

Aus der Klinik für Anästhesiologie
Klinikum der Ludwig- Maximilians- Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Bernd Zwißler

***Entwicklung und Evaluation eines biventrikulären
Working-Heart-Systems zur isolierten Perfusion von
Schweineherzen***

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Judith Meyer geb. Jauch

aus

Konstanz

Jahr

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Jan-Michael Abicht

Mitberichterstatter: PD Dr. Sieglinde Kofler

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 23.12.2021

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Zusammenfassung.....	3
Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung.....	8
2. Material und Methoden.....	10
2.1 Versuchstiere und Versuchsgruppen.....	10
2.2 Anästhesie	10
2.3 Erhebung von in vivo Referenzwerten.....	10
2.4 Organexplantation.....	11
2.5 Präparation der Herzen.....	12
2.6 Vorbereitung von Perfusionssystem und Perfusat.....	13
2.7 Langendorff Modus	14
2.8 Working-Heart-Modus.....	14
2.9 Erhebung der Messwerte	16
2.9.1 Hämodynamische Parameter	17
2.9.2 Perfusat- und abgeleitete Parameter.....	17
2.10 Statistik.....	17
3. Ergebnisse.....	18
3.1 Versuchstiere und Perfusionssystem	18
3.2 Elektrolyte und Metabolismus	18
3.3 Hämodynamik	24
4. Diskussion	28
4.1 Versuchstiere und Primingvolumen	28
4.2 Perfusat.....	29
4.3 Perfusionssystem.....	30
4.3.1 Vier-Kammer-Modell	30
4.3.2 Offenes und geschlossenes System	30
4.3.3 Offenes und geschlossenes Reservoir	31
4.3.4 Gewinnung von koronarvenösem Blut.....	32
4.3.5 Windkessel.....	32
4.3.6 Abhängige und unabhängige Parameter	35
4.3.7 Messmethoden	36
4.3.8 Kontraktilität und Ventrikelfunktion	37
4.3.9 Konklusion.....	39

Literaturverzeichnis	40
Danksagung	45
Eidesstattliche Versicherung	46
Publikationsliste	47

Zusammenfassung

Modelle zur isolierten Perfusion von Säugetierherzen bieten die Möglichkeit, Studien unter kontrollierten, reproduzierbaren Bedingungen durchzuführen. Hinsichtlich der Übertragbarkeit von Studienergebnissen auf das menschliche Herz erwiesen sich Schweineherzen im Vergleich zu den deutlich häufiger verwendeten Kleintierherzen aufgrund einer ähnlichen Anatomie, Physiologie und Biochemie als geeigneter. Bei den etablierten Perfusionssystemen handelt es sich größtenteils um Perfusionssysteme, in welchen die Funktion des Herzens entweder gar nicht oder nur die des linken Ventrikels untersucht werden kann. Zahlreiche Erkrankungen, beispielsweise die chronisch obstruktive Lungenerkrankung oder die pulmonalarterielle Hypertonie, nehmen jedoch direkten Einfluss auf die Herzfunktion, insbesondere die rechtsventrikuläre Funktion. Zur Untersuchung dieser Veränderungen bedarf es eines biventrikulären Modells, welches auch die Interaktion von rechtem- und linkem Herz berücksichtigt. Die wenigen bislang beschriebenen biventrikulären Großtiermodelle haben jedoch ein relativ großes Füllungsvolumen. Wenn das Blut des herzspendenden Tieres als Perfusat verwendet werden soll, ist dieses für die Vorfüllung des Perfusionssystems meist nicht ausreichend. Im Rahmen dieser Arbeit wird ein neues biventrikuläres Modell zur isolierten Perfusion von Schweineherzen vorgestellt, welches sich durch ein niedriges Füllungsvolumen von 500 ml auszeichnet und somit eine autologe Perfusion mit Blut erlaubt.

Die Versuchstiere wurden zwei Gruppen zugeordnet. Versuchstiere der ersten Gruppe (n=9) dienten der Ermittlung von in vivo Referenzwerten. Hierbei wurden nach medianer Sternotomie Messungen zur Hämodynamik, sowie Blutgasanalysen durchgeführt. Bei Versuchstieren der zweiten Gruppe (n=6) wurden die explantierten Herzen nach 150 Minuten kalter Ischämie im Perfusionssystem untersucht. Das Versuchsprotokoll war wie folgt: zunächst wurden die Herzen 15 Minuten retrograd über die Aorta reperfundiert, um in dieser Phase ein optimales Sauerstoffangebot zur Verfügung zu stellen, während die Ventrikel keine Schlagarbeit leisten mussten. Es schloss sich eine 180 minütige Phase im sogenannten „Working Heart Modus“ an, in welchem die Schlagarbeit den in vivo Verhältnissen nachempfunden wurde.

Vor- und Nachlastparameter konnten während dieses Zeitraumes innerhalb der angestrebten physiologischen Grenzen gehalten werden, während die Pumpfunktion des Herzens über Flussensoren und eine kontinuierliche echokardiografische Überwachung beurteilt wurde. Zu definierten Zeitpunkten fanden Blutgasanalysen, Blutbilduntersuchungen, sowie die Dokumentation der hämodynamischen Parameter statt. Leistungsparameter wie Cardiac Output, dP/dt max und Stroke Work Indices waren im Perfusionssystem jeweils niedriger als in vivo, jedoch konnte über 180 min eine stabile kardiale Funktion und ein physiologischer metabolischer Status aufrechterhalten werden. Das vorgestellte Perfusionsmodell bietet somit die Möglichkeit, hämodynamische und metabolische Untersuchungen beider Ventrikel unter kontrollierten, reproduzierbaren Bedingungen durchzuführen.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Herz im Thorax	11
Abbildung 2 - Blutentnahme aus der Aortenkanüle	12
Abbildung 3 - präpariertes Herz mit Kanülen	13
Abbildung 4 - Schema Langendorff Modus.....	14
Abbildung 5 - Schematischer Aufbau des Perfusionssystems im Working Heart Modus....	15
Abbildung 6 - Monitoring der Druckwerte.....	16
Abbildung 7 - Monitoring der Flusswerte.....	16
Abbildung 8 - Arterielle Sauerstoffsättigung (SO ₂)	19
Abbildung 9 - Arterieller Sauerstoffpartialdruck (pO ₂)	19
Abbildung 10 - Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pCO ₂)	19
Abbildung 11 - Arterieller pH (pH)	20
Abbildung 12 - Arterieller Base Excess (BE)	20
Abbildung 13 - Lactatkonzentration (Lac)	20
Abbildung 14 - Glucosekonzentration (Glu)	20
Abbildung 15 - Sauerstoffangebot (DO ₂).....	21
Abbildung 16 - Sauerstoffverbrauch (VO ₂).....	21
Abbildung 17 - Natrium (Na ⁺)	22
Abbildung 18 - Kalium (K ⁺).....	22
Abbildung 19 - Calcium (Ca ⁺⁺)	22
Abbildung 20 - Erythrozytenzahl (Ery)	22
Abbildung 21 - Leukozytenzahl (Leu).....	23
Abbildung 22 - Thrombozytenzahl (Plt).....	23
Abbildung 23 - Mittlerer arterieller Druck und mittlerer pulmonalarterieller Druck (MAP, MPAP)	24
Abbildung 24 - Mittlerer links- und rechtsatrialer Druck (LA, RA)	25
Abbildung 25 - Herzfrequenz (HR).....	25
Abbildung 26 - Cardiac Index (CI) = Cardiac Output/Herzgewicht	25
Abbildung 27 - Left- und Right Ventricular Work Index (LVWI, RVWI)	26
Abbildung 28 - Enddiastolic Left- and Right Ventricular Volume Index (EDLVVI, EDRVVI)	27
Abbildung 29 - Endsystolic Left- and Right Ventricular Volume Index (ESLVVI, ESRVVI)	27
Abbildung 30 - exemplarischer enddiastolischer Füllungszustand in vivo	27
Abbildung 31 - exemplarischer enddiastolischer Füllungszustand ex vivo	27
Abbildung 32 - dP/dt max und min	27
Abbildung 33 - geschlossenes Reservoir (63)	31
Abbildung 34 - offenes Reservoir (64)	31
Abbildung 35 - Herzzyklus (71)	33
Abbildung 36 - Vollständige und eingeschränkte Windkesselfunktion (72)	33
Abbildung 37 - Druckkurven in vivo und im Working Heart Modus (36)	35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Blutgasanalysen und Zellzählung in vivo, im Langendorff Modus, sowie nach 60 und 180 min im Working-Heart-Modus	18
Tabelle 2 – Hämodynamik	24

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
µl	Mikroliter
A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
BE	Base Excess
Ca ⁺⁺	Calcium
C _a O ₂	Arterieller Sauerstoffgehalt
CI	Cardiac Index
CO	Cardiac Output
CO ₂	Kohlendioxid
C _v O ₂	Venöser Sauerstoffgehalt
dl	Deziliter
DO ₂	Sauerstoffangebot
dP/dt max	Maximale intraventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit
fl	Femtoliter
g	Gramm
h	Stunde
HCO ³⁻	Bicarbonat
HR/HF	Herzfrequenz
IE	Internationale Einheiten
K ⁺	Kalium
kg	Kilogramm
l	Liter
LAP	mittlerer linksatrialer Blutdruck
LM	Langendorff-Modus
LVEDVI	Linksventrikulärer enddiastolischer Volumen Index
LVESVI	Linksventrikulärer endsystolischer Volumen Index
LVWi	Left Ventricular Work Index
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MCH	Mean Corpuscular Haemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration
MCV	Mean Corpuscular Volume

mg	Milligramm
min	Minuten
mio	Millionen
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MPAP	mittlerer pulmonalarterieller Blutdruck
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
O ₂	Sauerstoff
O ₂ ER	Sauerstoffextraktionsrate
pCO ₂	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
pg	Picogramm
pH	Arterieller pH
PO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
pO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
RAP	mittlerer rechtsatrialer Blutdruck
RVEDVI	Rechtsventrikulärer enddiastolischer Volumen Index
RVESVI	Rechtsventrikulärer endsystolischer Volumen Index
RVWi	Right Ventricular Work Index
SO ₂	Arterielle Sauerstoffsättigung
SV	Schlagvolumen
SVI	Schlagvolumen Index
V	Vena
VO ₂	Sauerstoffverbrauch
Vv	Venae
WH	Working-Heart-Modus

1. Einleitung

Große Teile des Wissens über Anatomie, Physiologie und Biochemie des menschlichen Herzens wurden im Rahmen von Experimenten mittels isolierter Organperfusion gewonnen. Diese bietet die Möglichkeit, Organfunktionen unter extern kontrollierten Bedingungen zu untersuchen. So können beispielsweise Schwankungen des Volumen- oder Elektrolythaushalts aufgrund neuro-naler oder hormoneller Regulationsmechanismen minimiert werden.

Die isolierte Organperfusion findet bereits seit 1846 Verwendung (1). Die wohl bekanntesten Experimente wurden jedoch 1895 von Oscar Langendorff durchgeführt (2). Er konnte demonstrieren, dass ein augenscheinlich totes Herz lediglich aufgrund der Perfusion der Koronararterien mit einer sauerstoffhaltigen Lösung wieder zu schlagen beginnt, ohne dass hierfür das Organ als solches gefüllt sein muss. Noch heute wird der Ausdruck „Langendorff-Perfusion“ verwendet, um eine Perfusion der Koronararterien über einen retrograden Fluss in der Aorta zu beschreiben. Es schloss sich eine stetige Weiterentwicklung seiner initial beschriebenen „Langendorff-Apparatur“ an, insbesondere mit dem Ziel, die Verhältnisse in vivo möglichst detailliert nachzustellen.

Eine Weiterentwicklung des Versuchsaufbaus von Langendorff sind sogenannte Working-Heart-Modelle. Ein Working-Heart-Modell zeichnet sich durch die Füllung eines oder beider Ventrikel und der dazugehörigen Vorhöfe aus, wodurch das schlagende Herz einen Auswurf generiert und so Druck- und Volumenarbeit leisten muss. Das erste Working-Heart-Modell, welches zunächst nur eine Befüllung des linken Herzens vorsah, wurde 1973 von Neely et al. beschrieben (3, 4). Ein biventrikulär befülltes Modell wurde erstmalig 1992 von Demmy et al. verwendet (5, 6). In dieser Anfangsphase der isolierten Perfusion wurden hauptsächlich Untersuchungen zu Anatomie und Physiologie durchgeführt, beispielsweise zum Frank-Starling-Mechanismus, zu Einfluss von Temperatur auf die Myokardfunktion oder zur Funktion des Sinusknotens und der Refraktärzeit (1, 2, 7, 8).

Es folgten durch technischen Fortschritt ermöglichte Weiterentwicklungen, wie beispielsweise die Verwendung von Membranoxygenatoren und die Verwendung biokompatibler Materialien zur Minimierung der Immunaktivierung. Weiterhin gab es zunehmend Bestrebungen, in vivo vorherrschende Druck- und Flussbedingungen besser nachzuempfinden, wie beispielsweise die Windkesselfunktion der Aorta oder Vor- und Nachlast der Ventrikel (9-11). Besonders seit der Einführung allogener Herztransplantationen in den 1960er Jahren finden isolierte Perfusionssysteme Verwendung und wurden für diese Zwecke weiter optimiert. In diesen Systemen konnten zahlreiche Untersuchungen zu Ischämie und Reperfusion, bzw. der Vermeidung eines Ischämie-Reperfusionsschadens, wie er im Rahmen einer allogenen Herztransplantation auftritt, durchgeführt werden. Weiterhin gab es zahlreiche Versuchsreihen zu Medikamentenwirkungen am Myokard, dem Effekt verschiedener Perfusions- und Kardioplegielösungen oder der Rolle des Immunsystems im Rahmen der Reperfusion (12-28).

Die meisten Modelle zur isolierten Perfusion sind auf Nage- und Kleintiere wie Ratten, Meerschweinchen oder Kaninchen ausgelegt und untersuchen bis auf wenige Ausnahmen nur die

linksventrikuläre Funktion (3, 5, 29-33). Die wenigen Großtiermodelle benötigen allesamt ein großes sogenanntes Primingvolumen zur initialen Füllung des Systems (Schläuche, Pumpen, Oxygenator, etc.) mit Perfusat. Die zur Verfügung stehende Blutmenge des herzspendenden Tieres ist für das Priming dieser Systeme nicht ausreichend, so dass in diesen keine autologe Perfusion möglich ist (34, 35).

Aufgrund der großen anatomischen und hämodynamischen Unterschiede ergibt sich eine eingeschränkte Übertragbarkeit der Untersuchungsergebnisse von Kleintiermodelle auf den Menschen. Geeigneter ist in dieser Hinsicht die Verwendung von Schweineherzen, welche neben der zum Menschen ähnlichen Anatomie auch eine ähnliche Ischämietoleranz aufweisen. Die Verwendung von Großtierherzen resultiert allerdings auch in einer zunehmenden Komplexität der Perfusionssysteme mit höheren Kosten und größeren ethischen Vorbehalten.

Es gibt nur wenige Perfusionsmodelle, welche auch eine Untersuchung des rechten Herzens ermöglichen (5, 33-36). Zahlreiche Erkrankungen betreffen oder beeinflussen jedoch auch die rechtsventrikuläre Funktion. Beispielhaft seien hier die chronisch obstruktive Lungenerkrankung, die Lungenfibrose, das Lungenemphysem oder die pulmonalarterielle Hypertonie genannt, welche Einfluss auf die rechtsventrikuläre Nachlast nehmen. Auch nach Herztransplantation oder Implantation von linksventrikulären Herzunterstützungssystemen (LVAD= left ventricular assist device) kann komplikativ ein akutes Rechtsherzversagen auftreten. Weiterhin sind in vivo links- und rechtsventrikuläre Funktion direkt miteinander verbunden. Nicht zuletzt steht dem linken Ventrikel als Vorlast stets nur dasjenige Volumen zur Verfügung, welches zuvor vom rechten Ventrikel ausgeworfen wurde. Für die Kontraktion des linken Ventrikels sind überdies Position und Kontraktion des Ventrikelseptums relevant. So führt ein nicht gefüllter rechter Ventrikel zu einem unphysiologischen transseptalen Druckgradienten und damit zu einer verminderten linksventrikulären Funktion (37). Setzt man nun ein Perfusionssystem voraus, was einerseits zur Perfusion von Großtierherzen geeignet ist, andererseits auch eine Untersuchung des rechten Herzens ermöglicht, so finden sich in der Literatur nur zwei etablierte Systeme. Beide Systeme benötigen ein großes Primingvolumen von 3800ml bzw. 3000ml und sind somit nicht zur autologen Perfusion geeignet (34, 35).

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob sich das vorgestellte Perfusionssystem zur isolierten biventrikulären Perfusion von Schweineherzen eignet (36). Hieraus entstand die am Ende der Dissertation aufgeführte Publikation. Dafür wurden folgende konkrete Fragestellungen bearbeitet: Ist eine autologe Perfusion mit einem Primingvolumen von 500ml möglich? Kann eine stabile Funktion der perfundierten Herzen über drei Stunden aufrechterhalten werden? Ist das Modell in der Lage über diese Zeit einen konstanten physiologischen Status hinsichtlich Hämodynamik und Metabolik beizubehalten?

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und Versuchsgruppen

In zwei Gruppen wurden ex vivo und in vivo Untersuchungen der Schweineherzen durchgeführt. Verwendet wurden Schweine der deutschen Landrasse. Gruppe 1 (n=9) diente der Ermittlung von in vivo Referenzwerten am lebenden Tier nach Sternotomie. In Gruppe 2 (n=6) wurden die Herzen aus den Versuchstieren explantiert und über drei Stunden im vorgestellten Perfusions-system perfundiert. Die Tiere beider Gruppen waren vergleichbar hinsichtlich Körpergewicht (15.5 ± 3.7 kg in Gruppe 1 vs. 16.0 ± 2.0 kg in Gruppe 2) und Herzgewicht (99 ± 21 g in Gruppe 1 vs. 95 ± 17 g in Gruppe 2). Die Studie wurde nach europäischem und deutschem Recht (Directive 2010/63/EU of the european parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes) durchgeführt und wurde von der Regierung von Oberbayern genehmigt (Gz.: 55.2-1-54-2532.3-102-12). Die Versuchstiere wurden nach den Richtlinien der Ludwigs-Maximilians-Universität München für die Pflege und Verwendung von Labortieren behandelt.

2.2 Anästhesie

Das jeweilige Versuchstier wurde im Tierstall mit einer intramuskulären Injektion von 10mg/kg Azaperon (Stresnil® 40mg/ml, Janssen- Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und 10mg/kg Ketamin (Ketavet® 100mg/ml, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) sediert. Weiterhin wurden 0,02mg/kg Atropin (Atropin 0,5mg/ml, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verabreicht. Nach Eintreten der Sedierung wurde eine Venenverweilkanüle in eine Ohrvene eingebracht. Es erfolgte die Einleitung einer Narkose mit 0,01mg/kg Fentanyl (Fentanyl- Janssen® 0,05mg/ml, Janssen- Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und 1,0mg/kg Propofol (Propofol 2%, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland) als Bolus. Das Versuchstier wurde nun endotracheal intubiert (Mallinckrodt® 4.5 19cm, Covidien, Mansfield, USA) und maschinell beatmet (Siemens Servo Ventilator 900c, Siemens AG, München, Deutschland). Die Beatmung fand druckkontrolliert mit einem Sauerstoffanteil von 45%, einem Tidalvolumen von 8 ml/kg Körpergewicht, und einem positiven endexpiratorischen Druck von 5 mbar statt. Während der darauffolgenden Organentnahme bzw. den in vivo Messungen wurden die Narkose mit 10mg/kg/h Propofol und Boli von 0,01 mg/kg Fentanyl aufrechterhalten.

2.3 Erhebung von in vivo Referenzwerten

Präparation der Herzen

Nach medianer Sternotomie wurde der Thymus entfernt, die Pleura vom Perikard gelöst und das Perikard längs eröffnet. Nach ausreichender Blutstillung wurde der Thorax nochmals temporär mit Tuchklemmen verschlossen. Es folgte die Präparation der Halsgefäße. Nach einem Schnitt beidseits lateral des M. sternocleidomastoideus wurden A. carotis interna und V. jugularis externa

freipräpariert. Nun wurde eine arterielle Schleuse (5F Pulsioath, Pulsion, München, Deutschland) in die A. carotis und ein zentraler Venenkatheter (Two-Lumen Central Venous Catheterization Set, 5Fr, ARROW International, Reading, USA) in die V. jugularis externa der Gegenseite eingebracht.

Erhebung der in vivo Referenzwerte

Über die eingebrachten Katheter wurden Referenzwerte für mittleren arteriellen und zentralvenösen Blutdruck registriert und eine arterielle und zentralvenöse Blutgasanalyse durchgeführt. Die Messung der in vivo Referenzwerte (Gruppe 1) erfolgte über eine direkte Druckmessung nach Einbringen von Kanülen (20G) in Aorta, A. pulmonalis, linkes Atrium und rechtes Atrium. Anschließend erfolgte neben einer Messung der Herzfrequenz auch eine Messung des Herzzeitvolumens durch transpulmonale Thermodilution (Pulsioath, 5F Thermodilutions Katheter, PULSION Medical Systems, München, Deutschland) und eine Echokardiografie. Hierzu wurde mit einem Sektorschallkopf ein mittpapillärer Kurzachsenschnitt eingestellt und sowohl die enddiastolische, wie auch die endsystolische Kammerquerschnittsfläche vermessen, eine fractional area change errechnet und hieraus ein enddiastolischer, bzw. endsystolischer Volumenindex beider Ventrikel ermittelt.

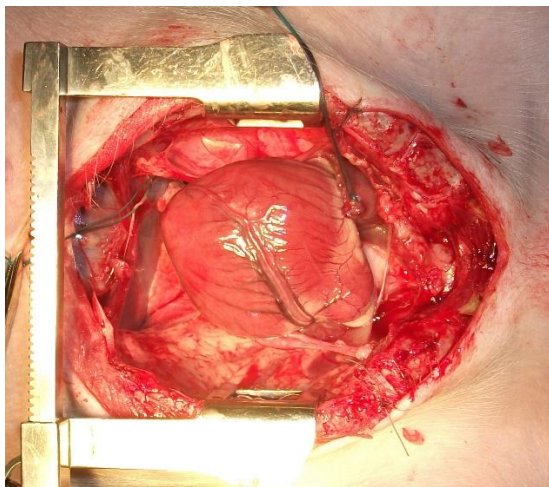


Abbildung 1 – Freigelegtes Schweineherzen nach medialer Sternotomie und Eröffnung des Perikards.

2.4 Organexplantation

Bei den Versuchen der Gruppe 2 (ex vivo Perfusion) wurden nach Sternotomie und Eröffnung des Perikards 500 IE/kg Heparin (Heparin- Natrium-25000-ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) verabreicht, und analog zu Gruppe 1 eine arterielle Schleuse in die A. carotis interna, sowie ein zentraler Venenkatheter in die V. jugularis externa der Gegenseite eingebracht. Im Anschluss wurde die V. cava caudalis aufgesucht, doppelt mit einer Ligatur angeschlungen und locker befestigt. Dies geschah mit dem Ziel, die Ligatur zum späteren Zeitpunkt der Kardioplegiegabe zuzuziehen und den venösen Rückfluss zum Herzen zu drosseln. Aorta und A. pul-

monalis wurden voneinander gelöst, um Raum für eine Aortenklamme zu schaffen. Die Aortenkanüle (DLP® Aortic Root Cannula 16 Ga, Medtronic GmbH, Meerbusch, Deutschland) wurde in die Aorta ascendens eingebracht und ein Beutel zur Blutentnahme daran befestigt. Der Operationstisch wurde in Richtung Kopf des Versuchstiers gekippt und die Blutentnahme begonnen.

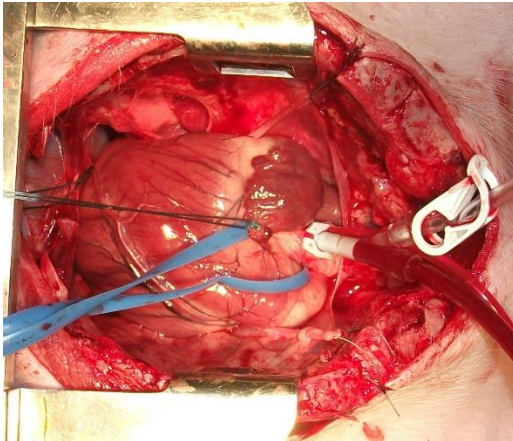


Abbildung 2 – Vorbereitung zur Herzexplantation: Fixierung des rechten Herzohrs (schwarzer Faden), Anschlingung der Aorta (blaues Band) sowie Kanülierung der Aorta ascendens (von rechts im Bild) zur Blutentnahme und anschließender Infusion der kardioplegischen Lösung

Während der Gewinnung von 500 ml Blut wurde die Aorta ascendens mit der Aortenklamme nach und nach abgeklemmt um einen ausreichenden Perfusionsdruck der Koronararterien zu gewährleisten. Der Zeitpunkt der vollständigen Abklemmung der Aorta wurde im Protokoll notiert und als Beginn der Ischämiezeit festgelegt. Unmittelbar anschließend wurde die Infusion der 4°C kalten Kardioplegielösung über die Aortenkanüle in die abgeklemmte Aorta ascendens mit einem Druck von 150 mmHg begonnen. Infundiert wurden jeweils 600ml Kardioplegielösung, welche zur Asystolie führte. Um eine optimale Entleerung des Herzens sicherzustellen, wurden zuvor beide Herzohren durch Inzisionen eröffnet. Es folgte die Organentnahme. Hierzu wurde die Pleura an beiden Seiten eröffnet, die Vv.cavae cranialis und caudalis, die kranialen Abgänge der Aorta, die thorakale Aorta sowie die Trachea durchtrennt und das Herz mit beiden Lungen entnommen. Das zuvor entnommene Blut wurde bis zur Befüllung des Perfusionssystems bei Raumtemperatur gelagert.

2.5 Präparation der Herzen

Die Präparation des Herzens für die anschließende Perfusion fand unter ständiger Kühlung in einem Bad kalter Ringerlösung statt. Zunächst wurde die Trachea bis etwa 2 cm unterhalb der Bifurcatio tracheae, die A. pulmonalis und die Aorta freipräpariert und das Perikard entfernt. An beiden Lungen wurden der Eingang des Hauptbronchus, der Lungenarterien und der Lungenvenen dargestellt und ligiert. Bevor die Lungen entfernt werden konnten, mussten zunächst die Venae cavae caudalis und cranialis aufgesucht werden, um ein versehentliches Abtrennen zu vermeiden. Es folgte das Durchtrennen der ligierten Lungengefäße, sowie die Entfernung der

Lunge. Zum Einsetzen der Kanülen war es notwendig, Aorta und A. pulmonalis über eine Länge von ca. 2 cm zu trennen, sowie die Aorta bis auf etwa 3 cm oberhalb des Abgangs der Koronararterien zu kürzen. Im Anschluss wurde das Herz gewogen, um später eine Gewichtsveränderung während der Perfusion quantifizieren zu können. Nun wurden 4 Kanülen (siehe Abbildung 3) in Aorta, A.pulmonalis und beide Herzohren eingelegt und mit Ligaturen befestigt. Über die noch offene V.cava cranialis wurde nun ein einlumiger zentraler Venenkatheter (Single Lumen Central Venous Catheterization Set, 4 Fr, ARROW International, Reading, USA) in den Koronarsinus vorgeschoben, um im weiteren Versuchsverlauf dort Blut gewinnen zu können. Die V.cava cranialis mitsamt einliegendem Katheter und die Vena cava caudalis wurden mittels Ligaturen verschlossen. Das Herz wurde bis zum Ablauf der kalten Ischämiezeit von 150 min in Eisgekühlter Ringer- Lösung (Plastipur® Ringer Lösung, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) gelagert.

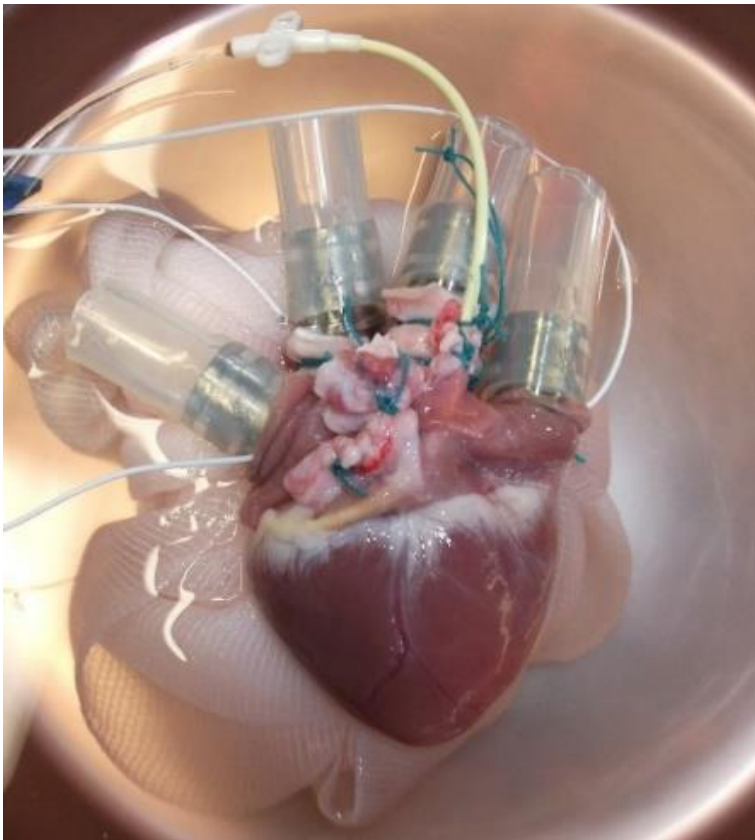


Abbildung 3: – Explantiertes Schweineherz nach Präservierung mittels kristalloider Kardioplegielösung und Kanülierung zur ex vivo Perfusion

2.6 Vorbereitung von Perfusionssystem und Perfusat

Das wie oben beschrieben gewonnene Blut wurde in das Perfusionssystem gefüllt und zunächst ohne „zwischen geschaltetes“ Herz zirkuliert. Es erfolgte die Zugabe von Natriumbicarbonat (NaBic 8,4%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) bis ein Base Excess zwischen +2 und -2 mmol/l erreicht war. Ein Glukosebolus (50% 100ml G-50, B.Braun Melsungen AG,

Melsungen, Deutschland) wurde verabreicht, um einen Blutglukosewert zwischen 120 und 140 mg/dl zu erzielen.

Nach Ablauf der Ischämiezeit von 150 min wurde das Herz mittels der zuvor installierten Kanülen in das Perfusionssystem integriert (Abbildung 4) und das System entlüftet, um spätere Luftembolien in den Koronararterien zu vermeiden. Im weiteren Versuchsverlauf wurde kontinuierlich 2 IE/h Glucose und 1IE/h Insulin (Insulin Rapid 40 I.E./ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) mit einer Spritzenpumpe (B. Braun Perfusor® segura, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) zugeführt. Calcium (Calciumgluconat 10%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurde mit einem Zielwert von 1 mmol/l substituiert. O₂ und CO₂ wurden über den Oxygenator zugeführt bis Partialdrücke von 100-150 mmHg bzw. 35-40 mmHg erreicht waren.

2.7 Langendorff Modus

Zur Initiierung der Organperfusion wurde über einen Zeitraum von 15 Minuten im sogenannten „Langendorff Modus“ reperfundiert. Dazu wurde oxygeniertes Blut aus dem Reservoir retrograd in die Aorta ascendens geleitet. Durch das Auswaschen der Kardioplegie aus den Koronararterien wurde initial Kammerflimmern ausgelöst, welches anschließend durch einmalig epikardiale Defibrillation mit 5 Joule terminiert wurde (Theracard 361D, Siemens, Deutschland). Hierdurch konnte in allen Versuchen ein Sinusrythmus erzielt werden. Venöses Blut aus dem Koronarsinus, welches sich im rechten Vorhof sammelte, wurde ins Reservoir zurückgeführt um einen geschlossenen Blutkreislauf zu ermöglichen (Abbildung 4).

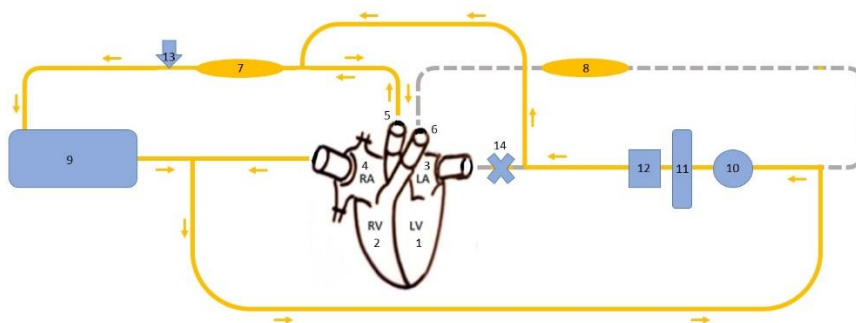


Abbildung 4 - Schema Langendorff Modus

Die Abbildung zeigt den schematischen Aufbau des Perfusionssystems im Langendorff Modus.

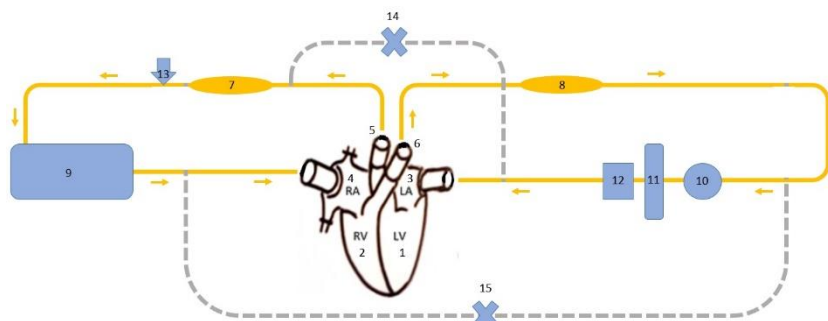
1: linker Ventrikel, 2: rechter Ventrikel, 3: linker Vorhof, 4: rechter Vorhof, 5: Aorta ascendens, 6: A. pulmonalis, 7 und 8: Windkessel, 9: Reservoirbeutel, 10: Zentrifugalpumpe 11: Oxygenator, 12: Filter, 13: Widerstandselement Aorta, 14: Klemme

2.8 Working-Heart-Modus

Zum Umschalten in den Working Heart Modus wurde zunächst die Vorlast des rechten Ventrikels erhöht. Hierzu wurde das Blutreservoir über dem rechten Atrium angehoben, bis ein rechtsatrialer

Druck von 5 mmHg erreicht und das rechte Herz gefüllt war. Die im Langendorff Modus geschlossene Klemme vor dem linken Atrium wurde langsam geöffnet, um eine Füllung des linken Herzens zu ermöglichen. Nach etwa 10-20 Schlägen war der linke Ventrikel in der Lage den aortalen Druck zu überwinden und selbst die Koronarperfusion zu erzeugen, so dass anschließend der Bypass des rechten Ventrikels und damit auch der retrograde Druckaufbau der Zentrifugalpumpe in die Aorta aufgehoben werden konnte. Der Blutfluss der vier Herzkammern und großen Gefäße entsprach in ihrer Richtung nun in vivo herrschenden Verhältnissen (siehe Abbildung 5):

Abbildung 5 - Schematischer Aufbau des Perfusionssystems im Working Heart Modus
Die Abbildung zeigt den schematischen Aufbau des Perfusionssystems



stems im Working Heart Mo-

dus. 1: linker Ventrikel, 2: rechter Ventrikel, 3: linker Vorhof, 4: rechter Vorhof, 5: Aorta ascendens, 6: A. pulmonalis, 7 und 8: Windkessel, 9: Reservoirbeutel, 10: Zentrifugalpumpe 11: Oxygenator, 12: Filter, 13: Widerstandselement Aorta, 14: Klemme, 15: Klemme

Aus dem Reservoir Beutel floss das Perfusat im Working Heart Modus in den rechten Vorhof, den rechten Ventrikel und anschließend in die Arteria Pulmonalis. Im Kreislauf schlossen sich eine Zentrifugalpumpe, ein Oxygenator, sowie ein Filter (siehe Abbildung 4-6, 12) an. Nach Passage des Filters floss das Perfusat schließlich in den linken Vorhof, den linken Ventrikel und die Aorta. An Aorta und Arteria pulmonalis waren „Windkessel“ angebracht um die Compliance und Impedanz des großen und kleinen Blutkreislaufs zu ersetzen Die Vorlast des rechten Ventrikels konnte über eine Höhenverstellung des Blutreservoirs reguliert werden, die Nachlast über eine Veränderung der Drehzahl der Zentrifugalpumpe, welche den Widerstand des Filters und Oxygenators kompensierte. Die Vorlast des linken Ventrikels war vom Auswurf des rechten Ventrikels und der Drehzahl der Zentrifugalpumpe abhängig. Die Nachlast des linken Ventrikels konnte über ein Widerstandselement (siehe Abbildung 4) reguliert werden. Über einen Membranoxygenator (HI-LITE® Pediatric hollow flow oxygenator, MEDOS Medizintechnik AG, Stolberg, Deutschland) wurde das Perfusat oxygeniert und decarboxyliert. Die Zufuhr von O₂, CO₂ und Raumluft zum Oxygenator wurde über einen Gasmischer (Gasflowmeter, Sorin Group Deutschland GmbH, Stöckert- Instrumente GmbH, München, Deutschland) reguliert. Eine Temperaturregulation des Perfusates war über den Wärmetauscher des Oxygenators möglich, welcher mittels Wasserzufuhr aus einem Wärmebad (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Deutschland) temperiert

wurde. Während des gesamten Versuchsablaufes war ein Sektorschallkopf (HP, Sonos 5500, NL) in mittpapillärem Kurzachsenschnitt auf dem Herzen positioniert.

Messzeitpunkte waren auf 60 und 180 min festgelegt. Nach Ablauf von 180 min wurde das Herz durch Injektion von Kaliumchlorid (Kaliumchlorid 7,45%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) erneut kardioplegiert, das Organ aus dem Perfusionskreislauf entnommen, ohne Kanülen gewogen und mittels Formalin konserviert.

2.9 Erhebung der Messwerte

Nach jeweils 60 und 180 min im Working-Heart-Modus wurden hämodynamische Messwerte erhoben und Proben aus dem Perfusat entnommen. Drücke wurden kontinuierlich über vier mit dem Perfusionssystem verbundenen Sensoren gemessen (Siemens SC 8000 Patientenmonitor, Siemens AG, München, Deutschland). Erhoben wurden mittlerer (systemischer) arterieller Blutdruck, mittlerer pulmonalarterieller Blutdruck, mittlerer rechtsatrialer Blutdruck und mittlerer linksatrialer Blutdruck, sowie die Herzfrequenz. Anhand der arteriellen Blutdruckkurve wurde die maximale intraventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) bestimmt. Der Cardiac Output (CO) wurde mit Hilfe eines Flowmeters (Flownetix ultrasonic flowmeter 100 series®, Flownetix Limited, Birmingham, England) an der Aorta ascendens, bzw. dem anschließenden Schlauchabschnitt gemessen und hieraus Cardiac Index, Left Ventricular Work Index und Right Ventricular Work Index errechnet. Blutanalysen wurden mit einem Point of Care- Messgerät (Siemens Rapidlabs 1265, Siemens healthcare diagnostics Inc., Tarrytown, USA) und einem Zellzähler (Coulter® Ac T8, Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland) durchgeführt. Ultraschalluntersuchungen fanden mit einem Sektorschallkopf, welcher direkt auf dem Epikard angebracht wurde, im mittpapillärem Kurzachsenschnitt statt. Analog zur Gruppe 1 in vivo wurden nun enddiastolische- und endsystolische Kammerquerschnittsflächen beider Ventrikel vermessen, die fractional area change ermittelt und hieraus ein enddiastolischer- und endsystolischer Volumenindex ermittelt.



Abbildung 6 - Kontinuierliche Erfassung der Druckkurven



Abbildung 7 - Erfassung und Aufzeichnung vom Flüssen über Aorta und Pulmonalarterie

2.9.1 Hämodynamische Parameter

Folgende abgeleitete Parameter wurden aus Druck- und Flussmessungen berechnet:

Cardiac Index: $CI = CO/\text{Herzgewicht}$

Left Ventricular Work Index: $LVWI = CI \cdot (MAP - LAP)$

Right Ventricular Work Index: $RVWI = CI \cdot (MPAP - RAP)$

Die kardialen Volumina, linksventrikulärer enddiastolischer Volume Index (LVEDVi), rechtsventrikulärer enddiastolischer Volume Index (RVEDVi), linksventrikulärer endsystolischer Volume Index (LVESVi) und rechtsventrikulärer endsystolischer Volume Index (RVESVi) wurden wie oben genannt echokardiografisch (nach Simpson) ermittelt.

2.9.2 Perfusat- und abgeleitete Parameter

In koronarvenösen und arteriellen Perfusatproben wurden jeweils folgende Blutgas-Parameter erfasst: Sauerstoffsättigung, Sauerstoffpartialdruck, Kohlendioxidpartialdruck, pH sowie Base Excess. Aus dem arteriellen Perfusat wurden zusätzlich Glukose, Laktat, Hämoglobinkonzentration, Hämatokrit, Natrium, Chlorid, Kalium und Kalzium bestimmt. Hieraus wurden weitere Parameter berechnet:

Arterieller Sauerstoffgehalt: $C_aO_2 \text{ in ml/dl} = (Hb \cdot S_aO_2 \cdot 1,39) + (0,003 \cdot P_aO_2)$

Venöser Sauerstoffgehalt: $C_vO_2 \text{ in ml/dl} = (Hb \cdot S_vO_2 \cdot 1,39) + (0,003 \cdot P_vO_2)$

Sauerstoffangebot: $DO_2 = CaO_2 \cdot$

Sauerstoffverbrauch: $VO_2 = VO_2 = CI \cdot (C_aO_2 - C_vO_2)$

Mittels des Zellzählers wurden folgende Parameter bestimmt: Erythrozytenzahl, Leukozytenzahl sowie Thrombozytenzahl.

2.10 Statistik

Statistische Berechnungen wurden mit Hilfe eines ungepaarten t-Tests durchgeführt (SPSS 16, Chicago, IL, USA). Verglichen wurden die Messwerte in vivo mit den Messwerten im Langendorff-Modus und nach 60 min Working Heart Modus während ex vivo Perfusion. Unabhängig wurden die Messwerte nach 60 min im Working Heart Modus mit denjenigen nach 180 min verglichen. Hierzu wurde ein gepaarter t-Test verwendet. Messwerte sind als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. P Werte kleiner 0.05 wurden als statistisch signifikant gewertet.

3. Ergebnisse

3.1 Versuchstiere und Perfusionssystem

Die Versuchstiere der Gruppen 1 (n=9) und 2 (n=6) unterschieden sich nicht signifikant bezüglich Körpergewicht (15.5±3.7 kg in Gruppe 1 vs. 16.0±2.0 kg in Gruppe 2) oder Herzgewicht (99±21 g in Gruppe 1 vs. 95±17 g in Gruppe 2). Alle Versuchstiere waren nach Narkoseeinleitung im Sinusrhythmus und normoton.

Die kalte Ischämiezeit der entnommenen Organe betrug 152±2 Minuten. Nach Reperfusion im Langendorff Modus entwickelten alle Herzen initial Kammerflimmern, welches in sämtlichen Versuchen durch monophasische Defibrillation mit 5 Joule in einen Sinusrhythmus konvertiert werden konnte. Nach 15 minütiger Perfusion im Langendorff Modus gelang es in allen Experimenten, in den Working Heart Modus umzuschalten und eine Perfusion über 180 min ohne externe Unterstützung aufrechtzuerhalten.

3.2 Elektrolyte und Metabolismus

Die folgende Tabelle 1 gibt die erhobenen Parameter der Blutgasanalysen und daraus berechneten Größen zu verschiedenen Zeitpunkten wieder: in vivo, im Langendorff Modus, sowie nach 60 und 180 min im Working Heart Modus.

Gruppe	1: in vivo (n=9)			2: ex vivo (n=6)									
				In vivo		Langendorff Modus (LM)		in vivo vs. LM	1h Perfusion (WH)		in vivo vs. 1h Perfusion	3h Perfusion (WH)	
parameter	Abkürzung	Einheit	MW	SD	MW	SD	p	MW	SD	p	MW	SD	p
Arterielle Sauerstoffsättigung	aSO ₂	%	99	±1	99	±0	0.53	99	±1	0.03	99	±1	0.08
Arterieller Sauerstoffpartialdruck	apO ₂	mmHg	201	±99	181	±18	0.65	141	±12	0	135	±15	0.14
Arterieller Kohlendioxidpartialdruck	apCO ₂	mmHg	41	±6	31	±5	0.01	35	±2	0.1	38	±4	0.09
Arterieller pH	apH		7.42	±0.07	7.42	±0.08	0.87	7.43	±0.04	0.73	7.44	±0.03	0.45
Arterieller Base Excess	aBE	mmol/L	1.2	±3.2	-4.8	±1.3	0.02	-1.1	±0.9	0.01	2.1	±2.4	0.17
Venöse Sauerstoffsättigung	vSO ₂	%	n.e.		52	±11	n.e.	78	±2	n.e.	85	±1	0.01
Venöser Sauerstoffpartialdruck	vpO ₂	mmHg	n.e.		36	±6	n.e.	50	±3	n.e.	57	±2	0.01
Venöser Kohlendioxidpartialdruck	vpCO ₂	mmHg	n.e.		33	±5	n.e.	37	±2	n.e.	41	±6	0.24
Venöser pH	vpH		n.e.		7.42	±0.07	n.e.	7.42	±0.03	n.e.	7.42	±0.02	0.95
Venöser Base Excess	vBE	mmol/L	n.e.		-4.0	±1.7	n.e.	-0.4	±1.7	n.e.	2.4	±3	0.28
Arterielle Lactatkonzentration	Lac	mmol/L	1.38	±0.07	4.24	±1.36	0.14	3.65	±1.28	0.65	1.82	±0.17	0.8
Arterielle Glucosekonzentration	Glu	mg/dl	106	±11	140	±23	0.14	144	±29	0.65	154	±21	0.8
Sauerstoffangebot	DO ²	ml/min/g	n.e.		0.42	±0.08	n/a	0.27	±0.06	n.e.	0.42	±0.05	0.01
Sauerstoffverbrauch	VO ²	ml/min/g	n.e.		0.021	±0.08	n/a	0.06	±0.01	n.e.	0.07	±0.01	0.01
Natrium	Na ⁺	mmol/l	141	±3	134	±3	0.01	138	±3	0.11	144	±5	0.05
Kalium	K ⁺	mmol/l	3.9	±0.2	4.7	±0.4	0.00	4.9	±0.5	0.00	5.6	±0.7	0.07
Calcium	Ca ⁺⁺	mmol/l	1.2	±0.1	1.2	±0.1	0.39	1.2	±0.1	0.88	1.1	±0.2	0.43
Chlorid	Cl ⁻	mmol/l	103	±2	109	±5	0.01	111	±4	0.00	119	±7	0.16
Hämoglobinkonzentration	Hb	mg/dl	6.9	±1.1	8.1	±0.4	0.07	8.2	±0.7	0.1	8.3	±1.6	0.79
Hämatokrit	Hct	%	20	±5	23	±3	0.34	23	±4	0.38	24	±6	0.75
Erythrozytenzahl	Ery	10 ³ /µl	3.72	±0.59	4.21	±0.42	0.24	4.17	±0.55	0.33	4.37	±0.88	0.9
Leukozytenzahl	Leu	10 ³ /µl	17	±5.2	11.5	±5.2	0.21	10.4	±3.6	0.09	10.2	±3.1	0.68
Thrombozytenzahl	Pit	10 ³ /µl	223	±33	326	±90	0.1	286	±72	0.2	341	±65	0.7

n.e. = nicht ermittelt; LM = Perfusion im Langendorff Modus; WH = Perfusion im Working Heart Modus

Tabelle 1 - Blutgasanalysen und Zellzählung in vivo, im Langendorff Modus, sowie nach 60 und 180 min im Working-Heart-Modus

Die arterielle Sauerstoffsättigung unterschied sich nicht in vivo und im Perfusionssystem (99 ± 1.0 % in vivo vs. 99 ± 0 % im LM, $p=0.53$ vs. 99 ± 1.0 % nach 60 min WH, $p=0.03$). Es bestanden keine Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 60 und 180 min Perfusion im Working-Heart-Modus (99 ± 1.0 % nach 180 min WH, $p=0.08$).

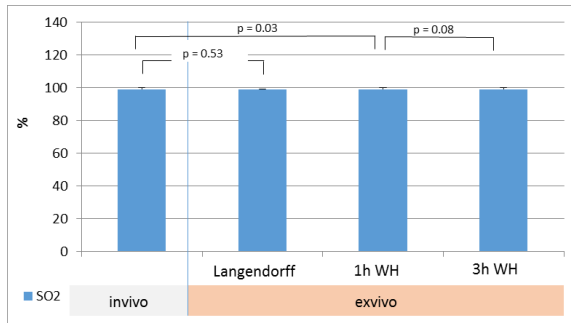


Abbildung 8 – Arterielle Sauerstoffsättigung (SO₂)

Im Perfusat fanden sich sowohl im Langendorff-, wie auch im Working Heart Modus niedrigere arterielle Sauerstoffpartialdrücke als in vivo (201 ± 99 mmHg in vivo vs. 181 ± 18 mmHg im LM, $p=0.65$; bzw. 141 ± 12 mmHg nach 60 min WH, $p<0.01$). Zwischen 60 und 180 min Working Heart Modus konnte kein Unterschied mehr festgestellt werden (135 ± 15 mmHg nach 180 min WH, $p=0.14$).

Die arterielle Kohlendioxidkonzentration war im Langendorff Modus zunächst signifikant niedriger als in vivo (41 ± 6 mmHg in vivo vs. 31 ± 5 mmHg im LM, $p<0.01$). Nach 60 min WH konnten keine Unterschiede im Vergleich zum Versuchstier mehr nachgewiesen werden (35 ± 2 mmHg nach 60 min WH, $p=0.1$). Auch war im Versuchsverlauf keine signifikante Veränderung mehr zu beobachten (38 ± 4 mmHg nach 180 min WH, $p=0.09$).

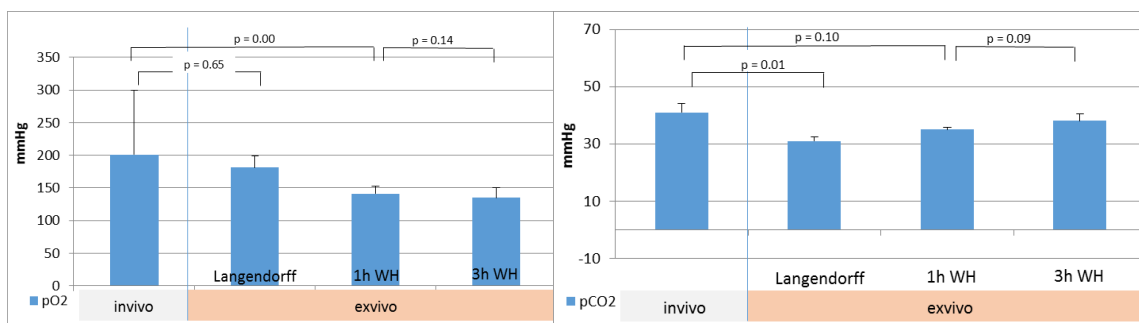


Abbildung 9 – Arterieller Sauerstoffpartialdruck (pO₂)

Abbildung 10 – Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pCO₂)

Bezüglich des arteriellen pH Wertes konnten keine signifikanten Unterschiede zu in vivo Messungen festgestellt werden (7.42 ± 0.07 in vivo vs. 7.42 ± 0.08 im LM, $p=0.87$; bzw. 7.43 ± 0.04 nach 60

min WH, $p=0.73$). Auch im weiteren Versuchsverlauf waren im Perfusionssystem keine Veränderungen mehr nachweisbar (7.44 ± 0.03 nach 180 min WH, $p=0.45$). Der arterielle Base Excess jedoch unterschied sich in vivo vom Langendorff Modus, sowie auch vom Working Heart Modus (1.2 ± 3.2 mmol/l in vivo vs. -4.8 ± 1.3 im LM, $p<0.05$; vs. 1.1 ± 0.9 nach 60 min WH, $p<0.01$). Im Versuchsverlauf wurde der Base Excess tendenziell wieder positiver (2.1 ± 2.4 nach 180 min WH), die Unterschiede erreichten jedoch kein Signifikanzniveau.

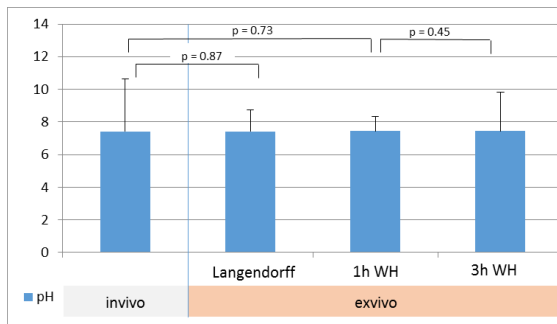


Abbildung 11 – Arterieller pH (pH)

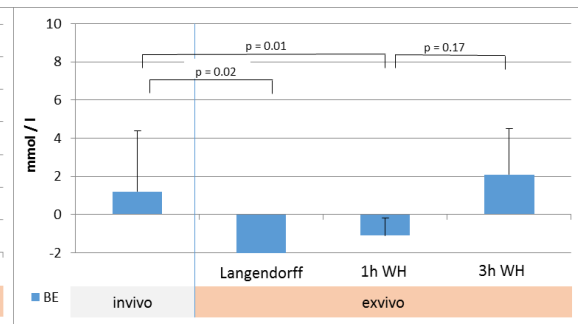


Abbildung 12 – Arterieller Base Excess (BE)

Die Laktatkonzentrationen im Perfusat waren sowohl im Langendorff, wie auch im Working Heart Modus höher als im Versuchstier (1.38 ± 0.07 mmol/l in vivo vs. 4.24 ± 1.36 im LM, $p=0.14$ vs. 3.65 ± 1.28 mmol/l nach 60 min WH, $p=0.65$). Nach 180 min WH konnte wieder eine niedrigere Laktatkonzentration gemessen werden (1.82 ± 0.17 mmol/l, $p=0.17$). Die gemessenen Veränderungen erreichten jedoch keine Signifikanz.

Ex vivo wurden höhere Glukosekonzentrationen als in vivo gemessen (106 ± 11 mg/dl in vivo vs. 140 ± 23 im LM, $p=0.14$). Im Verlauf der Perfusion kam es zu keinen Veränderungen (144 ± 29 mg/dl nach 60 min WH vs. 154 ± 21 mg/dl nach 180 min WH, $p=0.8$).

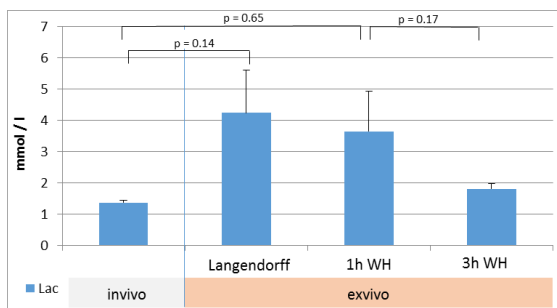


Abbildung 13 – Laktatkonzentration (Lac)

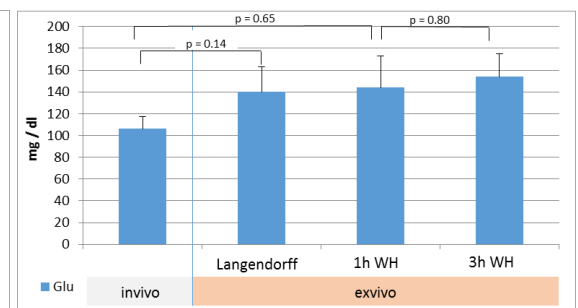


Abbildung 14 – Glukosekonzentration (Glu)

Sauerstoffangebot und Verbrauch konnten nur im Perfusionssystem ermittelt werden. Vergleicht man die ermittelten Werte im Perfusionssystem nach 60 und 180 min WH, so fand sich eine Zunahme des Sauerstoffangebots (0.27 ± 0.06 ml/min/g nach 60 min WH vs. 0.42 ± 0.05 ml/min/g nach 180 min WH, $p < 0.01$), sowie eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs (0.06 ± 0.01 ml/min/g nach 60 min WH vs. 0.07 ± 0.01 ml/min/g nach 180 min WH, $p < 0.01$).

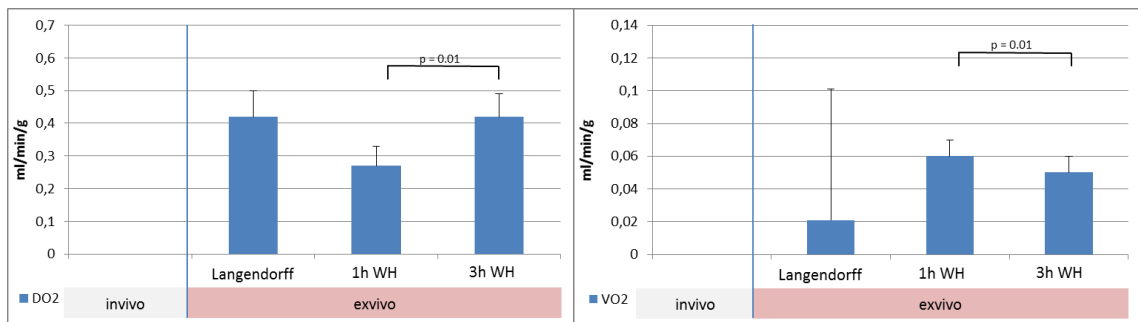


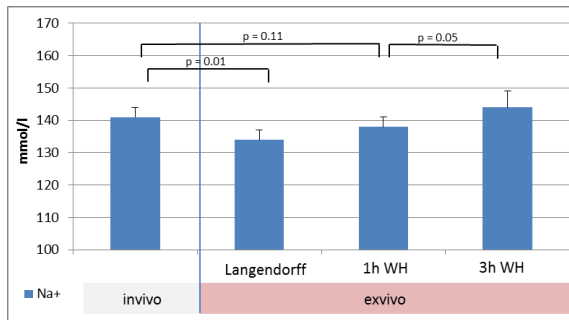
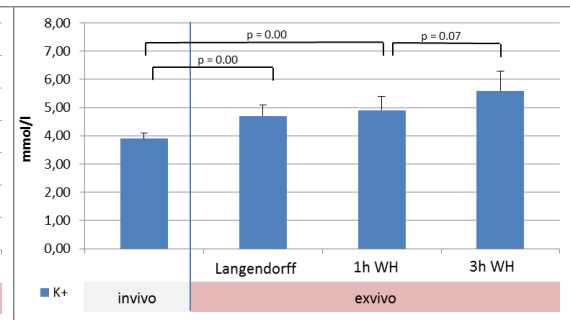
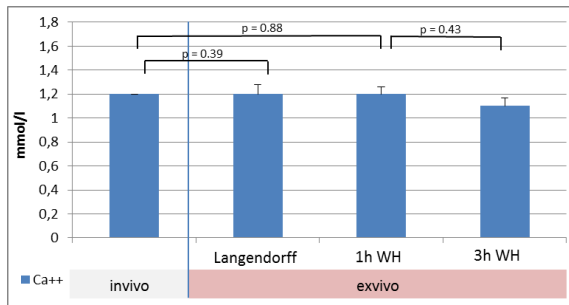
Abbildung 15 - Sauerstoffangebot (DO2)

Abbildung 16 - Sauerstoffverbrauch (VO2)

Im Perfusionssystem lag die Natriumkonzentration im Langendorff Modus zunächst niedriger als in vivo (141 ± 3 mmol/l in vivo vs. 134 ± 3 mmol/l, $p < 0.01$). Diese Unterschiede konnten nach 60 min WH nicht mehr nachgewiesen werden (138 ± 3 mmol nach 60 min WH, $p = 0.11$). Im weiteren Versuchsverlauf stieg der Natriumwert an (144 ± 5 mmol/l nach 180 min WH, $p < 0.05$).

In vivo wurden Kaliumkonzentrationen von 3.9 ± 0.2 mmol/l gemessen. Im Perfusionssystem lagen die Kaliumkonzentrationen höher als in vivo (4.7 ± 0.4 mmol/l im LM, $p < 0.01$) und 4.9 ± 0.5 mmol/l nach 60 min WH, $p < 0.01$). Ein weiteres Ansteigen der Kaliumkonzentration konnte jedoch im Versuchsverlauf nicht beobachtet werden (5.6 ± 0.7 mmol/l nach 180 min WH, $p = 0.07$).

Die Calciumkonzentrationen unterschieden sich in vivo und im Perfusionssystem weder im LM (1.2 ± 0.1 mmol/l in vivo vs. 1.2 ± 0.1 mmol/l im LM, $p = 0.39$) noch im WH (1.2 ± 0.1 mmol/l nach 60 min WH, $p = 0.88$ und 1.1 ± 0.2 mmol/l nach 180 min WH, $p = 0.43$).

Abbildung 17 - Natrium (Na⁺)Abbildung 18 - Kalium (K⁺)Abbildung 19 - Calcium (Ca⁺⁺)

Die Erythrozytenzahl in vivo betrug $3.72 \pm 0.59 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ und unterschied sich nicht von der Erythrozytenzahl im Perfusat ($4.21 \pm 0.4 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ im LM, $p=0.24$ und $4.17 \pm 0.55 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ nach 60 min WH, $p=0.33$). Es war kein Abfall der Erythrozytenzahl zwischen 60 und 180 min WH feststellbar ($4.37 \pm 0.88 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ nach 180 min WH, $p=0.90$).

Die Hämoglobinkonzentration zeigte keinen Unterschied in vivo und im Perfusionssystem (6.9 ± 1.1 mg/dl in vivo vs. 8.1 ± 0.4 mg/dl im LM, $p=0.07$). Auch konnte kein Abfall im Versuchsverlauf beobachtet werden (8.2 ± 0.7 mg/dl nach 60 min WH vs. 8.3 ± 1.6 mg/dl nach 180 min WH, $p=0.79$).

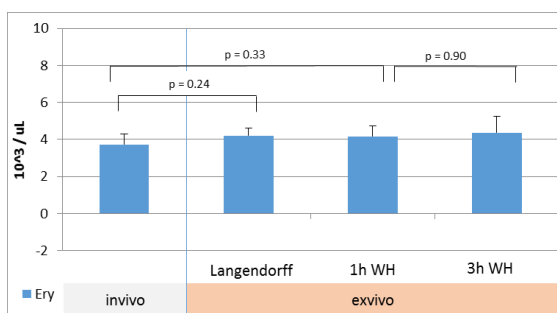


Abbildung 20 – Erythrozytenzahl (Ery)

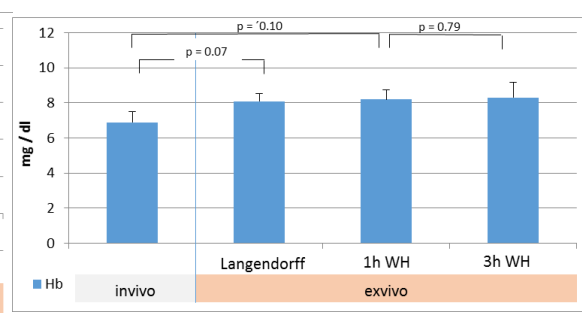


Abbildung 21 - Hämoglobinkonzentration (Hb)

Im Versuchstier wurden Leukozytenzahlen von $17.0 \pm 5.2 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ gemessen. Die Leukozytenzahlen im Perfusionssystem waren mit $11.5 \pm 5.2 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ im LM ($p=0.21$) bzw. $10.4 \pm 3.6 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ nach

60 min WH ($p=0.09$) zwar tendenziell niedriger, die Unterschiede erreichten jedoch kein Signifikanzniveau. Es ließ sich kein Abfall der Leukozytenzahlen im weiteren Versuchsverlauf feststellen ($10.2 \pm 3.1 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ nach 180 min WH, $p=0.68$).

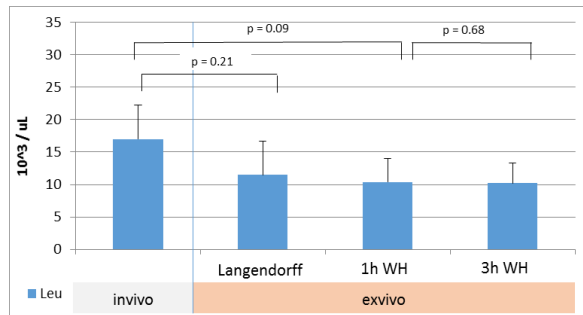


Abbildung 21 – Leukozytenzahl (Leu)

Auch die ermittelten Thrombozytenzahlen unterschieden sich im Versuchstier ($223 \pm 33 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ in vivo) und im Perfusionssystem nicht ($326 \pm 90 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ im LM, $p=0.10$ und $286 \pm 72 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ nach 60 min WH, $p=0.20$). Zwischen 60 und 180 min Working Heart Modus war kein Abfall der Thrombozytenzahlen zu beobachten ($341 \pm 65 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ nach 180 min WH, $p=0.70$).

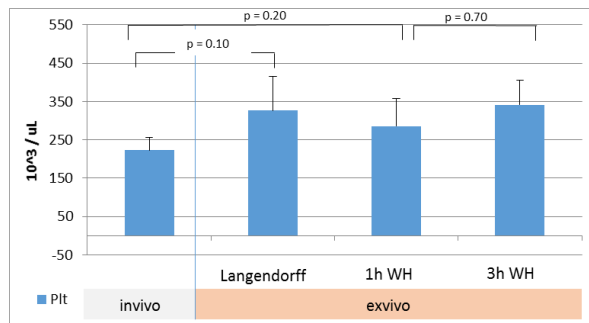


Abbildung 22 – Thrombozytenzahl (Plt)

3.3 Hämodynamik

Tabelle 2 gibt die in vivo, im Langendorff Modus, sowie nach 60 und 180 min Working Heart Modus ermittelten hämodynamischen Parameter wieder.

Gruppe				2: ex vivo (n=6)									
	1: in vivo (n=9)			Langendorff Modus (LM)		in vivo vs. LM	1h Perfusion (WH)		in vivo vs. 1h Perfusion	3h Perfusion (WM)		1h vs. 3h Perfusion	
parameter	Abkürzung	Einheit	MW	SD	MW	SD	p	MW	SD	p	MW	SD	p
Mittlerer arterieller Druck	MAP	mmHg	50	±5	63	±6	<0.01	65	±5	<0.01	62	±4	0.35
Mittlerer pulmonalarterieller Druck	MPAP	mmHg	15	±4	-5	±2	<0.01	19	±3	0.04	16	±3	0.05
Mittlerer linksatrialer Druck	LAP	mmHg	6.1	±1.6	-2.4	±3	<0.01	4.7	±0.9	0.09	7.1	±2.3	0.03
Mittlerer rechtsatrialer Druck	RAP	mmHg	3.1	±1.7	-1.8	±2.2	<0.01	5.5	±0.8	0.01	5.7	±0.5	0.49
Herzfrequenz	HR	1/min	103	±20	113	±19	0.42	119	±23	0.19	125	±13	0.61
Left ventricular work index	LVWi	mmHg ml/g min	787	±186	0	±0	-	498	±66	< 0.01	517	±103	0.63
Right ventricular work index	RVWi	mmHg ml/g min	212	±82	0	±0	-	120	±49	0.04	99	±50	0.11
Left ventricular maximal dP/dt	dP/dt max	mmHg/s	n.e.		n.e.		-	1397	±272		1320	±77	0.56
Left ventricular minimal dP/dt	dP/dt min	mmHg/s	n.e.		n.e.		-	1311	±155		1081	±98	0.09
Left ventricular enddiastolic volume index	LVEDVi	ml/g	0.35	±0.10	0.05*	±0.02	0.015	0.19	±0.10	0.07	0.17	±0.08	0.81
Right ventricular enddiastolic volume index	RVEDVi	ml/g	0.38	±0.03	0.04*	±0.00	<0.01	0.18*	±0.07	< 0.01	0.2	±0.12	0.32
Left ventricular endsystolic volume index	LVESVi	ml/g	0.12	±0.09	0.04*	±0.01	0.28	0.12	±0.10	0.6	0.09	±0.08	0.66
Right ventricular endsystolic volume index	RVESVi	ml/g	0.15	±0.04	0.01*	±0.00	<0.01	0.11	±0.06	0.3	0.13	±0.11	0.36

Tabelle 2 – Hämodynamik

Der mittlere arterielle Druck lag sowohl im Langendorff Modus, wie auch nach 60 min WH höher als in vivo (50 ± 5 mmHg in vivo vs. 63 ± 6 mmHg im LM, $p < 0.01$ bzw. 65 ± 5 mmHg nach 60 min WH, $p < 0.01$). Im Versuchsverlauf waren keine signifikanten Veränderungen mehr nachweisbar (62 ± 4 mmHg nach 180 min WH, $p = 0.35$).

Bezüglich des mittleren pulmonalarteriellen Drucks wurden im Perfusionssystem höhere Werte ermittelt als in vivo (15 ± 4 mmHg in vivo vs. -5 ± 2 mmHg im LM, $p < 0.01$ bzw. 19 ± 3 mmHg nach 60 min WH, $p < 0.05$). Zwischen 60 und 180 min WH fiel der mittlere pulmonalarterielle Druck tendenziell ab, die Unterschiede erreichten jedoch knapp kein Signifikanzniveau (16 ± 3 mmHg nach 180 min WH, $p = 0.05$).

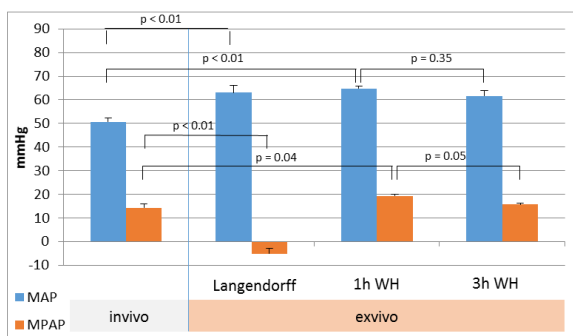


Abbildung 23 – Mittlerer arterieller Druck und mittlerer pulmonalarterieller Druck (MAP, MPAP)

Der mittlere linksatriale Druck in vivo betrug 6.1 ± 1.6 mmHg. Im Perfusionssystem waren die mittleren linksatrialen Drücke höher als in vivo (-2.4 ± 3 mmHg im LM, $p < 0.01$ bzw. 4.7 ± 0.9 mmHg

nach 60 min WH, $p=0.09$) und stiegen im Versuchsverlauf weiter an (7.1 ± 2.3 mmHg nach 180 min WH, $p<0.05$).

In vivo wurden mittlere rechtsatriale Drücke von 3.1 ± 1.7 mmHg gemessen. Im Vergleich hierzu lagen die mittleren rechtsatrialen Drücke im Langendorff Modus niedriger (-1.8 ± 2.2 mmHg, $p<0.01$) und nach 60 min WH (5.5 ± 0.8 mmHg nach 60 min WH, $p<0.05$) höher. Zwischen 60 und 180 min WH fand sich keine Veränderung mehr (5.7 ± 0.5 mmHg, $p=0.49$).

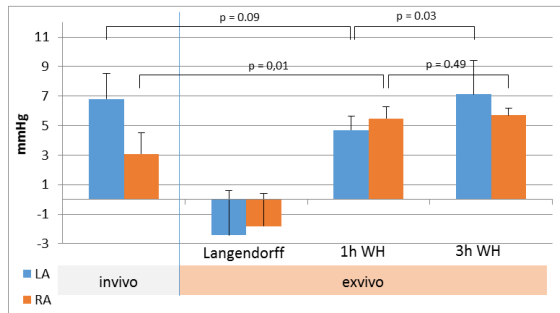


Abbildung 24 – Mittlerer links- und rechtsatrialer Druck (LA, RA)

Zwischen der Herzfrequenz in vivo und im Perfusionssystem konnte kein Unterschied nachgewiesen werden (103 ± 20 /min in vivo vs. 113 ± 19 /min im LM, $p=0.4$ bzw. 119 ± 23 nach 60 min WH, $p=0.19$). Die Herzfrequenz veränderte sich im weiteren Versuchsverlauf nicht signifikant (120 ± 13 nach 180 min WH, $p=0.63$).

Im Perfusionssystem wurden niedrigere Cardiac Indices ermittelt als im Versuchstier (18.3 ± 4.1 ml/min/g in vivo vs. 8.4 ± 1.7 ml/min/g nach 60 min WH, $p<0.01$). Zwischen 60 und 180 min WH fanden sich keine signifikanten Unterschiede mehr (9.5 ± 2 ml/min/g nach 180 min WH, $p=0.12$).

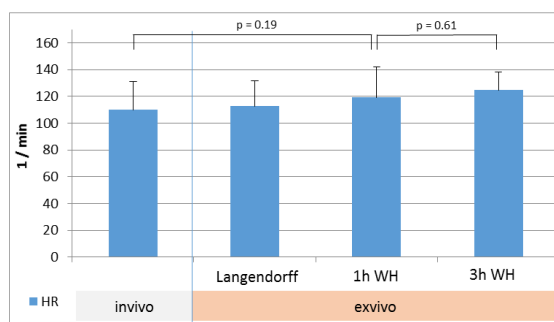


Abbildung 25 - Herzfrequenz (HR)

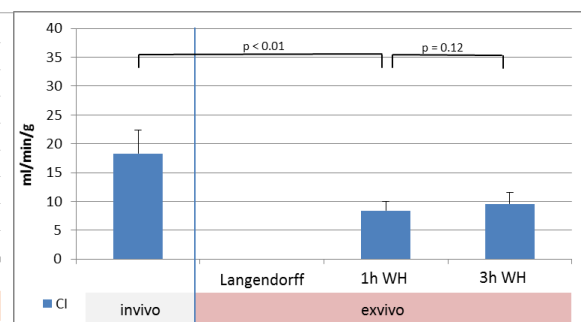


Abbildung 26 - Cardiac Index (CI) = Cardiac Output/Herzgewicht

Der LVWI lag in vivo mit 787 ± 186 mmHg*ml/min*g höher als nach 60 min WH (498 ± 66 mmHg*ml/min*g, $p < 0.01$). Weitere Veränderungen fanden im Verlauf der Perfusion nicht statt (517 ± 103 mmHg*ml/min*g nach 180 min WH, $p = 0.63$).

Auch bezüglich des RVWI wurden nach 60 min WH niedrigere Werte ermittelt als in vivo (212 ± 82 mmHg*ml/min*g in vivo vs. 120 ± 49 mmHg*ml/min*g nach 60 min WH, $p < 0.05$). Im Versuchsverlauf ergaben sich auch hier keine weiteren Veränderungen (99 ± 50 mmHg*ml/min*g nach 180 min WH, $p = 0.11$).

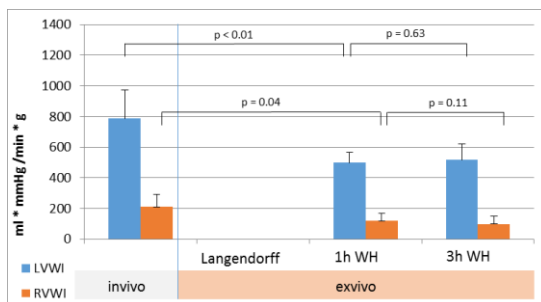


Abbildung 27 – Left- und Right Ventricular Work Index (LVWI, RVWI)

In vivo wurde echokardiografisch ein LVEDVi von 0.35 ± 0.10 ml/g gemessen. Im Vergleich hierzu zeigten Messungen im Langendorff Modus einen signifikant niedrigeren Wert (0.05 ± 0.02 ml/g, $p < 0.05$). Nach 60 min WH wurden weiterhin tendenziell niedrigere Werte als im Versuchstier gemessen (0.19 ± 0.10 ml/g nach 60 min WH, $p = 0.07$), ebenso ergab sich zwischen 60 und 180 min Perfusion im Working Heart Modus keine Veränderung mehr (0.17 ± 0.08 ml/g nach 180 min WH, $p = 0.81$).

Der RVEDVi betrug im Versuchstier 0.38 ± 0.03 ml/g. Niedriger lagen die Werte hingegen Langendorff Modus (0.04 ± 0.00 ml/g, $p < 0.01$) und nach 60 min WH (0.18 ± 0.07 ml/g, $p < 0.01$). Im weiteren Versuchsverlauf war jedoch keine weitere Veränderung mehr nachweisbar (0.2 ± 0.12 ml/g nach 180 min WH, $p = 0.32$).

Beim Vergleich des LVESVi konnte in vivo und ex vivo kein Unterschied festgestellt werden, ebenso ergaben sich keine signifikanten Veränderungen im Versuchsverlauf (0.12 ± 0.09 ml/g in vivo vs. 0.04 ± 0.01 ml/g im LM, $p = 0.28$ bzw. 0.12 ± 0.10 ml/g nach 60 min WH, $p = 0.6$ bzw. 0.09 ± 0.08 ml/g nach 180 min WH, $p = 0.66$).

Der RVESVi in vivo betrug 0.15 ± 0.04 ml/g, im LM waren dieser niedriger (0.01 ± 0.00 ml/g, $p < 0.01$) im WH wurde kein Unterschied gemessen (0.11 ± 0.06 ml/g nach 60 min WH, $p = 0.3$). Zwischen 60 und 180 min WH konnten im Perfusionssystem keine Unterschiede mehr nachgewiesen werden (0.13 ± 0.11 ml/g nach 180 min WH, $p = 0.36$).

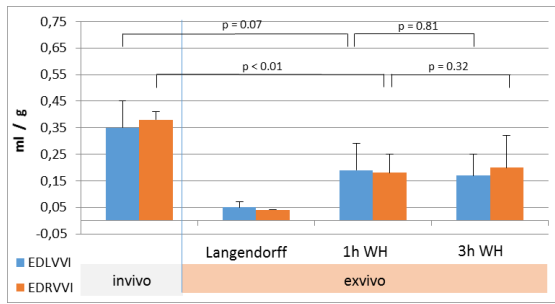


Abbildung 28 – Enddiastolic Left- and Right Ventricular Volume Index (EDLVVI, EDRVVI)

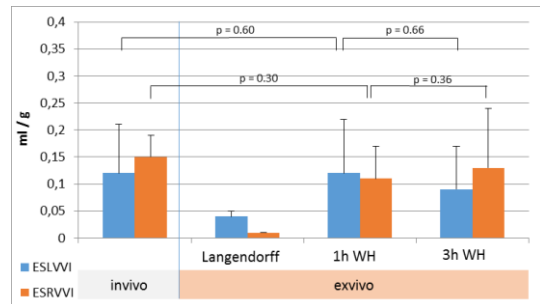


Abbildung 29 – Endsystolic Left- and Right Ventricular Volume Index (ESLVVI, ESRVVI)

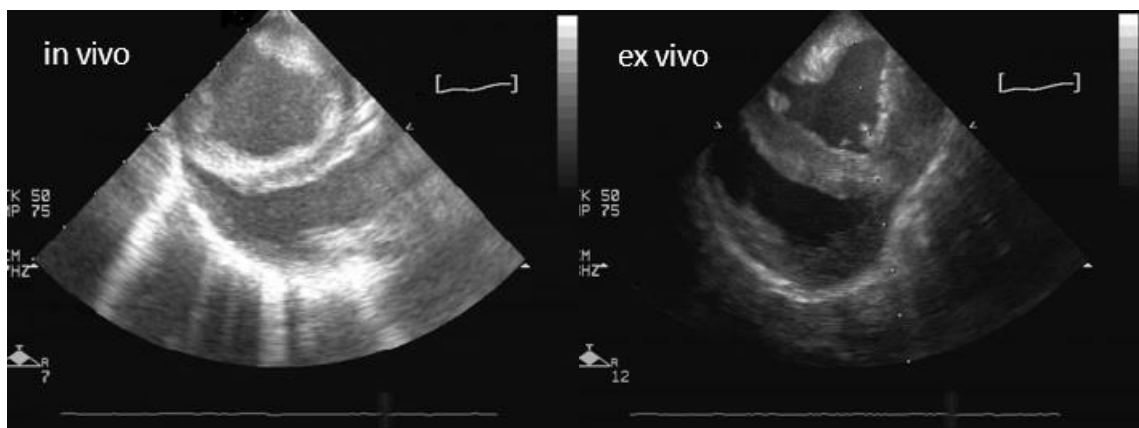


Abbildung 30 – exemplarischer enddiastolischer Füllungsstatus in vivo

Abbildung 31 - exemplarischer enddiastolischer Füllungsstatus ex vivo

Left ventricular maximal und minimal dP/dt konnten nur ex vivo im WH Modus ermittelt werden. Für dP/dt max wurden nach 180 min WH keine unterschiedlichen Werte ermittelt als nach 60 min WH (1397±272 mmHg/s nach 60 min WH und 1320±77 mmHg/s nach 180 min WH (p=0.56)). Es zeigte sich ein Trend zu höheren dP/dt min Werten (1311±155 mmHg/s nach 60 min WH vs. 1081±98 mmHg/s nach 180 min WH, p=0.09).

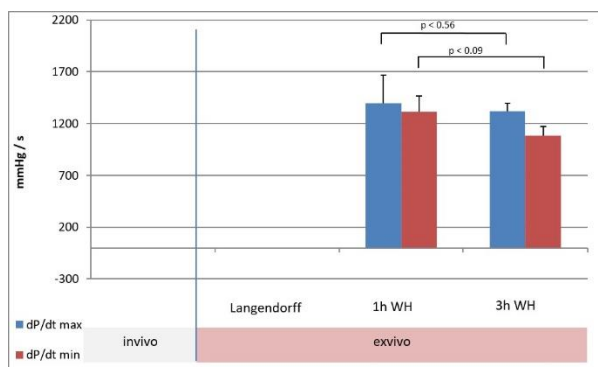


Abbildung 32 - dP/dt max und min

4. Diskussion

4.1 Versuchstiere und Primingvolumen

Zahlreiche Arbeitsgruppen verwenden Working-Heart-Systeme, um Untersuchungen am schlagenden Herzen durchzuführen. Meistens werden Herzen von Nagetieren wie Ratten oder Meerschweinchen verwendet (3, 4, 14, 18, 20, 38-43). Vorteile sind der weniger aufwändige Versuchsaufbau, die geringeren Kosten, sowie weniger ethische Vorbehalte. Besonders im Hinblick auf Anatomie, Biochemie und Physiologie der Organe unterscheiden sich Herzen von Nagetieren jedoch deutlich vom menschlichen Herzen. Wesentlich größer ist die Ähnlichkeit zum Menschen bei den in dieser Versuchsreihe verwendeten Herzen junger Landrasseschweine.

In den meisten anderen Arbeitsgruppen, denen Schweine als Versuchstiere dienen, handelt es sich jedoch um deutlich schwerere Tiere (19, 24, 25, 34, 44-49). Schweine mit einem vergleichbaren Gewicht von 10.5 ± 0.9 kg wurden lediglich von Lescan et al. verwendet (35). Zur Perfusion von Großtierherzen werden große Perfusionssysteme benötigt, welche oftmals mit der Notwendigkeit eines großen Primingvolumens einhergehen. Zur Füllung des Perfusionssystems wurde daher häufig ein zweites Versuchstier als Blutspender verwendet. So benötigte die Arbeitsgruppe von Chinchoy et al. 3,8 Liter Blut zur Füllung ihres Perfusionssystems für Herzen, welche im Schnitt 330g schwer waren (34). Die Arbeitsgruppe von Lescan et al. verwendete 3 Liter Spendeblood, welches auf einen Hämatokrit von 25% verdünnt wurde (35).

Für das hier vorgestellte Perfusionssystem wurden lediglich 500ml Primingvolumen benötigt (minimal war eine Perfusion sogar mit 350ml möglich). Auf ein zweites Spendertier konnte hierdurch verzichtet werden. Trotz der Entnahme mehrerer Blutproben aus dem Perfusionssystem im Laufe des Versuchsablaufes (insgesamt etwa 120 ml) konnte eine ex vivo Perfusion über 3 Stunden aufrechterhalten werden. Kritisch muss auch die Entnahme des Blutes vom herzspendenden Tier betrachtet werden. Durch die Entnahme des geringen Blutvolumens aus dem Versuchstier wurde auch eine intraoperative Hypovolämie während der Blutentnahme und deren Folgen wie Tachykardie, endogene Katecholaminausschüttung und vor allem kardiale Ischämie reduziert. Eine bereits intraoperativ im Rahmen der Blutentnahme entstandene kardiale Ischämie vor Kardioplegiegabe und ein daraus resultierender Myokardschaden hätte unkalkulierbare Auswirkungen auf die spätere Kontraktilität und damit die Versuchsergebnisse gehabt und sollte aus diesem Grund vermieden werden.

Auch in Folgeversuchen, im Rahmen derer xenogen mit menschlichem Blut perfundiert wurde, war das geringe Primingvolumen von Vorteil, da ein einzelner menschlicher Blutspender maximal 500ml Blut spenden kann und bei größerem Primingvolumen gepooltes Blut hätte verwendet werden müssen (45).

4.2 Perfusat

Eigenschaften und Vorteile verschiedener Perfusate wurden in der Vergangenheit ausführlich untersucht. Hierbei konnte übereinstimmend gezeigt werden, dass eine Perfusion mit autologem Blut anderen Lösungen überlegen ist (16, 50-53). Kristalloide Lösungen, beispielsweise die häufig verwendete Krebs Henseleit Pufferlösung führten zu einer ausgeprägten Ödembildung (16, 50-53).

Auch zur xenogenen Perfusion mit menschlichem Blut wurden Untersuchungen durchgeführt. Im Rahmen derer kam es jedoch ebenfalls zu einer ausgeprägten Ödembildung (29, 45, 54, 55). Folge der Ödembildung ist unter anderem der daraus resultierende erhöhte Widerstand der Koronararterien, welcher ein vermindertes kardiales Sauerstoffangebot zur Folge hat (42). Diese Effekte waren bei autologer Perfusion nicht zu beobachten (16, 50-53). In dieser Versuchsreihe wurden die gewonnenen Herzen autolog mit Blut des selbigen Tieres perfundiert.

Während der Perfusionsversuche zeigten sich stabile Werte für SO_2 , pO_2 , CO_2 und pH, welche sich nicht von den in vivo erhobenen Werten unterschieden. Die Laktatkonzentration war besonders zu Beginn der Perfusionsversuche erhöht im Vergleich zur in vivo Messung. Dies ist auf die Reperfusion nach Ischämie und die Ausschwemmung anaerober Stoffwechselprodukte aus dem Myokard zu Beginn des Versuches zurückzuführen. Die Auswirkungen von Ischämie und Reperfusion und die damit einhergehenden metabolischen Veränderungen im Myokard wurden in der Vergangenheit ausführlich untersucht, werden an dieser Stelle jedoch nicht genauer erläutert (14, 15, 17, 20, 35, 46). Im Versuchsverlauf kam es zu einem Abfall der Laktatkonzentration, was wahrscheinlich auf eine Verstoffwechslung von Laktat durch das Myokard selbst zurückzuführen ist (15, 17). Einhergehend mit den erhöhten Laktatspiegeln fand sich ein tendenziell negativerer Base Excess als in vivo, der pH Wert war jedoch nicht signifikant verändert. Die insgesamt geringen Abweichungen des pH lassen es zu, während der ex vivo Perfusion von einem physiologischen Säure-Base-Milieu im Myokard auszugehen.

Des Weiteren war im Perfusionssystem ein höherer Kaliumspiegel als in vivo zu verzeichnen. Kalium wurde im Rahmen der Reperfusion aus dem Myokard ausgewaschen. Dies ist zum einen durch den hohen Kaliumgehalt der Kardioplegielösung zu erklären. Ein weiterer beschriebener Mechanismus ist eine Verschiebung von Kalium aus der Zelle heraus ins Perfusat im Rahmen der Ischämie- Reperfusion durch ein saures Milieu (14, 15, 17, 20, 35, 46). Bei den gemessenen pH Werten ist jedoch nur von einem geringen Shift von Kalium von intra- nach extrazellulär auszugehen. Möglich ist auch ein Austritt von Kalium aus nekrotischen Myokardzellen im Rahmen einer unzureichenden Myokardpräservierung. Die beobachtete, global gute Myokardfunktion schließt einzelne Nekrosen nicht aus. Überdies könnten Erythrozyten im Perfusat Ursprung des Kaliumanstiegs sein, im Rahmen von Hämolyse durch das Schlauchsystem und insbesondere die Zentrifugalpumpe. Gegen diese These spricht allerdings der fehlende Abfall der Hämoglobinkonzentration oder des Hämatokritwertes im Versuchsverlauf.

4.3 Perfusionssystem

4.3.1 Vier-Kammer-Modell

Das hier vorgestellte Perfusionssystem ist ein Vier-Kammer-Modell. Physiologisch und vor allem hämodynamisch gesehen ist das Vier-Kammer-Modell dem häufiger verwendeten Zwei-Kammer-Modell überlegen (32, 34, 38-40, 48, 49, 53). Eine fehlende Füllung des rechten Ventrikels bedingt einen unphysiologischen Druckgradienten über dem Ventrikelseptum, welcher die globale Pumpfunktion negativ beeinflussen kann (56, 57). Der wesentliche Vorteil eines Vier-Kammer-Modells liegt jedoch in der Möglichkeit, die rechtsventrikuläre Funktion untersuchen zu können. Im klinischen Alltag gibt es zahlreiche Erkrankungen, welche entweder durch eine reduzierte rechtsventrikuläre Funktion selbst bedingt sind, wie beispielsweise das akute Rechtsherzversagen nach Verwendung der Herz-Lungen-Maschine, oder die sekundär zu einer Störung der rechtsventrikulären Funktion führen. Hierzu zählen beispielsweise Lungenerkrankungen wie COPD oder Lungenfibrose, welche über Ausbildung einer pulmonalarteriellen Hypertonie zu einer Erhöhung der rechtsventrikulären Nachlast führen (58-61). Weiterhin scheinen rechter- und linker Ventrikel unterschiedlich auf Ischämie/Reperfusion zu reagieren, was eine gesonderte Untersuchung beider Ventrikel ebenfalls als sinnvoll erscheinen lässt (61).

Trotz dieser offensichtlichen Vorteile bzw. Anwendungsfelder finden Vier-Kammer-Modelle für Kleintierherzen eine recht breite Verwendung (5, 6, 31, 33, 62), während nur sehr viel weniger Arbeitsgruppen ein Vier-Kammer-Modell für Schweineherzen beschrieben haben (34, 35).

4.3.2 Offenes und geschlossenes System

Man unterscheidet zwischen offenen und geschlossenen Working-Heart-Systemen. Im offenen System wird vom jeweils rechten- bzw. linken Ventrikel ausgeworfenes Blut erneut über zwei getrennte Reservoirsysteme in den dazugehörigen Vorhof eingespeist, woraus zwei getrennte Kreisläufe resultieren (47). Eine andere Option ist ein Reservoir, in welches das aus beiden Ventrikeln ausgeworfene Perfusat gesammelt wird und aus welchem beide Vorhöfe bedient werden, wie es beispielsweise von Chinchoy et al. verwendet wurde (34).

Das hier vorgestellte Perfusionssystem ist ein geschlossenes System und spiegelt einen physiologischen Blutfluss wieder. Der genaue Aufbau des Perfusionssystems wurde ausführlich im Abschnitt „Material und Methoden“ erläutert. Durch eine relativ unmittelbare Kopplung des linken Vorhofs mit der Pulmonalarterie konnte ein zweites Reservoir vor dem linken Vorhof eingespart werden, wodurch wiederum Primingvolumen eingespart werden konnte. Es findet sich in der Literatur keine weitere Arbeitsgruppe, welche mit einem Vier-Kammer-System mit geschlossenem Kreislauf arbeitet.

In dem beschriebenen Modell steht andererseits dem linken Vorhof jeweils nur dasjenige Blutvolumen zur Verfügung, welches der rechte Ventrikel zuvor ausgeworfen hat – dies ist grundsätzlich physiologisch, verhindert jedoch eine unabhängige Steuerung der Vorlast von rechtem und linkem Ventrikel. In Abschnitt 4.3.6 wird auf diesen Nachteil nochmals eingegangen.

4.3.3 Offenes und geschlossenes Reservoir

Auch bezüglich des Aufbaus des Reservoirs als solches finden sich Unterschiede. So kann, analog zur Herz-Lungen-Maschine im klinischen Alltag, entweder ein geschlossenes oder ein offenes Reservoir verwendet werden. Im hier vorgestellten System wurde ein geschlossenes Reservoirsystem, bestehend aus einem flexiblen Beutel, verwendet. Chinchoy et al. verwendeten für ihren Versuchsaufbau beispielsweise ein offenes Reservoirsystem (34).



Abbildung 33 – geschlossenes Reservoir (63)



Abbildung 34 – offenes Reservoir (64)

Ein Vorteil des geschlossenen Reservoirsystems ist eine Verminderung der Verdunstung von freiem Wasser. Ein steigender Natriumwert im Versuchsverlauf lässt jedoch vermuten, dass auch bei Verwendung eines geschlossenen Reservoirs eine relevante Verdunstung von Wasser stattgefunden hat, vermutlich auf der Oberfläche des Herzens. Anders als somit zu erwarten stiegen Hämoglobin oder Hämatokrit nicht relevant an.

Ein geschlossenes Reservoir reduziert insbesondere durch die Verhinderung von Verdunstung den Wärmeverlust. In den durchgeführten Versuchen wurde diesem durch eine Wärmezufuhr am Oxygenator entgegengewirkt, jedoch ist hinzuzufügen, dass im Rahmen der vorliegenden Versuchsreihe die Temperatur lediglich im Reservoir, nicht aber direkt am Herz gemessen wurde. Hier kann in weiteren Versuchsreihen ggf. eine Optimierung erzielt werden.

Eintreten von Luft in das Perfusionssystem ist bei geschlossenem Reservoir nicht möglich. Wird ein offenes System verwendet, besteht die Gefahr eines „Leerlaufens“ des Reservoirs mit einer konsekutiven Ansaugung von Luft, was wiederum mit dem Auftreten von Luftembolien im perfundierten Herz einhergehen würde. Läuft das geschlossene Reservoirsystem kurzzeitig leer, beispielsweise durch eine Umverteilung des Perfusates, so kollabiert lediglich der flexible Beutel. Einem Eintreten von Luft ist somit effizient entgegengewirkt.

Ein weiterer Vorteil des geschlossenen Reservoirs ist die Reduzierung von Blut-Luft-Kontakt. Durch dies kann eine Aktivierung im Blut befindlicher Leukozyten verhindert bzw. vermindert werden. Es gibt allerdings zahlreiche andere Faktoren innerhalb eines Perfusionssystem, welche zu einer Leukozytenaktivierung führen können. Hier seien nur beispielhaft die Fremdoberfläche des Schlauchsystems, die mechanische Belastung aufgrund der verwendeten Pumpensysteme oder aber die Reperfusion des Myokards an sich genannt (65). Bezüglich der Leukozytenaktivierung

kann in der vorliegenden Versuchsreihe keine eindeutige Aussage getroffen werden. Die Versuchstiere wiesen bereits in vivo außerordentlich hohe Streuungen der Leukozytenzahlen auf. Zumindest im Versuchsverlauf war kein erheblicher Abfall der Leukozytenzahlen zu verzeichnen. Um genauere Abläufe wie Aktivierung und anschließende Migration von Zellen in das Myokard zu untersuchen wären genauer Differenzierungen der Zellen im Perfusat sowie histologische Untersuchungen notwendig.

4.3.4 Gewinnung von koronarvenösem Blut

Zur Beurteilung des myokardialen Sauerstoffverbrauchs, sowie metabolischer Vorgänge im Myokard war es notwendig, koronarvenöses Blut zu akquirieren. In Zwei-Kammer-Systemen kann einfach das koronarvenöse Blut, was sich im ansonsten leeren rechten Ventrikel sammelt, entnommen werden. In einem Vier-Kammer-System, in welchem der rechte Vorhof nicht nur über den Koronarsinus gefüllt wird, ist dies nicht möglich.

In dieser Versuchsreihe wurde daher ein gesonderter Katheter direkt in den Koronarsinus eingebracht, aus welchem Blut entnommen werden konnte. Es handelte sich um einen 4 French Katheter, welcher im klinischen Gebrauch normalerweise zur zentralvenösen Katheterisierung dient. Diese Art der Blutentnahme in einem Vier-Kammer-System findet sich in der Literatur auch Liu et al., jedoch in keiner Arbeitsgruppe, welche Schweine als Spendertiere verwendet (62).

Eine möglich Gefahr dieser Methode ist, dass die Katheterisierung des Koronarsinus, beispielsweise über eine Widerstandserhöhung hinter dem koronaren Stromgebiet, die Perfusion des Myokards negativ beeinflusst. Sichtbare venöse Stauungen im Myokard konnten nicht beobachtet werden, so dass diese Gefahr bei Umsichtiger Einbringung des Katheters als gering gewertet werden kann.

4.3.5 Windkessel

Der Windkesselfunktion der arteriellen Gefäße, im Besonderen der Aorta, kommt eine zentrale Bedeutung bei Betrachtungen des Herzzyklus zu. Die Windkesselfunktion ermöglicht es, den großen Druck- und Volumenschwankungen in Systole und Diastole zum Trotz, über eine dämpfende Funktion den peripheren Geweben einen kontinuierlichen Blutfluss und damit eine kontinuierliche Sauerstoffzufuhr zur Verfügung zu stellen (66, 67). Weiterhin ist die Windkesselfunktion unerlässlich für eine ausreichende Perfusion der Koronararterien. Während der Systole herrschen hohe intraventrikuläre Drücke, wodurch die Koronararterien, im Besonderen die linke Koronararterie, komprimiert werden. Hierdurch findet die Perfusion hauptsächlich während der Diastole statt (67).

Vereinfacht gesagt dehnen sich elastische Fasern der Aortenwand bzw. der Wand großer arterieller Gefäße durch das in der Systole ausgeworfene Volumen und speichern hydraulische Energie. In der Diastole wird dieser Druck über die elastischen Retraktionskräfte retrograd Richtung Koronararterien appliziert, was wesentlich zur Koronarperfusion beiträgt (68, 69). In Abbildung 35 ist der Herzzyklus inklusive der aortalen Druckkurve dargestellt. Sichtbar werden ein steiler

Druckanstieg zum Beginn der Systole und ein relativ hohes Druckniveau mit langsamem Druckabfall während der Diastole. Wesentlicher Einflussfaktor hierbei ist die Compliance der Aorta bzw. der großen Gefäße. Compliance ist definiert als Druckänderung im Verhältnis zur Volumenänderung (70). Bei eingeschränkter Windkesselfunktion und erniedrigter Compliance, wie es beispielsweise bei einer stark verkalkten Aorta oder aber bei einem zu starren Schlauch im Perfusionssystem der Fall ist, entsteht ein steiler Druckanstieg während der Systole, gefolgt von einem steilen Druckabfall während der Diastole (10, 68, 70). Abbildung 36 veranschaulicht diesen Sachverhalt.

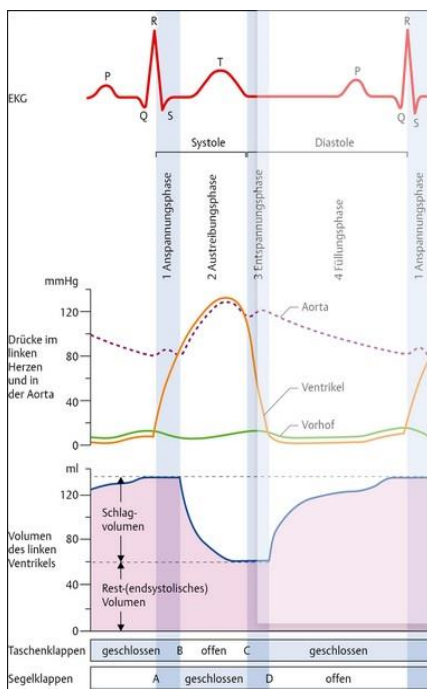


Abbildung 35 – Herzzyklus (71)

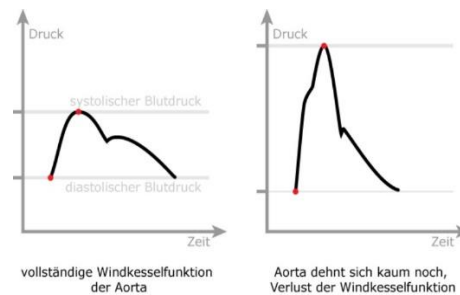


Abbildung 36 – Vollständige und eingeschränkte Windkesselfunktion (72)

Somit ist es notwendig, in einem artifizialen Perfusionssystem die Windkesselfunktion der großen arteriellen Gefäße nachzuvollziehen, um einerseits physiologische Messwerte bezüglich Druck und Volumen zu erhalten, andererseits eine physiologische Koronarperfusion sicherzustellen. Im Perfusionssystem kommen dem Windkessel neben Simulation der Compliance der Aorta weitere Funktionen zu, nämlich die Simulation einer möglichst physiologischen Impedanz des arteriellen Systems. Als Impedanz bezeichnet man eine Messgröße, welche alle Kräfte quantifiziert, welche einem oszillierenden Fluss, im Falle der Aorta dem Cardiac Output, entgegengesetzt sind (10). Hierzu gehört beispielsweise der periphere Widerstand, welcher im menschlichen Körper nach dem Poiseuille'schen Gesetz hauptsächlich vom Durchmesser der arteriellen Gefäße bestimmt wird, der Durchmesser der großen arteriellen Gefäße, und die Intensität der Reflexion von Druck- und Pulswellen (9-11). Von der Impedanz hängt unter anderem die Höhe der dikroten Welle ab, welche zum Beginn der Diastole einen geringen Druckanstieg erzeugt. Ursache ist, dass die vom

Ventrikel erzeugte Druckwelle sich schneller bewegt als die Pulswelle (Volumenwelle). Die in der Peripherie zurückgeworfene Druckwelle wird reflektiert und überlagert sich mit den sich antegrad bewegenden Wellen. Hierzu kommt es zu einer Amplifikation im Bereich der Aorta, im Idealfall zu Beginn der Diastole. Je höher die Impedanz der Aorta, beispielsweise durch eine erhöhte Steifigkeit des Gefäßes, desto mehr Energie der sich bewegenden Druckwelle wird reflektiert anstatt absorbiert. Es resultiert eine schnellere Druckwelle, welche im ungünstigsten Fall nun bereits am Ende der Systole zur Ausbildung einer dikroten Welle und damit zur Verstärkung des systolischen Druckanstieges beiträgt und einen schnellen Druckabfall innerhalb der Diastole bedingt. Dies wird auch im klinischen Alltag deutlich, wo die Messung der Pulse Wave Velocity als Methode zur Quantifizierung der Steifigkeit der arteriellen Gefäße dient (10).

