

Deutsches Herzzentrum München
Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
Abteilung für experimentelle Chirurgie
Klinik der Technischen Universität München

Effekt einer optimierten pulsatilen Perfusion an der Herz-Lungen-Maschine

Markus A. Krane

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer Der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. R. F. Bauernschmitt
2. Univ.- Prof. Dr. P. Tassani-Prell
3. Univ.- Prof. Dr. E. Kochs

Die Dissertation wurde am 24.07.2006 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 24.01.2007 angenommen.

**Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit**

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Fragestellung	
1.1	Historische Einführung.....	1
1.2	Thematische Einleitung und Fragestellung.....	2
2.	Material und Methoden	
2.1	Versuchstiere	8
2.2	Gruppeneinteilung	8
2.3	Perfusionsmodi und Setup der Herz-Lungen-Maschine	
	2.3.1 Pulsatile Perfusion mittels integrierter Kolbenpumpe (Gruppe I)....	9
	2.3.2 pulsatile Perfusion mittels Rollerpumpe (Gruppe II).....	17
	2.3.3 kontinuierliche Perfusion mittels Rollerpumpe (Gruppe III).....	18
	2.3.4 Setup der Herz-Lungen-Maschine.....	19
2.4	Versuchsablauf	
	2.4.1 operative Vorbereitung.....	19
	2.4.2 operatives Vorgehen.....	21
	2.4.3 Messprotokoll.....	23
	2.4.4 Versuchsende.....	25
2.5	Messmethodik	
	2.5.1 hämodynamische Messungen.....	25
	2.5.2 Messung des regionalen Blutflusses.....	27
	2.5.3 Kapilläres Leck.....	37
	2.5.4 hämatologische Messungen.....	41
2.6	Statistik.....	43
3.	Ergebnisse	
3.1	Hämodynamik	
	3.1.1 Hämodynamische Messergebnisse der einzelnen Gruppen.....	44
	3.1.2 Vergleich der Hämodynamik zwischen den Gruppen I bis III.....	51

3.2	regionaler Blutfluss	
	3.2.1 Darm.....	60
	3.2.2 Gehirn.....	64
	3.2.3 Niere.....	66
3.3	kapilläres Leck.....	68
3.4	hämatologische Messungen	
	3.4.1 Hämoglobin.....	70
	3.4.2 Hämatokrit.....	70
	3.4.3 freies Hämoglobin.....	72
	3.4.4 Laktatdehydrogenase.....	73
	3.4.5 Laktat.....	75
	3.4.6 Kreatinin.....	77
	3.4.7 Harnstoff.....	77
	3.4.8 Interleukin 1ra.....	79
	3.4.9 Interleukin 6.....	79
4.	Diskussion	
4.1	Material und Methoden	
	4.1.1 Versuchstiere.....	82
	4.1.2 Verwendete Pumpsysteme und Setup der HLM.....	83
	4.1.3 Angewandte Messmethoden.....	84
4.2	Ergebnisse	
	4.2.1 erzeugte Perfusionsprofile.....	86
	4.2.2 regionaler Blutfluss bei unterschiedlichen Flussprofilen.....	89
	4.2.3 Kapillary Leaks.....	96
	4.2.4 Einfluss des Flussprofils auf die Hämolyse.....	97
	4.2.5 Veränderung der Stoffwechsellage bei verschiedenen Perfusionsmodi.....	99
	4.2.6 Einfluss verschiedener Perfusionsmodi auf die Entzündungsreaktion.....	100
5.	Zusammenfassung.....	102
6.	Literaturverzeichnis.....	104
7.	Abbildungsverzeichnis.....	117
8.	Tabellenverzeichnis.....	119
9.	Danksagung.....	120
10	Lebenslauf.....	121

1. Einleitung

1.1 Historisches

Mit der Einführung der extrakorporalen Zirkulation wurde die Voraussetzung für Operationen am offenen Herzen geschaffen.

In den 30iger Jahren, ausgelöst durch den Tod einer Patientin aufgrund einer fulminanten Lungenembolie, begann John Heysham Gibbon jr. mit der Entwicklung von Apparaturen, mit denen es möglich sein sollte, kurzzeitig die Funktion von Herz und Lunge zu ersetzen [Gibbon 1963]. Durch den Einsatz einer solchen Maschine, sollte eine sichere Embolektomie ermöglicht werden. 1937 berichtete Gibbon erstmals von einer geglückten extrakorporalen Zirkulation bei Katzen.

Am 6. Mai 1953 konnte John H. Gibbon dann erstmals einen erfolgreichen Eingriff unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine beim Menschen durchführen. Bei dieser Operation verschloss Gibbon einen großen Vorhofseptumdefekt bei der 18 jährigen Patientin Cecelia Bavolek [Gibbon 1954].

In Deutschland wurde der erste erfolgreiche Eingriff unter extrakorporaler Zirkulation von Rudolf Zenker am 19. Februar 1958 an der Universitätsklinik Marburg/Lahn durchgeführt. Auch Zenker korrigierte einen Vorhofseptumdefekt, wozu er eine Bypasszeit von 22 Minuten benötigte [Zenker 1958]. Seine chirurgische Tätigkeit setzte Zenker dann ab Oktober 1958 in München fort. Es folgten im geringen zeitlichen Abstand weitere Universitätskliniken mit Meldungen über erfolgreiche Eingriffe unter dem Einsatz der extrakorporalen Zirkulation, so dass bis 1960 an 11 Universitätskliniken der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine möglich war.

1.2 Thematische Einleitung und Fragestellung

Seit der Einführung der Herz-Lungen-Maschine beschäftigten sich viele Arbeitsgruppen mit der Frage ob es für den Organismus von Vorteil sei, während der extrakorporalen

Zirkulation einen pulsatilen Fluss zu generieren. S.A. Wesolowski beschäftigte sich in den 50er Jahren als erster mit dieser Frage. Seine Ergebnisse zeigten keinen eindeutigen Unterschied zwischen der pulsatilen und der nicht-pulsatilen Perfusion [Wesolowski 1953, 1955]. Aufgrund seiner Ergebnisse und des technisch einfacheren und weniger stör anfälligeren Pumpsystems setzte sich in dieser Zeit die nicht-pulsatile gegenüber der pulsatilen Perfusion durch.

Die kontinuierliche Verbesserung der extrakorporalen Zirkulation durch die Optimierung der Pumpsysteme, Filtersysteme, Oxygenatoren und Oberflächenmaterialien lies die Frage nach einem optimalen Perfusionsmodus zunächst in den Hintergrund treten.

Wieder aufgegriffen wurde die Fragestellung nach einem optimalen Perfusionsmodus dann in den 70er Jahren mit der Einführung von modifizierten Rollerpumpen (Sarns und Stöckert). Diese pulsatilen Pumpsysteme waren technisch kaum stör anfällig und konnten sowohl einen pulsatilen als auch einen kontinuierlichen Flussmodus generieren [Boucher 1974, Dunn 1974, Moores 1977, Taylor 1978]. Etwa zeitgleich wurden zahlreiche Studien durchgeführt, bei denen ein pulsatiler Fluss durch eine intraaortale Ballonpumpe [Pappas 1974 und 1975, Grover 1979, Maddoux 1976, Sink 1980, Landymore 1978, Levine 1980] oder durch ein, in den arteriellen Schenkel der HLM, zwischengeschaltetes Pulsatorsystem [Bregman 1977, Steed 1978] erzeugt wurde.

Ein direkter Vergleich der unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse der einzelnen Studien ist jedoch schwierig, da zum einen unterschiedliche Methoden zur Erzeugung eines pulsatilen Flussprofils herangezogen wurden [Grossi 1985, Hickey 1983] und zum anderen sich die erzeugten Flussprofile deutlich voneinander unterscheiden.

So erzeugt eine modifizierte Rollerpumpe, wie sie in vielen Studien eingesetzt wurde, zwar einen „pulsatilen“ Perfusionsmodus, der sich aber deutlich vom physiologischen Flussprofil unterscheidet. Um eine bessere Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlichen Studien zu ermöglichen, fordern mehrere Autoren [Wright 1994, Undar 1999] eine Quantifizierung des benutzten „pulsatilen“ Perfusionsprofils. Hierzu sollten neben den Werten wie aortaler Mitteldruck, maximaler Fluss in der Aorta, systolischer und diastolischer aortaler Druck, auch mindestens die folgenden hämodynamischen Parameter gemessen worden sein: die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}), das Schlagvolumen sowie die Pulsamplitude.

Darüber hinaus schlugen Grossi et al. [Grossi 1985] in diesem Zusammenhang 1985 die Einführung eines „pulse power index“ (PPI) vor. Eine weitere Quantifizierung der Pulsatilität wurde von Wright [Wright 1994] und Ündar [Undar 1999] mit dem „energy

equivalent pressure“ (EEP) wieder aufgegriffen, welcher 1966 von Shepard et al. [Shepard 1966] eingeführt wurde. Nach Meinung von Ündar und Mitarbeitern [Undar 2004] sollte, wenn der PPI oder der EEP nicht berechnet werden können, zumindest eine Quantifizierung des Flusses mittels der Berechnung des pulsatility Index (PI) durchgeführt werden. Bis zum heutigen Tag hat sich keiner der drei Parameter in der Literatur durchsetzen können.

Ein weiterer Grund für die stark differierenden Ergebnisse, bezüglich eines positiven Effektes der pulsatilen Perfusion, liegt in den verwendeten Komponenten der HLM. Die Qualität der Pulsatilität wird durch die verwendeten Oxygenatoren [Undar 1998 und 2000] arteriellen Filter und besonders durch die verwendeten arteriellen Kanülen [Undar 1998, Wright 1989] beeinflusst.

Um den Effekt der unterschiedlichen pulsatilen Systeme gegenüber der kontinuierlichen extrakorporalen Zirkulation untersuchen zu können, bedienten sich die einzelnen Gruppen unterschiedlicher Parameter.

Hämolyse

Unter dem Einsatz der Herz-Lungen-Maschine kommt es zu einer verstärkten Hämolyse und Plättchendestruktion. Ursächlich für die Hämolyse unter extrakorporaler Zirkulation ist die Pumpaktion an sich, die Oberflächenspannung in „bubble“ Oxygenatoren sowie der Scherkraft besonders an der venösen und arteriellen Kanüle [Wright 2001]. Zur Bestimmung des Hämolysegrades diente bei vielen Arbeitsgruppen entweder das Hämoglobin (Hb), das freie Hämoglobin (fHb) oder die Gesamt-Laktatdehydrogenasekonzentration (LDH). Einige Studien konnten eine verstärkte Hämolyse unter pulsatiler extrakorporaler Zirkulation [Dunn 1974, Paquet 1969, Trinkle 1970, Zumbro 1979, Goto 1993] im Vergleich zur nicht pulsatilen Perfusion zeigen. Andere Arbeitsgruppen konnten keinen Unterschied zwischen den Perfusionsmodii bezüglich der Hämolyserate nachweisen [Taylor 1978 und 1982, Pappas 1975, Landymore 1978, Bregman 1977, Grubhofer 2000, Hindman 1994, Jacobs 1969, Ciardullo 1976, Orime 1999, Salerno 1980, Williams 1979].

Stoffwechselsituation

Laktat ist ein Produkt der anaeroben Glykolyse und kann aus diesem Grund den Grad der Gewebshypoxie widerspiegeln. Die erhöhte Laktatkonzentration ist zum großen Teil für die entstehende metabolische Azidose unter EKZ verantwortlich [Jacobs 1969]. Aus diesem Grund wurde zur Beurteilung der metabolischen Situation des Organismus hinsichtlich einer aeroben/anaeroben Stoffwechsellaage unter EKZ von mehreren Arbeitsgruppen der Laktatspiegel im Serum gemessen. Einige Studien konnten eine geringere Laktatkonzentration im Serum unter pulsatiler EKZ nachweisen [Pappas 1975, Shepard 1969, Jacobs 1969, Orime 1996, Trinkle 1969, Singh 1980, Louagie 1992] wohingegen in anderen Studien kein Unterschied gezeigt werden konnte.

Entzündungsreaktion

Die Verwendung der extrakorporalen Zirkulation zieht eine systemische inflammatorische Reaktion nach sich [Casey 1993, Cremer 1996, Wan 1997]. Für die Induktion dieser ausgedehnten systemischen Entzündungsreaktion sind folgende Faktoren verantwortlich [Paparella 2002, Roysten 1997].

1. der Kontakt des Blutes mit einer großen Fremdoberfläche,
2. die unphysiologischen Perfusionsbedingungen,
3. das chirurgische Trauma
4. eine relative Anämie,
5. die Ischämie und Reperfusion des Herzens

Während der systemischen inflammatorischen Reaktion werden sowohl Leukozyten als auch das Komplementsystem aktiviert. Diese Aktivierung führt zu einer vermehrten Exkretion von Zytokinen welche wiederum als Signalsubstanzen in der Immunregulation des Organismus wirken und hierbei einen pro- oder antiinflammatorischen Einfluss haben. Die Interleukine 6 und 8 sind typische Vertreter der proinflammatorisch wirkenden Zytokine. Das Interleukin 6 wird vorwiegend von Makrophagen und Monozyten gebildet [Tonnesen 1996] und besitzt eine bedeutende Rolle bei der Antikörperbildung, bei der Aktivierung und Differenzierung von T-Zellen sowie bei der Produktion von Interleukin 2. Interleukin 6 besitzt als hepatozytenstimulierender Faktor noch eine Schlüsselrolle bei der

Akut-Phase-Reaktion. Durch diesen hapatozytenstimulierenden Effekt fördert IL-6 die Produktion von Akut-Phase-Proteinen, wie beispielsweise dem C reaktivem Protein oder dem Fibrinogen [Tonnesen 1996].

Der Interleukin 1 Rezeptorantagonist (IL-1ra) ist ein Vertreter der antiinflammatorischen Zytokine. Gebildet wird der IL-1ra von Monozyten und neutrophilen Granulozyten [Cassatella 1994]. Die Bildung bzw. Aktivierung des Interleukin 1 Rezeptorantagonisten wird durch die Anwesenheit von Interleukin 10, ebenfalls ein antiinflammatorisches Zytokin, welches vorwiegend in der Leber produziert wird [Wan 1997], gefördert [Cassatella 1994, McBride 1995]. Seine antiinflammatorische Wirkung erzielt der IL-1ra über eine Bindung an den Rezeptoren für Interleukin 1, einem proinflammatorischem Interleukin, ohne an diesem Rezeptor eine biologische Reaktion hervorzurufen [Hannum 1990, Dripps 1991]. Somit wird durch den IL-1ra die proinflammatorische Reaktion von IL-1, durch Belegung der IL-1 Rezeptoren, antagonisiert.

Es ist bekannt, dass während herzchirurgischer Eingriffe sowohl die pro- als auch die antiinflammatorischen Zytokine in ihrer Konzentration zunehmen. Das Konzentrationsmaximum für Interleukin 6 wird 4 Stunden nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation erreicht [Roysten 1997, Tassani 2000]. Das Maximum der Konzentration des Interleukin 1 Rezeptorantagonisten wird 2 Stunden nach Beendigung des Einsatzes der Herz-Lungen-Maschine erreicht [McBride 1995, Tassani 2000].

Einige Arbeitsgruppen konnten unter pulsatiler Perfusion, im Vergleich zur nicht-pulsatilen, eine verringerte proinflammatorische Reaktion beobachten [Loebe 2001], wogegen die Arbeitsgruppen von Orime et al [Orime 1999] und Neuhof et al. [Neuhof 2001] diesen Effekt in ihren Untersuchungen nicht zeigen konnten.

Daten über den Einfluss des Perfusionsmodus auf die antiinflammatorischen Reaktion liegen bislang noch nicht vor.

Mikrozirkulation

Die extrakorporale Zirkulation hat im Organismus einen wesentlichen Einfluss auf die Mikrozirkulation. Für die veränderte Mikrozirkulation werden unterschiedliche Ursachen verantwortlich gemacht:

1. die Umstellung des Perfusionsmodus,
2. der Kontakt des Blutes mit unphysiologischen Oberflächenstrukturen der HLM,

3. die starke Hämodilution durch das priming (Vorfüllung der HLM) der HLM und eine damit verringerte Viskosität des Blutes [Messmer 1972]
4. die Abkühlung der Körpertemperatur unter EKZ und ein damit verbundener Anstieg der Blutviskosität [Wagner 2001, Vazquez-Jimenez 2001]

Unter EKZ wird eine Minderperfusion von Organen und folglich eine Funktionsverschlechterung beobachtet. Dies führt unter anderem zur Induktion und Aufrechterhaltung der oben beschriebenen systemischen Entzündungsreaktion.

Einige Arbeitsgruppen stellten unter HLM mit pulsatischer Perfusion in Niere, [Orime 1996, Sezai 1999, Undar 1999 und 2005] Gehirn und Darm eine Verbesserung des regionalen Blutflusses fest. Andere Arbeitsgruppen konnten hingegen in keinem dieser Organe Unterschiede zwischen pulsatischer und kontinuierlicher Perfusion nachweisen [Sink 1980].

Eine mögliche Ursache für die kontroversen Ergebnisse könnte die unterschiedliche Pulsatilität unter EKZ in diesen Versuchen gewesen sein.

Capillary leaks

Unter dem capillary leak Syndrom versteht man einen vermehrten Austritt von Flüssigkeit und Proteinen aus dem intravaskulären in den interstitiellen Raum. Als Folge des intravaskulären Protein- und Flüssigkeitsverlustes kommt es zu einer Hypovolämie und einer vermehrten Ausbildung von Ödemen [Teelucksingh 1990]. Eine erhöhte Kapillarpermeabilität nach EKZ konnte für einzelne Organe wie die Lunge [Messent 1997] oder den Darm [Cox 1999] nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu fanden Eising et al. [Eising 2000] keine Erhöhung der Kapillarpermeabilität durch den Einsatz der HLM. In dieser Studie wurde eine Zentrifugalpumpe mit kontinuierlichem Flussprofil eingesetzt.

Über die Frage ob der Perfusionsmodus die Ausbildung eines capillary leak syndroms beeinflussen kann, falls dieses bei der extrakorporalen Zirkulation besteht, gibt es derzeit keine Untersuchungen.

Fragestellungen der Dissertation

1. Ist es möglich, unter EKZ ein physiologisches Perfusionsprofil zu erzeugen?
2. Besitzt ein pulsatile Perfusionsmodus unter EKZ im Vergleich zur kontinuierlichen Perfusion für den Organismus einen Vorteil?
3. Bietet ein annähernd physiologischer pulsatile Fluss gegenüber einem unphysiologischem pulsatilem Fluss dem Organismus einen Vorteil?

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 30 Hausschweine. Alle Versuchstiere stammten aus der Tierversuchsanstalt Freising. Sie wurden 4-6 Tage präoperativ in der Versuchstieranstalt der Technischen Universität München gehalten. Die Tierversuche waren gemäß dem Tierschutzgesetz durch das Regierungspräsidium Oberbayern genehmigt (Aktenzeichen: 209.1-2531-80/01)

2.2 Gruppeneinteilung

Gruppe I (n = 10)

In Gruppe I wurde der Effekt der pulsatischen Perfusion unter Herz-Lungen-Maschine (HLM) untersucht. In dieser Gruppe wurde eine computergestützte Kolbenpumpe in den Aufbau der HLM integriert. Dadurch sollte eine physiologische Form der pulsatischen Perfusion erreicht werden. Das mittlere Gewicht betrug $36,9 \pm 3$ kg.

Gruppe II (n = 10)

In dieser Gruppe wurde ebenfalls der Einfluss der pulsatischen Perfusion unter HLM getestet. Der pulsatile Fluss wurde von einer Rollerpumpe (Stöckert SIII, Stöckert[®] Instruments GmbH, München) generiert. Das mittlere Gewicht lag bei $35,6 \pm 4,5$ kg.

Gruppe III (n = 10)

In der Gruppe III wurde der Einfluss der HLM unter kontinuierlichen Perfusionsbedingungen untersucht. Die kontinuierliche Perfusion wurde durch eine Rollerpumpe (Stöckert SIII, Stöckert[®] Instruments GmbH, München) erzeugt. In dieser Gruppe betrug das mittlere Gewicht der Versuchstiere $33,3 \pm 2,8$ kg

2.3 Perfusionenmodii

2.3.1 Pulsatile Perfusion mittels integrierter computergestützter Kolbenpumpe (Gruppe I)

2.3.1.1 Schematischer Aufbau der Kolbenpumpe

Die Kolbenpumpe lässt sich in folgende Funktionseinheiten (Module) unterteilen (Abb. 01):

Modul 1: Ein in einem Zylinder oszillierender Kolben verändert den kontinuierlichen Volumenstrom der Rollerpumpe über die Zeit.

Modul 2: Eine Gewindespindel übersetzt die Drehbewegung des Motors in eine Hubbewegung des Kolbens.

Modul 3: Die nötige mechanische Energie liefert ein Elektromotor.

Modul 4: Die Regelungseinheit besteht aus Lagesensoren, Geschwindigkeitssensoren, Motorreglereinheit und einem PC zur Verarbeitung aller Signale.

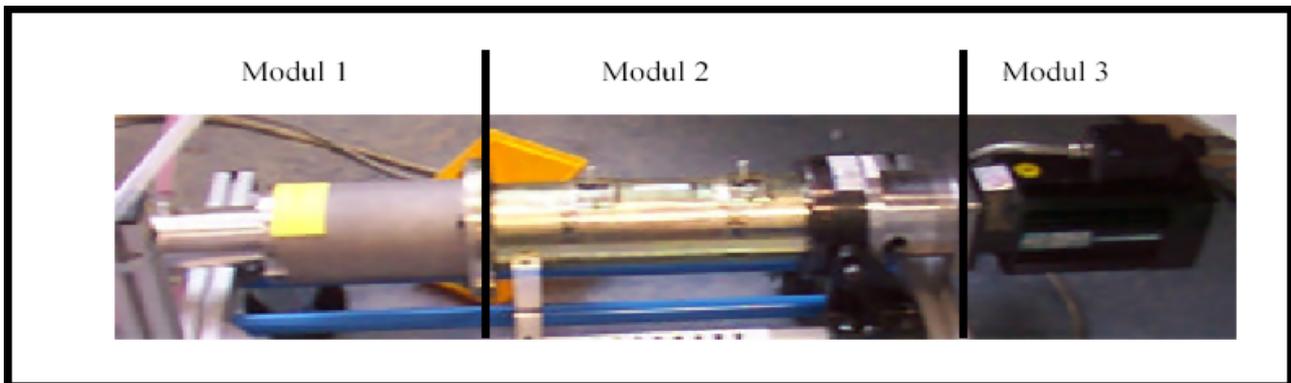


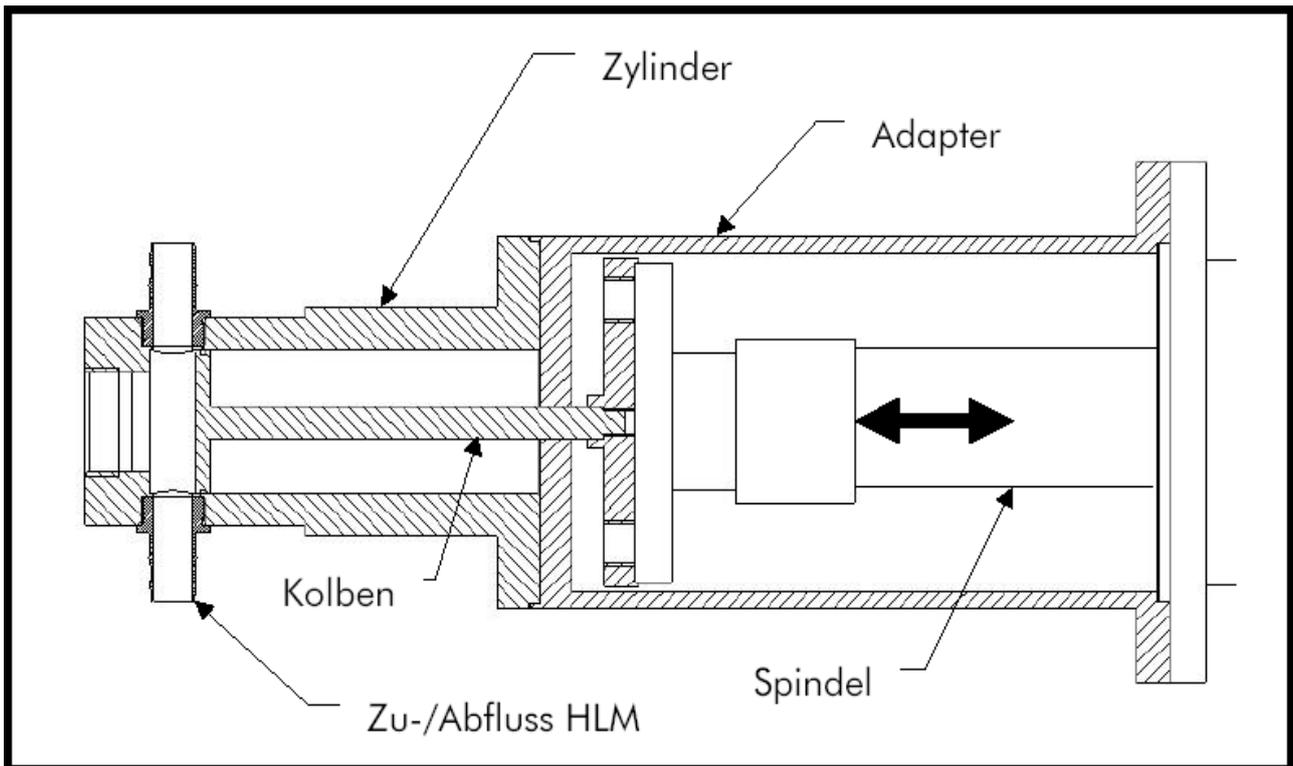
Abbildung 01

Original Abbildung der Kolbenpumpe mit den Modulen 1 bis 3

Modul 1 beinhaltet den Zylinder mit dem Kolben

Modul 2 besteht aus einer Gewindespindel zur Übersetzung von Drehbewegung in Hubbewegung

Modul 3 zeigt den Motor zum Antrieb der Kolbenpumpe

**Abbildung 02**

Schematischer Aufbau der Module 1 und 2

Dargestellt ist der schematische Aufbau der Kolbenpumpe, welche den ihr durch eine vorgeschaltete Rollerpumpe zugeführten kontinuierlichen Blutfluss in einen physiologischen pulsatilen Fluss umwandelt. Der Zu- und Abfluss für das Blut befindet sich am Anfang des Zylinders. Die Hubstrecke reicht maximal bis zum bündigen Abschluss der Kolbenplatte mit der Unterkante der Öffnungen für den Zu- und Abfluss.

Im Modul 2 befindet sich die Gewindespindel, die die Drehbewegungen des Motors in eine Hubbewegung des Kolbens überführt.

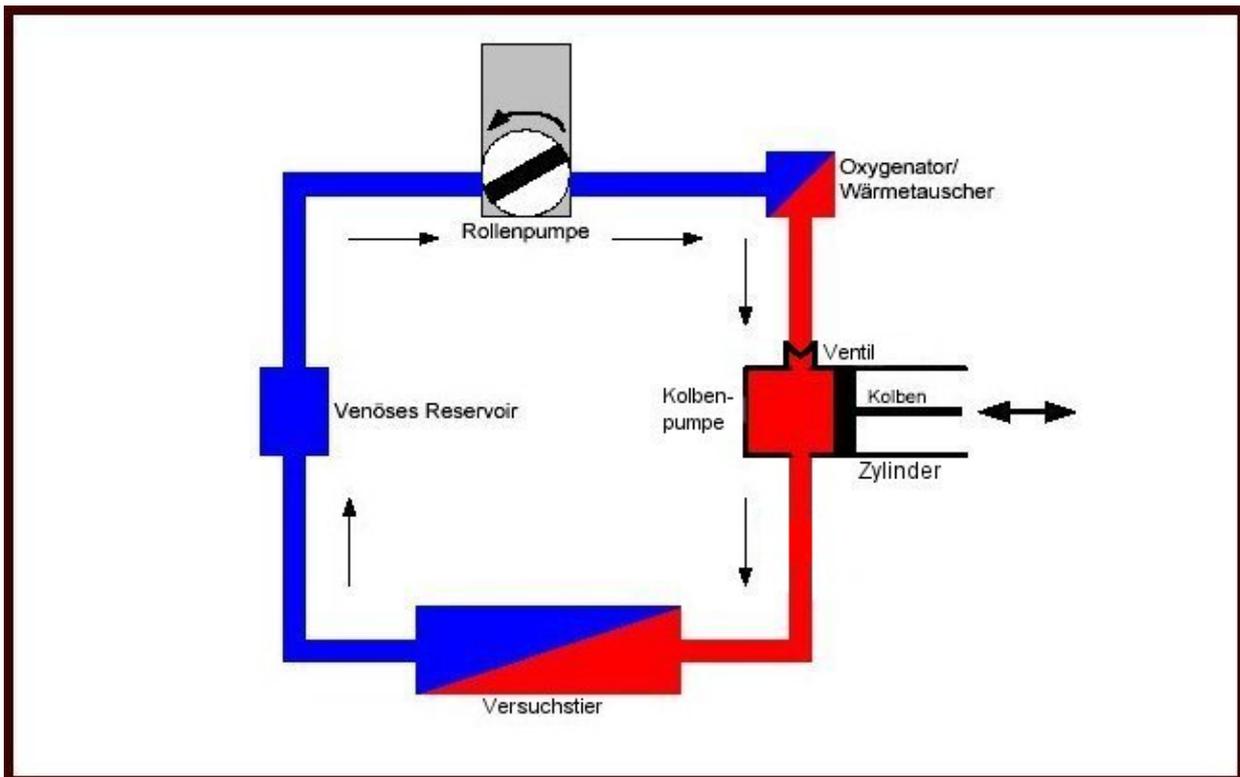


Abbildung 03

Schematischer Aufbau der Integration der computergesteuerten Kolbenpumpe in die HLM. Die Kolbenpumpe wurde hinter dem Oxygenator in den Kreislauf der HLM eingefügt um Druck- und Flussverluste durch den Oxygenator zu vermeiden. Um bei der Vorwärtsbewegung des Kolbens einen Rückfluss in Richtung Oxygenator zu verhindern wurde in diese Richtung ein Ventil, in Form einer Herzklappe, eingefügt.

2.3.1.2 Funktionsprinzip der Kolbenpumpe

Bei der entwickelten Pumpe handelt es sich um eine einfache Kolbenpumpe, bestehend aus einer Zylinder-/Kolbenkombination, die von einem flexiblen Antrieb angetrieben wird. Der Zylinder wird von dem kontinuierlichen Grundfluss, der von der Rollerpumpe geliefert wird, durchflossen. Die Integration der Kolbenpumpe in den Aufbau der HLM ist der Abbildung 03 zu entnehmen. Die Aufprägung je eines Pulsschlages auf den Grundfluss der Rollerpumpe erfolgt in zwei Phasen:

Phase 1: Wird der Kolben zurückgezogen, vergrößert sich das Volumen des Zylinders und muss vom nachströmenden Fluid gefüllt werden. Dies bewirkt eine Reduzierung der Flussrate und des Druckes nach dem Zylinder zum Versuchstier hin.

Phase 2: Wird der Kolben wieder nach vorne bewegt, verkleinert sich das Volumen im Zylinder und das verdrängte Fluid wird ausgestoßen. Ein Entweichen des Fluids in Richtung Rollerpumpe wird durch ein Ventil verhindert. Dadurch kann es nur in Richtung des Versuchstieres entweichen, was im Vergleich zum Grundfluss, zu einer Erhöhung der Flussrate und des Druckes im Körperkreislauf führt.

Die Hubgeschwindigkeit, die Hubstrecke und die Frequenz der Kolbenpumpe können individuell eingestellt werden. Dadurch sollte es ermöglicht werden, die physiologischen Flussbedingungen eines jeden Versuchstieres unter EKZ nachzubilden.

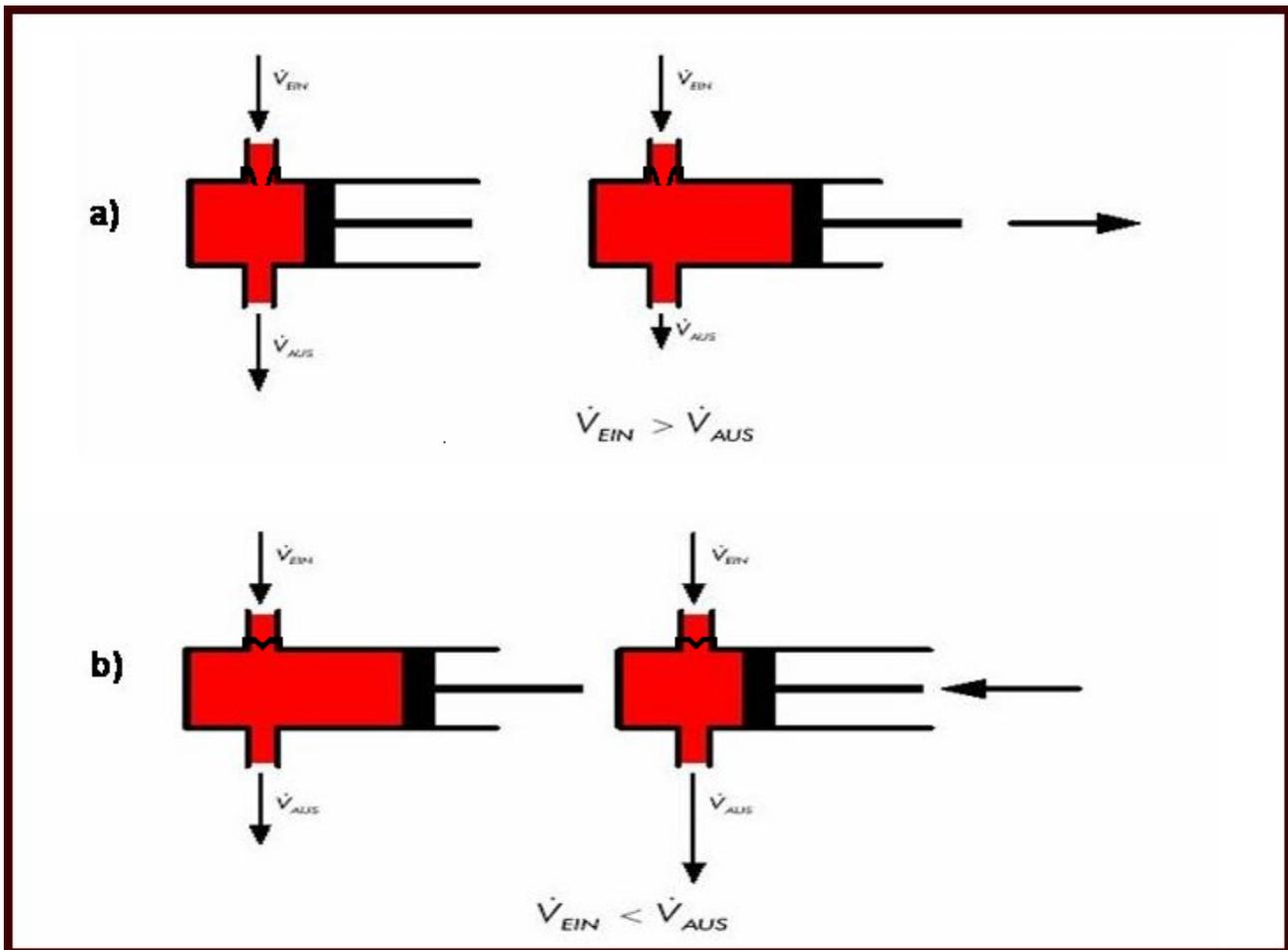


Abbildung 04

Phasen der Kolbenbewegung zur Pulsenerierung

a) Füllungsphase

b) Auswurfphase

2.3.1.3 Berechnung der Sollwerte zur Ansteuerung der Kolbenpumpe

Vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation wurden von dem jeweiligen Versuchstier die aortale Druck- und Flusskurve, über einen Rechner, welcher zur Steuerung der Kolbenpumpe diente, aufgezeichnet. Mit diesen Werten konnten dann die entsprechenden Sollwerte für die Ansteuerung der Kolbenpumpe berechnet werden (Abb. 05).

