

***Einfluss der Temperatur auf die Lungenfunktionsparameter im
Rahmen der isolierten hyperthermen Lungenperfusion***

Dissertation

zur Erlangung des doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Valentin Thomas Becker

geboren am 29. September 1978 in Böblingen

Gutachter

- 1. Prof. Dr. Th. Wahlers, FSU Jena**
- 2. PD Dr. K. Pethig, FSU Jena**
- 3. Prof. PD H. Lang, Universität Essen**

Tag der öffentlichen Verteidigung:

06. April 2004

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
1.1	Der Einsatz der Hyperthermie in der Krebstherapie	8
1.1.1	Historischer Überblick	8
1.1.2	Einfluss der Hyperthermie auf Zellen	8
1.1.3	Einfluss der Hyperthermie auf das Gewebe	12
1.1.4	Applikationsformen der Hyperthermie	13
1.1.4.1	Lokale Hyperthermie	14
1.1.4.2	Regionale Hyperthermie	15
1.1.4.3	Ganzkörperhyperthermie	16
1.2	Die isolierte Organperfusion zur Krebsbehandlung	17
1.2.1	Die isolierte Extremitätenperfusion	18
1.2.2	Die isolierte Leberperfusion	19
1.2.3	Die isolierte Perfusion von Pleura- und Peritonealhöhle	19
1.3	Die isolierte hypertherme Lungenperfusion	20
1.3.1	Historische Entwicklung	20
1.4	Zielsetzung der Arbeit	21
2	Material und Methodik	22
2.1	Tierexperimentelles Modell	22
2.1.1	Versuchstiere	22
2.1.2	Versuchsgruppen	22

2.2	Versuchsdurchführung	23
2.2.1	Monitoring	23
2.2.2	Perfusionstechnik und Perfusat	24
2.2.2.1	Komponenten und Aufbau der Perfusionstechnik	24
2.2.2.2	Zusammensetzung des Perfusats	25
2.2.3	Anästhesie und Narkose	26
2.2.4	Operationsablauf	27
2.2.5	Isolierte hypertherme Lungenperfusion	28
2.2.6	Nachbeobachtung	28
2.3	Messparameter	29
2.3.1	Messprotokoll	29
2.3.2	Hämodynamische und ventilatorische Parameter	30
2.3.3	Blutgasanalyse und Gasaustauschparameter	32
2.3.4	Wet/ Dry Ratio	32
2.4	Datenerfassung und Statistische Auswertung	33
3	Ergebnisse	34
3.1	Vergleich der Untersuchungsgruppen	34
3.1.1	Körpergewicht	34
3.1.2	Perfusionsdauer	35
3.1.3	Perfusattemperatur	35
3.1.4	Lungentemperatur	36
3.1.5	Perfusionsdruck	38

3.1.6	Flussrate	39
3.1.7	pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (PVWI) während der Perfusion	40
3.2	Hämodynamik	41
3.2.1	Pulmonalarterieller Mitteldruck (mPAP)	41
3.2.2	Herzzeitvolumen (HZV)	42
3.2.3	Herzindex (HI)	43
3.2.4	pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand (PVR)	44
3.2.5	pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstandsindex (PVWI)	45
3.3	Ventilationsparameter	46
3.3.1	Beatmungsspitzenruck (PIP)	46
3.3.2	dynamische Compliance	47
3.4	Blutgasanalyse	49
3.4.1	absolute Oxygenierungskapazität (AOC)	49
3.4.2	relative Oxygenierungskapazität (ROC)	50
3.4.3	alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz (AaDO ₂)	50
3.5	Wet/ Dry Ratio	51
4	Diskussion	59
4.1	Diskussion bisheriger Modelle	53
4.1.1	Kleintiermodelle	53
4.1.2	Großtiermodelle	56
4.1.3	Humane Anwendung	62

4.2	Diskussion der eigenen Ergebnisse	64
4.3	Parameter zur Beurteilung der Lungenfunktion	64
4.3.1	Diskussion der Perfusionsparameter	65
4.3.2	Diskussion der Funktionsparameter	69
4.3.2.1	Gasaustausch	69
4.3.3	Hämodynamik	70
4.3.4	Ventilation	71
4.3.5	W/D-Ratio	72
4.4	Ergebnis der Studie	72
5	Zusammenfassung	74
6	Literaturverzeichnis	76
7	Abkürzungsverzeichnis	98
8	Lebenslauf	100
9	Danksagungen	101
10	Erklärungen	102

***Wo Medikamente nicht helfen, hilft Eisen;
Wo Eisen nicht hilft, hilft Wärme;
Wo Wärme nicht hilft, ist Hilfe nicht möglich***

zitiert nach Hippokrates (470-377 BC)
(de Bree et al., 2002)

1 Einleitung

1.1 Der Einsatz der Hyperthermie in der Krebstherapie

1.1.1 Historischer Überblick

Die erste wissenschaftliche Erwähnung der Hyperthermie als Tumorthherapie geht auf Bush im Jahre 1866 zurück (Bush W, 1866). Er beobachtete, dass sich ein Sarkom im Gesichtsbereich zurückbildete, nachdem der Patient an hohem Fieber, ausgelöst durch ein Erysipel, erkrankt war. Bush erkannte diesen Zusammenhang und legte so den Grundstein für die Hyperthermietherapie.

In den frühen sechziger Jahren konnten Cavaliere et al. nachweisen, dass Temperaturen um 42°C- 43°C insbesondere Tumorzellen schädigen (Cavaliere et al., 1967). Während sich gesundes Gewebe durch physiologische Gegenregulation vor solchen Schäden schützen konnte oder sich durch Reparationsvorgänge wieder zu erholen vermochte, waren die durch Hyperthermie induzierten Schäden für neoplastische Zellen meist letal.

Seither versuchen immer wieder verschiedene Forschungsgruppen die Veränderungen durch Hyperthermie in der Zelle, in gesunden und in neoplastischen Zellverbänden aufzuzeigen und zu erklären. Dabei besteht die Schwierigkeit, vergleichbare Zelllinien zu finden und auszuwerten, um wirklich signifikante Aussagen treffen zu können, da zum Beispiel regenerierende neoplastische Zellverbände auch nur mit regenerierenden und nicht dauerhaften Zellverbänden verglichen werden können (Strom et al., 1973).

1.1.2 Einfluss der Hyperthermie auf Zellen

Durch viele Studien ist belegt, dass Tumorzellen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* empfindlicher auf supranormale Temperaturen reagieren als normale Zellen (Suit et al., 1974; Overgaard J, 1977; Streffer C, 1990). Dabei kommt es nach Exposition mit erhöhten Temperaturen zu verschiedenen Zellveränderungen.

Die Hyperthermie führt zu einer Steigerung des Stoffwechsels, gleichzeitig wird aber die Zellatmung, der oxidative Stoffwechsel, gehemmt (Cavaliere et al., 1967). Es

kann weniger ATP bereitgestellt werden, wodurch die anaerobe Glykolyse gesteigert wird. Lactat wird angereichert und es kommt zu einem pH-Abfall mit zellschädigender Azidose. Dieser Vorgang läuft bei Tumorzellen schneller ab als bei im gesunden Zellverbänden, weil sie durch ihr schnelles Wachstum verursacht, eine pathologische Gefäßarchitektur aufweisen, die eine mangelhaft Durchblutung bewirkt. Somit können sie sich nicht mit thermoregulatorischer Perfusionssteigerung schützen und reagieren verstärkt auf Hyperthermie. Oberhalb des Temperaturbereichs von mehr als 44°C wiesen Westmark und Mitarbeiter eine Reduktion sowohl der aeroben als auch der anaeroben Glykolyse nach (Westermarck N, 1927).

Die Hyperthermie beeinflusst jedoch nicht nur den Zellstoffwechsel, sondern verändert auch die Syntheseleistungen von Makromolekülen und Nukleinsäuren (Mondovi et al., 1969). Als Ursachen werden Genommutationen, Einzelstrangbrüche und der Abbruch der DNA Synthese nach Hyperthermiebehandlung beschrieben (Muller HJ, 1928; Bridges et al., 1969; Everson et al., 1970). Szybalski demonstrierte Denaturierung von Proteinen und das Aufbrechen von Phosphoresterbindungen, die aber erst bei Temperaturen oberhalb des klinischen Interesses nachweisbar war (Szybalski W, 1967). Die RNA der Tumorzelle, insbesondere die ribosomale RNA, wird schneller als die DNA beeinflusst (Dickson et al., 1972). Dies hängt mit der geringeren Stabilität des RNA Einzelstrangs im Vergleich zu dem stabileren DNA Doppelstrang zusammen.

Die Denaturierung von Proteinen durch Hyperthermie ist ein seit langem bekannter Vorgang (Dewey et al., 1971). Westra et al. fanden heraus, dass die Energie, die für die Denaturierung wichtiger Proteine benötigt wird, der Energiemenge entspricht, die benötigt wird, um Zellen so zu schädigen, dass sie nicht weiterwachsen (Westra et al., 1971). So liegt der Schluss nahe, dass die Denaturierung der chromosomen-assoziierten Proteine die weitere Nutzung der DNA unmöglich macht. Dies ist dadurch belegt, dass stärker proteinassoziierte DNA thermoempfindlicher ist als weniger stark proteinassoziierte DNA (Ginoza et al., 1961). Es ist zu folgern, dass die Veränderungen im klinisch angewendeten Bereich nicht durch DNA- Schädigung entstehen, sondern durch Schädigung der DNA-assoziierten Proteine oder der DNA Synthese.

In der Wachstumsphase und besonders in der Replikationsphase sind die Zellen am empfindlichsten gegenüber Wärme. Palzer stellte fest, dass eine 7-fach erhöhte Empfindlichkeit in der späten S- Phase im Vergleich zur G1 oder G2 Phase besteht (Palzer et al., 1973). Siskin et al. fanden zusätzlich eine sensitive Periode in der M-Phase (Siskin et al., 1965). Außerdem demonstrierten sie, dass der Übergang von einer Zellzyklusphase zur nächsten, außer bei der Anaphase, bei erhöhter Temperatur deutlich verlängert wird. Dies wird durch eine Denaturierung der Spindelapparatproteine erklärt und macht die verminderte Wärmesensitivität der Anaphase plausibel. Durch diese verlängerte Übergangszeit zwischen den verschiedenen Zellzyklen wird erklärt, wie die Hyperthermiebehandlung den Generationszyklus verlängert und letztlich das Tumorstadium in vivo verlangsamt.

Durch lang andauernde oder wiederholte Hyperthermiebehandlungen ist die Entstehung von sogenannten Heat-Schock-Proteinen (HSP) möglich. Bei einer Temperatur von 41,8°C geschieht dies nur in Tumorzellen, nicht aber im gesunden Gewebe. Die Expression des Hitzeschockproteins HSP 72 geht mit einer erhöhten Sensitivität gegen die Zytotoxizität von IL-2 stimulierten natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) einher, da HSP 72 eine spezifische Erkennungsstruktur für NK-Zellen darstellt (Multhoff G, 1995a; Multhoff G, 1995b). Als Folge der HSP- Synthese kann es einerseits zu einer vorübergehenden Thermotoleranz der Zellen kommen und andererseits, zumindest bei bestimmten Tumoren, zu einer immunologischen Stimulation der Krebsbekämpfung auf zellulärer Ebene. Es konnte zudem gezeigt werden, dass die Hyperthermie die Aufnahme von monoklonalen Antikörpern im Tumorgewebe verstärkt (Schuster et al., 1995). Die Induktion verschiedener Cytokine (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , G-CSF), durch die die Bildung von Blut- und immunkompetenten Zellen stimuliert wird, wird ebenfalls gesteigert (Robins et al., 1995). Die durch Hyperthermie induzierte Apoptose kommt durch eine endogene TNF- α Produktion zustande (Katschinski et al., 1999).

Levine et al. beschrieben zellmorphologische Veränderungen nach Hyperthermieanwendung in den Tumoren (Levine et al., 1970). Diese reichten von „bizarreren Formen, bläschenförmiger Oberfläche“ bis zu „einem auffallenden Anstieg der Kerngröße“. Im Gegensatz dazu zeigten die Mitochondrien, die Golgi- Apparate, die Lysosomen und das Endoplasmatische Retikulum nach kurzer

Hyperthermiebehandlung keine Veränderungen; nur in wenigen Fällen kam es zu einem leichten Anstieg der Lysosomenzahl (Heine et al., 1971). Die wesentlichsten Veränderungen traten im Nucleolus auf. Dieser erschien nach der Behandlung homogen und wies einen Rückgang des intranukleolären Chromatins und ein Verschwinden des nukleären Retikulums auf (Heine et al., 1971). In manchen Fällen wurde eine Chromosomenveränderung im Kern nachgewiesen (Dewey et al., 1971).

Bei praktisch allen neoplastischen Zellen ist auch die Zellwand verändert. Durch Hyperthermie zwischen 38,0° und 44,0°C werden verschiedene Zellmembranbestandteile wie z.B. die Lauroyl-1,2-diglyceride (Lutton ES, 1967) oder auch Cholesterin beeinträchtigt. Membranassoziierte Makromoleküle und membrangebundene Enzymsysteme können ebenfalls verändert werden. Da die richtige Membranzusammensetzung für die Nährstoffaufnahme, Permeabilität, Atmung und Enzymaktivität sehr wichtig ist, sind kleine Veränderungen durch Temperaturunterschiede schnell von Bedeutung. Es konnte festgehalten werden, dass ein Temperaturanstieg die passive Diffusion von niedermolekularen Substanzen durch die Zellmembran erhöht (Strom et al., 1973). Ein Temperaturanstieg von 38°C auf 42°C schränkt außerdem den kaliumabhängigen, transzellulären Transport von Glutamat ein (Strom et al., 1970). Bei vielen Versuchsgruppen kam es nach Hyperthermiebehandlung durch einen Verlust der Membranstabilität zu höheren Wirkstoffkonzentrationen in der Zelle, die zu einem verbesserten Ansprechen auf eine Chemotherapie führten (Aigner et al., 1982; Nakano et al., 1999; Ratto et al., 1999).

Für die Hyperthermie konnte ferner ein sensibilisierender Effekt der Zellen auf ionisierende Strahlen und Zytostatika nachgewiesen werden. Dabei schwächt die Hyperthermie die Reparationsenzyme, so dass die zellulären Schäden, die Radio- und Chemotherapie verursachen, nicht repariert werden können. Darüber kommt es zur synergistisch potenzierenden Wirkung der genannten Tumortherapien mit der Hyperthermie (Muckle et al., 1971).

Einzelne seltene Tumorzelllinien besitzen eine große Thermoresistenz, wie das Rous-Sarkom, welches Temperaturen bis 50°C problemlos toleriert (Di Filippo et al., 1998).

1.1.3 Einfluss der Hyperthermie auf das Gewebe

Initial kommt es bei milder Hyperthermie in dem Tumorgewebe zu einer verbesserten Durchblutung. Eine Erhöhung der Gewebetemperatur von 37°C auf 39°C führt zu einer signifikanten Zunahme der mittleren Tumordurchblutung, die Mikrozirkulation wird gesteigert und es kommt zu einer Vasodilatation (Vaupel et al., 1998). Dadurch wird die Sauerstoffversorgung erhöht. Dieser Effekt kann bei einer kombinierten Radiotherapie ausgenutzt werden, da besser mit Sauerstoff versorgte Neoplasien verstärkt auf die Radiotherapie ansprechen. So zeigte Overgaard bei oberflächlichen Tumoren Ansprechraten der alleinigen Hyperthermie von 15 %, der alleinigen Radiotherapie von 35 % und der Kombination beider von 70 % (Overgaard J, 1989). Das konnte von van der Zee in klinischen Studien bestätigt werden (van der Zee et al., 2000). Durch die verbesserte Durchblutung, ausgelöst durch die Hyperthermie, kommt es bei kombinierter Chemotherapie zu höheren Wirkstoffkonzentrationen im Tumor und einer besseren Antitumorwirkung. Dies belegen mehrere Phase III Studien (Robins et al., 1997; Wessalowski et al., 1998). Die Kombination von Hyperthermie mit Radio- Chemotherapie wird zurzeit in klinischen Studien untersucht (Ohno et al., 1997). Rau et al. zeigten gute Ansprechraten dieser Therapie bei kolorektalen Karzinomen (Rau et al., 1998). Der Mechanismus der Wirkungsverstärkung in Kombination mit Chemo- und/ oder Radiotherapie wird durch die Thermal- Enhancement- Ratio beschrieben. Diese ergibt sich aus dem Verhältnis der Zytotoxizität einer vorgegebenen Chemo- oder Radiotherapie in Gegenwart oder Abwesenheit einer additiven Hyperthermie und ist zeit- und temperaturabhängig.

Bei Hyperthermie über 42°C und längerer Anwendung (50- 100 Minuten) kam es zu einer Reduktion der Durchblutung auf ein Niveau, das unter der der Durchblutung bei 37°C lag (Ardenne von M, 1981; Vaupel et al., 1998). Lin et al. zeigten am Beispiel von Mäusen mit Adenokarzinomen einen signifikanten Rückgang der Durchblutung um 71 % und ein deutliches Auftreten von Mikroembolien nach einstündiger Hyperthermiebehandlung mit 42,5°C (Lin et al., 1996). Dies ist auf die gesteigerte Empfindlichkeit der neu ausgebildeten dünnwandigen Kapillaren und Venolen in den Tumoren zurückzuführen. Es kommt zu Endothelschwellungen, Kapillarzerreißen, Erythrozytenaustritten und durch Abnahme der Flexibilität von Erythrozyten, Leukozyten und der verstärkten Adhäsion von Thrombozyten zu Mikrothromben und der Entstehung von Mikroembolien. Allein durch die Hyperthermie kann die

Tumordurchblutung auf ein Zehntel des Ausgangswerts zurückgehen. Diese Mangeldurchblutung führt zur Hypoxie und weiter über pH-Abfall zu einer Azidose, die zusätzlich eine weitere deutliche Reduktion der Durchblutung bis hin zum Stop der Mikrozirkulation bewirkt und daher zu selektiven Nekrosen des Tumorgewebes führt (Ardenne von M, 1981).

Die Temperatur muss im Gewebe gleichmäßig homogen verteilt sein (Falk et al., 2001). Daher spielt die Art der Temperaturzufuhr eine wichtige Rolle. Die hyperthermieinduzierten Veränderungen hängen von der Absoluttemperatur und der exponierten Zeitspanne ab. Letztere sollte zwischen 30 und 60 Minuten liegen (Vogel et al., 1998). Als optimaler Temperaturbereich wird der Bereich zwischen 40°C und 45°C angegeben (Vogel et al., 1998). Der Bereich mit den größten Unterschieden der Zellüberlebensraten zwischen gesunden und neoplastischen Zellverbänden wurde in mehreren Studien zwischen 41,0°C und 42,5°C gesehen. Di Filippo proklamierte als Temperaturoptimum 41,5°C (Di Filippo et al., 1998). Bei Temperaturen ab 45°C wurde auch das gesunde Gewebe irreversibel geschädigt.

Bei erniedrigten pH-Werten können temperaturabhängige Schäden leichter auftreten, was wahrscheinlich an den schlechter gepufferten DNA-assoziierten Proteinen liegt (Privalov PL, 1974).

Gesunden Zellverbänden ist es insgesamt deutlich häufiger möglich sich von den hyperthermieinduzierten Schäden zu erholen; Tumorzellen sind nach Wärmeapplikation überwiegend irreversibel geschädigt und können sich nur sehr selten erholen.

1.1.4 Applikationsformen der Hyperthermie

Grundsätzlich unterscheidet man drei Formen der Hyperthermieanwendung:

- die lokale Hyperthermie (LHT)
- die regionale Hyperthermie (RHT)
- die Ganzkörperhyperthermie (WBH)

Die Temperaturzufuhr kann klinisch je nach Applikationsgebiet nicht invasiv durch elektromagnetische Felder wie Kurz- oder Mikrowellen, durch Ultraschall, Infrarotstrahlung, Wasser und Wasserdampf oder invasiv durch Erwärmung eines extrakorporalen Blutkreislaufs oder durch Organperfusion mit erwärmter Lösung erfolgen.

1.1.4.1 Lokale Hyperthermie

Die lokale Hyperthermie wird am häufigsten mit Ultraschall- oder Mikrowellenapplikatoren erzeugt. Mit dieser Therapie kann eine palliative Behandlung superfizieller oder interstitieller meist rezidivierender Tumoren angestrebt werden (Feldmann et al., 1993).

Die Anwendung durch Ultraschall ermöglicht eine lokal relativ exakte Applikation und erwärmt Gewebe bis maximal acht Zentimeter Tiefe, hat aber den Nachteil, dass Ultraschall Knochen und luftgefüllte Hohlräume nicht durchdringen kann und bei Tumoren im Beckenbereich oder in den Lungen, nicht angewendet werden kann. Diese können wesentlich besser mit der Mikrowellentherapie erreicht werden. Eine typische Komplikation der lokalen oberflächlichen Hyperthermie sind Hautreaktionen analog eines Sonnenbrandes oder einer Verbrennung des subkutanen Gewebes, deren Inzidenz aber stark variiert (Vernon et al., 1996).

Eine andere Möglichkeit ist die interstitielle Radiofrequenztherapie. Dabei müssen Nadeln mit Hilfe der Computertomographie im Tumor platziert werden. Durch Radiofrequenzen wird dann der Tumor erhitzt. In ersten Studien konnten schon Ansprechraten von bis zu 74 % gezeigt werden (Mitka M, 2002). Es gibt auch technisch aufwendigere, experimentelle Einrichtungen, die diese Wellen nicht invasiv erzeugen können.

Bei der lokalen Hyperthermiebehandlung handelt es sich keineswegs um eine Standardtherapie. Alle Behandlungsansätze befinden sich noch im experimentellen Stadium mit beschränkter klinischer Erfahrung und sind mit erheblichem personellem, zeitlichem, organisatorischem und somit finanziellem Aufwand verbunden. Die Erfolgsraten der einzelnen Forschungsgruppen zeigen abhängig von der Tumorart und dem Tumorstadium unterschiedliche Erfolgsraten. Feldmann et al.

konnten mit kombinierter Radiotherapie bei 22 % der Patienten eine komplette Remission und bei 42 % eine partielle Remission erzielen. Die meisten seiner Patienten waren an Plattenepithelkarzinomen oder malignen Melanomen erkrankt (Feldmann et al., 1993). Ostapenko und Mitarbeiter erzielten durch lokale Hyperthermie in Kombination mit Radio- und Chemotherapie eine deutliche Reduktion der Tumorschmerzen ausgehend von Metastasen eines Mammakarzinoms (Ostapenko et al., 2001).

1.1.4.2 Regionale Hyperthermie

Die regionale Hyperthermie (RHT) bezeichnet die isolierte Erwärmung einer Körperregion wie einer Extremität oder eines Organs. Diese kann zum einen durch die Mikrowellentherapie, zum anderen durch die regionale hypertherme Perfusion, die in Kapitel 1.2 und 1.3 ausführlich dargestellt ist, erzeugt werden.

Die Applikation der Mikrowellen erfolgt mit einem umhüllenden Ringsystem (Annular Phased Arrey) von Mikrowellenantennen, die zylinderförmig um die Körperachsen angeordnet sind. Durch Interferenzen wird im Zentrum der Antennen das elektromagnetische Feld erzeugt. Durch die Frequenzeinstellung kann der Focusdurchmesser zwischen 15 cm bei 60 MHz und 8 cm mit 100 MHz variiert werden (Falk et al., 2001). Durch die zirkuläre Anordnung der fokussierbaren Antennen kann der Interferenzbereich mit der stärksten Strahlung sehr variabel an die gewünschte Position gebracht werden. Die Applikatoren tragen einen variablen Wasserbolus zur Wärmekopplung, Reflexverminderung und Kühlung der Oberfläche. Während der Wärmeapplikation ist ein kontinuierliches Wärmemonitoring invasiv im Tumor und oberflächlich unabdingbar (Feldmann et al., 1993). Nicht invasive Temperaturmesseinrichtungen zur Messung der Temperatur auch im tieferen Gewebe sind in Entwicklung (Carter et al., 1998). Patienten mit metallischen Implantaten oder elektronischen Hilfsmitteln sind von der Behandlung auszuschließen. In gut durchbluteten Organen wie Leber, Lunge, Niere oder Gehirn kann die notwendige Temperatur durch Mikrowellen nicht erreicht werden (Vogel et al., 1998).

Die Nebenwirkungen der regionalen Hyperthermie sind als gering einzustufen. Die Inzidenz von reversiblen Schmerzen in den behandelten Regionen variiert zwischen

0% und 60 %, das Auftreten von Sonnenbränden, Verbrennungen im gesunden Gewebe und Einblutungen in Tumoren hängt von der verwendeten Hyperthermietechnik und Temperaturmessung ab und variiert stark (Vernon et al., 1996; Falk et al., 2001).

Die regionale Hyperthermie ist wie die lokale Hyperthermie kein Standardtherapieverfahren. Mit der durch Mikrowellen applizierten regionalen Hyperthermie erreichten Feldmann et al. Tumorregressionsraten in kleinsten experimentellen Studien zwischen 37,5 % und 75 % bei der Behandlung von Rektumkarzinomen. Die Erfolgsraten und Nebenwirkungen der regionalen hyperthermen Organperfusion sind in Kapitel 1.2 und 1.3 beschrieben.

1.1.4.3 Ganzkörperhyperthermie

Die Ganzkörperhyperthermie (WBH) erfolgte in den Anfangsjahren im Wasserbad oder durch Einbettung des Patienten in heißes Wachs oder Wärmedecken, was wegen der starken Nebenwirkungen bald aufgegeben wurde.

Ein anderes Erwärmungsprinzip stellt die extrakorporale Erwärmung des Blutes dar, das im Sinne des Perfusionsmodells den Körper erwärmt (Köhne et al., 1998). Durch den extrakorporalen Kreislauf besteht jedoch die Gefahr eines starken Blutdruckabfalls (Hossfeld et al., 2000).

Heutzutage werden überwiegend Systeme verwendet, in denen die Patienten durch Wärmestrahlung erwärmt werden. Dabei liegt der Patient bis auf den Kopf in einer Kammer, deren Wände von heißem Wasserdampf in Kupferrohren durchströmt werden und so die Kammer erhitzen (Aquatherm System; Robins et al., 1997). Die Luft der Kammer ist mit Wasserdampf gesättigt, um eine Wärmeabgabe des Körpers durch Schwitzen möglichst niedrig zu halten. Dadurch wird der Körper von 37°C auf 41,8°C erwärmt (Rougier et al., 1998; Saltz et al., 2000; Schmoll et al., 2000). Ein zweites Prinzip der Wärmeabgabe ist die kontaktfreie, wassergefilterte Infrarotstrahlung. Die „Aufbauphase“ geschieht meist innerhalb von 90 bis 120 Minuten und wird dann über eine Stunde gehalten. Die Temperatur darf 42°C wegen der Gefahr von Nerven- und Leberschädigung nicht überschreiten. Danach wird der

Patient in der „wash- out- Phase“ mit einer wärmereflektierenden Folie abgedeckt, wobei die ganze Zeit die Körpertemperatur genau überwacht wird. Die Behandlung eignet sich für Patienten mit primären Lungentumoren oder Lungenmetastasen, sollte aber nur mit Patienten in gutem Allgemeinzustand durchgeführt werden, da die WBH zu einer Dilatation der Gefäße und somit zu einem Blutdruckabfall führt, der durch ausreichende Volumensubstitution kompensiert werden muss (Maeta M, 1989). Zudem stellt die WBH eine erhebliche kardiopulmonale Belastung dar mit längerfristigen Herzfrequenzanstiegen auf Werte um 140 Schläge pro Minute und Zunahme des Herz-Zeit-Volumens (Hossfeld et al., 2000). Herzrhythmusstörungen, Leber-, Nieren-, oder respiratorische Funktionsstörungen stellen Kontraindikationen dar. Nebenwirkungen wie Verbrennungen der Haut, Rhabdomyolysen oder schwere periphere Neuropathien konnten durch die modernen WBH Einrichtungen weitestgehend eliminiert werden (Rougier et al., 1998; Saltz et al., 2000; Schmoll et al., 2000). Der Patient ist während der gesamten Behandlung zu anästhesieren. Ein intensivmedizinisches Monitoring aller lebenswichtigen Parameter, eine exakte Temperaturmessung und eine ausreichende Volumensubstitution sind obligat.

