. 3-8.
6. **Barner, H.B.,** *Blood cardioplegia: a review and comparison with crystalloid cardioplegia.* Ann Thorac Surg, 1991. **52(6)**: p. 1354-67.
7. **Berg, R.,** *Das makroskopisch-anatomische Verhalten der Aa. coronariae und ihrer Äste beim Hausschwein im Vergleich zum Menschen.* Mh. Vet. med., 1962. **17**: p. 628-635.
8. **Boban, M., Stowe, D. F., Kampine, J. P., Goldberg, A. H., Bosnjak, Z. J.,** *Effects of 2,3-butanedione monoxime in isolated hearts: protection during reperfusion after global ischemia.* J Thorac Cardiovasc Surg, 1993. **105(3)**: p. 532-40.
9. **Bolli, R., Marban, E.,** *Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning.* Physiol Rev, 1999. **79(2)**: p. 609-34.
10. **Brenner, P., Hinz, M., Huber, H., Schmoeckel, M., Reichenspurner, H., Meiser, B., Hammer, C., Reichart, B.,** *Influence of ischemic time on hyperacute xenograft rejection of pig hearts in a working heart perfusion model with human blood.* Transpl Int, 2000. **13 Suppl 1**: p. S494-503.

11. **Bretschneider, H.J.**, *Überlebenszeit und Wiederbelebungszeit des Herzens bei Normo- und Hypothermie*. Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch, 1964. **30**: p. 11-34.
12. **Budrikis, A., Bolys, R., Liao, Q., Ingemansson, R., Sjoberg, T., Steen, S.**, *Function of adult pig hearts after 2 and 12 hours of cold cardioplegic preservation*. Ann Thorac Surg, 1998. **66**(1): p. 73-8.
13. **Budrikis, A., Liao, Q., Bolys, R., Westerlaken, B., Steen, S.**, *Effects of cardioplegic flushing, storage, and reperfusion on coronary circulation in the pig*. Ann Thorac Surg, 1999. **67**(5): p. 1345-9.
14. **Callans, D.J., Ren, J. F., Michele, J., Marchlinski, F. E., Dillon, S. M.**, *Electroanatomic left ventricular mapping in the porcine model of healed anterior myocardial infarction. Correlation with intracardiac echocardiography and pathological analysis*. Circulation, 1999. **100**(16): p. 1744-50.
15. **Chinchoy, E., Soule, C. L., Houlton, A. J., Gallagher, W. J., Hjelle, M. A., Laske, T. G., Morissette, J., Iaizzo, P. A.**, *Isolated four-chamber working swine heart model*. Ann Thorac Surg, 2000. **70**(5): p. 1607-14.
16. **Coles, J.A., Jr., Sigg, D. C., Iaizzo, P. A.**, *The potential benefits of 1.5% hetastarch as a cardioplegia additive*. Biochem Pharmacol, 2005. **69**(11): p. 1553-8.
17. **Crick, S.J., Sheppard, M. N., Ho, S. Y., Gebstein, L., Anderson, R. H.**, *Anatomy of the pig heart: comparisons with normal human cardiac structure*. J Anat, 1998. **193** (Pt 1): p. 105-19.
18. **Cyon, E.**, *Über den Einfluss der Temperaturänderungen auf Zahl, Dauer und Stärke der Herzschläge*. Ber. Verh. köngl. sächsischer Ges. d. Wiss. zu Leipzig, Math-Phys.Classe, 1866. **18**: p. 256-306.
19. **Deng, Q., A.G. Scicli, C. Lawton, and N.A. Silverman**, *Coronary flow reserve after ischemia and reperfusion of the isolated heart. Divergent results with crystalloid versus blood perfusion*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1995. **109**(3): p. 466-72.
20. **Deng, Q., Scicli, A. G., Lawton, C., 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, 1995. **109**(3): p. 466-72.
21. **Depre, C., Vanoverschelde, J. L., Taegtmeyer, H.**, *Glucose for the heart*. Circulation, 1999. **99**(4): p. 578-88.