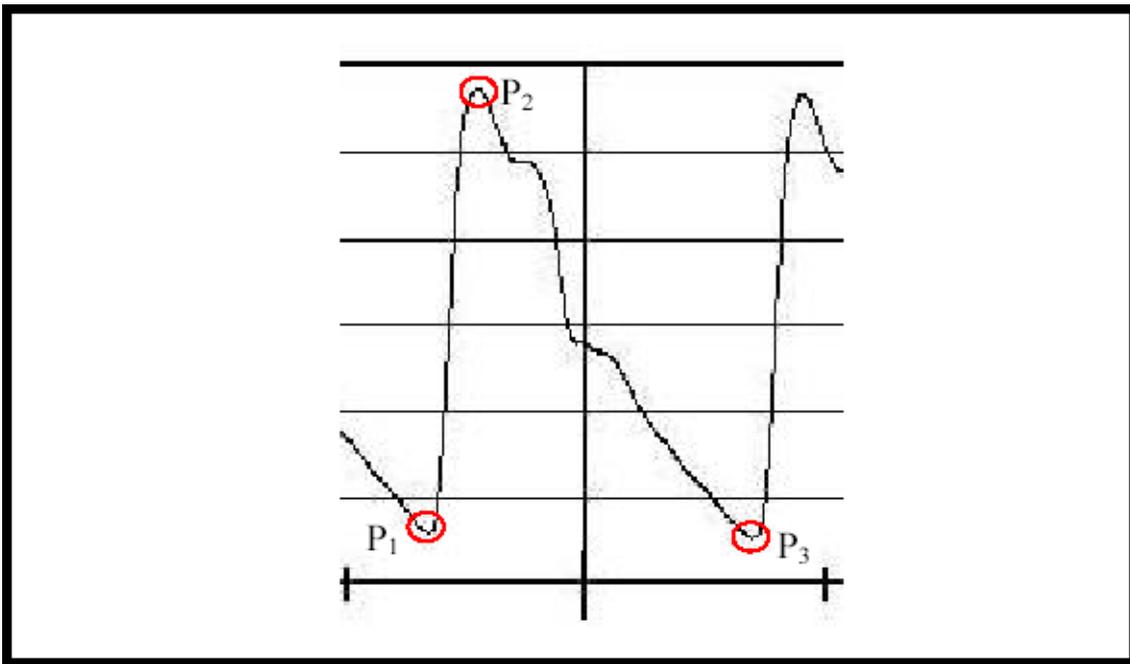


Abbildung 05

Beispiel einer aufgezeichneten aortalen Druckkurve zur Berechnung der Ansteuerung der Kolbenpumpe.

Aus den aufgezeichneten Druckkurven konnten die Pulsfrequenz (f_{Puls}) [bpm] und die Auswurfzeit ($t_{aus\%}$) [%] berechnet werden wobei:

$P_1(t_1;MIN_1)$, $P_2(t_2;MAX)$ und $P_3(t_3;MIN_2)$

$$f_{Puls} = \frac{t_3 - t_1}{60}$$

$$t_{aus\%} = \frac{t_2 - t_1}{t_3 - t_1} \times 100$$

Aus den so gewonnenen Basiswerten wurden die Sollwerte für die Steuerung der Kolbenpumpe, bzw. für den Antriebsmotor der Pumpe berechnet. Hierzu wurden folgende Werte benötigt:

- Hubstrecke (S_{HUB}) [mm]
- Rückhubgeschwindigkeit ($V_{RÜCK}$) [mm/s]
- Vorhubgeschwindigkeit (V_{VOR}) [mm/s]
- Beschleunigung (a_{HUB}) [mm/s²]

Alle diese Werte hängen sowohl von den physiologischen Grundwerten, als auch von der konstruktiv festgelegten Geometrie des Kolben/Zylinders ab.

Berechnung der Füllzeit (t_{EIN}) und Auswurfzeit (t_{AUS}):

Es wurde die Zeit berechnet, die dem System maximal zur Verfügung stand, um den Zylinder zu füllen und wieder zu leeren.

$$t_{AUS} = \frac{60s}{f_{PULS}} \times \frac{t_{AUS}}{100}$$

$$t_{EIN} = \frac{60s}{f_{PULS}} \times \left(1 - \frac{t_{AUS}}{100}\right)$$

Berechnung der maximalen Rückhubgeschwindigkeit ($V_{RÜCK}$) des Kolbens in der Füllphase:

In der Füllphase durfte sich der Kolben nur so schnell zurückbewegen (Rückhub), das im Zylinder gerade kein Unterdruck auftrat, da ansonsten eine Schädigung des Blutes die Folge gewesen wäre. D.h. der Kolben durfte sich gerade so schnell zurückbewegen, wie das Blut in den Zylinder einströmen konnte. Daraus resultierte ein direkter Zusammenhang zwischen dem Volumenstrom (V_{GRUND}) und der Rückhubgeschwindigkeit des Kolbens ($V_{RÜCK}$). Zur Berechnung dieser Geschwindigkeit musste zuerst der maximal zulässige Weg des Kolbens ($S_{HUB,MAX}$) berechnet werden. Dieser berechnete sich direkt aus dem Volumenstrom und der Zylindergeometrie.

$$S_{HUB, MAX} = \frac{\frac{V_{Grund} \times 100^3}{60} \times t_{EIN}}{\frac{d_{ZYL}}{2} \times \pi}$$

Mithilfe der maximal zulässigen Hubstrecke des Kolbens konnte man die Rückhubgeschwindigkeit des Kolbens berechnen.

$$V_{RÜCK} = \frac{S_{HUB, MAX}}{t_{EIN}}$$

Berechnung der echten Hubstrecke (S_{HUB}) unter Berücksichtigung der Beschleunigung des Kolbens:

Da bei der oben angeführten Berechnung bisher weder die Beschleunigung noch das Abbremsen des Kolbens berücksichtigt wurden, musste nun mit Hilfe der maximalen Rückhubgeschwindigkeit $V_{Rück}$ die notwendige Beschleunigungszeit errechnet werden. Aus dieser und der zulässigen Geschwindigkeit konnte dann der real mögliche Hubweg S_{HUB} berechnet werden.

$$t_{a, RÜCK} = \frac{V_{RÜCK}}{a_{HUB} \times 1000}$$

$$t_{RÜCK} = t_{EIN} - 2 \times t_{a, RÜCK}^2$$

$$S_{HUB} = t_{RÜCK} \times V_{RÜCK} + a_{HUB} \times 1000 \times t_{a, RÜCK}^2$$

Berechnung der Vorhubgeschwindigkeit (V_{VOR}):

Zur Entleerung des Zylinders musste die zur Verfügung stehende Zeit t_{AUS} , die zurückzulegende Strecke S_{HUB} und die Beschleunigung/Verzögerung a_{HUB} des Kolbens vorgegeben werden. Daraus konnte die Geschwindigkeit berechnet werden, mit der der Kolben das Blut ausstoßen musste, um in der vorgegebenen Zeit die notwendige Strecke zurückzulegen. Hierzu musste zuerst die Zeit $t_{a, VOR}$ berechnet werden, die zur Beschleunigung zur Verfügung stand. Mittels der Beschleunigungszeit konnte dann die notwendige Vorhubgeschwindigkeit V_{VOR} berechnet werden.

$$t_{a,VOR} = \frac{a_{HUB} \times t_{AUS} \times 1000 - \sqrt{(a \times t_{AUS}^2 - 4 \times a_{HUB} \times S_{HUB}) \times 1000}}{2 \times a_{HUB} \times 1000}$$

$$V_{VOR} = a_{HUB} \times t_{a,VOR} \times 1000$$

Bei den bisher berechneten Werten ($V_{RÜCK}$, V_{VOR} , S_{HUB} , a_{HUB}) handelte es sich um translatorische Werte, die sich auf die Spindel bzw. den Kolben bezogen haben. Da der eigentliche Antrieb aber ein rotatorischer ist, mussten unter Einbeziehung der Spindelsteigung $m_{Spindel}$ alle Werte in rotatorische Werte umgerechnet werden. Mit Hilfe der so berechneten Sollwerte konnte die pulsatile Perfusion vorgenommen werden.

2.3.2 pulsatile Perfusion mittels Rollerpumpe (Gruppe II)

In der Gruppe II wurde der pulsatile Fluss durch eine Rollerpumpe (Stöckert SIII, Stöckert® Instruments GmbH, München) generiert, die im klinischen Routinebetrieb eingesetzt wird. Bei der Stöckert SIII handelt es sich um eine Pumpe, welche in der Lage ist ein pulsatile als auch ein annähernd kontinuierliches Perfusionsprofil zu generieren. Der Pumpkopf besteht aus zwei gegenüberliegenden Rollern, welche das Blut durch ein elastisches Schlauchsystem „pressen“. Als Widerlager befindet sich der Schlauch in einem kreisförmigen Edelstahlgehäuse (siehe Abbildung 06). Aufgrund dieses Pumpmechanismus handelt es sich bei der Rollerpumpe um ein nahezu vollständig okklusives Pumpsystem. Durch einen Wechsel zwischen Beschleunigung und Abbremsen des Rollers ist die Pumpe in der Lage ein pulsatile Flussprofil zu erzeugen. Das geförderte Volumen der Rollerpumpe betrug 80 ml/min/kg Körpergewicht (KG). Die Frequenz orientierte sich an den präoperativ aufgenommenen Daten des Versuchstieres.

2.3.3 kontinuierliche Perfusion mittels Rollerpumpe (Gruppe III)

In der Gruppe III wurde zur Generierung eines kontinuierlichen Perfusionsprofil ebenfalls die Stöckert SIII Rollerpumpe eingesetzt. Der nahezu kontinuierliche Fluss wird durch ein „auspressen“ des Perfusates bei konstanter Geschwindigkeit der Roller erzeugt. Das geförderte Volumen lag bei 80ml/kg KG/min.

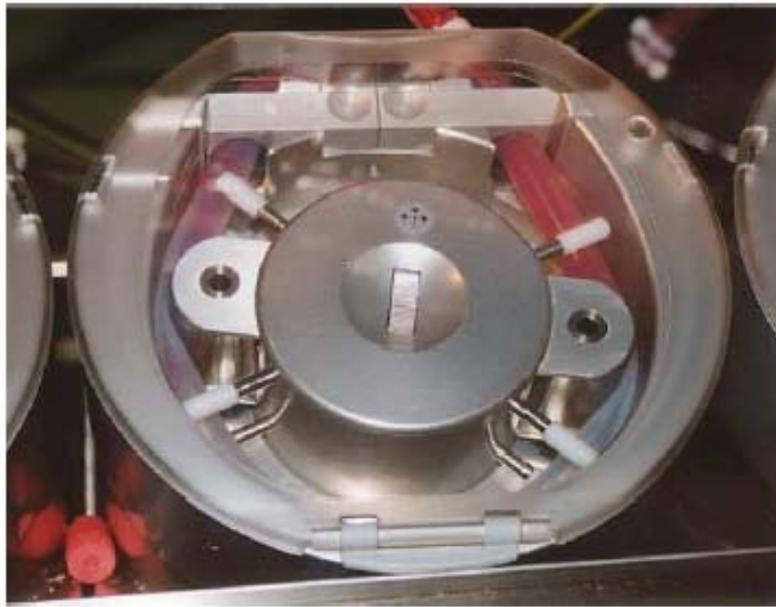


Abbildung 06

Die Abbildung zeigt den Pumpkopf einer Stöckert Rollerpumpe. Zu sehen ist der elastische Schlauch in dem kreisförmigen Widerlager sowie die beiden sich gegenüberliegenden Roller. Durch das Ausstreichen des elastischen Schlauchs durch die Roller fördert die Pumpe das eingestellte Volumen. Ihr okklusiver Pumpmechanismus ist an dem leeren Schlauch zu erkennen, der sich am unteren Bildrand zwischen den beiden Rollern befindet.

2.3.4 Setup der Herz-Lungen-Maschine

In allen drei Gruppen wurde das gleiche Setup der HLM benutzt.

- Oxygenator (COBE® Cardiovascular, Sorin Biomedica, U.K.)
- Schlauchset für die Herz-Lungenmaschine (COBE® Cardiovascular, Sorin Biomedica, U.K.)
- Sentry™ arterieller Filter (COBE® Cardiovascular, Sorin Biomedica, U.K.)
- Kardiotomie-Reservoir mit Filter (COBE® Cardiovascular, Sorin Biomedica, U.K.)
- Venöse Kanüle (32F, Stöckert® Instrumente GmbH, München)
- Arterielle Kanüle (8mm,gerades Ansatzstück, Stöckert® Instrumente GmbH, München)

Das Priming, also die Vorfüllung der HLM war ebenfalls in allen drei Gruppen gleich:

- 2000ml Ringer-Lösung
- 3ml/kg KG Mannit 20%
- 10ml Inzolen
- 1ml Heparin
- 50ml Natriumbikarbonat 8,4%

Damit bestand das Primingvolumen insgesamt aus ca. 2200ml.

2.4 Versuchsablauf

2.4.1 operative Vorbereitung

2.4.1.1 Narkose

12 Stunden präoperativ erhielten die Schweine keine Nahrung mehr, jedoch Wasser ad libidum. Etwa eine ½ Stunde vor Narkosebeginn wurden die Tiere durch eine intramuskuläre Injektion von 5ml Ketamin (CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe) plus 1ml Atropinsulfat (Atropinsulfat 0,5mg/ml, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) prämediziert.

Zur Einleitung der Narkose wurde eine Verweilkanüle in eine Vene des rechten Schweineohres eingeführt. Über diese Kanüle wurde ein Bolus von 20ml Trapanal (Trapanal®0,5g, Altana Pharma GmbH, Konstanz) und 5ml Sufenta (Sufentanildihydrogencitrat 0,375mg/5ml, Jansen-Cilag GmbH, Neuss) appliziert. Zur Initialisierung der Muskelrelaxation wurden 8mg Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed®, CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe) über die Verweilkanüle injiziert. Im Anschluss an die endotracheale Intubation wurde die Beatmung des Tieres über einen Respirator gewährleistet. Zur Beatmung diente ein Gasgemisch aus reinem Sauerstoff und Distickstoffmonoxid, welches mit einer fraction of inspirate oxygen (FIO₂) von 0,5 zugeführt wurde. Intraoperativ ist die Narkose durch kontinuierliche Gabe von Sufenta (Sufentanildihydrogencitrat 0,375mg/5ml, Jansen-Cilag GmbH, Neuss) und Midazolam (Midazolam-ratiopharm® 5 mg/5ml, Ratiopharm GmbH, Ulm) aufrechterhalten worden. Die Relaxation wurde mit einer kontinuierlichen Gabe von Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed®, CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe) aufrechterhalten. Alle, zur Aufrechterhaltung der Narkose bzw. Muskelrelaxation, benötigten Substanzen wurden über Infusiomaten infundiert.

Zur Überwachung der Pulsfrequenz und der elektrischen Herzaktivität wurde ein Elektrokardiogramm (EKG) kontinuierlich abgeleitet. Atemfrequenz, Atemzugvolumen und FIO₂ wurden entsprechend den Blutgasanalysen, welche alle 30 min. erfolgten, korrigiert. Zielwerte für den arteriellen pO₂ lagen bei 100–130mmHg und für pCO₂ bei 35–42mmHg. Weiterhin wurden die Blutkonzentration von Natrium und Kalium bestimmt, sowie der pH Wert und Base Excess. Bei von der Norm abweichenden Werten wurden diese entsprechend korrigiert.

2.4.1.2 arterielle und venöse Zugänge, Blasenkatheterisierung

Nach erfolgter Präparation der rechten A. femoralis wurde über dieses Gefäß ein Kathetertip – Druckmanometer (Millar MIKRO-TIP® SPC-350, Houston, Texas, USA) zur Druckmessung in die Aorta descendens eingeführt. Distal der Kathereintrittsstelle wurde die Arterie ligiert und proximal der Katheter mit einem Tourniquet sicher fixiert.

Zur Entnahme von arteriellen Blutproben bzw. der Blutsample für die Messung des regionalen Blutflusses wurde ein Cavafix®-Katheter (Cavafix® Certo® 358, 16G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) in die linke A. femoralis eingeführt.

Zur Applikation der Narkose und der Evans–Blue-Lösung wurde ein handelsüblicher 4lumiger Venenkatheter (Arrow-HowesTMQuad-Lumen central venous catheter, Arrow International Inc, USA) in die rechte V. jugularis externa eingeführt.

Die Volumenbilanzierung erfolgte über einen suprapubischen Blasenkatheter (Silkomed[®] Rüschi Brilliant, Willy Rüschi AG, Kernen).

2.4.2 operatives Vorgehen

Der Zugang zum Herzen erfolgte über eine mediane Thorakotomie mit Längs-Inzision des Perikards. Zur Darstellung der Aorta descendens wurde die linksseitige Pleura eröffnet. Um die Aorta descendens wurde oberhalb der kreuzenden Lungenvenen ein Flussmesskopf (A-Serie, Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) angelegt. Für die Injektion der fluoreszenz-markierten Microspheres wurde ein Cavafix[®] – Katheter (Cavafix[®] Certo[®] 455, 14G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) über das linke Herzohr in den linken Vorhof eingebracht. Im weiteren Verlauf wurden die Schweine mit 500IE/kg KG heparinisiert (Liquemin[®] N25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen). Nach Entfernung des Thymus wurde die Aorta ascendens kanüliert. Es handelte sich um eine Kanüle (Aortenbogenkanüle mit Ansatzstück, 8mm, Stöckert[®]Instrumente GmbH, München) mit einem geraden Endstück und einem Durchmesser von 8mm. Die venöse Kanülierung (Venöser Katheter, 32F, Stöckert[®]Instrumente GmbH, München) erfolgt über das rechte Herzohr. Nach Beginn der EKZ wurde Kammerflimmern induziert und die Aorta ascendens abgeklemmt. Anschließend wurde Bretschneider-Kardioplegielösung (Custadiol[®], Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein) in die Aorta ascendens infundiert. Über die Herzspitze wurde ein Vent (Vent Katheter, AD 0 12 FR, Jostra AG, Hirrlingen) in den linken Ventrikel platziert. In den Gruppen I und II wurde während der Abklemmphase eine pulsatile Perfusion durchgeführt. An diese Phase schloss sich eine 60 minütige Reperfusionphase unter kontinuierlichem Fluss an. In dieser Zeit schlug das Herz, ohne Volumenbelastung, im Sinusrhythmus. Am Ende der Reperfusionphase konnten die Schweine unter stabilen Bedingungen von der HLM entwöhnt werden. Zur Wiederherstellung der Blutgerinnung wurde den Versuchstieren nach erfolgter Dekanülierung Protamin (Protamin 1000 I.E./ml, ICN Pharmaceuticals Germany GmbH, Frankfurt/Main) in einer Dosis von 1ml Protamin pro 1000 Einheiten injiziertem Heparin

verabreicht. In der folgenden Beobachtungsphase wurde das Sternum mit scharfen Klemmen geschlossen.

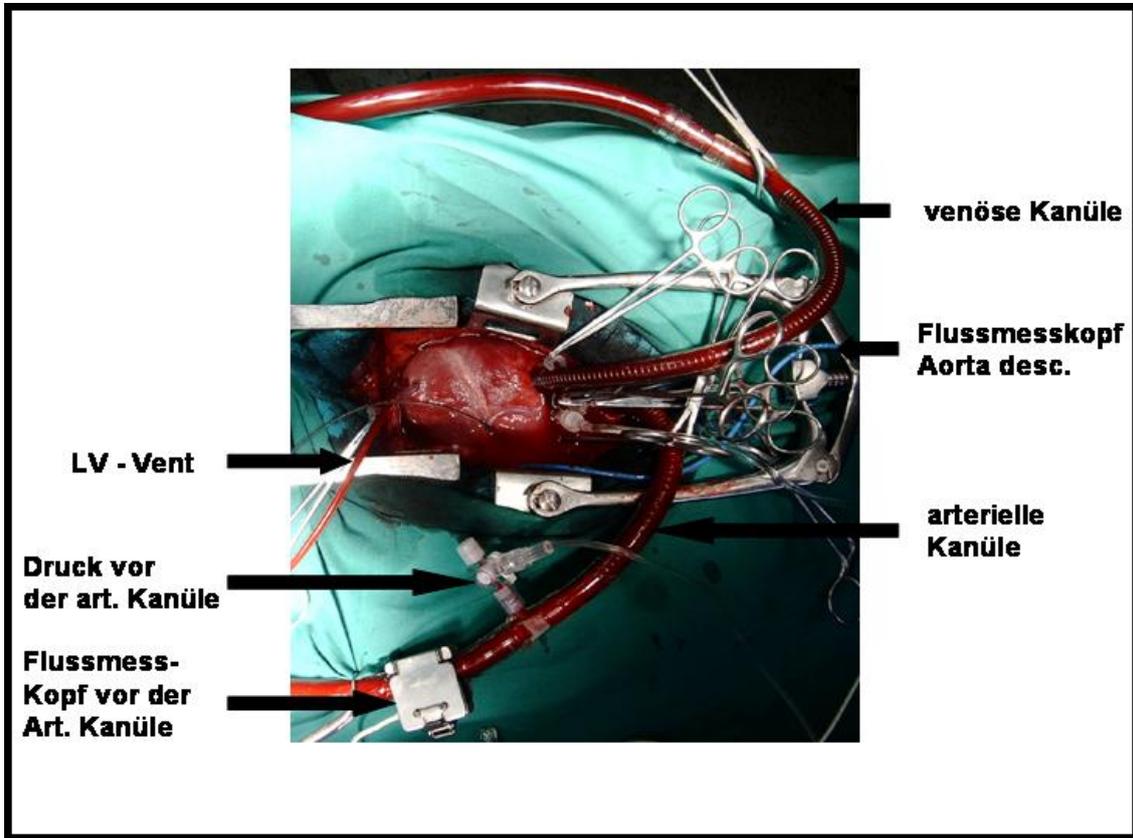


Abbildung 07

Zum Anschluss an die Herz-Lungen-Maschine ist eine venöse und arterielle Kanüle sowie ein linksventrikulärer Vent platziert worden. Um die Druck- und Flussverhältnisse vor Eintritt des Blutes in den Organismus aufzeichnen zu können sind an der arteriellen Linie ein Flussmesskopf sowie ein Drucksensor angeschlossen worden. Zur Messung der Flussbedingungen im Organismus wurde ein Flussmesskopf um die Aorta desc. gelegt.

2.4.3 Messprotokoll

Während der Versuche wurde über die angebrachten Katheter und Flussmessköpfe die folgenden Parameter auf einem Mehrkanalschreiber kontinuierlich registriert: Aortendruck (AOP), Druckanstiegsgeschwindigkeit der aortalen Druckkurve (dp/dt), zentralvenöser Druck (ZVD), Druck in der arteriellen Linie kurz vor der Kanüle (PKa), Aortenfluss (AOF) sowie der Fluss unmittelbar an der arteriellen Kanüle (FKa).

Zur Bestimmung des Albuminverlustes wurden 2 Messungen mit Evans Blue durchgeführt. Die Referenzmessung fand vor der Kanülierung statt, die zweite Messung wurde zwischen der dritten und vierten Stunde in der Nachbeobachtungsphase durchgeführt.

Die Injektion der Microspheres zur Messung des regionalen Blutflusses erfolgte zu fünf Zeitpunkten: vor HLM, nach 120 min HLM, nach 60 min Reperfusion und 180 bzw. 360 min nach HLM.

Zur Analyse der hämatologischen Parameter wurde zu neun Messzeitpunkten Blut aus dem Katheter der linken Femoralarterie gewonnen: direkt nach Platzierung des arteriellen Katheters, direkt nach Abklemmen der Aorta, 60 und 120 min nach Abklemmen der Aorta, nach 60 min Reperfusion, direkt nach der Dekanülierung sowie nach 120, 240 und 360 min nach HLM.

Zu jedem Messzeitpunkt wurde jeweils eine heparinisierte (S-Monovette[®] 7,5ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht), eine EDTA beschichtete (S-Monovette[®] 2,7ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) sowie eine EDTA/Fluorid beschichtete Monovette (S-Monovette[®] 2,7ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) abgenommen.



Abbildung 08

Chronologische Darstellung des Versuchsprotokolls. (LP = Laborprobe)

2.4.4 Versuchsende

Die Versuchstiere wurden nach Beendigung der Nachbeobachtungszeit, vor Erwachen aus der Narkose, getötet. Dies geschah durch eine intrakardiale Injektion einer gesättigten KCl-Lösung.

Nach Eintritt des Todes wurden dem Schwein folgende Organe entnommen:

- Gehirn
- beide Nieren
- Duodenum, Ileum und Kolon.

Die Organe wurden in 4,5% Formalinlösung (Formaldehyd-Lösung 4,5%, Otto Fischer GmbH & Co. KG, Saarbrücken) fixiert:

2.5 Messmethodik

2.5.1 hämodynamische Messungen

Folgende hämodynamische Messwerte wurden auf einem Mehrkanalschreiber parallel aufgezeichnet:

- Aortendruck (AOP) [mmHg],
- Druck vor der Kanüle (PKa) [mmHg],
- Aortenfluss (AOF) [l/min],
- Fluss vor der Kanüle (FKa) [l/min],
- zentraler Venendruck (ZVD) [mmHg].

Aus diesen Messwerten konnten dann die weiteren hämodynamischen Parameter berechnet werden:

- maximale aortale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) [mmHg/sec]
- Pulsamplitude (PP) [mmHg]
- pulsatility Index (PI)
- Herzfrequenz (Hf) [1/min]
- Schlagvolumen (SV) [ml]
- Schlagarbeit (SA).[mmHg x ml]

Während der Messphase wurde der Papiervorschub auf 50 mm/s eingestellt. Außerhalb der Messphasen diente eine kontinuierliche Aufzeichnung der Messdaten zur Überwachung der Versuchstiere, hierbei wurde eine Papiervorschubgeschwindigkeit von 10mm/min gewählt.

Die aufgezeichneten hämodynamischen Messdaten wurden bei der Versuchsgruppe I zusätzlich über eine Kabelverbindung zum Steuerrechner der Kolbenpumpe übertragen. Mit diesen Daten konnte dann die Sollwert-Berechnung zur Ansteuerung der Pumpe vorgenommen werden.

2.5.1.1 Messzeitpunkte

Die Aufzeichnung der hämodynamischen Daten wurde jeweils vor HLM, nach 120 min HLM, nach 60 min Reperfusion und 180 bzw. 360 min nach HLM vorgenommen.

2.5.1.2 Druckmessung

Zur Druckmessung in der Aorta wurde ein Millar Mikro-Tip Katheter (Millar MIKRO-TIP® SPC-350, Houston, Texas, USA) verwendet. Bei diesem Kathetertyp befindet sich seitlich an der Spitze eine Membran, welche einen empfindlichen elektromagnetischen Druckaufnehmer steuert. Zwischen Katheter und Mehrkanalschreiber wurde ein Mikro-Tip Transducer (Millar MIKRO-TIP® Transducer TC-510) zwischengeschaltet. Hierüber war es möglich, vor Versuchsbeginn, eine Eichung des Katheters bei 0 mmHg und bei 100 mmHg vorzunehmen.

2.5.1.3 Flussmessung

Zur Flussmessung in der Aorta (A-Serie, Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) und am Schlauchsystem der HLM direkt vor der Aortenkanüle wurden Ultraschallflussmessköpfe (C-Serie, Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) verwendet. Die Ultraschallköpfe arbeiten nach dem Ultraschallaufzeitverfahren, modifiziert durch die Wide-beam-Technik. Der Ultraschallkopf besteht aus zwei Wandlern und einem diesen beiden Wandlern gegenüberliegenden Reflektor. Gemessen wird bei diesem Verfahren die Zeit, die der Schall benötigt, um vom ersten Wandler, umgelenkt über den Reflektor, zum zweiten Wandler zu gelangen. Diese Messung wird einmal in Richtung mit dem Blutfluss und danach in entgegengesetzter Richtung zum Blutfluss vorgenommen. Mithilfe der Differenz zwischen beiden Laufzeiten kann die Flussgeschwindigkeit berechnet werden.

2.5.2 Messung des regionalen Blutflusses

Zur Bestimmung des regionalen Blutflusses (RBF) wurden fluoreszenz-markierte Microspheres (FluoSpheres®, Molecular Probes, MoBiTec, Göttingen) mit einem Durchmesser von 15 µm benutzt [Thein 2002, Glenny 1993]. Um die Bestimmung des RBF zu fünf unterschiedlichen Messzeitpunkten durchführen zu können, wurden folgende Farben verwendet (in Klammern sind die Extinktions- und Emissions-Maxima angegeben):

- 1. Injektion – yellow-green (505/515)
- 2. Injektion – blue-green (430/465)
- 3. Injektion – red (580/605)
- 4. Injektion – orange (540/560)
- 5. Injektion – crimson (625/645)

2.5.2.1 Messzeitpunkte

Zur Beurteilung des Einflusses der unterschiedlichen Perfusionsmodii auf die regionale Durchblutung einzelner Organe wurden die folgenden 5 Messzeitpunkte gewählt:
vor HLM, nach 110 min HLM, nach 60 min Reperfusion und 180 bzw. 360 min nach HLM.

2.5.2.2 Prinzip der Messung des RBF mittels fluoreszenz-markierter Microspheres

Das Prinzip der Messung des RBF mittels fluoreszenz-markierter Microspheres (MS) beruht auf der Tatsache, dass sich die injizierten Microspheres proportional zum spezifischen Blutfluss der einzelnen Organe, im Gewebe anreichern. Voraussetzung hierfür ist eine homogene Durchmischung zwischen MS und Blut. Die Anzahl bzw. die gemessene Emission der Microspheres in einem Gewebestück entspricht somit dem momentanen regionalen Blutfluss in der analysierten Gewebeprobe. Um den regionalen Blutfluss in ml/min angeben zu können benötigt man eine Referenzprobe welche in Form von einem Blutsample gewonnen wird. Hierbei wird über einen in der Aorta liegenden Katheter (Cavafix® Certo® 358, 16G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) mittels einer Pumpe ein Blutsample abgenommen. Dies geschieht mit einer vorgegebenen Abnahmegeschwindigkeit. Somit ist die Anzahl bzw. Emission des Blutsamples proportional zur eingestellten Abnahmegeschwindigkeit der Pumpe. Setzt man die gemessene Emission der Gewebeprobe in Beziehung zu der Abnahmegeschwindigkeit und der Emission des Blutsamples lässt sich der regionale Blutfluss der Gewebeprobe errechnen.

$$RBF = \frac{E_{\text{Gewebe}} \times F_{\text{Blut}}}{E_{\text{Blut}}}$$

E_{Gewebe} = gemessene Emission in der Gewebeprobe

F_{Blut} = definierte Abnahmegeschwindigkeit mit der das Blutsample gewonnen wurde

E_{Blut} = gemessene Emission im Blutsample

2.5.2.3 Durchführung der Messung

2.5.2.3.1 Vorbereitung der Injektionslösung

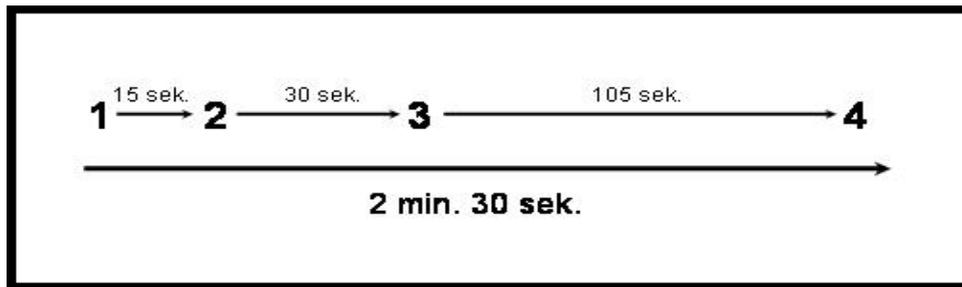
Die Microspheres liegen in einer Konzentration von $10^6/\text{ml}$ vor und sind in einer Suspension aus 10ml 0,15 M NaCl mit 0,05% Tween 20 und 0,02% Thimerosal gelöst. Um bei der Abnahme der zu injizierenden Menge an Microspheres die Konzentration von $10^6/\text{ml}$ gewährleisten zu können, wurden die Fläschchen mit der Stock-Lösung zuvor 3 min gevortext, danach für 5 min in ein Ultraschallbad gegeben und anschließend

nochmals 3 min gevortext. Die Menge von 10^6 MS/10kg Körpergewicht des Versuchstieres wurde auf ein Gesamtvolumen von 20 ml mit 0,9% NaCl-Lösung (isotonische Natriumchlorid-Lösung, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) verdünnt.

Um bei der Abnahme der benötigten Referenzprobe die Blutgerinnung in der Abnahmespritze zu unterbinden, wurden in diese 20ml Spritze, 6ml Na-Citrat (Natriumcitratlösung 3,13%, Eifelfango – Chem.pharm. Werke, Bad Neuenahr-Ahrweiler) aufgezogen.

2.5.2.3.2 Injektionsprotokoll

Die vorbereiteten Microspheres wurden über einen Katheter (Cavafix[®] Certo[®] 344, 14G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) in den linken Vorhof bzw. unter HLM über einen 3 Wegehahn in die arterielle Kanüle injiziert. Aufgrund der Herzkontraktionen bzw. der Turbulenzen am Ausgang der Kanüle konnte eine ausreichende Durchmischung der MS im Blut gewährleistet werden. Die Injektion der MS wurde über einen Zeitraum von 30 Sekunden durchgeführt. 15 Sekunden vor Beginn der Injektion der MS wurde über einen Femoralarterienkatheter (Cavafix[®] Certo[®] 358, 16G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) mit der Abnahme des Blutsamples begonnen. Die Abnahmegeschwindigkeit betrug 6,2 ml/min. Die Abnahme des Blutsamples wurde nach Beendigung der Injektion noch für 1min und 45 Sekunden fortgesetzt.

**Abbildung 09**

Injektionsprotokoll für die Microspheres

1 = Beginn der Abnahme des Blutsamples

2 = Beginn der Injektion der Microspheres

3 = Ende der Injektion der Microspheres

4 = Ende der Abnahme des Blutsamples

2.5.2.3.3 Verarbeitung des Blutsamples

Nachdem die Abnahme des Blutsamples beendet war, wurde das gewonnene Blut in eine Filtereinheit der Sample Processing Unit [Raab 1999] (siehe Abbildung 12) gegeben. Die Maschen der Filtereinheit haben einen Durchmesser von 7 μ m. Das Blutsample mit den MS (Durchmesser 15 μ m) wurde auf die Filtermembran aufgetragen. Die Filtereinheit befand sich in einer Absauganlage, die über einen leichten Unterdruck das Blut absaugte, so dass die großen MS oberhalb der Filtermembran verblieben sind.

Die Filtereinheit wurde anschließend 3-mal mit einem Phosphatpuffer gespült, um etwaige Blutrückstände zu entfernen. Bis zur weiteren Analyse wurden die Filter, welche jetzt die Microspheres enthielten, in einem lichtgeschützten Gefäß bei einer Temperatur von 10°C aufbewahrt. Die weitere Verarbeitung der Filtereinheiten der Blutsample war identisch mit der Verarbeitung der Filtereinheiten für die Organproben.

2.5.2.3.4 Entnahme der Organproben

Nach Beendigung des Versuchs wurden dem Versuchstier beide Nieren, das Gehirn, das Duodenum, das Ileum sowie das Kolon sigmoideum entnommen. Die entnommenen Organe wurden in einer 4,5% Formaldehyd-Lösung (Formaldehyd-Lösung 4,5%, Otto

Fischer GmbH & Co. KG, Saarbrücken) fixiert, um eine exaktere Präparation der Organproben durchführen zu können.

Niere

Von beiden Nieren wurden jeweils 6 Organproben aus der Nierenrinde entnommen. Dazu wurde die Niere zuerst in sagitaler Richtung geteilt. Von beiden Hälften wurde jeweils eine Probe am oberen Nierenpol, am unteren Nierenpol und gegenüber des Nierenhilums entnommen (siehe Abbildung 10)

Gehirn

Das Gehirn wurde nach Versuchende als Ganzes entnommen und in Formaldehyd fixiert. Am fixierten Gehirn wurde jeweils eine Organprobe aus dem vorderen, mittleren und hinteren Bereich beider Großhirnhemisphären entnommen (siehe Abbildung 11).

Darm

Vom Darm wurde an folgenden Lokalisationen Proben entnommen:

1. Duodenum
2. Ileum
3. Kolon sigmoideum

Aus diesen Abschnitten wurden jeweils 3 Proben entnommen.

Das Duodenum wurde 5 cm hinter der Cardia abgesetzt. Nach erfolgter Fixierung des Duodenums wurden die ersten 2 cm, welche dem Magen zugewandt waren, verworfen. Die drei Organproben wurden aus dem sich anschließendem Duodenum entnommen.

Das Ileum wurde 10 cm präcaecal abgesetzt und ebenfalls fixiert. Auch hier wurden nach der Fixierung die dem Caecum zugewandeten ersten 2 cm verworfen und aus dem sich anschließendem Ileum drei Proben entnommen.

Zur Beurteilung des RBF im Kolon wurde das Kolon sigmoideum 20 cm prärektal abgesetzt und fixiert. Die ersten 2 cm des distalen Kolon sigmoideums wurden verworfen. Aus dem sich anschließendem Bereich des Kolon sigmoideums wurden 3 Organproben entnommen.