1.2 Die isolierte Organperfusion zur Krebsbehandlung

Die erste isolierte Organperfusion führten 1950 Klopp et al. durch (Klopp et al., 1950). Es sollten möglichst hohe Medikamentenkonzentrationen und Therapieeffekte im Zielorgan unter Vermeidung toxischer Medikamentenkonzentrationen im Systemkreislauf erreicht werden, um Nebenwirkungen in den anderen Organsystemen zu vermeiden. Dabei können bei der isolierten Organperfusion 20 bis 40- fach höhere Medikamentenkonzentrationen im Perfusionskreislauf als im systemischen Kreislauf erreicht werden (Lin et al., 1996; Ratto et al., 1996). Diese Konzentrationen wären bei systemischer Anwendung letal. Daher eignet sich die isolierte Perfusion besonders für Therapieschemata die durch schwere systemische Nebenwirkungen gekennzeichnet sind.

Als positiver Nebeneffekt der extrakorporalen Zirkulation wird die mit der Vollheparinisierung verbundene antimetastatische Wirkung diskutiert, die die Anheftung der Tumorzellen an den Gefäßwänden erschweren soll (Miller et al., 1974).

Die isolierte Perfusion ist nur durch eine vollständige Trennung des Zielorgankreislaufes vom zentralen Kreislauf möglich. Aus diesem Grund scheinen Organe mit klar aufgebautem und abgrenzbarem Organkreislauf prädestiniert für diese Therapie.

1.2.1 Die isolierte Extremitätenperfusion

Die isolierte Extremitätenperfusion, die 1957 von Creech und Krementz (Creech et al., 1958) in die Klinik eingeführt wurde, ist modifiziert mittlerweile die Therapieform der Wahl bei klinisch manifesten in- transit Metastasen maligner Melanome und bei der Behandlung einiger maligner Weichteiltumoren. Dabei unterscheidet man die prophylaktische Anwendung, die klinisch noch nicht manifeste Metastasen abtöten soll, von der therapeutischen Form, die mit kurativem oder adjuvantem Behandlungsansatz in der Klinik etabliert ist.

Zur Perfusion des Beines werden die Arteria und Vena iliaca externa und bei der oberen Extremität die Axillargefäße kanüliert, potentielle Kollateralgefäße temporär ausgeklemmt, und durch Kompression von Haut, Muskel und Weichteilgewebe durch Anlage eines Gummitourniquets unmittelbar oberhalb des Kanülierungsniveaus eine Isolierung der Extremität vom zentralen Kreislauf erreicht. Darüber hinaus empfiehlt sich bei Kanülierung gleichzeitig eine Lymphknotendissektion.

Cavaliere et al. führten 1967 eine Perfusion mit Hyperthermie von 43,5°C mit guten Therapieeffekten durch (Cavaliere et al., 1967); heutzutage wird jedoch die Kombination von Hyperthermie plus Zytostatikum, meist Melphalan, bevorzugt, womit respektable Therapieergebnisse erzielt werden. So liegen die 5 Jahres-Überlebensraten zwischen 29 % und 52 % (Goss et al., 1977; Krementz et al.1992), wobei im internationalen Schrifttum abhängig von der Tumorart Zahlen bis 81% genannt werden (Kroon BBR, 1988). Di Filippo et al. demonstrierten bei hyperthermer, isolierter Perfusion ein Temperaturoptimum für Tumor und gesundes Gewebe von 41.5°C und wiesen Remissionsraten in Kombination mit Melphalan von bis zu 76 % nach (Di Filippo et al., 1998). Nakano et al. beschrieben bei hyperthermer Perfusion mit 41,5°C bei Osteosarkomen Ansprechraten von 84,9 % (Nakano et al., 1999).

1.2.2 Die isolierte Leberperfusion

Seit Aust 1960 und Ausman erstmals die isolierte Leberperfusion durchführten, wurde diese Methode von nur relativ wenigen Arbeitsgruppen weiter etabliert und an nur wenigen Zentren praktiziert, obwohl Arbeitsgruppen um Oldhafer gute Ansprechraten der Neoplasien publizierten (Aust et al., 1960; Ausman RK, 1961; Oldhafer et al., 1998). Auch Aigner et al. erreichten Remissionsraten von 67 % bei Lebermetastasen von kolorektalen Tumoren durch die isolierte Leberperfusion mit Mitomycin C und 5-Fluorouracil (Aigner et al., 1982). Die Leberperfusion eignet sich für Metastasenbehandlung von Kolorektalkarzinomen, malignen Melanomen, Mammakarzinomen und primären Leberkarzinomen (Aigner et al., 1982).

Nach Aigner et al. werden zur Isolierung der Leber der Ductus choledochus, die Vena portae, die Arteria hepatica präpariert und die Vena cava inferior, unter Durchtrennung der Lumbalvenen und Ligatur der Vena suprarenalis dextra, von der Leber mobilisiert. Nach vollständiger Isolierung der Leber vom Systemkreislauf kann die Leber sowohl über die Arteria hepatica propria als auch über die Vena porta perfundiert werden. Nach der Perfusion ist die Cholezystektomie obligat (Aigner et al., 1982).

Die meisten Arbeitsgruppen perfundierten hypertherm. Als Perfusatzusätze wurden Chemotherapeutika wie Melphalan, Cisplatin, Doxorubicin, 2'-deoxy-5-fluorouridine (FUDR), TNF- α (tumor necrosis factor alpha) und Mitomycin C verwendet (Aigner et al., 1982). Eine Hyperthermie von 41°C kann ohne wesentliche Organschädigung mit deutlicher Tumorregression und synergistischer Wirkungsverstärkung der Chemotherapie angewendet werden (Aigner et al., 1982). Diese Beobachtungen bestätigte auch Lindner, der in einer Phase I Studie mit TNF- α und einer Hyperthermie mit 39°C gute Resultate bei Melanomen und Leiomyosarkomen erzielte (Lindner et al., 1999). Die geringe Verbreitung dieses Verfahrens liegt an dem komplizierten Operationsverfahren und dem damit verbundenen hohen personellen, technischen und finanziellen Aufwand.

1.2.3 Die isolierte Perfusion von Pleura- und Peritonealhöhle

Sehr erfolgversprechend ist die Perfusion physiologischer Hohlräume wie die Pleurahöhle bei Pleuramesotheliom, die Ratto et al. durchführten (Ratto et al., 1999). Dabei handelt es sich um eine lokale Durchspülung zwischen den beiden Pleurablättern, die mit unterschiedlichen Temperaturen, Zytostatika und optionaler Dekortikation bei geringem Arbeits- und Kostenaufwand günstige Ergebnisse brachte.

Die isolierte Durchspülung des Abdomens bei disseminierten Peritoneelmetastasen von Magen- oder Kolorektalkarzinomen mit hyperthermem Perfusat von 43°C und Zytostatikagabe kann die 5-Jahresüberlebensrate von 0 % auf Werte von bis zu 11 % anheben (Yonemura et al., 1996). Hirose et al. berichteten in ihrer hyperthermen Zytostatikaperfusionsstudie von einer 5-Jahresüberlebensrate von 39 Prozent (Hirose et al., 1999).

1.3 Die isolierte hypertherme Lungenperfusion

1.3.1 Historische Entwicklung

Die erste Lungenperfusion führten Creech und Kremenz 1959 durch. Sie perfundierten beide Lungen gleichzeitig mit jeweils einem getrennten Lungen- und Körperkreislauf (Creech et al., 1959). Bei einem dieser Patienten verzeichneten sie ein sehr gutes klinisches Ansprechen des Tumors, zwei andere Patienten verstarben postoperativ (Kremenz ET, 1986). 1960 demonstrierten Piermont und Blades und 1961 Jacobs Methoden zur isolierten in- vivo Perfusion einer einzelnen Lunge. Durch eine Kontrolle mit Radioisotopen konnte bewiesen werden, dass die Trennung der Kreisläufe vollständig war und kein Shuntfluß aus oder in den Körperkreislauf bestand (Pierpont et al., 1960; Jakobs et al., 1961). Johnston verbesserte die Perfusionstechnik 1983 und machte sie somit zu einer relativ sicheren und reproduzierbare Technik mit nur geringen histologischen Lungenveränderungen (Johnston et al., 1983). Er führte eine isolierte Lungenperfusion mit Doxorubicin ohne Ausschaltung der bronchialarteriellen Blutzufuhr im Hundemodell durch, und zeigte, dass keine systemischen Nebenwirkungen auftraten. In einem weiteren Schritt entwickelte Johnston auch eine Technik um beide Lungenflügel gleichzeitig zu

perfundieren (Johnston et al., 1985). Dies ist insofern sinnvoll, da häufig beide Lungen von Tumoren und Metastasen betroffen sind.

Dieselbe Gruppe perfundierte in der Zeit zwischen 1982 und 1991 in einer Pilotstudie acht weitere Patienten entweder mit Adriamycin (Doxorubicin) oder Cisplatin. Vier davon waren an einem nicht resektablem, metastasierenden Sarkom und vier an einem diffusen, bronchoalveolären Karzinom erkrankt. Die Ergebnisse der Behandlungen waren insofern ermutigend, als die Operation komplikationslos vertragen wurde, reproduzierbar war und keinerlei Mortalität aufwies. Allerdings konnte sich die Therapie nicht positiv auf die Überlebensraten der Patienten auswirken (Johnston et al., 1995).

Ratto et al. veröffentlichten 1996 Ergebnisse einer multimodalen Therapie, die aus der Metastasektomie und zusätzlicher isolierter Perfusionstherapie mit Platin bestand (Ratto et al., 1996). Teilweise kam es zu Beeinträchtigungen der Ventilations- und Gasaustauschparameter, die sich postoperativ aber zunehmend verbesserten und somit reversibel erschienen. Keine intraoperativen Todesfälle, kontrollierbare Lungenödeme als einzige Komplikation und gute Überlebensraten ermutigten zu dieser Therapie.

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Die isolierte hypertherme Lungenperfusion stellt ein Therapieverfahren dar, das die Ergebnisse der Therapie von Lungentumoren verbessern könnte. Obwohl es zahlreiche Arbeiten zur Wirkung dieser Therapie im Rattenmodell gibt, fehlen bisher systematische Untersuchungen an einem Großtiermodell, welche auf den Menschen übertragen werden könnten.

Es gibt bisher nur sehr wenige Erkenntnisse über die Verträglichkeit des Lungenparenchyms auf die Hyperthermie, die als zytostatischer Kofaktor im Rahmen einer isolierten Lungenperfusion eingesetzt werden sollte.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Verträglichkeit des normalen Lungengewebes gegenüber der isolierten hyperthermen Perfusion in unterschiedlichen Temperaturbereichen systematisch an einem Schweinmodell zu untersuchen. Die

Verträglichkeit sollte dabei anhand der hämodynamischen und ventilatorischen Parameter, sowie des Gasaustauschs analysiert und mit den Daten der unbehandelten Tiere verglichen werden.

Die Untersuchungen dienen der Vorbereitung des gefahrlosen Einsatzes der isolierten hyperthermen Lungenperfusion beim Menschen.

2 Material und Methodik

2.1 Tierexperimentelles Modell

Zur Beantwortung der Fragestellung wurde eine unilaterale linkseitige Lungenperfusion durchgeführt. Anschließend wurde die kontralaterale rechtsseitige Lunge ausgeklemmt. Durch diese Ausklemmung war das Versuchstier ausschließlich auf die zuvor perfundierte linke Lunge angewiesen und sämtliche erhobene Messwerte wurden ausschließlich durch das perfundierte Organ beeinflusst. Die sechsstündige Nachbeobachtungsphase ermöglichte Aussagen über die potentielle akute Lungenschädigung, die durch die Perfusion verursacht und die Reperfusion vermittelt wurde.

2.1.1 Versuchstiere

Die Versuche wurden an Schweinen [Deutsche Landrasse, Charles River, Sulzfeld, Deutschland] mit einem Körpergewicht von 23 kg bis 39 kg durchgeführt. Die Tiere stammten aus einer landwirtschaftlichen, kontrollierten Zuchtlinie, die nach den international anerkannten Empfehlungen der FELASA für Versuchstiere in der biomedizinischen Forschung (FELASA, 1998) aufgezogen wurde und vom Thüringer Landesverwaltungsamt Weimar zugelassen war.

2.1.2 Versuchsgruppen

Insgesamt wurden 20 Tiere untersucht. Die vier Untersuchungsgruppen bestanden aus je fünf Versuchstieren (siehe Tabelle 1). Bei der ersten Gruppe handelte es sich

um eine Sham-Gruppe, bei der zur Kontrolle der Ergebnisse zwar eine identische Präparation erfolgte, deren Lunge jedoch keiner Perfusion unterzogen wurde.

Tabelle 1 Versuchsgruppen

Gruppe	Bezeichnung	Temperatur [°C]
Sham- Gruppe	SG	-
Kontrollgruppe	VG 38	38,0
Milde Hyperthermie	VG 40	40,0
Starke Hyperthermie	VG 41,5	41,5

2.2 Versuchsdurchführung

2.2.1 Monitoring

Vor Operationsbeginn wurden die Tiere in Rückenlage fixiert und über 3 EKG-Elektroden auf dem Thorax die Herzfrequenz sowie der elektrokardiographische Kurvenverlauf mit einem EKG-Monitor [Viridia 24CT, Hewlett Packard, Böblingen, Deutschland] überwacht.

Zur kontinuierlichen Messung des arteriellen Drucks und zur Gewinnung der arteriellen Blutproben für die Blutgasanalyse wurde ein Zugang über die Arteria carotis communis per Seldinger Technik gelegt. Über eine Schleuse in der Vena jugularis interna wurde ein 3-lumiger Pulmonalkatheter [FA Baxter, Swan- Ganz CCO/UIP Size 8 F, Unterschleissheim, Deutschland] bis in den Truncus pulmonalis eingeschwenkt. Hiermit war die Messung des zentralvenösen Druckes (ZVD), des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) sowie des Herzzeitvolumens (HZV) mittels Thermodilutionstechnik möglich. Mit der Bluttemperatur und der Injektionstemperatur errechnete der Vigilance Monitor [Vigilance VG2, FA BAXTER, Unterschleissheim, Deutschland) kontinuierlich über den Versuchsverlauf das HZV. Zentralvenöse Blutproben wurden ebenfalls hierüber entnommen.

Da wegen der Größenverhältnisse keine Wedge- Messung mit dem Pulmonalkatheter möglich war, wurde zur Messung der Druckverhältnisse im linken Vorhof und zur Gewinnung von arteriellen Blutproben unter Eröffnung des Perikards und Vorlegen einer Tabaksbeutelnaht ein linksatrialer Druckmesskatheter (LA-Katheter)

[AD = 3.6F, FA Jostra Medizintechnik, Hirrlingen, Deutschland] in den linken Vorhof eingebracht. Der gemessene Blutdruck im linken Vorhof wurde gleich dem PCW-Druck angenommen.

Die Registrierung der genannten Drücke erfolgte über ein Druckabnehmersystem [leader cath 20g, FA Vygon, Ecoen, Frankreich] und wurde auf einem Monitorsystem [Viridia 24CT, FA Hewlett Packard, Boeblingen, Deutschland] dargestellt.

Die Blutgasanalyse wurde mit einem Blutgasmessgerät ABL 700 Series [FA Radiometer Copenhagen, Willig, Deutschland] durchgeführt. Dazu wurden spezielle Spritzen [Pico 50, Radiometer Copenhagen, 2 ml, heparinisiert mit 80 IE Heparin] verwendet. Das Blut für die arterielle Blutgasbestimmung wurde direkt aus der Arteria carotis communis entnommen, das für die venöse Messung aus der Arteria pulmonalis über den Swan- Ganz Katheter [Baxter Swan- Ganz CCO/UIP Size 8 F, Unterschleissheim, Deutschland].

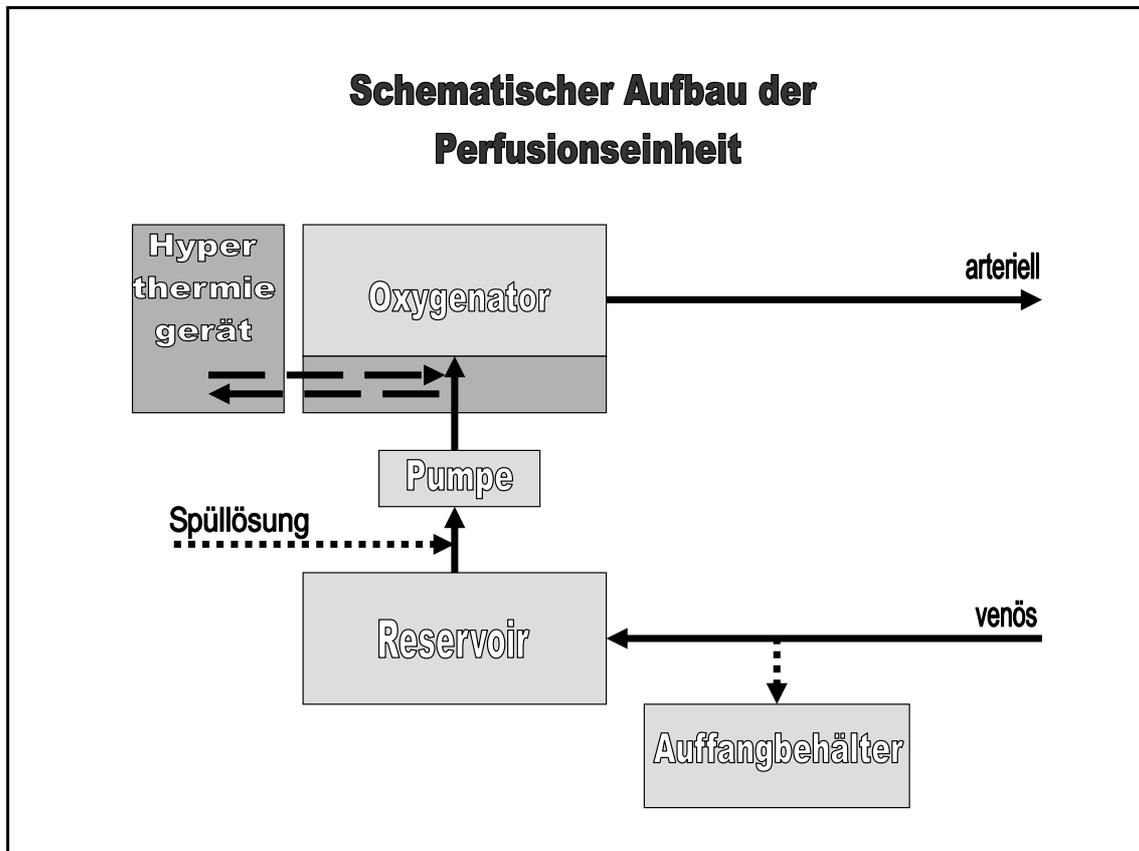
2.2.2 Perfusionstechnik und Perfusat

2.2.2.1 Komponenten und Aufbau der Perfusionstechnik

Zur isolierten Lungenperfusion wurde folgende Perfusionseinheit verwendet:

- CAPS Herzlungenmaschine [FA Stöckert Instrumente GmbH, München, Deutschland]
bestehend aus einer Rollerpumpe inklusive Steuer- und Überwachungseinheit
- CAPS Hyperthermiegerät [FA Stöckert Instrumente GmbH, München, Deutschland]
modifiziert für eine Vorwärmtemperatur von bis zu 44°C
- Membranoxygenator Sarns turbo [Terumo CVSE GmbH, Borken, Deutschland]
inklusive Reservoir und integriertem Wärmetauscher
- Schlauchset 1/4" [Jostra AG, Hechingen, Deutschland]
- Kanülen 16CH/ 18 CH [Jostra AG, Hechingen, Deutschland]

- Myocardtemperatursonden [Mon-a-therm Myocardial Thermistor YSI 400 Series, FA Mallinckrodt Medical, Athlone, USA]



[Abb.1] Aufbau der Perfusionseinheit

Das Reservoir war für diesen Versuchsaufbau unabdingbar, da Volumenschwankungen während der Perfusion durch pulmonalsystemische Shuntverluste oder systemisch- pulmonalen Shuntzuwachs aufgrund der natürlichen bronchialarteriellen Versorgung der Lunge möglich waren und ausgeglichen werden mussten.

Mit Hilfe der Temperatursonden, von denen die eine im Oberlappen und die andere im Unterlappen platziert wurden, konnten kontinuierlich die Temperaturen erfasst werden. Eine weitere Sonde ermittelte kontinuierlich die Perfusatemperatur im Schlauchsystem.

2.2.2.2 Zusammensetzung des Perfusats

Das Perfusat wurde vor Perfusionsbeginn im Reservoir zusammengesetzt. Es bestand aus 2000 ml Hydroxyäthylstärke 6 % (HAES) und Heparin. Der pH- Wert

sollte einem physiologischen pH- Wert von 7,4 entsprechen und wurden nach Bedarf mit Natriumbicarbonat gepuffert. Das Perfusat wurde nach Oxygenierung in einem Membranoxygenator in die beatmete Lunge geleitet und mit dem in der linken Lunge verbliebenen Blutvolumen vermischt. Der pO_2 im Perfusat lag anfangs mit $560,5 \pm 16,3$ mmHg und am Ende mit $571,5 \pm 28,9$ mmHg sehr hoch, um eine reflektorische Vasokonstriktion zu vermeiden. Zum Ausspülen des Perfusats dienten 1000 ml HAES.

2.2.3 Anästhesie und Narkose

Zur Narkoseeinleitung und Immobilisierung wurde den Schweinen 20 mg/kg Ketamin [Ketamin 10 %, Atarost, Deutschland] zusammen mit 150 IE Hylase [Hylase-Dessau, PharmDessau, Deutschland] intramuskulär verabreicht.

Nach intramuskulärer Prämedikation mit 0,04 mg/kg Atropin, [Atropin-Sulfat, Braun 0,5 mg, B. Braun, Melsungen, Deutschland] erfolgte über einen peripheren venösen Zugang die Applikation von 2- 4 mg/kg Propofol [Disoprivan 2 % Emulsion, AstraZeneca, Deutschland]. Anschließend wurden die Versuchstiere orotracheal intubiert (Tubusgröße 7,5- 8) und über das Beatmungsgerät [Evita 2 dura, FA Dräger, Lübeck, Deutschland] mit den Basiseinstellungen aus Tabelle 2 beatmet.

Tabelle 2 Basiseinstellungen Beatmung

Atemfrequenz	14- 18 pro min
Inspirationsdauer : Expirationsdauer	1 : 1,3
FiO ₂	50 %
Spitzendruck	16- 22 mbar
PEEP	5 mbar

Entsprechend der Blutgasanalysen wurden die Ventilationsparameter fortlaufend individuell angepasst.

Am Ende der Prämedikation wurden die Tiere mit 15000 IE Heparin [Liquemin N25000, Roche, Deutschland] heparinisiert. Die Fortführung der Injektionsnarkose

erfolgte mittels eines Perfusors [Braun Perfusor fm, FA B. Braun, Melsungen, Deutschland] mit den in Tabelle 3 angegebenen Applikationsdosen.

Tabelle 3 Injektionsnarkotika

Wirkstoff	Hersteller	Applikationsdosis
Fentanyl	Fentany- Janssen, Deutschland	0,2- 0,4 mg pro kg x min
Midazolam	Ratiopharm, Deutschland	16– 20 mg pro kg x min
Pancuronium- Bromid	Curamed, Deutschland	6– 10 mg pro kg x min

2.2.4 Operationsablauf

Zur lateralen Thorakotomie wurden die Tiere in Rechtsseitenlage gebracht, wobei das linke Bein zur besseren Inzision nach kranial gezogen wurde. Nach Hautschnitt und Durchtrennung des Musculus latissimus dorsi und Musculus serratus anterior erfolgte die Thorakotomie im 4. Intercostalraum. Für die optimale Exposition wurde ein Thoraxsperrer eingesetzt.

Das Ligamentum pulmonale wurde zur Mobilisierung des linken Lungenlappens disseziert. Zur Präparation der Vena hemiazygos, die beim Schwein direkt in den rechten Vorhof mündet, musste die Lunge nach distal gedrängt werden. Das Gefäß konnte doppelt ligiert, durchtrennt und von der Arteria pulmonalis abpräpariert werden. Diese wurde ebenfalls angeschlungen. Kaudal davon, in Höhe des Nervus phrenicus, wurde das Perikard entfernt um die obere Vena pulmonalis sinistra besser darstellen und anschlingen zu können. Anschließend wurde die Lunge nach oben gedrängt, um auch noch die untere Vena pulmonalis sinistra freipräparieren zu können. In nächsten Schritten wurden die beiden Hauptbronchien isoliert, wobei die parabronchialen Lymphknoten reseziert wurden. Nach vollständiger Darstellung der linken Lungenhilusstrukturen wurden die rechte Arteria pulmonalis und die kleine rechte Oberlappenarterie freipräpariert.

Darauffolgend wurden an der Arteria pulmonalis sinistra und an den Venae pulmonalis sinistra Tabaksbeutelnähte [Mersilene® 5/0] vorgelegt. Nach Klemmung der Arteria pulmonalis erfolgte sequenziell die venöse Kanülierung mit zwei

gewinkelten 18- CH- Kanülen der Firma Jostra [Jostra AG, Hechingen, Deutschland] sowie die Kanülierung der Arterie ebenfalls mit einer arteriellen 16- CH Kanüle [Jostra AG, Hechingen, Deutschland]. Sämtliche Kanülen wurden mit dem vorbereiteten Schlauchset, welches mit dem vorgewärmten Perfusat vorbereitet worden war, konnektiert.

2.2.5 Isolierte hypertherme Lungenperfusion

Nach Start der Perfusion mit der vorbereiteten Perfusionstechnik (siehe Kapitel 2.2.2) wurde die Perfusionsrate sehr sorgfältig gesteigert, um in jedem Fall einen Perfusionsdruck von 30 mmHg zu unterschreiten. Besonderes Augenmerk kam der venösen Drainage zu, um eine Stauung zu vermeiden.