22. **Dietel, M., Dudenhausen, J., Suttrop, N.**, *Harrisons Innere Medizin*. 15. Auflage, ed. M. Dietel, Dudenhausen, J., Suttrop, N. 2003: ABW Wissenschaftsverlagsgesellschaft mbH.
23. **Dixit, S., Callans, D. J.**, *Mapping for ventricular tachycardia*. *Card Electrophysiol Rev*, 2002. **6**(4): p. 436-41.
24. **Dobson, G.P.**, *Organ arrest, protection and preservation: natural hibernation to cardiac surgery*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2004. **139**(3): p. 469-85.
25. **Döring, H.J.**, *Perfused heart preparations: An overview by Prof.Dr.H.J.Döring.*, in "The isolated hearts-setup" von HUGO SACHS Elektronik., 1996, March-Hugstedten (Germany).
26. **Dukes, T.W., Szabuniewicz, M.**, *The electrocardiogram of conventional and miniature swine (Sus scrofa)*. *Can J Comp Med*, 1969. **33**(2): p. 118-27.
27. **Eckardt, L., Haverkamp, W., Borggrefe, M., Breithardt, G.**, *Experimental models of torsade de pointes*. *Cardiovasc Res*, 1998. **39**(1): p. 178-93.
28. **Fabiato, A., Fabiato, F.**, *Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles*. *J Physiol*, 1978. **276**: p. 233-55.
29. **Fallavollita, J.A., Logue, M., Canty, J. M., Jr.**, *Coronary patency and its relation to contractile reserve in hibernating myocardium*. *Cardiovasc Res*, 2002. **55**(1): p. 131-40.
30. **Feigl, E.O.**, *Coronary physiology*. *Physiol Rev*, 1983. **63**(1): p. 1-205.
31. **Frank, O.**, *Zur Dynamik des Herzmuskels*. *Am Heart J*, 1895. **58**: p. 282-317, 467-478.
32. **Gamble, W.J., Conn, P. A., Kumar, A. E., Plenge, R., Monroe, R. G.**, *Myocardial oxygen consumption of blood-perfused, isolated, supported, rat heart*. *Am J Physiol*, 1970. **219**(3): p. 604-12.
33. **Gepstein, L., Evans, S. J.**, *Electroanatomical mapping of the heart: basic concepts and implications for the treatment of cardiac arrhythmias*. *Pacing Clin Electrophysiol*, 1998. **21**(6): p. 1268-78.

34. **Green, L.S., Taccardi, B., Ershler, P. R., Lux, R. L.**, *Epicardial potential mapping. Effects of conducting media on isopotential and isochrone distributions.* Circulation, 1991. **84**(6): p. 2513-21.
35. **Grynberg, A., Demaison, L.**, *Fatty acid oxidation in the heart.* J Cardiovasc Pharmacol, 1996. **28 Suppl 1**: p. S11-7.
36. **Haas, J.S.**, *Ischämische und pharmakologische Präkonditionierung von Schweineherzen im Working-Heart-Modell.* 2005, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Medizinische Dissertation.
37. **Habighorst, B.**, *Etablierung und Charakterisierung eines kardialen Ischämie-Reperfusion-Modells: Das isolierte normotherme hämoperfundierte arbeitende Schweineherz.* 2005, Freien Universität in Berlin, Veterinärmedizinische Dissertation.
38. **Hammer, C., Thein, E.**, *Physiological aspects of xenotransplantation, 2001.* Xenotransplantation, 2002. **9**(5): p. 303-5.
39. **Hassanein, W.H., Zellos, L., Tyrrell, T. A., Healey, N. A., Crittenden, M. D., Birjiniuk, V., Khuri, S. F.**, *Continuous perfusion of donor hearts in the beating state extends preservation time and improves recovery of function.* J Thorac Cardiovasc Surg, 1998. **116**(5): p. 821-30.
40. **Hearse, D.J., Sutherland, F. J.**, *Catecholamines and preconditioning: studies of contraction and function in isolated rat hearts.* Am J Physiol, 1999. **277**(1 Pt 2): p. H136-43.
41. **Hearse, D.J., Sutherland, F. J.**, *Experimental models for the study of cardiovascular function and disease.* Pharmacol Res, 2000. **41**(6): p. 597-603.
42. **Hill, A.J., Laske, T. G., Coles, J. A., Jr., Sigg, D. C., Skadsberg, N. D., Vincent, S. A., Soule, C. L., Gallagher, W. J., Iaizzo, P. A.**, *In vitro studies of human hearts.* Ann Thorac Surg, 2005. **79**(1): p. 168-77.
43. **Hoekstra, J.W., Van Ligten, P., Neumar, R., Werman, H. A., Anderson, J., Brown, C. G.**, *Effect of high dose norepinephrine versus epinephrine on cerebral and myocardial blood flow during CPR.* Resuscitation, 1990. **19**(3): p. 227-40.
44. **Hoffman, J.I., Spaan, J.A.**, *Pressure-flow relations in coronary circulation.* Physiol Rev, 1990. **Apr;70**(2): p. 331-90.
45. **Horstick, G., Heimann, A., Gotze, O., Hafner, G., Berg, O., Boehmer, P., Becker, P., Darius, H., Rupprecht, H. J., Loos, M., Bhakdi, S., Meyer, J., Kempfski, O.**, *Intracoronary application of CI esterase inhibitor improves cardiac function and*

- reduces myocardial necrosis in an experimental model of ischemia and reperfusion. Circulation, 1997. 95(3): p. 701-8.*
46. **Hughes, G.C., Post, M. J., Simons, M., Annex, B. H.,** *Translational physiology: porcine models of human coronary artery disease: implications for preclinical trials of therapeutic angiogenesis. J Appl Physiol, 2003. 94(5): p. 1689-701.*
 47. **Hughes, H.C.,** *Swine in cardiovascular research. Lab Anim Sci, 1986. 1986 Aug;36(4): p. 348-50.*
 48. **Jasani, M.S., Salzman, S. K., Tice, L. L., Ginn, A., Nadkarni, V. M.,** *Anesthetic regimen effects on a pediatric porcine model of asphyxial arrest. Resuscitation, 1997. 35(1): p. 69-75.*
 49. **Kahn, C.M., Line, S., Aiello, S.E.,** *The Merck Veterinary Manual. 2005, Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.*
 50. **Kano, M., Toyoshi, T., Iwasaki, S., Kato, M., Shimizu, M., Ota, T.,** *QT PRODACT: usability of miniature pigs in safety pharmacology studies: assessment for drug-induced QT interval prolongation. J Pharmacol Sci, 2005. 99(5): p. 501-11.*
 51. **Kiessling, S.,** *Vergleichende Untersuchung von rechtem und linkem Ventrikel isoliert hämoperfundierter Schafherzen mit Custodiol und BDM-haltiger Kardioplegielösung. 2004, Freien Universität Berlin, Veterinärmedizinische Dissertation.*
 52. **Kimose, H.H., Ravkilde, J., Knudsen, M. A., Helligso, P., Baandrup, U.,** *Recovery after cold cardioplegic arrest of isolated blood-perfused hearts excised from non-anesthetized pigs. Eur Surg Res, 1990. 22(6): p. 323-35.*
 53. **Klinke, R., Silbernagl, S., Pape, H.C.,** *Physiologie. 5. Auflage. 2005, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.*
 54. **Klovekorn, W.P.,** *[Myocardial oxygen supply in hemodilution in patients with healthy hearts and heart surgery patients]. Infusionstherapie, 1990. 17 Suppl 2: p. 24-7.*
 55. **Knowlton, F.P., Starling, E.H.,** *The influence of variations in temperature and blood pressure on the performance of the isolated mammalian heart. The Journal of Physiology, 1912. 44: p. 206-219.*
 56. **Kober, I.M., Obermayr, R. P., Brull, T., Ehsani, N., Schneider, B., Spieckermann, P. G.,** *Comparison of the solutions of Bretschneider, St. Thomas' Hospital and the National Institutes of Health for cardioplegic protection during moderate hypothermic arrest. Eur Surg Res, 1998. 30(4): p. 243-51.*

57. **Koch, T., Berg, R.**, *Lehrbuch der Veterinär-Anatomie*. 5. Auflage. Band III: Die großen Versorgungs- und Steuerungssysteme. 1993, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag Jena.
58. **Köpf-Maier, P.**, *Wolf-Heideggers Atlas der Anatomie des Menschen: Kopf und Hals, Brust, Bauch, Becken, ZNS, Auge, Ohr*. 5. Auflage. Band 2. 2000, Basel: Karger.
59. **Kornowski, R.**, *Left ventricular electromechanical mapping for determination of myocardial*. J. Am. Coll. Cardiol., 2002. **40**(6): p. 1075-1078.
60. **Kossmehl, P., Schonberger, J., Shakibaei, M., Faramarzi, S., Kurth, E., Habighorst, B., von Bauer, R., Wehland, M., Kreutz, R., Infanger, M., Schulze-Tanzil, G., Paul, M., Grimm, D.**, *Increase of fibronectin and osteopontin in porcine hearts following ischemia and reperfusion*. J Mol Med, 2005. **83**(8): p. 626-37.
61. **Krebs, H.A., Henseleit, K.**, *Untersuchungen ueber die Harnstoffbildung im Tierkörper*. Hoppe-Seyler's Zeitschrift fuer Physiologische Chemie, 1932. **210**: p. 33-66.
62. **Langendorff, O.**, *Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen*. Pflügers Archiv, 1895. **61**: p. 291-332.
63. **Laske, T.G., Skadsberg, N. D., Iaizzo, P. A.**, *A novel ex vivo heart model for the assessment of cardiac pacing systems*. J Biomech Eng, 2005. **127**(6): p. 894-8.
64. **Leonhardt, H.**, *Anatomie des Menschen*. Band II: Innere Organe. 1987, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
65. **Levick, J.R.**, *Physiologie des Herz-Kreislauf-Systems*. 1998, Heidelberg, Leipzig: Johann Ambrosius Barth Verlag, Hüthig GmbH.
66. **Lindner, K.H., Ahnefeld, F. W., Grunert, A.**, *Epinephrine versus norepinephrine in prehospital ventricular fibrillation*. Am J Cardiol, 1991. **67**(5): p. 427-8.
67. **Madias, J.E., Bazaz, R., Agarwal, H., Win, M., Medepalli, L.**, *Anasarca-mediated attenuation of the amplitude of electrocardiogram complexes: a description of a heretofore unrecognized phenomenon*. J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(3): p. 756-64.
68. **Martin, H.**, *A new method of studying the mammalian heart*. Studies from the Biological Laboratory / Johns Hopkins University, 1881. **2**: p. 119-130.

69. **Martini, L., Fini, M., Giavaresi, G., Faenza, S., Petrini, F., Giardino, R.,** *Haemodynamic and volumetric monitoring during haemorrhagic shock in swine. Resuscitation*, 2001. **51**(1): p. 69-76.
70. **Maxwell, S.R., Lip, G. Y.,** *Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. Int J Cardiol*, 1997. **58**(2): p. 95-117.
71. **Medvegy, M., Preda, I., Savard, P., Pinter, A., Tremblay, G., Nasmith, J. B., Palisaitis, D., Nadeau, R.A.,** *New body surface isopotential map evaluation method to detect minor potential losses in non-Q-wave myocardial infarction. Circulation*, 2000. **101**(10): p. 1115-21.
72. **Modersohn, D., Blasig, I.,** *Energiestoffwechsel des gesunden Herzens, in Bd.1: Handbuch der inneren Erkrankungen*, B. Heublein. 1985, Gustav Fischer Verlag, Jena.
73. **Modersohn, D., Eddicks, S., Ast, I., Holinski, S., Konertz, W.,** *Influence of transmyocardial laser revascularization (TMLR) on regional cardiac function and metabolism in an isolated hemoperfused working pig heart. Int J Artif Organs*, 2002. **25**(11): p. 1074-81.
74. **Modersohn, D., Eddicks, S., Grosse-Siestrup, C., Ast, I., Holinski, S., Konertz, W.,** *Isolated hemoperfused heart model of slaughterhouse pigs. Int J Artif Organs*, 2001. **24**(4): p. 215-21.
75. **Moens, A.L., Claeys, M. J., Timmermans, J. P., Vrints, C. J.,** *Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. Int J Cardiol*, 2005. **100**(2): p. 179-90.
76. **Mosher, P., Ross, J., Jr., McFate, P. A., Shaw, R. F.,** *Control of Coronary Blood Flow by an Autoregulatory Mechanism. Circ Res*, 1964. **14**: p. 250-9.
77. **Murgo, J.P., Westerhof, N., Giolma, J. P., Altobelli, S. A.,** *Manipulation of ascending aortic pressure and flow wave reflections with the Valsalva maneuver: relationship to input impedance. Circulation*, 1981. **63**(1): p. 122-32.
78. **Nash, M.P., Bradley, C. P., Paterson, D. J.,** *Imaging electrocardiographic dispersion of depolarization and repolarization during ischemia: simultaneous body surface and epicardial mapping. Circulation*, 2003. **107**(17): p. 2257-63.
79. **Neely, J.R., Liebermeister, H., Battersby, E. J., Morgan, H. E.,** *Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. Am J Physiol*, 1967. **212**(4): p. 804-14.

80. **Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E.,** *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.* 1984, Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey.
81. **Nogueira, A.C., Ast, I., Patone, G., Perschel, F. H., Grimm, D., Paul, M.,** *Functional effects of acute coronary occlusion and catecholergic stimuli on the isolated normothermic hemoperfused porcine heart.* Clin Exp Hypertens, 2003. **25**(4): p. 235-55.
82. **Pepe, S., McLennan, P. L.,** *A maintained afterload model of ischemia in erythrocyte-perfused isolated working hearts.* J Pharmacol Toxicol Methods, 1993. **29**(4): p. 203-10.
83. **Petrucci Junior, O., Oliveira, P. P., Carmo, M. R., Vieira, R. W., Braile, D. M.,** *Standardization of an isolated pig heart preparation with parabiocirculation: methodological considerations.* Braz J Med Biol Res, 2003. **36**(5): p. 649-59.
84. **Pfeifer, L., Gruenwald, I., Welker, A., Stahn, R. M., Stein, K., Rex, A.,** *Fluorimetric characterisation of metabolic activity of ex vivo perfused pig hearts.* Biomed Tech (Berl), 2007. **52**(2): p. 193-9.
85. **Piper, H.M., Garcia-Dorado, D., Ovize, M.,** *A fresh look at reperfusion injury.* Cardiovasc Res, 1998. **38**(2): p. 291-300.
86. **Podesser, B.K., Hallstrom, S., Schima, H., Huber, L., Weisser, J., Kroner, A., Furst, W., Wolner, E.,** *The erythrocyte-perfused "working heart" model: hemodynamic and metabolic performance in comparison to crystalloid perfused hearts.* J Pharmacol Toxicol Methods, 1999. **41**(1): p. 9-15.
87. **Pschyrembel, W.B.,** *Pschyrembel.* 260. Auflage. 2004: de Gruyter.
88. **Pye, J., Ardeshirpour, F., McCain, A., Bellinger, D. A., Merricks, E., Adams, J., Elliott, P. J., Pien, C., Fischer, T. H., Baldwin, A. S., Jr., Nichols, T. C.,** *Proteasome inhibition ablates activation of NF-kappa B in myocardial reperfusion and reduces reperfusion injury.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **284**(3): p. H919-26.
89. **Qiu, Y., Hearse, D. J.,** *Comparison of ischemic vulnerability and responsiveness to cardioplegic protection in crystalloid-perfused versus blood-perfused hearts.* J Thorac Cardiovasc Surg, 1992. **103**(5): p. 960-8.
90. **Reddy, V.Y., Wroblewski, D., Houghtaling, C., Josephson, M. E., Ruskin, J. N.,** *Combined epicardial and endocardial electroanatomic mapping in a porcine model of healed myocardial infarction.* Circulation, 2003. **107**(25): p. 3236-42.