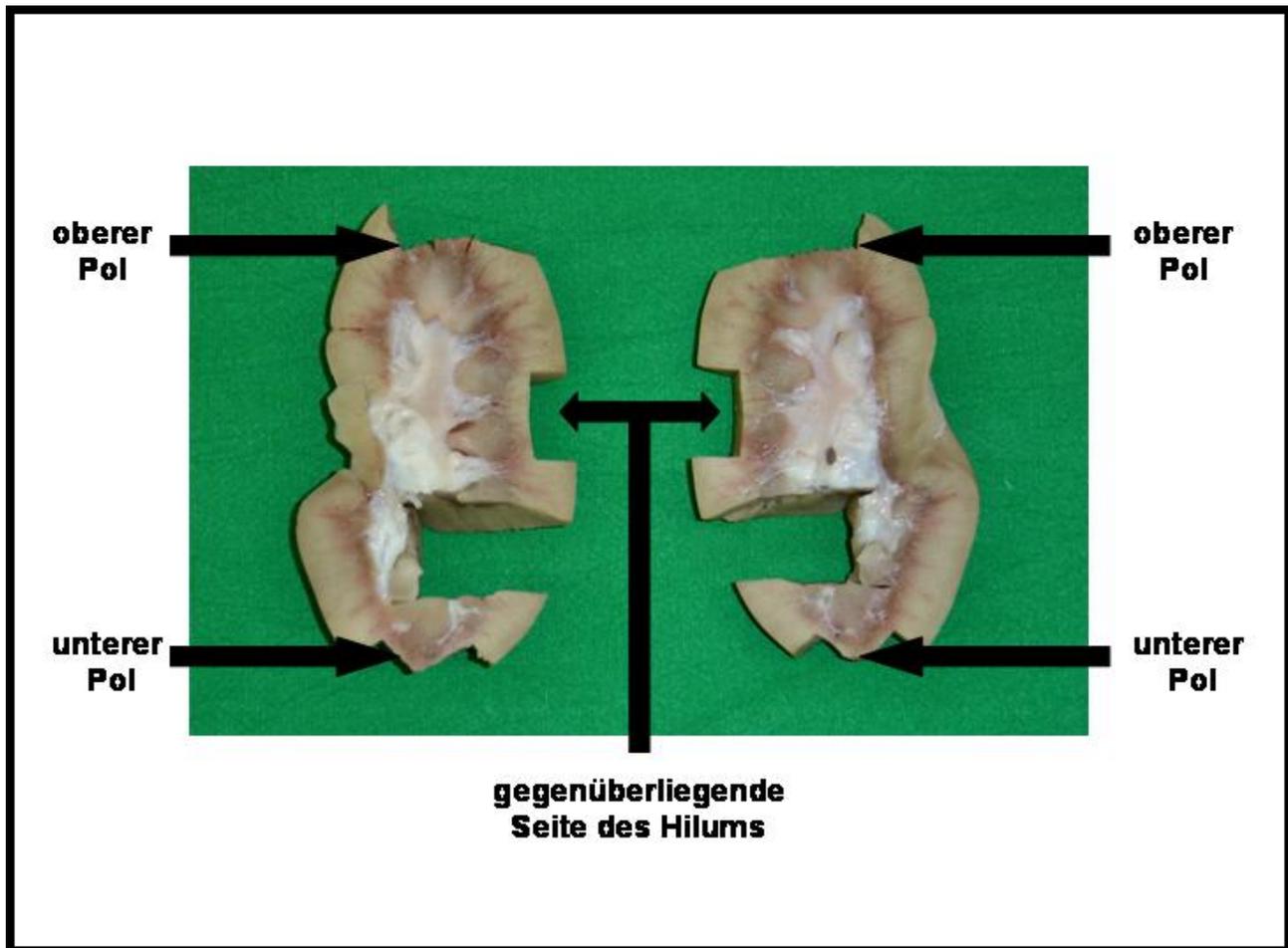


Abbildung 10

Darstellung des Schnittmusters für die Niere (in der Abbildung ist die linke Niere zu sehen). Zur Entnahme der Organproben wurde die fixierte Niere sagittal in zwei Hälften geteilt. Anschließend wurden jeweils vom oberen Pol, vom unteren Pol und gegenüberliegend des Hilums zwei Proben entnommen. Die Proben stammten ausschließlich aus der Nierenrinde.

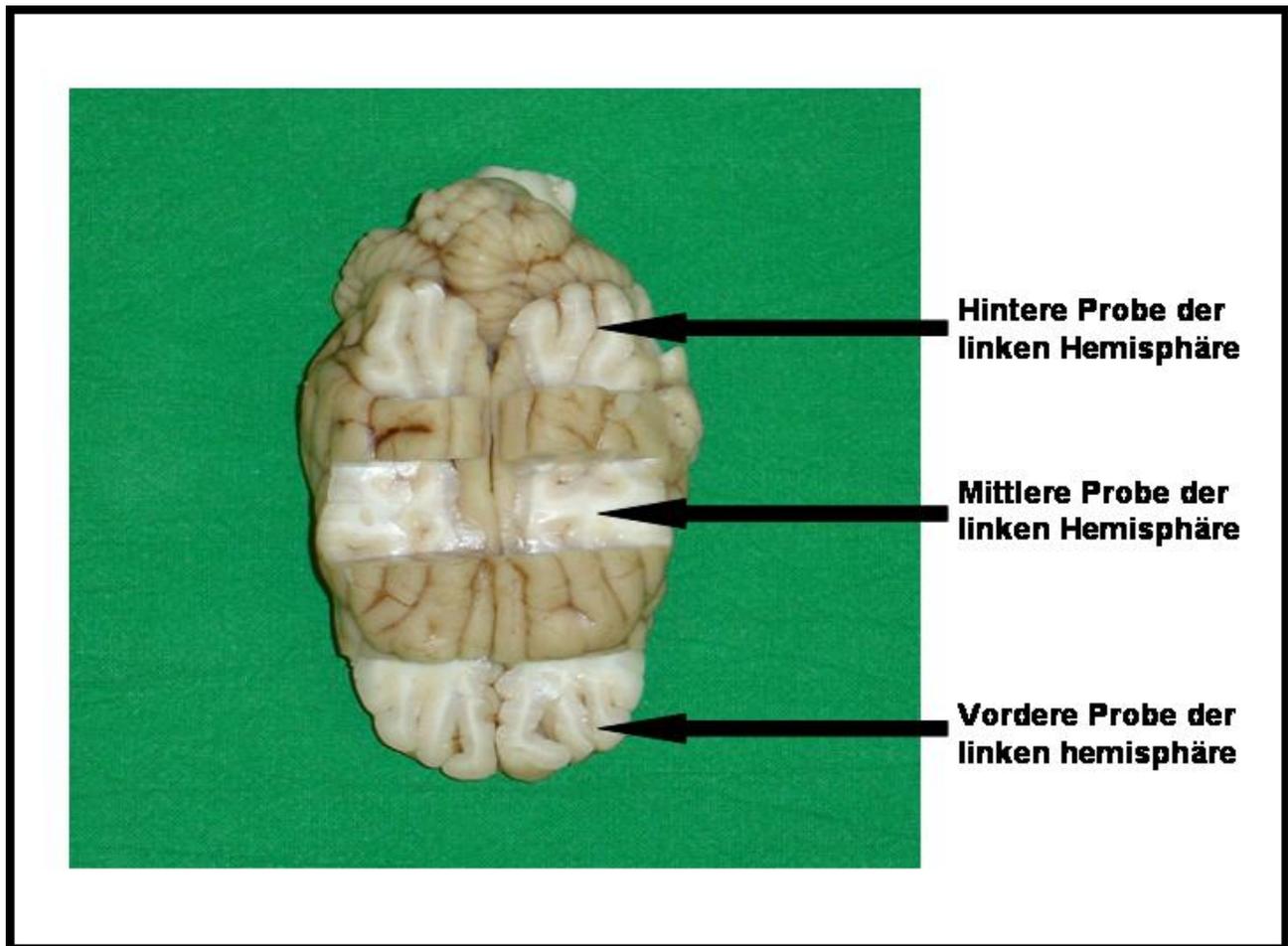


Abbildung 11

Darstellung des Schnittmusters für das Gehirn.

Am fixierten Gehirn wurden bei beiden Hemisphären gegenüberliegende Organproben entnommen. Bei den Lokalisationen handelte es sich um den vorderen, den mittleren sowie den hinteren Bereich des Kortex einer jeden Hemisphäre.

2.5.2.3.5 Auswertung der Organproben

2.5.2.3.5.1 Herstellung der Digestionslösung und des Phosphatpuffers

Digestionslösung

Zur Auflösung der Gewebeproben in den Filtern wurde eine Digestionslösung mit folgender Zusammensetzung verwendet: 222,44 g Kaliumhydroxid Plätzchen (Kaliumhydroxid Plätzchen, Merck KGaA, Darmstadt) wurden in 1000ml aqua ad iniectabilia (aqua ad iniectabilia, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gelöst. Dieser Lösung wurden 10 ml 2%iges Tween 80 (Tween[®]80, Schuchardt, Hohenbrunn) gelöst in 100%igem Isopropanol (Isopropyl Alcohol 100%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) zugesetzt.

Phosphatpuffer

Als Waschpuffer diente ein Phosphatpuffer der folgenden Zusammensetzung: 29,9 g dipotassium hydrogen phosphat trihydrate (Potassium Phosphate Dibasic; Trihydrate 99%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) wurde in 800 ml aqua ad iniectabilia (aqua ad iniectabilia, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gelöst. 5,88 g potassium hydrogen phosphate (Potassium Phosphate Monobasic Anhydrous 99%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) wurden in 200 ml aqua ad iniectabilia (aqua ad iniectabilia, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gelöst. Beide Lösungen wurden anschließend miteinander vermischt.

2.5.2.3.5.2 Verarbeitung der Organproben

Nach der Entnahme der einzelnen Organproben wurde zunächst das Gewicht der einzelnen Probe gemessen, um später den regionalen Blutfluss pro Gramm untersuchtem Gewebe angeben zu können. Die weitere Verarbeitung der Proben wurde mittels der Sample-Processing-Unit durchgeführt (siehe Abbildung 12).

Hierzu wurde die Gewebeprobe in eine Filtereinheit mit einer Lochgröße von 7µm gegeben. Der Filter mit der Organprobe wurde in ein passendes Edelstahlgefäß gesteckt. Die Filtereinheit mit der Organprobe wurde nun mit 15ml Digestionslösung aufgefüllt. Auf die Digestionslösung wurde anschließend 1,5ml Isopropanol (Isopropyl Alcohol 100%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) pipetiert, das aufgrund seines geringeren spezifischen Gewichtes eine Deckschicht auf der Digestionslösung bildete. Schließlich

wurde das Edelstahlgefäß mit einem Deckel verschlossene und für 6 Stunden bei einer Temperatur von 60 °in einen Heizblock gestellt.

Nach 6 Stunden wurde der Filter mit dem nun gelösten Gewebe wieder entnommen und in eine Absauganlage gesteckt. Hier wurde das gelöste Gewebe mit der Digestionslösung und dem Isopropanol durch einen leichten Unterdruck abgesaugt, wobei die Microspheres aufgrund ihrer Größe im Filter verblieben.

Anschließend wurden die Filter dreimal mit Phosphatpuffer gespült und bei 2800 U/min für 2 min zentrifugiert (Megafuge 2.oR, Heraeus Instruments). Die Filter wurden dann in den Filterhalter (Abbildung 12 Nr.2) gesteckt an dem das Messröhrchen (Abbildung 12 Nr.3) konnektiert war. Im Folgenden wurden 2 ml Cellusolve (Essigsäure-2-ethoxyethylester 99+%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) auf den Filter pipetiert und für 2 min gevortext. Dann wurde der komplette Filterhalter mit der Filtereinheit verschlossen und bei 2800 U/min für 2 min zentrifugiert (Megafuge 2.oR, Heraeus Instruments), wodurch der durch das Cellusolve herausgelöste Farbstoff in das Messröhrchen gelangte. Schließlich wurde das Messröhrchen entnommen und in der Messanlage gemessen.

Die gewonnenen Proben wurden mit einer von PerkinElmer zusammengestellten vollautomatischen Messeinheit gemessen. Sie bestand aus einem Probentisch, einem Spektrophotometer (LS 55B, PerkinElmer LAS GmbH, Rodgau - Jügesheim), einem Diluter, einem Controller und einem Rechner. Der Rechner verwendet als Betriebssystem Windows 98. Als Software zur Steuerung des Fluoreszenzspektrometers wurde das Programm WINFAC verwendet. Dabei handelt es sich um eine Software die die „peak emission“ misst. Erhältlich ist die Software über das Fluorescent Microsphere Resource Center in Washington (<http://fmrc.pulmcc.washington.edu/>).

Gemessen wurden die Proben bei den unter Kapitel 2.5.2 angegebenen Extinktions- und Emissionsmaxima.



Abbildung 12

Die Abbildung zeigt die Bestandteile der Sample Processing Unit, welche zur Aufbereitung des Gewebes und der Blutsample dient.

1 = Filtereinheit

3 = Messröhrchen

2 = Filter-Halter

4 = Deckel für den Filterhalter

2.5.3 Kapilläres Leck

Als Maß für die Permeabilität der Kapillaren und im Besonderen zur Beurteilung für das kapilläre Leck wurde die Verschwinderate von Albumin bestimmt [Schad 1987]. Als Marker für Albumin wurde der intravenös applizierte Farbstoff Evans Blue (Evans Blue Direct Blue 53, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) verwendet.

2.5.3.1 Messzeitpunkte

Es wurden folgende Messzeitpunkte gewählt (siehe Abbildung 08):

1. Vor Beginn der EKZ. Diese Messung diente als Kontrolle für das jeweilige Versuchstier.
2. Zwischen der dritten und vierten Stunde nach Beendigung der EKZ

2.5.3.2 Durchführung der Messung

2.5.3.2.1 Herstellung der Evans Blue-Lösung

Evans Blue (Evans Blue Direct Blue 53, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) wurde mit einer 5%igen Glukose-Lösung auf eine Konzentration von 2mg/ml verdünnt. Die Lösung wurde dann gegen Licht geschützt im Kühlschrank bei einer Temperatur von 5°C gelagert.

2.5.3.2.2 Probengewinnung

Alle Proben wurden über einen Katheter, (Cavafix[®] Certo[®] 358, 16G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) welcher über die A. femoralis eingeführt wurde, entnommen.

Proben ohne Evans Blue

Während der Präparation des Versuchstieres wurden 4 Blutproben a 2ml in heparinisierte Spritzen (Liquemin[®] N25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) abgenommen.

Proben mit Evans Blue

1,5 ml/10kg Körpergewicht der Evans Blue Lösung wurden als Bolus über den zentralen Venenkatheter in die V. jugularis interna injiziert. Die zu injizierende Lösung wurde am Spritzenvolumen abgemessen. Um im Venenkatheter keine Reste von Evans Blue zu hinterlassen, wurde dieser mit Ringer Laktat gespült.

Die Zeit bei Injektion wurde als $t = 0$ gesetzt. Anschließend wurden über einen Zeitraum von einer Stunde alle 8 Minuten insgesamt 7 Proben a 2ml entnommen. Die erste Probe wurde nach 8 Minuten entnommen, um eine gleichmäßige Vermischung des Farbstoffes im Blut abzuwarten. Die Proben wurden aus dem Femoralarterienkatheter in heparinisierte Spritzen (Liquemin[®] N25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) abgenommen. Das Blut durfte nicht aus demselben Katheter (zentraler Venenkatheter) abgenommen werden, durch den zuvor das Evans Blue injiziert worden war, um eine Verfälschung mit eventuell vorhandenen Farbresten zu vermeiden.

2.5.3.2.3 Verarbeitung der Proben

Proben ohne Evans Blue

Die Blutproben wurden bei 3500 U/min für 10 min zentrifugiert (Megafuge 2.oR, Heraeus Instruments) und das Plasma abpipettiert. In jedem Plasma wurde die Extinktion bei 620 nm (E_{620PI}) und 740 nm (E_{740PI}) gemessen (Spektrometer Lambda 40, PerkinElmer LAS GmbH, Rodgau - Jügesheim).

Das Plasma der Proben wurde anschließend vermischt. 0,5, 1, 2, 3, und 4 μ l aus der verdünnten Evans Blue Lösung wurden zu je 1ml Plasma gegeben; eine Probe zu 1ml Plasma wurde nicht gefärbt. Die Mischungen wurden bei 3500 U/min für 10 min zentrifugiert (Megafuge 2.oR, Heraeus Instruments) und die Extinktion bei 620 nm gemessen (Spektrometer Lambda 40, PerkinElmer LAS GmbH, Rodgau - Jügesheim). Von der Extinktion der Proben bei 620 nm wurde die Extinktion der ungefärbten Probe subtrahiert. Dadurch wurde der Anteil der Plasmaextinktion an der Gesamtextinktion bei 620 nm eliminiert und somit die reine Extinktion von Evans Blue ermittelt. Aus diesen Extinktionen und der Konzentration von Evans Blue in den Proben wurde eine Eichgerade erstellt.

Proben mit Evans Blue

Die Proben wurden bei 3500 U/min für 10 min zentrifugiert (Megafuge 2.oR, Heraeus Instruments). Im gewonnenem Plasma wurde die Extinktion bei 620 nm ($E_{620(t)}$) und 740 nm ($E_{740(t)}$) gemessen (Spektrometer Lambda 40, PerkinElmer LAS GmbH, Rodgau - Jügesheim).

2.5.3.3 Berechnungen

2.5.3.3.1 Korrektur der Plasmaextinktion

Evans Blue hat im Plasma das Absorptionsmaximum bei 620 nm. Die Extinktion einer Plasmaprobe bei 620 nm setzt sich aus der Extinktion des Plasmas selbst und aus der Extinktion von Evans Blue zusammen. Die reine Extinktion von Evans Blue ergibt sich folglich durch Subtraktion der Plasmaextinktion von der Gesamtextinktion. Da sich die Plasmaextinktionen von Probe zu Probe unterscheiden können, darf nicht eine beliebige Plasmaprobe subtrahiert werden. Es muss die Plasmaextinktion jeder einzelnen Probe ermittelt werden. Andernfalls kann ein Fehler von bis zu 10-15% auftreten. Die Methode zur Bestimmung der Plasmaextinktion wurde bereits beschrieben:

Zunächst wurden die vor den Farbstoffmessungen ermittelten Extinktionen von reinem Plasma bei 620 nm (E_{620PI}) und 740 nm (E_{740PI}) nach $x = 740$ nm, $y = 620$ nm aufgetragen. Die Extinktionen verhalten sich direkt proportional zueinander, so dass sich durch die Punkte eine Gerade legen lässt.

Die lineare Korrelation ist immer vorhanden sie kann jedoch von Versuchstier zu Versuchstier variieren. Sie wurde aus den Extinktionen der Proben ohne Evans Blue berechnet:

$$E_{620PI} = B \times E_{740PI} + A$$

A ist der Achsenabschnitt und B die Steigung der Ausgleichsgeraden.

Die Extinktion aller Proben mit Evans Blue wurde ebenfalls bei 620 nm und 740 nm gemessen. Da Evans Blue bei 740 nm nicht absorbiert, entsprach die Extinktion ($E_{740(t)}$) in jeder Probe mit Evans Blue der Plasmaextinktion der Probe. Mit Hilfe der Gleichung $E_{620PI} = B \times E_{740PI} + A$ konnte die zugehörige Plasmaextinktion ($E_{620PI(t)}$) bei 620 nm berechnet werden.

$E_{(t)}$, die reine Extinktion von Evans Blue in der Probe, wurde durch Subtrahieren der Plasmaextinktion von der Gesamtextinktion berechnet:

$$E_{(t)} = E_{620(t)} - E_{620Pl(t)} = E_{620(t)} - (B \times E_{740(t)} + A)$$

2.5.3.3.2 Verschwinderate von Albumin

Die Abnahme der Extinktion von Evans Blue lässt sich als monoexponentielle Funktion über die Zeit durch folgende Gleichung annähern:

$$E'_{(t)} = E'_{(0)} e^{-k \times t}$$

$E'_{(t)}$ ist die korrigierte Extinktion von Evans Blue zu jedem beliebigen Zeitpunkt. t ist die Zeit nach Injektion von Evans Blue, $E'_{(0)}$ ist die theoretische Farbstoffextinktion zum Zeitpunkt $t = 0$ bei Injektion und k die Eliminationskonstante.

Logarithmieren der Gleichung ergibt:

$$\ln E'_{(t)} = \ln E'_{(0)} - k \times t$$

In dieser Gleichung können $\ln E'_{(0)}$ als Achsenabschnitt und $(-k)$ als Steigung aus den 7 Werten für $E'_{(t)}$ und t durch lineare Regression ermittelt werden.

$E'_{(0)}$ kann nun aus dem Achsenabschnitt $\ln E'_{(0)}$ wie folgt berechnet werden.

$$E'_{(0)} = e^{\ln E'_{(0)}}$$

Berechnet man mit Hilfe von der Gleichung $\ln E'_{(t)} = \ln E'_{(0)} - k \times t$ die Abnahme von Evans Blue nach 60 Minuten und setzt sie ins Verhältnis zur Extinktion bei $t = 0$, dann erhält man die Verschwinderate (TER) [%/h].

$$TER = \frac{(E'_{(0)} \times e^{k \times 0 \text{ min}} - E'_{(0)} \times e^{k \times 60 \text{ min}})}{E'_{(0)} \times e^{k \times 0 \text{ min}}} \times 100\%$$

$E'_{(0)}$ lässt sich kürzen und $e^0 = 1$. Dann lautet die Formel folgendermaßen:

$$TER = (1 - e^{k \times 60 \text{min}}) \times 100\%$$

2.5.4 hämatologische Messungen

Zur Beurteilung der Nierenfunktion wurde die Harnstoffkonzentration und der Kreatininwert im Serum bestimmt. Als Maß für die Hämolyse wurde der Gehalt an Hämoglobin im Vollblut sowie der Gehalt von freiem Hämoglobin und die Aktivität der Laktatdehydrogenase im Serum gemessen. Um über die oxidative Stoffwechselsituation des Organismus Aussagen treffen zu können, wurde im Serum die Konzentration von Laktat untersucht. Als Marker für die proinflammatorische Reaktion des Organismus wurde Interleukin 6, für die antiinflammatorische Reaktion Interleukin 1 α , im Serum bestimmt.

2.5.4.1 Messzeitpunkte

Es wurden 9 Messzeitpunkte gewählt:

Nach Platzierung des arteriellen Katheters, direkt nach Abklemmen der Aorta, 60 und 120 min nach Abklemmen der Aorta, nach 60 min Reperfusion, direkt nach der Dekanülierung sowie 120, 240 und 360 min nach Beendigung der HLM (siehe Abbildung 08)

2.5.4.2 Probengewinnung

Zu jedem Messzeitpunkt wurde für die Parameter Kreatinin, Harnstoff, freies Hämoglobin, LDH, Interleukin 6 und Interleukin 1 α eine heparinisierte Monovette (S-Monovette[®] 7,5ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) abgenommen. Für die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration wurden EDTA beschichtete Monovetten (S-Monovette[®] 2,7ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) und für die Messung der Laktatkonzentration Fluorid und EDTA beschichtete Monovetten (S-Monovette[®] 2,7ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) verwendet. Die Blutproben wurden aus einem Katheter (Cavafix[®] Certo[®] 358, 16G, B.Braun Melsungen AG, Melsungen), welcher über die A. femoralis eingeführt worden ist, entnommen. Die Proben der heparinisierten und der EDTA/Fluorid beschichteten Monovetten wurden nach der Abnahme bei 3500 U/min für 5 min zentrifugiert (Megafuge 2.oR, Heraeus Instruments) und das Plasma abpipettiert. Bis zu ihrer weiteren

Verarbeitung wurden die Proben bei -80 °C eingefroren. Die Proben zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Vollblut wurden direkt nach der Entnahme verarbeitet.

2.5.4.3 Durchführung der Messung

Die Werte für Kreatinin, Harnstoff, Hämoglobin, freies Hämoglobin, Laktatdehydrogenase und Laktat wurden mittels der gängigen klinischen Routineverfahren bestimmt.

Zytokine

Interleukin 1ra

Zur Bestimmung der Interleukin 1ra (IL-1ra) Konzentration wurde ein Immunoassay (Quantikine[®], R&D Systems, Wiesbaden-Nordenstadt) verwendet. Bei dem Assay handelte es sich um einen quantitativen Sandwich Enzym Immunoassay. Hierbei wurde eine 96 Loch Mikrotiterplatte mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-1ra beschichtet. Die Proben sowie der Standard wurden in die einzelnen Löcher pipetiert, woraufhin das gesamte IL-1ra der Proben an den monoklonalen Antikörper gebunden hat. Um alle verbliebenen Probenreste zu entfernen wurden die Platten vier Mal mit einem Waschpuffer gewaschen. Anschließend wurde ein monoklonaler Antikörper gegen IL-1ra aufgetragen. Dieser Antikörper war mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert. Zur Entfernung aller ungebundenen Antikörper wurden die Mikrotiterplatten wiederum vier Mal gewaschen. Anschließend wurde eine Substratlösung aus Hydrogenperoxidase und Tetramethylbenzidin aufgetragen, welche zu einer Farbumwandlung proportional zur IL-1ra Konzentration führte. Diese Farbreaktion fand bei Raumtemperatur statt und wurde nach 20 Minuten mittels 2 N sulfuric acid gestoppt. Die Farbintensität der Proben wurde bei 450 nm und 540 nm gemessen.

Interleukin 6

Die Konzentration von Interleukin 6 (IL-6) wurde mittels eines Immunoassays (Quantikine[®], R&D Systems, Wiesbaden-Nordenstadt) bestimmt. Bei dem Testprinzip handelte es sich um einen Sandwich Enzym Immunoassay. Auf eine 96 Loch Mikrotiterplatte, welche mit einem monoklonalen Antikörper gegen IL-6 beschichtet war,

wurden die Standards und Proben aufgetragen. Die Platten wurden anschließend vier Mal mit einem Waschpuffer gewaschen um ungebundene Reste zu entfernen. Anschließend wurde ein mit Meerrettichperoxidase konjugierter Antikörper gegen IL-6 aufgebracht. Durch viermaliges Waschen wurden etwaige Reste des Antikörpers entfernt. Nachfolgend wurde eine Substratlösung aus Hydrogenperoxidase und Tetramethylbenzidin in die Mikrotiterplatte pipetiert, woraufhin es zu einer Blaufärbung kam. Nach 30 Minuten Inkubationszeit wurde die Reaktion durch eine hydrochloric acid Lösung gestoppt, wodurch sich die zuvor erhaltene Blaufärbung in eine Gelbfärbung umwandelte. Die Farbintensität war proportional zur Konzentration von IL-6 in der Probe und wurde bei 450 nm und 540 nm gemessen.

2.6. Statistik

Die Zeichnungen der Parameter über die Zeit zeigt die Mittelwerte mit den dazugehörigen Standardfehlern. Erstellt wurden die Abbildungen mit Sigma Plot Version 7.

Die tabellarisch aufgeführten Ergebnisse für die Hämodynamik zeigen die Mittelwerte mit der dazugehörigen Standardabweichung.

Zur Prüfung der Daten auf signifikante Unterschiede wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde nach Bonferoni adaptiert. Entsprechend lag das Signifikanzniveau für die Auswertung des rBF bei $p < 0,01$ und für die Auswertung der Laborparameter bei $p < 0,005$. Als Post-hoc test wurde der LSD (Least significant difference) Test benutzt. Durchgeführt wurde die Varianzanalyse mithilfe des Programms SPSS Version 12.

Für die statistische Auswertung der Daten zur Bestimmung der capillary leaks wurde der Wilcoxon Test für Paardifferenzen angewendet. Die kritischen Werte von T wurden aus einer Tabelle entnommen (Harms 1998).

3. Ergebnisse

3.1. Hämodynamik

3.1.1 Hämodynamische Messergebnisse der einzelnen Gruppen

Gruppe I

In der Gruppe I wurde eine computergestützte Kolbenpumpe zur Generierung eines pulsatilem Perfusionsprofils in den Kreislauf der extrakorporalen Zirkulation integriert. In dieser Gruppe lag der systolische aortale Druck vor Beginn der EKZ bei $98 \pm 9,29$ mmHg und der diastolische Druck bei $61,2$ mmHg, mit einem Mitteldruck von $77,2 \pm 9,52$ mmHg. Nach 120 min pulsatilem Perfusion lag der systolische Druck bei $93 \pm 15,3$ mmHg, der diastolische Druck bei $53,6 \pm 7,35$ und der Mitteldruck bei $71,8 \pm 9,87$ mmHg. Diese Änderungen der aortalen Druckverhältnisse waren nicht signifikant. Unter nicht pulsatilem Reperfusion sank in dieser Gruppe der aortale Mitteldruck in Bezug zur pulsatilem Perfusion unter EKZ signifikant auf $56,6 \pm 6,77$ mmHg ($p < 0,01$). Nach Beendigung der EKZ stieg der Mitteldruck wieder auf $74,1 \pm 5,43$ mmHg nach 3 Stunden bzw. $66,1 \pm 6,75$ mmHg nach 6 Stunden an. Die Pulsamplitude lag in der Gruppe I vor EKZ bei $36,8 \pm 5,3$ mmHg und unter pulsatilem Perfusion bei $39 \pm 7,9$ mmHg (p : nicht signifikant) (Abbildung 21). Auch die maximale Anstiegssteilheit der aortalen Druckkurve (Abbildung 20) veränderte sich gegenüber dem Ausgangswert vor EKZ unter pulsatilem Perfusion nicht signifikant (vor EKZ = $583,3 \pm 133,62$ mmHg/sec; nach 120 min EKZ = $657,4 \pm 108,44$ mmHg/sec)

In der Gruppe I lag der maximale aortale Fluss vor EKZ bei $8,9 \pm 1,8$ L/min. Dieser blieb unter pulsatilem EKZ bis zum Zeitpunkt nach 120 min EKZ mit $8,4 \pm 2,4$ L/min nahezu konstant (Abbildung 23). Erst zum Messzeitpunkt nach 60 min Reperfusion also unter kontinuierlicher Perfusion sank der maximale aortale Fluss signifikant auf $4,18 \pm 1,16$ L/min ($p < 0,01$). In der Nachbeobachtungsphase stieg der Spitzenfluss wieder an und lag nach 3 Stunden bei $6,6 \pm 1,49$ L/min (in Bezug zur Messung vor EKZ mit $p < 0,01$ noch signifikant erniedrigt) bzw. nach 6 Stunden bei $7 \pm 1,38$ L/min (nicht mehr signifikant).

Das Herzzeitvolumen (HZV) unterlag zu den 5 Messzeitpunkten mit Werten von $2,03 \pm 0,46$ L/min bis $2,65 \pm 0,62$ L/min nur geringen Schwankungen. Signifikanzen konnten dementsprechend nicht berechnet werden. Unter pulsatiler EKZ entsprachen die Pumpfrequenz und das Schlagvolumen der Messung vor EKZ konstant. In der Nachbeobachtungsphase stieg die Hf von $70 \pm 13,2$ 1/min (vor EKZ) auf 135 ± 11 1/min nach 3 Stunden bzw. $124 \pm 6,4$ 1/min nach 6 Stunden Nachbeobachtungszeit an. Das Signifikanzniveau lag für beide Zeitpunkte bei $p < 0,001$. Da das HZV nahezu konstant blieb ergaben sich für das Schlagvolumen ebenfalls signifikante ($p < 0,001$) Veränderungen. Es sank im Vergleich zur Ausgangsmessung ($34,5 \pm 5,17$ ml) in der Nachbeobachtungsphase ($14,79 \pm 2,68$ bzw. $15,18 \pm 4,13$ ml) stark ab.

Der pulsatility Index lag in der Gruppe I vor EKZ bei $3,88 \pm 0,5$ und nach 120 min unter „physiologischer“ pulsatiler Perfusion bei $3,1 \pm 1,04$. Diese Abnahme des PI konnte jedoch nicht als signifikant berechnet werden (Abbildung 24).

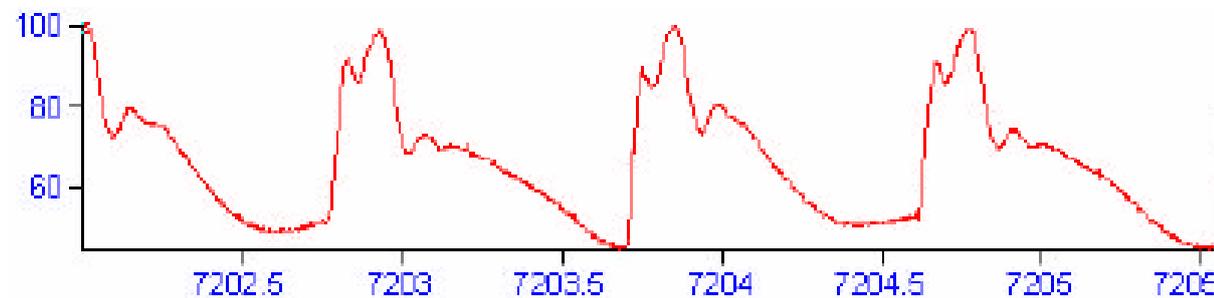


Abbildung 13

Die Grafik zeigt die Druckkurve unter pulsatiler Perfusion mittels computergestützter Kolbenpumpe gemessen in der Aorta descendens zum Zeitpunkt nach 120 min EKZ. Auf der x-Achse ist die Zeit abgetragen auf der y-Achse der Druck in mmHg. (Versuch P24)

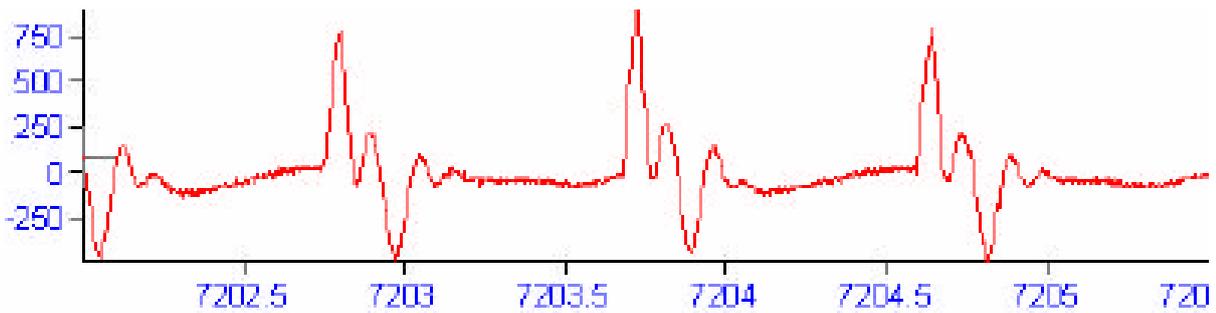


Abbildung 14

Die Abbildung zeigt die Anstiegssteilheit (dp/dt) der Druckkurve von Abbildung 13 zu den korrespondierenden Zeitpunkten. x-Achse = Zeit; y-Achse = dp/dt in mmHg/sec. (Versuch P24)

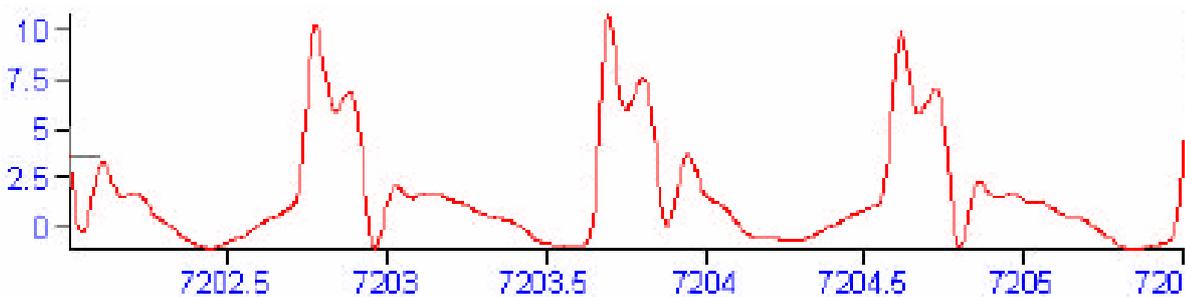


Abbildung 15

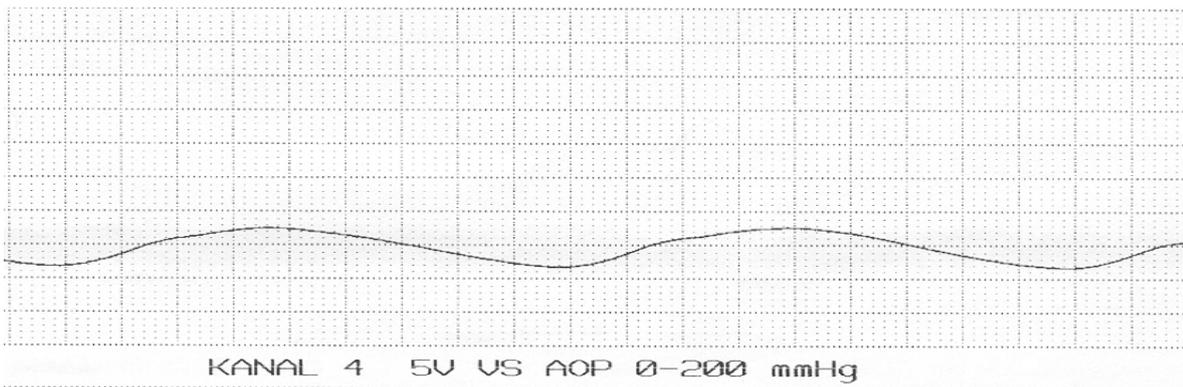
Die Grafik zeigt die Flusskurve unter pulsatiler Perfusion in der Gruppe I zum gleichen Zeitpunkt wie Abb. 13 und 14. Gemessen wurde der Fluss an der Aorta descendens. Auf der x-Achse ist die Zeit und auf der y-Achse der Fluss in L/min abgetragen. (Versuch P24)

Gruppe II

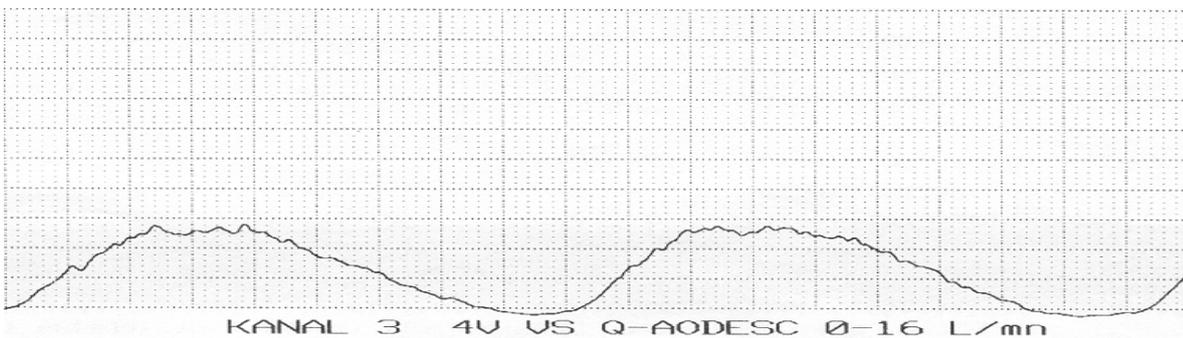
In der Gruppe II wurde die pulsatile Perfusion mittels einer Rollerpumpe (Stöckert SIII, Stöckert® Instruments GmbH, München) generiert. Vor Beginn der EKZ lag der systolische aortale Druck bei $92,4 \pm 6,15$ mmHg und der diastolische bei $52,9 \pm 3,89$ mmHg. mit einem Mitteldruck von $69,1 \pm 5,09$ mmHg. Nach 120 min pulsatiler EKZ betrug der systolische Druck $82,7 \pm 14,14$ mmHg, der diastolische $58,2 \pm 12,51$ mmHg und der Mitteldruck $69,9 \pm 13,12$ mmHg. Diese Veränderungen waren gegenüber den

Ausgangswerten nicht signifikant. Unter nicht pulsatiler Reperfusion sank der Mitteldruck in der Gruppe II nicht signifikant ab. Nach 60 min Reperfusion lag der aortale Mitteldruck bei $73,3 \pm 10,5$ mmHg. Im weiteren Verlauf der Nachbeobachtungsphase fiel der Mitteldruck zunehmend ab. ($68,1 \pm 14,21$ mmHg nach 3 Stunden und $59,5 \pm 11,49$ mmHg nach 6 Stunden). Diese Veränderungen waren im Verlauf nicht signifikant. Die Anstiegsteilheit der Druckkurve in der Aorta descendens (Abbildung 20) verringerte sich unter pulsatiler EKZ im Vergleich zur Messung vor EKZ um das 5,8 fache von $637 \pm 106,14$ mmHg/sec auf $109,44 \pm 20,26$ mmHg/sec ($p < 0,001$). Am Ende der Nachbeobachtungszeit erreichte die Anstiegsteilheit mit $612,5 \pm 188,51$ mmHg/sec wieder nahezu ihr Ausgangsniveau vom Messzeitpunkt vor EKZ. Die Pulsamplitude (Abbildung 21) lag vor EKZ bei $39,6 \pm 5,1$ mmHg und sank nach 120 min pulsatiler EKZ auf $24,4 \pm 4,7$ mmHg signifikant ($p < 0,001$) ab. Auch die Pulsamplitude erreichte am Ende der Nachbeobachtungszeit mit $34,6 \pm 14$ mmHg annähernd den Ausgangswert vor EKZ.