Während der 40 minütigen Perfusionsphase wurden die in Kap 2.3 genauer ausgeführten Messparameter erfasst.

Am Ende der Perfusion wurde die Lunge über fünf Minuten mit dem Basisperfusat gespült, um die normale Temperatur wiederherzustellen. Anschließend wurde dekanüliert, die Dekanülierungsstellen gegebenenfalls übernäht und die Durchblutung wieder freigegeben.

2.2.6 Nachbeobachtung

Nach einer 5- 10 minütigen Reperfusionphase der linken Lunge wurde mit einer moderaten Katecholamintherapie (Adrenalin) zur Kompensation der Rechtsherzbelastung begonnen. Die rechten Pulmonalgefäße und der rechte Hauptbronchus wurden anschließend abgeklemmt. In der sechsständigen Nachbeobachtungsphase wurden regelmäßig alle Messparameter erhoben. Nach Kontrolle einer vollständigen Klemmung wurde der Thoraxsperrer entfernt und die Lunge abgedeckt.

Am Ende des Experiments wurde das Versuchstier in Narkose mit intravenös appliziertem Magnesiumsulfat getötet, nachdem zuvor Biopsiematerial aus dem Ober- und Unterlappen für die Bestimmung der Wet/Dry- Ratio entnommen wurde.

2.3 Messparameter

2.3.1 Messprotokoll

Die ersten Messwerte wurden in der Präperfusionsphase vor Kanülierung erhoben. Der Perfusionsbeginn wurde als Zeitpunkt null definiert. Die darauffolgenden Messzeitpunkte wurden zu den entsprechenden Zeitpunkten (siehe Tabelle 4) erhoben. Der Zeitpunkt 75 stellt den ersten Messwert direkt nach Klemmung der Gegenseite dar.

Tabelle 4 Zeittafel Messungen

Abschnitt	Zeit [min]	Messwerte
Präperfusion	Vor Kanülierung	Hämodynamik, Ventilationsparameter
Perfusion	0	Hämodynamik, Ventilationsparameter, Perfusionsparameter
	10	Hämodynamik, Ventilationsparameter, Perfusionsparameter
	20	Perfusionsparameter
	30	Hämodynamik, Ventilationsparameter, Perfusionsparameter
	40	Hämodynamik, Ventilationsparameter Perfusionsparameter
Perfusionsende	45	
Reperfusion und Klemmung der Gegenseite		
Nachbeobachtung	75	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	90	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	120	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	180	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	240	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	300	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	360	Hämodynamik, Ventilationsparameter
	420	Hämodynamik, Ventilationsparameter

2.3.2 Hämodynamische und ventilatorische Parameter

An hämodynamischen Parameter wurden erfasst:

- Herzfrequenz (HF)
- systolischer Blutdruck (sRR)
- mittlerer Blutdruck (MAP)
- zentralvenöser Blutdruck (ZVD)
- pulmonal arterieller Blutdruck (sPAP)
- pulmonal arterieller Mitteldruck (mPAP)
- linksatrialer Druck (LA)
- Herzzeitvolumen (HZV)

Der PVR errechnete sich aus diesen Parametern nach folgender Formel:

$$PVR = (mPAP - LAP) * 80 / HZV \text{ (dynes} * \text{sec} * \text{cm}^{-5}\text{)}$$

Um eine Vergleichbarkeit der Daten zwischen den unterschiedlich großen Tieren zu ermöglichen wurden das HZV und der PVR indiziert. Dementsprechend wurden der HI nach der Formel

$$HI = HZV / KO \text{ (l/ min/ m}^2\text{)}$$

und der PVWI nach der Formel

$$PVWI = PVR * KO \text{ ((dynes} * \text{s} * \text{cm}^{-5}\text{) } * \text{m}^{-2}\text{)}$$

berechnet.

An ventilatorischen Basismesswerten wurden erfasst:

- Atemminutenvolumen (AMV)
- Atemfrequenz (AF)
- Atemzugvolumen (TV)
- Spitzendruck (PIP)

- Plateaubeatmungsdruck (PP)
- Positive end expiratory pressure (PEEP)
- FIO₂

Die Beatmungsparameter wurden während der Druckbeatmung am Beatmungsgerät [Evita 2 dura, Fa. Dräger, Lübeck, Deutschland] eingestellt und regelmäßig protokolliert. Je nach Anforderung wurden der Spitzendruck und die Atemfrequenz zur optimalen Oxygenierung und CO₂-Abatmung variiert.

Die dynamische Compliance errechnete sich nach folgender Formel:

$$C_{\text{dyn}} = \Delta TV / \Delta p$$

Die absolute Oxygenierungskapazität errechnete sich als Quotient aus nachfolgender Formel:

$$AOC = pO_2 / FiO_2$$

Die relative Oxygenierungskapazität wurde aus folgender Formel berechnet:

$$ROC = (pO_2 - pvO_2 / pvO_2 \times 100)$$

Die alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz wurde folgendermaßen bestimmt:

$$AaDO_2 = [PiO_2 - PaCO_2 / 0.8 - PaO_2; pO_2 = (760 - 47) \times FiO_2]$$

Zusätzlich wurden in der Perfusionsphase folgende Perfusionsparameter erhoben.

- Systemtemperatur
- Temperatur Oberlappen
- Temperatur Unterlappen
- Temperatur Perfusat
- Perfusionsdruck vor arterieller Kanüle
- Perfusionsdruck in Pulmonalarterie
- Flussrate

- Perfusatverlust
- Shuntverlust oder Zuwachs des Perfusats im Reservoir
- pH- Wert Perfusat
- Hämoglobingehalt Perfusat
- Lactatkonzentration Perfusat
- pO_2 im Perfusat

2.3.3 Blutgasanalyse und Gasaustauschparameter

Das Blutgasmessgerät ermittelte folgende Werte jeweils arteriell und venös:

- pH-Wert
- Kohlendioxid Partialdruck (pCO_2) [mmHG]
- Sauerstoff Partialdruck (pO_2) [mmHG]
- Hämoglobingehalt (ctHb) [mmol/l]
- Sauerstoffsättigung (sO_2) [%]
- Hämatokrit (Hctc) [%]
- Kaliumkonzentration (cKalium) [mmol/l]
- Lactatkonzentration (cLactat) [mmol/l]
- Basenüberschuss (cbBase) [mmol/l]
- Standardbikarbonatkonzentration ($cHCO_3^-$) [mmol/l]

2.3.4 Wet/ Dry Ratio

Bei Versuchende wurde ein größeres Stück der Lungenlappen der linken Lunge entnommen und auf einer Präzisionswaage [Sartorius BP 1215, Sartorius AG Göttingen, Deutschland] das Feuchtgewicht bestimmt. Nach 24 Stunden Trocknung bei 60°C in einem Wärmeschrank [WTB Binder, Tuttlingen, Deutschland] wurde das Trockengewicht bestimmt. Daraus errechnete sich der Feucht-Trockengewichtsquotient (W/D-Ratio).

2.4 Datenerfassung und Statistische Auswertung

Die elektronische Datenerfassung und die statistische Auswertung erfolgten mit Hilfe des Programms SPSS® für Windows [Version 10.0, Software Incorporation, Toronto, Kanada]. Die Darstellung der Parameter erfolgte als $M \pm SD$.

Bei quantitativen Variablen, die keine Veränderung über die Zeit aufwiesen, wurde eine univariate Varianzanalyse (einfaktorielle ANOVA) durchgeführt. Die Varianzhomogenität wurde mittels Levene- Test geprüft. Die post- hoc- Analyse erfolgte mittels Tamhane Test.

Bei Variablen, die im Verlauf des Versuchs mehrfach gemessen wurden, erfolgte die Varianzanalyse mit Messwertwiederholungen. Der post- hoc Tests nach Tamhane wurde durchgeführt, um festzustellen, zwischen welchen Gruppen signifikante Unterschiede bestanden. Die Prüfung auf Varianzhomogenität wurde mittels des Levene-Tests durchgeführt.

In der statistischen Auswertung wurde ein $p < 0,05$ als signifikant und ein $p < 0,01$ als hoch signifikant angenommen (Bühl A, 1996)

Die Darstellung des Signifikanzniveaus in den Graphiken in Kapitel 3 entspricht dem p-Wert aus der ANOVA mit Messwertwiederholungen.

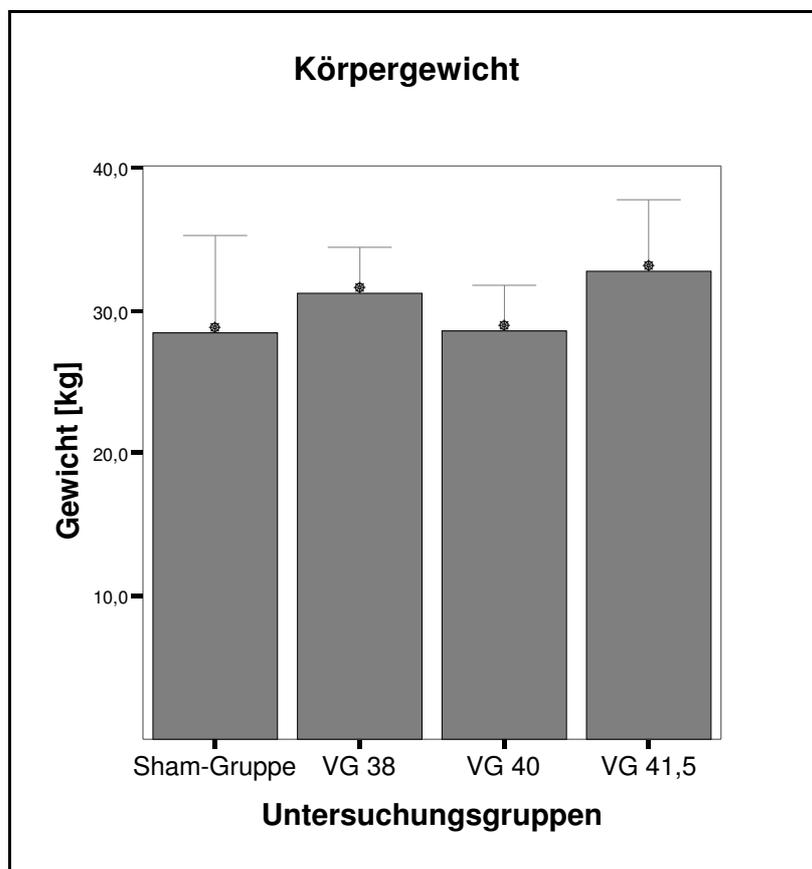
Für die Messparameter Temperaturverlauf Ober- und Unterlappen wurde mittels der "Bivariaten Korrelation" der Korrelationskoeffizient nach Pearson errechnet. Mit dieser Korrelation wurde die Beziehung zwischen den Temperaturverläufen verglichen; der Korrelationskoeffizient nach Pearson ist dabei ein Maß für den linearen Zusammenhang.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich der Untersuchungsgruppen

3.1.1 Körpergewicht

Das Körpergewicht der Versuchstiere der unterschiedlichen Versuchsgruppen war sehr ähnlich. Die Tiere der Sham- Gruppe (SG) waren mit $28,5 \pm 6,7$ kg am leichtesten, die der Versuchsgruppe 41,5 (VG 41,5) am schwersten, mit einem Durchschnittsgewicht von $32,8 \text{ kg} \pm 5,1$ kg (siehe Abb. 2).

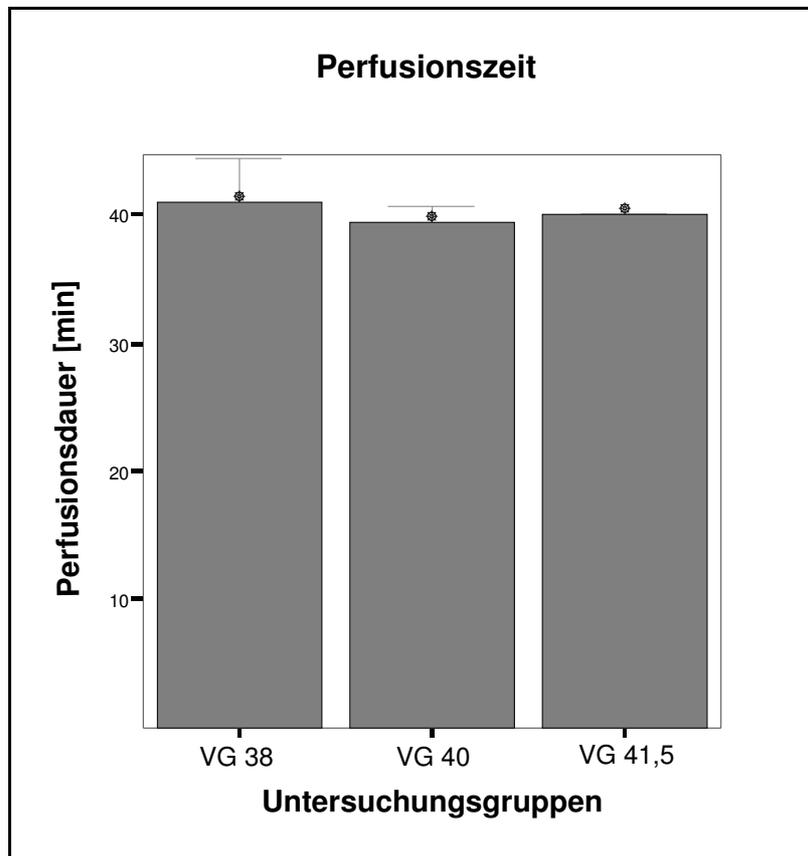


[Abb. 2] Mittleres Körpergewicht in den Versuchsgruppen ($p=0,494$)

Statistisch ließen sich mit der ANOVA wie erwartet keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gewichten der einzelnen Versuchstiergruppen sichern.

3.1.2 Perfusionsdauer

Die mittlere Perfusionsdauer differierte zwischen den Perfusionsgruppen nur unwesentlich. In der VG 38 betrug sie $41,0 \pm 3,5$ min, in der VG 40 $39,4 \pm 1,3$ min und in der VG 41,5 $40,0 \pm 0$ Minuten (Abb. 3).

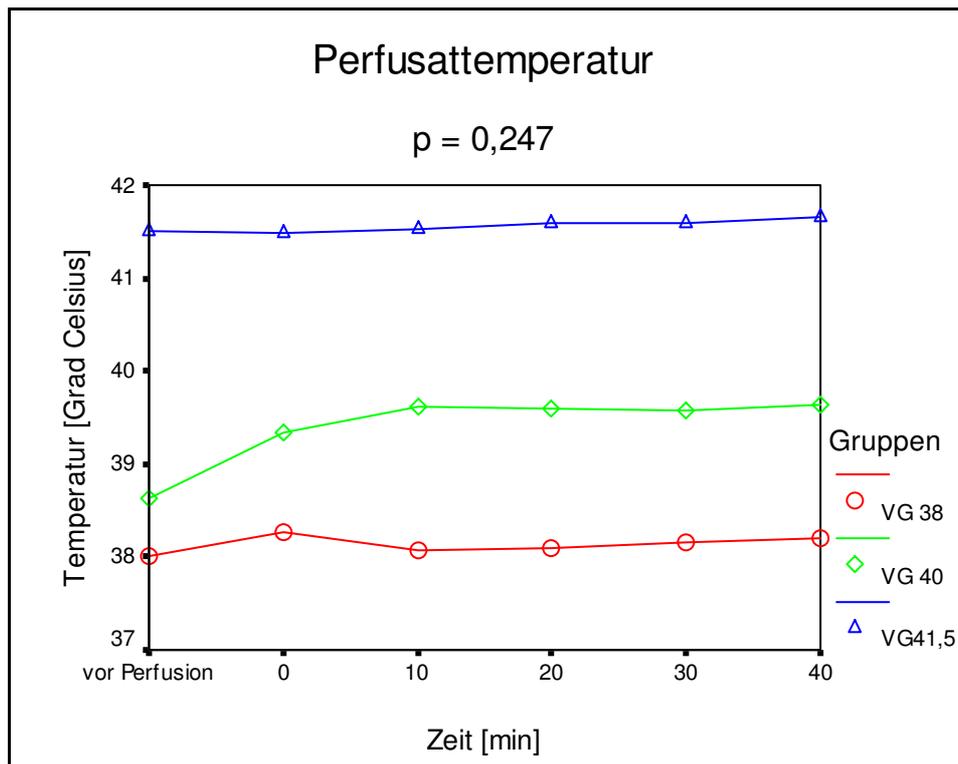


[Abb. 3] Perfusionsdauer ($p = 0,541$)

Die post- hoc Analyse ergab mit p- Werten zwischen 0,942 und 0,992 erwartungsgemäß keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.1.3 Perfusatemperatur

In der Perfusionsphase wurde die isolierte Lunge mit dem entsprechend vorgewärmten Perfusat durchspült. Die Perfusatemperatur wurde dabei sehr konstant gehalten (Abb. 4).



[Abb. 4] Perfusattemperatur während der Perfusion

VG 38 vs. VG 40: $p=0,311$

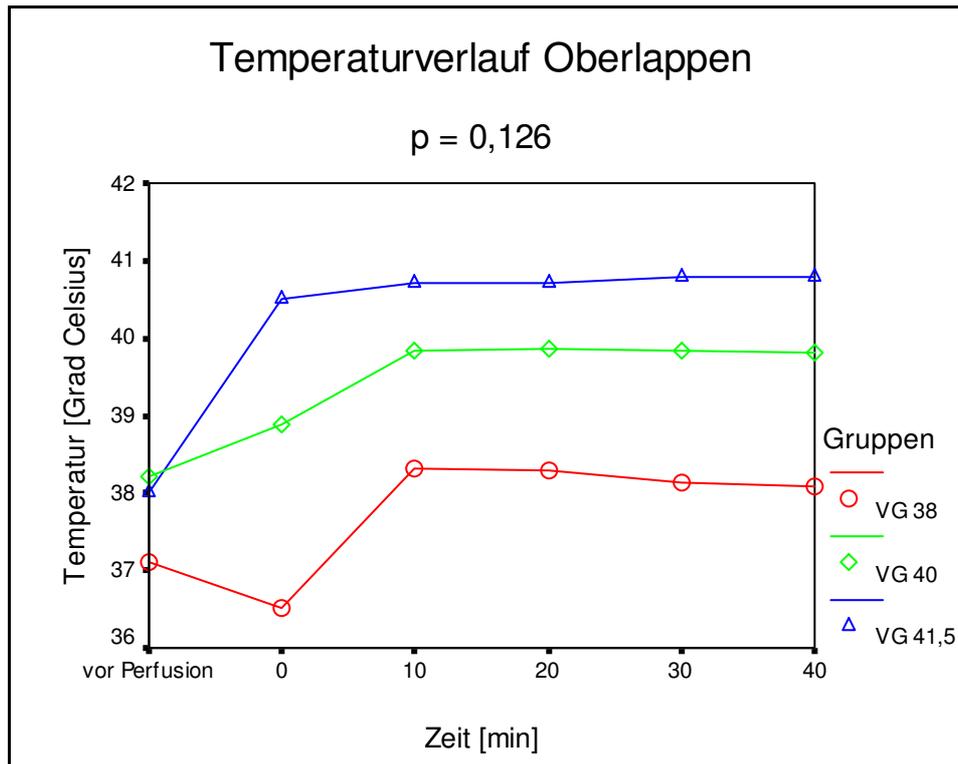
VG 38 vs. VG 41,5 **$p=0,000$**

VG 40 vs. VG 41,5 $p=0,081$

Graphisch unterschieden sich die Temperaturkurven deutlich voneinander. Während die ANOVA mit Messwertwiederholung aufgrund der Temperaturkonstanz in den Gruppen keine Signifikanz erbrachte, konnte die post- hoc Analyse den Unterschied zwischen der VG 38 und VG 41,5 auch statistisch verifizieren ($p = 0,000$).

3.1.4 Lungentemperatur

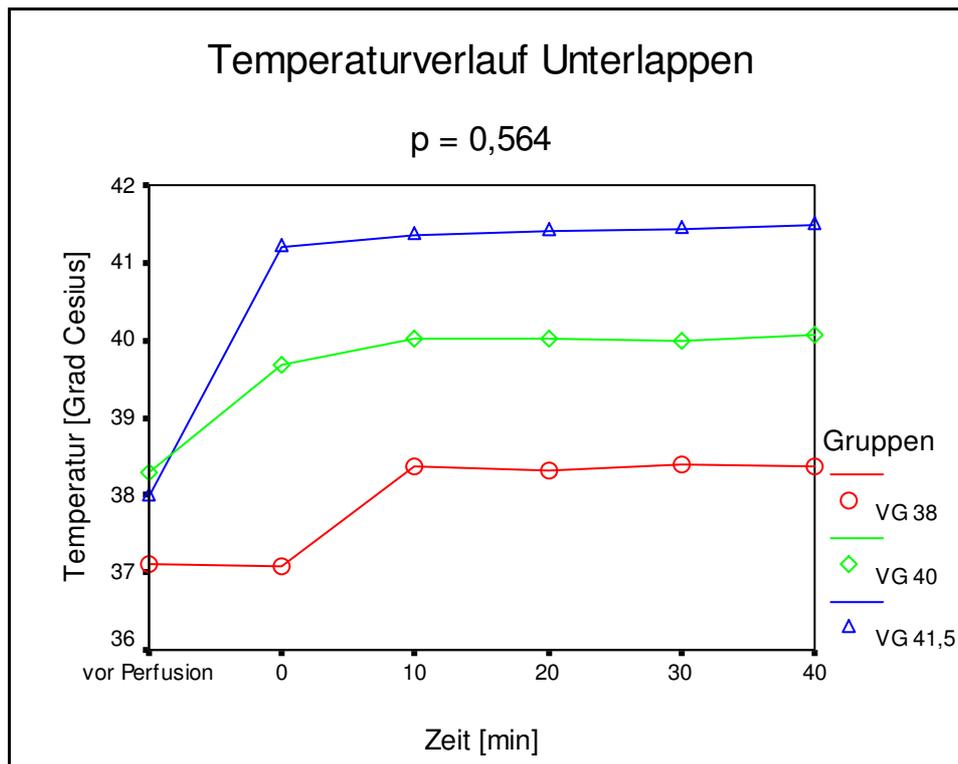
Die Temperatur in den Lungenlappen erreichte sehr rasch nach Perfusionsbeginn die Perfusattemperatur. Der Temperaturanstieg im Oberlappen war in allen Gruppen 10 Minuten nach Perfusionsbeginn abgeschlossen (Abb. 5).



[Abb. 5] Temperaturverlauf Oberlappen
 VG 38 vs. VG 40: **$p=0,017$**
 VG 38 vs. VG 41,5: **$p=0,048$**
 VG 40 vs. VG 41,5: $p=0,600$

Im Oberlappen waren wie angestrebt und graphisch gut sichtbar signifikante Differenzen in den verschiedenen Gruppen festzustellen ($p=0,126$). Eine zeitliche Änderung der Oberlappentemperatur war, abgesehen von dem initialen Temperaturanstieg, weder aus dem Diagramm, noch statistisch ersichtlich ($p=0,771$). Die post- hoc Analyse erbrachte einen eindeutigen Unterschied der VG 38 gegenüber den anderen Versuchsgruppen.

Die Temperaturkurven des Unterlappens verliefen sehr ähnlich wie die des Lungenoberlappens. Auch hier konnte spätestens ab der zehnten Minute von einem Plateau gesprochen werden. Insbesondere in der VG 41,5 mit dem wärmsten Perfusat, war die größte Temperaturdifferenz zwischen Ober- und Unterlappen zu beobachten (Abb. 6).



[Abb. 6] Temperaturverlauf Unterlappen
 VG 38 vs. VG 40: **p=0,028**
 VG 38 vs. VG 41,5: **p=0,003**
 VG 40 vs. VG 41,5: **p=0,019**

Im Unterlappen waren die Temperaturdifferenzen zwischen allen Perfusionsgruppen signifikant. Die post- hoc Analyse ergab p- Werte zwischen 0,003 und 0,028.

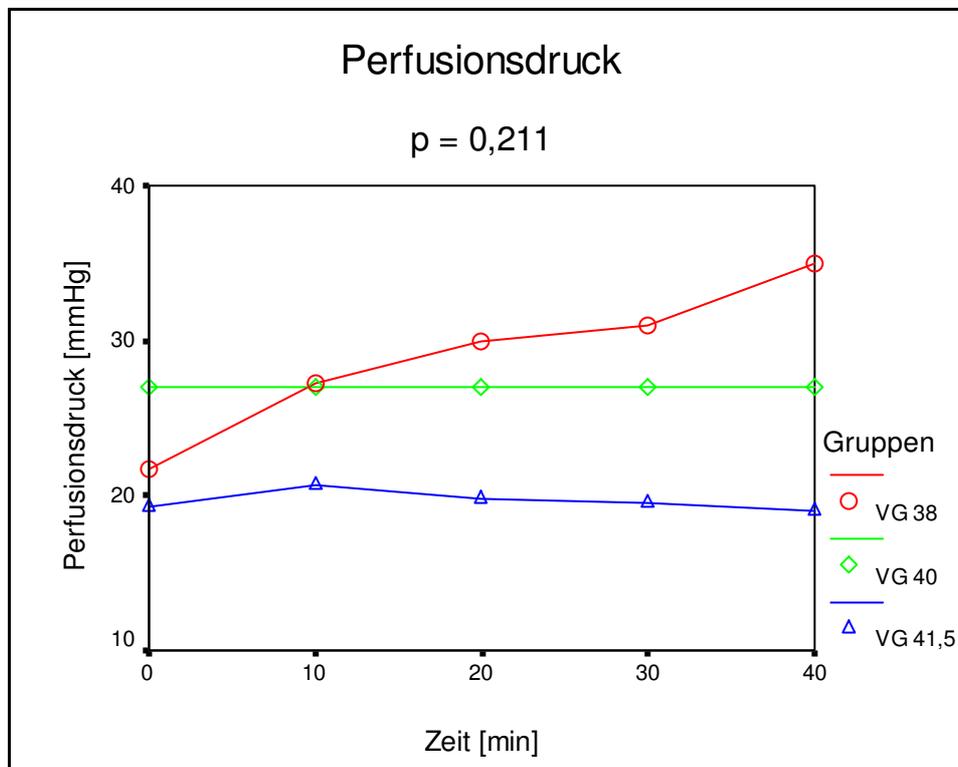
Der Einfluss der Zeit auf die Unterlappentemperaturen war durch den initialen Anstieg graphisch ersichtlich und statistisch nachzuweisen ($p=0,013$)

Der Korrelationskoeffizient nach Pearson ergab für die Oberlappen- und Unterlappentemperatur Werte zwischen $p=0,860$ und $p=0,947$. Durch die Korrelation beider Temperaturverläufe wurde gezeigt, dass beide Lungenlappen gleich perfundiert wurden.

3.1.5 Perfusionsdruck

Der Perfusionsdruck nahm in der VG 38 von einem Initialwert von $21,7 \pm 7,9$ mmHg kontinuierlich während der gesamten Perfusion auf einen Wert von $35,0 \pm 16,79$ mmHg zu. In der VG 40 blieb der Druck über den gesamten Messzeitraum bei $27,0 \pm$

3,1 mmHg konstant. Auch in der VG 41,5 blieb der Perfusionsdruck über die Perfusionsphase sehr stabil. Die Versuchstiere mit hyperthermer Perfusion demonstrierten damit keine Reaktion des Perfusionsdrucks auf die Perfusion im Unterschied zu der Versuchsgruppe mit normothermer Lungenspülung (Abb. 7).