91. **Rhode, E.**, *Stoffwechseluntersuchungen am überlebenden Warmblüterherzen*. I.Mitteilung. Zur Physiologie des Herzstoffwechsels. *Z.physio.Chem.*, 1910. **68**: p. 181-235.
92. **Rigler, R.**, *Das Vorhofkammerkreislaufpräparat*. *Arch.exper.Path.Pharmakol.*, 1932. **163**: p. 295-310.
93. **Robinson, L.A., Brown, C. G., Jenkins, J., Van Ligten, P. F., Werman, H., Ashton, J., Hamlin, R. L.**, *The effect of norepinephrine versus epinephrine on myocardial hemodynamics during CPR*. *Ann Emerg Med*, 1989. **18**(4): p. 336-40.
94. **Roche**, *Lexikon Medizin*. 5. Auflage. 2003, München - Jena: Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag.
95. **Röhling, M.**, *ICD Controlled Ablation Trial - Eine Studie zur präventiven Katheterablation von ventrikulären Tachykardien bei ischämisch vorgeschädigten Herzen*. 2005, Technischen Universität München, Medizinische Dissertation.
96. **Rosenstrauch, D., Akay, H. M., Bolukoglu, H., Behrens, L., Bryant, L., Herrera, P., Eya, K., Tuzun, E., Clubb, F. J., Jr., Radovancevic, B., Frazier, O. H., Kadipasaoglu, K. A.**, *Ex vivo resuscitation of adult pig hearts*. *Tex Heart Inst J*, 2003. **30**(2): p. 121-7.
97. **Rubboli, A., Sobotka, P. A., Euler, D. E.**, *Effect of acute edema on left ventricular function and coronary vascular resistance in the isolated rat heart*. *Am J Physiol*, 1994. **267**(3 Pt 2): p. H1054-61.
98. **Samaja, M., Allibardi, S., Milano, G., Neri, G., Grassi, B., Gladden, L. B., Hogan, M. C.**, *Differential depression of myocardial function and metabolism by lactate and H⁺*. *Am J Physiol*, 1999. **276**(1 Pt 2): p. H3-8.
99. **Sands, M.P., Rittenhouse, E.A., Mohri, H., Merendino, K.A.**, *An anatomical comparison of human pig, calf, and sheep aortic valves*. *Ann Thorac Surg*, 1969. **1969 Nov**;8(5): p. 407-14.
100. **Schaper, W., Jageneau, A., Xhonneux, R.**, *The development of collateral circulation in the pig and dog heart*. *Cardiologia*, 1967. **51**(6): p. 321-35.
101. **Schaub, F.A.**, *Grundriss der klinischen Elektrokardiographie*. Wissenschaftliche Tabellen, Supplement I. 1972, Basel: Ciba-Geigy.
102. **Scheunert, A., Trautmann, A.**, *Lehrbuch der Veterinär-Physiologie*. 1987, Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey.

103. **Schiebler, T., Schmidt, W., Zilles, K.**, *Anatomie, Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen*. 7. Auflage. 1997: Springer Verlag.
104. **Sigg, D.C., Coles, J. A., Gallagher, W. J., Oeltgen, P. R., Iaizzo, P. A.**, *Opioid preconditioning: myocardial function and energy metabolism*. *Ann Thorac Surg*, 2001. **72**(5): p. 1576-82.
105. **Sigg, D.C., Iaizzo, P. A.**, *In vivo versus in vitro comparison of swine cardiac performance: Induction of cardiodepression with halothane*. *Eur J Pharmacol*, 2006. **543**(1-3): p. 97-107.
106. **Sigg, D.C., Iaizzo, P. A.**, *Malignant hyperthermia phenotype: hypotension induced by succinylcholine in susceptible swine*. *Anesthesiology*, 2000. **92**(6): p. 1777-88.
107. **Sim, E.K., Muskawad, S., Lim, C.S., Yeo, J.H., Lim, K.H., Grignani, R.T., Durrani, A., Lau, G., Duran, C.**, *Comparison of human and porcine aortic valves*. *Clin Anat*. 2003 May, 2003. **16**(3): p. 193-6.
108. **Skeehan, T.M., Schuler, H. G., Riley, J. L.**, *Comparison of the alteration of cardiac function by sevoflurane, isoflurane, and halothane in the isolated working rat heart*. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1995. **9**(6): p. 706-12.
109. **Smith, A.C., Ehler, W.J., Swindle, M.M.**, *Anesthesia and Analgesia in Swine*, in *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*, D.F. Kohn, Wixson, S.K., White, W.J., Benson, G.J. 1997, Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto. p. 313-336.
110. **Smith, G.T., Geary, G., Ruf, W., Roelofs, T. H., McNamara, J. J.**, *Epicardial mapping and electrocardiographic models of myocardial ischemic injury*. *Circulation*, 1979. **60**(4): p. 930-8.
111. **Spahn, D.R.**, *Blood substitutes. Artificial oxygen carriers: perfluorocarbon emulsions*. *Crit Care*, 1999. **3**(5): p. R93-7.
112. **Spyridopoulos, I.**, *Herzkatheteruntersuchung*, in *Kardiologie compact*, C. Mewis, Riessen, R., Spyridopoulos, I. 2006, Thieme Verlag, Stuttgart.
113. **Stolte, M.**, *Anatomie und Pathologie der Koronararterien*. 1981, Erlangen: perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH.
114. **Stolz, P.J.**, *EKG-Verfahren zur Vitalitätsdiagnostik bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung*. 2005, Westfälischen Wilhelms Universität Münster, Medizinische Dissertation.

115. **Sutherland, F.J., Hearse, D. J.**, *The isolated blood and perfusion fluid perfused heart*. Pharmacol Res, 2000. **41**(6): p. 613-27.
116. **Swindle, M.M., Smith, A. C., Hepburn, B. J.**, *Swine as models in experimental surgery*. J Invest Surg, 1988. **1**(1): p. 65-79.
117. **Taegtmeyer, H., Hems, R., Krebs, H. A.**, *Utilization of energy-providing substrates in the isolated working rat heart*. Biochem J, 1980. **186**(3): p. 701-11.
118. **Takahashi, A., Chambers, D. J., Braimbridge, M. V., Hearse, D. J.**, *Cardioplegia: relation of myocardial protection to infusion volume and duration*. Eur J Cardiothorac Surg, 1989. **3**(2): p. 130-3; discussion 134.
119. **Thielscher, H.H.**, *[Oxygen supply and lactate utilization in the porcine heart]*. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 1985. **98**(2): p. 54-7.
120. **Tian, G., Biro, G. P., Xiang, B., Butler, K. W., Deslauriers, R.**, *The effect of magnesium added to secondary cardioplegia on postischemic myocardial metabolism and contractile function--a ³¹P NMR spectroscopy and functional study in the isolated pig heart*. Basic Res Cardiol, 1992. **87**(4): p. 356-65.
121. **Tian, G., Xiang, B., Dai, G., Li, G., Sun, J., Summers, R., Deslauriers, R.**, *Retrograde cardioplegia*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003. **125**(4): p. 872-80.
122. **Tian, G., Xiang, B., Dai, G., Lindsay, W. G., Sun, J., Shen, J., Summers, R., Deslauriers, R.**, *The effects of retrograde cardioplegia technique on myocardial perfusion and energy metabolism: a magnetic resonance imaging and localized phosphorus 31 spectroscopy study in isolated pig hearts*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2000. **120**(3): p. 544-51.
123. **Töndury, G.**, *Angewandte und topographische Anatomie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte*. 4. Auflage. 1970, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
124. **Tseng, Y.Z., Hsu, K. L., Chiang, F. T., Lo, H. M., Hwang, J. J., Lai, L. P., Lin, J. L., Tseng, C. D.**, *Characteristic findings of body surface potential map during ventricular repolarization in patients with coronary heart disease*. Jpn Heart J, 1999. **40**(4): p. 391-404.
125. **Tseng, Y.Z., Hsu, K. L., Chiang, F. T., Lo, H. M., Tseng, C. D., Lin, J. L.**, *The use of body surface potential map for identifying sites of accessory pathway in patients with Wolff-Parkinson-White syndrome*. Jpn Heart J, 1998. **39**(4): p. 445-55.
126. **Tune, J.D., Richmond, K. N., Gorman, M. W., Feigl, E. O.**, *Control of coronary blood flow during exercise*. Exp Biol Med (Maywood), 2002. **227**(4): p. 238-50.

127. **Urbaszek, W., Modersohn, D.**, *Funktionsdiagnostik des Herzens*. 1. Auflage. 1983, Jena: Fischer. 368.
128. **van Rijk-Zwikker, G.L., Schipperheyn, J. J., Huysmans, H. A., Brusckhe, A. V.**, *Influence of mitral valve prosthesis or rigid mitral ring on left ventricular pump function. A study on exposed and isolated blood-perfused porcine hearts*. *Circulation*, 1989. **80**(3 Pt 1): p. II-7.
129. **Varadarajan, S.G., An, J., Novalija, E., Smart, S. C., Stowe, D. F.**, *Changes in [Na(+)](i), compartmental [Ca(2+)], and NADH with dysfunction after global ischemia in intact hearts*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001. **280**(1): p. H280-93.
130. **Verdouw, P.D., van den Doel, M. A., de Zeeuw, S., Duncker, D. J.**, *Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes*. *Cardiovasc Res*, 1998. **39**(1): p. 121-35.
131. **Verdouw, P.D., Wolffenbuttel, B. H., van der Giessen, W. J.**, *Domestic pigs in the study of myocardial ischemia*. *Eur Heart J*, 1983. **4 Suppl C**: p. 61-7.
132. **Walley, K.R., Collins, R. M., Cooper, D. J., Warriner, C. B.**, *Myocardial anaerobic metabolism occurs at a critical coronary venous PO₂ in pigs*. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997. **155**(1): p. 222-8.
133. **Weaver, M.E., Pantely, G.A., Bristow, J.D., Ladley, H.D.**, *A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man*. *Cardiovasc Res*, 1986. **1986 Dec;20(12)**: p. 907-17.
134. **Wenzel, V., Padosch, S. A., Voelckel, W. G., Idris, A. H., Krismer, A. C., Bettschart-Wolfensberger, R., Lindner, K. H.**, *Survey of effects of anesthesia protocols on hemodynamic variables in porcine cardiopulmonary resuscitation laboratory models before induction of cardiac arrest*. *Comp Med*, 2000. **50**(6): p. 644-8.
135. **Werchan, P.M., McDonough, K. H.**, *The right ventricular working heart preparation*. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1987. **185**(3): p. 339-46.
136. **Wetzel, U., Hindricks, G., Dorszewski, A., Schirdewahn, P., Gerds-Li, J. H., Piorkowski, C., Kobza, R., Tanner, H., Kottkamp, H.**, *Electroanatomic mapping of the endocardium. Implication for catheter ablation of ventricular tachycardia*. *Herz*, 2003. **28**(7): p. 583-90.
137. **Ytrehus, K.**, *The ischemic heart--experimental models*. *Pharmacol Res*, 2000. **42**(3): p. 193-203.

138. **Zabel, M., Portnoy, S., Franz, M. R.**, *Electrocardiographic indexes of dispersion of ventricular repolarization: an isolated heart validation study.* J Am Coll Cardiol, 1995. **25**(3): p. 746-52.
139. **Zimmer, H.G.**, *The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers.* News Physiol Sci, 1998. **13**: p. 203-210.
140. **Zimmer, H.G.**, *Who discovered the Frank-Starling mechanism?* News Physiol Sci, 2002. **17**: p. 181-4.

10 TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS

10.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1.1	Statistisches Bundesamt Deutschland 2005.....	4
Tabelle 3.1.1	Herzgewicht (Mensch, Schwein, Schaf) in Anlehnung an KOCH und BERG (1993) [20]	9
Tabelle 3.2.1	EKG-Referenzwerte für Mensch und Schwein (nach Schaub, F.A. [50] und Dukes, T.W. [51]).....	14
Tabelle 3.2.2	Möglichkeiten der Ableitung des EKGs (nach Pschyrembel 2004 [52] und Roche Lexikon Medizin 2003 [49])	14
Tabelle 3.2.3	Mittlere Druckwerte im Herzzyklus des Menschen nach Harrisons Innere Medizin (2003) [65].....	17
Tabelle 3.2.4	Referenzwerte für Menschen und Schweine nach Scheunert/Trautmann (1987) [75] und Klinke/Silbernagl (2005) [42]	22
Tabelle 3.3.1	Formen der Kardioplegie nach Pschyrembel, 260. Auflage.....	26
Tabelle 4.1.1	Verwendete Blutgasanalyse-/ Oximetriegeräte und Glucometer	33
Tabelle 4.1.2	Zusammensetzung der Kardioplegielösung (1000 ml).....	37
Tabelle 4.1.3	Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung Sigma® Product No. K-3753	38
Tabelle 4.1.4	weitere Lösungen zur Verwendung während der Perfusion.....	39
Tabelle 4.2.1	Referenzwerte des Schweins der Blutgasanalyse und Oximetrie [109, 110] ...	50
Tabelle 5.1.1	Übersicht zu Gewicht der Schweine und deren Herzen	54
Tabelle 5.1.2	Ischämie- und Perfusionszeiten	55
Tabelle 5.1.3	Vorlasten und Nachlasten im Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)	57
Tabelle 5.1.4	Hämoglobin, Kalium und Kalzium der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); (Mittelwert ± Standardabweichung)	69
Tabelle 5.1.5	Troponin I und Myoglobin der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7); Referenzbereiche: Troponin < 0,1 ng/ml, Myoglobin < 110 ng/ml	71
Tabelle 5.1.6	Lactat und Glucose der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7); Referenzbereiche: Lactat: 5-20 mg/dl, Glucose: 90-110 mg/dl	73
Tabelle 5.2.1	EKG-Mapping-Auswertung im Versuchszeitraum von 60 bis 180 min, n=7 ..	75

10.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1.1	Herz und herznahe Gefäße nach Köpf-Maier [48].....	5
Abbildung 3.1.2	Versorgungsgebiete der A. coronaria sinistra (hell) und der A. coronaria dextra (dunkel) im Bereich der Ventrikel (nach Töndury 1970) [102].....	6
Abbildung 3.1.3	Versorgungstypen beim Menschen nach Stolte (1981).....	7
Abbildung 3.2.1	Erregungsleitungssystem des Herzens nach Roche Lexikon Medizin, 5.Auflage [79].....	12
Abbildung 3.2.2	Linksventrikulärer Druck (LV) , Aortendruck (Ao) und Aortenfluß (Ao Flow) am Patienten während eines Valsalva-Manövers (nach Murgo et al. 1981 [65]).....	19
Abbildung 3.2.3	Faktoren zur Beeinflussung der Koronardurchblutung nach Klinke und Silbernagl (2005).....	20
Abbildung 4.1.1	Perfusionsaufbau vor Beginn der Reperfusion	30
Abbildung 4.1.2	Aortenstutzen mit Ringhalter (Eigenanfertigung).....	31
Abbildung 4.1.3	Flussmesser, Transonic System Inc.	34
Abbildung 4.1.4	Digitale Fluss- und Druckaufzeichnung.....	35
Abbildung 4.1.5	Schema des Kugelbehälters (Auszug aus der Offenlegungsschrift DE 101 64512 A1).....	36
Abbildung 4.2.1	Vorhofstutzen	42
Abbildung 4.2.2	Lokalisation der Elektroden und der Tipkatheter.....	43
Abbildung 4.2.3	Pulmonalstutzen	43
Abbildung 4.2.4	Schema der Perfusionsappatur (rot: arteriell, blau: venös).....	44
Abbildung 4.2.5	Schema der Reperfusion	46
Abbildung 4.2.6	Versuchsdurchführung der isolierten Perfusion.....	51
Abbildung 4.2.7	EKG-Mapping-Kugel während des Versuchs.....	52
Abbildung 5.1.1	Verlauf der Herzfrequenz der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)	56
Abbildung 5.1.2	Fluss in das linke Atrium (Fluss LA) im Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)	58
Abbildung 5.1.3	Fluss aus der Aorta (Fluss AO) im Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7).....	59
Abbildung 5.1.4	Koronarfluss pro 100 g Organgewicht (CBF_{100g}) über den Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7)	60
Abbildung 5.1.5	Organwiderstand (OW) über den Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7).....	60

Abbildung 5.1.6	Linksventrikulärer Druck über den Versuchszeitraum der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7).....	61
Abbildung 5.1.12	LVP im Versuchsverlauf, Aufzeichnung über 3 Sekunden	63
Abbildung 5.1.13	Aortenfluss (AOF) und Fluss in das linke Atrium (LAF) im Versuchsverlauf, Aufzeichnung über 3 Sekunden	64
Abbildung 5.1.7	pH-Werte arteriell/venös der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); Referenzbereich: 7,38-7,42.....	66
Abbildung 5.1.8	pO ₂ -Werte der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); Referenzbereich 100-200 mmHg (art.)	67
Abbildung 5.1.9	pCO ₂ -Werte der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 0-210 Minuten (n=7); Referenzbereich 36-44 mmHg	68
Abbildung 5.1.10	LDH und GOT der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7); Referenzbereiche: LDH: 480-740 U/l, GOT: 14-50 U/l	70
Abbildung 5.1.11	Gesamt-Eiweiß und Albumin der isolierten Schweineherzen im Versuchszeitraum von 40-200 Minuten (n=7), Referenzbereich: Gesamt-Eiweiß: 4±0,5 g/dl, Albumin: 3,8±0,4 g/dl.....	72
Abbildung 5.2.1	EKG-Mapping-Kurven während der Perfusion vom rechten und linken Atrium (RA, LA) sowie vom rechten und linken Ventrikel (RV, LV) nach 120 (a), 150 (b), und 180 (c) Minuten.....	74

11 PUBLIKATIONSLISTE

- Pfeifer, L.; Grünwald, I.; Welker, A.; **Stahn, R.M.**; Stein, K.; Rex, A.: Fluorimetric characterisation of metabolic activity of ex vivo perfused pig hearts. Biomedizinische Technik / Biomedical Engineering, 52 (2), 2007, 193-199
- Grünwald, I.; **Stahn, R.M.**; Kindt, C.M.; Kaul, M.; Pfeifer, L.; Hetzer, R.: Kriterien für die Mehrfachnutzung von isolierten perfundierten Herzen für elektrophysiologische und metabolische Untersuchungen. Criteria for the multiple use of isolated perfused hearts in electrophysiological and metabolic experiments. Biomedizinische Technik / Biomedical Engineering (Publikation in Vorbereitung)

12 DANKSAGUNG

Mein Dank geht an dieser Stelle zunächst allen, die mir bei der vorliegenden Arbeit geholfen haben und mit Rat und Tat zur Seite standen.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. Roland Hetzer danke ich herzlich für die Ermöglichung dieser wissenschaftlichen Arbeit, die Überlassung des Themas und die Bereitstellung des Laborarbeitsplatzes.

Besonderen Dank gilt der Arbeitsgruppe EKG-Mapping des Deutschen Herzzentrums Berlin, mit der die Arbeit im Labor und im Weiteren sehr viel Freude gemacht hat. Ganz besonderen Dank möchte ich Frau Dr. Inga Grünwald aussprechen für Ihre herzliche und motivierende Zusammenarbeit und Geduld bei der Erstellung dieser Arbeit. Ferner möchte ich einen Dank an Herrn Prof. Dr. med. W. Rafflenbeul für seine konstruktiven Vorschläge und Unterstützung aussprechen. Zudem bedanke ich mich bei Herrn Dipl.-Ing. Carsten Kindt und Herrn Michael Kaul für die immer nette Zusammenarbeit.

Danken möchte ich weiterhin den Mitarbeitern der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité für die freundliche Unterstützung bei der Versuchsdurchführung.

Meiner Familie danke ich im Besonderen für Ihre Geduld und Verständnis während der Erstellung dieser Arbeit und die Ermöglichung meiner Ausbildung. Meinem Vater danke ich insbesondere für die frühe Vermittlung wissenschaftlicher Arbeiten und in Erinnerung gebliebenen Vertrauen für meine Arbeiten.

Allen Freunden sei zudem an dieser Stelle für Ihre konstruktiven und auch lieben Worte ein Dank ausgesprochen.

13 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Ich, Romana Melanie Stahn, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Entwicklung und Charakterisierung eines Vierkammer-Working-Hearts zur Untersuchung eines neuen Verfahrens des EKG-Mappings“ 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, 21. November 2008

Romana Melanie Stahn

14 LEBENS LAUF

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