In der Gruppe II lag der maximale aortale Fluss vor EKZ bei $9,5 \pm 1,74$ L/min. Unter pulsatiler EKZ sank der Spitzenfluss nach 120 min EKZ auf $4,4 \pm 1,07$ L/min ($p < 0,001$) (Abbildung 23). In der Nachbeobachtungszeit lag der Spitzenfluss nach 3 Stunden bei $6,14 \pm 1,03$ L/min und nach 6 Stunden bei $5,9 \pm 0,83$ L/min. Somit war der maximale aortale Fluss während der gesamten Nachbeobachtungszeit mit $p < 0,001$ signifikant erniedrigt. Das HZV lag während des gesamten Verlaufs zwischen $2,01 \pm 0,27$ L/min und $2,56$ L/min. Es konnten keine signifikanten Unterschiede berechnet werden. Unter pulsatiler EKZ entsprach die Pumpfrequenz (vor EKZ = $69 \pm 12,7$ 1/min; nach 120 min EKZ = $65 \pm 2,9$ 1/min) und das Sv (vor EKZ = $34,64 \pm 4,8$ ml; nach 120 min EKZ = $34,46 \pm 8,21$ ml) in etwa den Ausgangswerten vor Beginn der EKZ. Die Hf stieg in der Nachbeobachtungszeit signifikant an, sowohl in Bezug zum Messzeitpunkt vor EKZ als auch zum Messzeitpunkt nach 120 min EKZ. Nach 3 Stunden betrug die Herzfrequenz $127 \pm 16,6$ 1/min und nach 6 Stunden $135 \pm 12,6$ 1/min. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,001$. Dementsprechend fiel das Schlagvolumen in der Nachbeobachtungsphase signifikant ($p < 0,001$) um mehr als 50% im Vergleich zu den Zeitpunkten vor und nach 120 min EKZ ab. Der pulsatility Index (Abbildung 24) sank in der Gruppe II signifikant unter das Niveau vor EKZ ab (vor EKZ = $3,92 \pm 0,68$; nach 120 min EKZ = $1,44 \pm 0,42$) ($p < 0,01$).

**Abbildung 16**

Die Abbildung zeigt den Druckverlauf in mmHg über die Zeit (Papiervorschub: 50mm/sec) in der Gruppe II. Gemessen wurde die abgebildete Druckkurve in der Aorta descendens nach 120 min EKZ. (Versuch P19)

**Abbildung 17**

Die Grafik zeigt den Verlauf des aortalen Flusses der Gruppe II in L/min über die Zeit (Papiervorschub: 50mm/sec) nach 120 min EKZ. (Versuch P19)

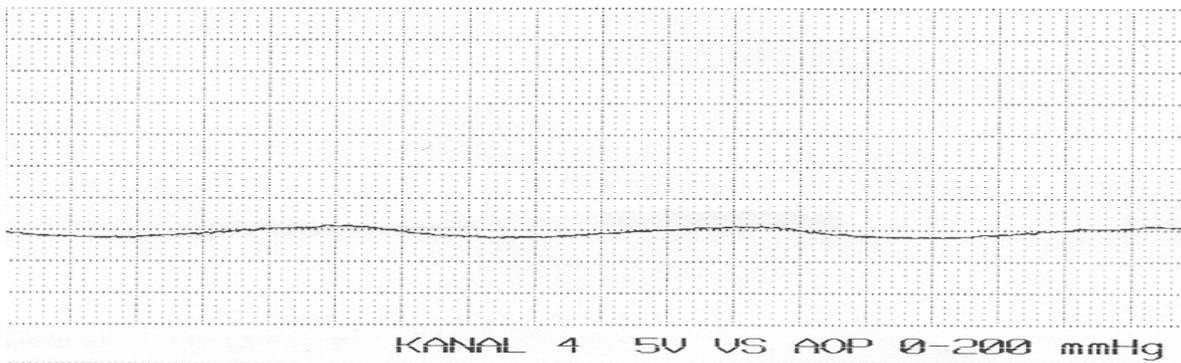
Gruppe III

In der Gruppe III wurde der Fluss durch den kontinuierlichen Antrieb einer Rollerpumpe (Stöckert SIII, Stöckert[®] Instruments GmbH, München) generiert. Wie der Abbildung 18 zu entnehmen ist, wird dabei kein exakt kontinuierliches Perfusionsprofil erzeugt. Die leichten

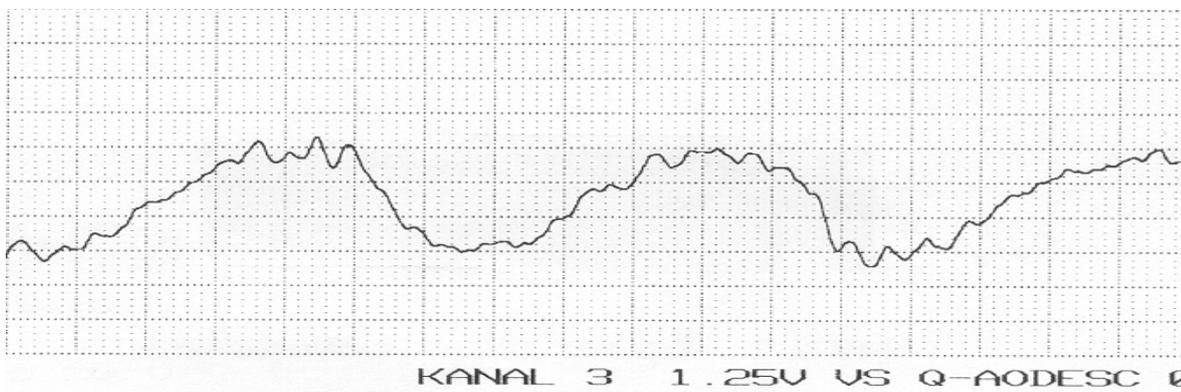
Schwankungen in der Kurve entstehen aufgrund der Verdrängung des Blutes im Schlauchsystem durch die beiden Roller.

In dieser Gruppe lag der systolische aortale Druck vor EKZ bei 98 ± 11 mmHg und der diastolische bei $62 \pm 8,27$ mmHg. Der Mitteldruck lag bei $77,6 \pm 8,49$ mmHg. Unter kontinuierlicher Perfusion konnte ein systolischer Druck von $72 \pm 11,9$ mmHg und ein diastolischer von $62,9 \pm 10,76$ mmHg gemessen werden. Dies entsprach einem Mitteldruck von $67,9 \pm 11,71$ mmHg. Die Verringerung des systolischen Aortendrucks unter EKZ war mit $p < 0,001$ signifikant. Zu den weiteren drei Messzeitpunkten blieb der Mitteldruck mit Werten zwischen $63,44 \pm 9,89$ mmHg und $66,1 \pm 8,82$ mmHg relativ konstant. Die Pulsamplitude nahm unter EKZ (Abbildung 21) signifikant ($p < 0,001$) ab. Nach 120 min EKZ lag sie bei $8 \pm 2,3$ mmHg. Am Ende der Nachbeobachtungszeit ($38,7 \pm 11$ mmHg) erreichte sie wieder ihren Ausgangswert ($36 \pm 5,7$ mmHg).

In der Gruppe III lag der maximale aortale Fluss vor EKZ bei $9,4 \pm 1,78$ L/min. Unter kontinuierlicher Perfusion verringerte sich der Spitzenfluss nach 120 min EKZ signifikant ($p < 0,001$) auf $3,6 \pm 0,98$ L/min (Abbildung 23). In der Nachbeobachtungsphase stieg der maximale Fluss mit $8,15 \pm 1,24$ L/min (3 Stunden post EKZ) und $8,6 \pm 1,74$ L/min (6 Stunden post EKZ) wieder näherungsweise auf sein Ausgangsniveau an. Das HZV blieb über die gesamte Versuchsdauer im Bereich zwischen $2,39 \pm 0,46$ L/min und $2,81 \pm 0,61$ relativ konstant. Wie auch in den Gruppen I und II stieg in der Nachbeobachtungsphase die Hf signifikant an. Vor EKZ betrug sie $75 \pm 13,8$ 1/min, 3 Stunden post EKZ $125 \pm 19,6$ 1/min und 6 Stunden post EKZ $131 \pm 16,3$ 1/min mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,001$. Da auch in dieser Gruppe das HZV relativ konstant war zeigte sich in der Nachbeobachtungsphase eine signifikante ($p < 0,01$) Reduzierung des Schlagvolumens auf Werte von $19,79 \pm 7,26$ ml (180 min post EKZ) und $21,72 \pm 6,04$ ml (360 min post EKZ).

**Abbildung 18**

Die Grafik zeigt den Druckverlauf (mmHg) in der Aorta descendens über die Zeit (Papiervorschub: 50mm/sec) in der Gruppe III mit kontinuierlicher Perfusion. Die Messung erfolgte zum Zeitpunkt der 2. Microspheres Injektion. (Versuch P31)

**Abbildung 19**

Die Abbildung zeigt den Fluss in der Aorta descendens der Gruppe III in L/min (1 Kästchen gleich 0,5 L/min) über die Zeit (Papiervorschub: 50mm/sec).

3.1.2 Vergleich der Hämodynamik zwischen den Gruppen I bis III

Die maximalen Druckwerte an der arteriellen Kanüle lagen unter pulsatilem EKZ (Abbildung 22) in der Gruppe I im Mittel um das ca. 3 bis 4fache höher ($295,1 \pm 77,4$ mmHg) als in der Gruppe II ($104,6 \pm 24,16$ mmHg) und III ($78,8 \pm 17,79$ mmHg). Das Signifikanzniveau betrug für beide Gruppen $p < 0,001$. Der Unterschied zwischen der Gruppe II und III war nicht signifikant.

Der systolische Druck in der Aorta descendens zeigte nach 120 min pulsatilem Perfusion einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen I und III. Der systolische Druck lag zu diesem Zeitpunkt im Mittel für die Gruppe I bei $93 \pm 15,3$ mmHg und für die Gruppe III bei $72 \pm 11,9$ mmHg ($p < 0,01$). Sowohl vor als auch in der Nachbeobachtungszeit konnten für den aortalen systolischen Blutdruck keine weiteren signifikanten Unterschiede berechnet werden.

Der mittlere aortale diastolische Blutdruck zeigte weder vor noch unter noch nach EKZ einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

Für den aortalen Mitteldruck ergab sich zwischen den Gruppen I und II ein nahezu signifikanter Unterschied nach 60 min nicht pulsatilem Reperfusion. Der Mitteldruck lag in der Gruppe I mit $56,6 \pm 6,77$ mmHg niedriger als in der Gruppe II ($73,3 \pm 10,5$ mmHg) ($p < 0,011$). Zu allen weiteren Messzeitpunkten konnten keine signifikanten Unterschiede berechnet werden.

Bei der Betrachtung der maximalen Anstiegssteilheit (Abbildung 20) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen I und II (Gruppe I = $657,4 \pm 108,44$ mmHg/sec; Gruppe II = $109,44 \pm 20,26$ mmHg/sec; $p < 0,001$) nachgewiesen werden. Sowohl vor als auch nach EKZ konnten keine weiteren signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen bei der maximalen Anstiegssteilheit berechnet werden.

Die Pulsamplitude (Abbildung 21) lag mit $39 \pm 7,9$ mmHg in der Gruppe I nach 120 min pulsatilem EKZ signifikant höher als in der Gruppe II (Gruppe II = $24,4 \pm 4,7$ mmHg; $p < 0,001$) und der Gruppe III (Gruppe III = $8 \pm 2,3$ mmHg; $p < 0,001$).

Unter pulsatilem EKZ war der maximale aortale Blutfluss (Abbildung 23) in der Gruppe I mit $8,4 \pm 2,4$ l/min signifikant ($p < 0,001$) größer als in der Gruppe II ($4,4 \pm 1,07$ l/min) und der Gruppe III ($3,6 \pm 0,98$ l/min). Zu beiden Messzeitpunkten in der Nachbeobachtungsphase war der maximale aortale Blutfluss in der Gruppe II signifikant ($p < 0,01$) niedriger als in der Gruppe III. Weitere signifikante Unterschiede konnten für den mittleren maximalen aortalen Blutfluss nicht berechnet werden.

Das HZV war am Ende der Nachbeobachtungszeit in der Gruppe I mit $2,03 \pm 0,46$ L/min und der Gruppe II mit $2,11 \pm 0,24$ l/min gegenüber der Gruppe III mit $2,81 \pm 0,61$ L/min signifikant niedriger ($p < 0,01$). Weitere signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten nicht berechnet werden.

Der Pulsatility Index (Abbildung 24) war in der Gruppe I mit $3,1 \pm 1,04$ unter pulsatiler EKZ signifikant ($p < 0,001$) höher als in der Gruppe II ($1,44 \pm 0,42$).

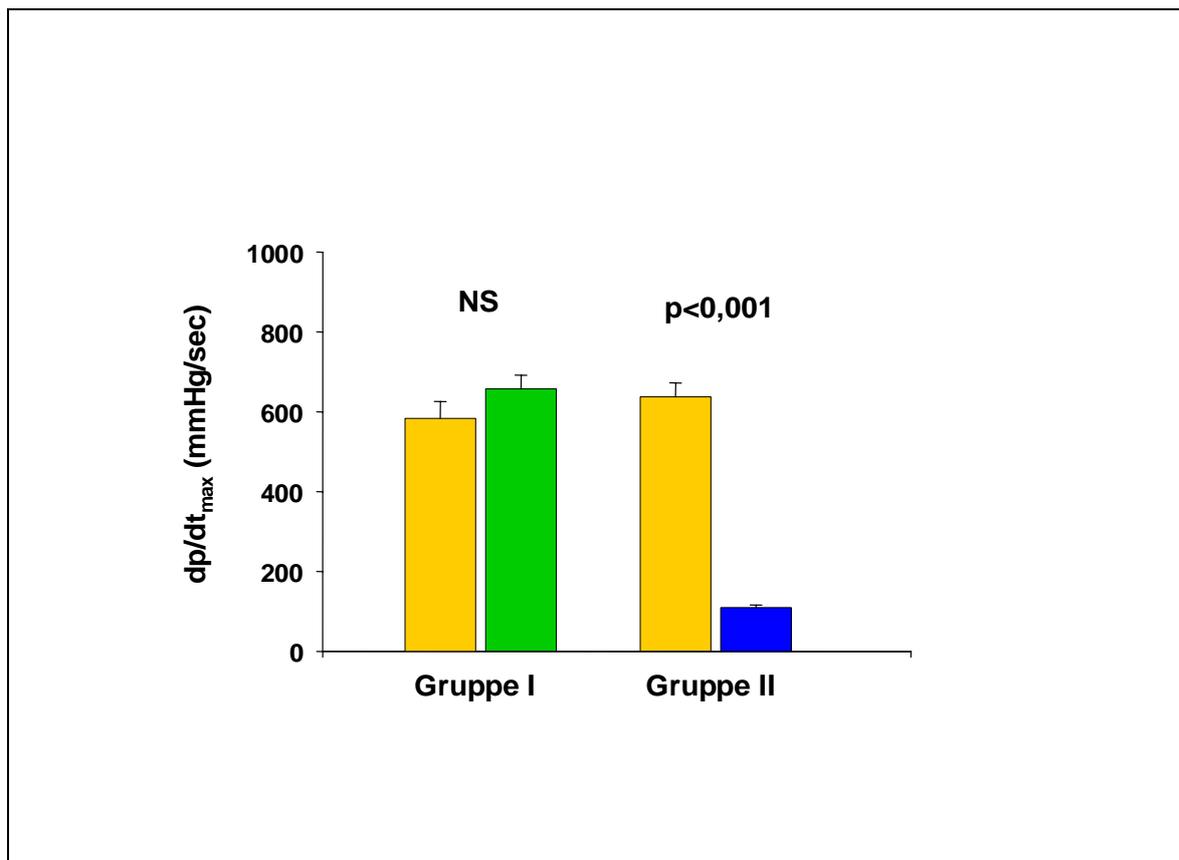


Abbildung 20

Die Abbildung zeigt die Anstiegssteilheit der aortalen Druckkurve der Gruppen I und II vor Beginn der EKZ und nach 120 min pulsatiler EKZ (Mittelwert \pm Standardfehler).

- vor EKZ der jeweiligen Gruppe
- Gruppe I nach 120 min EKZ
- Gruppe II nach 120 min EKZ

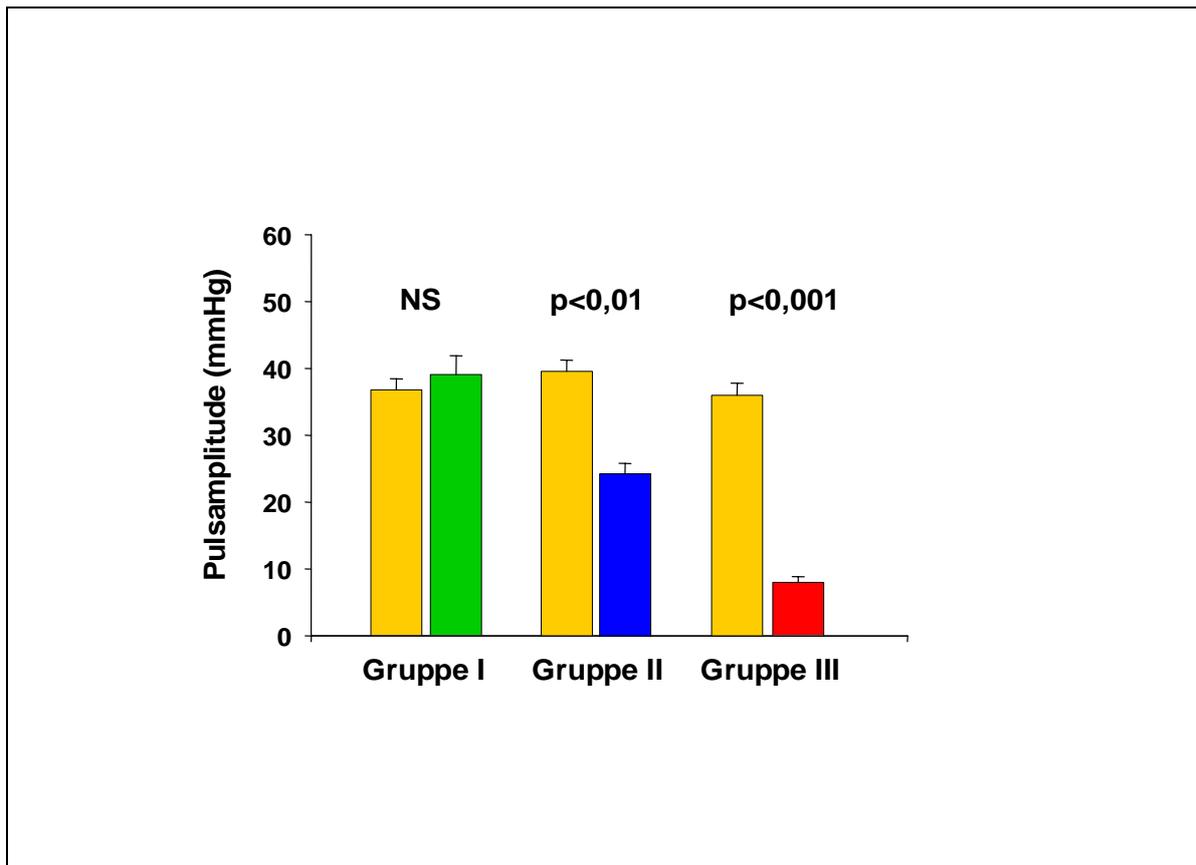


Abbildung 21

Die Abbildung zeigt die Pulsamplitude aller 3 Gruppen vor und nach 120 min EKZ (Mittelwert \pm Standardfehler)

- vor EKZ der jeweiligen Gruppe
- Gruppe I nach 120 min EKZ
- Gruppe II nach 120 min EKZ
- Gruppe III nach 120 min EKZ

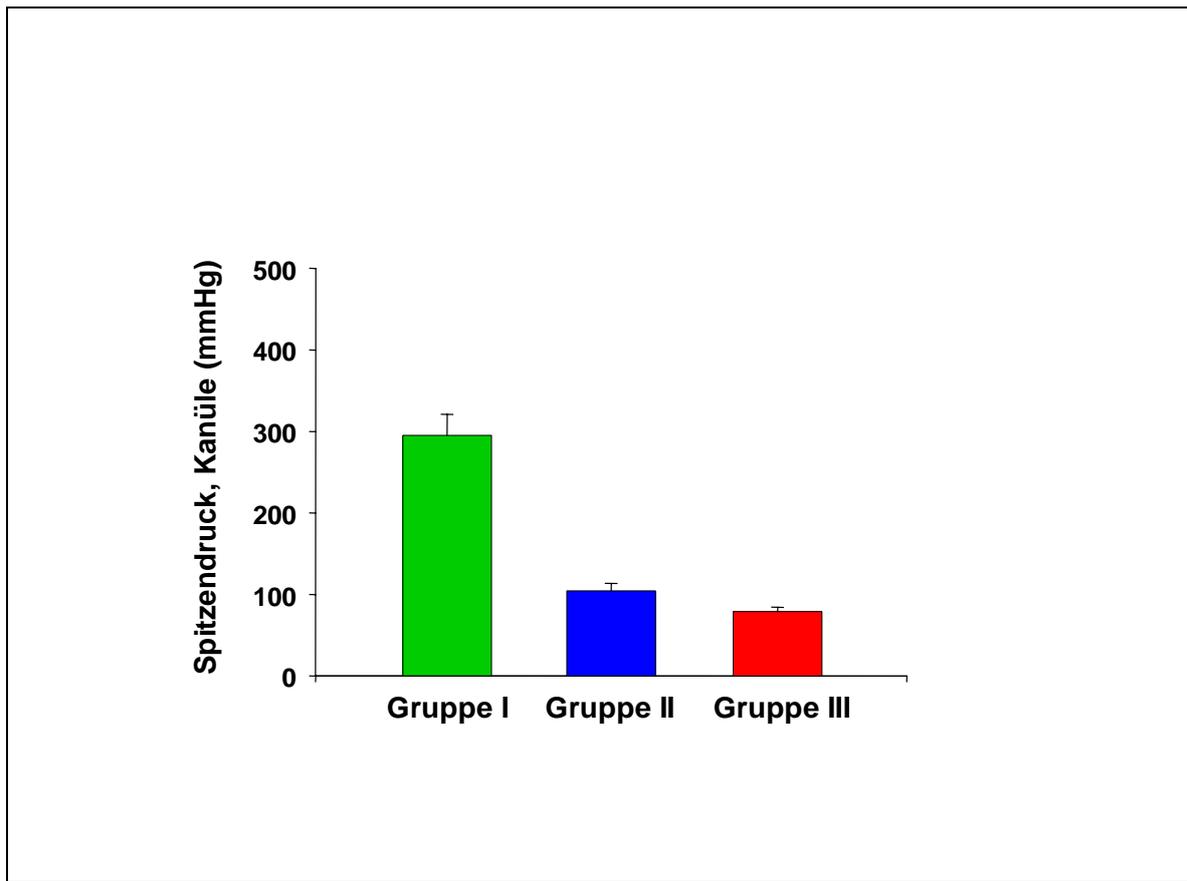


Abbildung 22

Die Abbildung zeigt die Spitzendrücke, gemessen an der arteriellen Kanüle in den drei Gruppen (Mittelwert \pm Standardfehler).

- *Gruppe I nach 120 min EKZ*
- *Gruppe II nach 120 min EKZ*
- *Gruppe III nach 120 min EKZ*

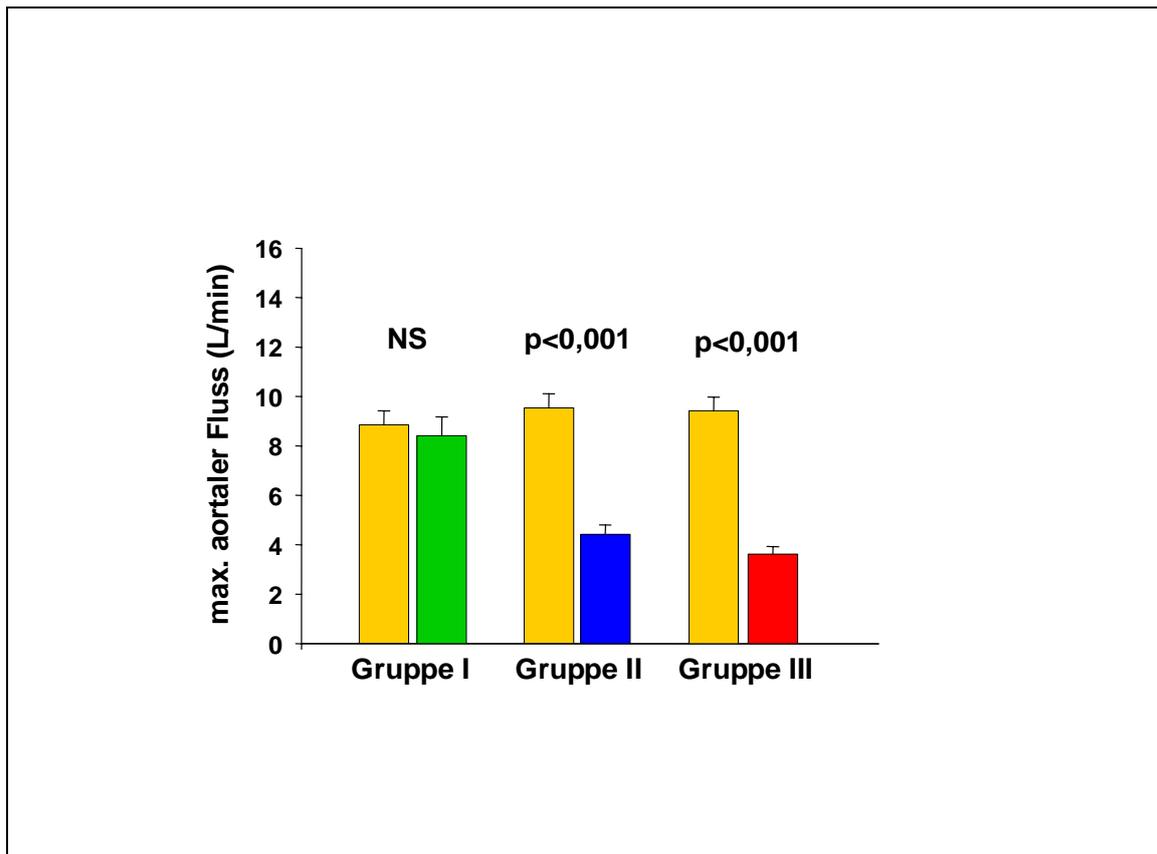


Abbildung 23

Das Diagramm zeigt den aortalen Spitzenfluss der drei Gruppen zum Zeitpunkt vor EKZ und nach 120 min pulsatilem bzw. kontinuierlicher Perfusion.

- vor EKZ der jeweiligen Gruppe
- Gruppe I nach 120 min EKZ
- Gruppe II nach 120 min EKZ
- Gruppe III nach 120 min EKZ

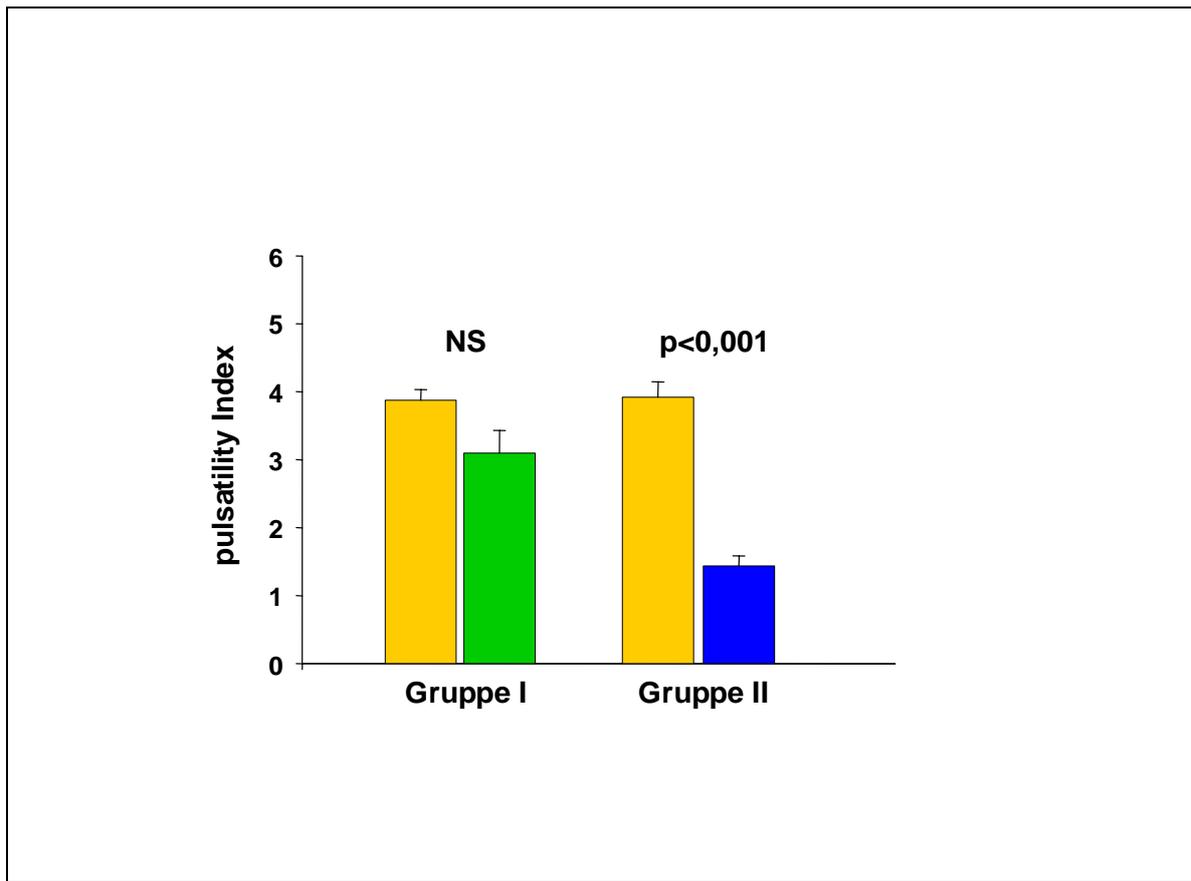


Abbildung 24

In der Grafik ist der pulsatility Index der beiden pulsatilen Gruppen vor und nach 120 min EKZ dargestellt.