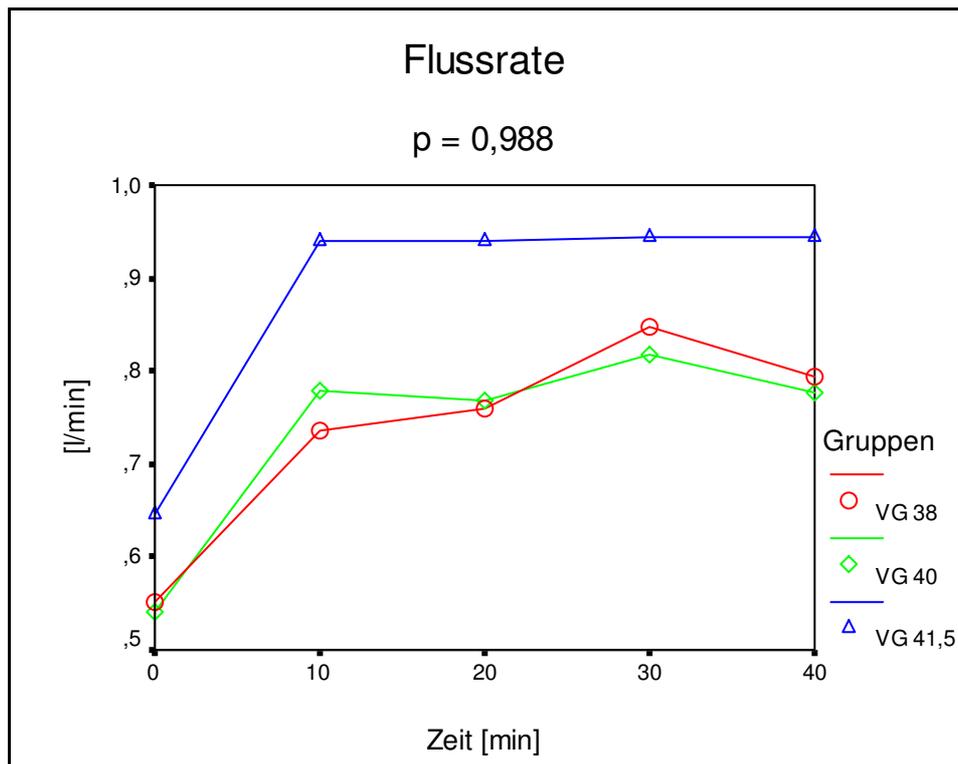


[Abb. 7] Perfusionsdruck

Die statistische Analyse ließ jedoch weder für die ANOVA mit Messwertwiederholung noch in der post- hoc Analyse signifikante Unterschiede erkennen.

3.1.6 Flussrate

Der Perfusionsfluss wurde langsam gesteigert und erreichte bei allen Versuchsgruppen nach 10 Minuten einen Plateaubereich. Bei der VG 41,5 konnte die höchste und gleichmäßigste Flussrate erreicht werden. Die Reduktion der Flussraten in der VG 40 und VG 38 wurde aufgrund der ansteigenden Perfusionsdrücke in diesen Gruppen notwendig (Abb. 8).

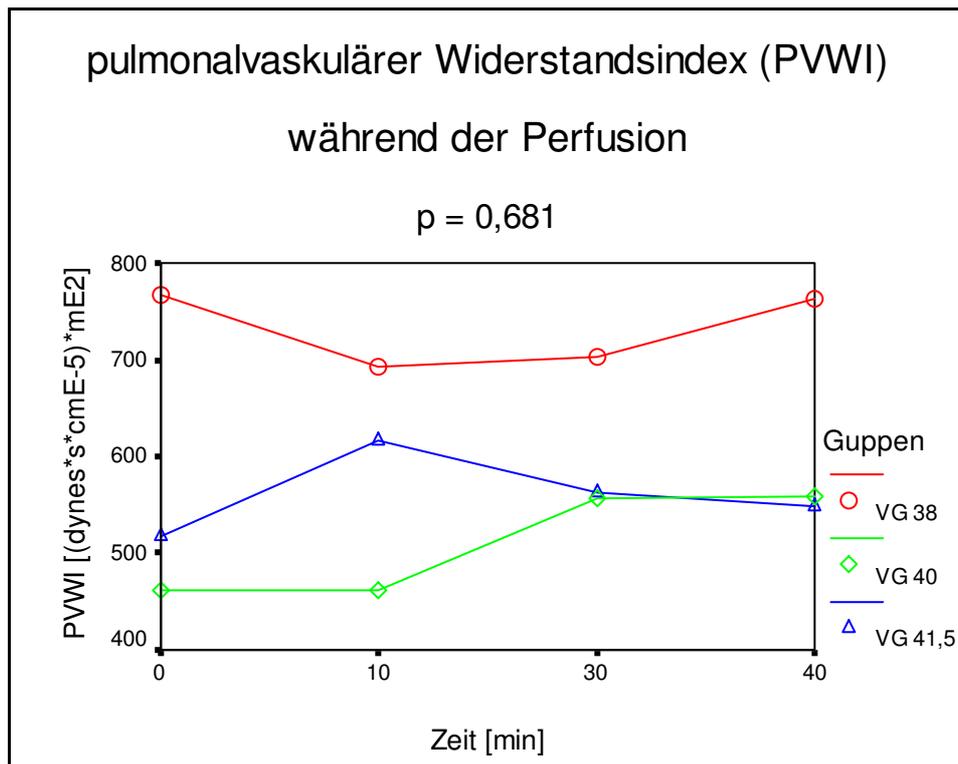


[Abb. 8] Flussrate

Signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen waren nicht festzustellen ($p > 0,131$). Der Einfluss der Zeit auf den Messparameter war durch den initialen Anstieg statistisch grenzwertig ($p = 0,052$).

3.1.7 pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (PVWI) während der Perfusion

Die VG 38 wurde mit der ungefähr gleichen Flussrate wie die VG 40 perfundiert, allerdings kam es zu einem deutlich höheren Perfusionsdruck und folglich auch zu den höchsten PVWI- Werten. Der PVWI der VG 40 lag auf dem Niveau der VG 41,5. Allerdings wurde die VG 40 mit einer geringeren Flussrate und einem geringeren Perfusionsdruck perfundiert als die VG 41,5. In der VG 41,5 ist bei höchstem Perfusionsfluss und niedrigstem Druck der geringste PVWI festzustellen. Damit stellt die VG 41,5 die besten PVWI- Werte während der Perfusion (Abb. 9).



[Abb. 9] pulmonalvaskulärer Widerstandsindex während der Perfusion

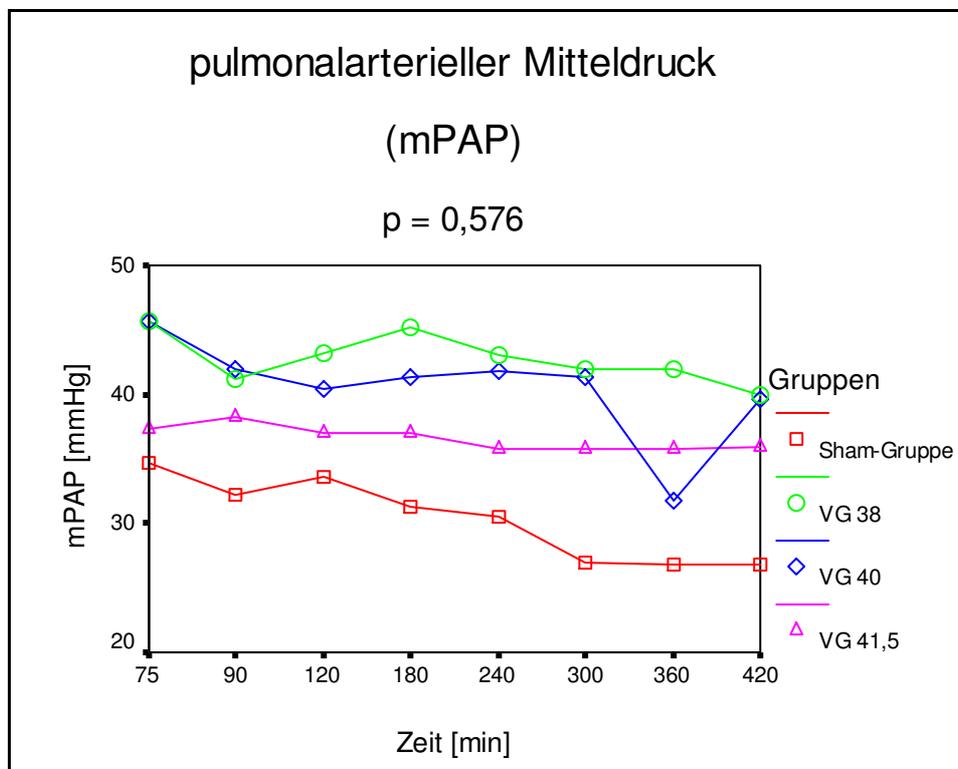
Statistisch signifikante Unterschiede waren mittels ANOVA mit Messwertwiederholungen nicht festzustellen.

3.2 Hämodynamik

3.2.1 Pulmonalarterieller Mitteldruck (mPAP)

Vor Ausklemmung der zu perfundierenden Lunge waren die mPAP Werte in den verschiedenen Gruppen sehr ähnlich mit einem Mittelwert von $31,9 \pm 8,7$. Statistische Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht zu finden ($p=0,447$). Nach Klemmung der rechten Pulmonalarterie wurde in der SG ein mPAP zur Perfusion ausschließlich der linken Lunge von $34,6 \pm 6,6$ mmHg gemessen. Im weiteren postoperativen Verlauf kam es über die sechs Stunden Nachbeobachtung zu einem konstanten Abfall auf $26,8 \pm 6,9$ mmHg. Die VG 38 bildete die Versuchsgruppe mit dem höchsten mPAP nach Klemmung, mit einem Initialdruck von $45,6 \pm 7,1$ mmHg, der über den Versuchsverlauf abfiel. Die VG 40 zeigte einen ähnlichen Verlauf des mPAP wie die VG 38. Die VG 41,5 demonstrierte den konstantesten Verlauf, der

dem der SG am ähnlichsten war. So war ein mittlerer Druck von $37,2 \pm 8,5$ mmHg am Anfang und ein Druck von $36,0 \pm 8,5$ mmHg nach Perfusion messbar (Abb. 10).

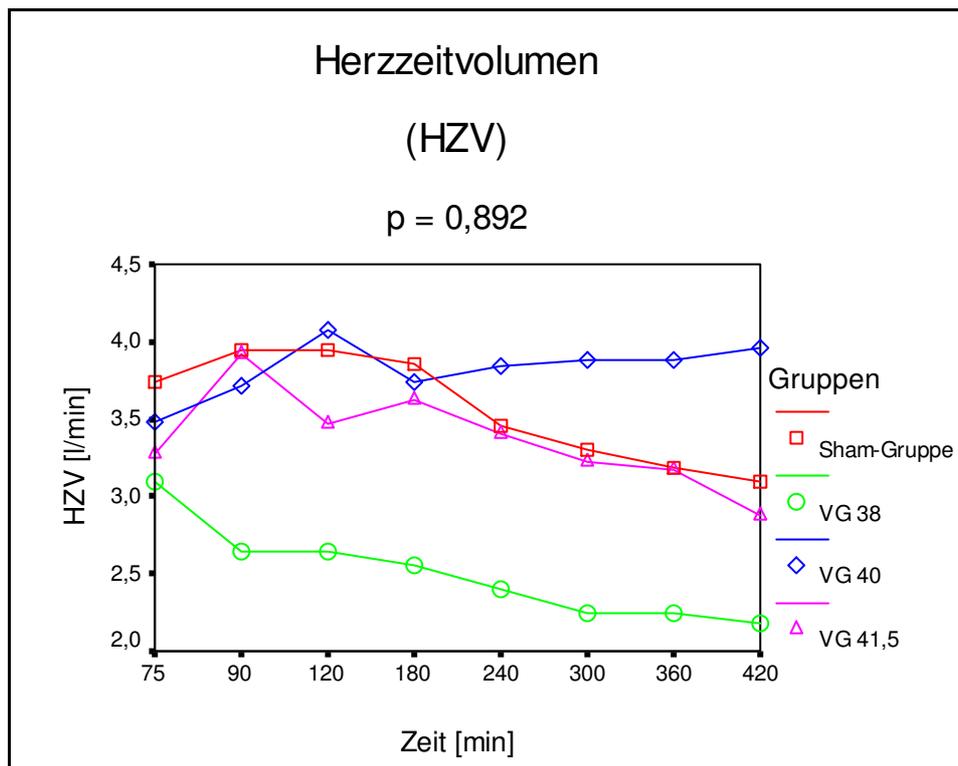


[Abb. 10] pulmonalarterieller Mitteldruck

Die Gruppenunterschiede waren mit der ANOVA mit Messwertwiederholung nicht signifikant. Auch die post-hoc Analyse erbrachte keine signifikanten Gruppenunterschiede.

3.2.2 Herzzeitvolumen (HZV)

Das Herzzeitvolumen der Sham- Gruppe hatte einen Ausgangswert von $3,7 \pm 1,4$ l/min. Der Kurvenverlauf zeigte anfänglich einen leichten Anstieg mit darauffolgendem kontinuierlichem Abfall auf $3,1 \pm 0,8$ l/min. Die VG 38 hatte den geringsten Ausgangswert von $3,1 \pm 1,3$ l/min und einen deutlichen Abfall auf Abschlusswerte von $2,2 \pm 0,5$ l/min und stellte die ungünstigsten Werte. Der Anfangswert der VG 40 lag auf dem Niveau der VG 41,5 mit leichtem Anstieg auf einen Sechsstundenwert von $4,0 \pm 1,4$ l/min. Die VG 41,5 ähnelte in ihrem Verlauf der Sham- Gruppe, allerdings mit insgesamt niedrigerem Verlauf. Der Ausgangswert lag bei $3,3 \pm 1,1$ l/min und Abschlusswert von $2,9 \pm 0,8$ l/min (Abb. 11).

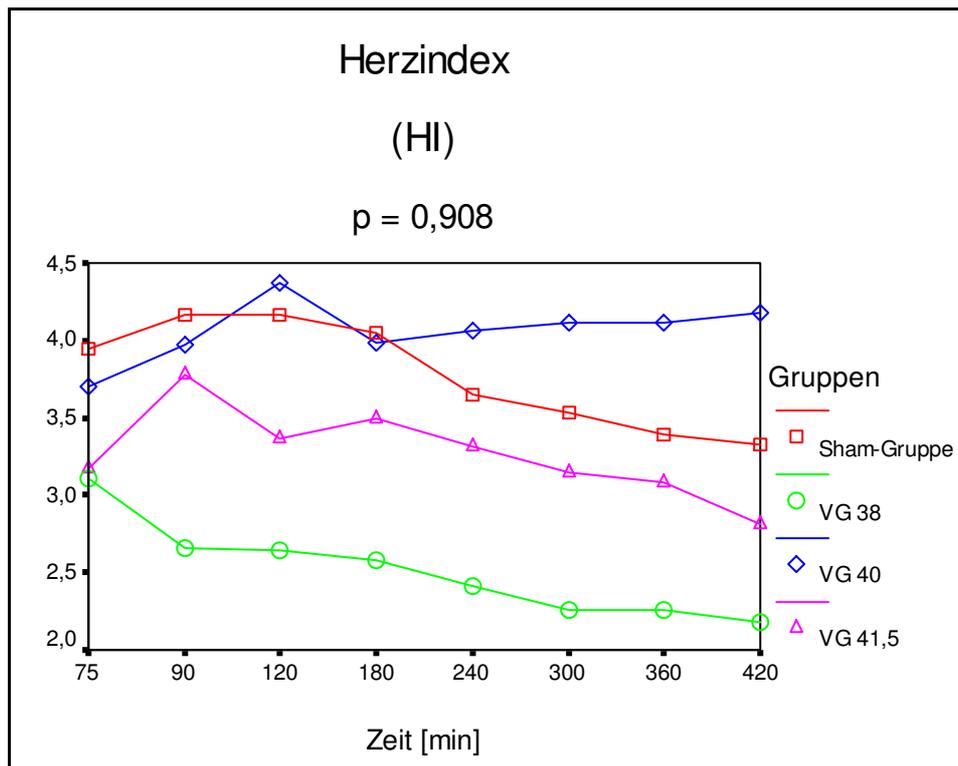


[Abb. 11] Herzzeitvolumen

Insgesamt konnte keine Signifikanz zwischen den einzelnen Versuchsgruppen festgestellt werden.

3.2.3 Herzindex (HI)

Die Kurvenverläufe des Herzindex sind denen des HZV sehr ähnlich. Wiederum ist die Entwicklung der normothermen Perfusionsgruppe VG 38 am ungünstigsten. Die Kurve der Sham- Gruppe und der VG 41,5 waren sich am ähnlichsten. Eine statistische Signifikanz lag im Gruppenvergleich nicht vor (Abb. 12).

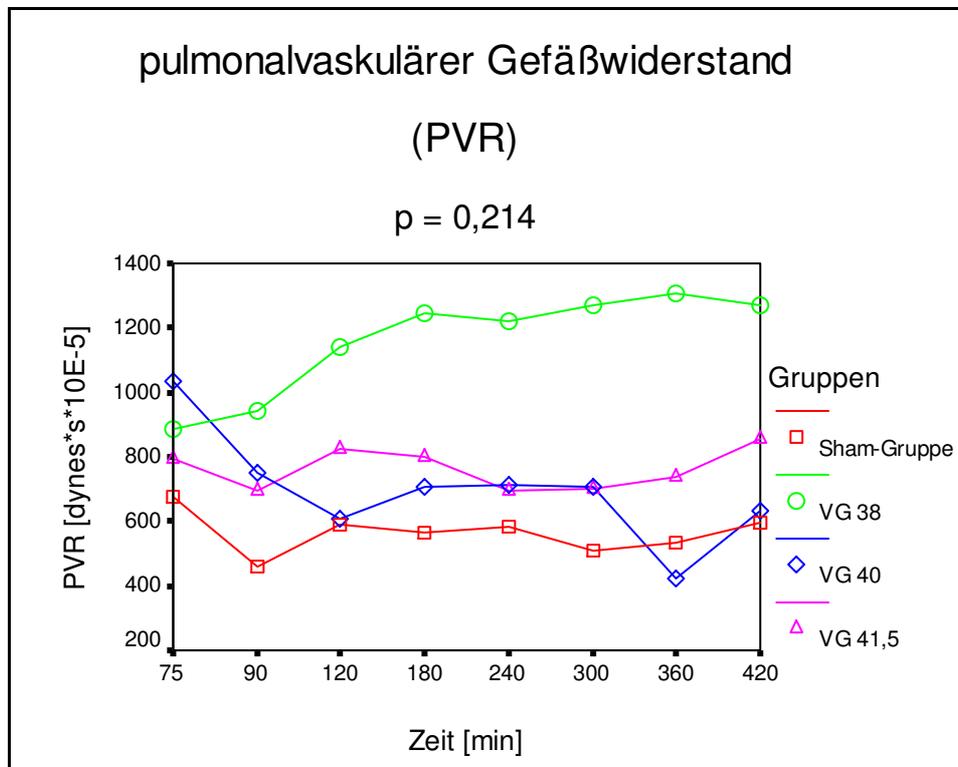


[Abb. 12] Herzindex
 SG vs. VG 38: $p=0,055$
 SG vs. VG 40: $p=0,996$
 SG vs. VG 41,5: $p=0,966$

3.2.4 pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand (PVR)

Vor der Perfusion lag der PVR der Sham- Gruppe bei $215,0 \pm 46,7$, in der VG 38 bei $367,8 \pm 165,9$, in der VG 40 bei $215,0 \pm 262,8$ und in der VG 41,5 bei $308,9 \pm 127,3$ dynes*sec*cm⁻⁵. Dieser Wert war damit in allen Gruppen sehr ähnlich, aber deutlich unter dem Postperfusionsniveau. Die isolierte Lungenperfusion führte zu einer Widerstandserhöhung im pulmonalen Kreislauf. In der Sham- Gruppe blieb der pulmonalvaskuläre Gefäßwiderstand über die postoperativen sechs Stunden auf stabilem Niveau. Der Initialwert lag bei $678,5 \pm 340,1$, der abschließende Wert bei $594,2 \pm 353,9$ dynes*sec*cm⁻⁵. Die VG38 zeigte einen deutlichen, kontinuierlichen Anstieg von $885,0 \pm 347,32$ auf $1271,2 \pm 478,0$ dynes*sec*cm⁻⁵ und stellte die Versuchsgruppe mit den höchsten PVR- Werten dar. Die VG 40 glich sich über die Nachbeobachtungsphase von dem höchsten Ausgangswert der Sham- Gruppe an. Die VG 41,5 ähnelte mit ihrem relativ konstanten Kurvenverlauf der Sham- Gruppe,

allerdings mit etwas höheren Messwerten (Anfangswert: $794,6 \pm 305,2$; Endwert: $853,4 \pm 388,2 \text{ dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$) (siehe Abb. 13).

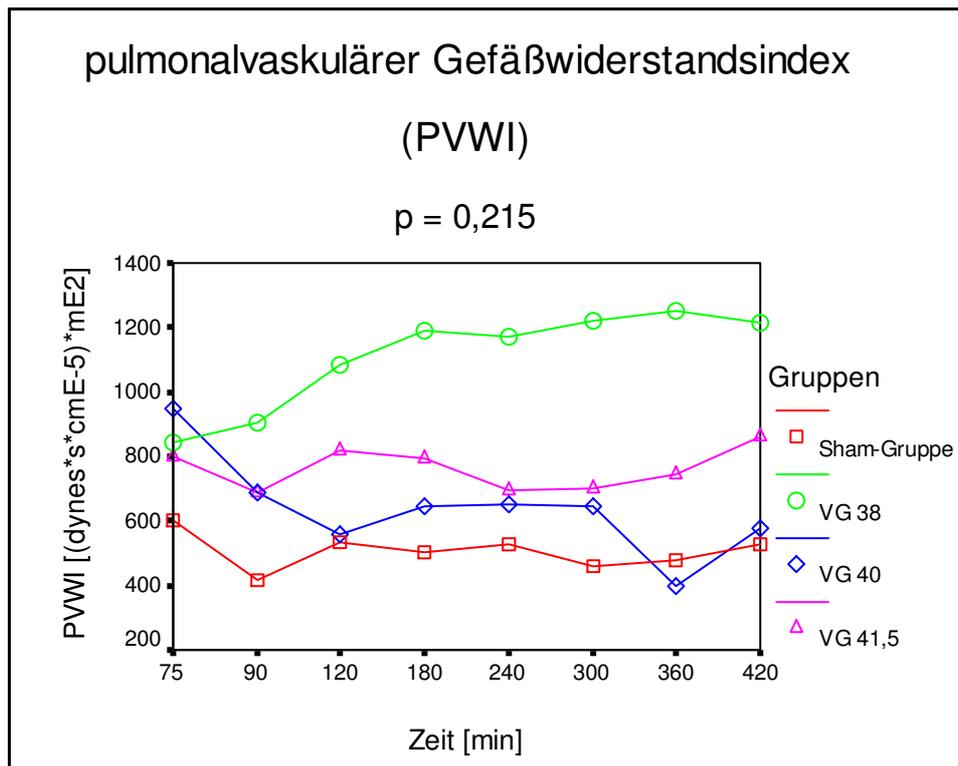


[Abb.13] pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand

Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant.

3.2.5 pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstandsindex (PVWI)

Die Kurvenverläufe des pulmonalvaskulären Gefäßwiderstandsindex (PVWI) waren denen des PVR ausgesprochen ähnlich (Abb. 14).



[Abb. 14] pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstandsindex

SG vs. VG 38: **$p=0,043$**

SG vs. VG 40: $p=0,865$

SG vs. VG 41,5: $p=0,678$

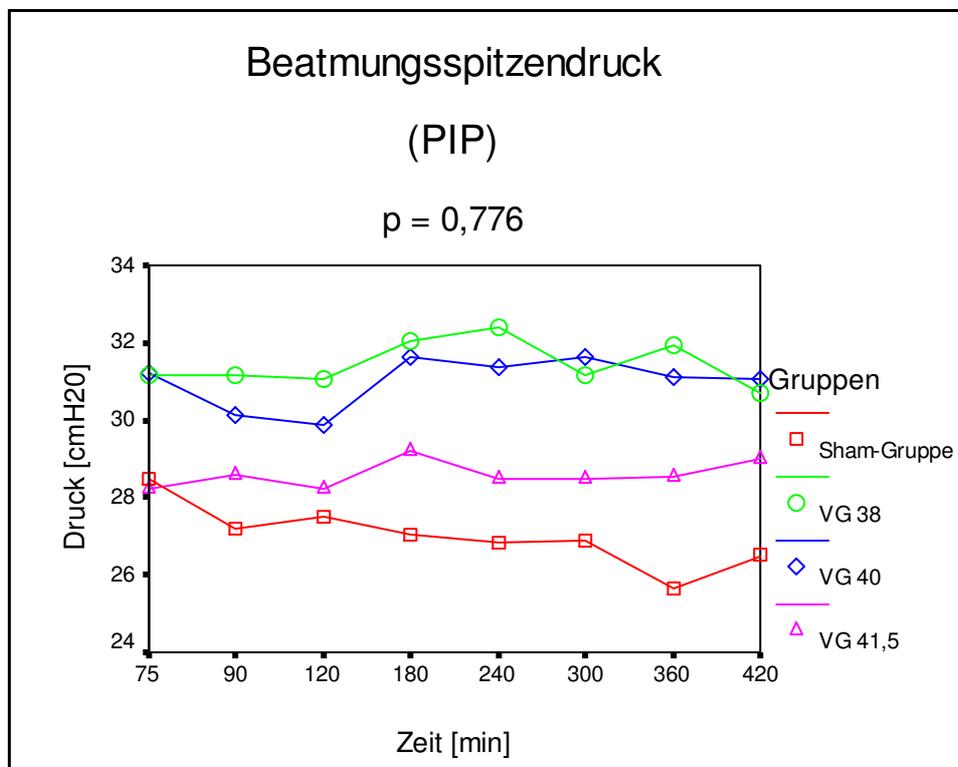
Der Unterschiede zwischen der Sham- Gruppe und der VG 38 erreichte in der post-hoc Analyse jedoch das Signifikanzniveau.

