

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Universitäres Herzzentrum Hamburg GmbH
Klinik und Poliklinik für Herz- und Gefäßchirurgie

Prof. Dr. Dr. med. Hermann Reichenspurner

Rekonditionierung vorgeschädigter Spenderlungen in einem selbstentwickelten Reperfusionssystem

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Anna Duprée
aus Rotenburg/ Wümme

Hamburg 2012

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 23.07.2012**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. F. Wagner

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. O. Mann

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. M. Koch

*Für meine Eltern
Barbara und Weert Duprée*

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|--------|---|----|
| 1 | Einleitung | 6 |
| 1.1 | Organspende in Deutschland | 7 |
| 1.2 | Die Spenderkriterien | 7 |
| 1.3 | Chirurgische Erweiterungsstrategien | 8 |
| 1.3.1 | Die Lebendspende | 8 |
| 1.3.2 | Die Splittungentechnik | 8 |
| 1.4 | Nonheart- beating donors (NHBD) | 9 |
| 1.5 | Ex-vivo/ in-vitro Perfusion | 9 |
| 1.6 | Ziel der Arbeit | 11 |
| 2 | Material und Methoden | 12 |
| 2.1 | Gesamtkonzept der Versuche | 12 |
| 2.1.1 | Versuchsgruppen | 12 |
| 2.2 | Versuchsaufbau | 12 |
| 2.2.1 | Tiere | 12 |
| 2.3 | Narkose | 13 |
| 2.4 | Instrumentierung | 14 |
| 2.5 | Die Explantation | 16 |
| 2.5.1 | Explantationsvorbereitung | 16 |
| 2.5.2 | Blutentnahme | 17 |
| 2.5.3 | Antegrade Perfusion | 17 |
| 2.5.4 | Explantation | 18 |
| 2.5.5 | Ex-vivo Präparation | 19 |
| 2.6 | Die Reperfusion | 20 |
| 2.6.1 | Das Reperfusionssystem | 20 |
| 2.6.2 | Die Reperfusionslösung | 21 |
| 2.6.3 | Die Befüllung | 22 |
| 2.6.4 | Anschluss an das Reperfusionssystem | 22 |
| 2.6.5 | Reperusionsprotokoll | 22 |
| 2.7 | Wet/Dry – Ratio | 23 |
| 2.8 | Histologie | 24 |
| 2.8.1 | Der Lung injury score (LIS) | 25 |
| 2.9 | Pulmonary Deflation Index (PDI) | 26 |
| 2.10 | Die Hirntodinduktion | 26 |
| 2.10.1 | Anatomische Untersuchungen | 26 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 2.11 | Gruppe 1 | 28 |
| 2.12 | Gruppe 2 | 28 |
| 2.13 | Gruppe 3 | 31 |
| 2.14 | Statistische Methoden | 31 |
| 3 | Ergebnisse | 32 |
| 3.1 | Gruppe 1(Hirntodinduktion) | 32 |
| 3.1.1 | <i>Hirntodnachweis</i> | 32 |
| 3.1.2 | <i>Hämodynamik</i> | 34 |
| 3.1.3 | <i>Atmung</i> | 40 |
| 3.1.4 | <i>Der Gasaustausch</i> | 42 |
| 3.1.5 | <i>Makroskopie</i> | 48 |
| 3.1.6 | <i>Histologie</i> | 48 |
| 3.2 | Gruppe 2 – Hirntodinduktion..... | 49 |
| 3.2.1 | <i>Hirntodnachweis</i> | 49 |
| 3.3 | Gruppe 2 versus Gruppe 3 (Kontrolle)..... | 49 |
| 3.3.1 | <i>Hämodynamik</i> | 49 |
| 3.3.2 | <i>Atmung</i> | 52 |
| 3.3.3 | <i>Der Gasaustausch</i> | 54 |
| 3.3.4 | <i>Klinische Bewertung</i> | 58 |
| 3.3.5 | <i>Leukozyten</i> | 60 |
| 3.3.6 | <i>Histologie</i> | 61 |
| 3.3.7 | <i>Wet/Dry – Ratio</i> | 64 |
| 4 | Diskussion: | 65 |
| 4.1 | Hirntodinduktion und -folgen..... | 65 |
| 4.2 | Rekonditionierung mittels ex-vivo Reperfusion:..... | 71 |
| 5 | Zusammenfassung..... | 83 |
| 5.1 | Ausblick: | 83 |
| 6 | Literaturverzeichnis | 84 |
| 7 | Danksagung..... | 93 |
| 8 | Lebenslauf | 94 |
| 9 | Eidesstattliche Versicherung..... | 96 |

1 Einleitung

Die Lungentransplantation ist heutzutage oft die letzte Therapieoption für Patienten mit weit fortgeschrittenen Lungenerkrankungen. Durch etablierte chirurgische Techniken, Fortschritte in der immunsuppressiven Therapie und verbesserte prä- und postoperative Pflege, konnte auch die Zahl der erfolgreich durchgeführten Transplantationen erhöht werden. Hierbei gibt es die Möglichkeit eine oder beide Lungen, oder den gesamten Herz-Lungenblock je nach Indikation zu transplantieren. Voraussetzung für die Listung zur Lungentransplantation sind völlig ausgeschöpfte sonstige Therapieoptionen und eine zunehmende Verschlechterung der Lebensqualität des Einzelnen. Der Zeitpunkt der Listung muss so gewählt sein, dass der Empfänger die 1 – 2 jährige Wartezeit in passablen Gesundheitszustand übersteht, dennoch müssen objektive Richtwerte für das Ausmaß der verschiedenen Lungenerkrankungen erfüllt sein.

Zu diesen Krankheiten gehören zum einen obstruktive Lungenerkrankungen wie die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) und der Alpha1- Antitrypsinmangel (α 1-AT), zum anderen restriktive wie die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF) (1). Zu den septischen Lungenerkrankungen, die mit einer verminderten Immunabwehr einhergehen, gehört vor allem die Zystische Fibrose (CF). Schlussendlich muss noch die Pulmonale Hypertonie (PH) genannt werden, die mit einer Erhöhung des Widerstandes im kleinen Kreislauf einher geht und so zu einer Rechtsherzbelastung führt (2).

Das Hauptproblem vor dem diese Erfolg versprechende Therapie steht ist der essentielle Spendermangel.

Im Jahr 2008 warteten in Deutschland 542 Patienten auf eine Lungenspende, dem gegenüber wurden im gleichen Jahr 48 Einzellungen und 214 Doppellungen transplantiert, so dass insgesamt nur 48 % der Wartenden ein Organ erhalten haben (3). Diese entscheidende Diskrepanz zwischen angebotenen Organen und wartenden Empfängern hat in den letzten Jahren stetig zugenommen. Durch die kumulierende Zahl von gelisteten Empfängern steigt auch die Wartezeit und somit das Versterben von Wartenden bevor sie ein Organ bekommen können (4). Im Folgenden werden kurz die bisher angewandten Strategien zur Erweiterung des Spenderpools aufgezeigt.

1.1 Organspende in Deutschland

In Deutschland ist zurzeit eine Organspende laut dem „Gesetz über Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben“ (5) von 1997 nur dann zulässig, wenn zum einen die Einwilligung vorliegt und zum anderen der sichere Hirntod des Spenders festgestellt wurde.

Nach dem hier geltenden erweiterten Zustimmungsrecht muss der willige Spender zu Lebzeiten seinen Organspendewunsch schriftlich festhalten. Tut er dies nicht, werden im entsprechenden Fall seine Angehörigen nach seinem mutmaßlichen Willen entscheiden. Die 2007 aufgekommene Debatte zur Einführung der Widerspruchsregelung wie sie z.B. in Österreich gilt, bei der jeder als Spender angesehen wird solange er sich nicht in einem Widerspruchsregister eintragen lässt, konnte nicht durchgesetzt werden, auch wenn diese Regelung eine weitaus höhere Organspendezahl mit sich bringt. 2009 haben nur 8,8% der Organspender eine schriftliche und 21,9% eine mündliche Zustimmung zu Lebzeiten gegeben (6).

Der Hirntod wird definiert als irreversibles Erlöschen sein der Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstamms. Durch kontrollierte Beatmung wird hierbei die Herz-Kreislauffunktion aufrechterhalten. Zur Diagnose Hirntod sind drei Punkte erforderlich: 1. Vorliegen einer schweren Hirnschädigung, 2. Vorhandensein der Symptome Koma, Areflexie und Apnoe und 3. Nachweis der Irreversibilität (7).

Die Hirntoddiagnostik muss von zwei erfahrenen Ärzten unabhängig voneinander durchgeführt werden, bevor der Verstorbene als Organspender frei gegeben wird. Erst dann können die Transplantationsvorbereitungen getroffen werden.

1.2 Die Spenderkriterien

Die optimalen Kriterien sind in Tabelle 1 aufgezeigt. Die so genannten Marginalspender weichen von diesen Vorgaben ab. Bezüglich Spenderalter, Rauchverhalten, längerer mechanischer Ventilation und Nachweis von gram-positiven Erregern im Sputum scheinen Marginalspender den optimalen Spendern hinsichtlich Ergebnis und Überleben nicht unterlegen zu sein (8). Auch kann bei lokalisierten Infiltraten, Kontusionen, Pneumothoraces oder Pleuraergüssen im Röntgen-Thorax von keinem erhöhten Posttransplantationsrisiko ausgegangen werden.

Absolute Kontraindikationen bleiben weiterhin bilaterale Infiltrate der Lungen und jegliche Zeichen einer stattgehabten Aspiration.

| | |
|-------------------------|---|
| Alter | < 55 |
| Rauchverhalten | < 20 pack- years |
| Röntgenthorax | Unauffällig |
| Pa O ₂ | 400 mmHg (FiO ₂ 100%, PEEP 5 mmHg) |
| Aspiration/ Sepsis | Nein |
| Brusttrauma | Nein |
| Bronchoskopie | Kein eitriges Sekret, unauffällige Atemwege und Schleimhaut |
| Erreger | Kein Nachweis im Trachealsekret |
| Mechanische Ventilation | < 3 Tage |
| Vorgeschichte | Keine kardiopulmonalen Operationen |

Tabelle 1: Auswahlkriterien des idealen Lungenspenders

1.3 Chirurgische Erweiterungsstrategien

1.3.1 Die Lebendspende

Eine chirurgische Erweiterung wurde von Starnes et al. durch die Lebendspende von Lungenlappen, ähnlich der Lebendspende von Lebersegmenten, eingeführt. Hierbei muss ein Spender z.B. den rechten Unterlappen (RUL) und z.B. ein zweiter Spender den linken Unterlappen (LUL) zur Verfügung stellen. Die Hauptindikation ist die Zystische Fibrose, wobei diese Methode besonders bei Kindern der Spende von Hirntoten überlegen ist, da hier die sonst lange Wartezeit auf ein Spenderorgan entfällt. Bezüglich Überleben und Morbidität zeigen sich keine signifikanten Unterschiede (9-11).

1.3.2 Die Splittlungentechnik

Als weitere Methode, besonders für kleinere Empfänger und Kinder geeignet, wurde die Split- Lungen Technik eingeführt, bei der die Spenderlungen entweder durch das nichtanatomische Entfernen von Segmenten verkleinert, oder einzelne Lappen transplantiert werden. Hier wurde von Couetil et al. eine Methode entwickelt, bei der die linke Lunge in zwei Teile gespalten wird. Der Linke Unterlappen (LUL) wird dem Empfänger als Linke Lunge transplantiert, der Linke Oberlappen (LOL) als Rechte Lunge. Mit dieser Technik wurden sehr gute Kurz- und Langzeitergebnisse erzielt (11-13).

1.4 Nonheart- beating donors (NHBD)

Das Transplantieren von Organen nach Kreislaufstillstand zieht schon seit Anfang der Neunziger das Augenmerk der Forschung auf sich.

Dahinter steht die Beobachtung, dass die Lunge als einziges parenchymatöses Organ in der Lage ist, auch nach Herz- Kreislaufstillstand seine Funktionalität für eine gewisse Zeit zu erhalten. Der dazu nötige Gasaustausch wird über den Luftweg gewährleistet. In einer Studie von Egan et al. wurde gezeigt, dass mit Sauerstoff ventilierte Lungen von NHBDs im Hundemodell einen guten Gasaustausch über 8 Stunden beibehalten, nach dem die Organe in ein Empfängertier transplantiert worden waren (14). Auf molekularer Ebene konnte diese Beobachtung durch erhöhte Adenosintriphosphat-Spiegel bei ventilierten und schnell sinkenden Spiegel bei nicht-ventilierten Lungen unterstützt werden (15). Einzug in den klinischen Alltag fand die Lungenspende von NHBD's durch die Arbeit von Stig Steen in Schweden, der mit Hilfe einer so genannten „topical cooling“-Methode, das heißt Einbringen einer eiskalten Präservationslösung in den Thoraxraum zur Lungenkonservierung, und anschließender ex- vivo Evaluierung in einem extrakorporalen Kreislauf, erfolgreiche Lungentransplantationen beim Menschen verzeichnen konnte (16-20).

Erasmus et al. haben dieses Konzept aufgegriffen und im Schweinemodell die Präservierung durch topical cooling mit der durch antegrader und retrograder Perfadexperfusion verglichen. Hierbei fand er heraus, dass die Präservierung durch Perfadex der durch topical cooling überlegen ist (21). Das Verwenden von Organen von NHBDs ist in Deutschland laut dem Transplantationsgesetz verboten. Ethisch und juristisch wird diese Methode zur Erweiterung des Spenderpools in den nächsten Jahren voraussichtlich nicht durchsetzbar sein.

1.5 Ex-vivo/ in-vitro Perfusion

2008 wurden von 2233 Multiorganspendern im Eurotransplantgebiet lediglich 508 Lungen, das heißt 22,8 % zur Transplantation akzeptiert (3). Dies mag daran liegen, dass die Lunge ständig mit der Außenwelt kommuniziert und daher eher Schadstoffen, sowie Infektionserregern ausgesetzt ist. Auch hat der bei allen Multiorganspendern vorausgesetzte Hirntod schädigende Folgen auf die Lunge, welche sie von einer Transplantation ausschließen.

Es ist daher notwendig geworden mögliche Strategien den Spenderpool zu erweitern aufzuzeigen und zu diskutieren.

In den bereits erwähnten Arbeiten von Steen e. a. wird eine Methode beschrieben, mit der an Hand einer modifizierten Herz- Lungen- Maschine ex- vivo die Spenderlunge evaluiert wird, um dann erfolgreich transplantiert werden zu können.

Im Unterschied dazu hat unsere Arbeitsgruppe in ersten Studien (22) die Möglichkeit untersucht, Spenderlungen über einen Zeitraum von 6 Stunden in einem ex- vivo Reperfusionssystem zu perfundieren und zu belüften, mit der Intention die Funktionalität des Organs nicht durch das Modell allein zu verschlechtern, sondern diese zu verbessern. Hierbei konnte ein optimiertes Reperfusionsmodell entwickelt werden, welches eine in-vitro Perfusion der Spenderlunge über einen Zeitraum von mindestens 6 Stunden möglich machte, ohne die Qualität des Organs zu beeinträchtigen. So scheint es möglich in dem entwickelten ex-vivo-Reperfusionsmodell, Spenderorgane für diese Zeit zu konservieren und eventuell zu verbessern um sie den Organspendepool zuzuführen. Auch ist denkbar durch ein solches Modell längere Distanzen zwischen Spender und Empfänger zu überbrücken, ohne Funktions- und Qualitätseinbußen des Spenderorgans in Kauf nehmen zu müssen.

Im nächsten Schritt soll nun die Möglichkeit untersucht werden, Lungen, welche durch nicht vermeidbare Einflüsse geschädigt wurden in dem entwickelten Modell zu verbessern und so transplantabel zu machen. Hierbei wird zunächst der Hirntod, der bei jedem Organspender in Deutschland Voraussetzung ist, auf seinen schädigenden Einfluss geprüft und eine mögliche Rekonditionierung in dem etablierten ex-vivo Reperfusionsmodell untersucht.

1.6 Ziel der Arbeit

In dieser Arbeit werden die Möglichkeiten untersucht, aus funktionellen und strukturellen Gründen zunächst abgelehnte Organe von hirntoten Heart-beating donors (HBDs) in einem extrakorporalen Reperfusionssystem zu rekonditionieren und so transplantabel zu machen.

Der Fokus dieser Arbeit besteht in der Analyse folgender Punkte:

1. Auswirkung des raschen Hirntodes auf die Lungenfunktion- und struktur (Gruppe 1)
2. Verbesserung des ausgelösten Schadens hinsichtlich Funktionalität und Transplantabilität mittels 6- stündiger ex-vivo Reperfusion (Gruppe 2)
3. Vergleich mit nicht vorgeschädigten 6- stündig reperfundierten Lungen (Gruppe 3).

2 Material und Methoden

2.1 Gesamtkonzept der Versuche

Im narkotisierten, gesunden Tier erfolgten zunächst alle relevanten Funktionsmessungen zur Hämodynamik und zum Gasaustausch. Anschließend wurde die gemäß Protokoll explantierte Lunge an einen speziell entwickelten Reperfusionskreislauf angeschlossen. Je nach Versuchsgruppe erfolgte die Hirntodinduktion mit der anschließenden Explantation (Gruppe 1 und 2), bzw. die alleinige Explantation ohne vorherige Hirntodinduktion (Gruppe 3). Während der folgenden 6 Stunden der Reperfusion wurde die Lunge regelmäßig evaluiert und beim Ende des Versuchs histologische Proben gewonnen.

2.1.1 Versuchsgruppen

Es wurden 19 Schweine mit durchschnittlichem Gewicht von $68,1 \pm 12,7$ kg verwendet. An 5 Tieren wurde die Auswirkung des schnellen Hirntodes (Gruppe 1) eruiert. In 6 Versuchen wurden die Lungen nach vorhergehender Schädigung durch Hirntodinduktion in einem extrakorporalen Kreislauf reperfundiert (Gruppe 2). Bei 7 Versuchen wurden die Lungen ohne Vorschädigung explantiert und reperfundiert wie im Folgenden beschrieben (Gruppe 3). Die Ergebnisse der Gruppen 2 und 3 wurden verglichen. Das Reperusionsmodell wurde bereits in einer vorhergehenden Studie etabliert (22).

2.2 Versuchsaufbau

Das Reperusionsmodell wurde bereits in vorhergehenden Studien etabliert (22). In diesen Studien gelang es die essentiellen Bestandteile des Reperfusionssystems, sowie die Zusammensetzung der Perfusionslösung festzulegen, mit denen eine sichere, nicht Organ schädigende Perfusionsdauer von 6 Stunden erzielt werden konnte. Die Details des Systems werden im Folgenden genau beschreiben.

2.2.1 Tiere

Die Versuche wurden am deutschen Hausschwein (*Sus scrofa domestica*) durchgeführt, da dieses aus anatomischen Gesichtspunkten hinsichtlich innerer Organsysteme am ehesten mit dem Menschen korreliert.

Sämtliche Schweine wurden aus der Tierzucht Lüneburg bezogen und wurden ab ihrer Ankunft im Tierstall des Universitätsklinikums Eppendorf prophylaktisch antibiotisch vorbehandelt.

Die Pflege und Fütterung der Tiere erfolgte in der Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Eppendorf in Hamburg.

Sowohl die Tierhaltung, als auch die Tierversuche sowie die Tötung erfolgten unter Einhaltung der Richtlinien des deutschen Tierschutzgesetzes vom 2.07.1972 mit letzter Änderung am 18.12.2007 und unterlagen der ständigen Kontrolle der zuständigen Ethikkommission.

2.3 Narkose

Die nüchternen Tiere wurden durch intramuskuläre Injektion von 8ml Azaperon 40mg/ ml (Stresnil, Janssen- Cilag GmbH, Neuss), 20 mg Midazolamhydrochlorid 15mg/ 3ml (Dormicum, Roche, Grenzach Wyhlen), 4ml Ketaminhydrochlorid 115,3 mg/ml (Ketamin Gräub, Albrecht, Aulendorf) und 1 ml Atropinsulfat (100mg Dr.F.Köhler Chemie) prämediziert. Nach Legen einer Verweilkanüle in die Ohrvene wurden initial 2-3 ml Pentobarbital-Natrium 16g/ 100 ml (Narcoren, Merial) verabreicht und das Schwein in den Großtieroperationssaal transportiert.

Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte über eine Perfusorspritze mit einer Geschwindigkeit von 15 – 20 ml/ h 2 ml Fentanyl- Citrat 0,785mg/ 10ml (Fentanyl-Janssen, Janssen Cilag GmbH, Neuss), 25 mg Dormicum und 10 ml Natriumchloridlösung 0,9% (Braun). Bei Bedarf, gemessen an den hämodynamischen Parametern, verabreichten wir Boli von 1- 2 ml Pentobarbital intravenös. Eine Gabe von 500 mg Methylprednisolon (Urbason forte, Sanofi Aventis, Frankfurt) erfolgte nach Kathetereinschwemmung (siehe unten).

Das Tier wurde in Rückenlage fixiert und nach zügiger Tracheotomie intubiert (Abbildung 1). Während des Versuchs wurde die Beatmung (Mallinckroth Genuine Parts) druckkontrolliert mit einem mittleren Inspirationsdruck von 15 mmHg, einer Sauerstoffsättigung von 30% und einem PEEP von 7 mmHg bei einer Atemfrequenz von 16/ Min aufrechterhalten.

Über EKG-Elektroden wurde jederzeit die Herzfrequenz beobachtet, der Flüssigkeitsverlust wurde mit intravenöser Infusion von Ringerinfusionslösung (Braun) und HAES 6% ausgeglichen. Das Schwein wurde während des gesamten Versuchs auf einer Heizdecke mit 40°C gelagert.

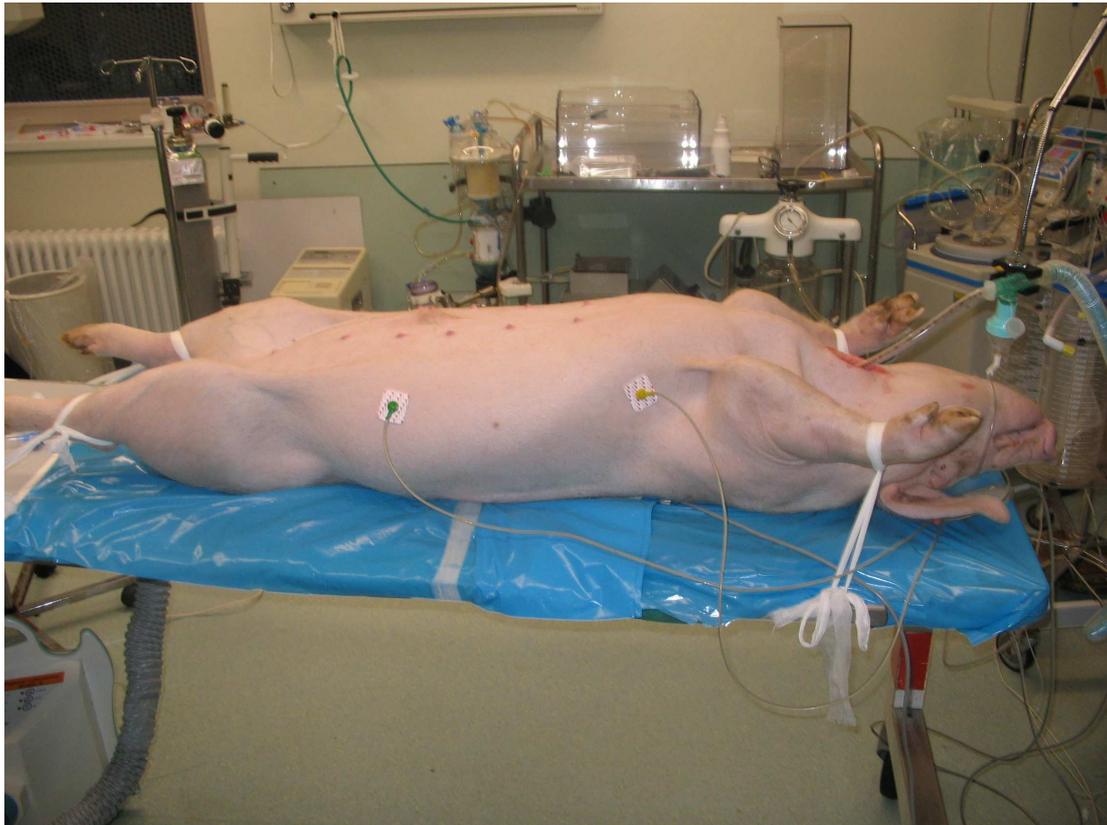


Abbildung 1: Schwein in Rückenlage fixiert nach Tracheotomie

2.4 Instrumentierung

Zunächst wurde mit der Präparation der rechten Vena jugularis interna (V. jug. int) und Arteria carotis communis (A. car. com.) begonnen. In die V. jug. int. wurde eine Schleuse gelegt (Intradyn venous hemostasis introducer, 8 F, Braun Medical Incorporation), über welche ein pulmonalarterieller Einschwemmkatheter (Pulmonary artery thermodilution right ventricular ejection fraction catheter, Biosensors international, Hillegom, Niederlande) zur Messung des Herzzeitvolumens (HZV), des pulmonalarteriellen Drucks (PA), des linksatrialen Drucks (LA), des mittleren arteriellen Drucks (MAD) und des zentralvenösen Drucks (ZVD) eingeschwemmt wurde. In die A. car. com. wurde eine Schleuse der Größe 6 F eingeführt. An beide Schleusen wurden Druckmessleitungen (DPS- Dreifach- Druckmess- System, Medex Medical, Lancashire, Großbritannien) angeschlossen (Abbildung 2).

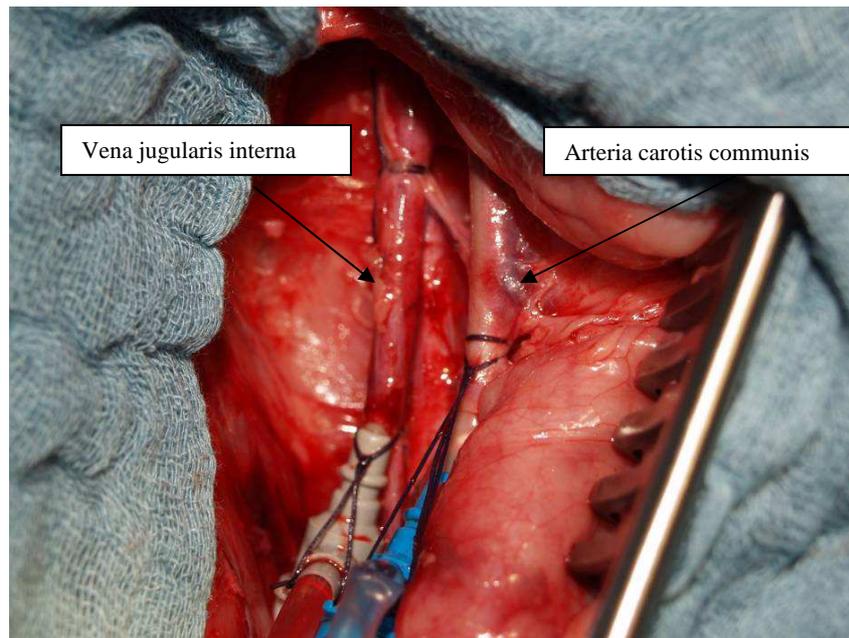


Abbildung 2: Präparation der Halsgefäße

In den Gruppen 1 und 2 wurde zur zusätzlichen kontinuierlichen hämodynamischen Überwachung die linke Arteria femoralis (A. fem.) präpariert und ein Pulscontour Continuous Cardiac Output -System (PiCCO plus, Pulsion Medical Systems) angeschlossen, um etwaige kurzfristige hämodynamische Veränderungen nach Hirntodinduktion zu detektieren (Abbildung 3).

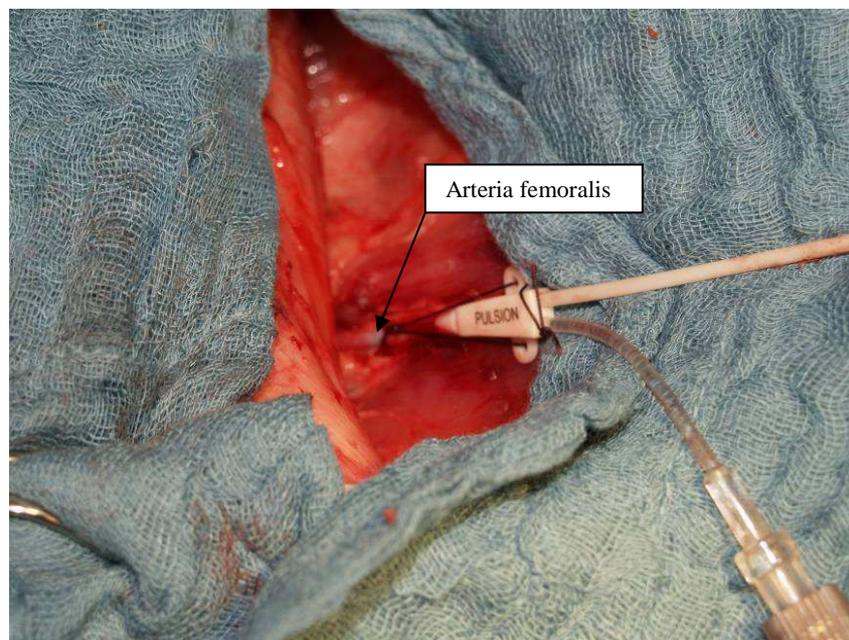


Abbildung 3: Präparation der Arteria femoralis

Regelmäßig wurde venöses, arterielles und gemischt-venöses Blut zur Blutgaskontrolle abgenommen und alle Werte dokumentiert.

Nach der Baselinemessung erfolgte nach Gabe von 2 ml Pancuronium 4 mg/ 2ml (Pancuronium Delta Select, Pfullingen, Deutschland) die Sternotomie unter gewissenhafter Blutstillung. Die Knochenränder wurden mit Knochenwachs verschlossen und ein Thoraxspreizer eingesetzt. Es erfolgte die Gabe von 10000 IE Heparin i.v. Der Thymus wurde ab präpariert und die Brusthöhle auf etwaige Anomalien inspiziert.