- vor EKZ der jeweiligen Gruppe
- Gruppe I nach 120 min EKZ
- Gruppe II nach 120 min EKZ

Parameter	Vor EKZ	120 min EKZ	60 min Reperfus.	180 min post EKZ	360 min post EKZ	Gruppe
sys. P _(Ka.) (mmHg)		295,1 ± 77,4				I
		104,6 ± 24,16				II
		78,8 ± 17,79				III
dias. P _(Ka.) (mmHg)		47,1 ± 14,67				I
		57,7 ± 13,44				II
		61,2 ± 16,01				III
Flow max. _(Ka.) (l/min)		8,7 ± 2,17	3,7 ± 1,43			I
		5,9 ± 2,08	3,5 ± 0,49			II
		3,2 ± 0,49	3,2 ± 0,45			III
sys. P _(AoP) (mmHg)	98 ± 9,29	93 ± 15,3		93,2 ± 8,23	90,2 ± 8,74	I
	92,4 ± 6,15	82,7 ± 14,14		84 ± 15,23	78,6 ± 17,51	II
	98 ± 11	72 ± 11,9		83,5 ± 11,6	86 ± 15,75	III
dias. P _(AoP) (mmHg)	61,2 ± 8,85	53,6 ± 7,35		60 ± 6,25	49,8 ± 6,67	I
	52,9 ± 3,89	58,2 ± 12,51		54,7 ± 11,49	44 ± 10,03	II
	62 ± 8,27	62,9 ± 10,76		51,5 ± 9,43	47,33 ± 7,35	III
mittl. P _(AoP) (mmHg)	77,2 ± 9,52	71,8 ± 9,87	56,6 ± 6,77	74,1 ± 5,43	66,1 ± 6,75	I
	69,1 ± 5,09	69,9 ± 13,12	73,3 ± 10,5	68,1 ± 14,21	59,5 ± 11,49	II
	77,6 ± 8,49	67,9 ± 11,71	63,7 ± 10,14	66,1 ± 8,82	63,44 ± 9,89	III
Flow max. _(AoP) (l/min)	8,9 ± 1,8	8,4 ± 2,4	4,18 ± 1,16	6,6 ± 1,49	7 ± 1,38	I
	9,5 ± 1,74	4,4 ± 1,07	4,02 ± 1,7	6,14 ± 1,03	5,9 ± 0,83	II
	9,4 ± 1,78	3,6 ± 0,98	3,66 ± 1,12	8,15 ± 1,24	8,6 ± 1,74	III
PI _(AoP)	3,88 ± 0,5	3,1 ± 1,04				I
	3,92 ± 0,68	1,44 ± 0,42				II
						III

Parameter	Vor EKZ	120 min EKZ	60 min Reperfus.	180 min post EKZ	360 min post EKZ	Gruppe
HF (1/min)	70 ± 13,2	71 ± 9,4		135 ± 11	124 ± 6,4	I
	69 ± 12,7	65 ± 2,9		127 ± 16,6	135 ± 12,6	II
	75 ± 13,8			125 ± 19,6	131 ± 16,3	III
HZV (l/min)	2,38 ± 0,43	2,65 ± 0,62	2,46 ± 0,61	2,1 ± 0,34	2,03 ± 0,46	I
	2,56 ± 0,47	2,24 ± 0,49	2,54 ± 0,88	2,01 ± 0,27	2,11 ± 0,24	II
	2,56 ± 0,4	2,7 ± 0,72	2,39 ± 0,46	2,41 ± 0,42	2,81 ± 0,61	III
Schlagvolumen (ml)	34,5 ± 5,17	38,28 ± 11,66		14,79 ± 2,68	15,18 ± 4,13	I
	34,64 ± 4,8	34,46 ± 8,21		14,4 ± 4,91	15,01 ± 3,96	II
	33,44 ± 8,34			19,79 ± 7,26	21,72 ± 6,04	III
Schlagarbeit (mmHg/ml)	83,99 ± 12,01	93,85 ± 28,63		33,55 ± 5,84	34,67 ± 10,15	I
	85,03 ± 12,98	75,74 ± 21,1		30,91 ± 11,33	30,5 ± 11,84	II
	92,06 ± 29,26			47,94 ± 23,17	43,31 ± 16,31	III
dp/dt (mmHg/sec)	583,3 ± 133,62	657,4 ± 108,44		607,33 ± 208,71	766,67 ± 238,69	I
	637 ± 106,14	109,44 ± 20,26		496,22 ± 134,84	612,5 ± 188,51	II
	506,6 ± 122,54			633,38 ± 155,28	614,78 ± 181,15	III
Pulsamplitude (mmHg)	36,8 ± 5,3	39 ± 7,9		33,2 ± 8,4	40,4 ± 6,5	I
	39,6 ± 5,1	24,4 ± 4,7		29,3 ± 6,9	34,6 ± 14	II
	36 ± 5,7	8 ± 2,3		32 ± 5,2	38,7 ± 11	III
ZVD (mmHg)	4,9 ± 1,2	3,9 ± 1,35	4,7 ± 2,52	6,9 ± 1,05	6,4 ± 1,72	I
	5,6 ± 1,06	2 ± 0,71	5,8 ± 2,06	8 ± 2,2	7,4 ± 3,13	II
	4,6 ± 1,74	2,8 ± 0,83	1,9 ± 1,27	6,43 ± 2,7	6,6 ± 2	III
Temperatur (°C)	35,3 ± 1,03	32,2 ± 0,63	36,5 ± 0,35	37 ± 0,8	37,3 ± 1,52	I
	34,3 ± 0,75	32,6 ± 0,98	36,6 ± 0,67	36,5 ± 0,71	36,9 ± 1,03	II
	34,5 ± 0,62	32,4 ± 0,78	36,1 ± 0,55	36,8 ± 0,65	37,1 ± 0,85	III

Tabelle 01

Die Tabelle auf den Seiten 56 und 57 zeigt die Mittelwerte aller aufgezeichneten bzw. berechneten hämodynamischen Parameter mit den entsprechenden Standardabweichungen.

sys. $P_{(Ka.)}$	= systolischer Druck gemessen an der Kanüle
dias. $P_{(Ka.)}$	= diastolischer Druck gemessen an der Kanüle
flow max.$_{(Ka.)}$	= Spitzenfluss an der Kanüle
sys. $P_{(AoP)}$	= systolischer Druck gemessen in der Aorta descendens
dias. $P_{(AoP)}$	= diastolischer Druck gemessen in der Aorta descendens
mittl. $P_{(AoP)}$	= Mitteldruck in der Aorta descendens
flow max.$_{(AoP)}$	= Spitzenfluss in der Aorta descendens
$PI_{(AoP)}$	= pulsatility Index gemessen in der Aorta descendens
HF	= Herzfrequenz
HZV	= Herzzeitvolumen
dp/dt	= Druckanstiegsgeschwindigkeit in der Druckkurve der Aorta descendens
ZVD	= Zentralvenöser Druck

3.2. Regionaler Blutfluss

3.2.1 Darm

Duodenum

In der Gruppe I kam es zu keiner signifikant messbaren Änderung des regionalen Blutflusses über die Zeit. Über den gesamten Verlauf des Experiments blieb dieser in einem Bereich von im Mittel 0,30 bis 0,43 ml/min/g relativ konstant. In der Gruppe II und III kam es unter EKZ zu einem Anstieg des rBF, welcher am Ende der Reperfusionphase bei beiden Gruppen sein Maximum erreichte (Gruppe II 0,53 ml/min/g und Gruppe III 0,56 ml/min/g). Für die Gruppe III konnte dieser Anstieg als signifikant berechnet werden ($p < 0,01$)

Vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) waren keine signifikanten Unterschiede im regionalen Blutfluss (rBF) des Duodenums zwischen den einzelnen Gruppen messbar (Gruppe I = $0,30 \pm 0,14$ ml/min/g; Gruppe II = $0,31 \pm 0,12$ ml/min/g; Gruppe III = $0,31 \pm 0,07$ ml/min/g).

Auch im weiteren Verlauf war zu keinem Messzeitpunkt ein signifikanter Unterschied nachweisbar. Während der Reperfusionphase zeigte sich zwischen der Gruppe I (rBF = $0,41 \pm 0,09$ ml/min/g) und der Gruppe III (rBF = $0,56 \pm 0,14$ ml/min/g) mit $p < 0,08$ allenfalls eine Tendenz für einen höheren rBF in der Gruppe III.

In der Abbildung 25 ist der Verlauf des rBF über die Zeit dargestellt. Die beiden Kurven der Gruppen II und III zeigen einen parallelen Verlauf.

Ileum

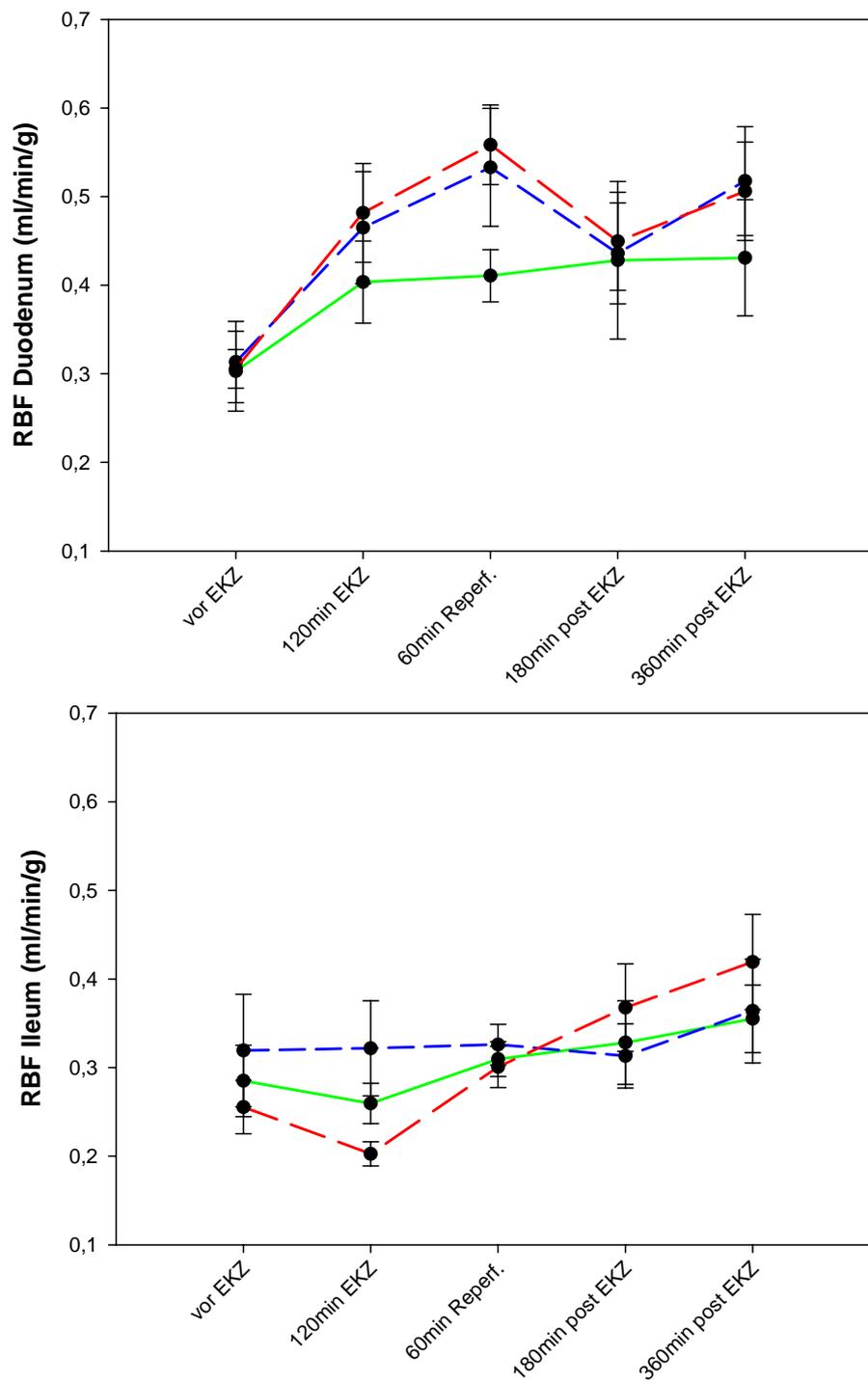
Für alle drei Gruppen waren keine signifikanten Veränderungen des regionalen Blutflusses in Bezug zum rBF vor Beginn der EKZ über die Zeit nachweisbar.

Vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation lag der rBF der drei Gruppen zwischen 0,26 bis 0,32 ml/min/g (keine signifikanter Unterschied). Nach 120 min EKZ lag der regionale Blutfluss von Gruppe I bei $0,26 \pm 0,07$, der von Gruppe II bei $0,32 \pm 0,16$ und der von Gruppe III bei $0,20 \pm 0,04$ ml/min/g. Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich in der Gruppe II ein mit $p < 0,06$ tendenziell höherer rBF als in der Gruppe III. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen war zu keinem Messzeitpunkt nachweisbar.

Kolon

Der Verlauf in allen drei Gruppen zeigt nach 120 min EKZ (Gruppe I: $0,21 \pm 0,05$ ml/min/g; Gruppe II: $0,2 \pm 0,03$ ml/min/g; Gruppe III: $0,19 \pm 0,09$ ml/min/g) eine Verringerung des rBF in Bezug zur Messung vor Beginn der EKZ (Gruppe I: $0,27 \pm 0,06$ ml/min/g; Gruppe II: $0,29 \pm 0,11$ ml/min/g; Gruppe III: $0,24 \pm 0,06$ ml/min/g). Dieser steigt unter Reperfusion wieder an und erreicht am Ende der Nachbeobachtungszeit in etwa das gleiche Niveau wie vor Beginn der EKZ. Diese Änderung des rBFs war jedoch in allen drei Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant in Bezug zum rBF vor Beginn der EKZ.

Sowohl vor Beginn der EKZ als auch während der gesamten Versuchsdauer gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Versuchsgruppen.

**Abbildung 25**

Die obere Abbildung zeigt den regionalen Blutfluss des Duodenums die untere den des Ileums zu den fünf Messzeitpunkten.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

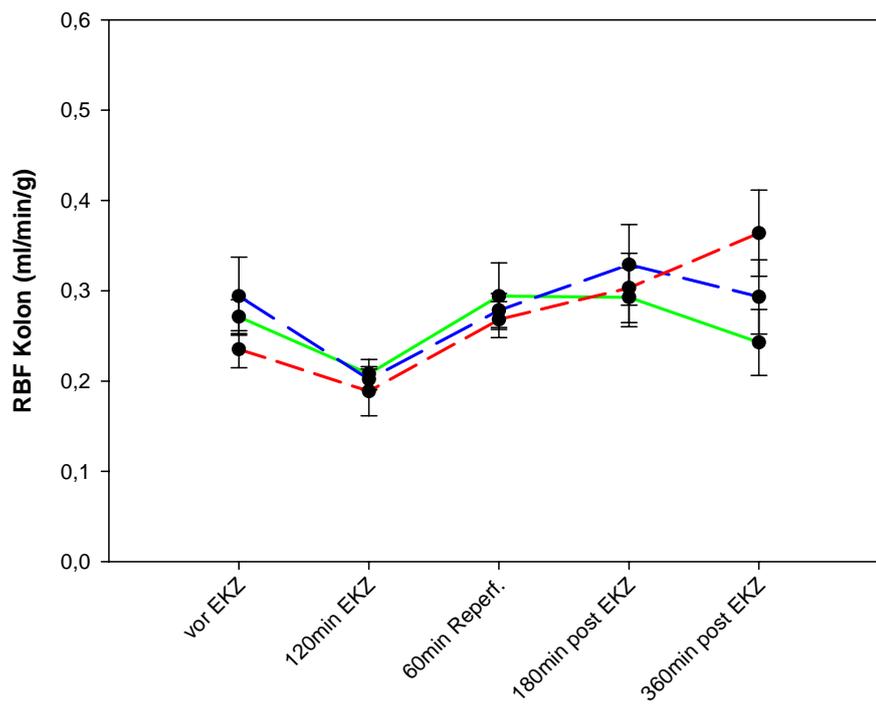


Abbildung 26

Die Abbildung zeigt den Verlauf des regionalen Blutflusses des Kolons zu den fünf Messzeitpunkten.

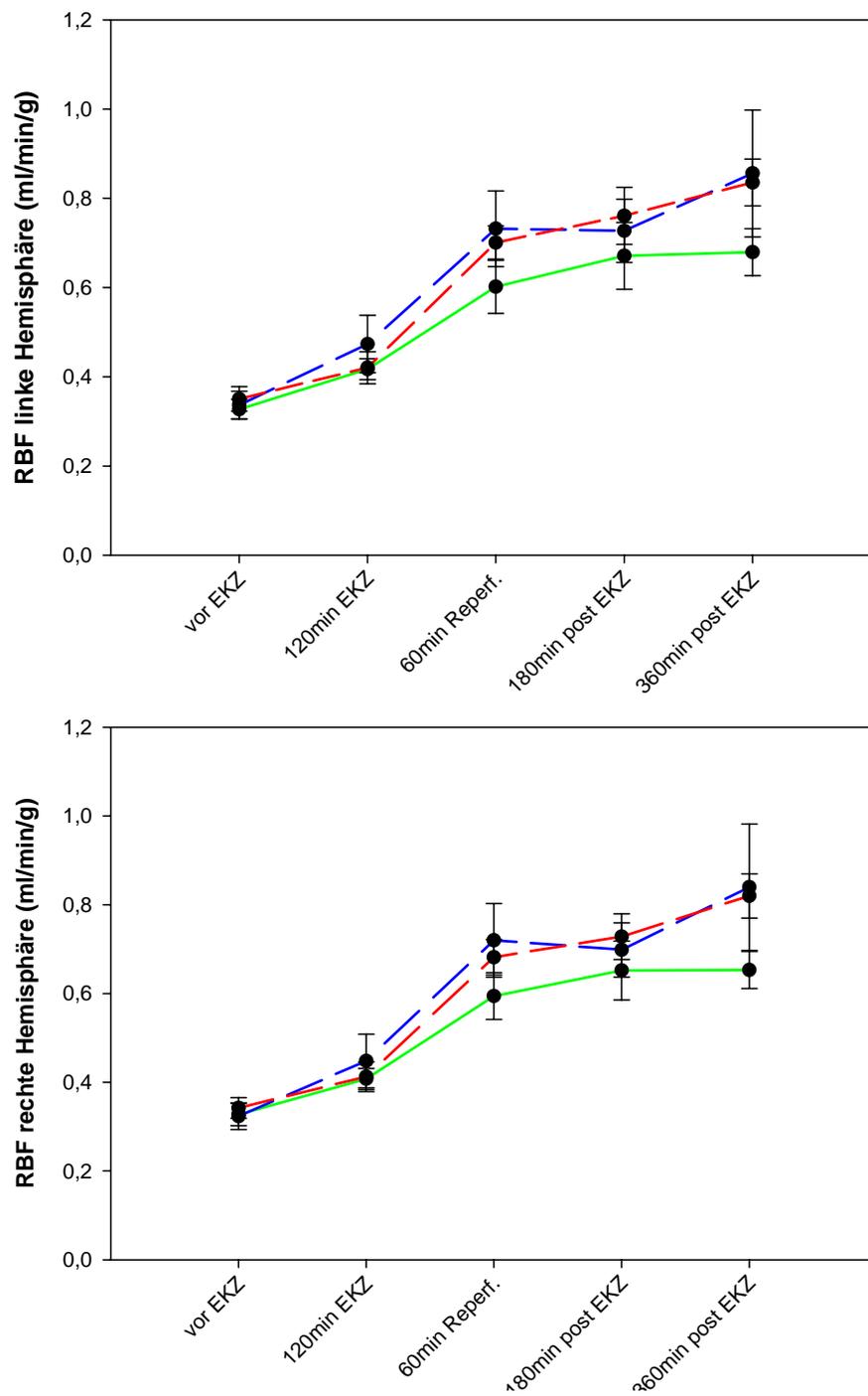
● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.2.2 Gehirn

Im Verlauf über die Zeit kam es in allen drei Gruppen sowohl in der rechten als auch in der linken Hemisphäre zu einem Anstieg des regionalen Blutflusses. Dieser Anstieg des rBF wurde nach 60 min Reperfusion in allen drei Gruppen signifikant. In der Gruppe I betrug der rBF vor Beginn der EKZ für die rechte Hemisphäre $0,33 \pm 0,08$ ml/min/g und für die linke Hemisphäre $0,33 \pm 0,07$ ml/min/g. Dieser stieg über den gesamten Verlauf des Experiments an und betrug am Ende der Nachbeobachtungszeit für die rechte Hemisphäre $0,65 \pm 0,11$ ml/min/g und für die linke Hemisphäre $0,68 \pm 0,14$ ml/min/g. Gleiches gilt auch für die Gruppen II und III. In der Gruppe II betrug die Ausgangswerte für die rechte Hemisphäre $0,32 \pm 0,09$ ml/min/g und für die linke Hemisphäre $0,34 \pm 0,09$ ml/min/g. Am Ende der Nachbeobachtungszeit wurden für die rechte Hemisphäre im Mittel $0,84 \pm 0,38$ ml/min/g und für die linke Hemisphäre $0,86 \pm 0,38$ ml/min/g gemessen. In der Gruppe III stieg der rBF in der rechten Hemisphäre von im Mittel $0,34 \pm 0,07$ ml/min/g auf $0,82 \pm 0,16$ ml/min/g und in der linken Hemisphäre von $0,35 \pm 0,09$ ml/min/g auf $0,84 \pm 0,17$ ml/min/g an. Für alle signifikanten Unterschiede war $p < 0,01$.

Zu allen Messzeitpunkten konnten bei beiden Hemisphären keine signifikanten Unterschiede bezüglich des regionalen Blutflusses zwischen allen drei Gruppen nachgewiesen werden.

Ebenfalls konnten beim Vergleich beider Hemisphären keine signifikanten Unterschiede errechnet werden.

**Abbildung 27**

Die Abbildung zeigt den regionalen Blutfluss der linken (obere Abb.) und der rechten Hemisphäre (untere Abb) der drei Gruppe zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten im Vergleich.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.2.3 Niere

Im Verlauf über die Zeit reduzierte sich der rBF in allen drei Gruppen bei beiden Nieren unter EKZ. (linke Niere: Gruppe I von $2,14 \pm 0,43$ ml/min/g auf $1,69 \pm 0,5$ ml/min/g; Gruppe II von $2,14 \pm 0,55$ ml/min/g auf $1,47 \pm 0,52$ ml/min/g; Gruppe III von $2,37 \pm 0,53$ ml/min/g auf $1,95 \pm 0,55$ ml/min/g rechte Niere: Gruppe I von $2,21 \pm 0,47$ ml/min/g auf $1,71 \pm 0,51$ ml/min/g; Gruppe II von $2,2 \pm 0,63$ ml/min/g auf $1,48 \pm 0,54$ ml/min/g; Gruppe III von $2,49 \pm 0,81$ ml/min/g auf $2,08 \pm 0,7$ ml/min/g). Am Ende der Reperfusionphase oder nach 180 min Nachbeobachtungszeit erreichte der rBF in allen drei Gruppen wieder annähernd seinen Ausgangswert. Die beschriebenen Unterschiede über die Zeit waren jedoch zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Zwischen den einzelnen Gruppen konnten weder für die linke noch für die rechte Niere signifikante Unterschiede im rBF errechnet werden.

Ebenfalls konnten zu den einzelnen Messzeitpunkten bezüglich des rBF keine signifikanten Unterschiede zwischen der linken und der rechten Niere dargestellt werden.

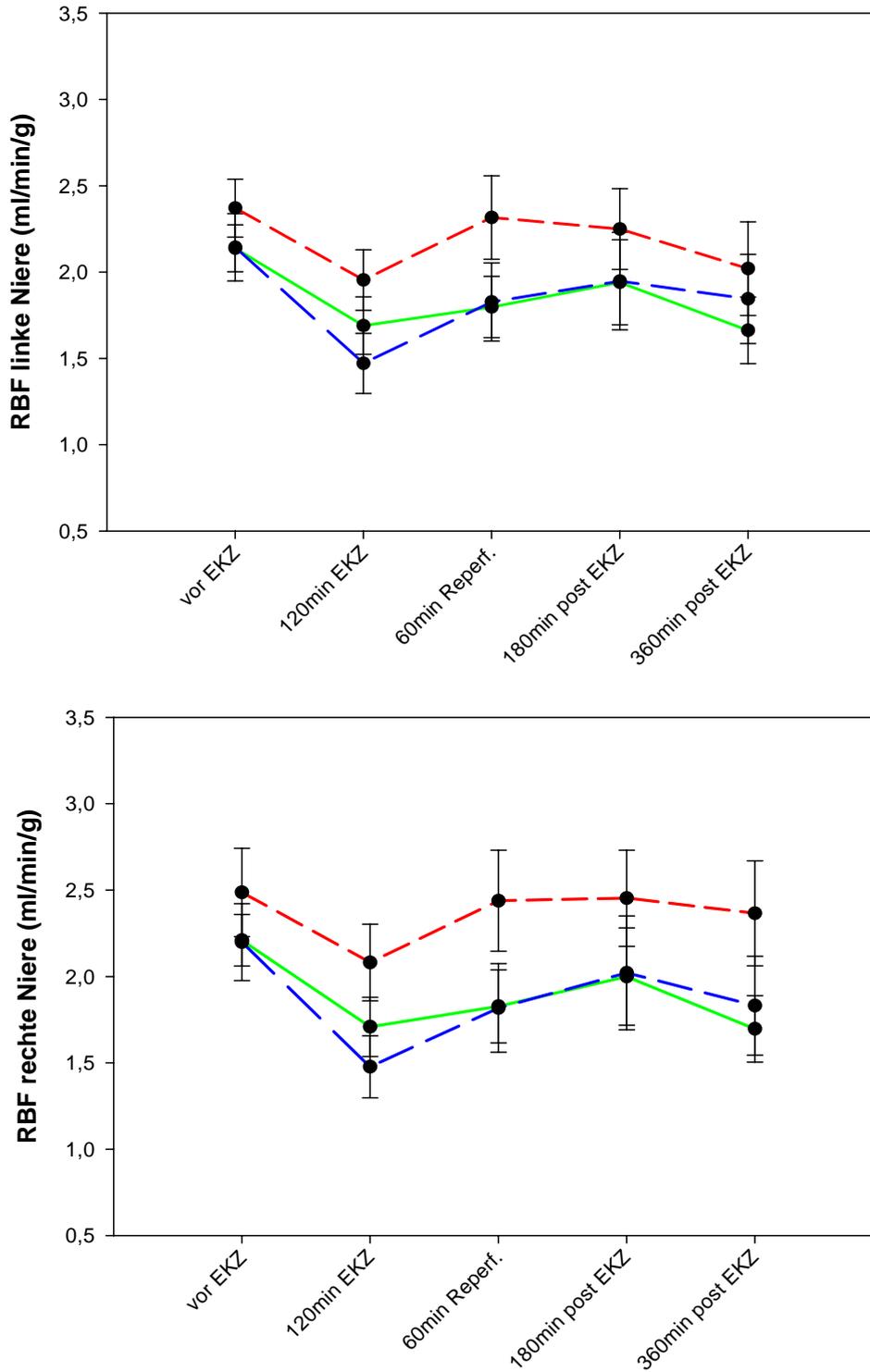


Abbildung 28

Die Abbildung zeigt den regionalen Blutfluss der linken (obere Abb.) und der rechten (untere Abb.) Niere der drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten im Vergleich.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.3. kapilläres Leck

Vor Beginn der EKZ lag die Verschwinderate für markiertes Albumin in den drei Gruppen zwischen 17,4 und 19 %/h (siehe ABB xx). 3 Stunden nach EKZ stieg die Verschwinderate für Albumin in allen drei Gruppen im Mittel an. Am deutlichsten war dies in der Gruppe I der Fall. Hier stieg die Verschwinderate im Mittel von 18,7 %/h auf 34 %/h an, was einer Differenz von 15,3 %/h entspricht. In der Gruppe II stieg die Verschwinderate um 8 %/h und in der Gruppe III um 5,3 %/h an. Einen signifikanten Anstieg der Verschwinderate ließ sich jedoch nur für die Gruppen I und II errechnen ($p < 0,05$) nicht jedoch für die nicht-pulsatile Gruppe III.

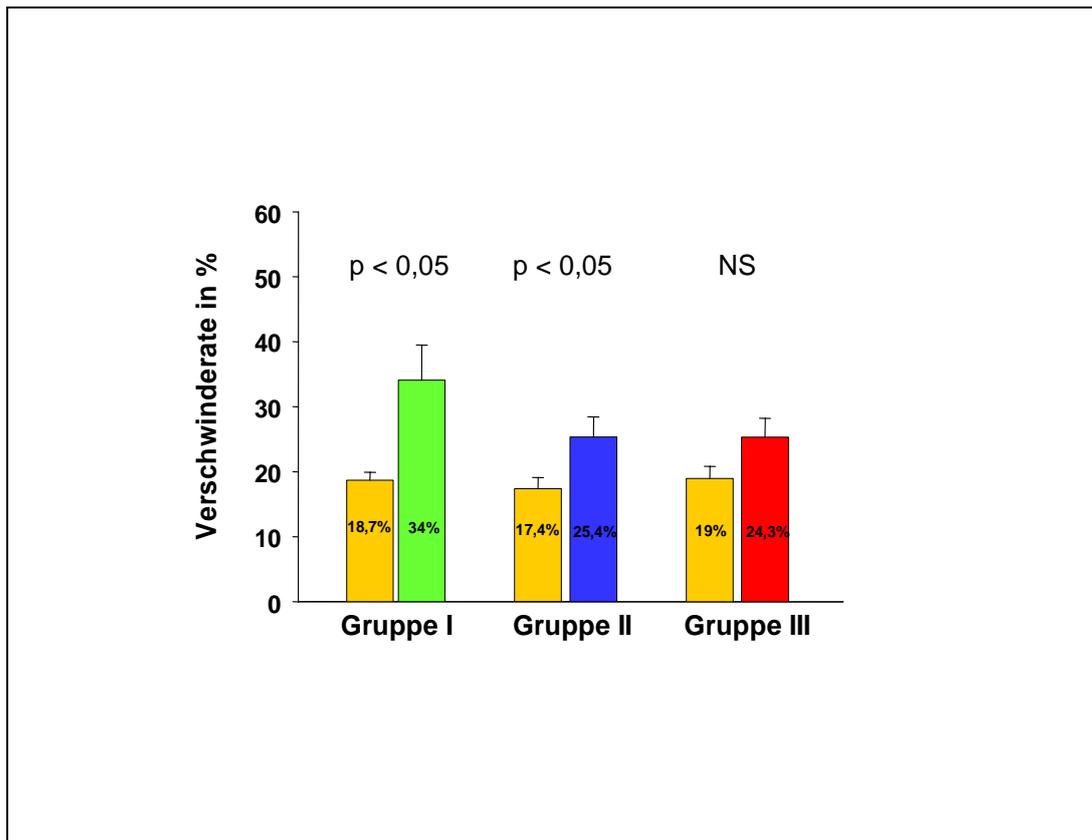


Abbildung 29

Die Abbildung zeigt die Verschwinderate von markiertem Albumin in Prozent pro Stunde zum Zeitpunkt vor EKZ und in der 3. Stunde nach EKZ von allen drei Gruppen. In den Balken ist die mittlere Verschwinderate angegeben.

- vor EKZ Gruppe I bis III
- Gruppe I nach EKZ
- Gruppe II nach EKZ
- Gruppe III nach EKZ

3.4. hämatologische Messungen

3.4.1 Hämoglobin

Bei allen drei Gruppen konnte mit Einsatz der HLM ein signifikanter Abfall der Hämoglobinkonzentration beobachtet werden. Vor Beginn der EKZ lag die Hb-Konzentration für die Gruppe I im Mittel bei $10,16 \pm 0,77$ mg/dl, für die Gruppe II bei $9,69 \pm 0,66$ mg/dl sowie für die Gruppe III bei $10,13 \pm 0,61$ mg/dl. Direkt nach dem Abklemmen der Aorta konnten dann in Gruppe I $5,56 \pm 0,61$ mg/dl, in Gruppe II $5,58 \pm 0,71$ mg/dl sowie in Gruppe III $5,76 \pm 0,66$ mg/dl gemessen werden. Dieser Abfall der Hämoglobinkonzentration war für alle drei Gruppen mit $p < 0,001$ signifikant. Im weiteren zeitlichen Verlauf stieg die Hb Konzentration wieder leicht an, sie blieb aber durchgehend signifikant unter der Konzentration des Ausgangswertes ($p < 0,001$). Zwischen den drei Gruppen konnten bezüglich der Hämoglobinkonzentration keine signifikanten Unterschiede berechnet werden.

3.4.2 Hämatokrit

Parallel zur Hb Konzentration ergab sich der zeitliche Verlauf des Hämatokrits. Auch hier konnte ein signifikanter Abfall des Hks mit Beginn der EKZ in allen drei Gruppen beobachtet werden. Vor Beginn der EKZ lag der Hk der Gruppe I bei $33,69 \pm 2,64$ %, für die Gruppe II bei $31,17 \pm 2,31$ % sowie für die Gruppe III bei $33,3 \pm 2,34$ %. Unter EKZ fiel der Hämatokrit in der Gruppe I auf $18,73 \pm 1,84$ %, in der Gruppe II auf $18,74 \pm 2,12$ % sowie in der Gruppe III auf $19,15 \pm 2,25$ %. Für alle drei Gruppen war $p < 0,001$. Im gesamten weiteren Verlauf blieb der Hämatokrit signifikant unter dem Wert vor Beginn der EKZ.

Zwischen den drei Gruppen gab es über den gesamten Verlauf keine signifikanten Unterschiede.

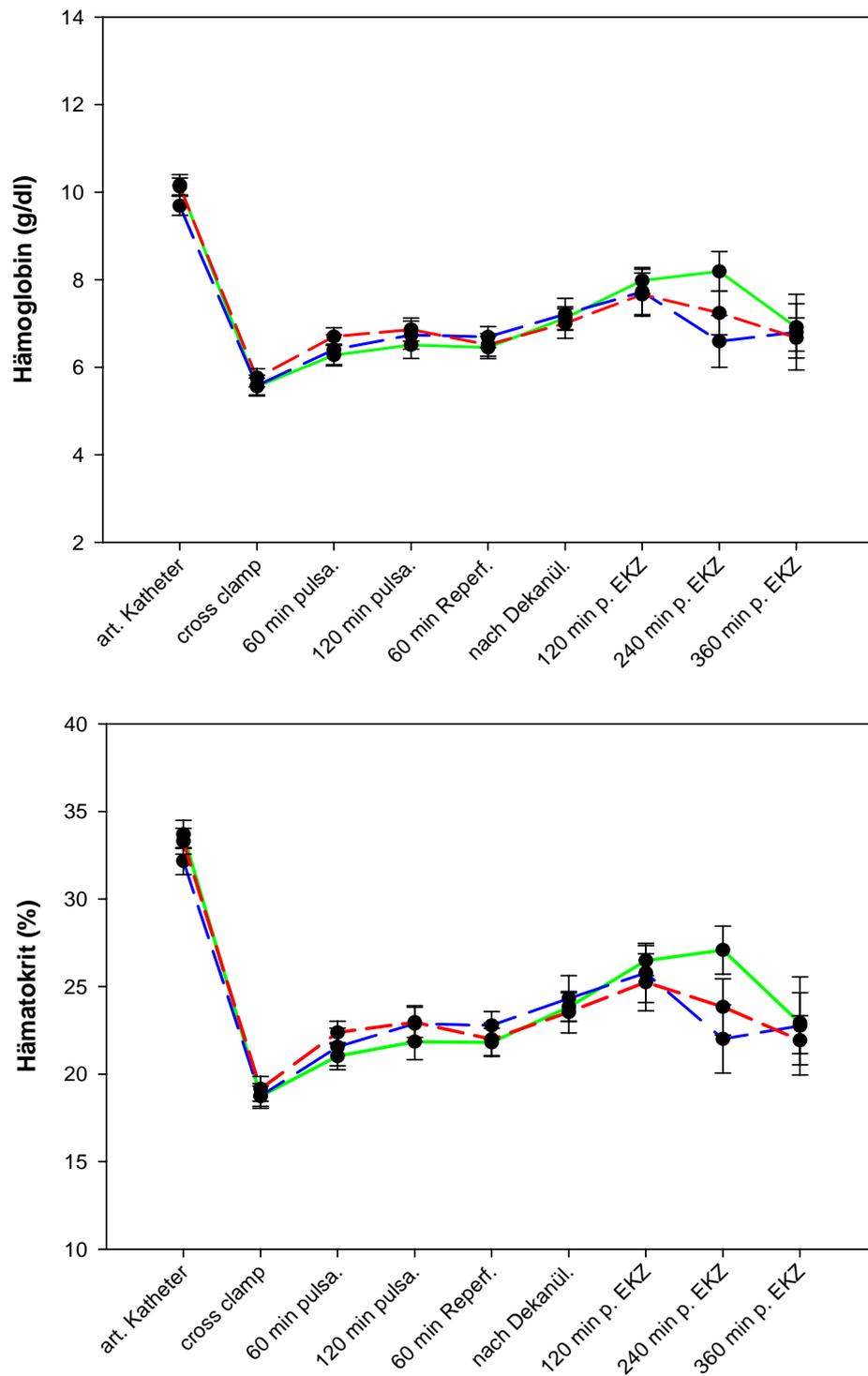


Abbildung 30

Die Abbildung zeigt den Verlauf der Hämoglobinkonzentration (obere Abb.) und des Hämatokritwertes (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.4.3 freies Hämoglobin

Im zeitlichen Verlauf stieg die Konzentration des freien Hämoglobins (fHB) in den Gruppen I und II nach 60 min crossclamp in Bezug zur Konzentration direkt nach dem Abklemmen der Aorta signifikant ($p < 0,001$) an. Vor Beginn der EKZ war die Konzentration des freien Hämoglobins in der Gruppe I bei 9 Tieren nicht nachweisbar und bei einem Versuch 3,23 mg/dl. In der Gruppe II konnte bei 8 Versuchstieren kein freies Hämoglobin nachgewiesen werden und bei einem Versuchstier betrug die Konzentration des freien Hämoglobins 4,07 mg/dl. In der Gruppe I erreichte die Konzentration des freien Hämoglobins sein Maximum nach 120 min crossclamp ($43,89 \pm 14,89$ mg/dl) wogegen in der Gruppe II das Maximum nach 60 min Reperfusion erreicht wurde ($40,5 \pm 16,59$ mg/dl. Im Verlauf der Nachbeobachtungszeit fiel die Konzentration kontinuierlich ab, so dass am Ende der Nachbeobachtungszeit (Gruppe I: 5 Versuche nicht mehr nachweisbar, 5 Versuche im Mittel: $7,16 \pm 5,6$ mg/dl; Gruppe II: 2 Versuche nicht nachweisbar, 7 Versuche im Mittel: $4,49 \pm 1,89$ mg/dl) keine signifikanten Unterschiede in Bezug zur Konzentration des freien Hämoglobins vor EKZ mehr darstellbar waren. Von den parallelen Verläufen des fHBs in beiden pulsatischen Gruppen unterschied sich der Verlauf in der nicht-pulsatischen Gruppe. Vor Beginn der EKZ konnte das fHB in 8 Versuchen nicht nachgewiesen werden und bei zwei Versuchen lag es im Mittel bei $3,34 \pm 1,57$ mg/dl. Das Maximum erreichte das freie Hämoglobin nach 60 min Reperfusion mit $11,55 \pm 4,11$ mg/dl. Bei diesem Anstieg konnte ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$ berechnet werden. Auch in dieser Gruppe fiel die Konzentration des fHBs am Ende der Nachbeobachtungszeit wieder auf die Ausgangswerte ab (8 Versuche nicht mehr nachweisbar, 2 Versuche im Mittel $3,01 \pm 0,39$ mg/dl). Aufgrund der Tatsache das bei Versuchsbeginn das freie Hämoglobin in den meisten Versuchen (in 25 von 29 Versuchen) nicht nachweisbar war, wurden die signifikanten Unterschiede zum Zeitpunkt direkt nach crossclamp berechnet und nicht zum ersten Messzeitpunkt.

Zwischen den Gruppen I und II konnte während der gesamten Versuchsdauer kein signifikanter Unterschied bezüglich der Konzentration des freien Hämoglobins berechnet werden. Ein signifikanter Konzentrationsunterschied stellte sich jedoch zwischen den beiden pulsatischen Gruppen und der nicht-pulsatischen Gruppe nach 60 min EKZ ein. Dieser signifikante Unterschied geht erst nach 240 min Nachbeobachtungsdauer verloren. Das Signifikanzniveau berechnet sich durchgehend mit $p < 0,001$.