3.3 Ventilationsparameter

3.3.1 Beatmungsspitzendruck (PIP)

Der PIP zeigte vor der Perfusion in der Sham- Gruppe einen Wert von $24,4 \pm 1,7$ cmH₂O, in der VG 38 von $19,8 \pm 3,5$ cmH₂O, in der von VG 40 $19,8 \pm 2,6$ cmH₂O und in der VG 41,5 von $17,7 \pm 2,3$ cmH₂O. Sowohl die Perfusion als auch die Klemmung des rechten Hauptbronchus führten zu einem unterschiedlich starken Anstieg des PIP in den Untersuchungsgruppen. In der SG lag der Initial- PIP bei $28,5 \pm 1,0$ cmH₂O und fiel über die Reperfusionzeit kontinuierlich auf $26,5 \pm 2,7$ cmH₂O ab. Die VG 38 zeigte den höchsten PIP mit einem Anfangsdruck von $31,1 \pm 1,7$ cmH₂O und einem abschließenden Druck von $30,7 \pm 2,3$ cmH₂O und stellte den ungünstigsten

Verlauf dar. Die VG 41,5 demonstrierte nach der Sham- Gruppe den günstigsten Kurvenverlauf (Abb. 15).



[Abb. 15] Beatmungsspitzenndruck

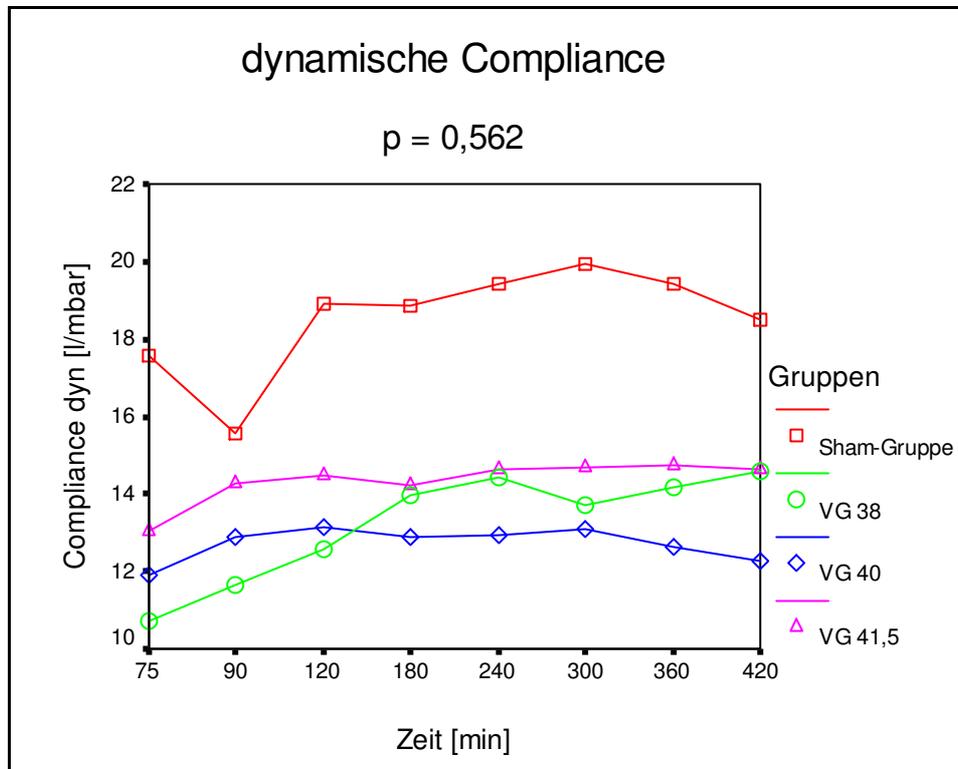
Differenzen zwischen den Gruppen waren statistisch nicht signifikant, aber graphisch deutlich zu erkennen.

Als Resultat ließ sich festhalten, dass die Perfusion mit der wärmsten Lösung die günstigsten Beatmungsdrücke zeigte, die denen der Sham- Gruppe am ähnlichsten waren.

3.3.2 dynamische Compliance

Die dynamische Compliance der Sham- Gruppe wies mit einem Initialwert von $17,5 \pm 5,8$ l/mbar und einem Endwert von $18,5 \pm 5,5$ l/mbar deutlich günstigere Werte auf als die Perfusionsgruppen. In der VG 38 war die dynamische Compliance mit $10,7 \pm 3,8$ l/mbar am niedrigsten und stieg kontinuierlich bis auf $14,5 \pm 3,5$ l/mbar an. Die VG 41,5 verhielt sehr ähnlich der VG 40 mit einem Anfangswert von $13,0 \pm 2,4$ l/mbar

und einem Sechsstundenwert von $14,6 \pm 3,4$ l/mbar und war die Gruppe mit den günstigsten Messwerten (Abb. 16).



[Abb. 16] dynamische Compliance

Zwischen den verschiedenen Gruppen war mittels des Tamhane- Tests kein signifikanter Unterschied nachweisbar, auch wenn graphisch ein deutlicher Unterschied zwischen der Sham- und den Perfusionsgruppen festzustellen war.

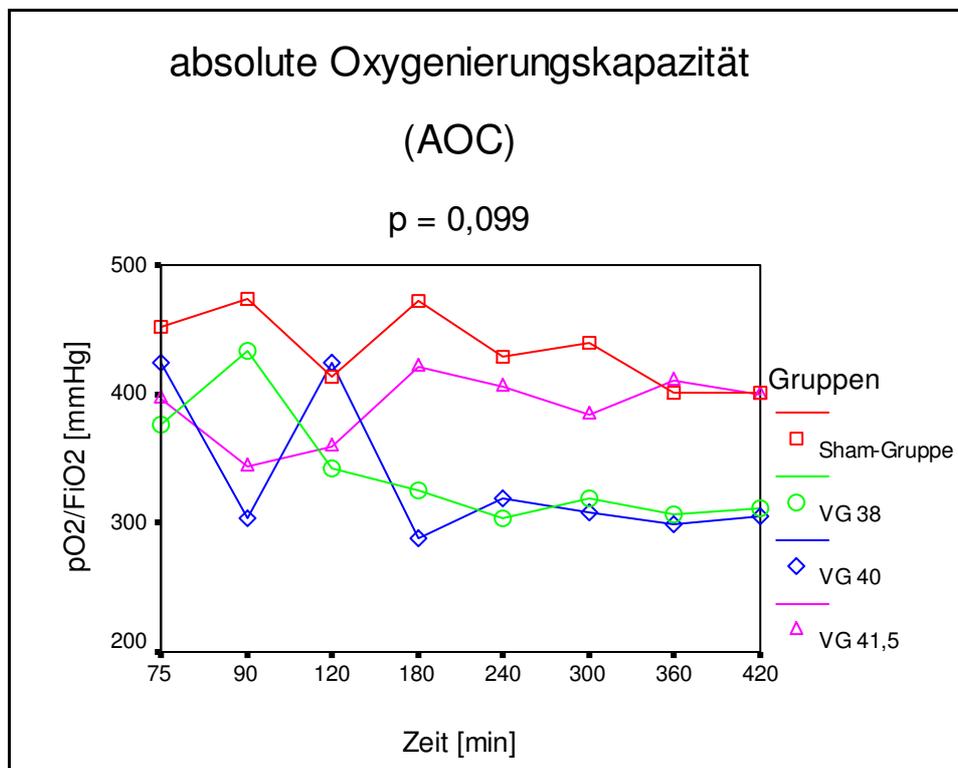
Ein signifikanter Einfluss der Zeit auf die Compliance der Untersuchungsgruppen war statistisch nicht nachweisbar ($p=0,379$).

In den Versuchsgruppen war im Vergleich zu der Sham- Gruppe ein deutlicher Abfall der Compliance zu verzeichnen. Da dieser aber in allen Versuchsgruppen unabhängig von dem Temperaturbereich auftauchte, war die Perfusion als Ursache dafür anzunehmen.

3.4 Blutgasanalyse

3.4.1 absolute Oxygenierungskapazität (AOC)

Die absolute Oxygenierungskapazität lag initial in allen Versuchsgruppen auf ähnlichem Niveau. Die Sham- Gruppe zeigte einen Anfangswert von $451,4 \pm 156,2$ mmHg und eine Endwert von $400,5 \pm 53,4$ mmHg. Einen ähnlich günstigen Verlauf demonstrierte die VG 41,5 mit einem Wert von $396,7 \pm 82,5$ mmHg zu Beginn der Reperfusion und einem der Sham- Gruppe fast identischen Endwert von $399,5 \pm 93,8$ mmHg. Die Messwerte der VG 38 und VG 40 fielen nach einem mit SG vergleichbaren Anfangswert deutlich ab auf Endwerte von $311,7 \pm 145,0$ mmHg und $304,8 \pm 86,9$ mmHg (Abb.17).

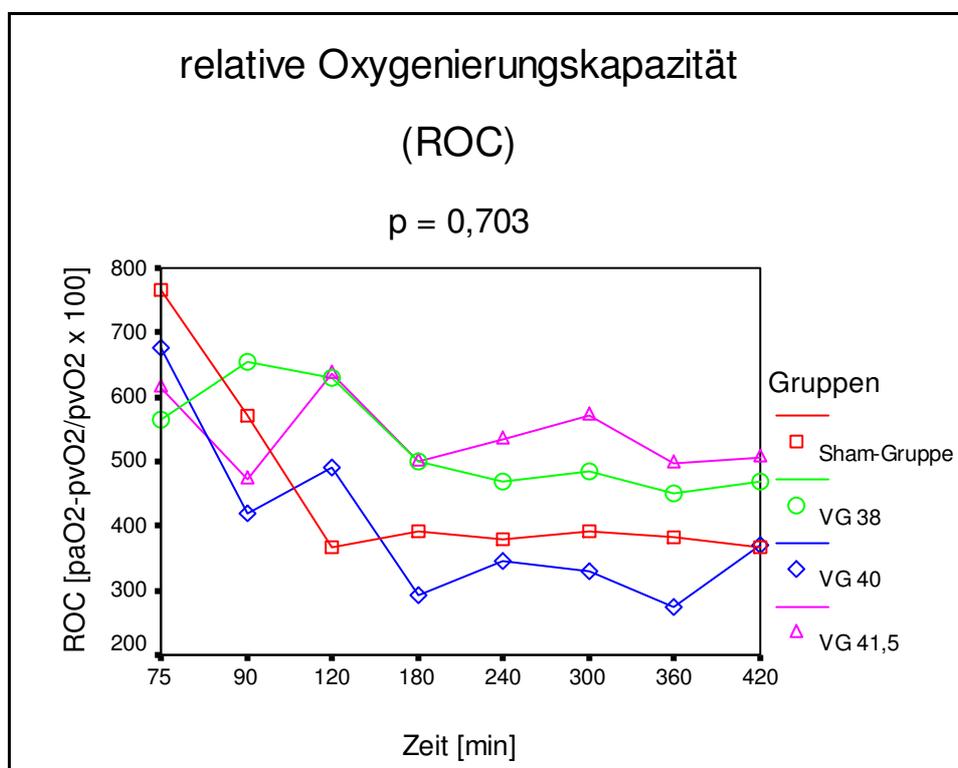


[Abb. 17] absolute Oxygenierungskapazität

Unterschiede zwischen den Gruppen und über den Zeitverlauf ($p=0,393$) waren statistisch nicht zu belegen.

3.4.2 relative Oxygenierungskapazität (ROC)

Die ROC fiel in der Sham- Gruppe von einem sehr hohen Ausgangswert von $767,3 \pm 335,0$ in den ersten 120 Minuten steil ab zu einem Endwert von $368,6 \pm 128,9$. Die VG 38 hatte einen Anfangswert von $565,8 \pm 104,6$ und einen Abschlusswert von $468,2 \pm 499,8$. In der VG 40 war der stärkste initiale Abfall nachweisbar. Nach einem Anfangswert von $677,3 \pm 43,9$ fiel die Kurve das Niveau der SG ($370,0 \pm 149,6$). Die VG 41,5 zeigte einen stabilen Verlauf von $614,2 \pm 398,4$ mit den höchsten und damit günstigsten Werten aller Gruppen und einem Endwert von $507,6 \pm 92,7$ (Abb. 18).



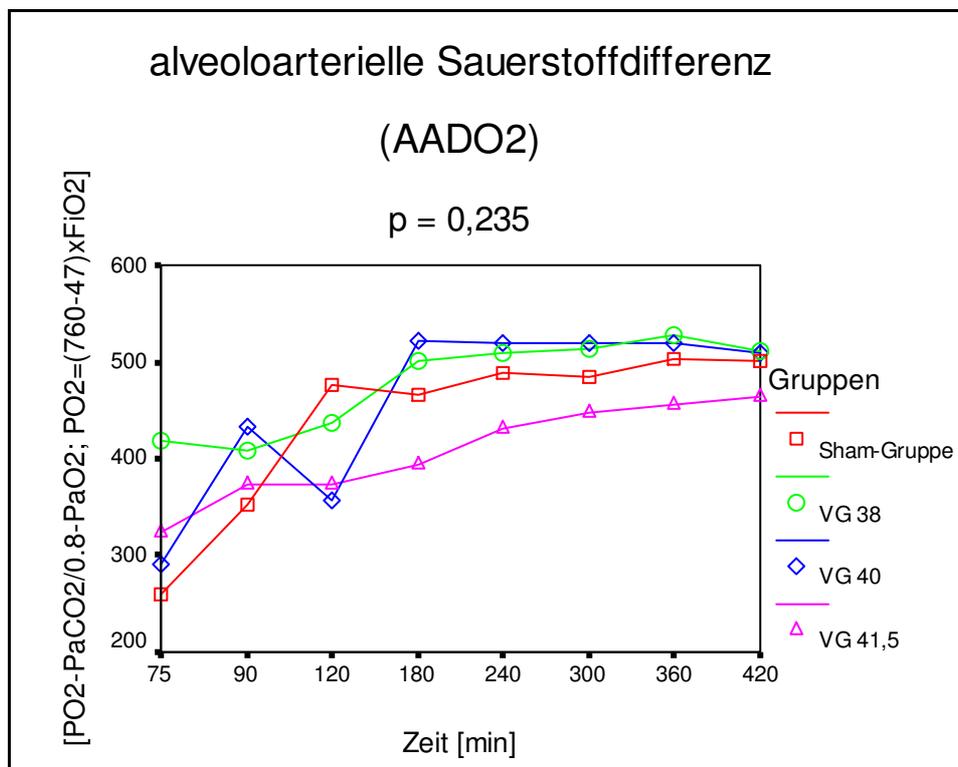
[Abb. 18] relative Oxygenierungskapazität

Unterschiede zwischen den Gruppen waren statistisch weder mittels ANOVA mit Messwertwiederholung noch mittels post- hoc Analyse zu belegen. Allerdings verhielten sich alle Versuchsgruppen über die Zeit ähnlich ($p=0,024$).

3.4.3 alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz (AaDO₂)

Die alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz demonstrierte in allen Versuchsgruppen einen Anstieg über den Nachbeobachtungszeitraum. Die Messwerte der Sham- Gruppe stiegen von einem Anfangswert von $260,1 \pm 150,6$ mmHg kontinuierlich auf

einen Abschlusswert von $501,6 \pm 26,0$ mmHg an. Die Werte der VG 38 verliefen auf deutlich höherem Niveau (Anfang: $418,8 \pm 74,2$ mmHg, Ende: $510,7 \pm 110,6$ mmHg). Sie stellte erneut die Versuchsgruppe mit den ungünstigsten Werten dar. Dieser Gruppe ähnlich verlief die alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz in der VG 40 mit einem Anfangswert von $289,8 \pm 48,9$ mmHg und einem Endwert von $509,8 \pm 61,6$ mmHg. Noch unter der SG und damit mit den besten Werten verlief die VG 41,5. Mit einem Anfangswert von $322,9 \pm 80,8$ mmHg verlief sie leicht ansteigend auf $463,4 \pm 54,2$ mmHg (Abb. 19).



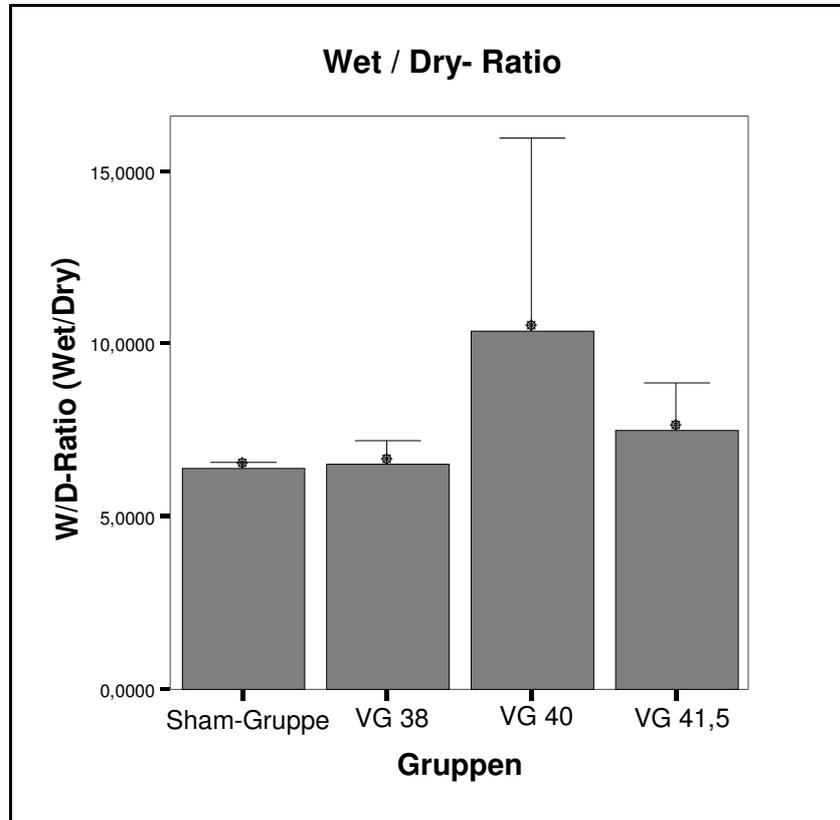
[Abb. 19] alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz

Unterschiede in den Gruppen waren statistisch nicht zu finden. Im zeitlichen Verlauf stiegen die Werte sämtlicher Gruppen an. Diese Beobachtung war hochsignifikant. ($p=0,000$).

3.5 Wet/ Dry Ratio

Das Lungengewebe aller Versuchsgruppen wies ein sehr ähnliches Feucht-Trockenverhältnis auf, wie auch statistisch durch die ANOVA gezeigt wurde. Dabei wies die Sham- Gruppe mit $6,4 \pm 0,2$ den niedrigsten Feucht- Trockenquotienten auf,

gefolgt von dem der VG 38 mit $6,5 \pm 0,7$. Die VG 40 stellte mit $10,3 \pm 5,6$ den deutlich höchsten Wert dar; allerdings war die Standardabweichung in dieser Gruppe sehr hoch. Der Feucht- Trockenquotient der VG 41,5 lag bei $7,5 \pm 1,4$ (siehe Abb. 20).



[Abb. 20] Wet- Dry Ratio ($p=0,145$)

4 Diskussion

4.1 Diskussion bisheriger Modelle

Zur Untersuchung der unterschiedlichen Aspekte der isolierten hyperthermen Lungenperfusion existieren verschiedene Modelle. Hierbei kann man prinzipiell Groß- und Kleintiermodelle unterscheiden (Cardella et al., 2000).

4.1.1 Kleintiermodelle

Kleintierexperimente sind kostengünstig und erlauben dadurch hohe Versuchszahlen. Dabei sind Aussagen zur prinzipiellen Wirksamkeit einer Methode oder der Pharmakokinetik möglich. Für die isolierte Lungenperfusion sind verschiedene Kleintiermodelle zur Bestimmung der Hyperthermie auf das Lungengewebe bekannt.

Lin et al. evaluierten den Einfluss von kombinierter Hyperthermie von 42,5°C über einen Zeitraum von einer Stunde mit den Cytokinen IL-1 α und TNF- α auf Adenomkarzinome, die in Mäusebeine implantiert waren (Lin et al., 1996). Dabei untersuchten sie zum einen die Durchblutung der Tumoren in Abhängigkeit der verwendeten Substanz und die Zellteilungsrate des Tumors unter den verschiedenen Therapien. Sie stellten fest, dass IL-1 α die Durchblutung auf 46 %, TNF- α auf 82 % und die Kombination beider auf 41 % der ursprünglichen Durchblutung der Kontrollgruppe senkten. Mit einer adjuvanten Hyperthermie konnte die Durchblutung nach einer Stunde auf 71 % der Ausgangsdurchblutung, nach vier Stunden um weitere 20 % gesenkt werden. Die Hyperthermie führte außerdem zu einer Verringerung der Zellteilungsrate um 30 %, mit den Zytokinen kombiniert, auf 0,4 % der Zellteilungsrate der Kontrollgruppe. Auswirkungen der Hyperthermie auf andere Organsysteme wurden nicht ausgewertet. Des Weiteren fehlten Vergleichsgruppen in unterschiedlichen Temperaturbereichen, um die optimale zytotoxische, adjuvante und gewebeverträgliche Temperatur zu definieren.

Eine Studie, die die temperaturabhängigen Veränderungen sowohl der Durchblutung, als auch der Sauerstoff- und Glucoseversorgung von gewebsisolierten Tumoren in Ratten beleuchtete, stellte Vaupel vor (Vaupel et al., 1998). Er zeigte eine

signifikante Zunahme der Durchblutung bis 39,5°C, die bei weiterem Temperaturanstieg auf 42°C auf ein Durchblutungsniveau wie das bei 37°C abnahm. Diese Veränderungen gingen mit gleichsinnigen Veränderungen des Sauerstoffverbrauchs und der Glucoseaufnahme einher. Einen ähnlichen Verlauf zeigte die Mikrozirkulation des Tumors, die bis 39°C durch Vasodilatation gesteigert wurde, aber in höheren Temperaturbereichen durch Verlust der Erythrozytenflexibilität zu multiblen Mikrothromben und Gefäßverschlüssen führte. Diese Studie zeigte, in welchem Temperaturbereich eine Hyperthermiebehandlung abhängig vom Behandlungsziel liegen sollte. Um die Durchblutung zu fördern, wie es Ziel bei gleichzeitiger Chemo- oder Radiotherapie ist, sollten 42°C nicht überschritten werden. Soll allerdings der Tumor lokal geschädigt werden, sind höhere Temperaturen von Nöten.

Deutlich besser untersucht als die Auswirkungen der Hyperthermie sind die Wirksamkeit und die Toxizität verschiedener chemotherapeutischer Stoffe in Kombination mit der isolierten Lungenperfusion am Rattenmodell.

Ng evaluierte in einer Studie die Wirksamkeit von FUDR (2'-deoxy-5-fluorouridine) in Ratten mit Tumoren von kolorektalen Adenokarzinomzellen (Ng et al., 1995). 3 Gruppen mit FUDR-Konzentrationen von 3,7 bis 7 mg wurden im Vergleich zu einer Perfusionsgruppe ohne Wirkstoff und einer intravenösen FUDR Gruppe perfundiert. Bei Tumorknotenzählung zeigte sich nach 14 Tagen ein signifikanter Rückgang der Tumoranzahl im Vergleich zu der intravenös behandelten Versuchsgruppe und der ohne Wirkstoff. FUDR kann eine wirksame Substanz in der Behandlung kolorektaler Metastasen sein. Aussagen zur Optimaldosis, Toxizitätsgrenze und Wirksamkeit, die auf den Menschen anwendbar wären, gibt es bisher nicht.

Weksler führte in einem ersten Experiment eine linksseitige isolierte Lungenperfusion mit Doxorubicin und 6 unterschiedlichen Perfusionslösungen durch (Weksler et al., 1995). Die Gruppe mit gepufferter HAES-Lösung zeigte die besten Ergebnisse mit dem geringsten Wet/ Dry Quotienten. In einem zweiten Experiment wurden 60 Tiere je nach Versuchsgruppe mit 80 µg/ml oder 320 µg/ml, mit einer Perfusatflussrate von 0,5 ml/min oder 1 ml/min über 2, 6 oder 10 Minuten perfundiert. Die Auswertung der Ergebnisse ergab, dass die Dauer der Perfusion und die Doxorubicinkonzentration

des Perfusats die ausschlaggebenden Faktoren für die Lungengewebskonzentration darstellten. Die Lungen sollten besser über eine längere Zeit als mit einer hohen Konzentration perfundiert werden, um Schädigungen zu vermeiden und dennoch eine gleich hohe Medikamentenkonzentration zu erreichen.

Nawata führte eine Wirksamkeits- und Toxizitätsstudie mit Melphalan an Ratten durch (Nawata et al., 1996). Für die Toxizitätsstudie wurde die Maximaldosis durch die Überlebenszeit nach Perfusion ermittelt. Neunzehn Ratten wurde Melphalan entweder durch isolierte Lungenperfusion (2 mg) oder intravenös (1 oder 2 mg) verabreicht und die Konzentrationsverhältnisse gemessen. Die maximal tolerierte Dosis Melphalan betrug 2 mg. In der Wirksamkeitsstudie wurden 41 Ratten, bei denen ein Sarkomazellkarzinom induziert wurde, 1 oder 2 mg Melphalan intravenös oder per isolierter Lungenperfusion verabreicht. Nach 14 Tagen wurden die Tumornodi gezählt. Die isolierte Lungenperfusion führte zu einer signifikant höheren Melphalankonzentration als bei den intravenös behandelten Gruppen. Es wurden außerdem signifikant weniger Tumornodi in der perfundierten Lunge gefunden. Damit ist die isolierte Lungenperfusion im Rattenmodell eindeutig wirksam. In der Extremitätenperfusion konnte die Melphalanaufnahme durch gleichzeitige Hyperthermie noch gesteigert werden, ein ähnlicher Effekt des Lungengewebes konnte in anderen Studien gezeigt werden (Di Filippo et al., 1998).

Abolhoda evaluierte in einer Studie mit Ratten die lebensverlängernde Wirkung der isolierten Lungenperfusion mit Doxorubicin gegenüber einer Kontrollgruppe, die ohne Wirkstoff perfundiert wurde (Abolhoda et al., 1997). Bei den Tieren wurde durch Methylcholantren ein Sarkomazellkarzinom in der linken Lunge induziert. Sieben Tage später wurde diese Lunge mit 6,4 mg/kg über 10 Minuten perfundiert. Es folgte eine fünfminütige Auswaschphase. Die angestrebte Überlebensrate der Tiere betrug 6 Wochen. Alle Tiere ohne Wirkstoffperfusion starben spätestens nach 20 Tagen durch das starke Tumorwachstum. Die mittlere Überlebenszeit der DoxorubicinGruppe lag bei 36 Tagen, und damit hochsignifikant länger als die der Kontrollgruppe. Die DoxorubicinGruppe wies zudem ein deutlich geringeres Tumorwachstum auf, zwei der Tiere hatten zu Versuchende sogar eine tumorfremde Lunge.

Hendriks führte eine Kleintierstudie an Ratten zur Bestimmung der Wirksamkeit von Melphalan und TNF- α bei Lungenmetastasen von Adenokarzinomen durch (Hendriks et al., 1998). Den Tieren wurden CC531S Tumorzellen injiziert und nach 7 Tagen abhängig von den verschiedenen Versuchsgruppen mit den einzelnen Pharmaka oder mit einer Kombination beider perfundiert. Die Überlebensraten der TNF- α Gruppen zeigten in dieser Studie statistisch keinen Vorteil gegenüber der Sham-Gruppe. So zeigte die Gruppe mit 400 μ g TNF- α eine Überlebensrate von 33 %, die mit 1000 μ g von nur 17 %. Bei Kombination des TNF mit Melphalan lag die Überlebensrate bei 80 %. Bei alleiniger Anwendung von Melphalan konnte sogar ein Überleben von 100 % gesichert werden. In der Studie konnte gezeigt werden, dass Metastasen eines Adenokarzinoms auf Melphalan ansprechen. Über die optimale Dosis, den Vergleich zu anderen Substanzen oder die Gewebeverträglichkeit konnten keine Aussagen gemacht werden.

Li evaluierte in seiner Studie die Wirksamkeit, Pharmakokinetik und die zytostatische Wirkung von Cisplatin am Rattenmodell (Li et al., 1998). Ein Tumor wurde mit Methylcholanthren indiziert und die Tiere mit isolierter Lungenperfusion mit unterschiedlichen Cisplatin Dosen perfundiert. Die höchste tolerierte Dosis zur Perfusion betrug 0,1 mg/ml. Die isolierte Perfusion führte zu einem signifikanten Rückgang der Tumoren und bei 20 % der Tiere zu einem kompletten Tumorrückgang. In einer weiteren Studie verwendete er ein Kleintiermodell, um die Pharmakokinetik und die Wirkstoffkonzentration im Tumorgewebe und im Lungengewebe bei unterschiedlicher Perfusionsdauer und Medikamentenkonzentration zu bestimmen (Li et al., 1999). Dabei wurde ersichtlich, dass die Cisplatinkonzentration im Tumorgewebe, im Gegensatz zum Lungengewebe, nicht signifikant durch die Perfusionsdauer und die Medikamentenkonzentration verändert wurde. Ob dieser Unterschied in der Pharmakokinetik auch auf andere Tumorarten zutrifft, ist nicht bekannt.

4.1.2 Großtiermodelle

Großtiermodelle erlauben dieselben Untersuchungsmöglichkeiten, die in der intensivmedizinischen Patientenbehandlung zur Verfügung stehen. Das umfasst Messparameter wie den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP), den zentralen

Venendruck (ZVD), den pulmonalarteriellen Druck (PAP), die Bestimmung des Herz-Zeit-Volumens (HZV) per Herz-Ganz-Katheter, die EKG- Aufzeichnung und die Entnahme größerer Blutmengen zur Bestimmung von chemischen Parametern oder der Blutgase (Fujimura et al., 1987; Goldsmith et al., 1987).

Als Versuchstier bietet sich das Schwein an, da es dem Menschen im Bezug auf Anatomie, Physiologie, dem kardiovaskulären System und der Atmung sehr ähnlich ist und somit Vergleichbarkeit besteht. So wird das Schwein sehr intensiv als xenogenes Spendertier diskutiert und beforscht (Caplan A, 1999; Grant et al., 2001; Schelzig et al., 2001). Das vorliegende Modell, dass durch die Beurteilung der frühen Reperfusionphase quantifizierbare Rückschlüsse auf einen möglichen Lungenschaden zulässt, wurde in Modifikation einem Lungentransplantationsmodell entlehnt (Wittwer, Franke, Strüber). Mit diesem Modell wird die Initialreaktion der Lunge auf die potentielle Noxe in der Reperfusionphase untersucht. Ein stabiler Verlauf in dieser Nachbeobachtungsphase ist nach klinischen und experimentellen Erfahrungen ausreichend für die Beurteilung des Reperfusionsschadens (Dowing et al., 1984; Hachida et al., 1989; Bonser et al., 1990; Ratto et al., 1995)

Die Erfahrungen mit der isolierten Lungenperfusion am Grosstiermodell sind bisher sehr gering und beruhen im Wesentlichen auf den hier vorgestellten Studien.

Cowen et al. führten eine in- vivo- Doppellungenperfusion an Hunden durch, um den Effekt der Hyperthermie auf die Lungenfunktion zu untersuchen (Cowen et al., 1992). Sie perfundierten 3 Versuchsgruppen, die Kontrollgruppe mit 37°C, die erste mit 43-44,8°C und die zweite mit mehr als 45°C. Dazu mussten zwei komplett getrennte Perfusionskreisläufe geschaffen werden. Die Flussrate des systemischen Kreislaufs betrug 40- 80 ml/kg pro min bei 26°C. Der Perfusionskreislauf wurde auf die entsprechende Temperatur der Versuchsgruppe erwärmt, die Flussrate lag bei 35-60 ml/kg pro min, unterschritt immer den Druck von 12 mmHg und wurde eine Stunde aufrecht erhalten. Dabei wurden die Lungen nicht beatmet. Die Lungenschädigungsmessung erfolgte mittels der Bestimmung des extravaskulären Lungenwassergehalts, der Serotoninaufnahme und des Feucht/ Trocken Quotienten. Alle Tiere der Kontrollgruppe überlebten, in der ersten verstarb ein Tier an Herzrhythmusstörungen und in der Perfusionsgruppe über 45°C verstarben alle an

massiven Lungenödemen. Der extravaskuläre Wassergehalt stieg in der ersten Gruppe um 35,6 %, in der zweiten auf 43,6 % und in der dritten auf 144 % an, war aber innerhalb von 14 Tagen in allen Versuchsgruppen wieder auf dem Ausgangsniveau und somit eher auf die Perfusion als auf die Temperatur zurückzuführen. Auch der Feucht-Trocken Quotient nahm in allen Gruppen zu, signifikant allerdings nur in der dritten. Die Serotoninaufnahme, als Zeichen der Endothelfunktion, zeigte bei 3 Tieren in der 44°C Gruppe nach der Perfusion eine signifikante Abnahme, die aber innerhalb von 2 Wochen reversibel war.

Diese Studie unterstrich, dass ein Temperaturanstieg der Lunge auf 44°C über eine Stunde gut toleriert wird, eine weitere Temperaturerhöhung jedoch zu fatalen Auswirkungen führt. Dieselben Temperaturwerte konnten für die isolierte Hundeextremitätenperfusion und die isolierte Hundeleberperfusion ermittelt werden (Horikawa et al., 1994). Die Temperaturbereiche in dieser Studie waren sehr großzügig gefasst, und die Temperaturunterschiede zwischen den Versuchsgruppen lagen weit auseinander. Der klinisch relevante Bereich für die kombinierte Hyperthermie mit Chemotherapie liegt unter 42°C, da darüber hinaus die Durchblutung reduziert wird und kein Wirkstoff mehr angereichert werden kann (Vaupel et al., 1998). Durch die endobronchiale Temperaturmessung wurde nur die Lungenkerntemperatur kontrolliert, ob es zu einer peripheren Durchblutung und Erwärmung der Lunge kam, war nicht sicher. Durch die nicht vorhandene Beatmung und mögliche Hypoxie mit reflektorischer Vasokonstriktion wäre dies möglich. Auch eine zusätzliche Schädigung hervorgerufen durch eine „warme“ Ischämie der Lungen ist zu diskutieren. Zusätzlich wurden die Tiere durch die Kardioplegie stark belastet.

Rickaby et al. evaluierten in ihrer Studie den Einfluss der Hyperthermie auf das Lungengewebe ebenfalls an einem Hundemodell (Rickaby et al., 1991). Sie perfundierten 23 Hunden die linke Lunge mit 37°C in der Kontrollgruppe, mit 39,2°C bis 42,9°C in der ersten Versuchsgruppe und mit 43,6°C bis 44,9°C in der zweiten Gruppe. Die Flussrate betrug 5,0 ml/sec. Das Perfusat bestand entweder aus Vollblut oder Kochsalzlösung gemischt mit dem Blutvolumen der linken Lunge. Die Lunge wurde während der Perfusion beatmet. Jede Lunge wurde am Perfusionsbeginn mit 37°C über 31 Minuten perfundiert, um die Kontrollmessungen vorzunehmen. Danach wurde das Perfusat auf die entsprechende Temperatur der Versuchsgruppe erwärmt

und über zwei weitere Stunden perfundiert. Die Beurteilung der Lungenschädigung erfolgte mittels Bestimmung des intra- und extravaskulären Wassers, der Serotoninaufnahme und des Feucht/ Trocken Quotienten. Unter 44°C konnten keine temperaturbedingten Messwertveränderungen festgestellt werden. Über 44°C kam es zu einer Erhöhung des Perfusionsdrucks, besonders in den mit Blut perfundierten Lungen. Als Ursache könnte die Flexibilitätsverminderung der Blutzellen in Frage kommen. Zudem kam es zu einer deutlichen Zunahme des Feucht/ Trocken Quotienten. Weitere Veränderungen wie eine Zunahme des extravaskulären Wassers, des Lungengewichts und eine Abnahme der Compliance, die nicht temperaturassoziiert waren, traten bei jeder Perfusion auf. Die Abnahme der Compliance über die Perfusionszeit könnte Folge einer zunehmenden Mikroatelektasenbildung sein. Die Perfusion mit Nicht- Vollblutperfusat hatte den Vorteil, dass das Lungengewicht niedriger war als in den Versuchsgruppen, die mit Vollblut perfundiert wurden. Nachteile der Perfusion mit Nicht- Vollblut Präparaten konnten nicht gezeigt werden.

Johnston und Mitarbeiter verwendete in ihrer Studie Doxorubicin, das die aktivste Substanz gegen ein Sarkom darstellt, bei der gleichzeitig eine dosisabhängige Wirkungssteigerung besteht (Johnston et al., 1983). Allerdings ist die Maximaldosis durch die Kardiotoxizität begrenzt. Diese Studie sollte die für die Lunge höchst mögliche Doxorubicindosis mit möglichst geringen systemischen Nebenwirkungen evaluieren. Diese Kombination lässt sich am besten mit der isolierten Organperfusion erreichen.

Den Versuchstieren wurde die beatmete linke Lunge mit Vollblut und Doxorubicin zwischen 25 und 60 Minuten, einem Perfusionsdruck von 12- 15 mmHg bei einer Temperatur von 23°C bis 25°C perfundiert. Nach der zweiten postoperativen Woche wurden die Tiere rechtsseitig pneumonektomiert, um die Funktion der linken, perfundierten Lunge zu beurteilen. Die Tiere der Kontrollgruppe überlebten alle die Operationen und zeigten nach Pneumonektomie unveränderte Blutgase. In der ersten Perfusionsgruppe, in der mit Doxorubicinkonzentrationen zwischen 1 und 8 mg/kg gearbeitet wurde, überlebten nur die Tiere bis 2 mg/kg Doxorubicin im Perfusat die Pneumonektomie. Mit der zweiten Versuchsgruppe wurde eine Single-pass Perfusion mit einem sehr geringen Perfusatfluss von nur 30 ml/min

durchgeführt. Dieser geringe Fluss verteilte das Perfusat nicht gleichmäßig in der Lunge und führte zu einer starken, fokalen Lungenschädigung, so dass keines der Tiere überlebte. Die dritte Versuchsgruppe wurde einheitlich 45 Minuten mit 24,6°C, einer Flussrate zwischen 100 und 200 ml/ml und einem Perfusionsdruck unter 15 mmHg perfundiert. Die Doxorubicinkonzentration der Lunge lag bei $3,8 \pm 1,06 \mu\text{g/g}$, der pO_2 lag bei 500 mmHg, um eine Vasokonstriktion zu verhindern. In dieser Gruppe hatten alle Tiere vor und nach Pneumonektomie dieselben Blutgase und überlebten problemlos. Die Lungenschädigung war wie in der Kontrollgruppe lediglich eine milde, fokale, pleurale und subpleurale interstielle Fibrose.

Diese Studie zeigte, dass die Lungenschädigung nach Perfusion auf das zugesetzte Pharmaka zurückzuführen ist, wobei eine Gewebekonzentration von 10 bis 20 $\mu\text{g/g}$ Doxorubicin gut toleriert wurde. Ein Perfusatfluss unter 100 ml/min darf zur gleichmäßigen Perfusion nicht unterschritten werden. Die hier verwendete Hypothermie soll einen protektiven Effekt auf das Lungengewebe bewirken. Gleichzeitig ist aber eine deutlich verbesserte Wirkstoffaufnahme des Lungengewebes bei erhöhter Temperatur nachgewiesen, der in Anbetracht der geringen Lungenschädigung durch die Perfusion bedeutender erscheint.

Baciewicz et al. etablierten eine Studie, um die Pharmakokinetik, die Toxizitätsgrenze und die Optimaldosis von Doxorubicin für die isolierte Lungenperfusion an Hunden festzustellen (Baciewicz et al., 1991). Sie perfundierten 22 Tiere, die in sechs Gruppen eingeteilt waren. Die erste Gruppe diente als Kontrollgruppe und wurde ohne Wirkstoff perfundiert. Die restlichen fünf Gruppen wurden mit ansteigender Doxorubicinkonzentration von 1,95 $\mu\text{g/ml}$ bis 7,61 $\mu\text{g/ml}$ im Perfusat perfundiert. Die Perfusion erfolgte beatmet, normotherm, über 45 Minuten, mit einem Fluss von 0,21 l/min, einem Druck von nicht mehr als 5- 20 mmHg und einem pH- Wert von 7,4. Alle Versuchstiere bis auf eines, hatten nach der Perfusion eine Sauerstoffsättigung von über 90 % und eine pCO_2 zwischen 30- 45 mmHg. Bei keinem Tier konnte eine systemische Doxorubicinkonzentration von über 5 ng/ml festgestellt werden. In dieser Studie kam es ab einer Konzentration von 4 $\mu\text{g/ml}$ Doxorubicin im Perfusat zu einem Plateau der Medikamentenkonzentration im Lungengewebe, das sich unter Umständen durch gleichzeitige Anwendungen einer hyperthermen Perfusion nach oben verschieben lassen könnte. Studien dazu stehen noch aus. Bis 6 $\mu\text{g/ml}$ waren

lediglich minimale Schädigungen festzustellen. Konzentrationen ab 7 µg/ml führten zu signifikanten histologischen Veränderungen, einem moderaten Lungenödem, einer interstitiellen Infiltration und einer klinischen Schädigung.

Furrer untersuchte mit seinem Team verschiedene Methoden der Zytostatikaapplikation für die Lunge an Schweinen (Furrer et al., 1998). Dabei verglichen sie die isolierte Lungenperfusion mit der blood-flow-occlusion-Technik (BFO) und der intravenösen Doxorubicingabe. Die BFO führte zu einer deutlichen systemischen Doxorubicinbelastung, die zu einer der intravenösen Therapie vergleichbaren Myokardkonzentration führte, die bei der ILP nicht feststellbar war.

Progrebniak et al. wählten das Schwein als Versuchstier, um den Einfluss verschiedener TNF-α Konzentrationen auf das Lungengewebe nach isolierter Lungenperfusion zu untersuchen (Progrebniak et al., 1994). Dabei stellten sie fest, dass die Perfusion den pulmonalarteriellen Druck erhöhte, zu einem verminderten Herzzeitvolumen und einem leichten Abfall des systemischen Blutdrucks führte. Alle Tiere der Sham-Gruppe überlebten die Perfusion und die Nachbeobachtungszeit. In der Gruppe mit 40 µg/kg und in der mit 39°C perfundierten Gruppe überlebten jeweils zwei der drei Tiere. In der 80 µg/kg Gruppe überlebte ein Tier. Die überlebenden Tiere zeigten eine geringere Wirkstoffkonzentration in der Lunge, als die direkt nach der Perfusion verstorbenen Schweine. Die Studie demonstrierte, dass bei komplett getrennten Perfusionskreisläufen eine Konzentration von bis zu 80 µg/kg toleriert werden kann. Eine Kombination unterschiedlicher Hyperthermiebereiche in Kombination mit der optimalen TNF-α Konzentration wurde nicht untersucht.

Die klinische Einführung der isolierten hyperthermen Lungenperfusion am Menschen setzt die vorherige Etablierung dieses Verfahrens im Tierexperiment voraus. Die bisher vorhandenen Modelle sind insofern limitiert, als sie als Akutmodelle keine Aussagen zum erworbenen Lungenschaden zulassen und als chronische Versuche keine Differenzierung und Quantifizierung des Einflusses der verschiedenen Perfusionsbedingungen zulassen.

4.1.3 Humane Anwendung

In einzelnen Pilotstudien wurde die isolierte Lungenperfusion bereits klinisch erprobt. So führten Johnston et al. bei 8 Patienten im Alter zwischen 18 und 60 Jahren eine Lungenperfusion durch (Johnston et al., 1995). Drei erhielten eine Einzel-Lungenperfusion und fünf eine Doppel- Lungenperfusion. 4 Patienten litten unter einem Primärtumor der Lunge, drei hatten Metastasen eines Weichteilsarkoms. Sie variierten dabei jeweils verschiedene Perfusionsparameter. Die Perfusionsdauer lag zwischen 45 und 60 Minuten, es wurden 2 verschiedene zytostatische Substanzen (6 Patienten mit Doxorubicin, 2 Patienten mit Cisplatin) verwendet, und ein Patient wurde zusätzlich mit milder Hyperthermie (40°C) perfundiert. Auch die Konzentration des Doxorubicins war nicht einheitlich. 6 Patienten wurden mit 1 und 10 µg/ml Doxorubicin und 2 Pat mit 14- 20 µg/ml im Perfusat perfundiert. Die Operation verlief bei allen Patienten planmäßig ohne Komplikationen. Es lag praktisch immer eine vollständige Trennung des pulmonalen vom systemischen Kreislauf vor, wie an der Medikamentendosis im systemischen Kreislauf gezeigt werden konnte. Trotzdem profitierte keiner der Patienten von der Therapie. Alle verstarben in einem Zeitraum zwischen 23 und 151 Tagen durch das Fortschreiten des Tumorwachstums. Der ausbleibende Erfolg war wahrscheinlich auf die zu geringe Medikamentenkonzentration im Perfusat zurückzuführen. Sowohl die Konzentration der Medikamente als auch die Temperatur für die Hyperthermiebehandlung bestimmten Johnston et al. aus Versuchen am Kleintiermodell (Rickaby et al., 1991). Sie unterschritten die Maximaldosis jedoch bewusst aus ethischen Gründen, da er die klinische Aussagekraft von Kleintiermodellen im Bezug auf die Optimaldosis als „Spekulation“ bezeichnete.

Pass et al. führten eine Phase I Studie mit 20 Patienten zwischen 24 und 59 Jahren durch, die an nicht resektablen Lungenmetastasen litten, um die Verträglichkeit einer Einzellungenperfusion mit TNF- α , Interferon- γ und moderater Hyperthermie (zwischen 38,0°C und 39,5°C) auf das Lungengewebe klinisch zu erforschen (Pass et al., 1996). Die Dosis des rekombinanten TNF- α lag zwischen 0,3 und 0,6 mg, die des INF- γ bei 0,2 mg. Ein vorübergehender Rückgang der Metastasen auf der perfundierten Lungenseite bei drei Patienten und eine gute Verträglichkeit der Therapie durch das Lungengewebe konnten festgestellt werden. Allerdings muss die Reaktion des Lungengewebes auf Zytokinperfusionsen noch umfangreicher erforscht

werden, um die Optimaldosis und Toxizitätsgrenze zu evaluieren. Die Verbesserung der TNF- α Wirkung durch gleichzeitige Temperaturerhöhung ist aber belegt (Niitsu et al., 1988).

Ratto et al. führten in einer Studie bei 6 Patienten zwischen 33 und 61 Jahren mit pulmonalen Metastasen eines Weichteilsarkoms eine isolierte Lungenperfusion durch (Ratto et al., 1996). Die Lungenmetastasen sollten alle nach der Perfusion in derselben Sitzung entfernt werden. Sie setzten dem Perfusat 200 mg/m² Cisplatin zu. Die normotherme Perfusion (37,0°C- 37,5°C) wurde 60 Minuten durchgeführt. Die Perfusionslösung bestand aus Ringerlösung, Tromethamine und Heparin. Die Flussrate lag zwischen 200 und 280 ml/min, der Druck im arteriellen Schenkel unter 25 mmHg, um Lungenschäden zu verhindern. Die gleichmäßige Verteilung des Perfusats wurde durch Anfärbung mit Methylenblau kontrolliert. Die Lunge wurde während der Perfusion nicht ventiliert, das Perfusat des Lungekreislaufs aber durch einen Oxygenator geführt, um eine reflektorische Vasokonstriktion durch Hypoxie zu verhindern. Zum Auswaschen des Perfusats verwendeten Ratto et al. 4000 ml Ringerlösung, gepuffert mit Bikarbonat. Intraoperative Komplikationen traten ebenfalls nicht auf, es bestand zudem keine Mortalität durch das Verfahren. Im Vergleich zwischen den Werten FVC und FEV₁ vor OP sowohl 10 als auch 30 Tage nach der Operation, war ein signifikanter Abfall zu ermitteln. Wesentliche Ursache schien hier aber die Metastasektomie zu sein. Die Werte zeigten aber eine andauernde kontinuierliche Verbesserung nach der Operation und bei 2 Patienten kam es nach 12 Monaten sogar zu einer Wiederherstellung der Ausgangswerte. Somit erscheinen diese Schädigungen reversibel. Ratto und Mitarbeiter verwendeten Cisplatin, weil bereits in anderen Studien gezeigt wurde, dass es nur geringen Lungenschaden auslöst und unterschiedliche Tumorarten auf Platin sehr gut ansprechen (Ratto et al., 1993; Dirix et al., 1994; Budd et al., 1993). So sieht die Forschungsgruppe um Ratto den Schaden durch den operativen Eingriff für den Patienten bedeutender als die Schädigung durch die Perfusion. Allerdings ist die Operation zur Metastasektomie ohnehin nötig, und die Perfusion stellt somit nur noch einen ergänzenden Operationsschritt dar und ist damit ethisch unproblematisch.

4.2 Diskussion der eigenen Ergebnisse

In der hier vorgelegten Studie wurde wie bei den vorgestellten Autoren eine Single-Lungenperfusion nach dem Vorbild von Pierpont durchgeführt, die sich aber im Gegensatz zu den Studien der anderen Autoren durch die Variation nur **einer** Variablen im gesamten Perfusionsablauf auszeichnete (Pierpont et al., 1960). Sämtliche anderen Variablen wurden konstant gehalten, um so bewusst eine gezielte Aussage über die Variable „**Perfusionstemperatur**“ machen zu können. Somit waren durch diese Studie repräsentative Aussagen über den Einfluss der unterschiedlichen Temperaturen auf das Lungengewebe möglich.

Die vorliegende Studie stellt die erste systematische Untersuchung zum Einfluss der Temperatur auf eine akute Lungenschädigung im Rahmen der isolierten Lungenperfusion dar.

4.3 Parameter zur Beurteilung der Lungenfunktion

Die Parameter, mit denen man die Lungenfunktion beurteilen kann, sind sehr vielfältig. Es gibt sowohl makroskopische und morphologische Parameter, mit denen die Lungen eher global beurteilt werden, als auch mikroskopische, histologische, zelluläre, bis hin zu biochemischen Veränderungen, die sehr viel detaillierte Aussagen über die einzelnen Mechanismen der Schädigung Aussagen machen können. Mit einer Kombination dieser Parameter sind Aussagen über Schädigungsmechanismen und Wirkungen der hyperthermen Perfusion möglich.

Klinisch wesentlich relevanter und einfacher festzustellen sind aber die funktionellen Veränderungen des Lungengewebes. So sind die Hämodynamikwerte und die Blutgasaustauschparameter die limitierenden Parameter bei der praktischen Anwendung der isolierten hyperthermen Organperfusion. Diese Werte sind somit am besten geeignet, die Schädigung des Lungenparenchyms nach Perfusion zu beurteilen (Kirk et al., 1993). Die Aussagekraft morphologischer Parameter für die Beurteilung des Lungenparenchymschadens ist insofern eingeschränkt, als Strukturveränderungen nach Ischämie im Allgemeinen heterogen sind und nicht sehr stark mit den Funktionseinschränkungen korrelieren (Haverich et al., 1985; Kirk et al., 1993). Dazu sind histologische Veränderungen nicht in einem Zeitraum von nur 6

Stunden nach der Operation festzustellen (Ratto et al., 1996). Größere Abweichungen biochemischer Parameter sind tolerabel, insbesondere wenn diese nur in der akuten Phase auftreten und reversibler Art sind (Kirk et al., 1993).

Nach internationalem Konsens werden als entscheidende Kriterien der Beurteilung des Lungenschadens folgende Parameter angesehen (Haverich et al., 1985; Kirk et al., 1993):

- die Oxygenierungsleistung
- der pulmonal-inspiratorische Spitzendruck (PIP)
- der pulmonal-arterielle Druck (PAP) bzw. pulmonal-vaskuläre Widerstand (PVR)
- die Zunahme des Wassergehalts der Lunge (W/D Ratio)

Diese Parameter wurden auch in dieser Studie erhoben. Der postoperative Gasaustausch ist sicherlich der empfindlichste und auch klinisch entscheidende Faktor für die Schädigungsreaktion nach Lungenperfusion. Die höchste Sensitivität besitzt dabei die relative Oxygenierungskapazität (Toledo- Pereyara et al., 1978; Kirk et al., 1993). Besonders sensibel ist auch der arterielle Sauerstoffpartialdruck (pO_2), der gut mit der Schädigungsreaktion korreliert und mit der AOC ausgedrückt wird (Taft et al., 1967; Veith et al., 1971; Veith et al., 1976; Garzon et al., 1977; Modry et al., 1983). Weniger sensibel sind dagegen der PVR, der PIP und die W/D Ratio (Haverich et al., 1985; Locke et al., 1988; Keshavjee et al., 1989; Wang et al., 1989; Novick et al., 1991).

4.3.1 Diskussion der Perfusionsparameter

Der Perfusionsfluss wurde durch die Rollerpumpe der Perfusionseinheit erzeugt. Die Flussrate lag nach anfänglicher Steigerung in Abhängigkeit vom Perfusionsdruck bei ungefähr 800 ml/min und unterschied sich in den unterschiedlichen Gruppen nicht. Eine ähnliche Flussrate in den einzelnen Versuchsgruppen war für eine vergleichbare und homogene Anwärmung der Lunge entscheidend. Dabei darf ein Perfusionsfluss von 100 ml/min zur gleichmäßigen Perfusion und Anwärmung nicht unterschritten werden (Johnston et al., 1983). Besser sind höhere Flussraten,

solange der Perfusionsdruck nicht das physiologische Niveau von 35 mmHg übersteigt. Einzelne Forschungsgruppen, wie Rickaby et al. verwendeten Perfusionsraten von 300 ml/min, die meisten Gruppen jedoch einen deutlich höheren Perfusionsfluss, wie Cowen et al., die zwischen 600 und 1000 ml/min perfundierten, um eine homogen Perfusion des Organs zu gewährleisten (Rickaby et al., 1991; Cowen et al., 1992). Dabei handelte es sich um einen kontinuierlichen Fluss. Als Nachteil dieses kontinuierlichen nicht-pulsatilen Perfusionsflusses ist in der Literatur eine reaktive Vasokonstriktion beschrieben worden, welche zu einer verstärkten Ödembildung führte (Hausen et al., 1996). Diese kann durch eine schrittweise Steigerung des Perfusionsflusses gemindert werden (Bhabra et al., 1996), wie es auch in dieser Versuchsreihe praktiziert wurde und in der Verlaufskurve der Flussrate nachvollzogen werden kann.

Entscheidend während der Perfusion ist der Perfusionsdruck, der sich unbedingt am normalen physiologischen Blutdruck des Organs orientieren muss. Das entspricht für die Lungenperfusion maximal 35 mmHg (Ratto et al., 1996). Der Perfusionsdruck ergibt sich aus dem arteriellen Zufluss durch die Perfusionseinheit, dem Gefäßwiderstand der Lunge und dem venösen Abfluss. Ein zu hoher Druck im arteriellen Schenkel oder eine Abflussbehinderung, die beispielsweise durch eine verrutschte venöse Drainagekanüle entstehen kann, führt umgehend zur Organschädigung und Ödembildung, indem Flüssigkeit durch die Kapillaren in den interstitiellen Raum oder in die Alveolen abgepresst wird (Johnston et al., 1983). Dieser Schädigung kann man in engen Grenzen durch eine leichte PEEP- oder PIP-Erhöhung entgegen wirken. Aus diesen Gründen verwendeten die meisten Autoren übereinstimmend Perfusionsdrücke um 20 mmHg (Johnston et al., 1983; Baciewicz et al., 1991). Auch in der vorgestellten Versuchsreihe lag der Perfusionsdruck nicht oberhalb des angegebenen Maximalwerts von 35 mmHg. Allerdings stieg der Perfusionsdruck in der VG 38 im Perfusionsverlauf von anfangs 21,7 mmHg zum letzten Messpunkt auf diesen Wert an. Dies deutet auf eine reaktive Vasokonstriktion der Lunge, bedingt durch die normotherme Perfusion hin, die als Schädigungsreaktion betrachtet werden kann. Die Perfusion mit 41,5 °C wurde gut von der Lunge toleriert. Ein dazu kohärentes Ergebnis lieferte auch die PVWI-Messung während der Perfusion. In der VG 41,5 war bei höchstem Perfusionsfluss und niedrigstem Perfusionsdruck der geringste PVWI festzustellen. Damit reagierte

die VG 41,5 nicht mit Vasokonstriktion auf die Perfusion und tolerierte die Perfusion somit am besten.

Das Perfusat sollte den gleichen kolloid-osmotischen und osmotischen Druck des Blutes besitzen, um nicht wie isotone Salzlösungen in das Gewebe aufgenommen zu werden, was zu Ödembildung führen würde (Ratto et al., 1996). Das in dieser Versuchsreihe eingesetzte Stärke-Derivat Hydroxyäthylstärke (HAES) mit einem mittleren Molekulargewicht von 200 000 Dalton wurde von vielen Versuchsgruppen ebenfalls eingesetzt und von Weksler et al. als Perfusionslösung mit der geringsten Ödembildung benannt (Weksler et al., 1995). Dies ist laut Ratto zur Vermeidung der Ödembildung ebenso wichtig wie eine hohe Sauerstoffsättigung im Perfusionskreislauf (Ratto et al., 1995). Diese wurde über eine durchgehende Beatmung der perfundierten Lunge und einer zusätzlichen Oxygenierung des Perfusats mit einem Oxygenator auf hohem Niveau gehalten. Auch Johnston und Mitarbeiter verwendeten einen pO_2 im Perfusat von 500 mmHg, um eine reflektorische Vasokonstriktion in der Lunge durch Hypoxie zu vermeiden (Johnston et al., 1983). Der pH-Wert wurde durch Pufferung mit Natriumbikarbonat ebenso wie die Temperatur konstant gehalten, um eine metabolische Schädigung und eine zusätzliche Verschiebung der Sauerstoffbindungskurve des Hämoglobins zu verhindern. Vollblutperfusionsen führten zu stärkerer Ödembildung, einem erhöhten Lungengewicht, einer Widerstandserhöhung im pulmonalen Gefäßsystem durch den möglichen Flexibilitätsverlust der Erythrozyten bei erhöhten Temperaturen und bei Zugabe von Zytostatika zu einem negativen substanzbindenden Effekt durch die enthaltenen Albumine und sind daher nicht empfehlenswert (Rickaby et al., 1991).

Die Perfusionszeiten unterschieden sich in den verschiedenen Versuchsgruppen praktisch nicht, und konnten somit nicht die Gruppenunterschiede der verschiedenen Parameter erklären. In der hier vorgestellten Studie lag die Perfusionszeit bei 40 Minuten mit einer wash-out Dauer von 5 Minuten, weil die Zeitspanne zur Induktion von hyperthermen Veränderungen mit 30 bis 60 Minuten angegeben wird (Vogel et al., 1998). In anderen Studien wurden ebenfalls Perfusionszeiten zwischen 45 und 60 Minuten angegeben (Baciewicz et al., 1991; Cowen et al., 1992; Johnston et al., 1995; Ratto et al., 1996).

Durch das hypertherme Perfusat wurde die Lunge auf die entsprechende Temperatur angewärmt. Die schnelle Erwärmung war durch die umfangreiche Vaskularisierung der Lunge gewährleistet und zeigte, dass es sich bei der isolierten Perfusion um eine effektive Methode zur raschen und homogenen Erwärmung der Lunge handelte. Durch die getrennte Temperaturmessung des Ober- und Unterlappens, die praktisch identische Kurvenverläufe zeigten, wurde die gleichmäßige Erwärmung beider Lungenlappen und dadurch der gut verteilte Perfusatfluss im Gewebe nachgewiesen.

Es wurden die Temperaturschritte 38,0°C, 40,0°C und 41,5°C gewählt. Wie in Kapitel 1 erwähnt, gaben mehreren Autoren 40°C bis 41,5°C als klinisch relevanten Temperaturbereich, sowohl für die zytotoxische als auch für die supportive Wirkung bei der kombinierten Anwendung mit Chemotherapeutika an. So nennen zum Beispiel Johnston et al. den Temperaturbereich um 40,0°C (Johnston et al., 1995). Di Filippo und Mitarbeiter geben 41,5°C als Temperaturoptimum zur Perfusion an (Di Filippo et al., 1998). Lin et al. zeigten einen signifikanten Rückgang der Durchblutung und ein Auftreten von Mikroembolien nach einstündiger Hyperthermiebehandlung mit 42,5°C, was auf die gesteigerte Empfindlichkeit der neu ausgebildeten dünnwandigen Kapillaren zurückzuführen ist (Lin et al., 1996). Dies kann zwar zu einer Nekrose des Tumorgewebes führen, ist aber bei der isolierten Organperfusion nicht unbedingt erwünscht, da durch den Verschluss der Gefäße der Blutfluss im Tumor unterbunden wird und somit das Gewebe nicht mehr auf die entsprechende Temperatur angewärmt werden kann. Gleichzeitig geht der Perfusionsfluss zurück und der Perfusionsdruck steigt an, was zu einer zusätzlichen Ödembildung führt. Zusätzlich ist es bei einer kombinierten Chemotherapie nicht mehr möglich, Wirkstoff im Tumorgewebe anzureichern. Somit sollte die Zieltemperatur unter 42,5°C liegen.

Auch andere Autoren empfahlen für Leber- und Extremitätenperfusion einen Temperaturbereich um 41°C, der auch in der hier vorgestellten Studie für die Lungenperfusion als optimal angegeben wird. Bei der isolierten Extremitätenperfusion wird praktisch immer eine gleichzeitige Hyperthermie zwischen 38°C und 41°C angewendet (Krementz et al., 1994). Hohenberg et al. empfahlen eine Temperatur von 41,5°C, um gewebeschonend die Zytostatikawirkung und somit den Therapieeffekt zu potenzieren (Hohenberg et al., 1994). Cavliere und Mitarbeiter verwendeten Temperaturen bis 43,5°C, allerdings mit einer nicht akzeptablen

Mortalität von 27 % (Cavliere et al., 1967). Die Forschungsgruppe um Fraker perfundierte mit 42°C warmem Perfusat und erreichte damit Gewebstemperaturen zwischen 39°C und 40°C zusammen mit TNF- α (Fraker et al., 1996). Auch Nakano et al. verwendeten mit guten Ergebnissen eine Perfusattemperatur von 41,5°C bis 42°C (Nakano et al., 1999).

Bei der isolierten hyperthermen Leberperfusion werden von den meisten Autoren Temperaturen zwischen 40°C und 41°C als optimal betrachtet. Oldhafer et al. erzielten mit der isolierten hyperthermen Leberperfusion zwischen 40°C und 41°C in Kombination mit TNF- α sehr gute Ergebnisse ohne Parenchymschädigung (Oldhafer et al., 1998). Hafström und Mitarbeiter perfundierten die Leber mit 40°C, um den synergistischen Effekt der Hyperthermie auf die Chemotherapie und die eigene zytotoxische Wirkung der Hyperthermie zu nutzen (Hafström et al., 1994). Temperaturen bis 41°C sind nach ihren Angaben ohne negativen Effekt auf das Lebergewebe anwendbar.

4.3.2 Diskussion der Funktionsparameter

4.3.2.1 Gasaustausch

Betrachtet man die absolute Oxygenierungskapazität als einen der aussagekräftigsten Parameter, so ergab sich in der vorgestellten Versuchsreihe erstens, dass der Perfusionsschaden der Lunge gering war (Toledo- Pereyara et al., 1978; Kirk et al., 1993). Dies zeigte sich an den nahe der Sham- Gruppe liegenden Ausgangswerten der Perfusionsgruppen. Zweitens war festzustellen, dass dieser Schaden reversibel sein kann, da sich die VG 41,5 vollständig von diesem erholte und drittens die Perfusion mit einer Temperatur von 41,5°C offensichtlich besser von dem Lungengewebe toleriert wurde, als die Perfusion mit 38°C oder 40°C. In der vorliegenden Versuchsreihe ergab sich für die VG 38 und VG 40 nach anfänglich guten aber schwankenden Werten gegen Ende der Nachbeobachtungsphase die niedrigste Oxygenierungskapazität. Diese beiden Gruppen hatten somit den höchsten Reperfusionsschaden erlitten. In der Reihenfolge mit zunehmendem Quotienten folgte die VG 41,5, die sich über die Nachbeobachtungszeit der Gruppe

mit dem geringsten Schaden, der Sham- Gruppe, anglich und nur einen initialen, reversiblen Perfusionsschaden aufwies.

Die relative Oxygenierungskapazität ist ebenfalls ein sehr aussagekräftiger Parameter zur Beurteilung der Lungenfunktion (Haverich et al., 1985). Andere Versuchsgruppen demonstrierten nach Perfusion einen leichten Rückgang der relativen Oxygenierungskapazität (Pass et al., 1996; Ratto et al., 1996). In der hier vorgestellten Studie zeigte die VG 41,5 den stabilsten Verlauf mit den höchsten und damit günstigsten Werten aller Gruppen. Die übrigen Versuchsgruppen zeigten einen deutlichen Abfall der Oxygenierungskapazität über den Nachbeobachtungszeitraum und somit eine Schädigung. Die VG 40 stellte insgesamt den ungünstigsten Kurvenverlauf dar, gefolgt von der VG 38 und der SG, die auf sehr ähnlichem Niveau lagen.

Die alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz demonstrierte in allen Versuchsgruppen einen leichten Anstieg und somit eine leichte Verschlechterung der Messwerte über den Nachbeobachtungszeitraum. Die niedrigsten Werte und damit den besten Verlauf zeigte erneut die VG 41,5. Die alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz in den übrigen Versuchsgruppen unterschied sich kaum.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Perfusion der Lunge mit 41,5°C der Lungenperfusion mit geringeren Temperaturen überlegen war und am Ende der Nachbeobachtungszeit teilweise sogar das Niveau der Sham- Gruppe übertraf. Die Perfusionsschäden waren funktionell vollständig reversibel. Die Untersuchung der Lungenfunktion mit Hilfe der absoluten und relativen Oxygenierungskapazität und der alveoloarteriellen Sauerstoffdifferenz lieferten kohärente Ergebnisse.

4.3.3 Hämodynamik

Zur Beurteilung der Funktion und des Reperfusionsschadens des pulmonalen Gefäßsystems, welches besonders der Schädigung durch die Perfusion und der darauf folgenden Reperfusion unterliegt, weil es direkt der Perfusionslösung ausgesetzt ist, wird oft der PVWI herangezogen. Allerdings korreliert der PVWI nicht immer sehr gut mit der anhand der Oxygenierungsleistung bewerteten Lungenschädigung (Haverich et al., 1985; Kirk et al., 1993). Außerdem zeigte Jahr

(Jahr et al., 1997) unter dem Einfluss einer konstanten Perfusion mittels Rollerpumpe Dysregulationen des Gefäßtonus peripherer Gefäße und somit des PVWI. Obwohl diese am Skelettmuskel durchgeführt wurden, sind ähnliche Veränderungen durchaus auch an der Lunge denkbar. Dabei überwiegt die vasokonstriktorische Komponente im Gefäßtonus deutlich. In der hier vorgestellten Studie bestätigte sich auch durch diesen Messparameter die schlechte Tendenz der VG 38 im Vergleich zu den übrigen Versuchsgruppen. Dies wurde statistisch ebenfalls deutlich. Dennoch zeigte die VG 38 eine dafür gute Oxygenierung. Einen sehr hohen Ausgangswert demonstrierte auch der Kurvenverlauf der VG 40, der am Ende auf dem Niveau der Sham- Gruppe lag und somit nur eine reversible Schädigung erlitt. Allerdings war die Oxygenierung im Vergleich zu den guten PVWI- Werten gering. Einen niedrigen und damit günstigen und sehr konstanten Verlauf zeigte die VG 41,5, die wie durch die anderen Messwerte bestätigt, nur eine geringe Schädigung aufwies. Hier zeigte sich eine gute Korrelation zwischen niedrigem PVWI und hoher Oxygenierung.

Auch bei den mPAP- Werten demonstrierte die VG 41,5 den konstantesten und niedrigsten Verlauf aller Versuchsgruppen. Statistische Unterschiede konnten jedoch nicht gefunden werden. Dies korreliert mit den Ergebnissen Rickabys et al., die nach isolierter Lungenperfusion ebenfalls keine mPAP Veränderungen finden konnten (Rickaby et al., 1991).

Der Messparameter HI ist, wie oben bereits erwähnt, im Hinblick auf den Grad der Lungenschädigung nur eingeschränkt aussagekräftig. Dennoch unterstrich er den verstärkten Reperfusionsschaden der VG 38, die sich davon auch nicht erholte und im weiteren Verlauf zunehmend verschlechterte. Auch in anderen Studien verringerte sich der HI im Nachbeobachtungszeitraum (Progrebniak et al., 1994). Der HI der VG 41,5 war im gesamten Nachbeobachtungsintervall auf dem Niveau der Sham- Gruppe, was auf einen minimalen Reperfusionsschaden hinwies.

4.3.4 Ventilation

Der pulmonal- inspiratorische Spitzendruck verhielt sich umgekehrt proportional zur Lungencompliance und korrelierte mit dem Ödemgrad. Dieser Messwert unterstützte die Beobachtung der geringsten Lungenschädigung durch die Perfusion mit 41,5°C. Die VG 41,5 zeigte nach der SG die geringsten und damit günstigsten Messwerte.

Deutlich höhere PIP- Werte demonstrierten die VG 38 und VG 40, die somit stärker durch die Perfusion geschädigt wurden als die VG 41,5. In diesen beiden Gruppen zeigte sich zudem eine verstärkte Ödembildung und eine deutliche Verminderung der dynamischen Compliance. Die dynamische Compliance der VG 41,5 hatte nach der SG den stabilsten und höchsten Verlauf, und damit erneut den geringsten Reperfusionsschaden. Generell ist im Verlauf der Nachbeobachtung mit einer leichten Abnahme der dynamischen Compliance zu rechnen (Rickaby et al., 1991).

Durch Beurteilung der Lungenfunktion mit Hilfe des PIP und der dynamischen Compliance lies sich die VG 41,5 erneut als die Versuchsgruppe mit dem geringsten Reperfusionsschaden hervorheben.

4.3.5 W/D-Ratio

Der Feucht/ Trocken Quotient (W/D- Ratio) des Lungengewebes ist ein Maß für die Ödembildung in der Lunge, der keine Gruppenunterschiede erkennen ließ. Dieser Parameter erschien nicht sensitiv genug, um die geringen Unterschiede in der Ödembildung infolge der isolierten Lungenperfusion aufzuzeigen. Auch in anderen Studien konnte die W/D- Ratio keine signifikanten Unterschiede demonstrieren (Rickaby et al., 1991; Ratto et al., 1996).

4.4 Ergebnis der Studie

Die Messwerte der Studie zeigten deutlich die Überlegenheit der isolierten hyperthermen Lungenperfusion mit 41,5°C gegenüber der normothermen Perfusion. Sämtliche Einzelmesswerte bestätigten diese Aussagen. Die absolute Oxygenierungskapazität zeigte ein gleiches Niveau wie die Sham- Gruppe und somit keine hyperthermie- oder perfusionsbedingten Schäden, während die mit niedrigeren Temperaturen perfundierten Versuchsgruppen einen wesentlich höheren Lungenschaden aufwiesen. Das gleiche Bild zeigte sich beim pulmonal-inspiratorischen Spitzendruck. Auch hier wies eine Perfusion mit 41,5°C klare Vorteile gegenüber niedrigeren Temperaturbereichen auf. Auch der pulmonal-arterielle Druck und der pulmonal- vaskuläre Widerstandsindex, die als hämodynamische Werte die Reaktion des Gefäßsystems der Lunge widerspiegeln, korrelierten zwischen VG 41,5 und der Sham- Gruppe.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse sollte die isolierte hypertherme Lungenperfusion mit einer Perfusattemperatur von 41,5°C durchgeführt werden, weil ersten in diesem Temperaturbereich die geringsten Schäden am Lungengewebe verursacht werden, zweitens dieser Temperaturbereich die größte therapeutische Effektivität verspricht und drittens die zelluläre Resorption einer begleitenden Zytostatikaperfusion potentiell am größten ist.

5 Zusammenfassung

Nach ersten Therapieansätzen in den sechziger Jahren gibt es seit den achtziger Jahren Versuche mit verschiedenen tierexperimentellen Modellen die isolierte Lungenperfusion zu etablieren. Die Erfahrungen beruhen aber im Wesentlichen auf Kleintiermodellen, wenigen Großtiermodellen und einer sehr limitierten Anzahl an Phase I- und Phase- II- Studien am Menschen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt keinerlei etablierte Therapiekonzepte im Rahmen der isolierten Lungenperfusion.

Dabei stellt die isolierte Lungenperfusion ein Therapieverfahren dar, das die Ergebnisse der Therapie von Lungentumoren verbessern könnte, da durch die isolierte Perfusion sehr hohe Medikamentenkonzentrationen bei geringsten systemischen Nebenwirkungen erreicht werden können. Bei der isolierten hyperthermen Perfusion besitzt die Hyperthermie eine eigene zytotoxische als auch supportive Wirkung bei der kombinierten Anwendung mit Chemotherapeutika. Zudem ist die Applikation der Hyperthermie bei einer isolierten Organperfusion unkompliziert. Allerdings gibt es bisher nur sehr wenige Erkenntnisse über die Verträglichkeit des Lungenparenchyms auf die isolierte hypertherme Perfusion.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Verträglichkeit des normalen Lungengewebes gegenüber der isolierten hyperthermen Lungenperfusion in unterschiedlichen Temperaturbereichen systematisch an einem Schweinmodell zu untersuchen. Die Untersuchungen dienen der Vorbereitung des gefahrlosen Einsatzes der isolierten hyperthermen Lungenperfusion beim Menschen. Die vorliegende Studie stellt die erste systematische Untersuchung zum Einfluss der Temperatur auf eine akute Lungenschädigung im Rahmen der isolierten Lungenperfusion dar.

Im Einzelnen wurden die Versuchsgruppen mit den verschiedenen Temperaturschritten zwischen 38°C und 41,5°C über 45 Minuten perfundiert und nach Reperfusion über 6 Stunden nachbeobachtet. Als Kontrolle diente eine Sham-Gruppe, die zwar identisch präpariert, aber nicht perfundiert wurde. Dabei wurden hämodynamische und ventilatorische Parameter gemessen sowie die Gasaustauschfunktion der Lunge bestimmt. Zur Ödemevaluation wurde im Anschluss daran die W/D Ratio bestimmt.

Als Ergebnis der Studie zeigte sich deutlich die Überlegenheit der isolierten hyperthermen Lungenperfusion mit 41,5°C gegenüber der normothermen Perfusion. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse sollte die isolierte hypertherme Lungenperfusion immer mit einer Perfusatemperatur von 41,5°C durchgeführt werden, weil erstens in diesem Temperaturbereich die geringsten Schäden am Lungengewebe verursacht werden, zweitens dieser Temperaturbereich die größte therapeutische Effektivität verspricht und drittens die zelluläre Resorption einer begleitenden Zytostatikaperfusion potentiell am größten ist.

6 Literaturverzeichnis

L Abolhoda A, Brooks A, Nawata S, Kaneda Y, Cheng H and Burt ME (1997)
Isolated lung perfusion with doxorubicin prolongs survival in a rodent model of
pulmonary metastases
Ann Thorac Surg 64:181- 184

Aigner K, Walther H, Tonn JC, Krahl M, Wenzl A, Merker G und Schwemmler K
(1982)
Die isolierte Leberperfusion mit 5-Fluorouracil (5-FU) beim Menschen
Chirurg 53: 571-573

Alexander RB and Rosenberg SA (1991)
Tumor necrosis factor: clinical applications
In: DeVita. S Hellman and SA Rosenberg, (eds.) Biologic Therapy of Cancer
Philadelphia: JB Lippincott. 378- 92

Ansfield F, Klotz J and Nealon (1977)
A phase II Study comparing the clinical utility of four regimes of 5-fluorouracil
Cancer 39:34- 40

Ardenne von, M (1981)
Krebs- Mehrschritt- Therapie
Deutsches Ärzteblatt Heft 33

Asher A, Mulé JJ, Reichert CM, Shiloni A and Rosenberg SA (1987)
Studies on the anti-tumor efficacy of systemically administered recombinant tumor
necrosis factor against several murine tumors in vivo
J Immunol 138:963- 74

Ausman RK (1961)
Development of a technic for isolated perfusion of the liver
N.Y. State J Med 61:3993

Aust JB, Ausman RK (1960)
The technic of liver perfusion
Cancer Chemother Rep 10:23

Baciewicz FA, Arredondo M, Chaudhuri B, Crist K, Basilius D, Bandyopadhyah S,
Thomford N and Chaudhuri P (1991)
Pharmacokinetics and Toxicity of Isolated Perfusion of Lung with Doxorubicin
Journal of Surgical Research 50:124- 128

Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE and Hooper L (1996)
Critical importance of the first 10 minutes of lung graft reperfusion after hypothermic
storage
Ann Thorac Surg 61:1631- 1635

Bonser RS, Fragomeni LS, Jamieson SW and Kaye MP (1990)
Canine double-lung allotransplantation: operative technique and results for 12h
preservation studies
J Invest Surg 3:77- 88

Bridges BA, Ashwood- Smith MJ and Munson RJ (1969)
Correlation of bacterial sensitivities to ionizing radiation and mild heating
J gen Microbiol 58:115

Budd GT, Metch B and Weiss SA (1993)
Phase II trial of ifosfamide and cisplatin in the treatment of metastatic sarcomas : a
SWOG study
Cancer Chemother Pharmacol 31:213- 6

Bühl A (1996)
SPSS für Windows

Bush W (1866)
Über den Einfluss, welchen herpetogene Erysipelien zuweilen auf organisierte
Neubildungen ausüben.

Verhandl Naturh Preuss; Westphal 23:2830

Caplan A (1999)

The case for using pigs

Bull World Health Organ 77: 67- 8

Cardella JA, Keshavjee S, Mourgeon E, Cassivi SD, Fischer S, Isowa N, Slutsky A and Liu M (2000)

A novel cell culture model for studying ischemia-reperfusion injury in lung transplantation

J Appl Physiol 89(4):1553- 1560

Carter DL, MacFall JR, Clegg ST, Wan X, Prescott DM, Charles HC and Samulski TV (1998)

Magnetic resonance thermometry during hyperthermia for human high-grade sarkoma

International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physiks 40:815- 822

Cavaliere R, Ciocatto EC, Giovannella BC, Heidelberger C, Johnson RO, Margottini M, Mondovi B, Moricca G and Rossi-Fanelli (1967)

Selective heat sensitivity of cancer cells. Biochemical and clinical studies.

Cancer 20: 1351- 1381

Cowen ME, Howard RB, Mulvin D, Dawson CA and Johnston MR (1992)

Lung tolerance to hyperthermia by in vivo perfusion

Eur J Cardio- thorac Surg 6:167- 173

Creech O, Krementz ET and Ryan RF (1959)

Experience with isolation-perfusion technics in the treatment of cancer

Ann Surg 149:627

Creech O, Krementz ET, Ryan RF and Winblad JN (1958)

Chemotherapy of cancer; regional perfusion utilizing an extrakorporeal circuit

Ann Surg 148:616

De Bree E, Romanos J and Tsiftsis D (2002)

Hyperthermia in anticancer treatment

EJSO 28:95

Dewey WC, Westra A, Miller HH and Nagasawa H (1971)

Heat induced lethality and chromosomal damage in synchronized chinese hamster cells treated with 5-bromodeoxyuridine

Int J Radiat. Biol 20:505

Di Filippo F, Anzà M, Rossi CR, Cavaliere R, Botti C, Lise M, Garinei R, Giannarelli D, Vasselli S, Zupi G and Cavaliere R (1998)

The application of hyperthermia in regional chemotherapy

Seminars in Surgical Oncology 14:215- 223

Dickson JA and Shah DM (1972)

The effect of hyperthermia (42°C) on the biochemistry and growth of a malignant cell line

Europ J Cancer 8:561

Dirix LJ and Oosterom AT (1994)

Diagnosis and treatment of soft tissue sarcomas in adults

Curr Opin Oncol 6:372- 83

Divis G (1927)

Ein Beitrag zur operativen Behandlung der Lungengeschwülste

Acta Chir Scand 62:329- 41

Dowing TP, Sadeghi AM, Baumgartner WA, Reitz BA, Brackup A, Feeley T, Mihm F and Shumway NE (1984)

Acute physiological changes following heart-lung allotransplantation in dogs

Ann Thorac Surg 37:479- 483

Elias D, Bonnay M, Puizillou M, Antoun S, Demirdjian S, El Otmany A, Pignon JP, Drouard-Troalea L, Ouellet JF and Ducreux M (2002)

Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics and tissue distribution

Annals of Oncology 13:267- 272

Everson DP and Prescott DM (1972)

Disruption of DNA synthesis in Euplotes by heat shock

Exp Cell Res 63:245

Falk MH and Issels R D (2001)

Hyperthermia in oncology

Int J Hyperthermia 17(1): 1- 18

Fehrenbach A, Wittwer T, Cornelius JF, Ochs M, Fehrenbach H, Wahlers T und Richter J (1999)

Improvement of rat lung structure and function after preservation with Celsior

J Surg Res 82:285- 293

FELASA (1998)

recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cat, dog and pig

Laboratory Animals 32:1- 17

Feldmann HJ, Molls M, Krumpelmann S, Stuschke M and Sack H (1993)

Deep regional hyperthermia: comparison between the annular phased array and the sigma-60 applicator in the same patients

International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics 26:111- 116

Fraker DL, Alexander HR and Pass HI (1995)

Biological therapy with tumor necrosis factor: clinical applications by systemic and regional administration.

In: V DeVita, S Hellman and SA Rosenberg, (eds) Biologic Therapy of Cancer, 2nd edition. Philadelphia: JB Lippincott 329- 46

Fujimura S, Handa M, Kondo T, Ichinose T, Shiraisha Y and Nakada T (1987)
Successful 48-hour simple hypothermic preservation of canine lung transplants
Transpl Proc 19:1334- 1336

Furrer M, Lardinois D, Thormann W, Altermatt HJ, Betticher D, Triller J, Mettler D,
Althaus U, Burt M and Ris HB (1998)
Cytostatic lung perfusion by use of an Endovascular blood flow occlusion Technique
Ann Thorac Surg 65:1523- 8

Garzon AA, Goldstein S and Okadigwe CI (1977)
Hypothermic lung preservation functions, six or more years later
Ann Surg 186:711- 717

Ginoza W and Guild WR (1961)
On the inactivation of transforming DNA by temperature below the melting point
Proc Nat Acad Sci (Wash.) 47:633

Göhl J und Hohenberger W (1993)
Die regionale hypertherme Perfusion – Therapiekonzept und Langzeitergebnisse
Z. Herz-Thorax-Gefäßchir 7:46

Goldsmith J, Kamholz SL, Montefusco CM and Veith FJ (1987)
Clinical and experimental aspects of single-lung transplantation
Heart Lung 16:231- 236

Goss P and Parson PG (1977)
The effect of hyperthermia and melphalan on survival of human fibroblast strains and
melanoma cwill lines
Cancer Res 37:152

Grant D, Mendicino M and Levy G (2001)
Xenotransplantation: Just around the corner?
Surgery 129:243- 7

Grant D, Mendicino M and Levy G (2001)
Xenotransplantation: Just around the corner?
Surgery 129(3): 243- 247

Greenall MJ, Magill GB, De Cosse JJ and Brennan MF (1986)
Chemotherapy for soft tissue sarcoma
Surg Gynecol Obstet 162:193- 8

Groeger AM, Kandioler D, Mueller MR, End A, Eckersberger F and Wolner E (1997)
Survival after treatment of recurrent pulmonary metastases
European Journal of Cardio- thoracic Surgery 12:703- 705

Hachida M and Morton DL (1989)
Lung function after prolonged lung preservation
J Thorac Cardiovasc Surg 97:911- 919

Hafström LR, Holmberg SB, Naredi PLJ, Lindner PG, Bengtsson A, Tidebrants G and Schersten TS (1994)
Isolated hyperthermic liver perfusion with chemotherapy for liver malignancy
Surgical Oncology 3:103- 108

Hausen B, Ramsamooj R, Hewitt CW, Schröder F, Beuke F and Schäfers HJ (1996)
Double lung transplantation in the ratt: An acute, syngeneic in situ model
Ann Thorac Surg 61:184- 189

Havell EA, Fiers W and North RJ (1988)
The anti-tumor function of tumor necrosis factor (TNF)
J Exp Med 167:1067- 85

Haverich A, Scott WC and Jamieson SW (1985)
Twenty years of lung preservation – a review
J Heart Transplant Vol. 4, No. 2: 234- 40

- Heine U, Sverak L, Kondratick J and Bonar RA (1971)
The behavior of HeLa-S₃ cells under the influence of supranormal temperatures
J Ultrastruct Res 34:375
- Hendriks JMH and Van Schil PEY (1999)
Isolated lung perfusion for the treatment of pulmonary metastases
Surgical Oncology 7:59- 63
- Hendriks JMH, vanSchill PEY and Kuppen PJK (1998)
Isolated left lung perfusion with melphalan and tumor necrosis factor for metastatic pulmonary adenocarcinoma in the rat
Ann Thorac Surg 66:1719- 1725
- Hirose K, Katayama K, Lida A, Yamaguchi A, Nakagawara G, Umeda S and Kusaka Y (1999)
Efficacy of Continuous hyperthermic peritoneal perfusion for the prophylaxis and treatment of peritoneal metastasis of advanced gastric cancer: evaluation by multivariate regression analysis
Oncology 57:106- 114
- Hohenberg W, Meyer T and Göhl J (1994)
Extremitätenperfusion beim malignen Melanom
Chirurg 65:175- 185
- Horikawa M, Nakajima Y, Kido K, Ko S, Ohashi K and Nakano H (1994)
Simple method of hyperthermo- chemo- hypoxic isolated liver perfusion for hepatic metastases
World J Surg 18:845- 851
- Hossfeld DK, Hegewisch-Becker S, Jäger E, Knuth A, Riess H und Wiedemann GJ (2000)
Ganzkörperhyperthermie in Kombination mit Chemotherapie
Deutsches Aerzteblatt 97:A- 2941- 2946 [Heft 44]

Jahr J and Gründe PO (1997)

Peripheral circulatory effects of pump perfusion on cat skeletal muscle with and without prostacyclin

Acta Physiol Scand 159:93- 100

Jakobs J, Flexner J and Scott H (1961)

Selective isolated perfusion of the right or left lung

J Thorac Cardiovasc Surg 42:546

Johnston M, Christensen C and Minchin R (1985)

Isolated total lung perfusion as a means to deliver organ-specific chemotherapy: long-term studies in animals

Surgery 98:35- 44

Johnston M, Minchin R and Dawson C (1995)

Lung perfusion with chemotherapy in patients with unresectable metastatic sarcoma to the lung or diffuse bronchioloalveolar carcinoma

J Thorac Cardiovasc Surg 110:368- 73

Johnston M, Minchin R and Shull J (1983)

Isolated lung perfusion with Adriamycin: a preclinical study

Cancer 52:405- 9

Katschinski DM, Robins HI and Schad M (1999)

Role of tumor necrosis factor alpha in hyperthermia-induced apoptosis of human leukemic cells

Cancer Research 59:3404– 3410.

Keshavjee SH, Yamazaki F, Cardoso PF, McRitchie DI, Patterson GA and Cooper JD (1989)

A method for safe 12-hour pulmonary preservation

J Cardiovasc Surg 98:529- 534

Kirk AJB, Colquhoun IW and Dark JH (1993)

Lung preservation: a review of current practice and future directions
Ann Thorac Surg 56:990- 1000

Klopp CT (1950)
Fractionated regional cancer chemotherapy
Cancer Res 10:229

Köhne CH, Schöffski P, Wilke H, Käufer C, Andreesen R and Ohl U (1998)
Effective biomodulation by leucovorin of high dose infusional fluorouracil given as a weekly 24-hour infusion: Results of a randomized trial in patients with advanced colorectal cancer
J Clin Oncol 16:418– 426

Krementz ET (1986)
Regional perfusion: current sophistication. What next?
Cancer 57:416- 32

Krementz ET, Ryan RF, Muchmore JH and Carter RD (1992)
Hyperthermic regional perfusion for melanoma of the limbs
In: Cutaneous Melanoma (eds) CM Balch, AN Houghton, GW Milton, AJ Soober, SJ Soong, Lippincott, Philadelphia, 2. Auflage, S. 403

Kroon BBR (1988)
Regional isolation perfusion in melanoma of the limbs; accomplishments, unsolved problems, future
Eur J Surg Oncol 14:101

Levine EM and Robbins EB (1970)
Differential temperature sensitivity of normal and cancer cells in culture
J cell Physiol 76:373

Li TS, Kaneda Y, Saeki K, Ueda K, Zempo N and Esato K (1999)
Pharmacokinetic Differences between rat tumour and lung tissues following isolated lung perfusion with cisplatin

European Journal of Cancer Vol 35 13:1846- 1850

Li TS, Sugi K, Ueda K, Nawata K, Nawata S and Esato K (1998)

Isolated lung perfusion with cisplatin in a rat lung solitary tumor nodule model

Anticancer Res 18(6A):4171- 6

Lienard D, Ewalenko P, Delmotte JJ, Renard N and Lejeune FJ (1992)

High dose recombinant tumor necrosis factor alpha in combination with interferon

gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma

J Clin Oncol 10:52- 60

Lienard D, Lejeune F and Ewalenko P (1992)

In transit metastases of malignant melanoma treated by high dose rTNF α in

combination with interferin gamma and melphalan in isolation perfusion

World J Surg 16:234- 40

Lin JC, Park HJ and Song CW (1996)

Combined treatment of IL-1 α and TNF- α potentiates the antitumour effect of hyperthermia

Int J Hyperthermia 12(3):335- 344

Lindner P, Fjälling M, Hafström L, Kierulff-Nielsen H, Mattsson J, Scherstén T, Rizell M and Naredi P (1999)

Isolated hepatic perfusion with extracorporeal oxygenation using hyperthermia, tumor necrosis factor alpha and melphalan

European Journal of Surgical Oncology 25:179- 185

Locke TJ, Hooper TL, Flecknell PA and McGregor CGA (1988)

Preservation of the lung: comparison of topical cooling and crystalloid pulmonary perfusion

J Thorac Cardiovasc Surg 96:789- 795

Lutton ES (1967)

Thermal properties and crystal state

In: Fatty Acids. (eds) Markley KS New York: Interscience Publ 4:2583

Maeta M (1989)

Treatment of lung cancer by total-body hyperthermia using an extracorporeal circuit

Rinsho Kyobu Geka 9(6):540- 4 Review

Marinelli A (1992)

Isolated liver perfusion. Treatment of hepatic metastases: experimental and clinical studies

Gravenhage: Pasmans offsetdrukkerij bv

Mc Cormack P (1990)

The surgical resection of pulmonary metastases

Semin Surg Oncol 6: 297- 302

MentzerSJ, Antman KH, Attinger C, Shemin R, Corson JM and Sugerbaker DJ
(1993)

Selected benefits of thoracotomy and chemotherapy for sarcoma metastatic to the lung

J Surg Oncol 53:54- 9

Miller B and Rosenbaum A (1967)

The vascular supply to metastatic tumors of the lung

Surg Gynecol Obstet 125:1009- 1016

Miller RC and Ketcham AS (1974)

The effect of heparin and warfin on primary and metastatic tumors

J Med 5:23- 31

Mitka M (2002)

Tumoricidal Temperature- Related Treatments

JAMA 23/30:4:287

Modry DL, Walpoth BW and Cohen RG (1983)

Heart-lung preservation in the dog followed by lung transplantation: a new model for the assessment of lung preservation

Heart Transplant 2:287- 298

Mondovi B, Finazzi-Agro A, Rotilio G, Strom R, Moricca G and Rossi-Fanelli A (1969)

The biochemical mechanism of selective heat sensitivity of cancer cells. II. Studies on nucleic acids and protein synthesis

Europ J Cancer 5:137

Muckle DS and Dickson JA (1973)

Hyperthermia (42°C) as an adjuvant to radiotherapy and chemotherapy in the treatment of the allogeneic VX-2 carcinoma in the rabbit

Brit J Cancer 27:307

Muller HJ (1928)

The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*, its high variability and its dependence upon temperature

Genetics 13:279

Multhoff G, Botzler C and Wiesner M (1995b)

A stress-inducible 72-kDa heat-shock protein (HSP72) is expressed on the surface of human tumor cells, but not on normal cells.

Int J Cancer 61:272- 279

Multhoff G, Botzler C, Wiesner M (1995a)

CD3-large granular lymphocytes recognize a heat-inducible immunogenic determinant associated with the 72-kD heat shock protein on human sarcoma cells.

Blood 86:1374- 1382

Nakano H, Akio T and Miki H (1999)

Hyperthermic Isolated Regional Perfusion for the Treatment of Osteosarcoma in the lower extremity

The American Journal of surgery 178

Nawata S, Abecasis N, Ross HM, Abolhoda A, Cheng H, Sachar K and Burt ME (1996)

Isolated lung perfusion with melphalan for the treatment of metastatic pulmonary sarcoma

J Thorac Cardiovasc Surg 112:1542- 8

Ng B, Lenert J, Weksler B, Port J, Ellis J and Burt M (1995)

Isolated lung perfusion with FUDR is an effective treatment for colorectal adenocarcinoma lung metastases in rats

Ann Thorac Surg 59:205- 208

Niitsu Y, Watanabe N and Umeno H (1988)

Synergistic effects of recombinant human tumor necrosis factor and hyperthermia on in vitro cytotoxicity and artificial metastases

Cancer Res 48:654- 7

Novick RJ, Gehmann KE, Ali IS and Lee J (1992)

New trends in lung preservation: a collective review

J Heart Lung Transplant 11:377- 392

Novick RJ, Seid KR, Denning L, Duplan J, Menkis AH and MCKenzie FN (1991)

Prolonged preservation of canine lung allografts: the role of prostaglandins

Ann Thorac Surg 51:853- 859

Ohno S, Tomoda M, Tomisaki S, Kitamura K, Mori M, Maehara J and Sugimachi K (1997)

Improved surgical results after combining preoperative hyperthermia with chemotherapy and radiotherapy for patients with carcinoma of the rectum

Diseases of Colon and Rectum 40:401- 406

Oldhafer K, Lang H, Frerker M, Moreno L, Chavan A, Flemming P, Nadalin S, Schmoll E and Pichelmayer R (1998)

First experience and technical aspects of isolated liver perfusion for extensive liver metastasis

Surgery 123(6):622- 631

Ostapenko V, Yamazaki M, Nishide T, Tanaka H, Miyano M, Sonobe M, Toda K, Mune M, Nishide I and Yukawa S (2001)

Long- term local hyperthermia in the treatment of advanced breast cancer
Anticancer Research 21:4117- 4120

Overgaard J (1977)

Effect of hyperthermia on malignant cells in vivo. A review and a hypothesis
Cancer 39:2637- 2646

Overgaard J (1989)

The current and potential role of hyperthermia in radiotherapy
International Journal of Radiation Oncology in Biology and Physics 16:535- 549

Palzer RJ and Heidelberger C (1973)

Influence of drugs and synchrony on the hyperthermic killing of HeLa cells
Cancer Res 33:422

Pass H, Mew D, Kranda K, Temeck B, Donington J and Rosenberg S (1996)

Isolated lung perfusion with tumor necrosis factor for pulmonary metastases
Ann Thorac Surg 61:1609- 1617

Pastorino U, Buyse M, Friedel G, Ginsberg R and Girard P (1997)

Long- Term Results of Lung Metastasectomy: Prognostic Analyses Based on
The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 113:37- 49

Patterson GA, Mitzner WA and Sylvester JT (1985)

Assessment of fluid balance in isolated sheep lungs
J Appl Physiol 58:882- 891

Pierpont H and Blades B (1960)

Lung perfusion with chemotherapeutic agents
J Thorac Cardiovasc Surg 39:159- 65

Pogrebniak H, Witt C and Terrill R (1994)

Isolated lung perfusion with TNF

Ann Thorac Surg 57:1477- 83

Privalov PL (1974)

Thermal investigation of biopolymer solutions and scanning microcalometry

FEBS 40:140

Putnam J (2002)

New and evolving treatment methods for pulmonary metasases

Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery 14:49- 56

Ratto G, Civalleri D, Esposito M, Spessa E, Alloisio A, De Cian F and Vannozzi M (1999)

Pleural space perfusion with cisplatin in the multimodality treatment of malignant mesotheliom: A feasibility and pharmacokinetic study

The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 117(4):759- 765

Ratto G, Toma S, Civalleri D, Passerone GC, Esposito M, Zaccheo D, Canepa M, Romano P, Palumbo R, De Cian F, Scarano F, Vannozzi M, Spessa E and Fantino G (1996)

Isolated lung perfusion with platinum in the treatment of pulmonary metastases from soft tissue sarcomas

The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 112(3):614- 622

Ratto GB, Esposito M and Leprini A (1993)

In situ lung perfusion with cisplatin: an experimental study

Cancer 71:2962- 70

Rau B, Wust P, Hohenberger P, Löffel J, Hünerbein M, Below C, Gellermann J, Speidel A, Vogl T, Riess H, Felix R and Schlag PM (1998)

Preoperative hyperthermia combined with radiochemotherapy in locally advanced rectal cancer. A phase II clinical trial

Annals of Surgery 227:380- 389

Rickaby DA, Fehring JF, Johnston MR and Dawson CA (1991)

Tolerance of the isolated perfused lung to hyperthermia

J Thorac Cardiovasc Surg 101:732- 9

Robins HI, Kutz M and Wiedemann (1995)

Cytokine introduction by 41,8 °C whole-body hyperthermia

Cancer Lett 97:195– 201

Robins HI, Rushin D, Kutz M, Tutschk KD, Tiggelaar CL, Paul D, Spriggs D, Kraemer C, Gillis W, Feierabend C, Arzoomanian RZ, Longo W, Alberti D, D'Oleire F, Qu R, Wilding G and Stewart JA (1997)

Phase I clinical trial of melphalan and 41,8°C whole-body hyperthermia in cancer patients

Journal of Clinical Onkology 15:158- 164

Rougier P, Van CE, Bajetta E, Niederle N, Possinger K and Labianca R (1998)

Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer [see comments]

[published erratum appears in Lancet 1998 Nov 14; 352 (9140): 1634]. Lancet 352:1407– 1412

Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L and Moore MJ (2000)

Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group

N Engl J Med 343:905– 914

Schelzig H, Simon F, Krischer C, Vogel A and Abendroth D (2001)

Ex-vivo hemoperfusion (eHPS) of pig-lungs with whole human blood: effects of complement inhibition with a soluble C1-esterase inhibitor

Ann Transplant 6(3):34- 9

Schelzig H, Simon F, Krischer C, Vogel A and Abendroth D (2001)

Ex-vivo hemoperfusion (eHPS) of pig-lungs with whole human blood: effects of complement inhibition with a soluble C1-esterase-inhibitor
Ann Transplant 6(3):34- 9

Schmoll HJ, Kohne CH, Lorenz M, Schoffski P, Voigtmann R, Bokemeyer C, Lutz MP, Kleeberg U, Ridwelski K, Souchon R, El-Sarafi M, Weiss U, Couvreur ML, Baron B and Wils J (2000)

Weekly 24h infusion of high-dose (HD) 5-fluorouracil (5-FU24h) with or without folinic acid (FA) vs. Bolus 5-FU/FA (NCCTG/Mayo) in advanced colorectal cancer (CRC): A randomized phase III study of the EORTC GITCCG and the AIO. Proceedings of the American Society of Clinical Oncology

Schuster JM, Zalutsky MR and Noska MA (1995)

Hyperthermic modulation of radiolabelled antibody uptake in a human glioma xenograft and normal tissues
Int J Hyperthermia 11:59– 72.

Sisken JE, Morasca L and Kibby S (1965)

Effects of temperature on the kinetics of the mitotic cycle of mammalian cells in culture
Exp Cell Res 39:103

Streffer C (1990)

Biological basis of thermotherapy. In: Gautherie M (eds) Biological basis of oncologic thermotherapy
Springer, Berlin Heidelberg New York, 1- 59

Strom R, Caiafa P, Mondovi B and Rossi- Fanelli A (1969)

Effect of temperature on potassium-dependent stimulation of transcellular migration in normal and neoplastic cells
FEBS Lett 3:343

Strom R, Crifo C, Rossi- Fanelli A and Mondovi B (1973)

Biochemical Aspects of Heat Sensitivity of Tumor Cells

Chapter 2

Strom R, Scioscia Santoro A, Crifo C, Bozzi A, Mondovi B and Rossi-Fanelli A (1973)
The biochemical mechanism of selective heat sensitivity of cancer cells. IV. Inhibition
of RNA synthesis
Europ J Cancer 9:103

Suit HD and Shwayder M (1974)
Hyperthermia: potential as an anti-tumor agent
Cancer 34:122- 129

Szybalski W (1967)
Effect of elevated temperatures of DNA and on some polynucleotides: denaturation
renaturation and cleavage of glycosidic and phosphate ester bonds
In: Thermobiology. Rose, A.N. (eds) London: Academic Press 73

Taft PM and Collins GM (1976)
Warm ischemic injury of the lung
J Thorac Cardiovasc Surg 72:784- 787

Thomford NR, Woolner LB and Clagett OT (1965)
The surgical treatment of metastatic tumors in the lungs
J Thorac Cardiovasc Surg 49:357- 63

Todd RT (1993)
Pulmonary metastasectomy: current indications for removing lung metastases
Chest 103:401- 3

Toledo- Pereyra LH and Condie RM (1978)
Lung transplantation. Hypothermic storage for 24 hours in a colloid hyperosmolar
solution
J Thorac Cardiovasc Surg 76:846- 852

Vaupel P, Ostheimer K and Müller- Klieser W (1998)

Circulation and Metabolic Responses of Malignant Tumors during Localized Hyperthermia

J Cancer Res Clin Oncol 15- 29

Veith FJ, Crane R and Torres M (1976)

Effective preservation and transportation of lung transplants

J Thorac Cardiovasc Surg 72:97- 105

Veith FJ, Sinha SBP and Graves JS (1971)

Ischemic tolerance of the lung: effect of ventilation and inflammation

J Thorac Cardiovasc Surg 61:804- 810

Vernon CC, Hand JW, Field SB, Machin D, Whaley JB, van der Zee J, van Putten WLJ, van Rhoon GC, van Dijk JDP, Gonzalez Gonzalez D, Liu FF, Goodman P and Sherar M (1996)

Radiotherapy with or without hyperthermia in the treatment of superficial localized breast cancer: results from five randomized controlled trials.

International Journal of Radiation Oncology in Biology and Physics 35:731- 744

Vogel E, Schulz O und Bernhardt JH (1998)

Neue Entwicklungen der Hyperthermie

Deutsches Aerzteblatt 95:1612-1617 [Heft 25]

Wang LS, Yoshikawa K, Miyoshi S, Nakamoti K, Hsieh CM, Yamazaki F, Gurreiro Cardoso PF, Schaefers HJ, Brito J, Keshavjee SH, Patterson A and Cooper JD (1989)

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

J Thorac Cardiovasc Surg 98(3):333- 342

Weksler B, Blumberg D, Lenert J, Ng B, Fong Y and Burt M (1994)

Isolated single-lung perfusion with TNF-alpha in a rat sarcoma lung metastases model

Ann Thorac Surg 58:328- 32

- Weksler B, Ng B, Lenert JT and Burt ME (1993)
Isolated single-lung perfusion with doxorubicin is pharmacokinetically superior to intravenous injection
Ann Thorac Surg 56:209- 14
- Weksler B, Schneider A, Ng B and Burt M (1993)
Isolated single lung perfusion in the rat: an experimental model
J Appl Physiol 74:2736- 39
- Wessalowski R, Kruck H, Pape H, Kahn T, Willers R and Göbel R (1998)
Hyperthermia for treatment of patients with malignant germ cell tumors. A phase I/II study in ten children and adolescents with recurrent or refractory tumors
Cancer 82:793- 800
- Westmark N (1927)
The effect of heat upon rat tumors
Scand Arch Physiol 52:257
- Westra A and Dewey WC (1971)
Variation in sensitivity to heat shock during the cell cycle of chinese hamster cells in vitro
Int J Radiat Biol 19:467
- Wu DXY, Weibel ER and Bachhofen H (1995)
Lung lesions in experimental hydrostatic pulmonary edema: an electron microscopic and morphometric study
Exp Lung Res 21:711- 730
- Yonemura Y, Fujimura T, Nishimura G, Falla R, Sawa T, Katayama K, Tsugawa K, Fushida S, Miyazaki I, Tanaka M, Endou Y and Sasaki T (1996)
Effects of intraoperative chemohyperthermia in Patients with gastric cancer with peritoneal dissemination
Surgery 119(4):437- 444

Zee van der J, Gonzalez Gonzalez D, van Rhoon GC, van Dijk JD, van Putten WL and Hart AA (2000)

Comparison of radiotherapy alone with radiotherapy plus hyperthermia in locally advanced pelvic tumours: a prospective, randomised, multicentre trial. Dutch Deep Hyperthermia Group

The Lancet 355:1119- 1125

7 Abkürzungsverzeichnis

AaDO ₂	alveoloarterielle Sauerstoffdifferenz
AF	Atemfrequenz
AMV	Atemminutenvolumen
AOC	absolute Oxygenierungskapazität
BFO	blood- flow- occlusion- Technik
C _{dyn}	dynamische Compliance
FIO ₂	Sauerstoffanteil der Beatmungsluft
FUDR	2'-deoxy-5-fluorouridine
G-CSF	Koloniestimulierender Faktor
HAES	Hydroxyäthylstärke 6%
HF	Herzfrquenz
HI	Herzindex
HSP	Heat-Schock-Protein
HZV	Herzzeitvolumen
IL	Interleukin
LA	linksatrialer Druck
LHT	lokale Hyperthermie
MAP	mittlerer Blutdruck
mPAP	pulmonal arterieller Mitteldruck
NK-Zellen	natürlichen Killerzellen
paCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck arteriell
PAP	pulmonalarterieller Druck
PCW	pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PCW	postkapillärer Verschlussdruck
PEEP	positive end expiratory pressure
piO ₂	Sauerstoffpartialdruck inspiratorisch
PIP	Beatmungsspitzendruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck arteriell
PP	Plateaubeatmungsdruck
pvO ₂	Sauerstoffpartialdruck venös
PVR	pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstand
PVWI	pulmonalvaskulärer Gefäßwiderstandsindex

RHT	regionale Hyperthermie
ROC	relative Oxygenierungskapazität
SG	Sham-Gruppe ohne Perfusion
sRR	systolischer Blutdruck
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TV	Atemzugvolumen, Tidalvolumen
VG 38	Kontrollgruppe mit normothermer Perfusion
VG 40	Versuchsgruppe mit milde Hyperthermie
VG 41,5	Versuchsgruppe mit starke Hyperthermie
WBH	Ganzkörperhyperthermie
ZVD	zentralvenöse Druck

8 Lebenslauf

Valentin Thomas Becker

Persönliche Angaben

29. September 1978

geboren in Böblingen, Baden- Württemberg

Schulbildung

1985- 1989

Grundschule, Calw- Wimberg

1989- 1998

Hermann- Hesse Gymnasium, Calw

1998

Allgemeine Hochschulreife

Studium

1998

Beginn des Studiums der Humanmedizin an
der Friedrich-Schiller-Universität, Jena

2000

Ärztliche Vorprüfung

2001

1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

2003

2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

2004

3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Famulaturen

Unfallchirurgie

Klinikum der Friedrich- Schiller- Universität,
Jena

Orthopädie

Seehospital Sahlenburg, Cuxhaven

Chirurgie

Hotel-Dieu Grace Hospital, Windsor, ON
Canada

Innere Medizin

Landeskliniken Salzburg, Österreich

Herzchirurgie

Mt. Sinai Medical Center, New York, USA

München, den 03. November 2004

9 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Wahlers für die Erlaubnis danken, diese Arbeit in seiner Abteilung durchführen zu können.

Besonders herzlich bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Dr. med. Franke für die Überlassung des Themas, die engagierte, konstruktive und wissenschaftliche Betreuung sowie die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern der Abteilung für experimentelle Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie für die tatkräftige Unterstützung bei der technischen Realisierung der Experimente und die nette, persönliche Zusammenarbeit.

Schließlich danke ich Herrn Dr. Vollandt für die konstruktive Betreuung bei den mathematisch- statistischen Arbeitsmethoden.

10 Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller- Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Dr. Ulrich Franke,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

München, den 03. November 2004