2.5 Die Explantation

2.5.1 Explantationsvorbereitung

Nach Sternotomie und Thymektomie wurden beide Pleuren und das Perikard mittels Längsinzision eröffnet. Die Venae cavae superior und inferior wurden mit Ligaturen (2-0 Vicryl, Suturpak, Ethicon) umschlungen. Die Vena hemiazygos wurde präpariert und ligiert. Die Arteria pulmonalis wurde von der Aorta separiert. Etwa 1-2 cm unter der Klappenebene wurde eine Tabaksbeutelnaht gelegt und mit einem Tourniquet fixiert (Abbildung 4). Auf der Aorta wurde ebenfalls eine Tabaksbeutelnaht (3-0 Prolene, Ethicon) für die spätere Blutentnahme gelegt und mit einem Tourniquet fixiert.

In die gekühlte Perfadexlösung wurden 1,6 mg Glycerolnitrat 1mg/ 1ml (Nitrolingual inf. G.Pohl- Boskamp GmbH & Co, Hohenlockstedt, Deutschland) und 0,3 ml Trometamol 3 mmol/ml (Tris 36,34%, Braun) injiziert und an das Perfusionssystem luftleer angeschlossen.

Vor der Explantation wurde eine Biopsie aus dem rechten Mittellappen zur Ausgangswertbeurteilung genommen und die Entnahmestelle mit einem 5-0 PDS-II-faden (Ethicon) genäht. Bei persistierender Leckage wurde die Biopsiestelle zusätzlich mit Gewebekleber (Baxter, Duploject system 5,0 ml, Tissucol- Kit immuno) verschlossen.

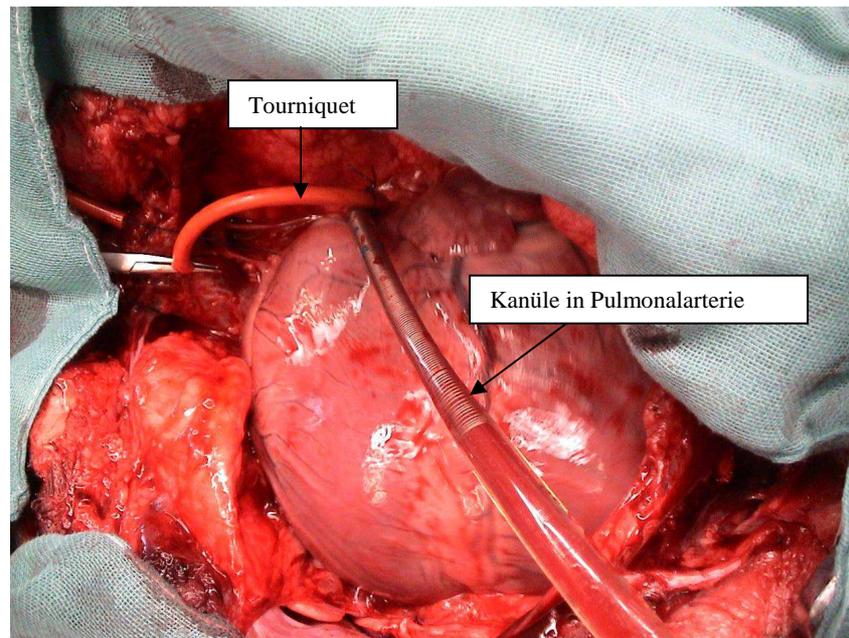


Abbildung 4: Kanülierte Pulmonalarterie

2.5.2 Blutentnahme

Unter paralleler ausreichender Hämodilution durch zügige Infusion von Ringerlösung und HAES 6% wurde mit Hilfe von Blutbeuteln (500 ml Compoflex CPDA-1-Stabilisator 70 ml, Fresenius Hemocare) aus der Aorta 1 l Blut unter Berücksichtigung des Blutdrucks abgenommen. Das Blut wurde in einen cell saver (cell saver compact advanced, dideco) gesaugt und dort zu Erythrozytenkonzentrat verarbeitet. Nach der Explantation wurden noch circa 1-2l Blut aus der Vena cava inferior gesaugt und wie oben aufbereitet.

2.5.3 Antegrade Perfusion

Die Arteria pulmonalis wurde durch den Tabaksbeutel mit einer arteriellen pädiatrischen Kanüle (16 French, Medtronic DLP, Minneapolis, USA) kanüliert und mit einer Maschinenklemme verschlossen. Die Pulmonaliskanüle wurde luftleer an das Perfusionssystem angeschlossen. Das Herz wurde durch die Applikation von Strom mit dem Cauter (Erbotom Multiplex, Erbe Elektromedizin) zum Flimmern gebracht. Die Venae cavae superior und inferior wurden ligiert, der Sinus coronarius (Abfluß des venösen Rückstroms der linken Vena azygos) mit einer Satinskyklemme und die Aorta mit einer gebogenen Aortenklemme abgeklemmt.

Der Linke Vorhof wurde inzidiert und die Perfusion gestartet. Die Lunge wurde mit eisgekühlter Natriumchloridlösung gekühlt und mit etwa 2 – 3l Perfadex perfundiert, bis nur noch klare Flüssigkeit aus der Vorhofinzision kam.

Die Beatmungsfrequenz wurde bei dieser Prozedur auf 8 Hübe/ Minute gesenkt.

2.5.3.1 Konservierungslösung

Zur Konservierung wurde die Lungenperfusionslösung Perfadex® der Firma Vitrolife (Schweden) benutzt. Lagerung der Lösung erfolgte bei 10 Grad (Bosch).

| Zusammensetzung g/l Aqua destillata | | Ionenkonzentration mmol/l | |
|--|-------|------------------------------|----------------|
| Dextran 40 | 50 | Natrium | 138 |
| Natriumchlorid | 8 | Kalium | 6 |
| Kaliumchlorid | 0,4 | Magnesium | 0,8 |
| Magnesiumsulfat- Anhydrid | 0,098 | Glukose | 5 |
| Dinatriumphosphat – Anhydrid | 0,046 | Chlorid | 142 |
| Monokaliumphosphat | 0,063 | Sulfat | 0,8 |
| Dextrose Monohydrat | 1 | Gesamtphosphat | 0,8 |
| | | Osmolarität | 295 (mOsmol/l) |

Tabelle 2: Zusammensetzung der Konservierungslösung Perfadex (Vitrolife)

2.5.4 Explantation

Nach Abschluss der Perfusion wurden die Klemmen gelöst. Das Perikard wurde vollständig entfernt. Die Vena cava inferior wurde zum Herz hin nochmals ligiert und zwischen den Ligaturen durchtrennt. Die akzessorische Vena azygos wurde ebenfalls zweimal ligiert und dazwischen durchtrennt. Zunächst erfolgte die Durchtrennung der Ligamenta pulmonales beidseits. Anschließend wurden die Pleuren rechts entlang des Ösophagus, links kaudal entlang der Aorta descendens und kranial entlang des Ösophagus ab präpariert. Nach Entfernen der Schleusen wurden die oberen Halsgefäße und die Aorta descendens durchtrennt. Letztendlich wurde noch die Trachea gelöst und etwaiges Gewebe stumpf ab präpariert, bis sich der Herz-Lungen-Block aus dem Thorax mobilisieren ließ. In halb geblähten Zustand der Lunge wurde der Tubus abgeklemmt, diskonnektiert, die Trachea durchtrennt und die Organe entnommen.

2.5.5 Ex-vivo Präparation

In einer mit kalter NaCl – Lösung gefüllter Schüssel wurde nun zunächst die Aorta von Bindegewebe befreit. Dann wurden die Linke und die Rechte Herzkranzarterie, sowie die Arteria bronchialis mit einer 0 – Ligatur vorsichtig ligiert. Die Aorta wurde gekürzt und fortlaufend überwendlich mit einem 3-0 Prolenefaden zugenäht. Die Inzision im Linken Vorhof wurde mit einem 4-0 Prolenefaden verschlossen. Die Vena cava superior wurde mit einer 2-0 Ligatur ligiert. Die Kanülen wurden transmural durch den linken bzw. rechten Ventrikel in die Pulmonalarterie, bzw. den Linken Vorhof positioniert. Die Abdichtung der Penetrationsstellen und Fixierung erfolgte durch Tabaksbeutelnähte und Ligaturen (Abbildung 5). In den Linken Vorhof und die Pulmonalarterie wurden Messkatheter eingeführt und fixiert.

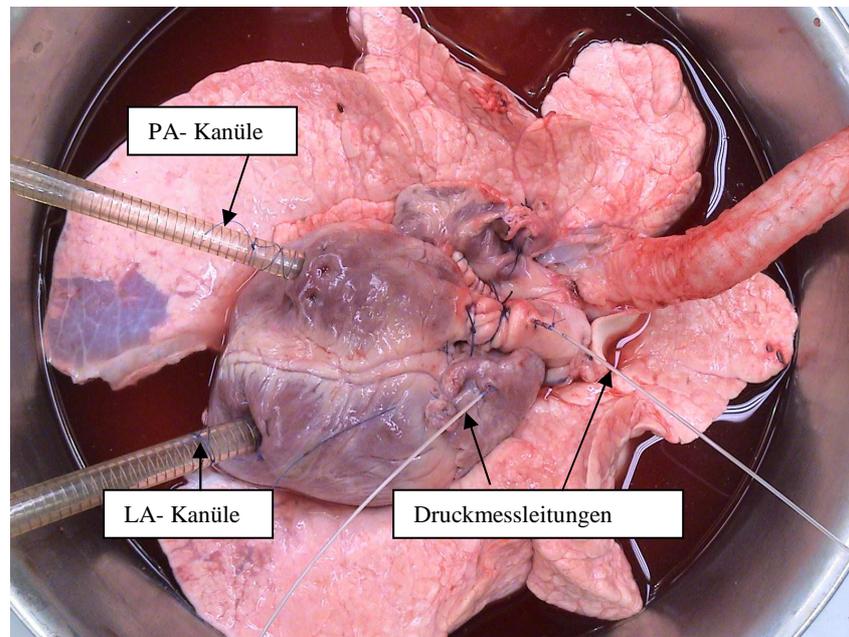


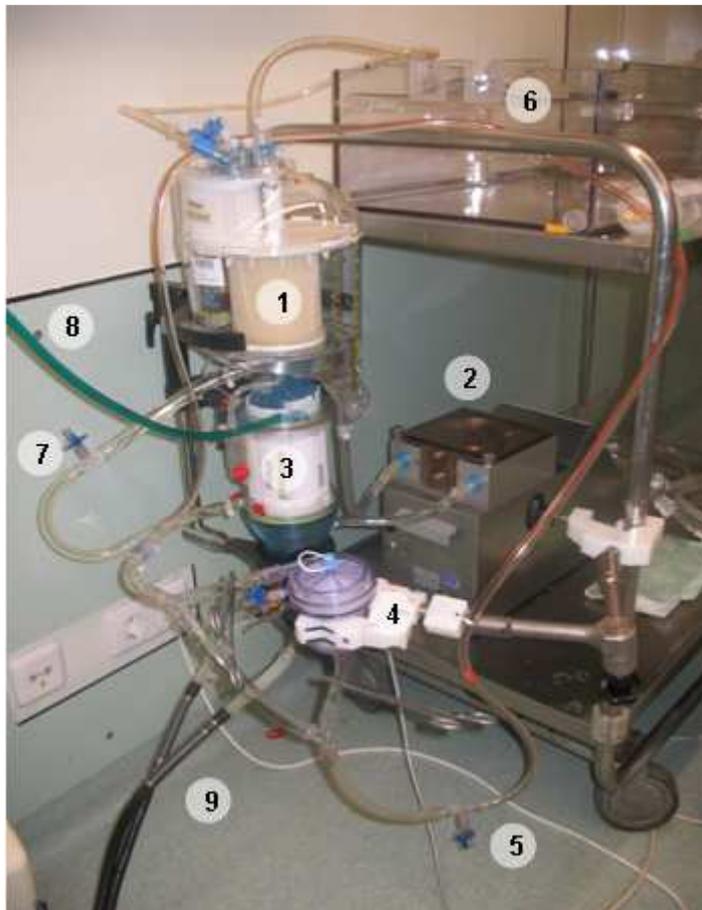
Abbildung 5: Ex- vivo Präparation

PA= Pulmonalarterie; LA= Linkes Atrium

2.6 Die Reperfusion

2.6.1 Das Reperfusionssystem

Das von uns selbst entwickelte Reperfusionssystem wurde wie folgt aufgebaut:



- 1= Reservoir
- 2= Rollerpumpe
- 3= Deoxygenator
- 4= Leukozytenfilter
- 5= PA- Schenkel
- 6= Plexiglasbehälter
- 7= LA- Schenkel
- 8= Gasanschluss
- 9= Wärmeaustauscher

Abbildung 6: Reperfusionssystem

PA= Pulmonalarteriell; LA= Linksatrial

Die Reperfusionslösung (Erythrozytenkonzentrat + Steen´scher Lösung) fließt von dem Reservoir (Dideco D903 Avant, Sorin Group) durch die Rollerpumpe (Stöckert Instrumente, München) in den Deoxygenator. Das deoxygenierte Blut/Steengemisch fließt antegrad über den Leukozytenfilter (Leukogard LG, Pall Medical) über die Kanüle (28 French Kanüle, Medtronic USA) in die Pulmonalarterie und passiert so die Lunge. Über die Kanüle aus dem Linken Vorhof (32 French Kanüle, Medtronic USA) fließt die Reperfusionslösung zurück in das Reservoir (Abbildung 6/Abbildung 7).

Hinter dem Leukozytenfilter (PA), sowie nach Passage des Lungenkreislaufes (LA) wurden Dreiwegehähne zur Blutentnahme eingefügt. Am Deoxygenator wurde ein

Gasgemisch (6% mol/mol Sauerstoff und 8% mol/mol Kohlendioxid gelöst in 86% mol/mol Stickstoff) und ein Wärmeaustauscher (Norm-o-temp, Cincinnati Sub-zero) angeschlossen. Über die intubierte (Hi-Lo Evac, 7,5, Mallinckrodt) Trachea wurde die Lunge mit einem mittleren Inspirationsdruck von 15 mmHg, einer Sauerstoffsättigung von 30% und einem PEEP von 7 mmHg bei einer Atemfrequenz von 16/ Min beatmet (Ventilator, Mallinckrodt Genuine Parts).

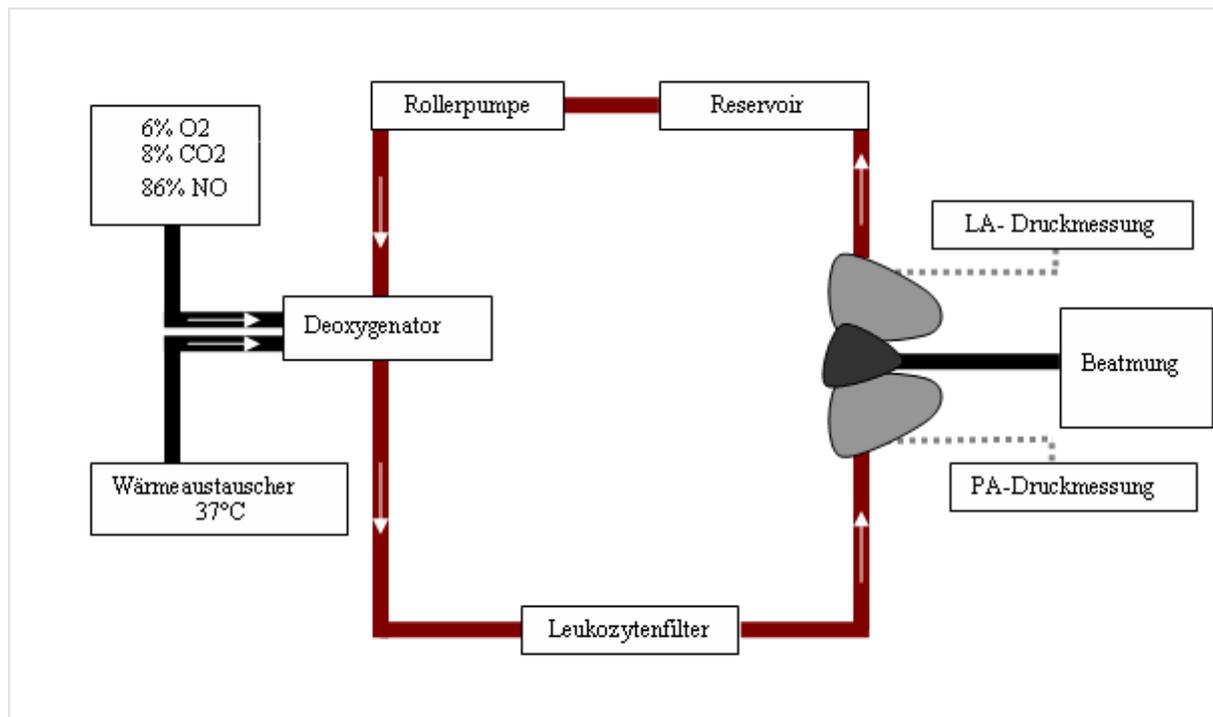


Abbildung 7: Schema des Reperfusionmodells

LA= Linkes Atrium; PA= Pulmonalarterie

2.6.2 Die Reperfusionslösung

Die Reperfusionslösung ist ein Gemisch aus Steen'scher Lösung (Steen Solution, Vitrolife) mit Erythrozytenkonzentrat. Hierbei wurde ein Mischungsverhältnis von ungefähr 2:1 (Steen: Erythrozytenkonzentrat) angestrebt. Ziel war ein Hämaturie von < 15% und entsprechend ein Hämoglobinwert (HBV) von < 5 mg/dl in der Reperfusionslösung. Der pH -Wert wurde mittels Natrium – Bikarbonat auf 7,4 eingestellt und bei Abweichungen ausgeglichen. Bei Reperfusionbeginn und erneut bei 180 Minuten wurden 500 mg Methylprednisolon in das Reperfusat injiziert.

2.6.2.1 Steen'scher Lösung

Die im Reperfusionmodell verwendete Reperfusionslösung besteht zu 2 Teilen aus Steen Solution (Vitrolife, Schweden) und 1 Teil aus Erythrozytenkonzentrat (2.5.2)

Die Steen Solution ist eine physiologische Kochsalzlösung mit hohem Anteil an Humanem Serumalbumin und Dextran-40 und extrazellulärem Kaliumgehalt. Die genaue Zusammensetzung ist patentrechtlich geschützt und nicht veröffentlicht.

Die Lösung hat einen pH- Wert von $7,4 \pm 0,3$ und wurde bei 8°C gelagert.

2.6.3 Die Befüllung

Das Reperfusionssystem wurde mit HAES 10 % vorgefüllt und entlüftet.

Der Leukozytenfilter blieb dabei zunächst ausgeklemmt. Erst kurz vor der Befüllung mit Erythrozytenkonzentrat wurde der Leukozytenfilter retrograd entlüftet, indem der Rücklauf abgeklemmt wurde. Anschließend wurde das überflüssige HAES bis zu einem Reservoirstand von 50 ml abgelassen. Es erfolgte die Befüllung mit 1 l Erythrozytenkonzentrat, während bei einem Fluss von $0,1 \text{ l / min}$ am PA – Schenkel langsam das restliche Haes bis zur Blutsäule abgelassen wurde. Erst jetzt wurde zunächst 1 l Steen´sche Lösung ins Reservoir hinzugefügt und nach Hb-Überprüfung erfolgte die Zugabe weiterer Lösung. Der Fluss wurde beschleunigt, um eine optimale Mischung von Erythrozytenkonzentrat und Steenscher Lösung zu erreichen.

2.6.4 Anschluss an das Reperfusionssystem

Die präparierte Lunge wurde in den Plexiglaskasten (Vitrolife) gelegt. Die Druckmesskatheter wurden an die Druckleitungen angeschlossen, um eine kontinuierliche Überwachung der Drücke in der Pulmonalarterie und im Linken Vorhof zu gewährleisten.

Die in der Pulmonalarterie liegende PA – Kanüle wurde luftleer an den Zulauf des Systems angeschlossen, die im linken Vorhof liegende LA – Kanüle an den Ablauf. Zuvor wurden etwa 150 ml über den Ablauf bei niedrigem Fluss (HZV) von $0,1 \text{ l / min}$ verworfen, um etwaigen Zelldetritus und akkumulierte Metabolite auszuschwemmen.

2.6.5 Reperusionsprotokoll

In der ersten halben Stunde wurde alle 2 min die Temperatur beginnend bei 20°C um 1°C erhöht. Auch der Fluss wurde langsam auf 1 l / min bei einer halben Stunde und $1,5 \text{ l / min}$ bei 1 Stunde gesteigert und belassen. Bei 32°C wurde die Beatmung angeschlossen. Die Temperatur wurde bis 37°C weiterhin schrittweise erhöht

In jeder Gruppe wurden nach folgendem Protokoll (Tabelle 3/Tabelle 4) die Daten dokumentiert.

Hämodynamische Parameter:

| Min nach Reperfusionbeginn | HZV | Reperfusat Volumen | Gasfluss | PA-Druck | LA-Druck | Fi O ₂ | PEEP |
|----------------------------|-----|--------------------|----------|----------|----------|-------------------|------|
| 0 | | | | | | | |
| 30 | | | | | | | |
| 60 | | | | | | | |
| 120 | | | | | | | |
| 180 | | | | | | | |
| 240 | | | | | | | |
| 300 | | | | | | | |
| 360 | | | | | | | |

Tabelle 3: Reperfusionsprotokoll

HZV= Herzzeitvolumen; PA- Druck= Pulmonalerterieller Druck; LA- Druck= Linkatrialer Druck

Respiratorische Parameter:

| Min nach Reperfusionbeginn | AF | PEEP | fiO ₂ | AHV | P max | P min | P plateau |
|----------------------------|----|------|------------------|-----|-------|-------|-----------|
| 0 | | | | | | | |
| 30 | | | | | | | |
| 60 | | | | | | | |
| 120 | | | | | | | |
| 180 | | | | | | | |
| 240 | | | | | | | |
| 300 | | | | | | | |
| 360 | | | | | | | |

Tabelle 4: Beatmungsprotokoll

AF= Atemfrequenz; PEEP= positive end-expiratory pressure; FiO₂= fraction of inspired oxygen; AHV= Atemhubvolumen; Pmax= maximaler Inspirationsdruck; Pmin= minimaler Inspirationsdruck; Pplateau= mittlerer Inspirationsdruck

Zu jedem Messzeitpunkt wurde Blut zur Bestimmung des pO₂, des pCO₂, der Elektrolyte und des Laktats aus dem Pa und dem La- Schenkel entnommen. Zu den Messzeitpunkten 0, 30, 60, 180 und 360 wurde zusätzlich aus beiden Schenkeln EDTA – Blut zur Leukozytenbestimmung entnommen.

2.7 Wet/Dry – Ratio

Zur Ermittlung der Ödembildung wurden Biopsien aus jedem Lappen nach Beendigung des Versuchs auf einer Präzisionswaage (Sartorius) gewogen, und in

einem Ofen bei 60°C für 48h und 72 h getrocknet und erneut gewogen. Das Verhältnis Nass- zu Trockengewicht wurde berechnet.

2.8 Histologie

Nach Beendigung der Perfusion wurde aus jedem Lungenlappen ein Gewebestück exzidiert (siehe Abbildung 8), in 4 % Formaldehyd (Formalin Roti- Histofix, Roth) konserviert und als Paraffinschnitt mit Hämatoxylin/ Eosin- (HE) und Elastika/ van Gieson- Färbung (EvG) gefärbt. Die Präparate wurden lichtmikroskopisch beurteilt, zusätzlich erfolgte die semiquantitative Auswertung der histologischen Schnitte mit Hilfe des im Folgenden beschriebenen Lung injury scores.

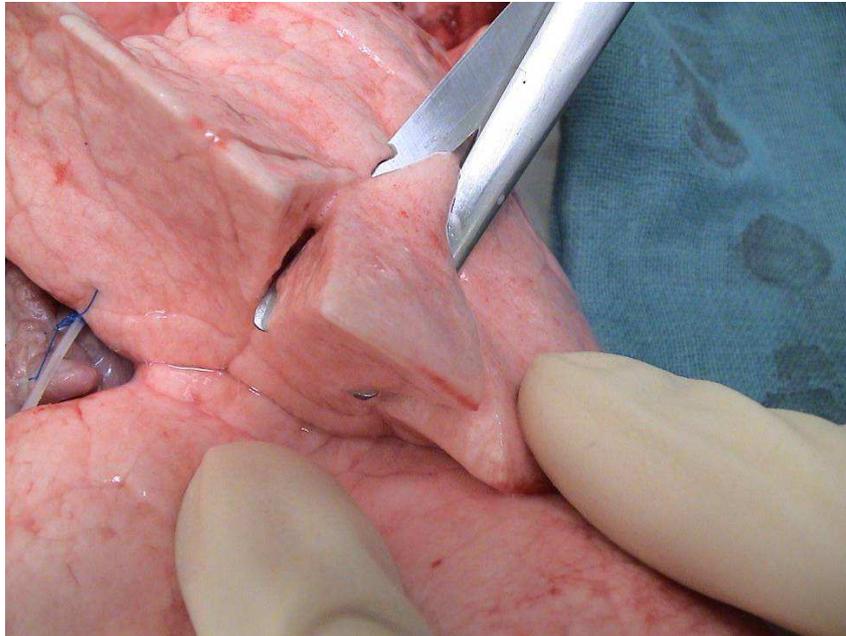


Abbildung 8: Probenentnahme zur histologischen Untersuchung

2.8.1 Der Lung injury score (LIS)

Mit Hilfe eines Lung injury score nach Rotta (23) wurden die lichtmikroskopischen Veränderungen der Lungenstruktur quantifiziert. Dazu wurden 10 Felder pro Lappen, das heißt 60 Felder pro Lunge auf das Vorhandensein von Atelektasen, Ödem, Inflation, alveolärer- und interstitieller Inflammation, sowie der Durchmesser der Alveolarwand bewertet. Dabei wurde wie folgt eingeteilt (Tabelle 5):

| Grad | Ausmaß der Schädigung |
|------|--|
| 1 | Keine Schädigung |
| 2 | Schädigung <25% pro Gesichtsfeld |
| 3 | Schädigung <50% pro Gesichtsfeld |
| 4 | Schädigung <75% pro Gesichtsfeld |
| 5 | Schädigung \geq 75% pro Gesichtsfeld |

Tabelle 5: Einteilung des Lung Injury Scores (LIS)

Die verschiedenen strukturellen Veränderungen wurden in folgenden Vergrößerungen untersucht (Tabelle 6):

| Schädigung | Vergrößerung |
|-----------------------------|--------------|
| Atelektase | 100x |
| Ödem | 100x |
| Inflation | 100x |
| Alveoläre Infiltration | 400x |
| Interstitielle Infiltration | 400x |
| Wanddurchmesser | 400x |

Tabelle 6: Modus der Schädigungsbeurteilung

2.9 Pulmonary Deflation Index (PDI)

Um den makroskopischen Zustand der Lunge hinsichtlich Ödembildung und Parenchymschaden zu beurteilen wurde der PDI eingeführt. Hierbei wurde stündlich die Lunge von dem Beatmungssystem diskonnektiert, die Deflation beobachtet und wie folgt eingeteilt (Tabelle 7):

| Grad | Kollaps | Ödem |
|------|------------|---------------------------------|
| 1 | komplett | Nein |
| 2 | komplett | Interstitiell, 1 Lappen |
| 3 | komplett | Interstitiell, mehrere Lappen |
| 4 | Inkomplett | Intraalveolär |
| 5 | nein | Regurgitation durch die Trachea |

Tabelle 7: Pulmonary Deflation Index (PDI)

2.10 Die Hirntodinduktion

2.10.1 Anatomische Untersuchungen

Da es verschiedene Möglichkeiten gibt, den Hirntod herbeizuführen, wurde an zwei toten Ferkeln mit Hilfe eines Veterinärmediziners die praktische Durchführbarkeit einer Hirntodinduktion mittels intrakranieller Balloninflation erprobt. Zur Induktion des Hirntodes muss beidseits ein Ballonkatheter epidural eingeführt und dann aufgefüllt werden, so dass durch die intrakranielle Drucksteigerung eine untere Einklemmung des Hirnstamms erfolgt (Abbildung 11). Hierbei führt nur eine schnelle Erhöhung (1 ml Kochsalz/min) des intrakraniellen Druckes zu einer systemischen Reaktion. Bei langsamer Hirntodinduktion (3 ml Kochsalz/min) kommt es zu keiner messbaren Kreislaufreaktion(24).

Zur Vergegenwärtigung der anatomischen Verhältnisse beim Schwein wurde der Schädel in der Sagittallinie zersägt (Abbildung 9). Anschließend erfolgte die Entfernung des Groß- und Kleinhirn, um Sicht auf die Dura mater zu erhalten. Im nächsten Schritt wurde das Gewebe über dem frontoparietalen Schädelknochen entfernt und ein 9,5 mm messendes Bohrloch zwischen lateralen Augenrand und Ohr unter Schonung der Dura mater gesetzt.

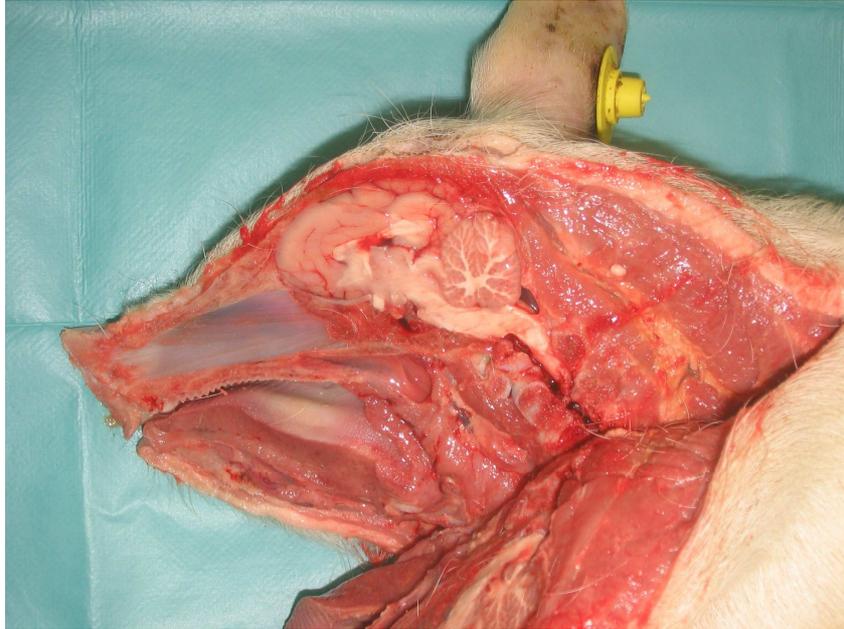


Abbildung 9: Sagitalschnitt durch den Schweineschädel

Anschließend wurde mittels Overhold die Dura mater von außen durch das Bohrloch so weit abgelöst, dass man den Ballonkatheter einführen und aufblasen kann (Abbildung 10).

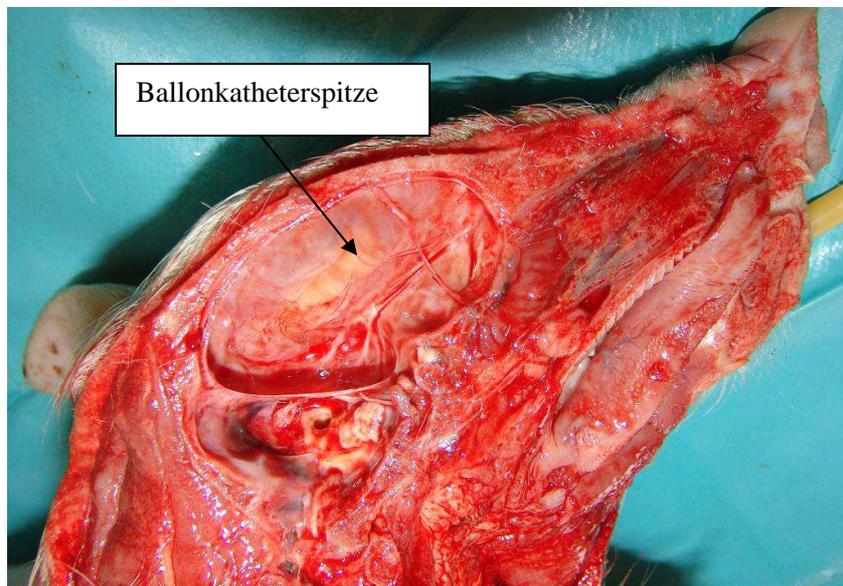


Abbildung 10: Epidurale Lage des Ballonkatheters von medial

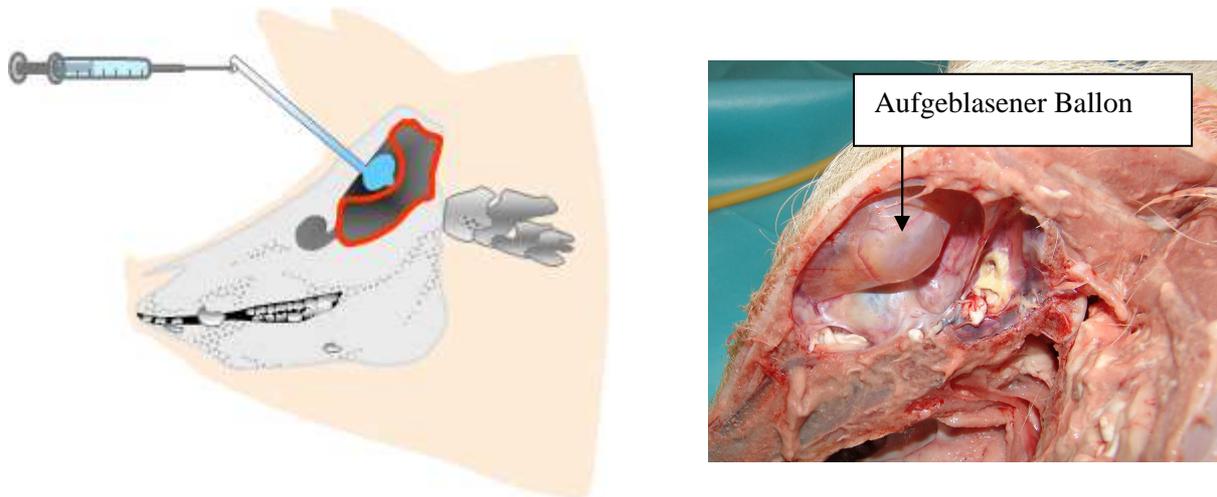


Abbildung 11: Balloninflation schematisch und in situ von medial

An einem zweiten Ferkel wurde das zuvor schrittweise erprobte Procedere am geschlossenen Schädel beidseits wiederholt. Erst dann wurde der Schädel in der Sagittallinie eröffnet, um die direkte Auswirkung der Drucksteigerung auf das Hirn zu kontrollieren. Hierbei konnte eine vollständige Destruktion des Hirngewebes, sowie ein Vorfall durch das Foramen magnum beobachtet werden.

2.11 Gruppe 1

In 4 Vorversuchen wurde die Methode der schnellen Hirntodinduktion und deren Auswirkungen auf die Lunge beim narkotisierten, beatmeten Schwein erprobt. Dabei wurde wie unter 2.10.1 beschrieben vorgegangen. 3 Stunden nach Hirntod wurden hämodynamische und Beatmungsparameter erhoben und anschließend der Herz-Lungenblock explantiert. Es erfolgte die Exzision von Lungenproben zur Ermittlung des histologischen Ist-Zustands nach Hirntod wie unter 2.8 beschrieben.

In einem zusätzlichen Vorversuch wurde die Dauer auf insgesamt 10 Stunden nach Hirntodinduktion in situ weitergeführt, um die Effekte der Lungenschädigung auch über 3 Stunden hinaus belegen zu können. 10 Stunden nach Hirntodinduktion wurde die Lunge nach gleichem Protokoll explantiert und Lungenproben gewonnen.

2.12 Gruppe 2

In Gruppe 2 wurde nach der Baselinemessung der rasche Hirntod nach oben gewonnenen Erkenntnissen (2.10;2.11) induziert. Frontoparietal beidseits wurde die Haut und das Gewebe über dem Schädel in einer Linie zwischen lateralem Augenlid und Ohr abgetragen. Mit einem Bohrer wurde anschließend ein Loch von 9,5 mm bis auf die Dura mater gebohrt. Mit einem Overhold wurde die Dura von der

Schädelinnenseite gelöst, ein Blasenkatheter (Foley Katheter, Level 1, 14 French, Smiths Medical ASD) nach kaudal eingeführt und fixiert. Der Schädel wurde um den Katheter mit Knochenwachs abgedichtet um eine intrakranielle Druckerhöhung zu ermöglichen (Abbildung 12).

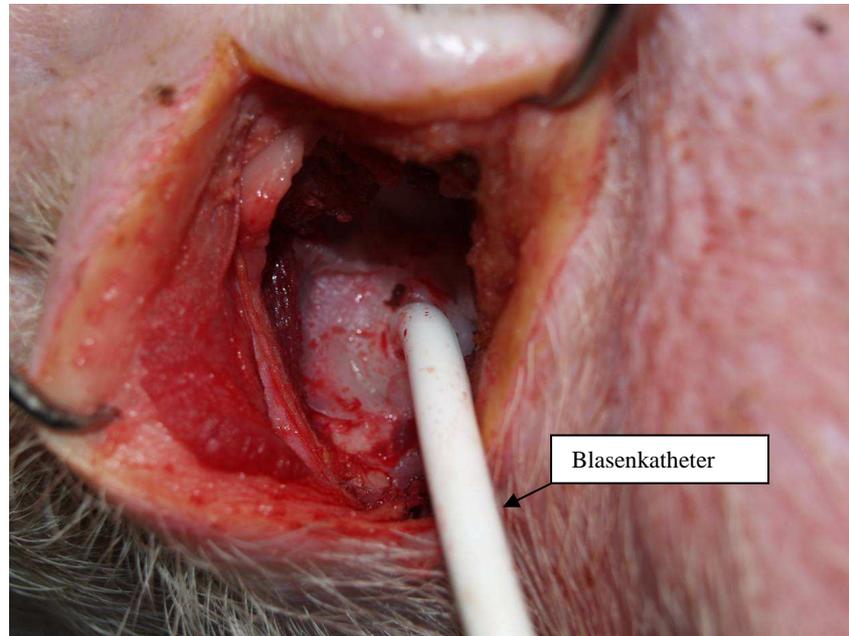


Abbildung 12: Epidural fixierter Blasenkatheter zur Hirntodinduktion

Zum sicheren Hirntodnachweis wurde die Arteria carotis interna vor Craniotomie präpariert (Abbildung 13) und der Blutfluss mit einer Flowprobe (Transit time flow and doppler flowmeter Cardiomed) gemessen (Abbildung 14).

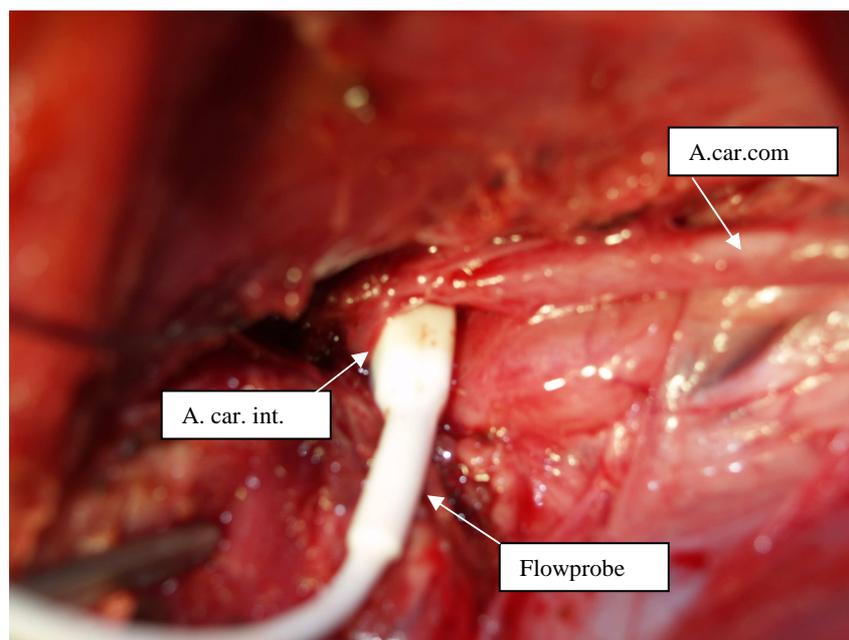


Abbildung 13: Flowprobe um Arteria carotis interna zur Messung der Hirnperfusion

A.car.int. = Arteria carotis interna; *A.car.com.* = Arteria carotis communis

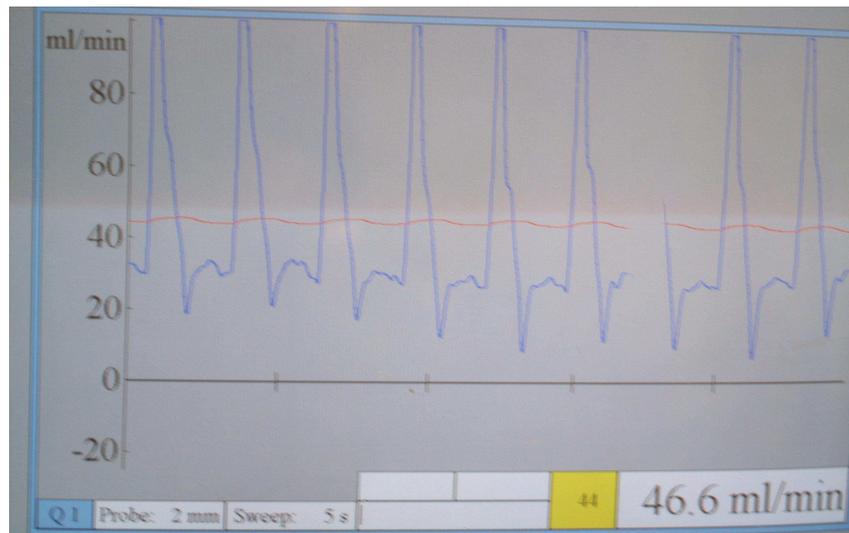


Abbildung 14: Flussmessung in der Arteria Carotis interna

Zur Hirntodinduktion wurden nun die Ballonkatheter innerhalb von 10 min auf beiden Seiten mit je 10 ml Aqua destillata gefüllt. Die gesamten hämodynamischen Reaktionen wurden mittels PiCCO kontinuierlich beobachtet. Nach Hirntod wurde der Fluss in der Arteria Carotis gemessen. Die Datendokumentation des PiCCO erfolgte nach folgendem Schema (Tabelle 8):

Hämodynamische Parameter:

| Post HT | HZV | RRsys | RRdia | MAD | ZVD | SVR | HF | Flow |
|---------|-----|-------|-------|-----|-----|-----|----|------|
| 0 | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | | |
| 30 | | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | | |
| 50 | | | | | | | | |
| 60 | | | | | | | | |
| 90 | | | | | | | | |
| 120 | | | | | | | | |
| 150 | | | | | | | | |
| 180 | | | | | | | | |

Tabelle 8: Datendokumentation mittels PiCCO beginnend nach Hirntodinduktion

HT= Hirntod; HZV= Herzzeitvolumen; RR sys= Systolischer Blutdruck; RRdia= Diastolischer Blutdruck; MAD= Mittlerer Arterieller Blutdruck; ZVD= Zentraler Venendruck; SVR= Systemischer Widerstand; HF= Herzfrequenz; Flow= Carotis interna – Fluss

Die Atemparameter wurden wie oben beschrieben (2.6.5, Tabelle 4) erhoben. Zusätzlich wurde alle 30 Minuten Blut zur Blutgasmessung entnommen.

2 Stunden nach Hirntodinduktion wurde sternotomiert und mit den Explantationsvorbereitungen (2.5.1) begonnen.

Nach der Explantation wurden die Lungen nach oben beschriebenem Schema für 6 h im extrakorporalen Kreislauf perfundiert. Bei Versuchsende wurden aus jedem Lungenlappen Proben zur histologischen Beurteilung gewonnen.

2.13 Gruppe 3

In Gruppe 3 erfolgte wie unter 2.5 beschrieben die Explantation ohne vorhergehende Hirntodinduktion. Nach 180 Minuten wurde der Herz- Lungen- Block explantiert und für 6 Stunden wie unter 2.6 beschrieben reperfundiert. Es erfolgte die Dokumentation der hämodynamischen und respiratorischen Parameter wie beschrieben, nach Versuchende wurden histologische Proben gewonnen.

2.14 Statistische Methoden

Alle Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardabweichung vorgestellt. Alle Kurven sind mit dem Programm Excel von Microsoft Office 2003 erstellt. Zur statistischen Auswertung und Berechnung der p-Werte wurde der Mann Whytney U Test, sowie der T- Test des Programms SPSS 17 benutzt. Eine Signifikanz besteht hier bei $p < 0,05$.

3 Ergebnisse

Im Folgenden sollen die Ergebnisse dieser Arbeit vorgestellt werden. Im ersten Teil werden die Auswirkungen des Hirntodes auf die Lunge und den Gesamtorganismus präsentiert (Gruppe 1), im Anschluss die Effekte der Rekonditionierung mittels ex-vivo Perfusion (Gruppe 2) dargestellt und mit der Kontrollgruppe (Gruppe 3) verglichen.

Die Ergebnisauswertung jeder Gruppe ist wie folgt aufgeteilt:

1. Hirntodnachweis (Gruppe 1 und 2)
2. Hämodynamik
3. Respiratorische Parameter
4. Klinik
5. Mikroskopie

3.1 Gruppe 1(Hirntodinduktion)

Bei Gruppe 1 ist zu beachten, dass sämtliche Messwerte in situ gemessen worden sind, es erfolgte keine Reperfusion im Modell. Außerdem wurde ein Teil der Parameter mit dem Swan- Ganz – Katheter erhoben, ein anderer Teil kontinuierlich mit dem PiCCO, was der Grund für unterschiedliche Messzeitpunkte ist. Die Ergebnisse des von uns durchgeführten 10 Stunden Versuchs sind in den Tabellen mit aufgeführt.

3.1.1 Hirntodnachweis

3.1.1.1 Der Karotisfluss

Wie oben schon beschrieben haben wir als Nachweis des eingetretenen Hirntodes den Fluss in der Arteria carotis interna zu den Messzeitpunkten bestimmt.

Wie man in Abbildung 15 erkennen kann, haben wir in der Arteria carotis interna zur Baselinemessung einen mittleren Fluss von $99,0 \pm 19,1$ ml/min. Nach Hirntodinduktion fällt der Fluss zunächst nur langsam und nicht signifikant auf $75,0 \pm 34,2$ ml/min bei 10 Minuten. 20 Minuten nach Hirntod fällt er jedoch signifikant gegenüber dem Ausgangswert auf $39,3 \pm 15,9$ ml/min. In der nächsten Stunde sinkt der Fluss weiter bis er 90 Minuten nach Hirntodinduktion bei 2 ml/min stagniert.

| Zeit [min] | Flow [ml/min] |
|------------|---------------|
| Prae | 99,0 ± 19,1 |
| HT | 85,3 ± 30,0 |
| 10 | 75,0 ± 34,2 |
| 20 | 39,3 ± 15,9* |
| 30 | 24,3 ± 13,5* |
| 40 | 16,1 ± 13,0* |
| 50 | 9,3 ± 12,5* |
| 60 | 13,0 ± 13,2* |
| 90 | 2,0 ± 0* |
| 120 | 2,0 ± 0* |
| 150 | 2,0 ± 0,5* |
| 180 | 1,5 ± 0,6* |
| 210 | 2,0 ± 0* |

Tabelle 9: Karotisfluss nach Hirntodinduktion als Mittelwerte ± Standardabweichung

HT= Hirntod; *: $p < 0,05$

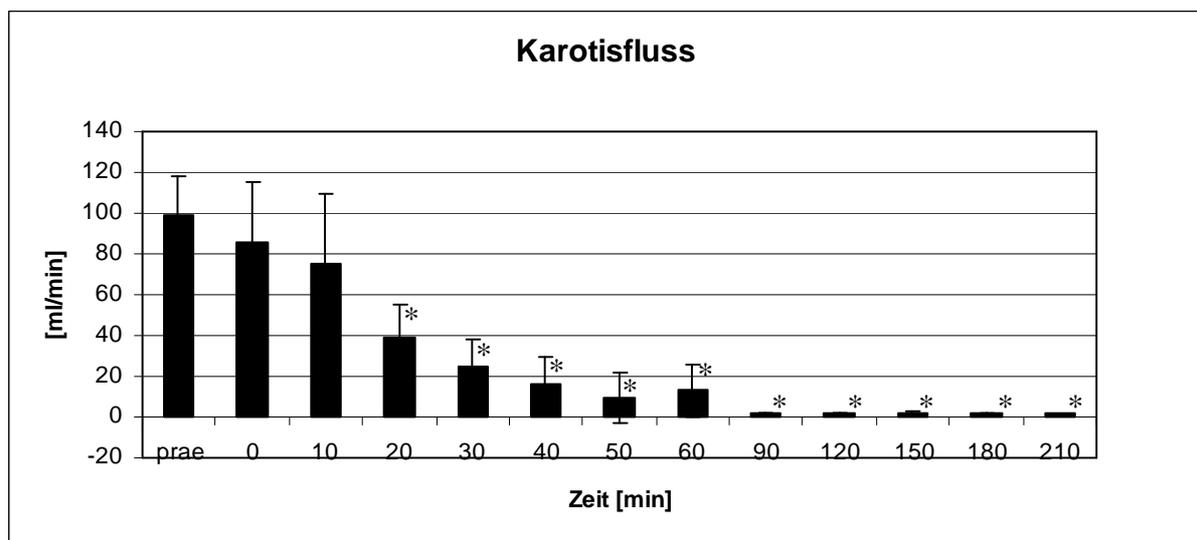


Abbildung 15: Graphische Darstellung des Karotisfluss nach Hirntodinduktion als Mittelwerte ± Standardabweichung

*: $p < 0,05$

3.1.2 Hämodynamik

Die folgende Tabelle und Abbildung zeigt die Hämodynamik gemessen mit dem Swan-Ganz Katheter in situ.

| Zeit [min] | HF [min] | HZV [l/min] |
|------------|--------------|-------------|
| Prae | 87,7 ± 10,0 | 6,4 ± 1,5 |
| HT | 83,7 ± 10,0 | 6,3 ± 1,4 |
| 30 | 110,3 ± 19,6 | 6,5 ± 1,3 |
| 60 | 90,0 ± 7,2 | 6,4 ± 1,4 |
| 90 | 86,3 ± 6,4 | 5,7 ± 1,0 |
| 120 | 92,8 ± 11,7 | 5,2 ± 1,8 |
| 150 | 85,7 ± 8,1 | 5,1 ± 1,3 |
| 180 | 85,8 ± 7,4 | 4,8 ± 1,0 |
| 210 | 80,5 ± 9,2 | 4,1 ± 1,0 |

Tabelle 10: Hämodynamik Mittelwerte ± Standardabweichung der Vorversuche

HT= Hirntodinduktion; HF= Herzfrequenz; HZV= Herzzeitvolumen

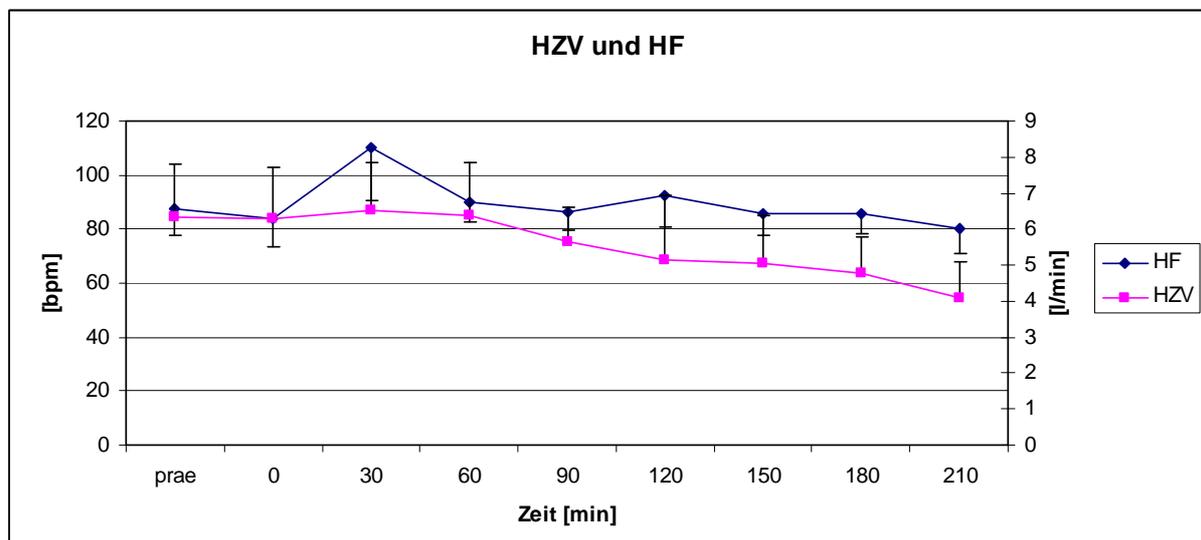


Abbildung 16: Hämodynamik Mittelwerte ± Standardabweichung der Vorversuche

HF= Herzfrequenz; HZV= Herzzeitvolumen

Wie man in Abbildung 16 sieht, kommt es 30 Minuten nach Hirntodinduktion zu einem Anstieg der Herzfrequenz, welche über die Versuchsdauer kontinuierlich absinkt.

Das Herzzeitvolumen sinkt im Verlauf um 2 l/min bis Versuchsende ab.

3.1.2.1 Der Blutdruck

In der nachfolgenden Tabelle sind die Blutdruckparameter gemessen mittels PiCCO dargestellt.

| Zeit [min] | RRsys [mmHg] | RRdia [mmHg] | RRmean [mmHg] |
|------------|--------------|--------------|---------------|
| Prae | 110,8 ± 12,6 | 73,0 ± 17,9 | 89,8 ± 15,2 |
| HT | 102,0 ± 13,3 | 63,8 ± 11,9 | 81,0 ± 11,6 |
| 10 | 131,0 ± 14,1 | 91,0 ± 18,7 | 108,2 ± 15,3 |
| 20 | 87,0 ± 19,6* | 55,5 ± 10,1* | 70,0 ± 13,0* |
| 30 | 85,3 ± 17,7 | 52,8 ± 13,0 | 68,0 ± 14,7 |
| 40 | 86,5 ± 18,2 | 54,5 ± 14,0 | 69,2 ± 14,2 |
| 50 | 86,8 ± 16,0 | 55,0 ± 15,5 | 69,2 ± 15,4 |
| 60 | 93,0 ± 18,7 | 60,5 ± 17,4 | 75,0 ± 16,7 |
| 90 | 89,5 ± 21,4 | 59,3 ± 20,3 | 73,0 ± 20,7 |
| 120 | 72,3 ± 10,1 | 49,5 ± 12,2 | 57,3 ± 7,0 |
| 150 | 69,0 ± 10,8 | 42,3 ± 3,8 | 53,3 ± 5,5 |
| 180 | 71,0 ± 10,1 | 48,0 ± 22,4 | 53,2 ± 9,5 |
| 210 | 68,7 ± 7,5* | 43,0 ± 5,2* | 54,0 ± 6,1* |

Tabelle 11: Blutdrücke im Verlauf nach Hirntodinduktion als Mittelwerte ± Standardabweichung

HT= Hirntodinduktion; RRsys= Systolischer Blutdruck; RRdia= Diastolischer Blutdruck; RRmean= Mittlerer Arterieller Blutdruck

*: $p < 0,05$;

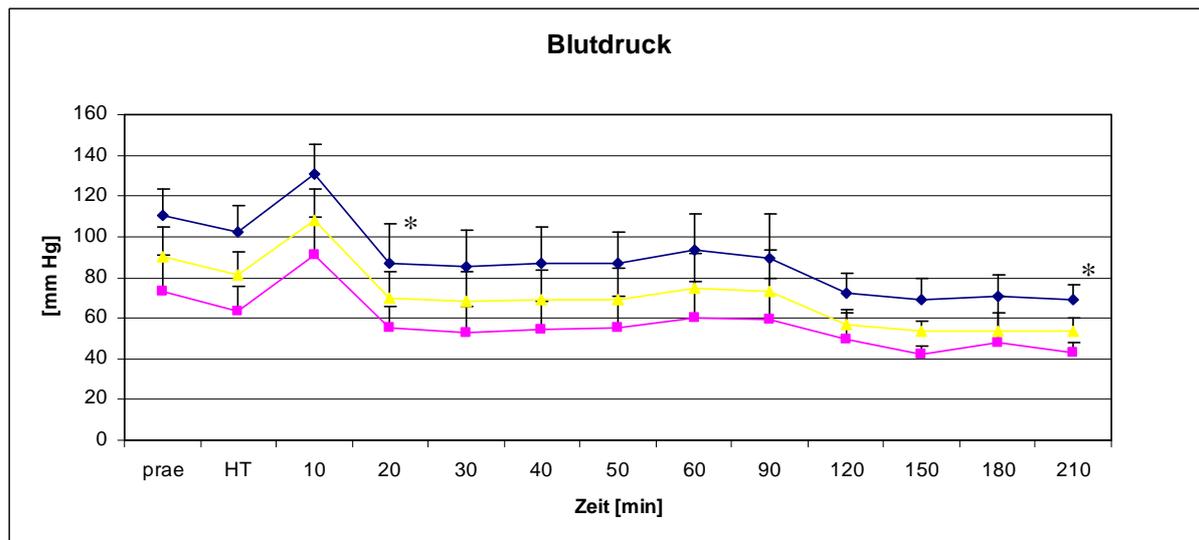


Abbildung 17: Graphische Darstellung des Blutdrucks nach Hirntodinduktion als Mittelwerte \pm Standardabweichung

*: $p < 0,05$;

Wie man an Hand der Abbildung 17 und der Tabelle 11 sehen kann, steigt der mittlere Blutdruck 10 min nach Hirntodinduktion von $81,0 \pm 11,6$ mmHg auf $108,2 \pm 15,3$ mmHg an. Danach fällt er signifikant auf $70,0 \pm 13,0$ mm Hg bis zur 120 Minute. Dann sinkt er erneut signifikant gegenüber dem Ausgangswert auf $53,3 \pm 5,5$ mmHg ab. Der Systolische und der Diastolische Blutdruck verhalten sich parallel dazu.

3.1.2.2 Der Pulmonale Gefäßwiderstand (PVR)

Der pulmonale Gefäßwiderstand gibt ein indirektes Bild über die Perfusion der Lunge wieder. Je höher der Widerstand, desto enger die Gefäße.

Nach dem Euler- Liljestrand - Gesetz steigt der Gefäßwiderstand auch bei Sauerstoffmangel.

Der dynamische PVR wurde wie folgt berechnet:

$$\text{PVR dyn} = (\text{PA-LA}) / \text{HZV} * 79,8$$

PA= pulmonalarterieller Druck; LA= Linksatraler Druck; HZV= Herzzeitvolumen

Die Werte sind in Tabelle 12 aufgezeigt. Graphisch stellt er sich wie folgt dar.

| Zeit [min] | PVR [dyn*s*cm ⁻⁵] | Zeit [min] | PVR [dyn*s*cm ⁻⁵] |
|------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|
| prae | 232,7 ± 101,5 | pHT 240 | 292,0 |
| HT | 231,5 ± 112,6 | pHT 270 | 327,4 |
| pHT 30 | 220,3 ± 47,6 | pHT 300 | 399,0 |
| pHT 60 | 230,1 ± 27,2 | pHT 360 | 351,1 |
| pHT 90 | 209,3 ± 8,5 | pHT 420 | 190,8 |
| pHT 120 | 186,8 ± 51,6 | pHT 480 | 190,8 |
| pHT 150 | 159,1 ± 69,8 | pHT 540 | 129,9 |
| pHT 180 | 201,9 ± 32,9 | pHT 600 | 139,7 |
| pHT 210 | 245,5 ± 18,0 | | |

Tabelle 12: PVR der Vorversuche mit 10 Stunden Werten rechts

PVR= Pulmonal vaskulärer Widerstand; HT= Hirntod; pHT= post Hirntod; 10h = kursive Werte

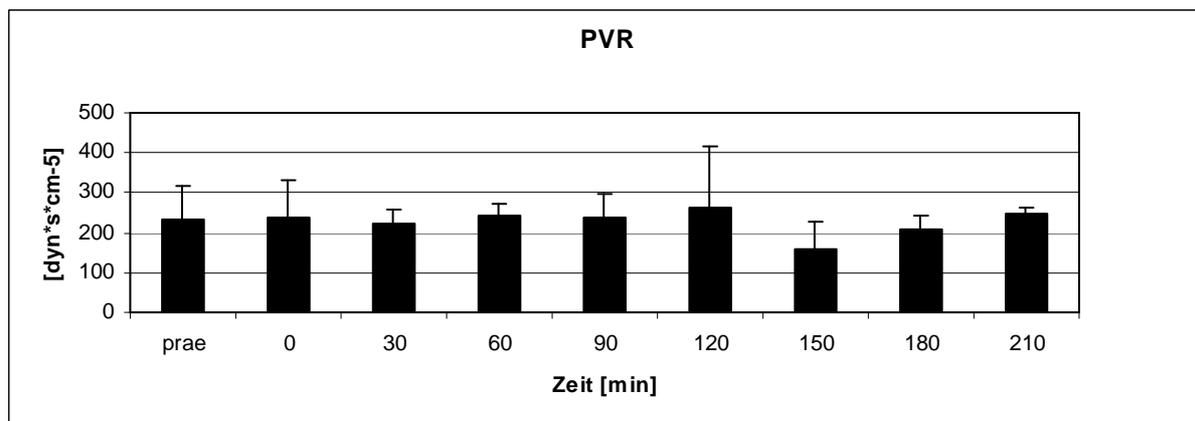


Abbildung 18: Graphische Darstellung des PVR nach Hirntodinduktion über die Zeit als Mittelwerte ± Standardabweichung

PVR= Pulmonal vaskulärer Widerstand;

Wie man in der Abbildung 16 sieht ist der PVR bis über die gesamte Versuchsdauer im Normbereich von 150-250 [dyn*s*cm⁻⁵]. Jegliche Schwankungen sind ohne Signifikanz. Beginnend mit 232,7± 101,5 [dyn*s*cm⁻⁵] zur Baseline Messung fällt der PVR sukzessive bis zum 150 Minuten Wert auf 159, ± 69,3 [dyn*s*cm⁻⁵] ab, steigt jedoch bis zum Ende des Versuchs nach 210 Minuten wieder auf 245,5 ± 18,0 [dyn*s*cm⁻⁵] an. An Hand der Werte des 10 Stunden- Versuchs sieht man, dass sich

der PVR bis zu 6 Stunden nach Reperfusionbeginn noch erhöht, und dann wieder in den Normbereich abfällt.

3.1.2.3 Der Systemische Gefäßwiderstand (SVR)

| Zeit [min] | SVR [dyn*s*cm ⁻⁵] |
|------------|-------------------------------|
| Prae | 1116,7 ± 464,7 |
| HT | 1086,7 ± 448,4 |
| 10 | 1126,7 ± 424,4 |
| 20 | 660,0 ± 225,2* |
| 30 | 653,3 ± 245,4 |
| 40 | 696,7 ± 279,7 |
| 50 | 706,7 ± 214,6 |
| 60 | 763,3 ± 280,2 |
| 90 | 736,7 ± 250,1 |
| 120 | 666,7 ± 223,7 |
| 150 | 606,7 ± 188,2 |
| 180 | 573,3 ± 165,0 |
| 210 | 695,0 ± 63,6 |

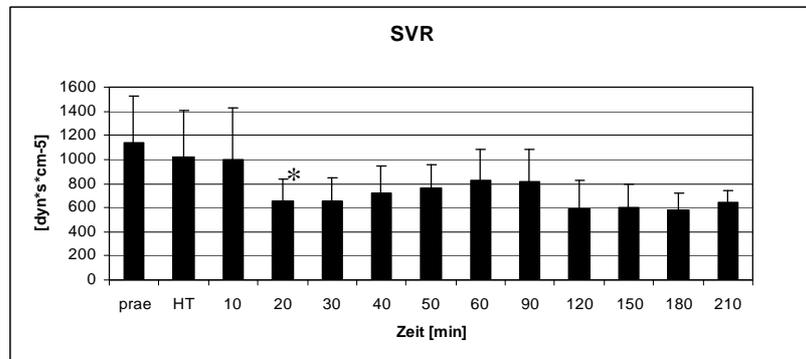


Abbildung 19: Graphische Darstellung des SVR der Gruppe 1 als Mittelwerte ± Standardabweichung

SVR= Systemischer vaskulärer Widerstand; HT= Hirntod

*: $p < 0,05$;

Tabelle 13: SVR der Gruppe 1 als Mittelwerte ± Standardabweichung

SVR= Systemischer vaskulärer Widerstand; HT= Hirntod; *: $p < 0,05$;

Der SVR liegt (Abbildung 19) zu Beginn des Versuchs bei $1116,7 \pm 464,7$ [dyn*s*cm⁻⁵] im Normbereich von 900-1400 [dyn*s*cm⁻⁵]. Auf diesem Niveau hält er sich bis 10 Minuten nach Hirntodinduktion. Nach 20 Minuten ist er signifikant auf $660,0 \pm 225,2$ [dyn*s*cm⁻⁵] abgefallen. Mit leichten nicht signifikanten Schwankungen bleiben die Widerstände bei diesen Werten bis Versuchsende. Dieser Trend setzt sich auch über 10 Stunden nach Hirntodinduktion fort.

3.1.2.4 Der Pulmonalarterielle Druck (PA)

| Zeit [min] | PA [mmHg] |
|------------|-------------|
| prae | 27,8 ± 5,0 |
| 0 | 26,5 ± 3,3 |
| 30 | 24,8 ± 2,9 |
| 60 | 26,5 ± 5,6 |
| 90 | 24,0 ± 7,1 |
| 120 | 21,5 ± 4,4 |
| 150 | 19,7 ± 5,5 |
| 180 | 20,5 ± 5,1 |
| 210 | 20,5 ± 0,7* |

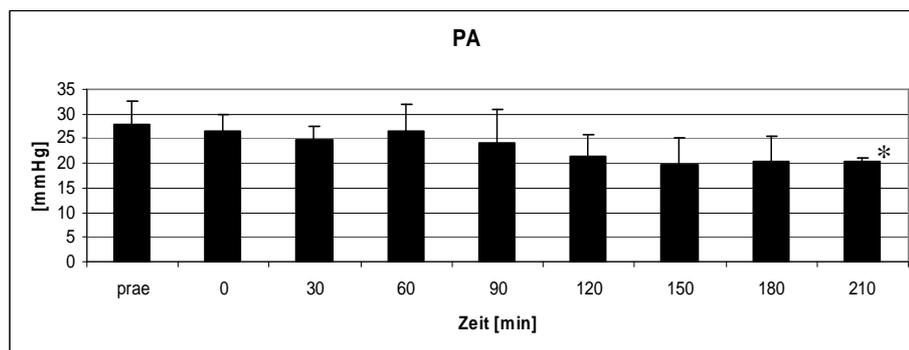


Abbildung 20: Pulmonalarterieller Druck als Mittelwerte ± Standardabweichung der Gruppe 1

PA= Pulmonalarterieller Druck; * : $p < 0,05$;

Tabelle 14: Pulmonalarterieller Druck als Mittelwerte ± Standardabweichung der Gruppe 1

PA= Pulmonalarterieller Druck; * : $p < 0,05$;

Der Pulmonalarterielle Druck ist während der gesamten Versuchszeit erhöht. Erst nach 210 Minuten Reperfusionzeit gibt es einen zu Reperfusionbeginn signifikanten Abfall von $26,5 \pm 3,3$ auf $20,5 \pm 0,7$.

| Zeit [min] | LA [mmHg] |
|------------|------------|
| prae | 10,3 ± 3,0 |
| 0 | 8,6 ± 3,9 |
| 30 | 7,3 ± 2,1 |
| 60 | 7,5 ± 3,0 |
| 90 | 7,3 ± 4,6 |
| 120 | 6,5 ± 3,0 |
| 150 | 10,3 ± 7,5 |
| 180 | 8,0 ± 2,4 |
| 210 | 8,0 ± 1,4 |

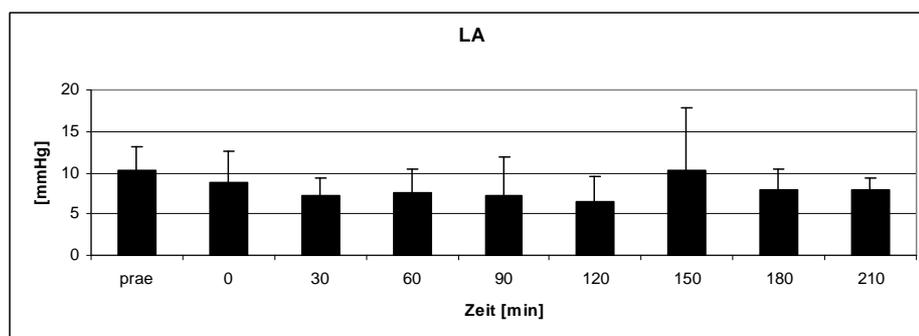


Abbildung 21: Linksatrialer Druck als Mittelwerte ± Standardabweichung der Gruppe 1

LA= Linksatrialer Druck

Tabelle 15: Linksatrialer Druck als Mittelwerte ± Standardabweichung der Gruppe 1

LA= Linksatrialer Druck

3.1.3 Atmung

3.1.3.1 Atemhubvolumen

| Zeit [min] | AHV [ml] |
|------------|---------------|
| Prae | 582,5 ± 96,4 |
| HT | 580,0 ± 82,9 |
| 30 | 560,0 ± 81,2 |
| 60 | 617,5 ± 98,5 |
| 90 | 615,0 ± 96,8 |
| 120 | 665,0 ± 134,8 |
| 150 | 686,7 ± 166,5 |
| 180 | 660,0 ± 146,7 |
| 210 | 580,0 ± 183,9 |

Tabelle 16: Atmungsparameter als Mittelwerte ± Standardabweichung der Gruppe 1

AHV= Atemhubvolumen; HT= Hirntod; pHT= post Hirntod

Bei druckkontrollierten Beatmungsmodus zeigten sich im Verlauf keine signifikanten Veränderungen des Atemhubvolumens (siehe Tabelle 16).

3.1.3.2 Die Compliance

Die Compliance ist Ausdruck der Elastizität des Lungengewebes, also ihrer Fähigkeit sich zu entfalten. Umgekehrt ist sie Ausdruck der Rigidität.

Die statische Compliance wird nach folgender Formel berechnet:

$$C = \text{AHV [ml]} / \text{mean[mmHg]}$$

AHV= Atemhubvolumen; mein= mittlerer Inspirationsdruck

| Zeit [min] | Compliance [ml/mmHg] | Zeit [min] | Compliance [ml/mmHg] |
|------------|----------------------|----------------|----------------------|
| prae | 38,8 ± 6,4 | <i>pHT 240</i> | 40,7 |
| HT | 38,7 ± 5,5 | <i>pHT 270</i> | 39,3 |
| pHT 30 | 37,3 ± 5,4 | <i>pHT 300</i> | 38,7 |
| pHT 60 | 41,2 ± 6,6 | <i>pHT 360</i> | 39,3 |
| pHT 90 | 41,0 ± 6,5 | <i>pHT 420</i> | 40,0 |
| pHT 120 | 44,3 ± 9,0 | <i>pHT 480</i> | 45,3 |
| pHT 150 | 45,8 ± 11,1 | <i>pHT 540</i> | 44,7 |
| pHT 180 | 44,0 ± 9,8 | <i>pHT 600</i> | 47,3 |
| pHT 210 | 38,7 ± 12,2 | | |

Tabelle 17: Compliance der Gruppe 1 mit 10 h rechts

10h = kursive Werte

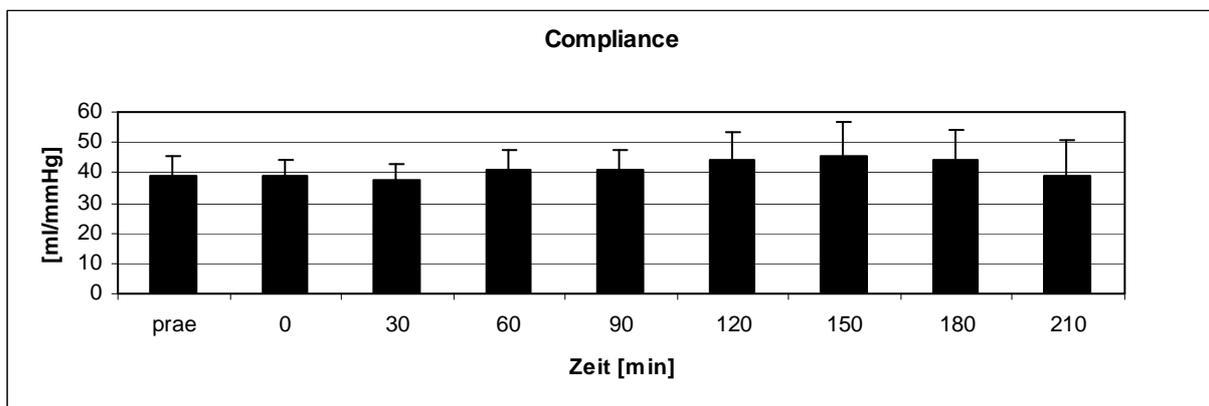


Abbildung 22: Compliance der Gruppe 1 als Mittelwerte ± Standardabweichung

Die Compliance ist vor Hirntodinduktion bei $38,8 \pm 6,4$ ml/mmHg, nach Hirntodinduktion steigt sie bis zum 150 Minuten Wert kontinuierlich, aber nicht signifikant auf $45,8 \pm 11,1$ ml/mmHg an, fällt dann jedoch wieder auf $38,7 \pm 12,2$ ml/mmHg bei Versuchsende ab. Bis zu 10 Stunden nach Hirntod scheint sie sich nur leicht zu verbessern. Insgesamt finden sich jedoch keine statistisch signifikanten Schwankungen.

3.1.4 Der Gasaustausch

In folgender Tabelle sind Blutgaswerte bei einem Sauerstoffanteil der Inspirationsluft von 30 % aufgezeigt. Man sieht keine relevante Veränderung über die Versuchsdauer.

| Zeit [min] | LApO ₂ [mmHg] | LApCO ₂ [mmHg] | PApO ₂ [mmHg] | PApCO ₂ [mmHg] |
|------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Prae | 153,8 ± 22,4 | 39,3 ± 9,2 | 56,0 ± 7,3 | 37,1 ± 7,8 |
| HT | 153,3 ± 16,8 | 43,4 ± 3,7 | 67,4 ± 4,7 | 46,9 ± 4,9 |
| 30 | 156,3 ± 12,4 | 42,1 ± 4,7 | 58,7 ± 1,9 | 46,2 ± 5,5 |
| 60 | 157,8 ± 14,4 | 38,8 ± 7,3 | 56,6 ± 1,2 | 43,3 ± 7,7 |
| 90 | 115,8 ± 77,9 | 40,6 ± 3,4 | 41,0 ± 27,4 | 33,9 ± 22,8 |
| 120 | 171,0 ± 19,5 | 32,0 ± 5,1 | 48,8 ± 7,2 | 37,7 ± 6,2 |
| 150 | 162,7 ± 25,0 | 30,8 ± 6,5 | 46,5 ± 7,6 | 36,5 ± 7,3 |
| 180 | 171,8 ± 17,7 | 30,8 ± 6,2 | 47,0 ± 5,6 | 49,3 ± 27,2 |
| 210 | 130,0 ± 4,2 | 31,1 ± 9,5 | 52,0 ± 0 | 43,4 ± 0 |

Tabelle 18: Blutgaswerte nach Hirntodinduktion im Mittelwert ± Standardabweichung

LApO₂= Linksatrialer Sauerstoffpartialdruck; LApCO₂= Linksatrialer Kohlenstoffdioxidpartialdruck; PApO₂= Pulmonalarterieller Sauerstoffpartialdruck; PApCO₂= Pulmonalarterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck; HT= Hirntod

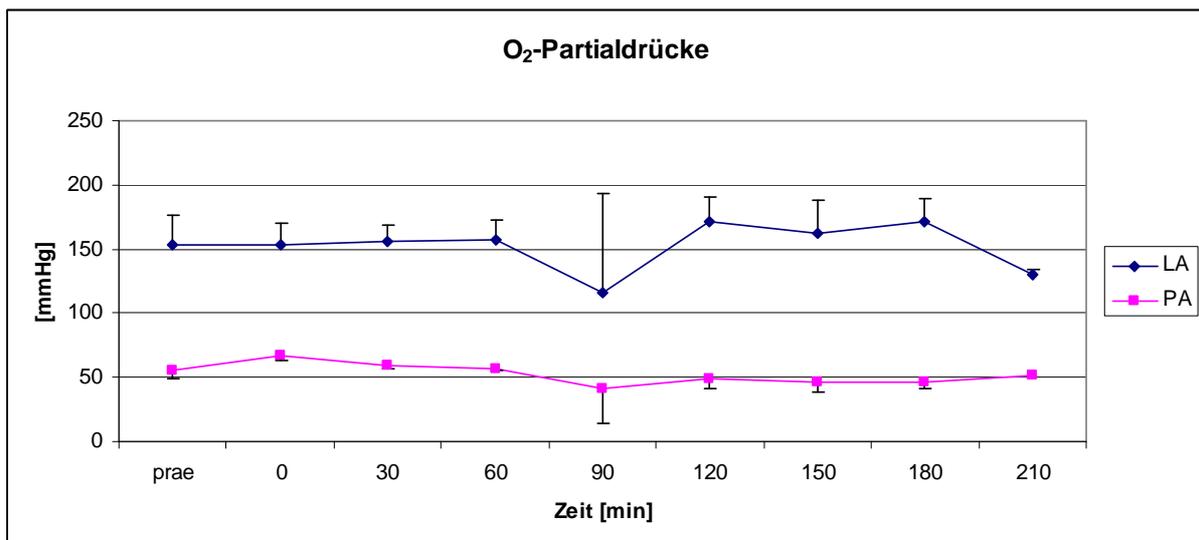


Abbildung 23: Graphische Darstellung der Sauerstoffpartialdrücke der Gruppe 1

LA= Linksatrial, PA= Pulmonalarteriell, O₂= Sauerstoff

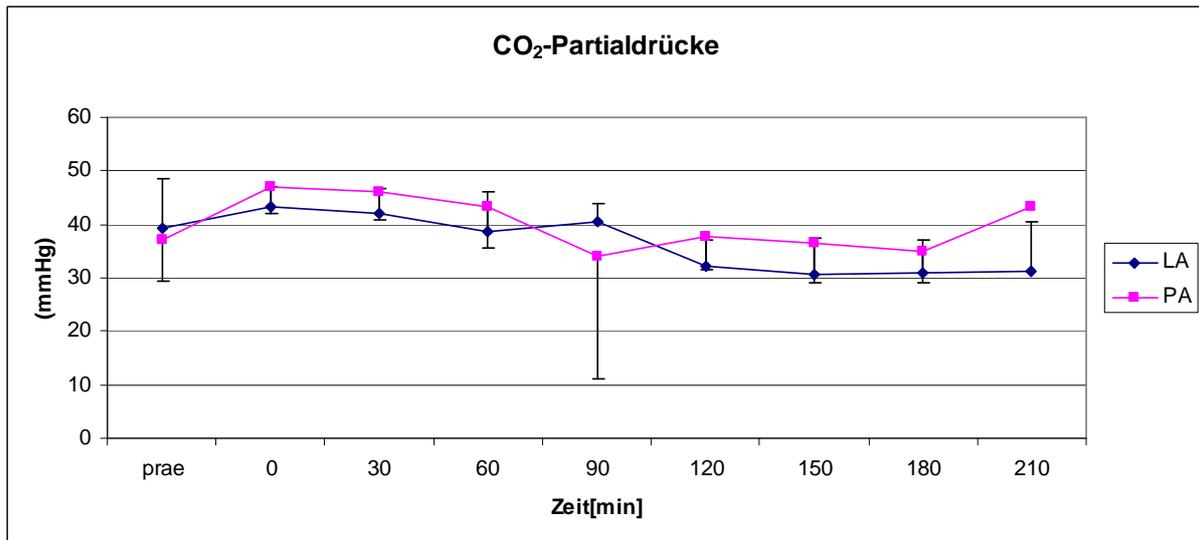


Abbildung 24: Graphische Darstellung der Kohlenstoffdioxidpartialdrücke der Gruppe 1

LA= Linksatrial, PA= Pulmonalarteriell, CO₂= Kohlenstoffdioxid

3.1.4.1 Die pulmonale Oxygenierungskapazität (POC)

Die pulmonale Oxygenierungskapazität reflektiert die funktionelle Integrität der Lunge, da ihre Aufgabe unter anderem die Oxygenierung des Blutes ist. Zur Berechnung der POC wurde nach oben beschriebenen Protokoll Blut zur Blutgasmessung jeweils vor der Lunge (PA = venöses Blut) und nach der Lunge (LA= arterielles Blut) abgenommen. Die Sauerstoffpartialdrücke wurden subtrahiert und durch Division mit dem Sauerstoffanteil der Inspirationsluft normiert.

Die Oxygenierungskapazität wurde wie folgt berechnet:

$$POC = (LApO_2 - PApO_2) [mmHg] / fiO_2$$

fiO_2 = O₂- Anteil in der Beatmungsluft

Die POC stellt sich für die Gruppe 1 wie folgt dar.

| Zeit [min] | POC [mmHg] | Zeit [min] | POC [mmHg] |
|------------|---------------|------------|------------|
| prae | 325,7 ± 70,1 | pHT 240 | 372,7 |
| HT | 286,3 ± 50,3 | pHT 270 | 394,0 |
| pHT 30 | 325,2 ± 40,5 | pHT 300 | 309,0 |
| pHT 60 | 337,1 ± 45,6 | pHT 360 | 287,3 |
| pHT 90 | 249,3 ± 168,7 | pHT 420 | 321,7 |
| pHT 120 | 407,5 ± 68,4 | pHT 480 | 361,0 |
| pHT 150 | 387,3 ± 93,3 | pHT 540 | 370,7 |
| pHT 180 | 416,0 ± 56,3 | pHT 600 | 370,7 |
| pHT 210 | 346,7 ± 108,4 | | |

Tabelle 19: Pulmonary Oxygenation capacity der Gruppe 1 mit 10h- Werten rechts

POC= Pulmonary oxygenation capacity; HT= Hirntod; pHT= post Hirntod

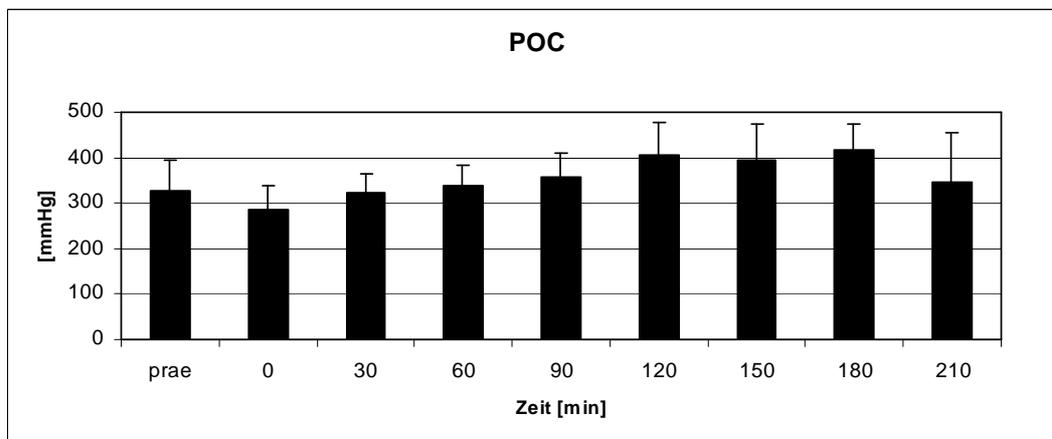


Abbildung 25: Pulmonary oxygenation capacity der Gruppe 1 als Mittelwerte ± Standardabweichung

POC= Pulmonary oxygenation capacity; HT= Hirntod; pHT= post Hirntod

Wie man in Abbildung 25 sieht, haben die Lungen bei der Baselinemessung eine POC von 325 ± 70,1 mmHg. Kurz nach Hirntod fällt diese nicht signifikant auf 286,3 ± 50,3 mmHg ab, steigt aber in den nächsten 30 Minuten wieder auf den Ausgangswert an. Nach einem Einbruch bei 90 Minuten auf 249,3 ± 168,7 mmHg steigt die POC auf 408,5 ± 68,4 mmHg. Über 10 Stunden Versuchsdauer sieht man lediglich nicht signifikante Schwankungen.

Verglichen mit dem Prae- Wert der Gruppe 3 (Kontrollgruppe) von $277,5 \pm 73,2$ mmHg ist die POC bei 90 Minuten nach Hirntod- Wert nur tendenziell schlechter, nicht aber signifikant.

3.1.4.2 Die Kohlenstoffdioxiddifferenz

Die Eliminierung von Kohlenstoffdioxid als Stoffwechselprodukt und Ausdruck intakter alveolär- kapillärer Membrandiffusion wurde mit der Berechnung der Kohlenstoffdioxiddifferenz überprüft. Dabei muss beachtet werden, dass wir über den in das System wie oben beschrieben eingebauten Deoxygenator den Sauerstoffverbrauch im Gewebe simulieren. Dem Deoxygenator wird ein festes Gasmisch zugeführt. Berechnet wird also der CO_2 - Gehalt vor der Lunge minus den nach der Lunge.

$$\text{CO}_2\text{Diff} = \text{PpCO}_2 - \text{LApCO}_2 / \text{FiO}_2$$

CO_2Diff = Kohlenstoffdioxiddifferenz; PpCO_2 = Pulmonalarterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck; LApCO_2 = Linksatrialer Kohlenstoffdioxidpartialdruck; fiO_2 = Sauerstoffanteil in Inspirationsluft

| Zeit [min] | CO2Diff [mmHg] | Zeit [min] | CO2Diff [mmHg] |
|----------------|----------------|----------------|----------------|
| prae | $14,6 \pm 5,3$ | <i>pHT 240</i> | 9,7 |
| HT | $11,8 \pm 3,9$ | <i>pHT 270</i> | 14,0 |
| <i>pHT 30</i> | $13,7 \pm 3,5$ | <i>pHT 300</i> | 9,7 |
| <i>pHT 60</i> | $15,2 \pm 4,4$ | <i>pHT 360</i> | 9,0 |
| <i>pHT 90</i> | $15,2 \pm 2,5$ | <i>pHT 420</i> | 14,0 |
| <i>pHT 120</i> | $19,0 \pm 6,9$ | <i>pHT 480</i> | 12,3 |
| <i>pHT 150</i> | $18,3 \pm 6,8$ | <i>pHT 540</i> | 12,3 |
| <i>pHT 180</i> | $14,2 \pm 0,9$ | <i>pHT 600</i> | 12,3 |
| <i>pHT 210</i> | $18,7 \pm 0$ | | |

Tabelle 20: Kohlenstoffdioxiddifferenz der Gruppe 1 mit 10h- Werten rechts

CO_2 - Diff= Kohlenstoffdioxiddifferenz; HT= Hirntod; 10h=kursive Werte

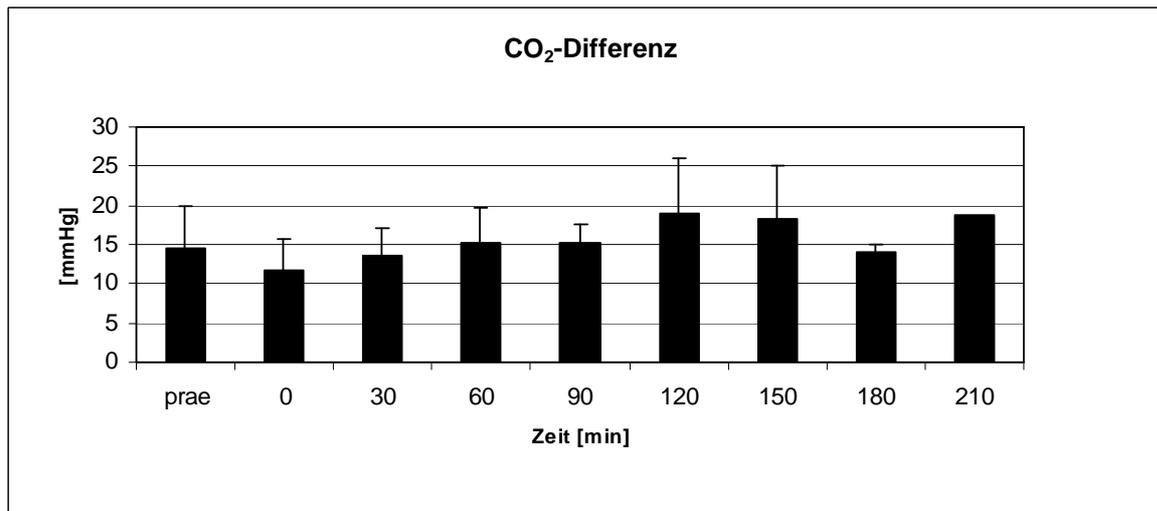


Abbildung 26: Kohlenstoffdioxid-Differenz der Gruppe 1 als Mittelwerte \pm Standardabweichung

CO₂- Diff= Kohlenstoffdioxid-Differenz; HT= Hirntod; 10h=kursive Werte

An Hand von Abbildung 26 sieht man, dass sich die Kohlenstoffdioxideliminierungskapazität während den 210 Minuten Versuchsdauer kaum verändert. Höchstwerte liegen nicht signifikant bei $19,0 \pm 6,9$ mmHg 120 Minuten nach Hirntodinduktion. Nach 10 Stunden fällt die Kapazität auf 12,3 mmHg ab.

3.1.4.3 Die klinische Beurteilung

Abgesehen von der objektiven Feststellung des Hirntodes mittels Flussmessung konnte bei allen Schweinen ähnliche klinische Zeichen des eingetretenen Hirntodes festgestellt werden.

Im Durchschnitt setzten bei allen Schweinen bei einer Füllmenge der Ballonkatheter von je 8 ml Streckkrämpfe in unterschiedlicher Ausprägung ein, die circa eine halbe Minute anhielten. Außerdem konnte zur gleichen Zeit eine maximale Weitstellung beider Pupillen beobachtet werden. Zusätzlich war der Kornealreflex nicht mehr auslösbar.

In den 10 Minuten der Ballonbefüllung konnte ebenfalls eindrücklich die Auswirkungen auf die Hämodynamik (siehe Abbildung 27) beobachtet werden. Bei 8 Minuten kam es regelhaft zu mehr als einer Verdoppelung der Herzfrequenz. Auch konnte ein ausgeprägter arterieller Hypertonus beobachtet werden, der dann in eine Hypotonie überging.

In der Peripherie kam es zu einer sichtbaren venösen Vasodilatation. Außerdem fiel ein pralles und geblähtes Abdomen auf.

| | Maximum | Prae |
|-------------------------|--------------|--------------|
| RRsys [mmHg] | 151,3 ± 3,9 | 110,8 ± 12,6 |
| RRdia [mmHg] | 102,3 ± 12,7 | 73,0 ± 17,9 |
| MAD [mmHg] | 121,7 ± 10,7 | 86,5 ± 16,2 |
| HF [min] | 184,3 ± 14,2 | 89,8 ± 10,2* |

Tabelle 21: Maximalwerte der Hämodynamik im Vergleich zur Baselinemessung nach Hirntodinduktion

*RRsys= Systolischer Blutdruck; RRdia= Diastolischer Blutdruck; MAD= Mittlerer arterieller Druck; HF= Herzfrequenz; * : $p < 0,05$*

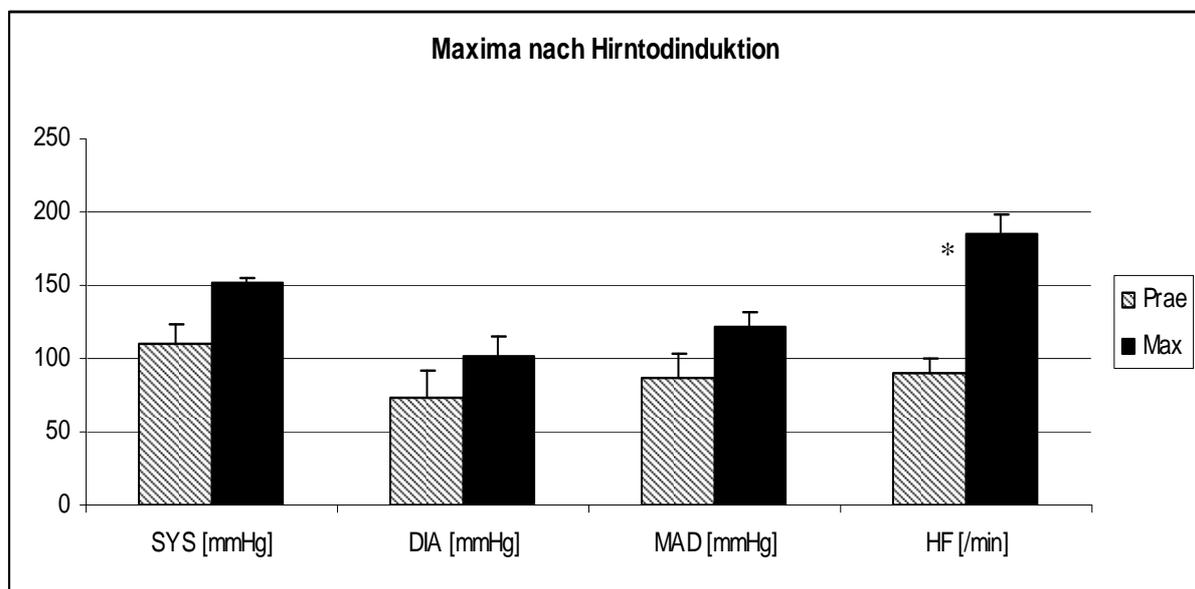


Abbildung 27: Maximalwerte der Hämodynamik im Vergleich zur Baselinemessung nach Hirntodinduktion

*RRsys= Systolischer Blutdruck; RRdia= Diastolischer Blutdruck; MAD= Mittlerer arterieller Druck; HF= Herzfrequenz; * : $p < 0,05$*

3.1.5 Makroskopie

Die Lungen erschienen in situ, soweit beurteilbar, insgesamt ödematös und fleckig. Ex- vivo zeigten sich ausgedehnte Atelektasen in den dorsalen und basalen Anteilen der Unterlappen. Die Lungen hatten insgesamt eine feste Struktur, bluteten kaum bei Biopsieentnahme und selten wurden hämorrhagische Einblutungen dokumentiert. Im Gegensatz dazu war das makroskopische Bild der 7 Kontrolllungen homogen. Alle Lungen wiesen im Tier soweit einsehbar keine Anzeichen für Entzündungen oder Verwachsungen auf.

3.1.6 Histologie

Im Lichtmikroskop zeigten sich bei 100x Vergrößerung (Abbildung 28) massive zelluläre Infiltrate in den Alveolarsepten und im interstitiellen Raum, sowohl 3 Stunden, als auch 10 Stunden nach Hirntodinduktion feststellen. Vereinzelt waren auch Zellen im Alveolarraum sichtbar. Mit den Infiltraten geht eine immense Verdickung der Alveolarwände einher.

Der Lung Injury Score geht unter 3.3.6.1 in den Vergleich der Gruppen mit ein.

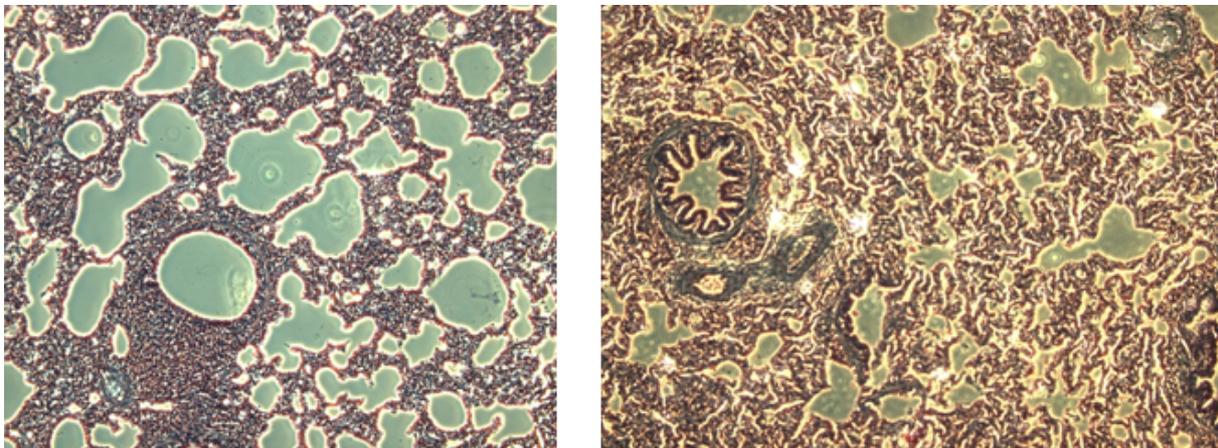


Abbildung 28: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Lungengewebe 3 Stunden nach Hirntodinduktion (links) und 10 Stunden (rechts).

3.2 Gruppe 2 – Hirntodinduktion

3.2.1 Hirntodnachweis

In Gruppe 2 erfolgte die Hirntodinduktion wie unter 2.10 ausführlich geschildert. Da sich die erhobenen Daten mit den Ergebnissen der Gruppe 1 (3.1.1) decken, wird an dieser Stelle auf eine erneute Darstellung verzichtet.

3.3 Gruppe 2 versus Gruppe 3 (Kontrolle)

Im Folgenden werden die Ergebnisse nach Reperfusion der Gruppe 2 (Hirntodrekonditionierung) mit denen der Kontrollgruppe (gesunde Lungenspender ohne Hirntodinduktion) verglichen. Dabei wurde der pHT- 90 Wert als Ausgangswert vor Reperfusion festgelegt, da der Thorax nach dieser Messung eröffnet wurde. Zur besseren Darstellung wird er im Folgenden ebenfalls als Prae-Wert bezeichnet. So sollen Abweichungen durch die vor allem auf die Lunge veränderten Drücke ausgeschlossen werden. Dabei stehen die folgenden Parameter im Vordergrund:

3.3.1 Häodynamik

In der Baselinemessung, das heißt der jeweilige Messzeitpunkt vor Reperfusion, haben wir folgende häodynamischen Parameter gemessen:

| Parameter | Kontrolle | Hirntod |
|-------------------------------|---------------|----------------|
| HZV [l/min] | 6,4 ± 1,7 | 6,1 ± 1,7 |
| SYS [mmHg] | 96,8 ± 5,6 | 97,8 ± 9,7 |
| DIA [mmHg] | 65,7 ± 14,2 | 57,7 ± 10,4 |
| MAD [mmHg] | 82,8 ± 11 | 73,8 ± 11,0 |
| SVR [dyn*s*cm-5] | 998,1 ± 318,7 | 898,0 ± 317,5* |
| PVR [dyn*s*cm-5] | 193,5 ± 97,1 | 288,7 ± 167,8* |
| HI [l/min/m ²] | 3,72 ± 0,56 | 3,86 ± 1,05 |

Tabelle 22: Häodynamische Baselinewerte der Kontrollgruppe im Vergleich zur Hirntodgruppe als Mittelwerte ± Standardabweichung

*HZV= Herzzeitvolumen; SYS= Systolischer Blutdruck; DIA= Diastolischer Blutdruck; MAD= Mittlerer arterieller Druck; SVR= Systemischer Vaskulärer Widerstand; PVR= pulmonaler vaskulärer Widerstand; HI= Herzindex; *: $p < 0,05$*

An Hand von der Tabelle 22 sieht man, dass die hämodynamischen Ausgangswerte der Kontroll- und Hirntodversuche lediglich im PVR und SVR signifikant unterscheiden.

3.3.1.1 Pulmonalarterieller Druck

In folgender Tabelle sind die pulmonalarteriellen Drücke über die Versuchsdauer im extrakorporalen Kreislauf dargestellt.

| Zeit [min] | PA [mmHg] | |
|------------|------------|-------------|
| | Kontrolle | Hirntod |
| prae | 24,9 ± 4,4 | 30,2 ± 8,8* |
| 30 | 16,6 ± 4,9 | 19,2 ± 7,3 |
| 60 | 16,9 ± 3,1 | 20,5 ± 6,8 |
| 120 | 19,6 ± 5,2 | 19,0 ± 3,3 |
| 180 | 20,6 ± 6,0 | 21,2 ± 2,6 |
| 240 | 22,4 ± 6,5 | 21,5 ± 3,7 |
| 300 | 22,4 ± 7,9 | 21,2 ± 4,9 |
| 360 | 24,7 ± 9,5 | 22,8 ± 4,8 |

Tabelle 23: Pulmonalarterieller Druck, Gruppe 3 (Kontrolle) und Gruppe 2 (Hirntod) im Vergleich;

*PA = pulmonalarterieller Druck; HI = Herzindex; pHT= post Hirntod; *: $p < 0,05$;*

Schon der Prae-Wert als Ausgangswert vor Reperfusion der Gruppe 2 ist im Gegensatz zu dem Prae-Wert der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Nach Reperfusionbeginn ergeben sich keine statistischen Signifikanzen.

3.3.1.2 PVR

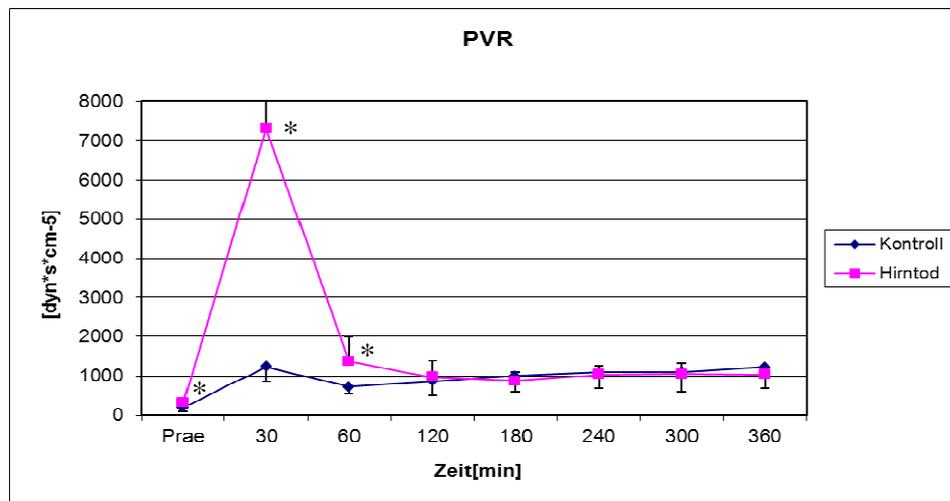


Abbildung 29: PVR der Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2; Mittelwert +/- Standardabweichung

PVR= Pulmonaler Gefäßwiderstand; *: $p < 0,05$

| Zeit [min] | PVR [dyn*s*cm-5] | |
|------------|------------------|------------------|
| | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 193,5 ± 97,1 | 322,4 ± 73,7* |
| 30 | 1231,2 ± 376,7 | 7315,0 ± 3475,3* |
| 60 | 718,2 ± 176,3 | 1356,6 ± 628,4* |
| 120 | 858,8 ± 352,5 | 966,5 ± 422,2 |
| 180 | 1005,1 ± 404,6 | 868,9 ± 222,3 |
| 240 | 1086,8 ± 407,3 | 1028,5 ± 224,9 |
| 300 | 1096,3 ± 501,4 | 1046,3 ± 276,8 |
| 360 | 1223,6 ± 544,3 | 1037,4 ± 390,6 |

Tabelle 24: PVR der Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2; Mittelwert +/- Standardabweichung

PVR= Pulmonaler Gefäßwiderstand

*: $p < 0,05$

Beim Lungengefäßwiderstand lässt sich wie in Tabelle 24 dargestellt ein signifikanter Unterschied in den Prae-Werten, sowie nach 30- und 60- minütiger Reperfusion feststellen. Bis 120 min gleichen sich die Werte der beiden Gruppen wieder an, sind aber auch bei der Kontrollgruppe pathologisch erhöht.

3.3.2 Atmung

3.3.2.1 Atemhubvolumen (AHV)

| Zeit [min] | AHV [ml] | |
|------------|---------------|----------------|
| | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 708,6 ± 48,8 | 533,3 ± 65,3 * |
| 30 | 531,4 ± 106,5 | 334,0 ± 68,8 * |
| 60 | 701,4 ± 88,4 | 596,7 ± 124,4 |
| 120 | 730 ± 71,2 | 653,3 ± 81,7 |
| 180 | 720 ± 71,4 | 640,0 ± 71,6 |
| 240 | 720 ± 79,6 | 730,0 ± 64,2 |
| 300 | 720 ± 82,9 | 741,7 ± 75,7 |
| 360 | 701,4 ± 104,0 | 736,7 ± 90,0 |

Tabelle 25: Atemhubvolumina der Gruppe 3 (Kontrolle) und der Gruppe 2 (Hirntod) im Vergleich als Mittelwerte ± Standardabweichung;

*min= Minuten; pHT= post Hirntod; AHV= Atemhubvolumen; ml= Milliliter; *: p < 0,05*

Wie man in Tabelle 25 sieht, ergeben sich signifikante Unterschiede schon im Praewert vor einer etwaigen Schädigung. Auch der 30 Minuten nach Reperfusionbeginn gemessen Wert zeigt sich gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt.

3.3.2.2 Die Compliance

Die Compliance im Vergleich stellt sich wie folgt dar (Tabelle 26). Signifikante Unterschiede sind hervorgehoben.

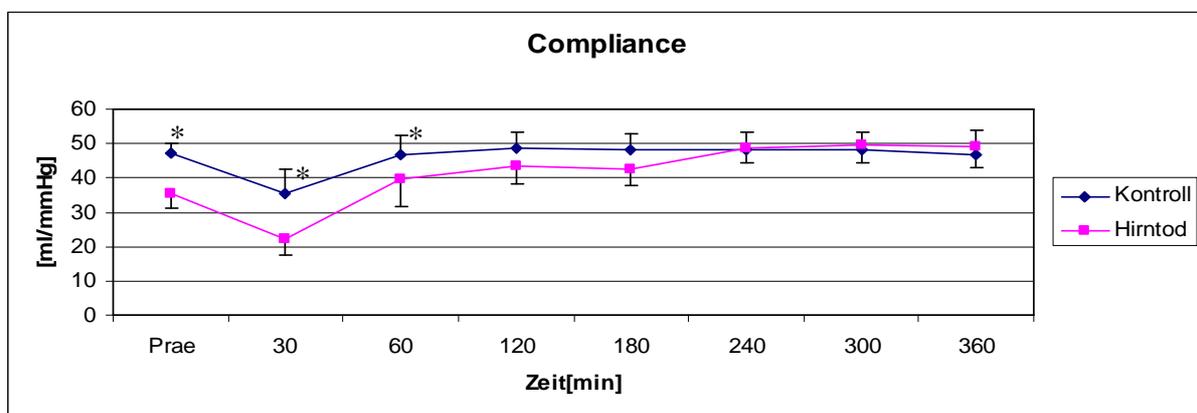


Abbildung 30: Compliance Gruppe 3 versus Gruppe 2; Mittelwert +/- Standardabweichung

| Zeit [min] | Compliance [ml/ mmHg] | |
|------------|-----------------------|--------------|
| | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 47,2 ± 2,9 | 35,6 ± 4,4 * |
| 30 | 35,4 ± 7,1 | 22,3 ± 4,6 * |
| 60 | 46,8 ± 5,9 | 39,8 ± 8,3 * |
| 120 | 48,7 ± 4,8 | 43,6 ± 5,4 |
| 180 | 48,0 ± 4,8 | 42,7 ± 4,8 |
| 240 | 48,0 ± 5,3 | 48,7 ± 4,3 |
| 300 | 48,0 ± 5,5 | 49,4 ± 5,1 |
| 360 | 46,8 ± 6,9 | 49,1 ± 6,0 |

Tabelle 26: Compliance Gruppe 3 versus Gruppe 2; Mittelwert +/- Standardabweichung

*: $p < 0,05$

Schon zu Beginn ist die Compliance der durch Hirntod geschädigten Lungen mit $35,6 \pm 4,4$ [ml/mmHg] signifikant schlechter als die der Kontrolllungen mit $47,2 \pm 2,9$ [ml/mmHg]. Auch 30 Minuten nach Reperfusionbeginn haben wir eine deutlich reduzierte Lungencompliance. Bis 180 Minuten nach Reperfusionbeginn ist der Unterschied zwar noch deutlich, jedoch statistisch nicht signifikant. Ab 240 min gleicht sich die Compliance der Hirntodlungen aber vollständig an die der Kontrolllungen an.

3.3.3 Der Gasaustausch

3.3.3.1 Sauerstoffpartialdruck

| Zeit [min] | LApO ₂ [mmHg] | | PApO ₂ [mmHg] | |
|------------|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|
| | Kontrolle | Hirntod | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 145,7± 13,5 | 140,8 ± 15,6 | 62,5± 13,9 | 59,9 ± 7,9 |
| 0 | 163,6± 23,8 | 173,8 ± 24,1 | 157,4 ± 39,4 | 196,0 ± 19,7 |
| 30 | 184,3± 16,6 | 149,2 ± 40,7 | 79,5 ± 9,7 | 76,8 ± 6,4 |
| 60 | 193,3± 7,4 | 176,2 ± 38,8 | 79,6 ± 10,0 | 71,0 ± 5,6 |
| 120 | 192,4± 6,5 | 189,8 ± 12,0 | 77,3 ± 5,2 | 71,0 ± 3,0 |
| 180 | 189,3± 10,1 | 178,7 ± 14,0 | 75,9 ± 4,9 | 72,5 ± 3,8 |
| 240 | 191,4± 10,6 | 184,3 ± 12,8 | 77,4 ± 5,0 | 70,7 ± 2,6 |
| 300 | 193,3± 5,2 | 190,8 ± 14,6 | 78,0 ± 5,7 | 71,8 ± 3,3 |
| 360 | 191,1± 12,6 | 185,0 ± 12,7 | 79,8 ± 5,0 | 72,9 ± 5,2 |

Tabelle 27: Sauerstoffpartialdrücke bei 30% Sauerstoffanteil in der Inspirationsluft der Gruppe 3 (Kontrolle) im Vergleich zur Gruppe 2 (Hirntod) als Mittelwerte +/- Standardabweichung

LApO₂ = Linksatrialer Sauerstoffpartialdruck; PApO₂ = Pulmonalarterieller Sauerstoffpartialdruck

Bezüglich des Sauerstoffpartialdruckes (Tabelle 27) lassen sich in den zwei Gruppen sowohl arteriell, als auch venös keine signifikanten Unterschiede erkennen.

3.3.3.2 Die Pulmonale Oxygenierungskapazität (POC)

Für die Gruppe 2 im Vergleich zu den Kontrollversuchen zeigen sich folgende Werte (Tabelle 28):

| Zeit [min] | POC [mmHg] | |
|------------|--------------|---------------|
| | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 277,5 ± 73,2 | 269,7 ± 57,3 |
| 30 | 349,3 ± 55,5 | 279,0 ± 122,7 |
| 60 | 379,0 ± 44,0 | 350,7 ± 119,1 |
| 120 | 383,7 ± 30,2 | 396,1 ± 35,5 |
| 180 | 378,1 ± 35,7 | 354,0 ± 44,6 |
| 240 | 380,1 ± 40,6 | 378,9 ± 47,7 |
| 300 | 384,2 ± 25,4 | 396,9 ± 44,8 |
| 360 | 371,1 ± 52,0 | 373,7 ± 45,3 |

Tabelle 28: POC Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2 (Hirntod); Mittelwert +/- Standardabweichung

POC= Pulmonary Oxygenation Capacity

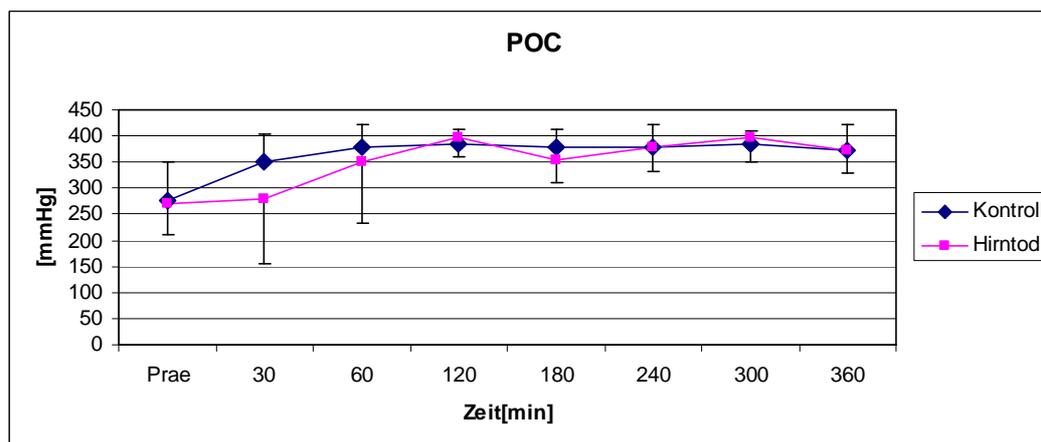


Abbildung 31: Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2 (Hirntod); Mittelwert +/- Standardabweichung

POC= Pulmonary Oxygenation Capacity

Wie man in Abbildung 31 sieht, ergeben sich bezüglich der Oxygenierungskapazität zwischen der Kontrollgruppe und der Hirntodgruppe keine signifikanten Unterschiede in der Reperfusionphase. Beim 30 Minuten Wert zeigt sich ein deutlicher

Unterschied, der jedoch auf Grund der hohen Standardabweichung in der Gruppe 2 statistisch nicht signifikant ist. Als Trend zeigt sich zu Beginn der Reperfusion ein mäßig reduzierter POC der sich nach 60 min der Kontrollgruppe angleicht.

3.3.3.3 Der Kohlenstoffdioxidpartialdruck

| Zeit [min] | LApCO ₂ [mmHg] | | PAPCO ₂ [mmHg] | |
|------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | Kontrolle | Hirntod | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 41,3 ± 7,2 | 48,5 ± 7,3 | 46,8 ± 5,9 | 52,7 ± 8,2 |
| 0 | 33,0 ± 10,3 | 26,2 ± 11,3 | 41,4 ± 15,9 | 24,3 ± 11,6 |
| 30 | 19,8 ± 7,3 | 35,5 ± 15,3 | 37,5 ± 16,9 | 52,4 ± 6,7 |
| 60 | 14,3 ± 4,9 | 22,3 ± 4,0 | 25,0 ± 10,0 | 36,0 ± 2,8 |
| 120 | 14,8 ± 1,1 | 19,1 ± 1,4 | 27,5 ± 2,2 | 33,2 ± 2,0 |
| 180 | 15,8 ± 1,1 | 20,2 ± 1,9 | 28,8 ± 2,3 | 32,3 ± 2,7 |
| 240 | 16,4 ± 2,6 | 19,3 ± 2,9 | 27,3 ± 3,5 | 32,1 ± 1,7 |
| 300 | 17,4 ± 3,7 | 18,3 ± 3,0 | 29,7 ± 4,2 | 31,9 ± 3,1 |
| 360 | 16,8 ± 3,5 | 17,9 ± 1,8 | 28,7 ± 3,5 | 32,2 ± 5,2 |

Tabelle 29: Kohlenstoffdioxidpartialdrücke bei 30% Sauerstoffanteil in der Inspirationsluft, Kontrollgruppe im Vergleich zur Hirntodgruppe, Mittelwerte +/- Standardabweichung;

LApO₂ = Linksatrialer Kohlenstoffdioxidpartialdruck; *PAPO₂* = Pulmonalarterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck

Auch beim Kohlenstoffdioxidpartialdruck gibt es keine relevanten Unterschiede (Tabelle 29).

3.3.3.4 Die CO₂- Differenz

Die CO₂- Differenz im Vergleich zwischen Gruppe 2 (Hirntod) und Gruppe 3 (Kontrolle) stellt sich in den nächsten beiden Tafeln dar.

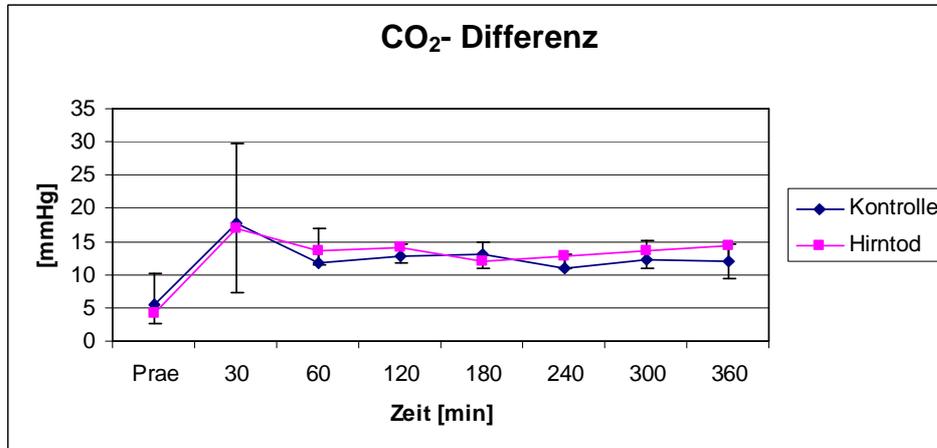


Abbildung 32: CO₂- Differenz Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2 (Hirntod); Mittelwert +/- Standardabweichung

CO₂- Differenz = Kohlenstoffdioxidifferenz

| Zeit [min] | CO ₂ - Diff. [mmHg] | |
|------------|--------------------------------|------------|
| | Kontrolle | Hirntod |
| Prae | 5,6 ± 4,5 | 4,1 ± 1,5 |
| 30 | 17,8 ± 12,0 | 17,0 ± 9,7 |
| 60 | 11,7 ± 5,2 | 13,7 ± 2,2 |
| 120 | 12,7 ± 1,9 | 14,0 ± 2,2 |
| 180 | 13,0 ± 1,9 | 12,1 ± 1,1 |
| 240 | 11,0 ± 2,0 | 12,8 ± 1,9 |
| 300 | 12,3 ± 2,9 | 13,6 ± 2,5 |
| 360 | 11,9 ± 2,7 | 14,4 ± 4,9 |

Tabelle 30: CO₂- Differenz Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2 (Hirntod); Mittelwert +/- Standardabweichung

CO₂- Differenz = Kohlenstoffdioxidifferenz

Bezüglich der CO₂- Differenz ergeben sich in den beiden Gruppen keinerlei signifikante Unterschiede.

3.3.4 Klinische Bewertung

3.3.4.1 Das Makroskopische Bild

Nach Explantation und extrakorporaler Präparation und dadurch bedingter Ischämiezeit von 90 Minuten zeigten alle Lungen, auch die der Kontrollgruppe, Atelektasenbildungen in den dorsobasalen Anteilen der beiden Unterlappen. Eine meist vollständige Belüftung der atelektatischen Abschnitte konnte in den ersten drei Stunden der Reperfusion erreicht werden. Ab den 3 Stundenwerten entsprechen die erhobenen Werte denen der Kontrollgruppe. Die Kontrolllungen sahen nach Entfaltung der Atelektasen durchweg homogen aus (siehe Abbildung 33 rechts und Abbildung 34 links). Auch die Lungen der Hirntodgruppe waren nach 6 Stunden Reperfusion ödemfrei und homogen (siehe Abbildung 34 rechts), so dass im Vergleich mit dem makroskopischen Zustand nach Hirntodinduktion (Abbildung 33 links) eine signifikante Verbesserung des Lungenzustandes zu verzeichnen ist.



Abbildung 33: Lunge der Gruppe 2 180 Minuten nach Hirntodinduktion (links) im Vergleich zu einer Lunge der Kontrollgruppe ohne vorhergehende Hirntodinduktion (rechts)

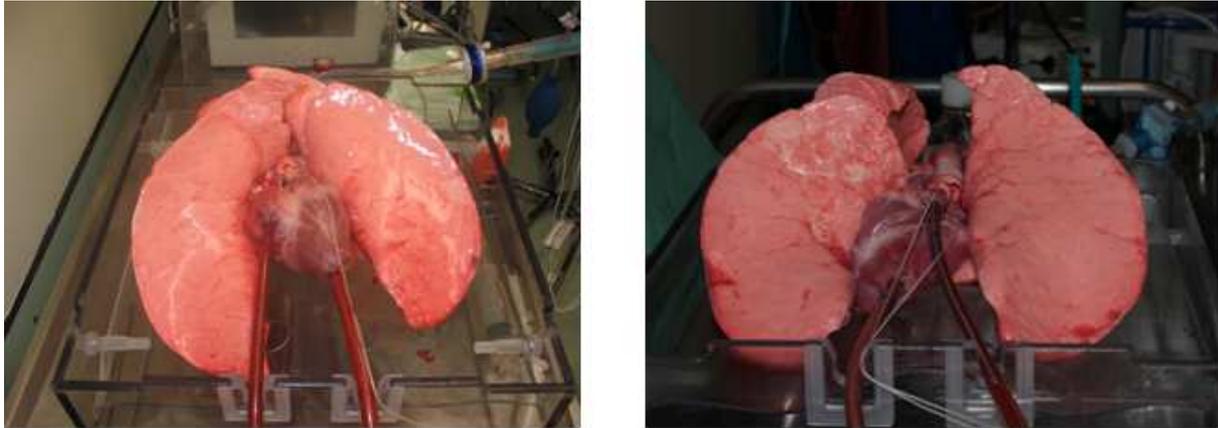


Abbildung 34: Lunge der Kontrollgruppe nach 6- stündiger Reperfusion (links) im Vergleich zu einer Lunge nach vorhergehender Hirntodinduktion (rechts).

3.3.4.2 PDI

Die Definition des PDI ist unter 2.9 dargestellt und dient zur Objektivierung makroskopischer Eindrücke. Für die Hirntodgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe stellt er sich wie folgt dar.

| PDI | Kontrolle | Hirntod |
|-----|-----------|--------------|
| 60 | 1 ± 0 | 3,2 ± 0,4 ** |
| 120 | 1 ± 0 | 2,8 ± 0,4 ** |
| 180 | 1 ± 0 | 2,1 ± 0,7 * |
| 240 | 1,1 ± 0,4 | 1,8 ± 0,6 |
| 300 | 1,1 ± 0,4 | 1,6 ± 0,7 |
| 360 | 1,4 ± 0,5 | 1,6 ± 0,7 |

Tabelle 31: PDI Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2 (Hirntod); Mittelwert +/- Standardabweichung

*PDI= Pulmonary deflation index; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,001$*

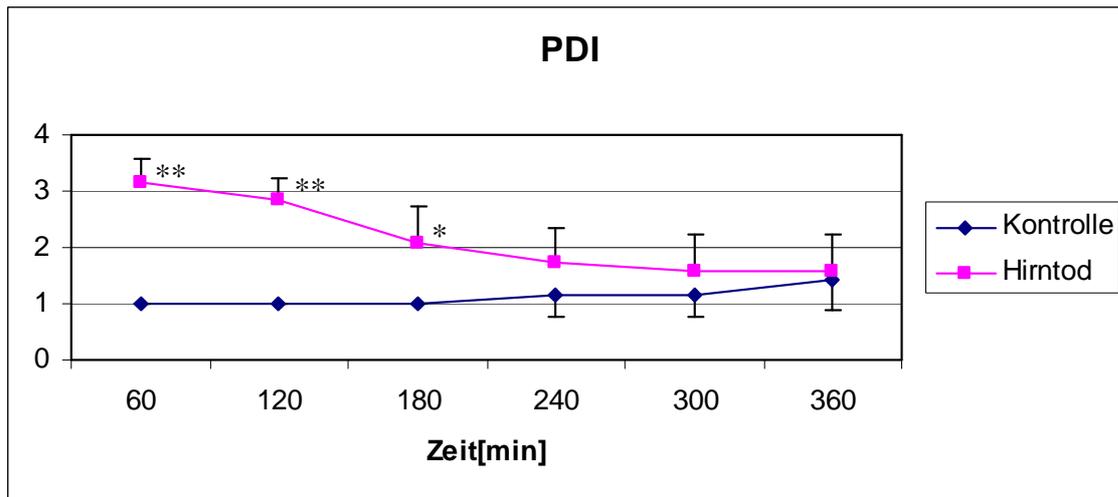


Abbildung 35: PDI Gruppe 3 (Kontrolle) versus Gruppe 2 (Hirntod); Mittelwert +/- Standardabweichung

PDI= Pulmonary deflation index; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,001$

Wie man in Abbildung 35 sehen kann, sind die Lungen der Hirntodgruppe 60 min nach Reperfusion mit einem PDI von 3 hoch signifikant schlechter eingestuft als die der Kontrollgruppe. Ab 180 min nach Reperfusion erreichen die Hirntodlungen PDI 2. Ab 240 min gibt es keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen Kontrollgruppe und Hirntodgruppe.

3.3.5 Leukozyten

Die Leukozytenzahlen wurden im Reperfusat vor (PA) und nach (LA) der Lunge gemessen, um die Aufnahme oder Freisetzung der Leukozyten durch die Lunge zu quantifizieren.

| Zeit [min] | Leukozyten [Mrd/l] | | | |
|-------------|--------------------|-----------|------------|-----------|
| | Kontrolle | | Hirntod | |
| Prae (art.) | 10,1 ± 4,3 | | 12,5 ± 1,5 | |
| | LA | PA | LA | PA |
| 0 | 1,9 ± 1,3 | 2,5 ± 1,2 | 1,7 ± 1,0 | 3,4 ± 2,3 |
| 60 | 1,5 ± 1,1 | 1,5 ± 1,4 | 2,5 ± 2,5 | 1,3 ± 0,5 |
| 180 | 0,3 ± 0,6 | 0,6 ± 0,2 | 0,7 ± 0,5 | 0,8 ± 0,5 |
| 360 | 1,9 ± 2,5 | 0,9 ± 0,6 | 0,8 ± 0,5 | 0,8 ± 0,4 |

Tabelle 32: Leukozyten im Reperfusat im Vergleich von Kontrollgruppe zu Hirntodgruppe und LA zu PA;

art. = arterielle Blutprobe; LA = Linksatriales Reperfusat; PA = Pulmonalarterielles Reperfusat;

| Zeit [min] | Leukozytendifferenz [Mrd/l] | |
|------------|-----------------------------|---------|
| | PA-LA | |
| | Kontrolle | Hirntod |
| 0 | 0,6 | 1,65 |
| 60 | 0,05 | -1,15 |
| 180 | 0,3 | 0,05 |
| 360 | -1,0 | 0,02 |

Tabelle 33: Leukozytendifferenz

Positive Werte = Absorption; negative Werte = Freisetzung

An Hand Tabelle 33 kann man sehen, dass es in der Hirntodgruppe 60 Minuten nach Hirntodinduktion zu einer Leukozytenfreisetzung der Lunge kommt. In der Kontrollgruppe zeigt sich hingegen eine Freisetzung nach 360 Minuten.

3.3.6 Histologie

3.3.6.1 LIS

Die Definition des Lung injury scores ist unter 2.8.1 beschrieben. Im Folgenden ist der Vergleich der Ergebnisse der 3 Gruppen dargestellt.

| Parameter | Kontrolle | Hirntod | Hirntod+Rekondition |
|-----------------------------|-----------|-----------|---------------------|
| Atelektase | 1,1 ± 0,1 | 2,2 ± 1,2 | 1,2 ± 0,5 |
| Ödem | 1,8 ± 0,1 | 3,1 ± 8,0 | 1,9 ± 0,6 |
| Inflation | 1,7 ± 0,1 | 2,1 ± 0,8 | 2,0 ± 0,8 |
| Alveoläre Infiltration | 1,2 ± 0,2 | 2,2 ± 0,9 | 1,3 ± 0,5 |
| Interstitielle Infiltration | 1,7 ± 0,1 | 3,6 ± 1,0 | 2,0 ± 0,6 |
| Wanddicke | 1,5 ± 0,1 | 3,1 ± 0,9 | 1,7 ± 0,6 |

Tabelle 34: : Lung Injury Score als Mittelwerte ± Standardabweichung Gruppe 3 (Kontrolle) vs. Gruppe 2 (Hirntod)

LIS= Lung Injury Score

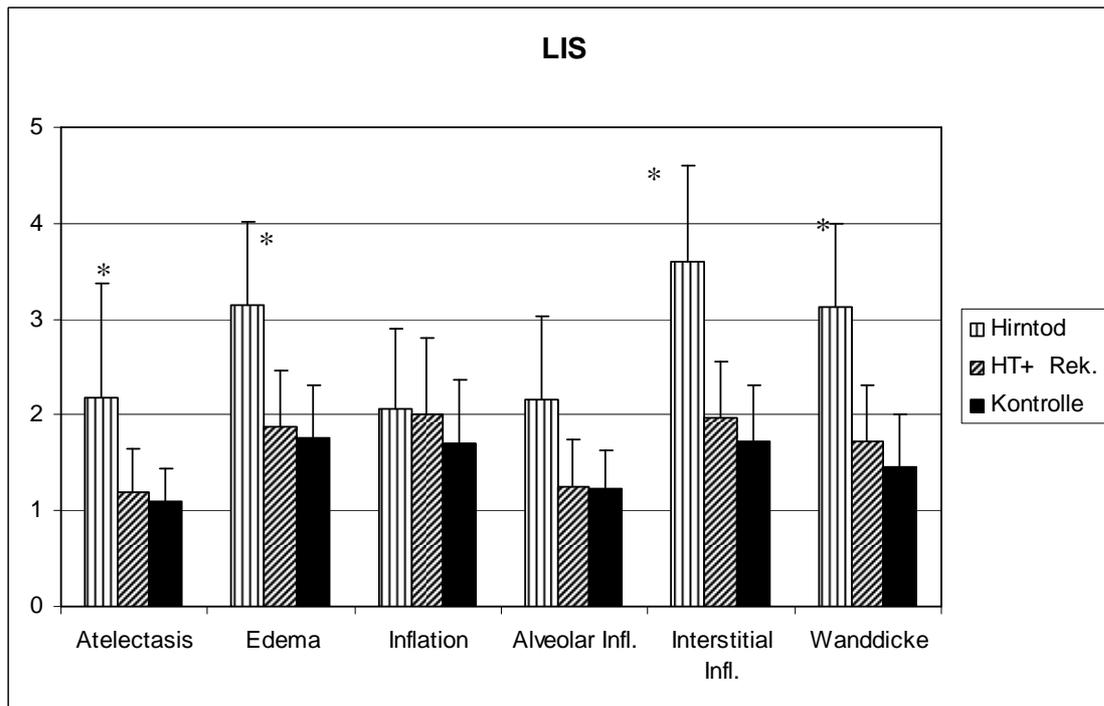


Abbildung 36: Lung Injury Score als Mittelwerte ± Standardabweichung Gruppe 3 (Kontrolle) vs. Gruppe 2 (Hirntod)

LIS= Lung Injury Score

*: $p < 0,05$

Wie man in Abbildung 36 sieht, ist die histologische Qualität der Lungen bezüglich Interstitieller Infiltration, Wanddicke, Ödembildung und Alveolärer Infiltration nach Hirntod (Gruppe 1) signifikant schlechter, als die nach Reperfusion (Gruppe 2 und 3). Hier zeigten sich eine Verdickung der Alveolarsepten, sowie eine Infiltration mit vor allem neutrophile Granulozyten und auch Makrophagen im Bereich des Interstitiums und in den Alveolen (Abbildung 37). Eine Ödembildung konnte an Hand der interstitiellen Auflockerung beobachtet werden. Bezüglich der Inflation lässt sich kein signifikanter Unterschied feststellen. In allen Gruppen zeigten sich überblähte Alveolen mit Schädigung der Alveolarsepten. Nach Rekonditionierung finden sich keine signifikanten Unterschiede mehr zu der Gruppe 3 (Abbildung 38).

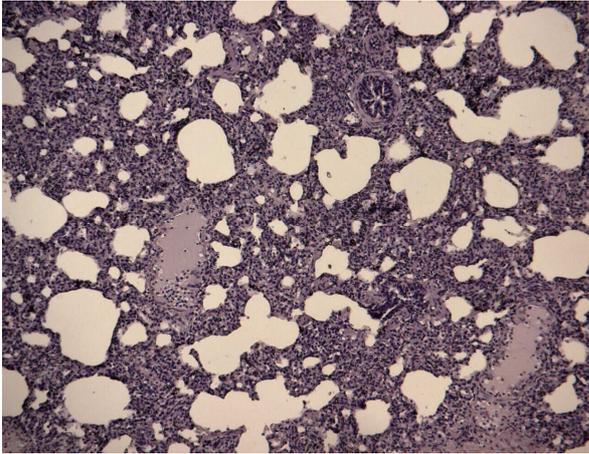


Abbildung 37: Histologisches Lungenpräparat 3 Stunden nach Hirntodinduktion

HE-Färbung, 100x

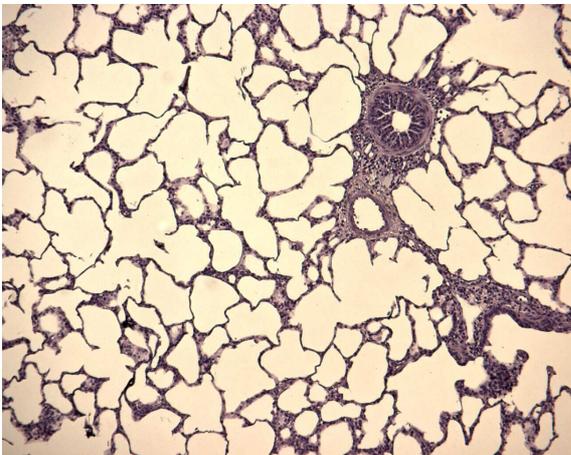


Abbildung 38: Histologisches Lungenpräparat nach Rekonditionierung bei Vorschädigung durch Hirntod

HE-Färbung, 100x

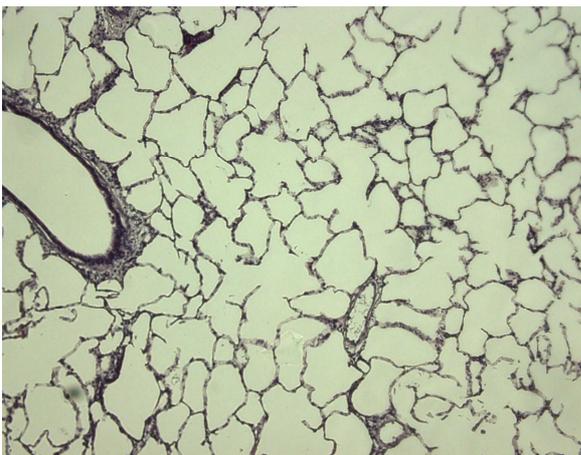


Abbildung 39: Lungenpräparat der Kontrollgruppe nach 6- stündiger Reperfusion ohne vorherige Schädigung

HE-Färbung, 100x

3.3.7 Wet/Dry – Ratio

Für die Kontrollgruppe im Vergleich zur Hirntodgruppe ergibt sich folgendes Bild:

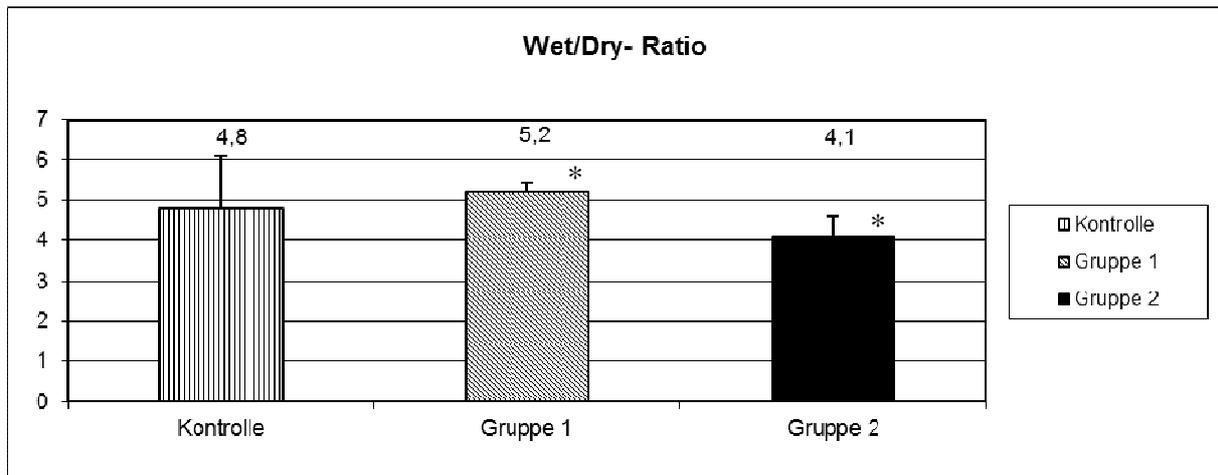


Abbildung 40: Wet/dry Kontrollgruppe; Mittelwert +/- Standardabweichung

Kontrolle= alle Proben der Kontrollversuche; Gruppe 1 = Proben der Gruppe 1, 3 h nach Hirntodinduktion; Gruppe 2= Proben der Gruppe 2 nach Hirntodinduktion und Reperfusion
*: $p < 0,05$

Es zeigt sich im Vergleich zum Kontrollwert eine signifikant erhöhte Wet/Dry Ratio in der Gruppe 1 nach Hirntodinduktion. Ebenfalls zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2, d.h. nach Hirntodinduktion zeigt sich eine erhöhte Wet/Dry Ratio, welche sich nach Reperfusion verringert (Abbildung 40).

4 Diskussion:

Ziel dieser Studie ist es, in einem extracorporalen Kreislauf reperfundierte Spenderlungen nach vorhergehender Schädigung zu rekonditionieren und so dem Organspendepool wieder zugänglich zu machen.

4.1 *Hirntodinduktion und -folgen*

Mit dem Versterben des Spenders wirkt eine Vielzahl potentiell schädigender Einflüsse auf das Transplantat ein, wie z.B. Traumata, Hypotension, Hirntod, kalte Ischämie und ggf. folgende Transplantation, mechanische Ventilation, Pneumonie und Aspiration (25).

Wir haben uns für den Hirntod als Schädigungsmodell entschieden, da zum einen der Organspender in Deutschland nach derzeitiger Gesetzeslage hirntot sein muss, und zum anderen kaum Studien zu den direkten Auswirkungen und den Einfluss des Hirntodes auf die Lungen vorliegen. So heißt es im Transplantationsgesetz (Abschnitt 2, §3, (2),2.), dass „die Entnahme von Organen oder Geweben unzulässig ist, wenn nicht vor der Entnahme bei dem Organ- oder Gewebespender der endgültige, nicht behebbare Ausfall der Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstamms nach Verfahrensregeln, die dem Stand der Erkenntnisse der medizinischen Wissenschaft entsprechen, festgestellt ist.“

Zum Nachweis eines irreversiblen Hirnfunktionsausfalls kann neben der Verlaufsbeobachtung von klinischen Symptomen ein Nulllinien-EEG, der Ausfall evozierter Potentiale oder ein zerebraler Zirkulationsstillstand mittels Dopplersonografie oder Perfusionsszintigraphie beweisend sein (BÄK). Da es beim Schwein aus technischen Gründen schwer ist ein korrektes und störungsfreies EEG zu schreiben, haben wir uns für die Messung des zerebralen Blutflusses entschieden. Dabei haben wir unter der Annahme gearbeitet, dass das Gehirn dann als „tot“ zu werten ist, wenn es nicht mehr durchblutet wird. Mehrabi et al konnten bei intracraniellen Drücken von > 100 mmHg eine zerebrale Perfusion von < 10 ml/100mg/min verzeichnen (24). In unserer Arbeit konnte ein signifikanter Abfall des Karotisflusses auf fast 0 ml/ min nach Hirntodinduktion beobachtet werden. Ein Aufrechterhalten der zerebralen Perfusion über die Arteriae vertebralis und den

Circulus wilisii kann bei stark erhöhtem intracraniellen Druck nahezu ausgeschlossen werden. An Hand der klinischen Reaktion, den fehlenden Hirnstammreflexen, einem Abfall des SVR, sowie den hämodynamischen Veränderungen kann daher sicher auf einen stattgehabten Hirntod geschlossen werden.

Die experimentelle Hirntodinduktion kann auf verschiedene Weise erfolgen. In der Literatur wird hierbei die Induktion durch ZNS- Verletzung von der Induktion durch Applikation von exogenen Substanzen in das Liquorsystem unterschieden. Lane et al und Maron et al beschreiben eine Methode mittels Verathrininjektion, ein Alkaloid, dass als Pflanzenschutzmittel verwendet wird, in die Cysterna magna bei Katzen (26;27), Minnear et al haben wiederum Fibrin in das Liquorsystem injiziert (28). In diesen Versuchsreihen konnte eine sichere Hirntodinduktion bewirkt werden. Sedy et al weisen ihrerseits daraufhin, dass, um eine reproduzierbare und valide Aussage über mögliche neurogene Schäden nach Hirntodinduktion machen zu können, Modelle der direkten ZNS- Verletzung ohne Zusatz von exogenen Substanzen in experimentellen Studien verwendet werden sollten (29;30).

Die Methode der Balloninflation zur Hirndrucksteigerung mit konsekutiver unterer Einklemmung wurde schon in einigen aktuellen tierexperimentellen Studien erprobt (4;24;31-38) und ist von uns wegen der reproduzierbaren Durchführbarkeit ohne direkte Effekte auf die Lungenqualität bevorzugt worden.

In dem von uns gewählten Hirntodmodell haben wir uns für die schnelle Hirntodinduktion, das heißt Balloninflation mit einer Geschwindigkeit von 1ml/min, im Gegensatz zu der langsamen (1ml/3min) entschieden, da dies am ehesten mit dem Szenario einer akuten Einklemmung nach Schädel-Hirn-Trauma oder zerebraler Blutung korreliert.

Bei den Schweinen unserer Gruppen 1 und 2 kam es unmittelbar nach Hirntodeintritt zu einer Verdoppelung der Herzfrequenz und zu einer Erhöhung des diastolischen und systolischen Blutdrucks um durchschnittlich 30 mmHg, gefolgt von einer hypotonen Phase mit Abfall des SVR, der bis zum Zeitpunkt der Explantation anhielt. In den histologischen Proben haben wir eine massive Infiltration der Alveolarsepten- und räume mit Leukozyten, v.a. neutrophilen Granulozyten und vereinzelte Makrophagen feststellen können. Den Wassergehalt der Lunge haben wir mittels Wet/dry Ratio festgestellt. Diese war in den Gewebeproben der Gruppe 1 (Hirntodinduktion) signifikant höher, als die der Gruppe 3 (Kontrolle). Bei einem durchschnittlichen Grad 3 PDI nach Hirntod zeigten sich eine partielle intraalveoläre

Ödembildung mit verminderter Kollapsneigung. Anhand der histologischen Auswertung ließ sich bei den Lungen unserer Gruppe 1 in Ergänzung zum Ergebnis der Wet/Dry Ratio eine eindeutig vermehrte Ödembildung und interstitielle Infiltration mit Zunahme der alveolaren Wanddicke feststellen.

Hirntod hat eine metabolische Entgleisung zur Folge, verursacht durch die hämodynamischen Veränderungen, den Katecholaminansturm und einem Abfall der Hypophysenhormone im Plasma (39-41). Durch den Verbrauch des Energieträgers Adenosintriphosphat (ATP) kommt es zur Bildung freier Radikale, die durch eine spätere Ischämie- Reperfusion noch vervielfacht werden (42). Gleichzeitig induziert der Hirntod eine ausgeprägte inflammatorische Immunantwort.

Mehrabi et al haben 2004 in einer Studie am Schweinemodell die Auswirkungen des normotensiven Hirntodes gegenüber dem hypotensiven Hirntod auf die Nierenperfusion untersucht, vor dem Hintergrund, dass Organe von Lebendspendern ein signifikant besseres Outcome aufweisen, als die von Leichenspendern. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die sogenannte langsame Hirntodinduktion mit Balloninflation von 1ml/3min keine kardiovaskulären Auswirkungen im Gegensatz zu einem signifikanten Abfall des mittleren arteriellen Drucks und eine kompensatorische Erhöhung der Herzfrequenz nach schneller Hirntodinduktion (1ml/min) zeigten (24).

Zweers et al beschreiben in einer Studie am Rattenmodell über die Auswirkungen von Hirntod auf die Abstoßung von Transplantatlungen ebenfalls eine Erhöhung des MAD während Balloninflation, welcher im weiteren Verlauf sukzessive abfällt (32).

Diese hämodynamischen Beobachtungen nach schneller Hirntodinduktion werden durch weitere tierexperimentelle Studien zu den Auswirkungen des Hirntods unterstützt (4;31-33;37;38;43), und können durch unserer Ergebnisse bestätigt werden.

Avlonitis et al. beschreiben dieses Phänomen als Folge des einsetzenden „Autonomen Sturms“ unmittelbar nach Hirntodeintritt (39).

In einer Studie an Katzen wurde durch Rosner et al die Katecholaminantwort auf den Hirntod untersucht. Hier konnte ein Anstieg der Plasmaspiegel von Adrenalin und Noradrenalin mit einem Maximum 10 Sekunden nach Hirntod beobachtet werden (44). In einer weiteren Studie am Hundemodell konnten van Loon et al ebenfalls erhöhte Katecholaminspiegel im Serum kurz nach Hirntodeintritt gemessen an dem intracerebralen Perfusionsdruck nachweisen. Die erhöhten

Katecholaminkonzentrationen korrelierten hier mit den hämodynamischen Beobachtungen (45).

Die von uns beobachtete anhaltende hypotone Phase im Anschluss an die durch den autonomen Sturm verursachte hypertensive Krise ist Ausdruck der systemischen Vasodilatation bei zurückgehen der Katecholaminkonzentration (44). Ähnliche Beobachtungen über die Hämodynamik nach dem autonomen Sturm konnten im Rattenmodell durch Mertes PM 1994 und Herijgers P 1998 gemacht werden (40;46-48). Mehrabi et al konnten durch schnelle Hirntodinduktion im Schweinemodell ebenfalls einen Abfall des peripheren Widerstandes mit konsekutivem Blutdruckabfall verzeichnen (24). Dabei scheint eine systemische Hypotonie allein schon schädigende Ausmaße auf das Transplantat zu nehmen. So konnte bereits im Rahmen von einer prospektiven Studie über Nierentransplantationen ein erhöhtes Transplantatversagen aufgezeigt werden, wenn der Spender Blutdrucke unter 80-90 mmHg vor Explantation aufweist (49).

Avlonitis et al haben 2005 in einer Studie am Rattenmodell bereits beobachtet, dass der schnelle Hirntod eine Ruptur von Alveolarmembranen verursachen kann (31). Aufbauend hierauf haben sie in einer Folgestudie herausgestellt, dass hierfür vor allem der autonome Sturm ursächlich ist. Im Vergleich mit Tieren, welche vor Hirntodinduktion mit einem alpha-Blocker (Phentolamin) behandelt wurden, zeigten die Tiere ohne Blockade eine erhöhte Transplantatabstoßung, sowie erhöhte Zytokinkonzentrationen und Neutrophile im Bronchiallavagesekret (43). Pratschke et al konnten in einem Rattenmodell 1 Stunde nach Hirntodinduktion erhöhte TNF-alpha und Interleukin-6 Spiegel messen. Ebenfalls konnte eine Hochregulation von Adhäsionsmolekülen und Major Histocompatibility II (MHC II) Molekülen auf Spendernieren gemessen werden. Diese können von den Empfänger-T-Zellen detektiert werden und begünstigen so die Abstoßungsreaktion (50;51).

In einer vergleichbaren Studie über die Auswirkungen auf Spenderlungen bei Ratten konnten Zweers et al ein vermehrtes Einwandern von Neutrophilen, Makrophagen und Leukozyten nach Hirntod nachweisen. Des Weiteren konnte in der Beobachtungsperiode eine signifikant höhere Abstoßungsreaktion bei Lungen von hirntoten Spendern beobachtet werden (32).

An Hand des erhöhten PDI, der Wet/Dry Ratio und zuletzt der Histologie konnte eine Ödembildung nach Hirntod in unserer Studie beobachtet werden. Dies ist in der

Literatur als neurogenes Lungenödem beschrieben. Dabei sind zwei Entstehungsmechanismen in der Diskussion:

Auf der einen Seite steht die durch alpha-adrenerge Stimuli verursachte vorübergehende Systemische Vasokonstriktion, die zu einer Abnahme des Linksventrikulären Auswurfs und somit zu einer Zunahme des linksatrialen Drucks führt. In einer Studie an Pavianen konnte Novitzky et al durch die systemische Vasokonstriktion eine Umverteilung des Blutvolumens in das Lungenstromgebiet von zuvor 24 % auf 75 % beobachten (52). Daraus resultiert eine Erhöhung des Druckes in den pulmonalen Kapillaren. Durch den so erhöhten hydrostatischen Druck und die durch Scherkräfte ausgelösten strukturellen Schäden am Endothel, durch die Erythrozyten und Proteine in den Alveolarraum gelangen können (53), kommt es zur schnellen Bildung eines Lungenödems (27;54-60). Eine wie gerade geschilderte Erhöhung des systemischen Widerstandes konnten wir mit einem Höchstwert von $1126,7 \pm 424,4 \text{ dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$ 10 Minuten nach Hirntodinduktion in unseren Versuchen nur in milder Form beobachten. Allerdings fiel der SVR anschließend auf $660,0 \pm 225,2 \text{ dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$ ab, was einer Vasodilatation nach erfolgten Katecholamin Sturm entspricht.

Eine massive Erhöhung des Pulmonalen Gefäßwiderstandes auf $7315,0 \pm 3475,3 \text{ dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$ kurz nach Hirntod konnte eindrucksvoll beobachtet werden und scheint die zuvor geschilderten Druckerhöhung in den Kapillaren widerzuspiegeln.

Ein neurogenes Ödem entsteht jedoch auch bei normotensivem Hirntod, wie Hoff et al in einem Katzenmodell beobachten konnten, in dem nach Erhöhung des intracraniellen Drucks der systemische Blutdruck konstant gehalten wurde (61), so dass die Vermutung nahe liegt, dass die massiven hämodynamischen Veränderungen nach Hirntodinduktion nicht die einzige Ursache für die Entwicklung eines Lungenödems sein können. In einer Folgestudie konnte durch Garcia-Uria gezeigt werden, dass vor allem die Erhöhung des Pulmonalarteriellen Druckes verbunden mit endothelialen Mikroschäden Auswirkungen auf die Lungenödembildung hat (62).

Hirntod kann gleichzeitig durch die Hirnischämie allein, aber auch durch die Folgen des autonomen Sturms die Freisetzung einer Vielzahl von pro- und antiinflammatorischen Mediatoren wie IL-1, IL-2, IL-6, TNF- alpha und INF- gamma auslösen. 1 Stunde nach Hirnverletzungen können bereits erhöhte TNF alpha und Interleukin 6 Werte im Rattenmodell nachgewiesen werden (63). Durch den während

des autonomen Sturms verursachten anaeroben Metabolismus (40), aber auch durch Endothelaktivierung und Ischämie bedingte Zytokinfreisetzung aus dem minderperfundierten Darm wird die inflammatorische Antwort begünstigt (36). Die so freigesetzten Zytokine lösen die Bildung von Neutrophilenaktivatoren wie IL-8 aus und fördern somit deren Migration.

In den histologischen Präparaten der Gruppe 1 konnte eine massive zelluläre Infiltration, insbesondere durch Neutrophile als Ausdruck einer inflammatorische Antwort nach Hirntodinduktion ebenfalls gezeigt werden.

Aufbauend auf diesen Beobachtungen über die inflammatorische Komponente bei der Entstehung des neurogenen Lungenödems haben in einer experimentellen Studie an Ratten Minnear et al die positive Wirkung von Methylprednisolon auf die Ausbildung eines neurogenen Lungenödems dargestellt. Hierbei konnte eine verringerte Ödembildung in der Lungengewichtaufarbeitung und den histologischen Proben durch die Injektion von Methylprednisolon vor Hirntodinduktion erreicht werden (64). Edmonds et al konnten diese Beobachtung nach intratrachealer Methylprednisolonapplikation in einer Studie an Kaninchen bestätigen (65).

In der Gruppe 1 haben wir im Gegensatz zur Gruppe 3 aus diesem Grund kein Methylprednisolon verabreicht, um das Ausmaß der Schädigung uneingeschränkt beurteilen zu können.

Zusammenfassend sollen die Folgen, die ein rascher Hirntod mit sich bringt, in der nächsten Grafik nach Avlonitis et altera veranschaulicht werden (Abbildung 41). Hierbei laufen die zuvor geschilderten Mechanismen synchron ab und kumulieren in ihrer Wirkung, so dass es zu der Entstehung eines neurogenen Lungenödems kommt. Vor diesem Hintergrund können sie von uns gemachten Beobachtungen nach Hirntodinduktion, d.h. die hämodynamischen Veränderungen, sowie die Entwicklung des ausgeprägten Lungenödems und die Infiltration mit Leukozyten und Makrophagen eingeordnet werden, und bestätigen die schädigende Wirkung auf die Lungenstruktur- und funktionalität.

Nahezu alle beobachteten Veränderungen werden durch die eingangs dargestellten klassischen Spenderbewertungskriterien (Tabelle 1) nicht erfasst. So zeigte sich insbesondere der Gasaustausch, welcher eine entscheidende Rolle bei der Entscheidung der Transplantabilität einnimmt, auch bei histologisch und makroskopisch sicher geschädigten Lungen noch nicht kompromittiert. Erst bei massivster Schädigung mit bis in die Trachea reichenden Lungenödem konnte in

unseren vorhergehenden Studien eine globale Partialinsuffizienz detektiert werden (22), so dass die Aussagekraft der Blutgasanalyse in unserer Studie deutlich geschwächt wird und die klinische Relevanz im Transplantationsvorgang neu überdacht werden muss.

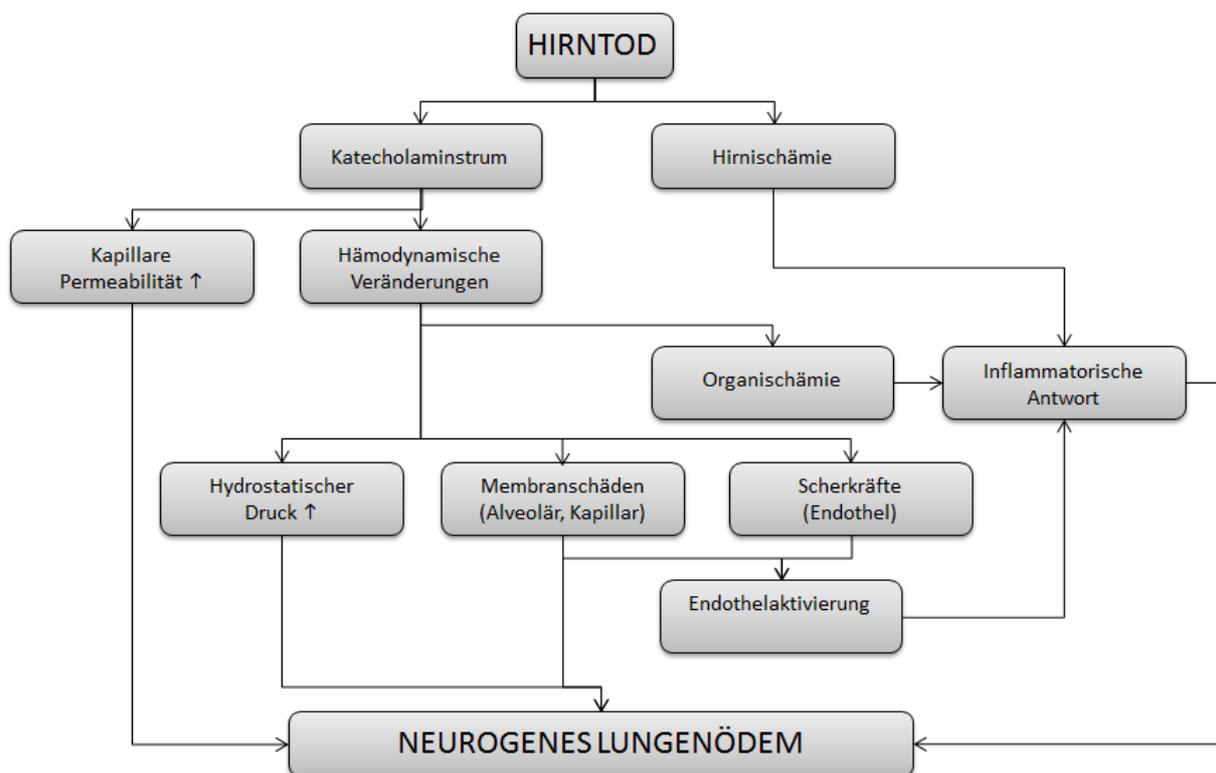


Abbildung 41: Folgen des Hirntods auf das Lungengewebe

Grafik nach Avlonitis et altera (31)

Hirntod löst zum einen durch den Katecholaminstrum, zum anderen durch Ischämie eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität, Endothelaktivierung und inflammatorische Antwort aus, welche in der Entstehung eines neurogenen Lungenödems münden

4.2 Rekonditionierung mittels ex-vivo Reperfusion:

Das Prinzip der Organreperfusion in einem extracorporalen Kreislaufes konnte bereits in einigen Studien erprobt werden, hierbei wurde auf Grund vor allem der anatomischen Ähnlichkeit in Bezug auf die intrathorakalen Organe das Schwein als Versuchstier bevorzugt (4;21;66-68) und auch in unserer Studie ausgewählt. Hier zeigt sich das von uns benutzte dynamische System insbesondere durch die Möglichkeit einer Evaluation des Spenderorgans zu jedem beliebigen Zeitpunkt z. B. mittels Blutanalysen und Auswertung von Beatmungsparametern vor Implantation, so wie die durch uns angestrebte Rekonditionierung als vorteilhaft.

Vor der Explantation und der anschließenden Ischämiephase erfolgte in unseren Versuchen die Kühlung der Lungen mittels Eiswasser. Die notwendige Präparation unter Ischämie zur Vorbereitung für die extracorporale Reperfusion wurde bei leicht geblähter, nicht ventilierter Lunge in Eis- gekühlter Perfadex/ NaCl-Lösung durchgeführt.

Bezugnehmend auf die Vorteile einer dynamischen Konservierung erfolgte in einer Studie von Egan et al 1991 die Explantation von Hundelungen nach Flush-Perfusion mittels Euro-Collins-Lösung bei Non Heart Beating Donors. Hierbei wurde die Explantation, sowie die Präservation um je 1,2 und 4 Stunden verzögert, um sie dann in ein Empfängertier mit einer Beobachtungsdauer von 8 Stunden zu implantieren. Hier zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Dauer der Lagerung und dem Outcome nach Transplantation. Während die Empfängertiere mit den 1-Stunden- Lungen die Versuchsdauer mit guten Gasaustausch überlebten, waren es bei den 4- Stunden-Lungen Empfängern lediglich noch 25 % (69). So kann man zum einen ableiten, dass eine Ischämiezeit von 1 Stunde ohne wesentliche Funktionseinbußen einhergeht, jedoch auf der anderen Seite eine Ischämiezeit von 4 Stunden bereits eine immense Verschlechterung des Spenderorgans mit sich bringt, so dass in jedem Fall eine frühzeitige Reperfusion des Transplantats angestrebt werden sollte.

Van Raemdonck führte 1997 eine Studie im Kaninchenmodell durch, in dem er zeigen konnte, dass nicht belüftete Lungen vermehrte Ödembildung gemessen an der Wet-Dry- Ratio zeigten, so dass er postulierte die Vermeidung eines alveolären Kollapses würde zu einer besseren Transplantatfunktion führen. In dieser Studie konnte er auch zeigen, dass eine Ventilation mit 100 % Sauerstoff keine Vorteile gegenüber einer Ventilation mit Raumluft bietet (70). In Anlehnung hieran scheint nicht nur die möglichst frühzeitige Wiederaufnahme eines Blutkreislaufes, als auch die Ventilation des Transplantates von Bedeutung für die Organqualität und -funktionalität zu sein.

Rega et al 2003 konnten in einer Vergleichsstudie am Schweinemodell darstellen, dass Lungen, welche post mortem durch topical cooling über Pleuradrainagen konserviert wurden, in Funktionalität einer alleinigen Ventilation überlegen sind (72), so dass eine Kombination aus kurzer Ischämiezeit, sowie einer Kühlung während dieser Phase mit einem frühzeitigem Wiederbeginn einer Reperfusion und Ventilation

die besten Voraussetzungen für eine effiziente Organkonservierung sind und in unserer Versuchsreihe umgesetzt wurde.

Ex-vivo Reperfuisionsmodelle wurden initial entwickelt um im Gegensatz zu der statischen Konservierung eine Evaluation des Spenderorgans zu ermöglichen. Hierbei wurden unterschiedliche Präservationslösungen, sowie Reperfusate verwendet.

1998 entwickelten van Raemdonck et al ein ex vivo Reperfuisionsmodell insbesondere um die Transplantatfunktion nach Kreislaufarrest und die mögliche Ischämiezeit beim Kaninchen zu evaluieren (73). In einer Studie von Erasmus et al 2006 wurde ein ähnliches ex vivo Reperfuisionsmodell entwickelt und die Möglichkeit untersucht, die Spenderlungen in diesem Modell über 6 Stunden zu reperfundieren und evaluieren (21). Rega et al haben ein ähnliches Modell zur Evaluation während längerfristiger Lagerung des Spenderorgans entwickelt. Hier im Unterschied jedoch mit einem Vollblutreperfusat (74). Weitere ex-vivo- Reperfuisionsmodelle mit ähnlichem Hintergrund wurden durch einige weitere Autoren beschrieben (4;17).

Aufbauend auf diesen Studien zur ex-vivo- Reperfusion im Rahmen der Transplantatevaluation wurde in einer ersten Studienreihe das System entwickelt, welches am wenigsten Schaden auf die Lunge über 6 Stunden Reperfusion ausübt und ein Rekonditionierung von geschädigten Lungen erlaubt. Wipper et al haben hierin vor allem die Reperfusatzusammensetzung und den Einsatz eines Leukozytenfilters erprobt. Hier konnte erstmals gezeigt werden, dass bei der Verwendung eines Gemisches aus spendereigenen Erythrozytenkonzentrat- und Steen'scher Lösung mit einem Zielhämatokrit von 15 % und integriertem Leukozytenfilter gegenüber Vollblutreperfusat mit und ohne Leukozytenfilter eine Reperfusion über 6 Stunden ohne Schaden in Bezug auf Funktionalität und Qualität möglich ist (22). Dieses Ergebnis konnte durch Studien von Erasmus et al. und Steen et al. bestätigt werden, welche einen ähnlichen Aufbau zur Evaluation der Lungenqualität bei NHBDs beschrieben haben (21;66).

Aus den durch Wipper und al gemachten Beobachtungen lässt sich auf eine besondere Bedeutung der Perfusatzusammensetzung schließen. In der Arbeit von Wipper et al konnte eine Überlegenheit einer Kombination aus Erythrozytenkonzentrat und der Steen- Lösung gegenüber Vollblut-basierten Perfusat insbesondere in Form von verbesserter Compliance, geringerer Ödembildung und verbesserter Perfusionstoleranz beobachtet werden (22).

Rega et al hatten bereits ein Perfusat aus auf gereinigtem Erythrozytenkonzentrat, Perfadex® (Zusammensetzung siehe unter 2.5.3.1), Albumin 20%, Calciumchlorid, Heparin, Nitroglycerin und Natriumbicarbonat beschrieben. Auch diese Lösung scheint insbesondere durch die Hyperosmolarität die Ödembildung zu verringern, jedoch wird durch die Studiengruppe selbst darauf verwiesen, dass bessere Ergebnisse noch durch die Verwendung der Steensolution erzielt werden können (67).

Erasmus et al haben ein Perfusat aus Erythrozytenkonzentrat und der durch Steen entwickelten Steen'schen Lösung verwendet (21) und konnten hiermit eine Perfusion über 6 Stunden ohne relevante Ödembildung erzielen.

Die verringerte Ödembildung ist hierbei vor allem auf den hohen kolloidosmotischen Druck der Lösung zurückzuführen (66). Die zugesetzte Steen'sche Lösung hat einen hohen Glucoseanteil, der zum einen die Adhäsion und Migration von Leukozyten an das Endothel verhindert und zum anderen durch den hohen onkotische Druck die Ödembildung verringert. Da diese patentrechtlich geschützt ist, ist die genaue Zusammensetzung nicht bekannt.

Das Einbringen eines Leukozytenfilters konnte durch die oben genannten Studien ebenfalls als vorteilhaft bestätigt werden. Hierbei spielen die Leukozyten insbesondere bei der Entwicklung eines Ischämie- Reperfusionssyndroms eine entscheidende Rolle, so dass durch den Leukozytenfilter eine geringfügigere Reaktion zu erwarten ist (17;18;67;74). Ide et al haben in einer Studie an Hunden gezeigt, dass unter der Benutzung von Leukozytenfiltern während 2 stündiger Lungenischämie und 2 stündiger isolierter Reperfusion im Gegensatz zu der Versuchsgruppe ohne Leukozytenfiltration eine verringerte Ödembildung zu beobachten ist (75). Wie im Folgenden noch detailliert dargestellt führt das System selbst zu einer Hochregulation proinflammatorischer Zytokine, welche eine Leukozytenmigration bewirken und in Kombination mit durch Endothelstress ausgelösten Membranschäden die Lungenödementwicklung begünstigen (87).

Die Überlegenheit eines integrierten Leukozytenfilters konnte durch Wipper et al im direkten Vergleich bestätigt werden (22), so dass das entwickelte Reperfusionsmodell zur möglichen Rekonditionierung nach Schädigung durch Hirntod geeignet ist und so die die Basis für eine erfolgreiche Rekonditionierung über 6 Stunden gegeben ist.

Eine Verbesserung in Hinsicht auf Funktionalität und Transplantabilität der geschädigten Lungen konnte insbesondere in Bezug auf die Beatmungsparameter beobachtet werden. Hier verbesserte sich die Compliance im Laufe der 6 stündigen Reperfusion signifikant gegenüber dem Ausgangswert und glich sich der Compliance der Gruppe 3 an.

Klinisch zeigte sich eine deutliche Verbesserung des Pulmonary Deflation Index mit Angleichung an den von der Gruppe 3 nach 6 Stunden Reperfusion.

Auch histologisch konnte an Hand des Lung Injury Score eine signifikante Verbesserung gegenüber den nicht rekonditionierten Hirntod geschädigten Lungen der Gruppe 1 in Hinblick auf Infiltration, Wanddicke, Atelektasen- und vor allem Ödembildung festgestellt werden.

Sowohl in der Gruppe 3, als auch in den durch oben beschriebene Mechanismen geschädigten Gruppen 1 und 2 fand sich ein normaler Gasaustausch über die gesamte Versuchsdauer. Dies wirft die Frage auf, ob die heute geltenden Richtlinien zur Spenderorganwahl weiterhin haltbar sind, in denen die Oxygenierungskapazität einen wesentlichen Bestandteil bildet (siehe 1.2).

Wenn man diesbezüglich vergleichbare Studien sucht, zeigen sich kontroverse Ergebnisse.

In einer Hirntodstudie zur Untersuchung der Entwicklung eines neuerogenen Lungenödems, haben Maron et al 5 Minuten nach Veratrininjektion in die Cysterna magna von Hunden eine relevanten Abfall der Oxygenierung mit konsekutiver Hypercapnie beobachten können (76).

Eine ähnliche Beobachtung konnte durch Minnear et al nach Fibrininjektion in die Cysterna magna von Kaninchen gemacht werden. Auch hier kam es 5 Minuten nach Hirntodinduktion zu einem signifikanten pO_2 Abfall gegenüber der Kontrollgruppe (77).

Da hier ein anderes Hirntodmodell an unterschiedlichen Versuchstieren verwendet wurde, sind mögliche Einflüsse durch das verwendete Agenz auf die Oxygenierung nicht auszuschließen.

Barklin et al haben in einer Studie zur Untersuchung der Neuropeptidkonzentrationen nach Hirntodinduktion durch Balloninflation beim Schwein im Gegensatz zu unseren Ergebnissen einen signifikanten Abfall der Oxygenierung gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet (36). Unterschiede zu unserem Modell lassen sich neben der Größe der Versuchstiere (29 kg vs. 68 kg) und des Beatmungsvolumens (8

ml/kg/min vs. 10 ml/kg/min), vor allem in der Art und Weise der Hirntodinduktion feststellen. Während Barklin et al die langsame Hirntodinduktion durch Balloninflation von 1 ml/4min gewählt haben (36), erfolgte in unserem Modell die schnelle Hirntodinduktion mit 1 ml/min, so dass insbesondere die hämodynamischen Veränderungen nach Hirntodinduktion wie schon ausführlich diskutiert, einen Oxygenierungsabfall im Blut vermeiden.

In allen Studien, die eine vergleichbare schnelle Hirntodinduktion durchgeführt haben, zeigte sich eher eine Erhöhung der Oxygenierung in den Minuten nach Hirntodeintritt im Vergleich zur Kontrollgruppe (4;31;43;61;62). Vor diesem Hintergrund scheint die von uns gemachte Beobachtung nicht zu verwundern. So muss man für den klinischen Alltag allerdings zusammenfassen, dass ein Verschlechterung des Gasaustausches zwar eine Schädigung der Lunge anzeigt, jedoch bei gutem Gasaustausch nicht von einer guten Funktionalität der Lunge ausgegangen werden kann.

Um die durch Hirntod ausgelösten Effekte auch über 3 Stunden hinaus belegen zu können, und somit näher an die klinische Realität zu rücken, wurde von uns ein Versuch mit 10 Stunden Dauer nach Hirntodinduktion durchgeführt. In diesem Versuch konnten nicht nur die ausführlich beschriebenen Auswirkungen der Hirntodinduktion bestätigt werden, sondern auch ein Anhalten über 10 Stunden gemessen vor allem an der Ödembildung und der histologischen Beurteilung. Der zu Beginn massiv erhöhte PVR verringerte sich in diesem Versuch jedoch 6 Stunden nach Hirntodinduktion.

Avlonitis et al haben in einer Studie die Auswirkungen einer kurzen Hirntodzeit auf das Lungengewebe im Gegensatz zu denen einer langen Hirntodzeit untersucht. Hierbei wurde die Beobachtungsdauer auf 5 Stunden festgelegt. Hier konnte gezeigt werden, dass sowohl die Lungen, welche 3 Stunden nach Hirntodinduktion reperfundiert wurden, als auch die nach 5 Stunden reperfundierten Lungen eine ausgeprägte inflammatorische Antwort zeigten, insbesondere in Form von vermehrten Neutrophilennachweis im Bronchialsekret (43).

Van der Houven konnten in einer ähnlichen Studie zur Beziehung der Hirntodlänge auf Spendernieren zeigen, dass es 6 Stunden nach Hirntod zu einer erhöhten Expression von Adhäsionsmolekülen und vermehrter Leukozyteninfiltration in das Spenderorgan kommt (78;79). Dies deckt sich mit unserer Beobachtung einer

massiven zellulären Infiltration in den Alveolarräumen und auch im Interstitium 10 Stunden nach Hirntodinduktion.

Avlonitis konnte ebenfalls eine Erniedrigung des PVR 5 Stunden nach Hirntod beobachten (43). In einer Studie von Lane et al wird postuliert, dass es bereits 4 Stunden nach Hirntodinduktion zu einer Adrenalin getriggerten Erhöhung der alveolären Clearance und somit zu einer Verringerung der Ödembildung mit Erniedrigung des PVR kommt (26). Diese Beobachtung steht zum einen im Gegensatz zu der von uns beobachteten Ödembildung auch 10 Stunden nach Hirntodinduktion, zum anderen zu klinischen Beobachtungen über das Neurogene Lungenödem, in denen es nicht zu einer so rapiden Verbesserung des neurogenen Lungenödems kommt (30;80;81). Zusammenfassend ist die von uns gemachte Beobachtung lediglich ein Trend und benötigt zur weiteren Klärung eine größere Versuchsgruppe, um eindeutig die Auswirkungen eines länger bestehenden Hirntodes auf die Organe bestimmen zu können.

In allen Versuchsgruppen unabhängig von der Schädigung durch Hirntod konnte eine partielle Überdehnung der Alveolen beobachtet werden, sowie eine Erhöhung des PVR und des PA-Druckes. Mögliche Ursachen hierfür sollen im Folgenden diskutiert werden.

In unseren Versuchen erfolgte eine druckkontrollierte Beatmung mit einem mittleren Inspirationsdruck von 15 mmHg. Eine Ventilator-associated Lung injury (VALI) wird vor allem durch zu hohes Tidalvolumen und/oder zu hohe End-expiratorische Drücke ausgelöst (82). Hierbei wird eine Ventilation mit 6 ml/kgKG empfohlen. Alle Schweine wurden mit durchschnittlich 10,2 ml/kg/KG beatmet. Die Beatmung mit höheren Tidalvolumina führt zu einer erhöhten Permeabilität durch Endothelschäden, zum anderen jedoch durch Aktivierung von spannungsabhängigen Calciumkanälen zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Interleukine, welche die Migration von Leukozyten und Makrophagen begünstigen (83;84). Dies führt zu einer inflammatorischen Antwort mit Bildung von Ödem und zur Emphysembildung durch Überblähung. Dies zeigen auch die histologischen Präparate aller Gruppen, in denen sich eine Emphysembildung eindeutig nachweisen lässt.

Ursächlich für die erhöhten pulmonalarteriellen Drücke und den erhöhten PVR auch in der Gruppe 3 kann ebenfalls die kalte Ischämiephase mit anschließender

Reperfusion im extrakorporalen Kreislauf sein, welche durch im Folgenden geschilderte Mechanismen zu Schäden am Lungengewebe führt.

Im klinischen Transplantationsalltag liegt die kalte Ischämiezeit zwischen 4 und 8 Stunden (85). Wang et al. haben in einer Studie am Kaninchenmodell herausgefunden, dass eine Ischämie bei 10 °C in Bezug auf Sauerstoffaufnahme, Gasaustausch und Pulmonalarteriellen Druck einer Temperatur von 4°C und 15°C überlegen ist (86).

Die moderate Hypothermie ist notwendig, um den Metabolismus und den Energieverbrauch der Lunge bis zur Implantation auf ein Minimum herunter zu fahren, insbesondere da Enzymaktivitäten auf bis zur Hälfte reduziert werden (8;85;87). Die Gruppe um Toledo-Pereyra beschreibt die Effekte auf 60 Minuten normotherme Ischämie mit Ödembildung, Alveolarmembranschäden, Mitochondrienschwellung, Erhöhung des PVR und interstitielle Hämorrhagien. In der gleichen Arbeit konnten sie zeigen, dass eine hypotherme pulsatile Perfusion einer normothermen non-pulsatilen Perfusion überlegen ist (88). Des Weiteren konnte in einer weiteren Studie gezeigt werden, dass es nach 2 Stunden normothermer Ischämie zu einem massiven Einstrom von Entzündungszellen in das Lungengewebe kommt (89).

Hanusch et al. postulieren, dass die warme Reperfusion bei 37°C per se eine Entzündungsreaktion mit Ödembildung und somit erhöhten Pulmonaldrücken nach sich zieht. Dies haben sie im Rattenmodell belegt, nachdem sie die Lungen mit 4°C kalter Perfusedlösung bis zu 8 Stunden gelagert und dann reperfundiert haben. Auf der anderen Seite konnten sie eine Schädigung durch kalte Ischämie bei Lagerung über 6 Stunden durch eine dann beginnende vermehrte Zytokinexpression nachweisen (68).

Obwohl in unserer Studie nach Unterbindung der Blutzufuhr zur Lunge auf eine kontinuierliche Kühlung der Lunge geachtet wurde, muss auf Grund der Manipulation und der nicht gleichmäßig herbeigeführten Kühlung durch Eiswasser von Ischämietemperaturen um die 15 °C ausgegangen werden. Auf der anderen Seite ließ sich an Hand der Wet-Dry Ratio und der histologischen Aufarbeitung der Lungen eine nur leicht erhöhte Ödembildung in den Lungen der Gruppe 3 nachweisen. So dass noch andere Faktoren auf die Erhöhung des PA- Druckes Einfluss haben müssen.

In der Literatur ist bereits vielfach das Ischämie-Reperfusionssyndrom (IRS) als signifikante Ursache für Morbidität und Mortalität nach Transplantation und Grund für verlängerte mechanische Ventilation und Intensivaufenthalt diskutiert worden. Das klinische Spektrum reicht hier von leichten Infiltraten im Röntgenthorax mit milder Hypoxie, bis hin zu einem Akuten respiratorischen Stresssyndrom (ARDS) (90). Des Weiteren erhöht das Auftreten eines IRS nach Transplantation die Wahrscheinlichkeit einer chronischen Abstoßung in Form eines Bronchiolitis obliterans Syndroms (BOS) (91).

Hier kommt es bei Ischämie durch oxidativen Stress zur Bildung freier Radikale wie Superoxid Anion, Wasserstoffperoxid und Hydroxyl Anion. Diese instabilen Moleküle reagieren bevorzugt mit der Lipidkomponente der Zellmembran und sorgen so zu vergrößerter Permeabilität bis hin zur Zellyse (92).

Bei Hypoxie wird ATP im Gewebe schnell verbraucht. Dabei akkumuliert Hypoxanthin, welches bei Reoxygenierung durch Reperfusion oder Ventilation zu Superoxid reduziert wird. Diese Reaktion kann durch den Xanthinoxidaseinhibitor Allopurinol gehemmt werden (93;94). Bei Ischämie ist die Bildung freier Radikale nicht auf den Verbrauch von ATP gestützt, und kann daher nicht durch Allopurinol gehemmt werden. Sobald das Endothel nicht durch Blutfluss und den so ausgeübten Druck gereizt wird, kommt es zur Stimulierung der NADPH-Oxidase (95). Die NADPH- Oxidase ist ebenfalls auf der Oberfläche von Neutrophilen und Makrophagen lokalisiert und katalysiert die Oxidation von Sauerstoff zu Wasserstoffperoxid und Superoxid Anion (96). Normalerweise bewirkt NO eine Vasodilatation, verhindert die Thrombozytenaggregation sowie die Adhäsion von Leukozyten an die Endothelwand. In den Minuten nach Reperfusion reagiert das vorhandene NO durch die vermehrte Produktion freier Radikale mit Superoxid-Ionen und steht daher nicht für die oben beschriebenen Mechanismen zur Verfügung (94), so dass die Inflammation exazerbiert.

In vielen Studien wird belegt, dass es zu der eigentlichen Schädigung erst bei der Reperfusion kommt. So hat die Arbeitsgruppe um S. Fischer im Tiermodell herausgefunden, dass bei Reperfusion die Apoptosezahl rapide ansteigt (97). Apoptose wird hierbei durch die während der Ischämiephase gebildeten freien Radikale ausgelöst. Diese Erkenntnisse werden durch Stammberger et. al. bestätigt (98). Ob diese Beobachtung jedoch einen Einfluss auf die ausgelösten Schäden, sowie Ödembildung und ein späteres Transplantatversagen hat, bleibt zu klären (97).

Eppinger et al konnten in einer Studie an Ratten zeigen, dass das IRS gemessen an der vaskulären Permeabilität biphasisch 30 Minuten und 4 Stunden nach begonnener Reperfusion zu beobachten sind. Sie konnten durch Erzeugung einer Neutropenie bei der einen Studiengruppe ebenfalls zeigen, dass die Schädigung 30 Minuten nach Reperfusion Neutrophilen unabhängig, die nach 4 Stunden jedoch Neutrophilen abhängig ist (99). Steimle et al postulieren in einer Studie, welche ebenfalls mit neutropenen Ratten durchgeführt wurde, dass IRS vollkommen unabhängig von Neutrophilenmigration sei. Jedoch sollte hier beachtet werden, dass die Versuchsdauer nur 180 min betrug (100). So können eine spätere Neutrophilenmigration und deren Rolle bei der Entwicklung eines IRS nicht ausgeschlossen werden. In einer Studie von Kishima et al konnte ebenfalls in einem Ischämie- Reperfusionmodell an Ratten gezeigt werden, dass Leukozytendepletion oder Neutrophileninhibition alveoläre Schäden während der Reperfusion verringert (101). Dies deckt sich mit unserer Beobachtung, dass die Lungenqualität nach Integration eines Leukozytenfilters und Benutzung von Erythrozytenkonzentrat im Gegensatz zu der Reperfusion mit Vollblut ohne Leukozytenfilter deutlich verbessert werden konnte. Der Leukozytenfilter hat wirkungsvoll die Leukozyten aus dem Reperfusat entfernt und somit die Entzündungsreaktion während der extrakorporalen Perfusion vermindert.

Nach Reperfusion kann ein schneller Anstieg proinflammatorischer Zytokine beobachtet werden. Dies ist in zahlreichen tierexperimentellen Studien nachgewiesen worden (85;92;102;103). Ischämie und Reperfusion führt zu einer Hochregulation von Membranmolekülen wie Selektinen, Immunglobulinen und Integrinen, die eine Leukozytenmigration bewirken. Außerdem kommt es zur Freisetzung pro- und antiinflammatorischer Zytokine während der kalten Ischämie und der Reperfusion (104).

Eppinger et al haben in einer Folgestudie zeigen können, dass Komplementfaktoren, so wie freie Radikale und INF alpha und TNF alpha für die Schädigung nach 30 Minuten verantwortlich sind (105).

Im beschriebenen Versuchsaufbau soll durch die dreifache Gabe von 500 mg 6-Methyl-Prednisolon in situ vor Explantation, zu Beginn der Reperfusion und drei Stunden nach Reperfusion in der Maschine die generell ablaufende inflammatorische Reaktion gehemmt werden. 6-Methyl-Prednisolon hemmt über die vermehrte Synthese von Lipocortin in den Zellwänden die Phospholipase A2, IL-1, IL-2 und

Makrophagen MIF (migration inhibitory factor), sodass es zu einer Unterdrückung der zellulären, vor allem der T- Zellen und der Makrophagen, und der humoralen Abwehr kommt (106).

Wie bisher geschildert, konnte in dem verwendeten Reperfusionmodell die Ausbildung eines IRS durch Verwendung des Leukozytenfilters, Erythrozytenkonzentrat sowie die Gabe von Methylprednisolon vermindert werden. Ansatzpunkte um verbleibende Schädigungen weiter zu reduzieren, können eine volumenkontrollierte Beatmung, sowie die Gabe von Radikalfängern, Xanthinoxidasehemmern wie Allopurinol und NO sein, deren positive Auswirkungen in einer Vielzahl von Studien bereits belegt wurden (8;94;107-110).

Erhöhte PVR Werte unter extrakorporaler Perfusion konnten auch durch andere Gruppen beobachtet werden. So postulieren Steen et al hier den non-pulsatilen Fluss als ursächlich. Die stark erhöhten PVR- Werte unter extracorporaler Reperfusion normalisierten sich nach Implantation der Spenderlungen in ein Empfängerschwein (66). Diese Hypothese wird ebenfalls durch Rega et al unterstützt, welche eine ähnliche Beobachtung im Vergleich von ex-vivo PVR und intracorporalen PVR derselben Lunge machten (67). Wie bereits beschrieben haben auch Toledo et al beobachtet, dass pulsatile Flüsse eine bessere Lungenpräservierung bewirken (88).

Aufbauend hierauf scheint die Verwendung einer Rollerpumpe, die einen nicht pulsatilen und somit unphysiologischen Fluss verursacht der Hauptfaktor zu sein, der die Erhöhung des PA- Druckes und des PVRs begünstigt und sollte in Folgestudien dringend berücksichtigt werden.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass durch das von uns entwickelte Reperfusionssystem eine Rekonditionierung von durch Hirntod vorgeschädigten Spenderlungen zweifelsfrei möglich ist. Neben einer möglichen Erweiterung des Spenderpools kann durch eine frühzeitige Reperfusion auch der Organtransport in entlegene Teile des Eurotransplantgebietes erfolgen. Hierbei muss jedoch ein explizites Evaluierungssystem erstellt werden, welche Organe rekonditioniert werden sollten und welche bereits ohne Rekonditionierung transplantabel erscheinen. Wir konnten jedoch ebenfalls herausstellen, dass die heutigen Spenderauswahlkriterien durchaus optimierungsbedürftig sind und mitnichten eine valide Aussage über die Organqualität bieten. Es lassen sich jedoch auch Limitierungen des Systems aufzeigen. Im Transplantationsalltag dauert allein die Hirntoddiagnostik per definitionem über 12 h, so dass die Auswirkungen über einen solchen Zeitraum durch

unseren Versuchsaufbau nicht erfasst und durch den 10 Stundenversuch lediglich tangiert werden. Des Weiteren scheint eine Übertragbarkeit in den klinischen Alltag durch unsere Studie prinzipiell möglich, muss jedoch zusätzlich noch durch weitere Studien verifiziert werden, in denen die rekonditionierten Lungen in eine Empfängerschwein transplantiert werden.

5 Zusammenfassung

Orientierend an den Zielsetzungen der Arbeit kann man feststellen, dass es gelungen ist

- Im Vorfeld ein extrakorporales Reperfusionmodell zu entwickeln, mit dem die Perfusion und Evaluierung von Lungen über 6 Stunden möglich ist. Dabei wird mit dem Modell an sich ein möglichst geringer Schaden in Form von Ventilator induced lung injury und Ischämie Reperfusionssyndrom auf das Organ ausgelöst.
- ein durch schnelle Balloninflation reproduzierbares Hirntodmodell zu entwickeln und einen realen Schaden des Lungengewebes auszulösen, bemessen insbesondere an ventilatorischen, sowie klinischen und histologischen Aspekten. Der Gasaustausch, als wichtigstes klinisches Transplantabilitätsargument, erwies sich hier als irreführender Parameter, da er nicht mit der ausgelösten Schädigung korrelierte.
- Den durch Hirntod ausgelösten Schaden zu demaskieren und in dem extrakorporalen Kreislauf hinsichtlich Qualität und Funktionalität so zu verbessern, dass sie die gängigen Transplantationskriterien erfüllen und somit einer Erweiterung des Spenderorganpools erreicht wird.

5.1 Ausblick:

In allen Versuchsgruppen war der Pulmonale Gefäßwiderstand während der extrakorporalen Perfusion erhöht.

Dieser pulmonale Hypertonus soll in den Folgestudien medikamentös behandelt werden. Dazu gibt es eine Vielzahl von Methoden und Substanzen, die eine Verminderung des pulmonalen Widerstandes bewirken. In den kommenden Versuchen soll hier vor allem NO als Vasodilatator und ACC als Radikalfänger zum Einsatz kommen. Außerdem wäre eine Hemmung der inflammatorischen Reaktion mittels Komplementinhibitoren oder Prostaglandininhibitoren denkbar.

Eine Verbesserung des Modells sollte durch die Anwendung eines pulsatilen Systems überprüft werde.

Das Ziel des Gesamtprojektes soll die allogene Transplantation von Schwein zu Schwein nach Verbesserung der Spenderlunge in dem entwickelten System sein, um die Ergebnisse auf den Menschen übertragbar zu machen.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Trulock EP, Christie JD, Edwards LB, Boucek MM, Aurora P, Taylor DO, Dobbels F, Rahmel AO, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report-2007. *J Heart Lung Transplant* 2007 August;26(8):782-95.
- (2) DeMeo DL, Ginns LC. Lung transplantation at the turn of the century. *Annu Rev Med* 2001;52:185-201.
- (3) Eurotransplant International Foundation. Annual Report 2008. http://www.eurotransplant.org/?id=annual_report [Stand:10-2009].
- (4) Neyrinck AP, Van de Wauwer C, Geudens N, Rega FR, Verleden GM, Wouters P, Lerut TE, Van Raemdonck DE. Comparative study of donor lung injury in heart-beating versus non-heart-beating donors. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006 October;30(4):628-36.
- (5) Bundesministerium der Justiz. Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben. 5-11-1997. <http://www.gesetze-im-internet.de/tpg/index>. [10-2011].
- (6) Deutsche Stiftung Organtransplantation. DSO.2009-Grafikpaket Ablauf bis zur Organspende. <http://dso.de/>. [10- 2009].
- (7) Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer. Richtlinien zur Feststellung des Hirntodes, 3. Fortschreibung 1997 mit Ergänzungen gemäß Transplantationsgesetz (TPG).<http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Hirntodpdf.pdf>. [10-2011]
- (8) de PM, Weder W, Patterson GA, Keshavjee S. Strategies to increase limited donor resources. *Eur Respir J* 2004 March;23(3):477-82.
- (9) Barr ML, Schenkel FA, Bowdish ME, Starnes VA. Living donor lobar lung transplantation: current status and future directions. *Transplant Proc* 2005 November;37(9):3983-6.
- (10) Barr ML, Baker CJ, Schenkel FA, Bowdish ME, Bremner RM, Cohen RG, Barbers RG, Woo MS, Horn MV, Wells WJ, Starnes VA. Living donor lung transplantation: selection, technique, and outcome. *Transplant Proc* 2001 November;33(7-8):3527-32.
- (11) Starnes VA, Bowdish ME, Woo MS, Barbers RG, Schenkel FA, Horn MV, Pessotto R, Sievers EM, Baker CJ, Cohen RG, Bremner RM, Wells WJ, Barr ML. A decade of living lobar lung transplantation: recipient outcomes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004 January;127(1):114-22.
- (12) Couetil JP, Tolan MJ, Loulmet DF, Guinvarch A, Chevalier PG, Achkar A, Birmbaum P, Carpentier AF. Pulmonary bipartitioning and lobar transplantation: a

- new approach to donor organ shortage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997 March;113(3):529-37.
- (13) Artemiou O, Birsan T, Taghavi S, Eichler I, Wisser W, Wolner E, Klepetko W. Bilateral lobar transplantation with the split lung technique. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999 August;118(2):369-70.
- (14) Egan TM, Lambert CJ, Jr., Reddick R, Ulicny KS, Jr., Keagy BA, Wilcox BR. A strategy to increase the donor pool: use of cadaver lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg* 1991 November;52(5):1113-20.
- (15) D'Armini AM, Tom EJ, Roberts CS, Henke DC, Lemasters JJ, Egan TM. When does the lung die? Time course of high energy phosphate depletion and relationship to lung viability after "death". *J Surg Res* 1995 October;59(4):468-74.
- (16) Steen S, Ingemansson R, Eriksson L, Pierre L, Algotsson L, Wierup P, Liao Q, Eyjolfsson A, Gustafsson R, Sjoberg T. First human transplantation of a nonacceptable donor lung after reconditioning ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2007 June;83(6):2191-4.
- (17) Steen S, Liao Q, Wierup PN, Bolys R, Pierre L, Sjoberg T. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2003 July;76(1):244-52.
- (18) Steen S, Sjoberg T, Pierre L, Liao Q, Eriksson L, Algotsson L. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet* 2001 March 17;357(9259):825-9.
- (19) Steen S, Ingemansson R, Budrikis A, Bolys R, Roscher R, Sjoberg T. Successful transplantation of lungs topically cooled in the non-heart-beating donor for 6 hours. *Ann Thorac Surg* 1997 February;63(2):345-51.
- (20) Steen S, Sjoberg T, Ingemansson R, Lindberg L. Efficacy of topical cooling in lung preservation: is a reappraisal due? *Ann Thorac Surg* 1994 December;58(6):1657-63.
- (21) Erasmus ME, Fernhout MH, Elstrodt JM, Rakhorst G. Normothermic ex vivo lung perfusion of non-heart-beating donor lungs in pigs: from pretransplant function analysis towards a 6-h machine preservation. *Transpl Int* 2006 July;19(7):589-93.
- (22) Wipper S, Martens B, Dupree A, Schirmer J, Pahrman C, Reichenspurner H, Wagner FM. Development and evaluation of an in-vitro reperfusion circuit for reconditioning of predamaged donor-lungs. *Journal of HEart Lung Transplantation*, 28th annual meeting, Vol 27, No 2S, 1-2-2008.
- (23) Viana ME, Sargentelli GA, Arruda AL, Wiryawan B, Rotta AT. [The impact of mechanical ventilation strategies that minimize atelectrauma in an experimental model of acute lung injury]. *J Pediatr (Rio J)* 2004 May;80(3):189-96.
- (24) Mehrabi A, Golling M, Korting M, Hashemi B, Ahmadi R, Kashfi A, Schemmer P, Gutt CN, Pahlavan PS, Schmidt J, Buchler MW, Kraus TW. Different impact of normo- and hypotensive brain death on renal macro- and microperfusion--an experimental evaluation in a porcine model. *Nephrol Dial Transplant* 2004 October;19(10):2456-63.

- (25) de PM, Weder W, Patterson GA, Keshavjee S. Strategies to increase limited donor resources. *Eur Respir J* 2004 March;23(3):477-82.
- (26) Lane SM, Maender KC, Awender NE, Maron MB. Adrenal epinephrine increases alveolar liquid clearance in a canine model of neurogenic pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 September;158(3):760-8.
- (27) Maron MB. A canine model of neurogenic pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1985 September;59(3):1019-25.
- (28) Minnear FL, Connell RS. Increased permeability of the capillary-alveolar barriers in neurogenic pulmonary edema (NPE). *Microvasc Res* 1981 November;22(3):345-66.
- (29) Sedy J. The rapidity of intracranial pressure increase reflects the grade of neurogenic pulmonary edema. *J Clin Anesth* 2008 September;20(6):479.
- (30) Sedy J, Zicha J, Kunes J, Jendelova P, Sykova E. Mechanisms of neurogenic pulmonary edema development. *Physiol Res* 2008;57(4):499-506.
- (31) Avlonitis VS, Wigfield CH, Kirby JA, Dark JH. The hemodynamic mechanisms of lung injury and systemic inflammatory response following brain death in the transplant donor. *Am J Transplant* 2005 April;5(4 Pt 1):684-93.
- (32) Zweers N, Petersen AH, van der Hoeven JA, de HA, Ploeg RJ, de Leij LF, Prop J. Donor brain death aggravates chronic rejection after lung transplantation in rats. *Transplantation* 2004 November 15;78(9):1251-8.
- (33) Bittner HB, Kendall SW, Chen EP, Craig D, Van TP. The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamics and pulmonary blood flow characteristics. *Chest* 1995 November;108(5):1358-63.
- (34) Bittner HB, Kendall SW, Chen EP, Van TP. Endocrine changes and metabolic responses in a validated canine brain death model. *J Crit Care* 1995 June;10(2):56-63.
- (35) Bittner HB, Kendall SW, Campbell KA, Montine TJ, Van TP. A valid experimental brain death organ donor model. *J Heart Lung Transplant* 1995 March;14(2):308-17.
- (36) Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009 April;53(4):425-35.
- (37) Ryan JB, Wilson MK, Hicks M, Nicholson A, Kesteven SH, Junius F, Feneley MP, Macdonald PS. A brain dead donor model of porcine orthotopic cardiac transplantation for assessment of cardiac allograft preservation. *Heart Lung Circ* 2000 October;9(2):78-81.
- (38) Skrabal CA, Thompson LO, Potapov EV, Southard RE, Joyce DL, Youker KA, Noon GP, Loebe M. Organ-specific regulation of pro-inflammatory molecules in heart, lung, and kidney following brain death. *J Surg Res* 2005 January;123(1):118-25.
- (39) Avlonitis VS, Fisher AJ, Kirby JA, Dark JH. Pulmonary transplantation: the role of brain death in donor lung injury. *Transplantation* 2003 June 27;75(12):1928-33.

- (40) Mertes PM, Burtin P, Carreaux JP, Pinelli G, Jaboin Y, Burlet C, Boulange M, Villemot JP. Changes in hemodynamic performance and oxygen consumption during brain death in the pig. *Transplant Proc* 1994 February;26(1):229-30.
- (41) Novitzky D, Cooper DK, Wicomb WN. Endocrine changes and metabolic responses. *Transplant Proc* 1988 October;20(5 Suppl 7):33-8.
- (42) Novitzky D. Detrimental effects of brain death on the potential organ donor. *Transplant Proc* 1997 December;29(8):3770-2.
- (43) Avlonitis VS, Wigfield CH, Golledge HD, Kirby JA, Dark JH. Early hemodynamic injury during donor brain death determines the severity of primary graft dysfunction after lung transplantation. *Am J Transplant* 2007 January;7(1):83-90.
- (44) Rosner MJ, Newsome HH, Becker DP. Mechanical brain injury: the sympathoadrenal response. *J Neurosurg* 1984 July;61(1):76-86.
- (45) van LJ, Shivalkar B, Plets C, Goffin J, Tjandra-Maga TB, Flameng W. Catecholamine response to a gradual increase of intracranial pressure. *J Neurosurg* 1993 November;79(5):705-9.
- (46) Herijgers P, Nishimura Y, Flameng W. Endothelial activation through brain death? *J Heart Lung Transplant* 2004 September;23(9 Suppl):S234-S239.
- (47) Herijgers P, Flameng W. The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part II. The cause of the in vivo haemodynamic changes. *Cardiovasc Res* 1998 April;38(1):107-15.
- (48) Herijgers P, Borgers M, Flameng W. The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part I. Is the heart damaged? *Cardiovasc Res* 1998 April;38(1):98-106.
- (49) Lucas BA, Vaughn WK, Spees EK, Sanfilippo F. Identification of donor factors predisposing to high discard rates of cadaver kidneys and increased graft loss within one year posttransplantation--SEOPF 1977-1982. South-Eastern Organ Procurement Foundation. *Transplantation* 1987 February;43(2):253-8.
- (50) Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Beato F, Milford EL, Hancock WW, Tilney NL. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors. *Ann Surg* 2000 August;232(2):263-71.
- (51) Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Laskowski I, Tilney NL. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. *Transplantation* 2000 February 15;69(3):427-30.
- (52) Novitzky D, Wicomb WN, Rose AG, Cooper DK, Reichart B. Pathophysiology of pulmonary edema following experimental brain death in the chacma baboon. *Ann Thorac Surg* 1987 March;43(3):288-94.
- (53) Hachenberg T, Rettig R. Stress failure of the blood-gas barrier. *Curr Opin Anaesthesiol* 1998 February;11(1):37-44.

- (54) Minnear FL, Barrie PS, Malik AB. Effects of epinephrine and norepinephrine infusion on lung fluid balance in sheep. *J Appl Physiol* 1981 June;50(6):1353-7.
- (55) Minnear FL, Connell RS. Increased permeability of the capillary-alveolar barriers in neurogenic pulmonary edema (NPE). *Microvasc Res* 1981 November;22(3):345-66.
- (56) Minnear FL, Barie PS, Malik AB. Lung fluid and protein exchange in the acute sheep preparation. *J Appl Physiol* 1981 June;50(6):1358-61.
- (57) Novitzky D, Cooper DK, Reichart B. Hemodynamic and metabolic responses to hormonal therapy in brain-dead potential organ donors. *Transplantation* 1987 June;43(6):852-4.
- (58) SARNOFF SJ, SARNOFF LC. Neurohemodynamics of pulmonary edema. I. Autonomic influence on pulmonary vascular pressures and the acute pulmonary edema state; a preliminary report. *Dis Chest* 1952 December;22(6):685-98.
- (59) SARNOFF SJ, BERGLUND E. Neurohemodynamics of pulmonary edema. IV. Effect of systemic vasoconstriction and subsequent vasodilation on flow and pressures in systemic and pulmonary vascular beds. *Am J Physiol* 1952 September;170(3):588-600.
- (60) SARNOFF SJ, BERGLUND E, SARNOFF LC. Neurohemodynamics of pulmonary edema. III. Estimated changes in pulmonary blood volume accompanying systemic vasoconstriction and vasodilation. *J Appl Physiol* 1953 January;5(7):367-74.
- (61) Hoff JT, Nishimura M, Garcia-Uria J, Miranda S. Experimental neurogenic pulmonary edema. Part 1: The role of systemic hypertension. *J Neurosurg* 1981 May;54(5):627-31.
- (62) Garcia-Uria J, Hoff JT, Miranda S, Nishimura M. Experimental neurogenic pulmonary edema Part 2: The role of cardiopulmonary pressure change. *J Neurosurg* 1981 May;54(5):632-6.
- (63) Shohami E, Novikov M, Bass R, Yamin A, Gallily R. Closed head injury triggers early production of TNF alpha and IL-6 by brain tissue. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994 July;14(4):615-9.
- (64) Minnear FL, Connell RS. Prevention of aconitine-induced neurogenic pulmonary edema (NPE) with hypovolemia or methylprednisolone. *J Trauma* 1982 February;22(2):121-8.
- (65) Edmonds HL, Jr., Cannon HC, Jr., Garretson HD, Dahlquist G. Effects of aerosolized methylprednisolone on experimental neurogenic pulmonary injury. *Neurosurgery* 1986 July;19(1):36-40.
- (66) Steen S, Liao Q, Wierup PN, Bolys R, Pierre L, Sjoberg T. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2003 July;76(1):244-52.
- (67) Rega FR, Jannis NC, Verleden GM, Lerut TE, Van Raemdonck DE. Long-term preservation with interim evaluation of lungs from a non-heart-beating donor after a warm ischemic interval of 90 minutes. *Ann Surg* 2003 December;238(6):782-92.

- (68) Hanusch C, Nowak K, Gill IS, Torlitz P, Rafat N, Mueller AM, Van Ackern KC, Yard B, Beck GC. Hypothermic preservation of lung allograft inhibits cytokine-induced chemoattractant-1, endothelial leucocyte adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule-1 and intracellular adhesion molecule-1 expression. *Clin Exp Immunol* 2007 August;149(2):364-71.
- (69) Egan TM, Lambert CJ, Jr., Reddick R, Ulicny KS, Jr., Keagy BA, Wilcox BR. A strategy to increase the donor pool: use of cadaver lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg* 1991 November;52(5):1113-20.
- (70) Van Raemdonck DE, Jannis NC, Rega FR, De Leyn PR, Flameng WJ, Lerut TE. Extended preservation of ischemic pulmonary graft by postmortem alveolar expansion. *Ann Thorac Surg* 1997 September;64(3):801-8.
- (71) Steen S, Kimblad PO, Sjoberg T, Lindberg L, Ingemansson R, Massa G. Safe lung preservation for twenty-four hours with Perfadex. *Ann Thorac Surg* 1994 February;57(2):450-7.
- (72) Rega FR, Jannis NC, Verleden GM, Flameng WJ, Lerut TE, Van Raemdonck DE. Should we ventilate or cool the pulmonary graft inside the non-heart-beating donor? *J Heart Lung Transplant* 2003 November;22(11):1226-33.
- (73) Van Raemdonck DE, Jannis NC, De Leyn PR, Flameng WJ, Lerut TE. Warm ischemic tolerance in collapsed pulmonary grafts is limited to 1 hour. *Ann Surg* 1998 December;228(6):788-96.
- (74) Rega FR, Vandezande EJ, Jannis NC, Verleden GM, Lerut TE, Van Raemdonck DE. The role of leukocyte depletion in ex vivo evaluation of pulmonary grafts from (non-)heart-beating donors. *Perfusion* 2003 March;18 Suppl 1:13-21.
- (75) Ide H, Ino T, Hasegawa T, Matsumoto H. The role of leukocyte depletion by in vivo use of leukocyte filter in lung preservation after warm ischemia. *Angiology* 1990 April;41(4):318-27.
- (76) Maron MB. A canine model of neurogenic pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1985 September;59(3):1019-25.
- (77) Minnear FL, Kite C, Hill LA, van der Zee H. Endothelial injury and pulmonary congestion characterize neurogenic pulmonary edema in rabbits. *J Appl Physiol* 1987 July;63(1):335-41.
- (78) van der Hoeven JA, Molema G, Ter Horst GJ, Freund RL, Wiersema J, Van SR, Leuvenink HG, Ploeg RJ. Relationship between duration of brain death and hemodynamic (in)stability on progressive dysfunction and increased immunologic activation of donor kidneys. *Kidney Int* 2003 November;64(5):1874-82.
- (79) van der Hoeven JA, Moshage H, Schuurs T, Nijboer M, Van SR, Ploeg RJ. Brain death induces apoptosis in donor liver of the rat. *Transplantation* 2003 October 27;76(8):1150-4.
- (80) Baumann A, Audibert G, McDonnell J, Mertes PM. Neurogenic pulmonary edema. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007 April;51(4):447-55.

- (81) Sedy J. Concomitant factors leading to neurogenic pulmonary edema development. *J Neurosurg Anesthesiol* 2009 January;21(1):67-8.
- (82) Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 January;157(1):294-323.
- (83) Ricard JD, Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury. *Curr Opin Crit Care* 2002 February;8(1):12-20.
- (84) Ricard JD, Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury. *Eur Respir J Suppl* 2003 August;42:2s-9s.
- (85) de PM, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 February 15;167(4):490-511.
- (86) Wang LS, Yoshikawa K, Miyoshi S, Nakamoto K, Hsieh CM, Yamazaki F, Guerreiro Cardoso PF, Schaeffers HJ, Brito J, Keshavjee SH, . The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989 September;98(3):333-42.
- (87) de PM, Keshavjee S. Lung transplantation. Lung preservation. *Chest Surg Clin N Am* 2003 August;13(3):443-62.
- (88) Toledo-Pereyra LH, Hau T, Simmons RL, Najarian JS. Lung preservation techniques. *Ann Thorac Surg* 1977 May;23(5):487-94.
- (89) Nguyen D, Mulder DS, Shennib H. Warm ischemia induces alteration in lung immune cell functions. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991 June;101(6):1030-6.
- (90) King RC, Binns OA, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD, Tribble CG, Kron IL. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac Surg* 2000 June;69(6):1681-5.
- (91) Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Kern JA, Jones DR, Robbins MK, Kron IL. Ischemia-reperfusion injury after lung transplantation increases risk of late bronchiolitis obliterans syndrome. *Ann Thorac Surg* 2002 April;73(4):1041-7.
- (92) Al-Mehdi AB, Shuman H, Fisher AB. Intracellular generation of reactive oxygen species during nonhypoxic lung ischemia. *Am J Physiol* 1997 February;272(2 Pt 1):L294-L300.
- (93) Zhao G, Al-Mehdi AB, Fisher AB. Anoxia-reoxygenation versus ischemia in isolated rat lungs. *Am J Physiol* 1997 December;273(6 Pt 1):L1112-L1117.
- (94) Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000 February;190(3):255-66.
- (95) Lansman JB. Endothelial mechanosensors. Going with the flow. *Nature* 1988 February 11;331(6156):481-2.
- (96) Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med* 2000 December;136(6):427-40.

- (97) Fischer S, Cassivi SD, Xavier AM, Cardella JA, Cutz E, Edwards V, Liu M, Keshavjee S. Cell death in human lung transplantation: apoptosis induction in human lungs during ischemia and after transplantation. *Ann Surg* 2000 March;231(3):424-31.
- (98) Stammberger U, Gaspert A, Hillinger S, Vogt P, Odermatt B, Weder W, Schmid RA. Apoptosis induced by ischemia and reperfusion in experimental lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 2000 May;69(5):1532-6.
- (99) Eppinger MJ, Jones ML, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Pattern of injury and the role of neutrophils in reperfusion injury of rat lung. *J Surg Res* 1995 June;58(6):713-8.
- (100) Steimle CN, Guynn TP, Morganroth ML, Bolling SF, Carr K, Deeb GM. Neutrophils are not necessary for ischemia-reperfusion lung injury. *Ann Thorac Surg* 1992 January;53(1):64-72.
- (101) Kishima H, Takeda S, Miyoshi S, Matsumura A, Minami M, Utsumi T, Omori K, Nakahara K, Matsuda H. Microvascular permeability of the non-heart-beating rabbit lung after warm ischemia and reperfusion: role of neutrophil elastase. *Ann Thorac Surg* 1998 April;65(4):913-8.
- (102) Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Haslett C, Strieter RM, Dark JH, Corris PA. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 January;163(1):259-65.
- (103) Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med* 2000 December;136(6):427-40.
- (104) de PM, Sekine Y, Fischer S, Waddell TK, McRae K, Liu M, Wigle DA, Keshavjee S. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 January 15;165(2):211-5.
- (105) Eppinger MJ, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Mediators of ischemia-reperfusion injury of rat lung. *Am J Pathol* 1997 May;150(5):1773-84.
- (106) Karow T, Lang-Roth R. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Eigenverlag Karow. 13, 668-677. 1-10-2005.
- (107) Egan TM, Hoffmann SC, Sevala M, Sadoff JD, Schlidt SA. Nitroglycerin reperfusion reduces ischemia-reperfusion injury in non-heart-beating donor lungs. *J Heart Lung Transplant* 2006 January;25(1):110-9.
- (108) Takashima S, Koukoulis G, Inokawa H, Sevala M, Egan TM. Inhaled nitric oxide reduces ischemia-reperfusion injury in rat lungs from non-heart-beating donors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006 July;132(1):132-9.
- (109) Takashima S, Schlidt SA, Koukoulis G, Sevala M, Egan TM. Isoproterenol reduces ischemia-reperfusion lung injury despite beta-blockade. *J Surg Res* 2005 June 1;126(1):114-20.

-
- (110) Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997 September;112(3):676-92.

7 Danksagung

Mein besonderer Dank gehört meinem Doktorvater und Studienleiter PD Dr.med. Florian M. Wagner, der mir die Möglichkeit gegeben hat an dieser Studie teilzunehmen und mich bei der Verfassung der Dissertation bis ins Detail unterstützt hat.

Des Weiteren geht ein ganz besonderer Dank an Dr. med. Sabine Wipper, die neben der Betreuung der Versuche vor allem die Einarbeitung in die chirurgischen und anästhesiologischen Techniken übernommen hat. Ein weiterer Dank geht an das gesamte Studienteam, die vielen Stunden Versuchszeit sind fast wie im Fluge vergangen und haben mir viel Freude bereitet.

Bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. Dr. med. Hermann Reichenspurner der mir die Möglichkeit gegeben hat eine Promotion in der Klinik für Herzchirurgie durchzuführen.

Ein weiteres Dankeschön gebührt Dr. med.vet. Heinz-Gerd Hülsmann der mich mit Rat und Tat insbesondere bei der Erprobung der Hirntodinduktion unterstützt hat.

Nochmals ganz vielen, herzlichen Dank.

Dankeschön auch an Dr.med.Yogesh K. Vashist für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Vielen Dank an Torge Link der mich immer unterstützt hat, sei es bei der Motivation oder aber bei Problemen mit Word oder Excel.

Abschließend möchte ich meinen Eltern Barbara und Weert Duprée danken, welche mir ermöglicht haben zu studieren und alles das zu machen, was für mich wichtig und gut war.

8 Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

9 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.