3.4.4 Laktatdehydrogenase

Im Verlauf der Versuche kam es in allen drei Gruppen zu Beginn der EKZ zu einer signifikanten Reduzierung ($p < 0,001$ in allen drei Gruppen) der Laktatdehydrogenasekonzentration in Bezug zur Konzentration vor Beginn der EKZ.

Im weiteren Verlauf stieg die Konzentration in allen Gruppen wieder an, wobei die Maxima nach 120 min Nachbeobachtungszeit erreicht wurden (Gruppe I: $890,2 \pm 350,16$ U/l; Gruppe II: $1039,67 \pm 514,29$ U/l; Gruppe III: $655,11 \pm 309,59$ U/l). Somit lag zu diesem Zeitpunkt die mittlere LDH Konzentration in allen drei Gruppen über der Konzentration vor Beginn der EKZ. Dieser Anstieg der LDH Konzentration war gegenüber dem Ausgangswert vor EKZ Beginn mit $p < 0,001$ für die Gruppen I und II signifikant, wobei sich kein signifikanter Unterschied für die Gruppe III errechnen lies. Anschließend an die Maxima nach 120 min Nachbeobachtungszeit fällt die LDH-Konzentration wieder ab, so dass am Ende der Nachbeobachtungszeit in allen drei Gruppen annähernd wieder die Ausgangswerte erreicht wurden (Gruppe I: $569,44 \pm 222,81$ U/l; Gruppe II: $847,88 \pm 470,63$ U/l; Gruppe III: $393,63 \pm 155,98$ U/l).

Bei den Vergleichen der LDH-Konzentration zwischen den Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede berechnet werden. Lediglich zum Zeitpunkt 360 min Nachbeobachtungszeit lag die LDH-Konzentration in der Gruppe III mit $p < 0,03$ tendenziell niedriger als in der Gruppe II.

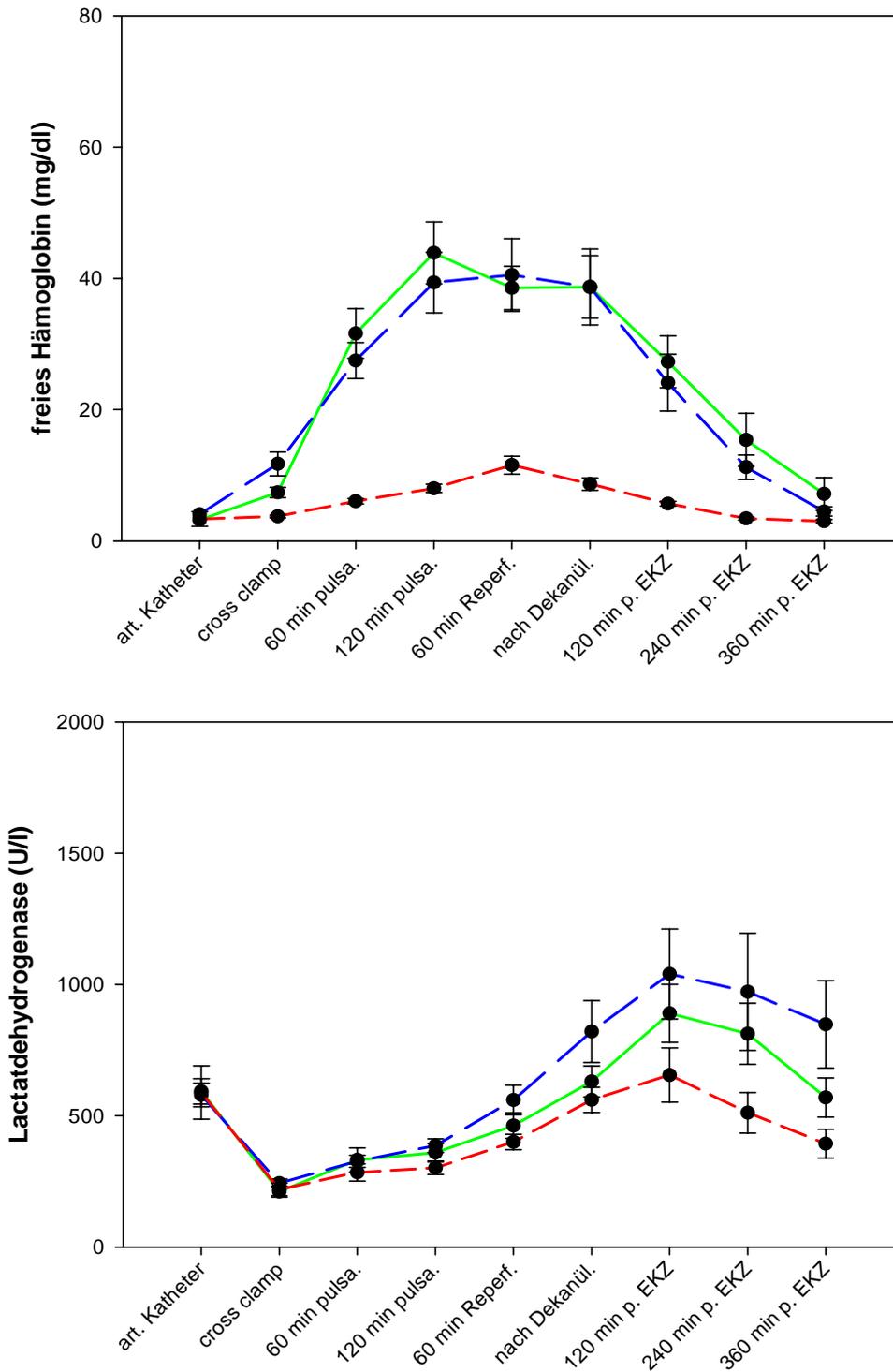


Abbildung 31

Die Abbildung zeigt den Verlauf der Konzentration des freien Hämoglobins (obere Abb.) und der Konzentration der Laktatdehydrogenase (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.4.5 Laktat

Im Verlauf über die Zeit kam es in allen drei Gruppen zu einem Anstieg der Laktatkonzentration im Serum. Das Maximum für alle drei Gruppen wurde nach 60 min Reperfusion erreicht (Gruppe I: $6,69 \pm 3,75$ mmol/l; Gruppe II: $8,03 \pm 2,44$ mmol/l; Gruppe III: $8,43 \pm 3,25$ mmol/l). Dieser Anstieg war im Bezug zum Ausgangswert vor EKZ für die Gruppen II und III signifikant ($p < 0,001$). In der Gruppe I kam es ebenfalls zum Anstieg der mittleren Laktatkonzentration aber es konnte kein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert berechnet werden. In der darauf folgenden Nachbeobachtungszeit konnte in allen drei Gruppen ein starker Abfall der Laktatkonzentration beobachtet werden. In der Gruppe I sank der Laktatspiegel um das 5fache, in der Gruppe II um das 4fache und in der Gruppe III sogar um das 7fache in Bezug zum Maximum nach 60 min Reperfusion. Im Mittel lagen die Laktatkonzentrationen nach 360 min Nachbeobachtungszeit alle unter den Ausgangswerten vor Beginn der EKZ. Dieser Zusammenhang war ebenfalls für alle drei Gruppen signifikant ($p < 0,001$).

Im Vergleich zwischen den drei Gruppen konnte bezüglich der Laktatkonzentration vor Beginn der EKZ kein signifikanter Unterschied berechnet werden. Unter EKZ lag die Laktatkonzentration nach 60 min crossclamp für die Gruppe I bei $4,95 \pm 2,04$ mmol/l und für die Gruppe III bei $7,59 \pm 2,55$ mmol/l, nach 120 min stellte sich die Laktatkonzentration im Mittel für die Gruppe I bei $5,45 \pm 2,58$ mmol/l und für die Gruppe III bei $8,13 \pm 2,96$ mmol/l ein. Zu beiden Messzeitpunkten war die Laktatkonzentration der Gruppe III nicht signifikant aber dennoch in der Tendenz erhöht ($p < 0,06$ nach 60 min. EKZ; $p < 0,09$ nach 120 min EKZ). Zu allen anderen Messzeitpunkten unter EKZ und während der Nachbeobachtungsphase waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen nachweisbar.

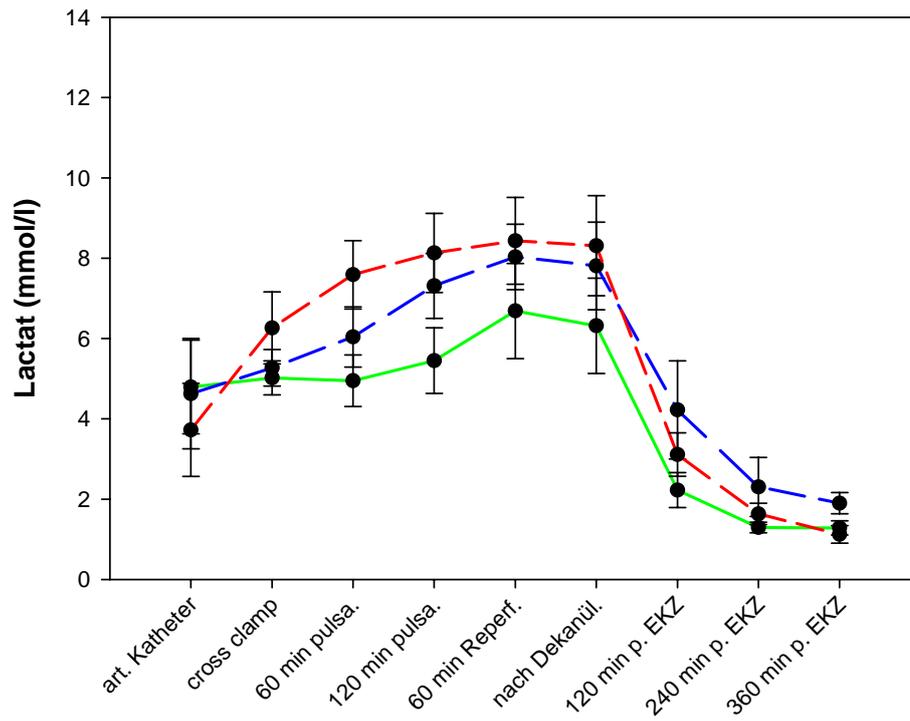


Abbildung 32

Die Abbildung zeigt den Verlauf der Laktatkonzentration aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.4.6 Kreatinin

Die Werte für Kreatinin lagen für die Gruppe I während der gesamten Versuchsdauer im Mittel zwischen $1,04 \pm 0,16$ mg/dl und $1,3 \pm 0,28$ mg/dl, für die Gruppe II lagen sie zwischen $1,01 \pm 0,14$ mg/dl und $1,35 \pm 0,37$ mg/dl und für die Gruppe III zwischen $0,96 \pm 0,06$ mg/dl und $1,23 \pm 0,15$ mg/dl. Im Verlauf über die Zeit konnten keine signifikanten Unterschiede für die einzelnen Gruppen bestimmt werden.

Ebenfalls konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten berechnet werden.

3.4.7 Harnstoff

Bei der Harnstoffkonzentration im Blut kam es während der gesamten Versuchsdauer im Mittel zu einem kontinuierlichen Anstieg in allen drei Gruppen. In der Gruppe I lag die Harnstoff-Konzentration vor Beginn der EKZ im Mittel bei $23,26 \pm 7,12$ mg/dl, in der Gruppe II bei $19,12 \pm 5,05$ mg/dl und in der Gruppe III bei $26,87 \pm 9,2$ mg/dl. Am Ende der Nachbeobachtungszeit war die Konzentration in der Gruppe I auf $33,99 \pm 7,95$ mg/dl, in der Gruppe II auf $31,49 \pm 6,53$ mg/dl und in der Gruppe III auf $35,06 \pm 6,43$ mg/dl angestiegen. Dieser Anstieg war für alle Gruppen signifikant (Gruppe I $p < 0,005$; Gruppe II $p < 0,001$; Gruppe III $p < 0,003$).

Zwischen den einzelnen Gruppen gab es zu keinem Messzeitpunkt einen signifikanten Unterschied.

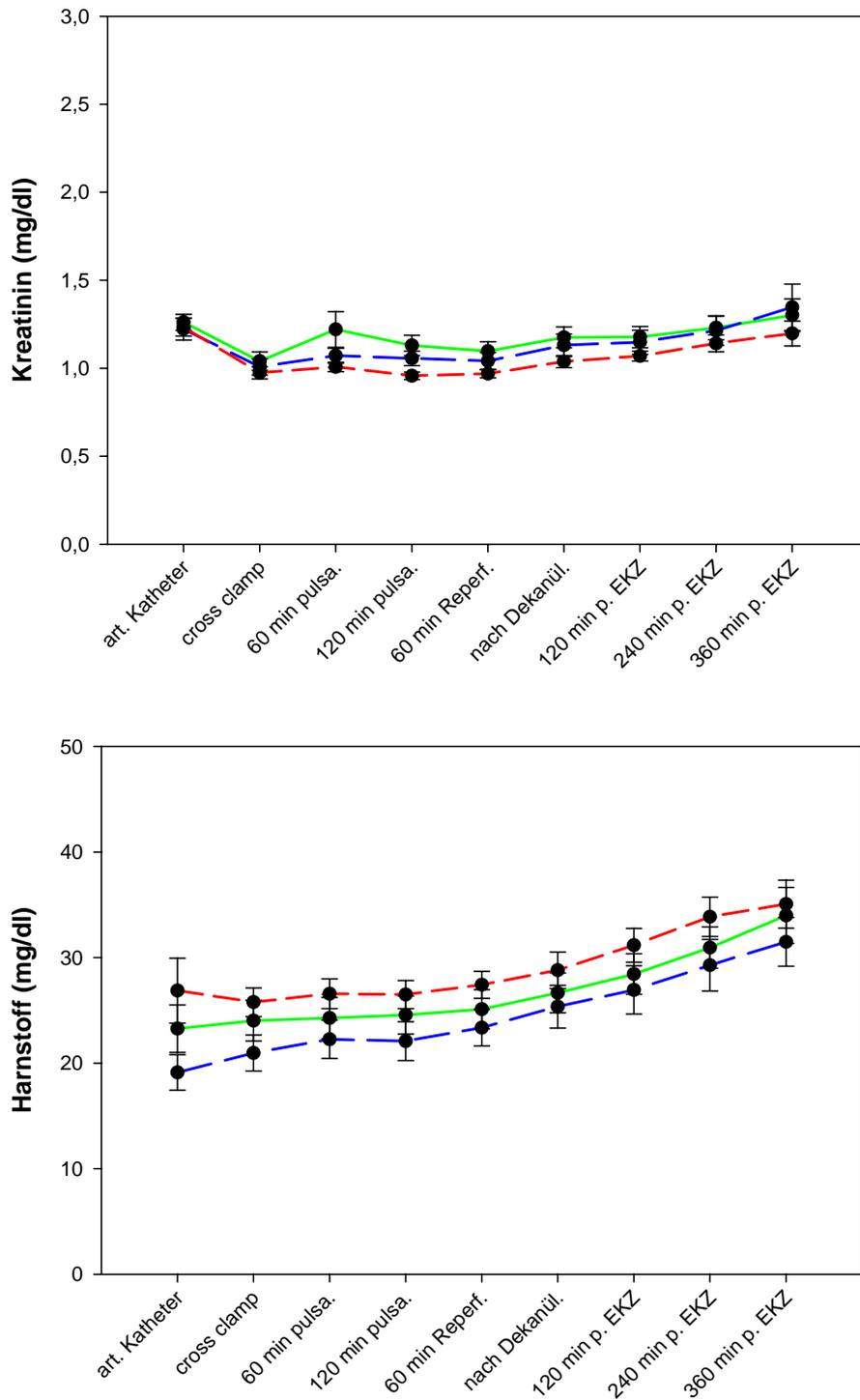


Abbildung 33

Die Abbildung zeigt den Verlauf der Kreatininkonzentration (obere Abb.) und der Harnstoffkonzentration (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

3.4.8 Interleukin 1ra

Im Verlauf über die Zeit stieg die mittlere Konzentration von IL-1ra unter EKZ in allen drei Gruppen an. Zum Zeitpunkt vor EKZ war die Konzentration von IL-1ra in der Gruppe I bei 8 von 10 Versuchstieren nicht nachweisbar, in der Gruppe II konnte IL-1ra bei keinem der Versuchstiere vor Beginn der EKZ nachgewiesen werden und in der Gruppe III konnte IL-1ra bei 8 von 10 Versuchstieren nicht nachgewiesen werden. Zum Messzeitpunkt direkt nach dem Abklemmen der Aorta lag die IL-1ra Konzentration in der Gruppe I im Mittel bei $116,45 \pm 135,64$ ng/l, in der Gruppe II bei $244,39 \pm 188,35$ ng/l und in der Gruppe III bei $376,63 \pm 417,99$ ng/l. Das Maximum der IL-1ra Konzentration wurde in allen drei Gruppen nach 120 min Nachbeobachtungszeit gemessen. Für die Gruppe I lag die Konzentration im Mittel bei $1290 \pm 865,74$ ng/l, für die Gruppe II $1077,78 \pm 545,24$ ng/l und für die Gruppe III bei $997,96 \pm 535,32$ ng/l. Der Anstieg der Konzentration von IL-1ra von dem Messpunkt direkt nach dem Abklemmen der Aorta zum Zeitpunkt der maximalen Konzentration während der Nachbeobachtungsphase war in den Gruppen I und II signifikant (Gruppe I: $p < 0,005$; Gruppe II: $p < 0,002$). In der Gruppe III stellte sich der Anstieg der Interleukin 1ra Konzentration mit $p < 0,02$ nur als Tendenz dar. Zwischen den drei Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede der IL-1ra Konzentration nachgewiesen werden.

3.4.9 Interleukin 6

Vor Beginn der EKZ war Interleukin 6 in der Gruppe I bei keinem Versuchstier nachweisbar und in den Gruppen II und III konnte IL-6 jeweils nur bei einem von neuen bzw. zehn Versuchen nachgewiesen werden. Unter EKZ konnten über die Zeit keine signifikanten Veränderungen in der IL-6 Konzentration nachgewiesen werden. Nach 60 min Reperfusion lag die IL-6 Konzentration in der Gruppe I im Mittel bei $113,61 \pm 147,67$ ng/l, in der Gruppe II bei $169,22 \pm 154$ ng/l und in der Gruppe III bei $64,28 \pm 52,75$ ng/l. Das Maximum der IL-6 Konzentration wurde in allen drei Gruppen am Ende der Nachbeobachtungszeit gemessen. IL-6 ist in der Gruppe I auf $433,29 \pm 354,67$ ng/l, in der Gruppe II auf $518,29 \pm 113,44$ ng/l und in der Gruppe III auf $332,57 \pm 157,87$ ng/l gestiegen. Dieser Anstieg der IL-6 Konzentration zwischen dem Zeitpunkt nach 60 min. Reperfusion und dem Ende der Nachbeobachtungszeit war für die Gruppen II ($p < 0,0003$)

und III ($p < 0,0004$) signifikant. Für die Gruppe I konnte lediglich eine Tendenz mit $p < 0,02$ berechnet werden.

Zwischen den drei Gruppen konnten zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede bezüglich der IL-6 Konzentration gemessen werden.

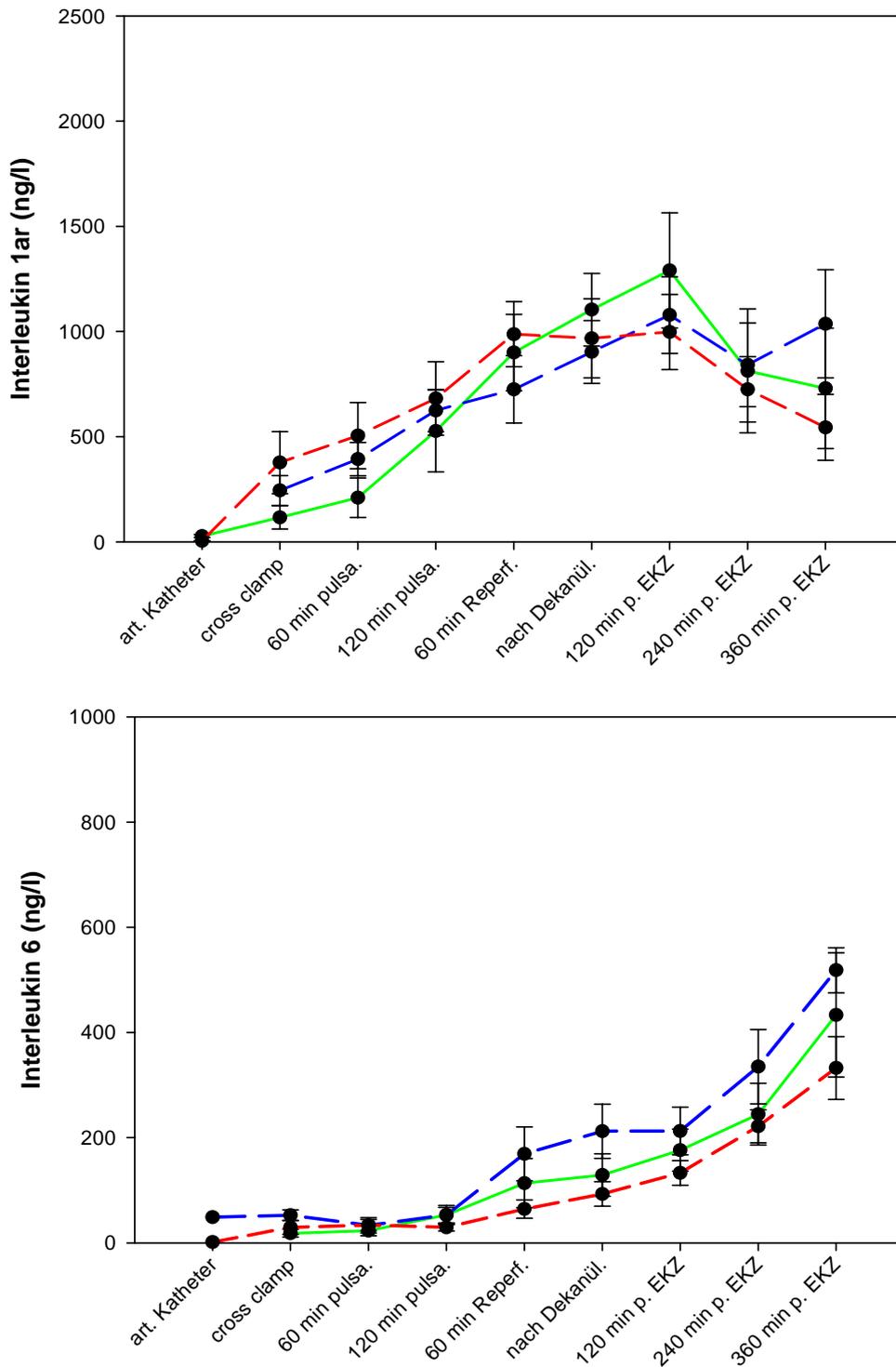


Abbildung 34

Die Abbildung zeigt den Verlauf der Konzentration IL 1ra (obere Abb.) und der Konzentration von IL 6 (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.

● Gruppe I ● Gruppe II ● Gruppe III

4. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit lag in der Untersuchung der Einflüsse von unterschiedlichen Perfusionsprofilen (pulsatil – physiologisch, pulsatil – nicht-physiologisch und nicht-pulsatil) auf den Organismus. Dies war nur möglich durch die Entwicklung eines Pumpsystems, welches ein möglichst physiologisches Perfusionsprofil erzeugen kann.

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Versuchstiere

Derzeit gibt es in Deutschland mehrere Typen von Herz-Lungen-Maschinen die für den klinischen Einsatz zugelassen sind und ein pulsatile Flussprofil erzeugen können (Stöckert SIII und Jostra HL-20 mit Rotaflow). Mit diesen Pumpsystemen wäre eine Untersuchung direkt am Patienten möglich gewesen. Das von uns entwickelte Pumpsystem ist nicht für den klinischen Einsatz zugelassen. Dieses System generiert ein annähernd physiologisches pulsatile Perfusionsprofil und nicht wie die Rollerpumpen ein Perfusionsprofil das einer Sinusschwingung ähnelt. Da die von uns entwickelte Pumpe nicht klinisch zugelassen ist, waren wir gezwungen unsere ersten Daten anhand von Versuchstieren zu gewinnen.

Bei der Auswahl der Versuchstiere haben wir uns aus folgenden Gründen für das Hausschwein entschieden:

1. Hausschweine als Versuchstiere wurden bereits von vielen Arbeitsgruppen, die sich mit Fragestellungen zur Herz-Lungen-Maschine beschäftigten benutzt [Moore 1977, Orime 1996, Sezai 1999, Undar 1999 und 2002, Lodge 1997, Pathi 1998]. Somit liegen für Schweine schon viele Erkenntnisse vor mit denen die eigenen Ergebnisse verglichen und diskutiert werden können.
2. Die Anatomie des Schweins entspricht weitestgehend der des Menschen, was für die Übertragung der Versuchsergebnisse eine erhebliche Rolle spielt.

3. Die experimentelle Abteilung der Klinik für Gefäß- und Herzchirurgie des DHM hat bei Großtierversuchen die meiste Erfahrung mit Hausschweinen.

4.1.2 Verwendete Pumpsysteme und Setup der HLM

Für die Gruppe II und III bedienten wir uns als Pumpsystem der SIII von Stöckert. Diese Rollerpumpen ist seit vielen Jahren im klinischen Einsatz und hat sich als sehr zuverlässig erwiesen. Für die nicht pulsatile Gruppe ergab sich durch den Einsatz einer Rollerpumpe folgende Besonderheit: Auch bei kontinuierlicher Drehzahl der Rollerpumpe kommt es durch die rhythmische Kompression des Schlauchsystems durch die Roller zu einer geringen Pulsatilität. In unseren Versuchen war die Pulsamplitude mit im Mittel $8 \pm 2,3$ mmHg so gering, dass diese zu vernachlässigen ist. Für nicht pulsatile Rollerpumpen fand Ündar et al 2004 [Undar 2004] bezüglich des Energy Equivalent Pressure (EEP) einen Unterschied zum arteriellen Mitteldruck von maximal 1%. Dies unterstützt die Aussage, dass die Pulsatilität, die durch eine Rollerpumpe mit kontinuierlichem Perfusionsmodus generiert wird, vernachlässigt werden kann.

In der Gruppe II wurde die Rollerpumpe während der ersten 120 min EKZ im pulsatilem Modus gefahren. In klinischen Vergleichsstudien wurden ebenfalls modifizierte Rollerpumpen zur Generierung eines pulsatilem Flussprofils eingesetzt (z.B. Taylor et al. [Taylor 1982], Murkin et al [Murkin 1995]).

In der Gruppe I wurde der Grundfluss ebenfalls von einer Stöckert Rollerpumpe erzeugt. In den Kreislauf integrierten wir zusätzlich die von uns entwickelte computergestützte Kolbenpumpe, welche sich direkt vor der arteriellen Kanüle befand. Die integrierte Kolbenpumpe prägte dem kontinuierlichen Flussprofil der Rollerpumpe ein pulsatilem Profil auf. Durch die Integration der Kolbenpumpe hinter das restliche System der HLM und in kurzem Abstand zur arteriellen Kanüle, konnten Einflüsse wie zum Beispiel durch den Oxygenator auf die generierte pulsatile Perfusion sehr gering gehalten werden. Durch den kurzen Abstand zur arteriellen Kanüle, konnte die Einstellung des pulsatilem Profils mittels der Computersteuerung sehr genau vorgenommen werden.

Das weitere Setup der HLM bestand aus einem Membranoxygenator (COBE® Cardiovascular, Sorin Biomedica, U.K.), einem Schlauchsystem (COBE® Cardiovascular, Sorin Biomedica, U.K.) sowie einer arteriellen (8mm,gerades Ansatzstück, Stöckert® Instrumente GmbH, München) und venösen Kanüle (32F, Stöckert® Instrumente GmbH, München), wie sie auch klinisch zum Einsatz kommen

Die verwendete arterielle Kanüle hatte ein kurzes gerades Endstück. Aufgrund einer Studie von Ündar et al. [Ündar 1998 und 2004] und unseren eigenen Erfahrungen erschien die Verwendung einer Kanüle mit einem kurzen geraden Endstück für die Generierung eines pulsatilen Perfusionsprofils am effektivsten, weil sie den geringsten Strömungswiderstand bietet. Der Durchmesser von 8mm entsprach der maximalen Größe, die bei den Versuchstieren noch zu implantieren war.

Ein bedeutender Parameter zur Evaluierung neuer Komponenten der HLM ist der Grad der Blutschädigung, welche durch den Einsatz dieser neuen Komponenten hervorgerufen wird³⁰. Aus unseren Messungen der Hämolyseparameter geht hervor, dass unser neu entwickeltes Pumpsystem gegenüber der pulsatilen Perfusion mittels Rollerpumpe keine zusätzliche Blutschädigung hervorruft.

4.1.3 Angewandte Messmethoden

regionaler Blutfluss (Microspheres)

Die Messung des regionalen Blutflusses mittels markierter Microspheres ist seit vielen Jahren der Goldstandard zur Beurteilung der Mikrozirkulation. Zunächst wurde die Methode mit radioaktiv markierten Microspheres durchgeführt, was jedoch mit einem hohen materiellen und finanziellen Aufwand verbunden war. Mit Einführung der fluoreszenz-markierten Microspheres wurde das Verfahren deutlich vereinfacht.

Die Messung des regionalen Blutflusses mittels fluoreszenz-markierter Microspheres wurde von mehreren Arbeitsgruppen [Thein 2002, Glenny 1993] in unterschiedlichen Zentren als zuverlässige Methode etabliert. Für die Validierung des Verfahrens wurden die Ergebnisse der fluoreszenz-markierten Microspheres mit denen der radioaktiv markierten verglichen. Glenny et al [Glenny 1993] konnte 1993 eine Korrelation des rBf beider Methoden von $r = 0,95$ bis $0,99$ bei mehreren hundert untersuchten Proben nachweisen. Auch Thein et al [Thein 2002] konnte 2002 zeigen das die Messung des rBf mittels fluoreszenz-markierter Microspheres derer mit radioaktiv markierten Microspheres ebenbürtig ist. Hierzu untersuchte er im gesamten 10512 Proben und erhielt eine Korrelation von $r^2 = 0,95$ bis $0,97$. Diese Ergebnisse bestätigten die früheren Daten von Glenny et al.

Zur sicheren Durchführung der Aufbereitung der gewonnenen Organproben benutzten wir die von Raab et al. [Raab 1999] entwickelte sample processing unit (SPU). Diese ermöglicht es dem Untersucher die Probe während der gesamten Aufbereitung in einem

Filtersystem zu belassen und so den Verlust von Microspheres zu reduzieren. In einer Studie von 1999 konnte Raab et al. zeigen, dass die Durchführung der Probenaufbereitung mittels der SPU der herkömmlichen Methode ebenbürtig war und bezüglich des Arbeitsaufwandes weit überlegen war.

Unsere eigenen Ergebnisse zeigen zum Zeitpunkt vor Beginn der EKZ, also zu dem Zeitpunkt zu dem noch keine Manipulierung des rBfs durch die EKZ vorgenommen wurde, eine sehr geringe Streuung um den Mittelwert. Für die Niere betrug der Mittelwert 2,26 ml/min/g und die Standardabweichung 0,57, für das Gehirn $0,33 \pm 0,08$ ml/min/g, für das Kolon $0,26 \pm 0,08$ ml/min/g, für das Ileum $0,27 \pm 0,1$ ml/min/g und für das Duodenum $0,31 \pm 0,1$ ml/min/g bei allen Werten aller drei Gruppen. Dies ist als Hinweis auf eine exakte Durchführung der Methode in unserer Studie zu werten.

Unsere Messergebnisse vor Beginn der EKZ stimmen mit denen anderer Arbeitsgruppen vor einer Manipulation in etwa überein. Thein et al. [Thein 2002] fand in einer Studie in der rechten Niere einen mittleren rBf von 2,58 ml/min/g und für die linke Niere einen mittleren rBf von 2,43 ml/min/g. In einer Studie von 1999 konnte Ündar et al. [Ündar 1999] einen rBf der Niere vor EKZ von im Mittel 2,43 ml/min/g. Strauch et al [Strauch 2003] erhielten einen rBf des Gehirns vor Manipulation von im Mittel 0,43 ml/min/g.

Die von Boucher und Mitarbeitern [Boucher 1974] gemessenen Daten für den regionalen Blutfluss einzelner Darmabschnitte mittels radioaktiv markierter Microspheres lagen bei $0,32 \pm 0,12$ ml/min/g.

Messung der Albuminverlustrate

Die Bestimmung der Albuminverlustrate zur Quantifizierung einer erhöhten Kapillarpermeabilität ermittelten wir durch die Markierung von Albumin mit Evans Blue. Diese Methode wurde in den 30 Jahren von Gibson und Evans [Gibson 1937] und Gregersen et al. [Gregersen 1935] zur Bestimmung des Plasmavolumens eingeführt und ist bis heute allgemein anerkannt [Gregersen 1959]. Aufgrund der nahezu vollständigen Bindung von Evans Blue an Albumin [Rawson 1943] ergibt sich kein Unterschied im Verteilungsvolumen zwischen EB und anderen Proteinen [Gregersen 1950, Allen 1953] bzw. radioaktiv markiertem Albumin bei Menschen wie auch bei Hunden [Freinkel 1954, Sear 1953, Schultz 1953]. Die Methodik wurde in unserer Abteilung durch Schad et al. [Schad 1987] an Hunden, durch Eising et al. an Schweinen. [Eising 2000] und später durch Tassani et al. [Tassani 2002] bei Menschen etabliert.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 erzeugte Perfusionsprofile

Gordon Wright schrieb 1994 [Wright 1994], dass die einzige Pumpe, die einen optimalen pulsatilen Perfusionsmodus für die menschliche Zirkulation garantieren kann, nur das menschliche Herz sei.

Ein Pumpsystem zu entwickeln, das dem durch das Herz generierten physiologischen Perfusionsprofil nahe kommt, ist von vielen Arbeitsgruppen, mit dem Ziel das die Bedingungen unter EKZ dem perfundierten Organismus am wenigsten schaden, versucht worden.

In der Gruppe I haben wir ein von uns entwickeltes Pumpsystem untersucht, welches ein annähernd „physiologisches“ Perfusionsprofil generieren soll.

Zur Beschreibung eines pulsatilen „physiologischen“ Perfusionsmodus, haben wir die folgenden hämodynamischen Parameter herangezogen:

- die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit der aortalen Druckkurve
- die Pulsamplitude
- den maximalen aortalen Fluss
- den pulsatility Index

Pulsamplitude

Unter der Pulsamplitude versteht man die Differenz zwischen systolischem und diastolischem Druck. Die Pulsamplitude lag bei unseren Versuchen vor EKZ in Gruppe I im Mittel bei 36,8 mmHg, in Gruppe II bei 39,6 mmHg und in Gruppe III bei 36 mmHg. Unter EKZ konnte das Niveau der Pulsamplitude nur in der Gruppe I (39 mmHg) aufrechterhalten werden. In der Gruppe II sank die Pulsamplitude unter pulsatilem Perfusion mittels Rollerpumpe signifikant auf 24,4 mmHg ab. In der Gruppe III wurde trotz kontinuierlicher Perfusion, aufgrund des unter 4.1.2 beschriebenen Mechanismus eine geringe Pulsamplitude von 8 mmHg im Mittel generiert. Ündar et al. [Ündar 1999] benutzten in einer Studie aus dem Jahre 1999 ebenfalls eine modifizierte Rollerpumpe zur Generierung eines pulsatilem Flussprofils. Ihre Studie führten sie ebenfalls an Schweinen durch. Vor EKZ lag die Pulsamplitude in ihrer Studie bei 33,7 mmHg. Diese sank unter

pulsatiler EKZ mittels Rollerpumpe auf 15,3 mmHg ab. In einer weiteren Studie machten Ündar und Mitarbeiter [Ündar 1999] den Versuch ein physiologisches pulsatile Pumpsystem zu entwickeln. Auch bei diesem System sank die Pulsamplitude unter EKZ von im Mittel 34,6 mmHg (vor EKZ) auf 17,1 mmHg ab. In beiden Studien wurde der Pulsdruck in der A. femoralis gemessen. Orime et al. [Orime 1996] erzielten unter EKZ mit einem pneumatischen pulsatilen Pumpsystem (Zeon Medical Inc) eine Pulsamplitude von im Mittel 36,6 mmHg, wobei sie unter kontinuierlicher Perfusion mittels einer Zentrifugalpumpe von Biomedicus eine Pulsamplitude von im Mittel 14,3 mmHg gemessen haben. Bei dieser Studie ist unklar warum mit einer Zentrifugalpumpe, welche in der Lage sein sollte einen 100 %ig kontinuierlichen Fluss zu generieren, eine Pulsamplitude von 14,3 mmHg erzeugt wird. Die beiden zitierten Studien sind ein gutes Beispiel dafür wie unterschiedlich der Begriff Pulsatilität verwendet wird: Ündar et al. bezeichnet eine Pulsamplitude von 15,3 mmHg bzw. 17,1 mmHg als pulsatile Perfusionsprofil während Orime et al. eine Pulsamplitude von 14,3 mmHg als kontinuierlich Flussprofil definieren.