In der Literatur finden sich verschiedene Modelle zur Simulation des arteriellen Windkessels (9, 11, 73, 74). Das einfachste Modell, ein Zwei-Elemente-Windkessel, wurde von Frank 1899 beschrieben (73). Hierbei wird einerseits der totale periphere Widerstand, andererseits über ein elastisches Element die Compliance des arteriellen Systems simuliert. Kompliziertere Modelle beinhalten weitere Einflussfaktoren, wie die charakteristische Impedanz der Aorta in einem Drei-Elemente-Windkessel (70, 74, 75). Westerhof et al. diskutiert die Verwendung verschiedener Windkesselmodelle und kommt zu dem Schluss, dass die Verwendung eines Drei-Elemente-Windkessels, bestehend aus je einem Element zur Simulation des peripheren Widerstandes, der Compliance, sowie der Impedanz ausreichend ist (10, 76-79).

Im hier beschriebenen Perfusionssystem wurde ein Drei-Elemente-Windkessel, ähnlich dem Aufbau von Kung et al. verwendet (11). Zunächst konnte über ein weiches Schlauchstück, angebracht hinter der Aorta des Spenderherzens, mechanischer Druck zur Simulation des peripheren Widerstandes appliziert werden. Es schloss sich ein Element an, welches in der Lage war, Compliance und Impedance des arteriellen Systems zu simulieren. Es handelte sich hierbei um einen sehr elastischen Silikonschlauch, umhüllt von einem deutlich größervolumigen Schlauchstück, welches zu den Enden hin abschloss. Zwischen den Schlauchsystemen konnte nun ein pneumatischer Druck appliziert werden, über dessen Erhöhung bzw. Erniedrigung eine Simulation der Compliance und Impedanz des arteriellen Systems möglich war. Mit Hilfe dieses Aufbaus konnten Flusskurven erzielt werden, welche denjenigen in vivo sehr ähnelten (siehe Abbildung 37). Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf die Erzeugung einer dikroten Welle gelegt. Die für die Koronarperfusion entscheidenden diastolischen Druckwerte entsprachen ebenfalls den in vivo ermittelten Werten.

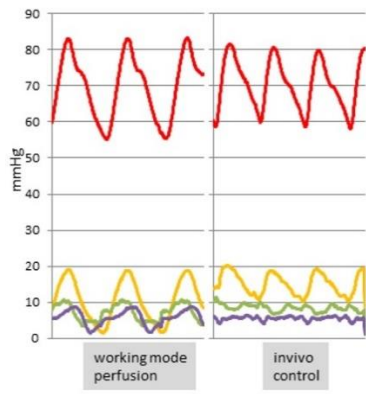


Abbildung 37 – Druckkurven in vivo und im Working-Heart-Modus (36)

Eine einfache Methode zur groben Evaluation des Windkessels ist es, systolische und diastolische arterielle Druckwerte, sowie deren Differenz in vivo und im Perfusionssystem zu vergleichen. Während sich die im Perfusionssystem ermittelten diastolischen arteriellen Druckwerte nicht wesentlich von jenen in vivo unterscheiden, zeigten sich jedoch höhere diastolisch-systolische Druckdifferenzen im Perfusionssystem. Dies kann als Hinweis auf eine suboptimale Windkesselfunktion oder eine weiterhin zu hohe Steifigkeit des arteriellen Schlauchsystems gewertet werden. Hier sind in Zukunft noch Verbesserungen denkbar. Die Applikation der mechanischen Kraft zur Regulation des peripheren Widerstandes, sowie die Intensität, mit welcher der pneumatische Druck zwischen den Schlauchsystemen im Compliance-Element wirkte, wurden in der hier beschriebenen Versuchsanordnung manuell reguliert. In Zukunft ist auch eine automatisierte Regulation denkbar.

4.3.6 Abhängige und unabhängige Parameter

Im Perfusionssystem wurden rechtsatrialer Druck, mittlerer arterieller Druck, sowie pulmonalarterieller Druck konstant gehalten. Die Zielgrößen orientierten sich an den zuvor in vivo erhobenen Messwerten.

In Zwei-Kammer-Systemen wird die Vorlast des linken Ventrikels in der Regel über die Höhe eines Vorlastreservoirs kontrolliert, andere Vier-Kammer-Arbeitsgruppen kontrollierten, z.B. über ein gemeinsames Reservoir, die Vorlast beider Ventrikel (34). Dies ermöglicht zwar eine größere Konstanz der Parameter, entspricht aber keiner physiologischen Situation.

Für den rechtsatrialen Druck galt ein Zielwert von 5 mmHg, so konnte sich eine konstante rechtsventrikuläre Vorlast aufbauen. Der linksatriale Druck war jedoch von der Höhe des hydrostatischen Druckes des vom rechten Ventrikel ausgeworfenen Volumens abhängig. In dieser Versuchsreihe lag der rechtsatriale Druck im Perfusionssystem tendenziell niedriger als in vivo (siehe Abbildung 37).

Der arterielle Druck wurde über Klemmen des aortalen Schlauchstückes hinter dem Windkessелеlement reguliert, wodurch die Nachlast des linken Ventrikels kontrolliert wurde. Das Nach-

empfinden einer physiologischen Nachlast ist notwendig für das Aufrechterhalten der Koronarperfusion. Der arterielle Druck konnte während der Versuchsreihe konstant im Zielbereich von 65 mmHg, entsprechend den in vivo gemessenen Werten gehalten werden.

Im Vergleich zum systemischen Gefäßwiderstand herrscht in der Lungenstrombahn ein sehr niedriger Widerstand (80). Die Nachempfindung eines niedrigen pulmonalvaskulären Widerstandes war für den Aufbau dieses Perfusionssystem gewünscht, um eine hohe Belastung des rechten Ventrikels und ein mögliches Versagen der rechtsventrikulären Pumpfunktion zu vermeiden. Folgende Überlegung flossen in die technische Umsetzung des Perfusionssystems ein: zur Nachempfindung der Lungenfunktion besteht die Notwendigkeit, einen Oxygenator und einen Filter zur Vermeidung von Mikroembolien zwischenschalten. Beide Einheiten zusammen haben einen weitaus höheren Flusswiderstand als eine gesunde Lunge eines Schweins. Hierdurch würde eine unphysiologisch hohe rechtsventrikuläre Nachlast erzeugt. Um genauso niedrige pulmonalvaskuläre Widerstände wie in vivo zu erzeugen, wurde in diesem Versuchsaufbau eine Zentrifugalpumpe vor Oxygenator und Filter zwischengeschaltet, welche in der Lage war, die Widerstände zu kompensieren. Die rechtsventrikuläre Nachlast konnte im Versuchsablauf somit direkt über die Veränderung der Drehzahl der Zentrifugalpumpe reguliert werden. Um den gesamten Widerstand des Oxygenators und Filters zu überwinden, war eine Minutendrehzahl von 3000-3500 rpm notwendig. Es erfolgte die Einstellung einer Drehzahl, welche einen mittleren pulmonalarteriellen Druck von etwa 15 mmHg als rechtsventrikuläre Nachlast erzeugte. Dies entsprach den in vivo gemessenen Werten.

4.3.7 Messmethoden

Eine Quantifizierung der Kontraktilität und der ventrikulären Funktion kann vielfältig erfolgen. Ziel einer Quantifizierung der Ventrikelfunktion ist hierbei, sowohl Druck- wie auch Volumenarbeit zu erfassen.

Im klinischen Alltag können zur Quantifizierung der Ventrikelfunktionen echokardiografische Messungen wie die EF (ejection fraction), MAPSE (mitral annular plane systolic excursion) bzw. TAPSE (tricuspid annular plane systolic excursion) durchgeführt werden. Weiterhin können Cardiac Output und Cardiac Index entweder indirekt mit transpulmonaler Thermodilution oder direkt mit einem Sensor zur Flussmessung ermittelt und hieraus Leistungsparameter wie Schlagvolumen, Left- und Right Ventricular Stroke Work Index oder Cardiac Power errechnet werden (5, 33-35, 40, 62). Eine weitere Möglichkeit ist die invasive Messung der isovolumetrischen Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}), welche zu Beginn der Systole vor Öffnung der Aortenklappe stattfindet. Aussagen zur diastolischen Funktion und damit zur Relaxationsfähigkeit des Ventrikels können über die maximal mögliche negative Druckänderung im Ventrikel (dp/dt_{min}) getroffen werden (34). Es besteht auch die Möglichkeit, dp/dt_{max} und dp/dt_{min} anhand der Form der aortalen Druckkurve zu ermitteln.

Experimentell können oben genannte Zielgrößen sehr genau z.B. mit Hilfe eines Conductance Katheters gemessen werden. Hierüber ergibt sich die Möglichkeit, Aussagen über Druck- Volu-

men Beziehungen innerhalb des Ventrikels zu treffen (81). Kurz gesagt korreliert eine Volumenänderung im Ventrikel mit einer Änderung des elektrischen Widerstandes, welcher mit Hilfe des Conductance Katheters gemessen werden kann. Zeitgleich wird der intraventrikuläre Druck registriert, was eine differenzierte Aussage zur Kontraktilität des Ventrikels ermöglicht (82-84). Eine weitere Möglichkeit bietet ein intraventrikulär platzierter Katheter zur direkten Druckmessung. Dieses Vorgehen ist in der Literatur weit verbreitet (5, 11, 34, 35). Hierüber können der mit der Vorlast korrelierende linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP), sowie die intraventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit gemessen werden (85).

Als indirekte Methode der Kontraktilitätsmessung steht auch im Perfusionssystem die Echokardiografie zur Verfügung, welche auch in der vorliegenden Versuchsreihe verwendet wurde. Neben der Verwendung eines Conductance Katheters ist dies die einzige Möglichkeit, das im Organ befindliche Volumen direkt zu quantifizieren, ohne hierfür auf Interpretation von Druckwerten zurückgreifen zu müssen.

In der aktuellen Versuchsreihe wurden transösophageale echokardiographische Schnittebenen nachempfunden. Hierzu wurde ein Ultraschallkopf im mittpapillären Kurzschnittschnitt direkt auf dem Epikard aufgesetzt und während des Versuchsablaufes dort belassen, was eine kontinuierliche Überwachung der Ventrikelfunktion und des Füllungszustandes des Organs ermöglichte. Hierüber konnte mit Hilfe von planimetrischen Messungen nach Simpson eine Ejektionsfraktion bestimmt und LVEDVi, RVEDVi, LVESVi, RVESVi berechnet werden. Ein Vergleich mit dem quasi Goldstandard für experimentelle Versuche, dem oben genannten Conductance Katheter wurde bisher nicht durchgeführt. Komplexere Echokardiographische Untersuchungen wären in zukünftigen Anwendungen des Perfusionssystems möglich.

4.3.8 Kontraktilität und Ventrikelfunktion

Der linksatriale Druck stieg im Versuchsverlauf kontinuierlich an. Dies kann entweder als Hinweis auf eine Abnahme der Kontraktilität des linken Ventrikels gewertet werden oder durch eine schnellere Erholung des rechten Ventrikels nach Ischämie- Reperfusion bedingt sein (61). Bemerkenswert ist, dass trotz der im Vergleich zu in vivo Messungen erhöhten linksatrialen Drücke die Volumenindices und damit die Füllung des linken Ventrikels tendenziell niedriger lagen als in vivo. Bei Betrachtung der linksatrialen Druckkurve fiel auf, dass es zu einem ausgeprägten Abfall während der Diastole kam. Dieser Druckabfall lässt sich in vivo nicht beobachten und kann zur schlechteren Füllung der Ventrikel und damit niedrigeren Volumenindices beitragen. Möglicherweise könnten die niedrigeren Volumenindices auch mit einer erhöhten Steifigkeit der Ventrikel im Rahmen eines myocardial stunning nach Ischämie/Reperfusion und einer diastolischen Relaxationsstörung zusammenhängen (28, 86).

Auch bezüglich des rechten Ventrikels zeigten sich niedrigere diastolische Volumenindices als im Versuchstier. In weiteren Versuchsreihen sollte daher eine Erhöhung der Vorlast des rechten

Ventrikels erwogen werden. Die systolischen Volumenindices des rechten Ventrikels unterschieden sich nicht zu den Messungen in vivo.

In der ersten Phase der Perfusion war mit funktionellen und metabolischen Veränderungen zu rechnen. Zeitangaben, nach welcher Zeit von einer Stabilität ausgegangen werden kann, variieren in der Literatur stark. Chinchoy, Soule et al. gehen von einer Stabilität nach 90 min aus, Verdouw et al. hingegen nach lediglich 15- 30 Minuten. Basierend auf Vorversuchen mit dem hier beschriebenen System wurde der erste Messzeitpunkt nach 60 Minuten gewählt.

Hinsichtlich der linksventrikulären Leistungsparameter wurden im Perfusionssystem niedrigere Werte gemessen als in vivo. Sowohl Cardiac Index, wie auch Schlagvolumen und Right- und Left Ventricular Stroke Work Index waren signifikant niedriger als im Versuchstier, was sich mit den Beobachtungen anderer Arbeitsgruppen deckt (34, 40). In dieser Versuchsreihe war im Gegensatz zu anderen Arbeitsgruppen jedoch kein weiterer Abfall des Cardiac Index oder der Leistungsparameter zwischen 60 und 180 min WH zu beobachten. So fanden sich beispielsweise bei Chinchoy et al. ein Abfall des dP/dt max nach zwei Stunden auf einen Wert von $87\pm 7\%$ des Ausgangswertes, nach 6 Stunden auf $78\pm 9\%$. Allerdings war hier der Beobachtungszeitraum mit sechs Stunden deutlich länger gewählt. Ein Abfall des Cardiac Index trat auch bei Bardenheuer et al. auf (40).

Die im Perfusionssystem niedrigeren Werte sind in erster Linie auf eine verminderte Druckentwicklungsfähigkeit, bedingt durch den Ischämie- Reperfusionsschaden und die damit einhergehende Schädigung kontraktile Fasern erklärbar (26, 38, 87-90). Zu Mechanismen und Minimierung des Ischämie- Reperfusionsschadens gibt es in der Literatur zahlreiche Untersuchungen, dies ist jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit und wird nicht im Detail diskutiert. Eine wesentliche Einflussgröße scheint jedoch das myocardial stunning zu sein, welches während isolierter Perfusion zu einer zunehmenden Steifigkeit des Myokards führt (90). DP/dt max und dP/dt min wurden erst im Perfusionssystem erhoben und können daher nicht mit dem Versuchstier verglichen werden. Da weder dP/dt max noch Cardiac Index im Versuchsverlauf abfielen, kann eine stabile Kontraktilität der Ventrikel zwischen 60 und 180 min angenommen werden.

Die Vorhofkontraktion am Ende der Diastole trägt zu etwa 10-20% zur Füllung der Ventrikel bei und nimmt somit über Vordehnung des Ventrikels und Verschiebung auf der Frank- Starling-Kurve einen indirekten Einfluss auf den Cardiac Output (80). Bei Kanülierung der Vorhöfe durch die verwendeten recht großkalibrigen Kanülen muss davon ausgegangen werden, dass die Kontraktionsfähigkeit der Vorhöfe im Versuchssetting stark reduziert war. Zuletzt nimmt auch das Fehlen des Perikards einen negativen Einfluss auf die Kontraktilität (34). Ein Zusammenspiel

dieser Faktoren bietet eine hinreichende Erklärung der erniedrigten linksventrikulären Leistungsparameter im Perfusionssystem im Vergleich zur in vivo Messung.

4.3.9 Konklusion

Bei der Interpretation der in dem vorgestellten Modell untersuchten Herzen ist die Kenntnis und Berücksichtigung der genannten Einschränkungen unabdingbar. Alleinstellungsmerkmal ist jedoch, dass in diesem Vier-Kammer-System, aufgrund der Reduktion des Füllungsvolumens, eine allogene Perfusion mit Vollblut möglich ist. Die durchgeführte Evaluation zeigt, dass das vorgestellte Modell die Möglichkeit bietet, hämodynamische und metabolische Untersuchungen beider Ventrikel unter kontrollierten, reproduzierbaren Bedingungen durchzuführen.

Literaturverzeichnis

1. Zimmer HG. The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers. *News in physiological sciences : an international journal of physiology produced jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society.* 1998;13:203-10.
2. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierzerhen. *Arch Gesante Physiol.* 1895;61:291-332.
3. Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ, Morgan HE. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *The American journal of physiology.* 1967;212(4):804-14.
4. Neely JR, Liebermeister H, Morgan HE. Effect of pressure development on membrane transport of glucose in isolated rat heart. *The American journal of physiology.* 1967;212(4):815-22.
5. Demmy TL, Magovern GJ, Kao RL. Isolated biventricular working rat heart preparation. *The Annals of thoracic surgery.* 1992;54(5):915-20.
6. Demmy TL, Curtis JJ, Kao R, Schmaltz RA, Walls JT. Load-Insensitive Measurements from an Isolated Perfused Biventricular Working Rat Heart. *Journal of biomedical science.* 1997;4(2-3):111-9.
7. Martin HN. Influence of the Vagus Nerve Upon the Heart. *Science.* 1883;1(8):220.
8. Martin H. The direct influence of gradual variations of temperature upon the rate of beat of the Dog's heart Communicated by M. Foster. 1883.
9. Burkhoff D, Alexander J, Jr., Schipke J. Assessment of Windkessel as a model of aortic input impedance. *The American journal of physiology.* 1988;255(4 Pt 2):H742-53.
10. Westerhof N, Lankhaar JW, Westerhof BE. The arterial Windkessel. *Medical & biological engineering & computing.* 2009;47(2):131-41.
11. Kung EO, Taylor CA. Development of A Physical Windkessel Module to Re-Create In-Vivo Vascular Flow Impedance for In-Vitro Experiments. *Cardiovascular engineering and technology.* 2011;2(1):2-14.
12. Apstein CS, Deckelbaum L, Mueller M, Hagopian L, Hood WB, Jr. Graded global ischemia and reperfusion. Cardiac function and lactate metabolism. *Circulation.* 1977;55(6):864-72.
13. Edoute Y, van der Merwe E, Sanan D, Kotze JC, Steinmann C, Lochner A. Normothermic ischemic cardiac arrest of the isolated working rat heart. Effects of time and reperfusion on myocardial ultrastructure, mitochondrial oxidative function, and mechanical recovery. *Circulation research.* 1983;53(5):663-78.
14. Manning AS, Coltart DJ, Hearse DJ. Ischemia and reperfusion-induced arrhythmias in the rat. Effects of xanthine oxidase inhibition with allopurinol. *Circulation research.* 1984;55(4):545-8.
15. Kimose HH, Ravkilde J, Knudsen MA, Helligso P, Baandrup U. Recovery after cold cardioplegic arrest of isolated blood-perfused hearts excised from non-anesthetized pigs. *European surgical research Europäische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes.* 1990;22(6):323-35.
16. Qiu Y, Hearse DJ. Comparison of ischemic vulnerability and responsiveness to cardioplegic protection in crystalloid-perfused versus blood-perfused hearts. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.* 1992;103(5):960-8.
17. Kimose HH, Ravkilde J, Helligso P, Knudsen M, Baandrup U. Influence of pre-existing ischemia on recovery from chemical cardioplegia. A study on pig hearts in an isolated blood-perfused model. *Scandinavian journal of thoracic and cardiovascular surgery.* 1992;26(1):23-31.
18. Stowe DF, Boban M, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Reperfusion with adenosine and nitroprusside improves preservation of isolated guinea pig hearts after 22 hours of cold perfusion with 2,3 butanedione monoxime. *Journal of cardiovascular pharmacology.* 1993;21(4):578-86.
19. Pernow J, Uriuda Y, Wang QD, Li XS, Nordlander R, Rydeen L. The protective effect of L-arginine on myocardial injury and endothelial function following ischaemia and reperfusion in the pig. *European heart journal.* 1994;15(12):1712-9.
20. Li XS, Uriuda Y, Wang QD, Norlander R, Sjoquist PO, Pernow J. Role of L-arginine in preventing myocardial and endothelial injury following ischaemia/reperfusion in the rat isolated heart. *Acta physiologica Scandinavica.* 1996;156(1):37-44.
21. Sandhu R, Thomas U, Diaz RJ, Wilson GJ. Effect of ischemic preconditioning of the myocardium on cAMP. *Circulation research.* 1996;78(1):137-47.
22. Sandhu R, Diaz RJ, Mao GD, Wilson GJ. Ischemic preconditioning: differences in protection and susceptibility to blockade with single-cycle versus multicycle transient ischemia. *Circulation.* 1997;96(3):984-95.
23. Piper HM, Garcia-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovascular research.* 1998;38(2):291-300.

24. Budrikis A, Liao Q, Bolys R, Westerlaken B, Steen S. Effects of cardioplegic flushing, storage, and reperfusion on coronary circulation in the pig. *The Annals of thoracic surgery*. 1999;67(5):1345-9.
25. Brenner P, Hinz M, Huber H, Schmoeckel M, Reichenspurner H, Meiser B, et al. Influence of ischemic time on hyperacute xenograft rejection of pig hearts in a working heart perfusion model with human blood. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2000;13 Suppl 1:S494-503.
26. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, et al. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovascular research*. 2000;45(3):651-60.
27. Piper HM, Meuter K, Schafer C. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *The Annals of thoracic surgery*. 2003;75(2):S644-8.
28. Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *International journal of cardiology*. 2005;100(2):179-90.
29. Forty J, White DG, Wallwork J. A technique for perfusion of an isolated working heart to investigate hyperacute discordant xenograft rejection. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1993;106(2):308-16.
30. Asfour H, Wengrowski AM, Jaimes R, 3rd, Swift LM, Kay MW. NADH fluorescence imaging of isolated biventricular working rabbit hearts. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2012(65).
31. Igic R. The isolated perfused "working" rat heart: a new method. *Journal of pharmacological and toxicological methods*. 1996;35(2):63-7.
32. Taegtmeier H, Hems R, Krebs HA. Utilization of energy-providing substrates in the isolated working rat heart. *The Biochemical journal*. 1980;186(3):701-11.
33. Klima U, Guerrero JL, Levine RA, Vlahakes GJ. A new, biventricular working heterotopic heart transplant model: anatomic and physiologic considerations. *Transplantation*. 1997;64(2):215-22.
34. Chinchoy E, Soule CL, Houlton AJ, Gallagher WJ, Hjelle MA, Laske TG, et al. Isolated four-chamber working swine heart model. *The Annals of thoracic surgery*. 2000;70(5):1607-14.
35. Mario Lescan AS, Bernd Neumann, Christoph Haller, Julia Westendorff , Hans Peter Wendel , Gerhard Ziemer , Christian Schlenzak and Tobias Walker. Beneficial Effects On Cardiac Performance and Cardioprotective Properties of Milrinone after Cold Ischemia. *Journal of Cardiovascular Diseases & Diagnostics*. 2013.
36. Abicht JM, Mayr TA, Jauch J, Guethoff S, Buchholz S, Reichart B, et al. Large-Animal Biventricular Working Heart Perfusion System with Low Priming Volume-Comparison between in vivo and ex vivo Cardiac Function. *The Thoracic and cardiovascular surgeon*. 2016.
37. Luo C, Ware DL, Zwischenberger JB, Clark JW, Jr. A mechanical model of the human heart relating septal function to myocardial work and energy. *Cardiovascular engineering*. 2008;8(3):174-84.
38. Hearse DJ, Mullins AJ. An isolated perfused working guinea-pig heart preparation. *The Journal of physiology*. 1972;223(1):4P-5P.
39. Flynn SB, Gristwood RW, Owen DA. An isolated guinea-pig working heart: preliminary studies with histamine and noradrenaline [proceedings]. *British journal of pharmacology*. 1977;59(3):530P.
40. Bardenheuer H, Schrader J. Relationship between myocardial oxygen consumption, coronary flow, and adenosine release in an improved isolated working heart preparation of guinea pigs. *Circulation research*. 1983;52(3):263-71.
41. Saito D, Nixon DG, Vomacka RB, Olsson RA. Relationship of cardiac oxygen usage, adenosine content, and coronary resistance in dogs. *Circulation research*. 1980;47(6):875-82.
42. Rubboli A, Sobotka PA, Euler DE. Effect of acute edema on left ventricular function and coronary vascular resistance in the isolated rat heart. *The American journal of physiology*. 1994;267(3 Pt 2):H1054-61.
43. Skeehan TM, Schuler HG, Riley JL. Comparison of the alteration of cardiac function by sevoflurane, isoflurane, and halothane in the isolated working rat heart. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*. 1995;9(6):706-12.
44. Budrikis A, Bolys R, Liao Q, Ingemansson R, Sjoberg T, Steen S. Function of adult pig hearts after 2 and 12 hours of cold cardioplegic preservation. *The Annals of thoracic surgery*. 1998;66(1):73-8.
45. Dunning JJ, Pierson RN, 3rd, Bradley PC, White DJ, Wallwork J. A comparison of the performance of pig hearts perfused with pig or human blood using an ex-vivo working heart model. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 1994;8(4):204-6.
46. Kimose HH, Helligso P, Randsbaek F, Kim Y, Botker HE, Hansen SB, et al. Improved recovery after cold crystalloid cardioplegia using low-dose glutamate enrichment during

- reperfusion after aortic unclamping: a study in isolated blood-perfused pig hearts. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1996;44(3):118-25.
47. Pfeifer L, Gruenwald I, Welker A, Stahn RM, Stein K, Rex A. Fluorimetric characterisation of metabolic activity of ex vivo perfused pig hearts. *Biomedizinische Technik Biomedical engineering.* 2007;52(2):193-9.
48. Schechter MA, Southerland KW, Feger BJ, Linder D, Jr., Ali AA, Njoroge L, et al. An isolated working heart system for large animal models. *Journal of visualized experiments : JoVE.* 2014(88).
49. Werner JC, Whitman V, Fripp RR, Schuler HG, Morgan HE. Carbohydrate metabolism in isolated, working newborn pig heart. *The American journal of physiology.* 1981;241(5):E364-71.
50. Weng ZC, Nicolosi AC, Detwiler PW, Hsu DT, Schierman SW, Goldstein AH, et al. Effects of crystalloid, blood, and University of Wisconsin perfusates on weight, water content, and left ventricular compliance in an edema-prone, isolated porcine heart model. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.* 1992;103(3):504-13.
51. Podesser BK, Hallstrom S, Schima H, Huber L, Weisser J, Kroner A, et al. The erythrocyte-perfused "working heart" model: hemodynamic and metabolic performance in comparison to crystalloid perfused hearts. *Journal of pharmacological and toxicological methods.* 1999;41(1):9-15.
52. Deng Q, Scicli AG, Lawton C, Silverman NA. Coronary flow reserve after ischemia and reperfusion of the isolated heart. Divergent results with crystalloid versus blood perfusion. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.* 1995;109(3):466-72.
53. Sutherland FJ, Hearse DJ. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacological research.* 2000;41(6):613-27.
54. Glower DD, Spratt JA, Snow ND, Kabas JS, Davis JW, Olsen CO, et al. Linearity of the Frank-Starling relationship in the intact heart: the concept of preload recruitable stroke work. *Circulation.* 1985;71(5):994-1009.
55. Bach FH, Winkler H, Ferran C, Hancock WW, Robson SC. Delayed xenograft rejection. *Immunology today.* 1996;17(8):379-84.
56. Hess OM, Bhargava V, Ross J, Jr., Shabetai R. The role of the pericardium in interactions between the cardiac chambers. *American heart journal.* 1983;106(6):1377-83.
57. Fragata JI, Areias JC. Acute loads applied to the right ventricle: effect on left ventricular filling dynamics in the presence of an open pericardium. *Pediatric cardiology.* 1996;17(2):77-81.
58. Kaul TK, Fields BL. Postoperative acute refractory right ventricular failure: incidence, pathogenesis, management and prognosis. *Cardiovascular surgery.* 2000;8(1):1-9.
59. Haddad F, Couture P, Tousignant C, Denault AY. The right ventricle in cardiac surgery, a perioperative perspective: II. Pathophysiology, clinical importance, and management. *Anesthesia and analgesia.* 2009;108(2):422-33.
60. Raina A, Seetha Rammohan HR, Gertz ZM, Rame JE, Woo YJ, Kirkpatrick JN. Postoperative right ventricular failure after left ventricular assist device placement is predicted by preoperative echocardiographic structural, hemodynamic, and functional parameters. *Journal of cardiac failure.* 2013;19(1):16-24.
61. Zungu-Edmondson M, Suzuki YJ. Differential stress response mechanisms in right and left ventricles. *Journal of rare diseases research & treatment.* 2016;1(2):39-45.
62. Liu CT. Techniques for isolation and performance of the perfused guinea pig working heart. *American journal of veterinary research.* 1986;47(5):1032-43.
63. SorinGroup. Online Auftritt, Abbildung "BMR 1900 soft-shell venous reservoir". 2017.
64. Medtronic. Online Auftritt Medtronic - Abbildung "Affinity Pixie Cardiotomy/Venous Reservoir with Cortiva™ BioActive Surface™". 2017.
65. Boag SE, Andreano E, Spyridopoulos I. Lymphocyte Communication in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Antioxidants & redox signaling.* 2017;26(12):660-75.
66. O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, Duprez D, Plante GE. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *American journal of hypertension.* 2002;15(5):426-44.
67. London GM, Pannier B. Arterial functions: how to interpret the complex physiology. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(12):3815-23.
68. Stergiopoulos N, Westerhof N. Role of total arterial compliance and peripheral resistance in the determination of systolic and diastolic aortic pressure. *Pathologie-biologie.* 1999;47(6):641-7.
69. Munoz HR, Sacco CM. Cardiac mechanical energy and effects on the arterial tree. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia.* 1997;11(3):289-98.
70. Westerhof N, Elzinga G, Sipkema P. An artificial arterial system for pumping hearts. *Journal of applied physiology.* 1971;31(5):776-81.
71. Huppelsberg JW, Kerstin. *Kurzlehrbuch Physiologie.* 2013;4.

72. Praxis Tugendheim D, Praxis für Allgemeinmedizin. Online Auftritt der Praxis. 2017.
73. O F. Die Grundform des arteriellen Pulses. *Z Biol.* 1899;37:483-526.
74. Stergiopoulos N, Westerhof BE, Westerhof N. Total arterial inertance as the fourth element of the windkessel model. *The American journal of physiology.* 1999;276(1 Pt 2):H81-8.
75. Westerhof N, Bosman F, De Vries CJ, Noordergraaf A. Analog studies of the human systemic arterial tree. *Journal of biomechanics.* 1969;2(2):121-43.
76. Segers P, Verdonck P, Deryck Y, Brimiouille S, Naeije R, Carlier S, et al. Pulse pressure method and the area method for the estimation of total arterial compliance in dogs: sensitivity to wave reflection intensity. *Annals of biomedical engineering.* 1999;27(4):480-5.
77. Segers P, Steendijk P, Stergiopoulos N, Westerhof N. Predicting systolic and diastolic aortic blood pressure and stroke volume in the intact sheep. *Journal of biomechanics.* 2001;34(1):41-50.
78. Segers P, Morimont P, Kolh P, Stergiopoulos N, Westerhof N, Verdonck P. Arterial elastance and heart-arterial coupling in aortic regurgitation are determined by aortic leak severity. *American heart journal.* 2002;144(4):568-76.
79. Segers P, Stergiopoulos N, Westerhof N. Relation of effective arterial elastance to arterial system properties. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology.* 2002;282(3):H1041-6.
80. Pape HCK, Armin; Silbernagl, Stefan. *Physiologie.* 2014 7.
81. Sagawa K, Suga H, Shoukas AA, Bakalar KM. End-systolic pressure/volume ratio: a new index of ventricular contractility. *The American journal of cardiology.* 1977;40(5):748-53.
82. Cardozo RH, de Vroomen M, van Bel F, Baan J, Steendijk P. Simultaneous measurement of right and left ventricular volume by the conductance catheter technique in the newborn lamb. *Netherlands heart journal : monthly journal of the Netherlands Society of Cardiology and the Netherlands Heart Foundation.* 2003;11(5):203-9.
83. Steendijk P, Lardenoye JW, van der Velde ET, Schali J, Baan J. Evaluation of a new transcardiac conductance method for continuous on-line measurement of left ventricular volume. *Critical care medicine.* 2000;28(5):1599-606.
84. Baan J, van der Velde ET, de Bruin HG, Smeenk GJ, Koops J, van Dijk AD, et al. Continuous measurement of left ventricular volume in animals and humans by conductance catheter. *Circulation.* 1984;70(5):812-23.
85. Schafer S, Schlack W, Kelm M, Deussen A, Strauer BE. Characterisation of left ventricular relaxation in the isolated guinea pig heart. *Research in experimental medicine Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin einschliesslich experimenteller Chirurgie.* 1996;196(5):261-73.
86. Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *International journal of cardiology.* 1997;58(2):95-117.
87. Slater JP, Amirhamzeh MM, Yano OJ, Shah AS, Starr JP, Kaplon RJ, et al. Discriminating between preservation and reperfusion injury in human cardiac allografts using heart weight and left ventricular mass. *Circulation.* 1995;92(9 Suppl):II223-7.
88. Jahania MS, Sanchez JA, Narayan P, Lasley RD, Mentzer RM, Jr. Heart preservation for transplantation: principles and strategies. *The Annals of thoracic surgery.* 1999;68(5):1983-7.
89. Yano M, Kohno M, Ohkusa T, Mochizuki M, Yamada J, Kohno M, et al. Effect of milrinone on left ventricular relaxation and Ca(2+) uptake function of cardiac sarcoplasmic reticulum. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology.* 2000;279(4):H1898-905.
90. Matsumoto S, Cho S, Tosaka S, Higashijima U, Maekawa T, Hara T, et al. Hyperglycemia raises the threshold of levosimendan- but not milrinone-induced postconditioning in rat hearts. *Cardiovascular diabetology.* 2012;11:4.

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater und Betreuer, PD Dr. med. Jan Abicht, für die Überlassung des Themas und seine fachliche Anleitung. Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des Walter-Brendel-Zentrums. Besonderer Dank gilt auch meinem Ehemann, der große Geduld dabei erwiesen hat, mich bei der Erstellung dieser Arbeit zu unterstützen.

Eidesstattliche Versicherung



Eidesstattliche Versicherung

Meyer, Judith

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

„Entwicklung und Evaluation eines biventrikulären
Working-Heart-Systems zur isolierten Perfusion von Schweineherzen“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 01.01.22

Ort, Datum

Judith Meyer

Unterschrift Doktorandin

Publikationsliste

Abicht JM, Mayr TAJ, **Jauch J**, Guethoff S, Buchholz S, Reichart B, Bauer A. Thorac Cardiovasc Surg. 2018 Jan;66(1):71-82

Large-Animal Biventricular Working Heart Perfusion System with Low Priming Volume-Comparison between in vivo and ex vivo Cardiac Function