In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe aus Tokio [Sezai 1999] wurde ebenfalls ein pneumatisches pulsatile Pumpsystem für die pulsatile Perfusion benutzt. Mit diesem System konnte die Pulsamplitude mit im Mittel 36 mmHg im Vergleich zur Messung vor EKZ (32,2 mmHg) aufrechterhalten werden. In der Vergleichsgruppe mit kontinuierlicher Perfusion wurde eine Zentrifugalpumpe (Nikkiso HPM-15) eingesetzt, die interessanterweise eine Pulsamplitude von 4,7mmHg im Mittel erzeugte.

Für unsere Daten können wir bezüglich des Pulsdruckes schlussfolgern, das wir in der Gruppe I mit einer Pulsamplitude von 39 mmHg unter EKZ im Vergleich zu einer Pulsamplitude von 36,8 mmHg vor EKZ eine annähernd physiologische Pulsamplitude aufrechterhalten konnten. In der Gruppe II sank die Pulsamplitude unter EKZ auf 24,4 mmHg (vor EKZ: 39,6 mmHg) ab. Nach den Arbeiten von Ündar und Sezai dürfen wir aber auch in dieser Gruppe davon ausgehen, dass die erzeugte Pulsamplitude einer pulsatilen entspricht. Die Pulsamplitude entspricht nur nicht dem physiologischem Bereich, da die durch die Rollerpumpe erzeugte Pulsamplitude im Mittel um mehr als 30% niedriger liegt, als die physiologischen Werte, welcher vor der EKZ gemessen wurden.

Die Quantifizierung eines pulsatilen Perfusionsmodus allein über die Pulsamplitude wäre jedoch unzulänglich, da ein pulsatiler Fluss stärker von einem Energiegradienten abhängt, als von einem Druckgradienten [Shepard 1969, Ündar 2004].

Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{\max})

Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit der Druckkurve ist ein weiterer wichtiger Parameter zur Quantifizierung eines pulsatilen Perfusionsprofils. In unseren Versuchen lag die Anstiegssteilheit der Druckkurve vor EKZ zwischen 506,6 und 637 mmHg/sec (Gruppe I: 583,3 mmHg/sec, Gruppe II: 637 mmHg/sec, Gruppe III: 506,6 mmHg/sec).

Unter EKZ konnten wir in der Gruppe I die maximale Anstiegssteilheit mit im Mittel 657,4 mmHg/sec, im Bezug zu den Werten vor EKZ, aufrechterhalten. In der Gruppe II sank die maximale Anstiegssteilheit von im Mittel 637 mmHg/sec (vor EKZ) auf 109,44 mmHg/sec unter EKZ.

Lodge et al.⁷⁵ erreichten mit der „University of Texas neonate/infant pulsatile pump“ eine maximale Anstiegssteilheit von 547 mmHg/sec und auch Hindmann und Mitarbeiter [Hindman 1994] lagen mit ihrem aus 2 Kammern bestehenden pulsatilen Pumpsystem bei einer maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit von 760 mmHg/sec.

Die meisten Arbeitsgruppen, die sich mit der Thematik der pulsatilen Perfusion unter EKZ beschäftigt haben, haben es leider versäumt diesen wichtigen Parameter zur Quantifizierung ihres pulsatilen Perfusionsprofils zu messen oder in ihren Arbeiten anzugeben.

Aufgrund unserer Daten bezüglich der Druckanstiegsgeschwindigkeit können wir folgern, dass nur in Gruppe I eine annähernd „physiologische“ dp/dt_{\max} unter Einsatz der EKZ erreicht wurde. In der Gruppe II lag das Niveau der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit unter EKZ um mehr als das 5fache niedriger als vor EKZ. Das mit einer Rollerpumpe keine höheren dp/dt_{\max} Werte erreicht werden liegt an ihrer Trägheit. Rollerpumpen können nicht so schnell beschleunigen wie es nötig wäre, um eine adäquate Anstiegssteilheit zu erreichen.

Maximaler aortaler Fluss

Der maximale aortale Fluss ist ein weiteres Merkmal des Perfusionsprofils. Er lag in den 3 Versuchsgruppen vor EKZ zwischen $8,9 \pm 1,8$ L/min und $9,5 \pm 1,74$ L/min. Ausschließlich in Gruppe I konnte der maximale Fluss unter EKZ mit $8,4 \pm 2,4$ L/min fast in gleicher Höhe aufrechterhalten werden. Im Gegensatz dazu lag der AoF unter EKZ in Gruppe II und III mit $4,4 \pm 1,07$ L/min bzw. mit $3,6 \pm 0,98$ L/min signifikant, nämlich um mehr als 50 %, niedriger.

In den, in dieser Arbeit, zitierten Studien wurde von keiner Arbeitsgruppe der maximale aortale Blutfluss gemessen bzw. angegeben.

Unsere Ergebnisse belegen, dass in Gruppe I mit der integrierten Kolbenpumpe ein annähernd physiologischer maximaler aortaler Blutfluss erzielt werden konnte, wogegen dieser in den Gruppen II und III signifikant reduziert war. Darüber hinaus zeigen unsere Ergebnisse, dass es keinen Unterschied bezüglich des aortalen Spitzenflusses zwischen pulsatilem Perfusion mittels Rollerpumpe und nicht-pulsatilem Perfusion mittels Rollerpumpe gibt.

Pulsatility Index

Der Pulsatilitäts-Index ist ein weiterer komplexer Parameter zur Quantifizierung der Pulsatilität. Er ist definiert als:

$$PI = \frac{(flow_{max} - flow_{min})}{flow_{mean}}$$

Ündar et al. [Ündar 04] schlugen 2004 diesen Index zur Quantifizierung eines pulsatilem Perfusionsprofils vor.

In der Gruppe I gelang es mit einem PI von im Mittel $3,88 \pm 0,5$ (vor EKZ) bzw. $3,1 \pm 1,04$ (nach EKZ) ein Niveau zu halten, das keinen signifikanten Unterschied zeigte. Im Gegensatz dazu lag der PI in Gruppe II mit einem mittleren Wert von $1,44 \pm 0,42$ hoch signifikant niedriger als der Ausgangswert von $3,92 \pm 0,68$ vor EKZ.

Somit konnten wir für die Gruppe I auch bezüglich des PI zeigen, dass wir ein annähernd physiologisches Perfusionsprofil mittels der integrierten Kolbenpumpe generieren konnten.

4.2.2 regionaler Blutfluss bei unterschiedlichen Flussprofilen

Niere

Wir konnten in unseren Untersuchungen keine signifikanten Veränderungen des regionalen Blutflusses der Niere zwischen unseren drei Gruppen feststellen. Unter EKZ reduzierte sich der regionale Blutfluss der Niere in beiden pulsatilem als auch in der nicht-pulsatilem Gruppe. Diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Die Ergebnisse waren für beide Nieren gleich.

Unsere Ergebnisse unterschieden sich von denen anderer Arbeitsgruppen:

In einer Untersuchung zum rBf der Niere benutzte Ündar [Ündar 1999] zur Generierung der pulsatilem Perfusion die Stöckert Rollerpumpe SIII und zur Generierung der nicht-

pulsatilen Flussmodus die Stöckert Rollerpumpe CAPS. In dieser Untersuchung kam Ündar zu einem signifikant niedrigerem rBf nach EKZ in der nicht-pulsatilen Gruppe gegenüber der pulsatilen Gruppe. Der rBf der Niere betrug zu diesem Zeitpunkt in der nicht-pulsatilen Gruppe nur noch 10% vom Ausgangswert vor EKZ. In der pulsatilen Gruppe betrug der rBf nach EKZ nur noch ca. 40% vom Ausgangswert vor EKZ.

In einer 2002 veröffentlichten Studie konnten Ündar et al. [Ündar 2002] zeigen, dass der regionale Blutfluss der Niere unter nicht-pulsatiler Perfusion (Rollerpumpe Stöckert CAPS) am Ende der Nachbeobachtungszeit signifikant niedriger war als unter pulsatiler Perfusion (Medical Engineering Consultants, Bishop, CA, U.S.A.). Auch in dieser Studie betrug der rBf zum Zeitpunkt nach EKZ nur noch 10% (21-23 ml/100g/min) vom Ausgangswert vor EKZ (203 ml/100g/min). Unter EKZ konnten auch in dieser Studie keine Unterschiede im rBf der Niere nachgewiesen werden.

Lodge, Ündar und Mitarbeiter [Lodge 1997] konnten unter pulsatiler Perfusion unter normothermer EKZ einen signifikant höheren rBf in der Niere messen. Sie fanden jedoch in der Nachbeobachtungszeit keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Lodge arbeitet dabei mit dem pulsatilen Pumpsystem – „University of Texas neonatal pulsatile pump“ welches 1996 von Ündar [Ündar 1996] beschrieben wurde. Als nicht-pulsatiles System diente eine Stöckert-Shiley Rollerpumpe.

Die 3 zuvor beschriebenen Studien kommen aus der gleichen Arbeitsgruppe. Sie kommen jeweils zu unterschiedlichen anscheinend nicht reproduzierbaren Ergebnissen. So findet Ündar 1999 und 2002 nur signifikante Unterschiede nach EKZ und Lodge findet 1997 nur signifikante Unterschiede unter EKZ. Alle Studien weisen wenn auch kein gleiches so doch ein ähnliches Studiendesign auf. Das Ündar sowohl 1999 als auch 2002 nach EKZ nur noch einen rBf von 10% im Vergleich zum Ausgangswert messen kann ist mit unseren Daten in keiner Gruppe zu bestätigen.

Die Arbeitsgruppe um Orime und Sezai setzte in ihren Untersuchungen zur Generierung einer pulsatilen Perfusion ein pneumatisches pulsatile Pumpsystem (Zeon Medical, Inc., Tokyo, Japan) ein und verglichen dieses mit der nicht-pulsatilen Perfusion einer Zentrifugpumpe (BP-80, BioMedicus Inc, Minneapolis, MN oder Nikkiso HPM-15, Nikkiso, Inc., Tokyo, Japan). In der 1996 veröffentlichten Arbeit von Orime [Orime 1996] wurde der regionale Blutfluss der Niere mittels eines Laserflussmessgerätes sowohl in der Rinde als auch im Mark gemessen. Durch Ligieren von Ästen der A. interventricularis anterior erzielten sie einen kardiogenen Schock. Nachdem dieser eingetreten ist wurde das Versuchstier an das ventrikuläre Unterstützungssystem angeschlossen und für 3

Stunden im entsprechenden Perfusionsmodus perfundiert. Mit Einsetzen des kardiogenen Schocks verringerte sich der rBf der Nierenrinde in beiden Gruppen auf ca. 20% gegenüber seinem Ausgangswert. Unter pulsatiler Perfusion stieg der kortikale rBf der Niere nach 3 Stunden EKZ signifikant auf ca. 50% seines Ausgangswertes an, wobei der rBf unter nicht-pulsatiler Perfusion sich nicht verbessern konnte. Für den rBf des Nierenmarks konnte dieser Zusammenhang nicht gezeigt werden.

Sezei [Sezei 1999] veröffentlichte 1999 ein ähnliches Schockmodell. Auch in dieser Arbeit verringerte sich der kortikale rBf der Niere unter kardiogenem Schock auf unter 20% seines Ausgangswertes vor EKZ. Auch in dieser Studie betrug die Gesamtdauer der extrakorporalen Zirkulation 180 min. Am Ende der EKZ stieg der kortikale rBf der Niere in der Gruppe mit pulsatiler EKZ auf 90% an und in der Gruppe mit nicht-pulsatiler Perfusion auf 60%. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war nach 180 min EKZ signifikant.

Die Arbeitsgruppe um Orime und Sezei konnten somit einen positiven Effekt der pulsatilen Perfusion bei eingetretenem kardiogenem Schock und einer langen Perfusionsdauer von 180 min nachweisen. Der positive Effekt könnte darin begründet sein, dass Orime und Sezei in ihren Studien ventrikuläre Unterstützungssysteme verwendeten und keine kompletten Herz-Lungen-Maschinen mit Oxygenierung.

In einer 2004 von Nakamura [Nakamura 2004] veröffentlichten Studie konnte ein signifikant besserer regionaler Blutfluss in der Nierenrinde unter pulsatiler Perfusion gezeigt werden. In dieser Studie wurden die Versuchstiere zuerst für 10 min mittels pulsatiler, dann für weitere 10 min mittels nicht-pulsatiler EKZ bei einem Fluss von 60ml/min/kg KG perfundiert. Anschließend wurde das gleiche Procedere bei einem Blutfluss von 100ml/min/kg KG wiederholt. Die pulsatile Perfusion war unter beiden Blutflussraten der nicht-pulsatilen Perfusion bezüglich des kortikalen rBfs der Niere signifikant überlegen. Fraglich ist bei diesem Studiendesign, ob sich etwaige Adaptationsmechanismen in so kurzer Zeit in der die unterschiedlichen Flussbedingungen angeboten wurden, ausreichend ausbilden können. Ein weiteres Defizit dieses zeitlichen Studiendesigns liegt in der Entfernung von der klinischen Realität. Ein Benefit der für einen Zeitraum von 10-20 min gegeben ist, aber danach eventuell wieder verloren geht, ist bei klinischen Bypasszeiten von 60-120 min kaum relevant.

Boucher et al. [Boucher 1974] setzten 1974 eine modifizierte Rollerpumpe von Sarns (Typ 9600) ein, um einen pulsatilen Fluss zu generieren. Diesen verglichen sie mit einem kontinuierlichen Flussprofil, welches ebenfalls von der Sarns Rollerpumpe erzeugt wurde.

Die Gesamtdauer der extrakorporalen Zirkulation betrug 120 min. In ihrer Studie untersuchten sie mittels radioaktiv markierter MS den rBf der Niere. In ihren Ergebnissen konnten sie keine signifikanten Veränderungen des rBf der Niere zwischen den Gruppen nachweisen. Unter pulsatiler EKZ war zum Zeitpunkt nach 60 min EKZ der rBf gegenüber dem Zeitpunkt vor EKZ signifikant erhöht. Außer für diesen Zeitpunkt konnten Boucher und Mitarbeiter während des gesamten Verlaufs in beiden Gruppen keine signifikanten Änderungen des rBfs nachweisen.

Die Ergebnisse von Boucher decken sich am ehesten mit unseren eigenen Daten. Auch wir konnten keine signifikanten Unterschiede im rBf der Niere sowohl zwischen den Gruppen als auch im Verlauf über die Zeit nachweisen.

Einige Arbeitsgruppen haben die renale Perfusion durch die Messung des Blutflusses in der A. renalis abgeschätzt. Für den arteriellen renalen Blutfluss konnten sowohl Dunn et al [Dunn 1974] als auch Cook et al. [Cook 1997] keine signifikanten Unterschiede zwischen der pulsatilen und der nicht-pulsatilen Perfusion zeigen, wogegen Sezai [Sezei 1999] in seinen Untersuchungen sehr wohl einen höheren arteriellen renalen Blutfluss unter pulsatiler Perfusion nach kardiogenem Schock nachweisen konnten.

Gehirn

In unserer Untersuchung konnten wir eine Zunahme des rBfs der Großhirnrinde unter EKZ in allen drei Gruppen beobachten. Dieser Anstieg wurde zum Zeitpunkt nach 60 min Reperfusion signifikant. Auch in der Nachbeobachtungsphase blieb der rBf gegenüber dem Ausgangswert signifikant erhöht. Es war uns nicht möglich einen Unterschied im cerebralen rBf zwischen den einzelnen Perfusionsmodii zu zeigen. Auch der rBf der linken und der rechten Hemisphäre war gleich.

In einer Studie von Dernevik und Mitarbeitern [Dernevik 1985] wurde der cerebrale Blutfluss mittels Xe^{133} Injektion gemessen. Der pulsatile Fluss wurde mittels einer modifizierten Rollerpumpe als Linksherzunterstützung mit einer Pulsamplitude um 40 mmHg generiert. Dernevik konnte in seinen Versuchen einen signifikant erhöhten cerebralen Blutfluss unter pulsatiler Perfusion messen. Des Weiteren fanden die Autoren eine positive Korrelation ($r = 0,91$) zwischen dem mittleren arteriellen Druck und dem cerebralen Blutfluss. Ihren limitierenden Charakter hat die Studie in ihrem Versuchsprotokoll. Die unterschiedlichen Perfusionsmodii wurden abwechselnd 2mal für je 30 min dem gleichen Organismus angeboten, ähnlich dem Versuchsaufbau von Nakamura et al. [Nakamura 2004] für die Perfusion der Niere.

Ündar et al. [Ündar 1999] konnte ebenfalls einen signifikant höheren cerebralen rBf unter pulsatiler EKZ nachweisen. 1999 gelang dies zu den Zeitpunkten nach 10 und 25 min EKZ, wobei in der pulsatilen Gruppe eine Stöckert SIII Rollerpumpe verwendet wurde. Ündar fand während des Verlaufs einen dauerhaften Abfall des cerebralen regionalen Blutflusses. Zwischen den Hemisphären zeigten sich keine Unterschiede.

In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe um Ündar [Ündar 2002] konnte nur noch nach 10 min EKZ ein signifikant erhöhter rBf in der Gruppe mit pulsatiler Perfusion nachgewiesen werden. Für die restliche Zeit von ca. 150 min EKZ konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen pulsatiler und nicht-pulsatiler Perfusion gezeigt werden. In dieser Studie wurde die pulsatile Perfusion mittels eines 2-kammrigen pulsatilen Pumpsystem erzeugt. Auch in dieser Untersuchung verringerte sich der cerebrale rBf kontinuierlich über die Zeit. Unterschiede zwischen beiden Hemisphären gab es nicht. In beiden Studien verwendete Ündar radioaktiv markierte Microspheres zur Bestimmung des regionalen Blutflusses.

Im Vergleich zu unseren Daten konnte auch Ündar nur für zwei bzw. einen Zeitpunkt einen Vorteil der pulsatilen Perfusion darstellen. Über die größten Strecken seines Versuchsprotokolls zeigten sich keine Unterschiede im rBf. Die Unterschiede waren jeweils nach spätestens 25 min EKZ aufgehoben, so dass eine klinische Relevanz fraglich erscheint.

Hindmann [Hindman 1994] und Mitarbeiter konnten in ihrem Modell an Kaninchen keinen signifikanten Unterschied zwischen pulsatiler (2 Kammriege pulsatile Pumpe) und nicht-pulsatiler (Zentrifugalpumpe) Perfusion bezüglich des cerebralen rBfs feststellen. Auch wurde kein Unterschied zwischen dem rBf der linken und der rechten Hemisphäre nachgewiesen. Die Dauer der EKZ betrug in dieser Studie 60 min. Der cerebrale rBf wurde mittels radioaktiv markierter Microspheres gemessen. Eine Einschränkung der Versuchsergebnisse wie von Akif Ündar [Ündar 1998] aufgrund der Ligierung der distalen Aorta und einer retrograden Kanülierung oberhalb dieser Stelle und einer damit verbundenen artifiziellen Erhöhung des Druckes und somit eines erhöhten cerebralen rBf kann nicht nachvollzogen werden, da dies für beide Gruppen der Fall war.

Lodge et al. [Lodge 1997] konnten bei ihren Untersuchungen zum regionalen Blutfluss des Gehirns ebenfalls keinen Unterschied zwischen pulsatiler und nicht-pulsatiler EKZ nachweisen. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen verringerte sich der rBf in ihrer Studie unter EKZ auf ca. 1/3 des Ausgangswertes und blieb für den Rest des Experiments auf diesem Niveau. Zur Generierung eines pulsatilen Perfusionsprofils diente Lodge das

pulsatile Pumpsystem – „University of Texas neonatal pulsatile pump“. Für die Erzeugung eines nicht-pulsatilen Flussprofils wurde eine Stöckert-Shiley Rollerpumpe eingesetzt.

Cook, Orszulak und Daly [Cook 1997] untersuchten in einer Studie an 20 Hunden (10 pulsatile; 10 nicht-pulsatile) den cerebralen Blutfluss. Dabei variierten sie in 3 Schritten die Temperatur (37; 32 und 27°C) unter einem Fluss von 2,4 L/min/m². Anschließend wurde das gleiche Procedere bei jedem Versuchstier für einen Fluss von 1,2 L/min/m² durchgeführt. Die Autoren konnten zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Änderung des cerebralen Blutflusses zwischen pulsatiler und nicht-pulsatiler Perfusion feststellen. Sie konnten aber zeigen, dass mit Abnahme der Temperatur von 37°C auf 32 bzw. 27°C auch der cerebrale Blutfluss sich in beiden Gruppen signifikant reduzierte.

Sezai et al. [Sezai 1999] untersuchte ebenfalls den Einfluss der pulsatilen versus der nicht-pulsatilen Perfusion nach kardiogenem Schock auf den rBf der grauen Substanz der Großhirnrinde und den arteriellen Fluss der A. carotis. Seine Arbeitsgruppe konnte keine Unterschiede zwischen der pulsatilen und nicht pulsatilen Perfusion für den cerebralen rBf finden. Bei dem arteriellen Fluss der A. carotis lag dieser nach 3 Stunden nicht-pulsatiler Perfusion signifikant niedriger als in der pulsatilen Gruppe. Wie schon zuvor beschrieben setzte Sezai und seine Arbeitsgruppe ein ventrikuläres Unterstützungssystem ein und keine komplette Herz-Lungen-Maschine.

Sanderson, Wright und Sims [Sanderson 1972] konnten in einer histologischen Untersuchung des Gehirns während nicht pulsatiler Perfusion massive ischämische Zellschäden nachweisen, die unter pulsatiler Perfusion nicht auftraten. Zu bemerken ist bei ihrer Studie jedoch das sie in beiden Gruppen unterschiedliche arterielle Kanülen verwendeten (pulsatile Gruppe mit größerem Durchmesser) und das die arterielle Kanülierung in beiden Gruppen an unterschiedlichen Lokalisationen vorgenommen wurde. Für die pulsatile Perfusion wurde die proximale Aorta kanüliert und für die nicht-pulsatile würde die A. femoralis kanüliert. Es ist also denkbar, dass das unterschiedliche Ausmaß der Zellschädigung durch die unterschiedlichen Strategien der Kanülierung hervorgerufen wurde.

In einer Studie von Potapov und Mitarbeitern [Potapov 2001] wurde die cerebrale Zellschädigung unter pulsatiler und nicht-pulsatiler Perfusion (Implantierbare Linksherzunterstützungssysteme Novacor 100 und DeBakey VAD) an den Markern S100B Protein und der Neuron spezifischen Enolase (NSE) gemessen. Beide Marker sind nach Hirnzellschädigung wie sie zum Beispiel bei einem Schlaganfall, also einer Minderperfusion des Gehirns, auftritt, erhöht. Sowohl S100B als auch NSE waren im

Vergleich zum Ausgangswert nach Implantation der Linksherzunterstützungssysteme erhöht (S100B Protein 6fach; NSE 2fach) es konnten aber keine Unterschiede zwischen den Perfusionsmodi ermittelt werden.

In klinischen Untersuchungen des neurologischen Status von Patienten (Henze 22 Patienten; Murkin 316 Patienten) nach pulsatiler oder nicht-pulsatiler Perfusion konnten Henze [Henze 1990] und auch Murkin [Murkin 1995] keine signifikanten Unterschiede zwischen den Perfusionsmodi nachweisen. Dies zeigt ebenfalls, dass mit der pulsatilen Perfusion kein klinischer Vorteil für die Patienten erzielt werden kann.

Darm

Den regionalen Blutfluss des Intestinaltraktes haben wir wie zuvor beschrieben an drei unterschiedlichen Lokalisationen gemessen (Duodenum, Ileum, Kolon). In allen Darmabschnitt konnten wir zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede beim Vergleich der Perfusionsmodii nachweisen. Beim Vergleich der Daten über die Zeit war der rBf des Duodenums in der Gruppe der nicht-pulsatilen Perfusion zum Zeitpunkt nach 60 min Reperfusion im Vergleich zum Ausgangswert signifikant erhöht. Einen parallelen Anstieg konnten wir auch für die Gruppe II (pulsatile Perfusion mittels Rollerpumpe) zeigen, dieser war aber nicht signifikant.

In einer Studie von Gaer et al. [Gaer 1994] konnte sowohl unter pulsatiler als auch unter nicht-pulsatiler Perfusion eine Reduzierung der Magenschleimhautdurchblutung nachgewiesen werden. Diese Reduzierung der Durchblutung der Magenschleimhaut war in der Gruppe mit nicht-pulastilem Fluss signifikant höher als unter pulsatilem Fluss. Limitierend an der Studie ist die geringe Patientenzahl von insgesamt nur 10 Probanden.

Auch Orime [Orime 1996] untersuchte in seinem Modell mit der Initialisierung eines kardiogenen Schocks den rBf des Magens unter pulsatiler und nicht-pulsatiler Perfusion. Seine Arbeitsgruppe konnte einen signifikant höheren rBf im Magen für die pulsatile Perfusion nach 3 Stunden EKZ nachweisen.

Ohri und Mitarbeiter [Ohri 1997] untersuchten den Einfluss des Perfusionsmodus und der Temperatur (37 und 28°C) unter EKZ auf den Blutfluss der Magenschleimhaut. Zur Generierung der unterschiedlichen Perfusionsmodi bedienten sie sich einer Stöckert Rollerpumpe, welche sowohl ein pulsatile als auch ein nicht-pulsatile Perfusionsprofil erzeugen kann. Bei normothermer EKZ zeigte sich eine signifikant bessere Durchblutung der Magenschleimhaut unter pulsatiler als unter nicht-pulsatiler Perfusion. Dieser Effekt

ging bei hypothermer EKZ allerdings verloren. Die Kombination aus hypothermer nicht-pulsatiler Perfusion ist laut ihren Ergebnissen die schlechteste Kombination zur Aufrechterhaltung der Magenschleimhautdurchblutung. Der negative Einfluss der Hypothermie auf die Durchblutung der intestinalen Schleimhaut konnte von Booker et al. [Booker 1996] ebenfalls nachgewiesen werden.

Boucher et al. [Boucher 1974] untersuchten mittels radioaktiv markierter Microspheres den Einfluss der pulsatilen versus nicht-pulsatilen Perfusion auf den regionalen Blutfluss des Magens und des Intestinaltraktes. Zur Erzeugung der pulsatilen Perfusion diente eine modifizierte Rollerpumpe von Sarns (Typ 9600). Sie konnten einen Anstieg des rBf in beiden untersuchten Lokalisationen in beiden Gruppen über die Zeit feststellen. Einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Perfusionsmodi gab es jedoch nicht.

4.2.3 Kapillary leaks bei verschiedenen Perfusionsmodi

In beiden pulsatilen Gruppen konnten wir einen signifikanten Anstieg der Verschwinderate für Albumin nachweisen. Für die Gruppe mit einem nicht-pulsatilen Perfusionsprofil konnte ebenfalls ein Anstieg der Verschwinderate gemessen werden, dieser war jedoch nicht signifikant.

Somit lässt sich aus unseren Daten schlussfolgern, dass es zu einer Zunahme der Verschwinderate für Albumin unter pulsatiler EKZ und somit zur Initiierung eines capillary leak Syndroms gekommen ist. Für die nicht-pulsatile Perfusion lässt sich nur eine Tendenz für eine erhöhte Permeabilität für Albumin nachweisen, da der Anstieg der Verschwinderate nicht als signifikant berechnet werden konnte.

Weitere Daten für die Verschwinderate von Albumin bei pulsatiler und nicht-pulsatiler Perfusion konnten in der Literatur nicht gefunden werden.

In einer Studie von Tassani und Mitarbeitern [Tassani 2002] aus dem Jahr 2002 wurde die Verschwinderate von Albumin an 16 Patienten vor und nach EKZ gemessen. Die Verschwinderate betrug vor EKZ bei diesen Patienten 7,6 %/h und nach EKZ 7,3 %/h. Tassani et al. konnten keine Zunahme der Verschwinderate messen und somit keinen Hinweis für ein capillary leak Syndrom nach extrakorporaler Zirkulation finden. Die Dauer der extrakorporalen Zirkulation war mit im Mittel 79 min wesentlich kürzer als in unseren Versuchen. Die geringere Dauer der EKZ könnte eine Ursache für die ausbleibende Zunahme der Verschwinderate für Albumin in der Studie von Tassani und Mitarbeitern sein.

4.2.4 Einfluss des Flussprofils auf die Hämolyse

Während der Durchführung eines herzchirurgischen Eingriffs kommt es zu einer Steigerung der Hämolyse. Diese Hämolyse ist nur in geringem Umfang durch den chirurgischen Eingriff an sich bedingt, sondern zum größten Teil auf das mechanische Trauma durch die HLM zurückzuführen [Wright 2001]. Aufgrund dieser Tatsache ist der Grad der Hämolyse ein wichtiger Parameter zur Quantifizierung der durch die HLM (Bsp.: Oxygenatoren oder Pumpen) verursachten Schädigung. Zur Beurteilung des Effekts der unterschiedlichen Perfusionsmodi auf die Hämolyse, haben wir die Konzentrationen der Laktatdehydrogenase (LDH) und des freien Hämoglobins (fHB) im Serum gemessen.

Laktatdehydrogenase

Die Aktivität der LDH ist intraerythrozytär wesentlich höher als extraerythrozytär. Kommt es unter der EKZ zur vollständigen Zerstörung der Erythrozyten, steigt die Aktivität der LDH im Plasma an.

In unserer Studie konnten wir zu Beginn der EKZ einen signifikanten Abfall der LDH Konzentration in allen 3 Gruppen beobachten. Dieser Abfall ist wahrscheinlich auf einen Verdünnungseffekt aufgrund des priming Volumens der HLM zurückzuführen. Über die Zeit gab es dann einen kontinuierlichen Anstieg der LDH Konzentration mit einem Maximum nach 120 min post EKZ. Dieser Anstieg war für die beiden pulsatilen Gruppen signifikant, nicht jedoch für nicht-pulsatile Gruppe. Daraus lässt sich schlussfolgern das die pulsatile EKZ zu einer eindeutig höheren Hämolyserate führt. Einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden pulsatilen Gruppen gab es nicht.

Salerno et al. [Salerno 1980] untersuchten ebenfalls den Effekt der pulsatilen (modifizierte Rollerpumpe) bzw. nicht-pulsatilen Perfusion (Rollerpumpe) auf die LDH Konzentration. Sie konnten nachweisen, dass es in beiden Gruppen zu einem signifikanten Anstieg der LDH Konzentration kommt, einen Unterschied zwischen den Perfusionsmodii konnten sie nicht zeigen. Dies ist eventuell auf den eingesetzten bubble-Oxygenator zurückzuführen, welcher für einen großen Anteil an der Hämolyserate verantwortlich sein könnte und somit den Einfluss der Perfusionsmodii auf die Hämolyse verschleiert.

Trinkle und Mitarbeiter [Trinkle 1970] konnten in ihrer Untersuchung ebenfalls keinen Unterschied in der LDH Konzentration zwischen pulsatiler (Helton-Pemco Pulsatile Pumpe) und nicht-pulsatiler Perfusion (Rollerpumpe) nachweisen. Über den von ihnen verwendeten Oxygenator machen sie keine Aussagen.

Freies Hämoglobin

Die Analyse des freien Hämoglobins zur Quantifizierung der Hämolyserate stellt eine wesentlich spezifischere Untersuchungsmethode dar. Dies ist bedingt durch das alleinige Vorkommen von Hämoglobin in den Erythrozyten, wogegen die LDH in sehr vielen Geweben in Form von unterschiedlichen Isoenzymen vorliegt. Das freie Hämoglobin steigt bei einer vollständigen Zerstörung der Erythrozyten an. Es können somit keine Aussagen über den Funktionsverlust von Erythrozyten getroffen werden, bei denen die Zellmembran noch intakt ist.

Wir konnten in unseren Versuchen in allen 3 Gruppen einen signifikanten Anstieg des fHBs über den Versuchsverlauf nachweisen. Dieser war in Gruppe III signifikant geringer als in den beiden pulsatilen Gruppen. Unterschiede zwischen den beiden pulsatilen Flussmodi gab es nicht.

Goto und Mitarbeiter [Goto 1993], die in beiden Gruppen mit einer Stöckert-Shiley Rollerpumpe arbeiteten, konnten ebenfalls unter pulsatilem Perfusion eine signifikant höhere Konzentration an fHB nachweisen. Weitere Arbeitsgruppen kamen zu dem gleichen Ergebnis [Dunn 1974, Zumbro 1979]. Taylor und Mitarbeiter [Taylor 1978 und 1982] konnten in ihren Studien keine Unterschiede in der Konzentration des fHBs feststellen. Als Pumpe für die HLM setzten sie in beiden Studien eine Rollerpumpe bzw. zur Generierung des pulsatilem Flussprofils eine modifizierte Rollerpumpe ein.

Eine Reihe weiterer Studien [Orime 1999, Salerno 1980, Williams 1979, Tarcan 2004, Minami 1990] war nicht in der Lage einen signifikanten Unterschied, bezüglich der Konzentration des fHBs, zwischen den unterschiedlichen Perfusionsmodi zu zeigen.

Aus unseren Daten lässt sich sowohl aufgrund der Konzentration des fHBs als auch aufgrund der Aktivität der LDH, der Schluss ziehen, dass es unter pulsatilem Perfusion, unabhängig von der Qualität des pulsatilem Perfusionsprofils, zu einer verstärkten Hämolyse kommt. Ferner scheint der Grad der Blutschädigung durch die von uns entwickelte Kolbenpumpe mit der Blutschädigung einer konventionellen pulsatilem Rollerpumpe identisch zu sein.

4.2.5 Veränderung der Stoffwechsellage bei verschiedenen Perfusionsmodi

Um eine Aussage über die aerobe/anaerobe Stoffwechselsituation im Organismus machen zu können, haben wir die Konzentrationen von Laktat im Serum gemessen. Unter EKZ kam es in allen drei Gruppen zu einem Anstieg der Laktatkonzentration. Das Maximum wurde nach 60 min Reperfusion erreicht. Dieser Anstieg war in Gruppen II und III signifikant. In der Nachbeobachtungszeit sank der Laktatspiegel wieder auf sein Ausgangsniveau bzw. unterhalb seiner Konzentration vor EKZ ab. Nach 60 und 120 min EKZ lag die Laktatkonzentration in der nicht pulsatilen Gruppe nicht signifikant jedoch im Trend höher als in der Gruppe I (60 min EKZ: $p < 0,06$; 120 min EKZ: $p < 0,09$).

Singh et al. [Singh 1980] sowie Cook und Mitarbeiter [Cook 1997] konnten in ihren Studien keine Unterschiede bezüglich der Laktatkonzentration zwischen pulsatiler und nicht pulsatiler Perfusion nachweisen. Allerdings benutzten beide Arbeitsgruppen zur Generierung ihres pulsatilen Flussprofils lediglich eine intraaortale Ballonpumpe.

Moore und Kollegen [Moore 1997] haben in ihrer Studie die Laktatextraktion gemessen. Auch sie kamen zu dem Ergebnis dass der Einsatz der pulsatilen EKZ im Vergleich zur nicht-pulsatilen Perfusion zu keinem Unterschied führt.

Die Arbeitsgruppe aus Tokyo um Orime [Orime 1996] und Sezai [Sezai 1999] untersuchten an ihrem Modell unter der Bedingung eines kardiogenen Schocks das Verhältnis der Laktat zur Pyruvatkonzentration zwischen den unterschiedlichen Perfusionsmodi der EKZ. In beiden Untersuchungen kamen sie zu einer signifikant erhöhten Laktat/Pyruvat-Ratio in der nicht-pulsatilen Gruppe. In beiden Untersuchungen kam es zum Zeitpunkt des Einsetzens des kardiogenen Schocks zu einem Anstieg der Ratio.

Trinkle et al. [Trinkle 1969] kamen bei der experimentellen und klinischen Etablierung ihres Helton-Pemco pulsatilen Pumpsystems (H.P.P. Pumpe) ebenfalls zu dem Ergebnis dass die Konzentration von Laktat im Serum unter nicht-pulsatiler Perfusion signifikant höher liegt als unter pulsatiler Perfusion mittels der H.P.P. Pumpe

Eine signifikant erhöhte Laktatkonzentration unter nicht-pulsatiler Perfusion konnte in weiteren Studien belegt werden [Jacobs 1969, Geha 1972].

Unsere Ergebnisse konnten eine erhöhte Laktatkonzentration unter nicht-pulsatiler Perfusion im Bezug zur „physiologischen“ pulsatilen Perfusion nur als Trend zeigen. Unterschiede in der Laktatkonzentration zwischen der nicht-pulsatilen und der pulsatilen Perfusion mittels Rollerpumpe konnten wir nicht nachweisen.

4.2.6 Einfluss von unterschiedlichen Perfusionsmodi auf die Entzündungsreaktion

Der Einsatz der HLM zieht eine systemische Entzündungsreaktion nach sich. Hierfür verantwortlich ist als Folge der EKZ [Paparella 2002, Tonnesen 1996]:

1. der Kontakt des Blutes mit künstlichen Oberflächen,
2. der Reperfusionsschaden,
3. die Freisetzung von Endotoxin
4. das operative Trauma,
5. die mechanische Traumatisierung des Blutes durch die Pumpe der HLM
6. die Hypothermie

Zytokine spielen bei dieser systemischen Entzündungsreaktion eine Schlüsselrolle. Bezüglich ihrer Funktion teilt man die Zytokine in pro – und antiinflammatorisch wirksame Mediatoren ein.

Proinflammatorische Reaktion

Als Vertreter der proinflammatorischen Zytokine haben wir die Konzentrationen von Interleukin 6 bestimmt. Für IL-6 konnten wir eine kontinuierliche Zunahme der Konzentration im Plasma über die Zeit feststellen. In allen drei Gruppen wurde das Maximum am Ende der 6 stündigen Nachbeobachtungszeit gemessen. Beim Vergleich zwischen den einzelnen Flussmodi konnten keine signifikanten Unterschiede gezeigt werden.

Ein Ansteigen der IL-6 Konzentration in der postoperativen Phase mit einem Maximum nach wenigen Stunden (meist 4-6) wird von mehreren Autoren als typisch beschrieben [Roysten 1997, Tassani 2000, Neuhof 2001, Butler 1992, Steinberg 1993].

Neuhof und Mitarbeiter [Neuhof 2001] verglichen die proinflammatorische Reaktion von pulsatilen und nicht-pulsatilen Perfusionsprofilen. Zur Generierung der unterschiedlichen Flussprofile bedienten sie sich der Stöckert Rollerpumpe S III. Sie konnten für IL-6 keinen signifikanten Unterschied zwischen der pulsatilen und der nicht-pulsatilen Perfusion zeigen. Das Konzentrationsmaximum für IL-6 wurde 3 Stunden post-OP gemessen.

Orime et al. [Orime 1999] haben zur Quantifizierung der proinflammatorischen Reaktion zwischen pulsatilem und nicht-pulsatilem Fluss die Konzentration von Interleukin 8 im

Serum gemessen. Einen signifikanten Unterschied für die Konzentration von Interleukin 8 zwischen den Versuchsgruppen konnten sie nicht darstellen.

In einer Arbeit von Loebe und Mitarbeitern [Loebe 2001] konnte hingegen eine signifikant höhere Konzentration von IL-6 in der nicht-pulsatilen Gruppe gemessen werden. In seiner Arbeit vergleicht Loebe das nicht-pulsatile Linksherzunterstützungssystem MicroMed DeBakey mit dem pulsatilen Novacor Device.

Aus unseren Ergebnissen lässt sich somit schlussfolgern, dass der Perfusionsmodus keinen Einfluss auf die proinflammatorische Reaktion ausübt.

Antiinflammatorische Reaktion

Zur Quantifizierung der antiinflammatorischen Reaktion haben wir die Konzentration von Interleukin 1ra im Serum gemessen. Es konnte eine kontinuierliche Zunahme von IL-1ra im Plasma in allen 3 Gruppen beobachtet werden. Ihre maximale Konzentration erreichten alle drei Gruppen nach 120 min Nachbeobachtungszeit. Im weiteren postoperativen Verlauf nahm die Konzentration von IL-1ra wieder ab. Ein signifikanter Unterschied konnte zu keinem Zeitpunkt zwischen den drei Gruppen ermittelt werden.

In anderen Studien wurde ein ähnlicher Verlauf der IL-1ra Konzentration unter EKZ nachgewiesen.

In einer Studie von Tassani et al. [Tassani 2000] wurde die peak Konzentration für IL-1ra 4 Stunden postoperativ gemessen und in einer weiteren Studie von Eising und Mitarbeitern [Eising 2000] wurde die maximale Konzentration für IL-1ra 2 Stunden nach Beenden der Operation gemessen.

Auch Kawamura et al. [Kawamura 1997] untersuchten den Einfluss der EKZ auf die Konzentration der antiinflammatorischen Interleukine 10 und 1ra. Sie konnten für beide Interleukine einen signifikanten Anstieg 60 min nach Öffnen der Aortenklammer zeigen.

Für die Untersuchung der antiinflammatorischen Reaktion bei pulsatiler bzw. nicht-pulsatiler Perfusion liegen derzeit keine weiteren Daten aus anderen Studien vor.

Auch aus unseren Daten für die antiinflammatorische Reaktion können wir schlussfolgern, dass die Pulsatilität auch gleich welcher Form sie dem Organismus angeboten wird, keinen Einfluss auf die antiinflammatorische Reaktion unter EKZ hat.

5. Zusammenfassung

Die Fragestellung, ob es sinnvoller sei unter EKZ einen pulsatilen, eher physiologischen, Fluss anstatt eines kontinuierlichen Flusses zu generieren, besteht seit Einführung der extrakorporalen Zirkulation in die Medizin. In der vorliegenden Arbeit haben wir uns im Rahmen der neuen technischen Möglichkeiten dieser Fragestellung angenommen.

Uns ist es gelungen mit der von uns, in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Produktentwicklung der TU München, entwickelten computergesteuerten Kolbenpumpe ein pulsatile und weitestgehend physiologisches Perfusionsprofil zu generieren. Zur Definition eines physiologischen Perfusionsprofils bedienten wir uns der Parameter: max. Anstiegssteilheit der aortalen Druckkurve, Pulsamplitude der aortalen Druckkurve, maximaler aortaler Fluss und der pulsatility Index. Ebenfalls ist es uns gelungen mithilfe der gleichen Parameter die hämodynamischen Unterschiede zwischen diesem „physiologischen“ pulsatilen und dem pulsatilen Perfusionsprofil einer Rollerpumpe aufzuzeigen.

In unseren Versuchen war es uns nicht möglich einen Vorteil des pulsatilen Perfusionsprofils für den Organismus nachzuweisen. Die regionale Durchblutung der untersuchten Organe (Niere, Gehirn und Darm) änderte sich zum Teil unter dem Einfluss der extrakorporalen Zirkulation. Einen Unterschied zwischen den 3 Gruppen konnten wir nicht nachweisen, so dass der regionale Blutfluss vom Perfusionsmodus unbeeinflusst blieb. Die gleichen Ergebnisse haben wir für die Untersuchung der inflammatorischen Reaktion und der Stoffwechselsituation (aerob/anaerob) bekommen. Auch hier kam es zu einer Reaktion aufgrund der EKZ, es lies sich jedoch kein Unterschied zwischen den Gruppen zeigen. Der Grad der Hämolyse war in beiden pulsatilen Gruppen signifikant höher als in der Gruppe mit kontinuierlicher Perfusion. Auch das Auftreten eines capillary leak Syndroms war nur in den beiden pulsatilen Gruppen signifikant nachweisbar. Bezüglich der Hämolyse und des capillary leak Syndroms konnte dementsprechend ein Nachteil der pulsatilen Perfusion nachgewiesen werden.

Schlussfolgerungen:

- Mit der computergesteuerten Kolbenpumpe war es uns möglich einen annähernd physiologischen Perfusionsmodus zu erzielen.
- In der Gruppe II (pulsatile Rollerpumpe) konnte ein pulsatile Perfusionsprofil generiert werden.
- Aufgrund des identischen Hämolysegrades in den Gruppen I und II ist von einer vermehrten schädigenden Wirkung des Pulsators nicht auszugehen.
- Unter pulsatiler Perfusion, gleich welcher Form sie angeboten wird, kommt es im Vergleich zur kontinuierlichen Perfusion, zu einer verstärkten Hämolyse.
- Unter pulsatiler Perfusion, gleich welcher Form sie angeboten wird, kommt es zur Ausbildung eines capillary leak Syndroms
- Die Ausbildung eines capillary leak Syndroms unter kontinuierlicher EKZ konnte nicht nachgewiesen werden.
- Der Perfusionsmodus unter EKZ hat keinen Einfluss auf den regionalen Blutfluss der Niere, des Gehirns und des Darms
- Der Perfusionsmodus unter EKZ hat keinen Einfluss auf die pro bzw. antiinflammatorische Reaktion des Organismus.
- Der Perfusionsmodus unter EKZ hat keinen Einfluss auf die Stoffwechselsituation (aerob/anaerob) des Organismus.

6. Literaturverzeichnis

Allen TH, Pallavicini C, Gregersen MI. Simultaneous measurement of plasma volume with hemoglobin and with T-1824. *Am J Physiol.* 175 (1953) 236-244

Booker PD, Prosser DP, Franks R. Effect of hypothermia on rectal mucosal perfusion in infants undergoing cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth.* 77 (1996) 591-596

Boucher JK, Rudy LW, Edmunds LH. Organ blood flow during pulsatile cardiopulmonary bypass. *J Appl Physiol* 36 (1974) 86-90

Bregman D, Bailin M, Bowman FO Jr, Parodi EN, Haubert SM, Edie RN, Spotnitz HM, Reemtsma K, Malm JR. A pulsatile assist device (PAD) for use during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 24 (1977) 574-581

Butler J, Chong GL, Baigrie RJ, Pillai R, Westaby S, Rocker GM. Cytokine response to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg.* 53 (1992) 833-838

Casey LC. Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ-failure. *Ann Thorac Surg.* 56 (1993) S92-96

Cassatela MA, Meda L, Gasperini S, Calzetti F, Bonora S. Interleukin 10 (IL-10) upregulates IL-1 receptor antagonist production from lipopolysaccharide-stimulated human polymorphonuclear leukocytes by delaying mRNA degradation. *J Exp Med.* 179 (1994) 1695-1699

Ciardullo R, Schaff HV, Flaherty JT, Gott VL. A new method of producing pulsatile flow during cardiopulmonary bypass using a standard roller pump. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 72 (1976) 585-592

Cook DJ, Orszulak TA, Daly RC. The effects of pulsatile cardiopulmonary bypass on cerebral and renal blood flow in dogs. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 11 (1997) 420-427

Cremer J, Martin M, Redl H, Bahrami S, Abraham C, Graeter T, Haverich A, Schlag G, Borst HG. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 61 (1996) 1714-1720

Cox CS Jr, Allen SJ, Brennan M. Analysis of intestinal microvascular permeability associated with cardiopulmonary bypass. *J Surg Res.* 83 (1999) 19-26

Dernevik L, Arvidsson S, William-Olsson G. Cerebral perfusion in dogs during pulsatile and non pulsatile extracorporeal circulation. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 26 (1985) 32-35

Dripps DJ, Brandhuber BJ, Thompson RC, Eisenberg SP. Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J Biol Chem.* 266 (1991) 10331-10336

Dunn J, Kirsh MM, Harness J, Carroll M, Straker J, Sloan H. Hemodynamic, metabolic and hematologic effects of pulsatile cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 68 (1974) 138-147

Eising GP, Schad H, Heimisch W, Gippner-Steppert C, Jochum M, Braun SL, Mendler N, Meisner H, Lange R. Effect of cardiopulmonary bypass and hemofiltration on plasma cytokines and protein leakage in pigs. *Thorac Cardiovasc Surg.* 48 (2000) 1-8.

Freinkel N, Schreiner GE, Athens JW, Hiatt CW, Breese S. Artifactual difference in the distribution of T-1824 and I-131 labeled albumin resulting from mixing prior to administration. *J Lab Clin Med.* 43 (1954) 215-222

Gaer JA, Shaw AD, Wild R, Swift RI, Munsch CM, Smith PL, Taylor KM. Effect of cardiopulmonary bypass on gastrointestinal perfusion and function. *Ann Thorac Surg.* 57 (1994) 371-375

Geha AS, Salaymeh MT, Abe T, Baue A. Effect of pulsatile cardiopulmonary bypass on cerebral metabolism. *J Surg Res.* 12 (1972) 381-389

Gibbon JH Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minnesota Medicine.* 37 (1954) 171-187

Gibbon JH Jr. The gestation and birth of an idea. *Philadelphia Med.* 59 (1963) 913-916

Gibson JG, Evans WA. Clinical Studies of the blood volumen: application of a method employing the azo dye Evans Blue and the spectrophotometer. *J Clin Invest.* 16 (1937) 301–309

Glenny RW, Bernard S, Brinkley M. Validation of fluorescent-labeled Microspheres for measurement of regional organ perfusion. *J Appl Physiol.* 74 (1993) 2585-2597.

Goto M, Kudoh K, Minami S, Nukariya M, Sasaguri S, Watanabe M, Hosoda Y. The rennin-angiotensin-aldosterone system and hematologic changes during pulsatile and nonpulsatile cardiopulmonary bypass. *Artif Organs.* 17 (1993) 318-322

Gregersen MI, Gibson JG, Stead EA. Plasma volume determination with dyes; errors in colorimetry; use of the blue dye T-1824. *Am J Physiol.* 133 (1935) 54-62

Gregersen MI, Boyden AA, Allison JB. Direct comparison in dogs of plasma volume measured with T-1824 and with antigen. *Am J Physiol.* 163 (1950) 517-525

Gregersen MI, Rawson RA. Blood volume. *Physiol Rev.* 39 (1959) 307-313

Grossi EA, Connolly MW, Krieger KH, Nathan IM, Hunter CE, Colvin SB, Baumann FG, Spencer FC. Quantification of pulsatile flow during cardiopulmonary bypass to permit direct comparison of the effectiveness of various types of „pulsatile“ and „nonpulsatile“ flow. *Surgery.* 98 (1985) 547-553

Grover FL, Fewel JG, Vinas J, Ghidoni JJ, Arom KV, Norton JB Jr, Trinkle JK. Effects of aortic balloon pumping during cardiopulmonary bypass on myocardial perfusion metabolism and contractility. *Chest*. 75 (1979) 37 – 46

Grubhofer G, Mares P, Rajek A, Mullner T, Haisjackl M, Dworschak M, Lassnigg A. Pulsatility does not change cerebral oxygenation during cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand*. 44 (2000) 586-591

Hannum CH, Wilcox CJ, Arend WP, Joslin FG, Dripps DJ, Heimdal PL, Armes LG, Sommer A, Eisenberg SP, Thompson RC. Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor. *Nature*. 343 (1990) 336-340

Henze T, Stephan H, Sonntag H. Cerebral dysfunction following extracorporeal circulation for aortocoronary bypass surgery: No differences in neurophysiological outcome after pulsatile versus nonpulsatile flow. *Thorac Cardiovasc Surg*. 38 (1990) 65-68

Hickey PR, Buckley MJ, Philbin DM. Pulsatile and nonpulsatile cardiopulmonary bypass: review of a counterproductive controversy. *Ann Thorac Surg*. 36 (1983) 720-737

Kawamura T, Wakusawa R, Inada K. Interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonists increase during cardiac surgery. *Can J Anaesth*. 44 (1997) 38-42

Hindman BJ, Dexter F, Ryu KH, Smith T, Cutkomp J. Pulsatile versus nonpulsatile cardiopulmonary bypass. No difference in brain blood flow or metabolism at 27°. *Anesthesiology*. 80 (1994) 1137-1147

Jacobs LA, Klopp EH, Seamone W, Topaz SR, Gott VL. Improved organ function during cardiac bypass with a roller pump modified to deliver pulsatile flow. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 58 (1969) 703-712

Landymore RW, Murphy DA, Kinley CE. Does pulsatile flow influence the incidence of postoperative hypertension. *Ann Thorac Surg*. 28 (1978) 261-266

Levine FH, Philbin DM, Kono K. Plasma vasopressin levels and urinary sodium excretion during cardiopulmonary bypass with and without pulsatile flow. *Ann Thorac Surg.* 32 (1980) 63-67

Lodge A, Ündar A, Daggett W, Runge TM, Calhoon JH, Ungerleider RM. Regional blood flow during pulsatile cardiopulmonary bypass and after circulatory arrest in an infant model. *Ann Thorac Surg.* 63 (1997) 1243-1250

Loebe, M. Koster, A. Sanger, S. Potapov, E. V. Kuppe, H. Noon, G. P. Hetzer, R. Inflammatory response after implantation of a left ventricular assist device: comparison between the axial flow MicroMed DeBakey VAD and the pulsatile Novacor device. *Asaio J.* 47 (2001) 272–274.

Louagie YA, Gonzalez M, Collard E, Mayne A, Gruslin A, Jamart J, Buche M, Schoevaerds JC. Does flow character of cardiopulmonary bypass make a difference? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 104 (1992) 1628-1638

Maddoux G, Pappas G, Jenkins M, Battock D, Trow R, Smith SC Jr, Steele P. Effect of pulsatile and nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass on left ventricular ejection fraction early after aortocoronary bypass surgery. *Am J Cardiol.* 37 (1976) 1000 – 1007

McBride WT, Armstrong MA, Crockard AD, McMurray TJ, Rea JM. Cytokine balance and immunosuppressive changes at cardiac surgery: contrasting response between patients and isolated CPB circuits. *B J Anaesth.* 75 (1995) 724-733

Messent M, Sinclair DG, Quinlan GJ, Mumby SE, Gutteridge JM, Evans TW. Pulmonary vascular permeability after cardiopulmonary bypass and its relationship to oxidative stress. *Crit Care Med.* 25 (1997) 425-429.

Messmer K, Sunder-Plassmann L, Klövekorn WP, Holper K: Circulatory significance of hemodilution: Rheological changes and limitations. *Adv Microcirc.* 4 (1972) 1-77

Minami, K. Korner, M. M. Vyska, K. Kleesiek, K. Knobl, H. Korfer, R. Effects of pulsatile perfusion on plasma catecholamine levels and hemodynamics during and after cardiac operations with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 99 (1990) 82-91

Moores WY, Hannon JP, Crum J, Willford D, Rodkey WG, Gaesling JW. Coronary flow distribution and dynamics during continuous and pulsatile extracorporeal circulation in pig. *Ann Thorac Surg.* 24 (1977) 582-590

Murkin JM, Martzke JS, Buchan AM, Bentley C, Wong CJ. A randomized study of the influence of perfusion technique and pH management strategy in 316 patients undergoing coronary artery bypass surgery. I. Mortality and cardiovascular morbidity. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 110 (1995) 340-348

Murkin JM, Martzke JS, Buchan AM, Bentley C, Wong CJ. A randomized study of the influence of perfusion technique and pH management strategy in 316 patients undergoing coronary artery bypass surgery. II. Neurologic and cognitive outcomes. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 110 (1995) 349–362.

Nakamura K, Harasaki H, Fukumura F, Fukamachi K, Whalen R. Comparison of pulsatile and non-pulsatile cardiopulmonary bypass on regional renal blood flow in sheep. *Scand Cardiovasc J.* 38 (2004) 59-63

Neuhof C, Wendling J, Dapper F, Bauer J, Zickmann B, Jochum M, Tillmanns H, Neuhof H. Endotoxemia and cytokine generation in cardiac surgery in relation to flow mode and duration of cardiopulmonary bypass. *Shock.* 16 (2001) 39-43

Ohri S, Bowles CW, Mathie RT, Lawrence DR, Keogh BE, Taylor KM. Effect of cardiopulmonary bypassperfusion protocols on gut tissue oxygenation and blood flow. *Ann Thorac Surg.* 64 (1997) 163-170

Orime Y, Shiono M, Nakata K, Hata H, Sezai A, Yamada H, Iida M, Kashiwazaki S, Nemoto M, Kinoshita J, Kojima T, Saito T, Sezai Y. The role of pulsatility in end-organ microcirculation after cardiogenic shock. *ASAIO J.* 42 (1996) M724-729.

Orime Y, Shiono M, Hata H, Yagi S, Tsukamoto S, Okumura H, Nakata K, Kimura S, Hata M, Sezai A, Sezai Y. Cytokine and Endothelial Damage in Pulsatile and Nonpulsatile Cardiopulmonary Bypass. *Artif Organs*. 23 (1999) 508-512

Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation - pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg*. 21 (2002) 232-244

Pappas G. A simple method of producing pulsatile during clinical cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 17 (1974) 405 - 413

Pappas G, Winter SD, Kopriva CJ, Steele PP. Improvement of myocardial and other vital organ functions and metabolism with a simple method of pulsatile flow (IABP) during clinical cardiopulmonary bypass. *Surgery*. 77 (1975) 34 – 43

Paquet KJ. Hemodynamik studies on normothermic perfusion of the isolated pig kidney with pulsatile and nonpulsatile flows. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 10 (1969) 45-52

Pathi VL, Morrison J, MacPhaden A, Martin W, McQuiston AM, Wheatley DJ. Alterations in renal microcirculation during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 65 (1998) 993-998.

Potapov, E. V. Loebe, M. Abdul-Khaliq, H. Koster, A. Stein, J. Sodian, R. Kopitz, M. Hausmann, H. Noon, G. P. DeBakey, M. E. Hetzer, R. Postoperative course of S-100B Protein and Neuron specific enolase in Patients after implantation of continuous and pulsatile flow LVADs. *J Heart Lung Transplant*. 20 (2001) 1310-1316

Raab S, Thein E, Harris G, Messmer K. A new sample-processing unit for the fluorescent microsphere method. *Am J Physiol*. 276 (1999) H1801-H1806.

Rawson RA. The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins. *Am J Physiol* 138 (1943) 708-716

Royston D. The inflammatory response and extracorporeal circulation. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 11 (1997) 341-354

Salerno TA, Charrette EJP, Keith FM. Hemolysis during pulsatile perfusion: Clinical evaluation of a new device. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 79 (1980) 579-581

Sanderson, J.M., Wright, G., Sims, F.W. Brain damage in dogs immediately following pulsatile and nonpulsatile blood flows in extracorporeal circulation. *Thorax.* 27 (1972) 275-286

Schad H, Haider M, Brechtelsbauer H. Bestimmung des Plasmavolumens mit Indocyaningrün. *Anaesthesist.* 36 (1987) 608-614

Schultz AL, Hammersten JF, Heller BI, Ebert RV. A critical comparison of the T-1824 dye and iodinated albumin methods for plasma volume measurement. *J Clin Invest.* 32 (1953) 107-112

Sear H, Allen TH, Gregersen MI. Simultaneous measurement in dogs of plasma volume with I-131 human albumin and T-1824 with comparison of their long term disappearance from the plasma. *Am J Physiol.* 175 (1953) 240-245

Sezai A, Spiono M, Orime Y, Nakata K, Hata M, Iida M, Kashiwazaki S, Kinoshita J, Nemoto M, Koujima T, Furuichi M, Eda K, Hirose H, Yoshino T, Saitoh A, Taniguchi Y, Sezai Y. Major Organ Function under Mechanical Support - Comparative Studies of Pulsatile and Nonpulsatile Circulation. *Artif Org.* 23 (1999) 280-285.

Shepard RB, Kirklin JW. Relation of pulsatile flow to oxygen consumption and other variables during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 58 (1969) 694-706

Shepard RB, Simpson DC, Sharp JF. Energy equivalent pressure. *Arch Surg.* 93 (1966) 730-740

Singh RK, Barratt-Boyes BG, Harris EA. Does pulsatile flow improve perfusion during hypothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 79 (1980) 827-832

Sink JD, Chitwood WR, Hill RC, Wechsler AS. Comparison of nonpulsatile and pulsatile extracorporeal circulation on renal cortical blood flow. *Ann Thorac Surg* 29 (1980) 57-62

Steed DL, Follette DM, Foglia R, Maloney JV, Buckberg GD. Effects of pulsatile assistance and nonpulsatile flow on subendocardial perfusion during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 26 (1978) 133-140

Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 106 (1993) 1008-1016.

Strauch, J. T. Spielvogel, D. Haldenwang, P. L. Zhang, N. Weisz, D. Bodian, C. A. Griep, R. B. Impact of hypothermic selective cerebral perfusion compared with hypothermic cardiopulmonary bypass on cerebral hemodynamics and metabolism. *Eur J Cardiothorac Surg.* 24 (2003) 807-816

Tarcan, O. Ozatik, M. A. Kale, A. Akgul, A. Kocakulak, M. Balci, M. Undar, A. Kucukaksu, D. S. Sener, E. Tasdemir, O. Comparison of pulsatile and non-pulsatile cardiopulmonary bypass in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Med Sci Monit.* 10 (2004) CR294-299

Tassani P, Augustin N, Barankay A, Braun SL, Zaccaria F, Richter JA. High-Dose Aprotinin modulates the balance between proinflammatory and antiinflammatory responses during coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 14 (2000) 682-686

Tassani P, Schad H, Winkler C, Bernhard A, Ettner U, Braun SL, Eising GP, Kochs E, Lange R, Richter JA. Capillary leak syndrome after cardiopulmonary bypass in elective, uncomplicated coronary artery bypass grafting operations: Does it exist? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 123 (2002) 735-741

Taylor K, Bain W, Davidson K, Turner M. Comparative clinical study of pulsatile and non-pulsatile perfusion in 350 consecutive patients. *Thorax.* 37 (1982) 324-330

Taylor KM, Bain WH, Maxted KJ, Hutton MM, McNab WY, Caves PK. Comparative studies of pulsatile and nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass.I. Pulsatile system employed and its hematologic effects. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 75 (1978) 569-573

- Taylor KM, Wright GS, Reid JM, Bain WH, Caves PK, Walker MS, Grant JK. Comparative studies of pulsatile and nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass. II. The effects on adrenal secretion of cortisol. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 75, (1978) 574-578
- Taylor KM, Wright GS, Bain WH, Caves PK, Beastall GS. Comparative studies of pulsatile and nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass. III. Response of anterior pituitary gland to thyrotropin-releasing Hormone. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 75 (1978) 579-584
- Teelucksingh S, Padfield PL, Edwards CR. Systemic capillary leak syndrome. *Q J Med.* 75 (1990) 515-524
- Thein E, Raab S, Harris AG, Kleen M, Habler O, Meisner F, Messmer K. Comparison of regional blood flow values measured by radioactive and fluorescent Microspheres. *Eur Surg Res.* 34 (2002) 215-223.
- Tonnesen E, Christensen VB, Toft P. The role of cytokines in cardiac surgery. *Int J Cardiol.* 53 (1996) S1-S10
- Trinkle JK, Helton NE, Bryant LR, Griffen WO. Pulsatile cardiopulmonary bypass: clinical evaluation. *Surgery.* 68 (1970) 1074-1078
- Trinkle JK, Helton NE, Wood RE, Bryant LR. Metabolic comparison of a new pulsatile pump and a roller pump for cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 58 (1969) 562-569
- Ündar A, Fraser CD Jr. The relation between pump flow rate and pulsatility on cerebral hemodynamics during pediatric cardiopulmonary bypass [letter]. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 116 (1998) 530-531
- Undar A, Koenig KM, Frazier OH, Fraser CD Jr. Impact of membrane oxygenators on pulsatile versus nonpulsatile perfusion in a neonatal model. *Perfusion.* 15 (2000) 111-120

Undar A, Lodge AJ, Daggett CW, Runge TM, Ungerleider RM, Calhoon JH. The type of aortic Cannula and membrane Oxygenator affect the pulsatile waveform morphology produced by a neonate infant cardiopulmonary bypass system in vivo. *Artif Organs*. 22 (1998) 681-686

Ündar A, Lodge AJ, Runge TM, Daggett CW, Ungerleider RM, Calhoon JH. Design and performance of a physiological pulsatile flow neonate-infant cardiopulmonary bypass system. *ASAIO J*. 42 (1996) M580-M583

Undar A, Masai T, Beyer EA, Goddard-Finegold J, McGarry MC, Fraser CD Jr, Pediatric Physiologic Pulsatile Pump Enhances cerebral and renal blood flow during and after cardiopulmonary bypass. *Artif Organs*. 26 (2002) 919-923

Undar A, Masai T, Frazier OH, Fraser CD Jr. Pulsatile and nonpulsatile flows can be quantified in terms of energy equivalent pressure during cardiopulmonary bypass for direct comparisons. *ASAIO J*. 45 (1999) 610-614

Undar A, Masai T, Inman R, Beyer EA, Mueller MA, McGarry MC, Frazier OH, Fraser CD Jr. Evaluation of a physiologic pulsatile pump system for neonate-infant cardiopulmonary bypass support. *ASAIO J*. 45 (1999) 53-58

Undar A, Masai T, Yang SQ, Eichstaedt HC, McGarry MC, Vaughn WK, Fraser CD Jr. Pulsatile perfusion improves regional myocardial blood flow during and after hypothermic cardiopulmonary bypass in a neonatal piglet model. *ASAIO J*. 48 (2002) 90-95

Undar A, Masai T, Yang SQ, Goddard-Finegold J, Frazier OH, Fraser CD Jr. Effects of perfusion mode on regional and global organ blood flow in a neonatal piglet model. *Ann Thorac Surg* 68 (1999) 1336-1342

Undar A. Myths and Truths of pulsatile and nonpulsatile perfusion during acute and chronic cardiac support. *Artif Organs*. 28 (2004) 439-443

Vazquez-Jimenez JF, Qing M, Hermanns B, Klosterhalfen B, Woltje M, Chakupurakal R, Schumacher K, Messmer BJ, von Bernuth G, Seghaye MC. Moderate hypothermia during cardiopulmonary bypass reduces myocardial celldamage and myocardial cell death related to cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol.* 38 (2001) 1216-1223

Wagner FM, Schiller W, Dilg G, Depner C, Welz A, Lacour-Gayet F. Young Investigator's Prizewinner 2001. Direct visualization of the influence of normothermic as opposed to hypothermic cardiopulmonary bypass on the systemic microcirculation in neonatal piglets. *Cardiol Young.* 11 (2001) 532-538

Wan S, LeClerc J, Vincent J. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. Mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest.* 112 (1997) 676-692

Wesolowski SA, Fisher JH, Welch CS. Perfusion of pulmonary circulation by nonpulsatile flow. *Surgery* 33 (1953) 370 - 376

Wesolowski SA, Sauvage LR, Pinc RD. Extracorporeal circulation: the role of the pulse in maintenance of the systemic circulation during heart-lung bypass. *Surgery* 37 (1955) 663-670

Williams GD, Seifen AB, Lawson NW, Norton JB, Readinger RI, Dungan TW, Callaway JK, Campbell GS. Pulsatile perfusion versus conventional high-flow non-pulsatile perfusion for rapid core cooling and rewarming of infants for circulatory arrest in cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 78 (1979) 667-677

Wright G. Factors affecting the pulsatile hydraulic power output of the Stockert roller pump. *Perfusion* 4 (1989) 187-195

Wright G. Haemolysis during cardiopulmonary bypass: update. *Perfusion.* 16 (2001) 345-351

Wright G. Hemodynamic analysis could resolve the pulsatile blood flow controversy. *Ann Thorac Surg* 58 (1994) 1199-1204

Zenker R, Heberer G, Gehl H, Borst H, Beer R, Yeh YH. Zur Aufrechterhaltung der Organfunktionen und des Stoffwechsels im extrakorporalen Kreislauf. Langenbecks Archiv für klinische Chirurgie. 289 (1958) 294-302

Zumbro GL Jr, Sheater G, Fishback ME, Galloway RF. A prospective evaluation of the pulsatile assist device. Ann Thorac Surg. 28 (1979) 269-273.

Aus der Promotionsarbeit hervorgegangene Veröffentlichungen

Voss B, Krane M, Jung C, Schad H, Heimisch W, Lange R, Bauernschmitt R. Does „physiological“ pulsatile Perfusion improve intestinal blood flow during ECC. Biomed Tech. 50 (2005) 1519-1520

Krane M, Voss B, Jung C, Schad H, Heimisch W, Lange R, Bauernschmitt R. Design of a computer-controlled pulsatile pump system for cardiopulmonary bypass and its effects on haemolysis and inflammation. Computers in Cardiology. 33 (2006) 309-312

7. Abbildungsverzeichnis

- 01 Original Abbildung der Kolbenpumpe mit den Modulen 1 bis 3
- 02 Schematischer Aufbau der Module 1 und 2
- 03 Schematischer Aufbau der Integration der computergesteuerten Kolbenpumpe in die HLM
- 04 Phasen der Kolbenbewegung zur Pulsgenerierung
- 05 Beispiel einer aufgezeichneten aortalen Druckkurve zur Berechnung der Ansteuerung der Kolbenpumpe
- 06 Abbildung des Pumpkopfes einer Stöckert Rollerpumpe.
- 07 OP-Feld nach Anschluss der HLM
- 08 Chronologische Darstellung des Versuchsprotokolls
- 09 Injektionsprotokoll für die Microspheres
- 10 Darstellung des Schnittmusters für die Niere
- 11 Darstellung des Schnittmusters für das Gehirn.
- 12 Die Abbildung zeigt die Bestandteile der Sample Processing Unit
- 13 Die Grafik zeigt die Druckkurve unter pulsatiler Perfusion mittels computergestützter Kolbenpumpe
- 14 Die Abbildung zeigt die Anstiegssteilheit (dp/dt) der Druckkurve von Abbildung 13 zu den korrespondierenden Zeitpunkten
- 15 Die Grafik zeigt die Flusskurve unter pulsatiler Perfusion in der Gruppe I zum gleichen Zeitpunkt wie Abb. 13 und 14
- 16 Die Abbildung zeigt den Druckkurve über die Zeit in der Gruppe II
- 17 Die Grafik zeigt den Verlauf des aortalen Flusses der Gruppe II
- 18 Die Grafik zeigt den Druckverlauf über die Zeit in der Gruppe III
- 19 Die Abbildung zeigt den Verlauf des aortalen Flusses der Gruppe III
- 20 Die Abbildung zeigt die Anstiegssteilheit der aortalen Druckkurve der Gruppen I und II vor Beginn der EKZ und nach 120 min pulsatiler EKZ
- 21 Die Abbildung zeigt die Pulsamplitude aller 3 Gruppen vor und nach 120 min EKZ
- 22 Die Abbildung zeigt die Spitzendrücke, gemessen an der arteriellen Kanüle in den drei Gruppen

- 23 Das Diagramm zeigt den aortalen Spitzenfluss der drei Gruppen zum Zeitpunkt vor EKZ und nach 120 min pulsatilem bzw. kontinuierlicher Perfusion
- 24 In der Grafik ist der pulsatility Index der beiden pulsatilen Gruppen vor und nach 120 min EKZ dargestellt
- 25 Die obere Abbildung zeigt den regionalen Blutfluss des Duodenums die untere den des Ileums zu den fünf Messzeitpunkten
- 26 Die Abbildung zeigt den Verlauf des regionalen Blutflusses des Kolons zu den fünf Messzeitpunkten
- 27 Die Abbildung zeigt den regionalen Blutfluss der linken (obere Abb.) und der rechten Hemisphäre (untere Abb.) der drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten im Vergleich
- 28 Die Abbildung zeigt den regionalen Blutfluss der linken (obere Abb.) und der rechten (untere Abb.) Niere der drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten im Vergleich.
- 29 Die Abbildung zeigt die Verschwinderate von markiertem Albumin in Prozent pro Stunde zum Zeitpunkt vor EKZ und in der 3. Stunde nach EKZ von allen drei Gruppen
- 30 Die Abbildung zeigt den Verlauf der Hämoglobinkonzentration (obere Abb.) und des Hämatokritwertes (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten
- 31 Die Abbildung zeigt den Verlauf der Konzentration des freien Hämoglobins (obere Abb.) und der Konzentration der Laktatdehydrogenase (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten
- 32 Die Abbildung zeigt den Verlauf der Laktatkonzentration aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten
- 33 Die Abbildung zeigt den Verlauf der Kreatininkonzentration (obere Abb.) und der Harnstoffkonzentration (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten
- 34 Die Abbildung zeigt den Verlauf der Konzentration IL 1ra (obere Abb.) und der Konzentration von IL 6 (untere Abb.) aller drei Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten

8. Tabellenverzeichnis

- 01 Die Tabelle zeigt die Mittelwerte aller aufgezeichneten bzw. berechneten hämodynamischen Parameter

9. Danksagung

Ich danke Herrn **Prof. Dr. Rüdiger Lange**, dass ich die vorliegende Arbeit in seiner Abteilung durchführen konnte.

Herrn **Prof. Dr. Robert Bauernschmitt** danke ich für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn **Dr. Bernhard Voss** danke ich für sein unermüdliches Engagement bei der Planung und Durchführung der Tierversuche sowie der Diskussion und Bewertung der Ergebnisse.

Ebenfalls gilt mein Dank Herrn **Prof. Dr. Hubert Schad** und Herrn **Dr. Werner Heimisch** die für viele ungelöste Fragen bezüglich der Evans-blue Messungen und der Hämodynamik immer ein offenes Ohr für mich hatten.

Mein Dank gilt Herrn **Dr. Braun** und der **Abteilung für klinische Chemie des DHM** die mich maßgeblich bei der Messung und Auswertung sämtlicher Laborparameter unterstützt haben

Gerne bedanke ich mich bei der **Abteilung für Kardiotechnik des DHM** die bei unseren Versuchen die Bedienung der Herz-Lungen-Maschine übernommen haben.

Herrn **Dr. Joachim Grammer** danke ich, da er mit vielen Anregungen, Ratschlägen und Tipps diese Arbeit sehr bereicherte.

Bei **Frau Bernhard und Frau Tu** möchte ich mich bedanken, da sie während der Durchführung der Versuche immer und bei jeder Gelegenheit eine helfende Hand waren.

3. Lebenslauf

21.09.1976	in Hamm (Westf.) geboren
1983 – 1986	Grundschule
1986 – 1993	Friedrich-Ebert-Realschule
1993-1996	Märkisches Gymnasium, Abitur 1996
1996 – 1997	Zivildienst
1998	Beginn des Medizinstudiums in Düsseldorf
März 2000	Physikum
April 2000	Wechsel an die LMU München
März 2001	1. Staatsexamen
August 2003	2. Staatsexamen
November 2004	3. Staatsexamen
Seit Februar 2005	Assistenzarzt im Deutschen Herzzentrum München Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie